

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple-Un But Une Foi



U.S.T.T-B

Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie

TITRE :

Année : 2012- 2013

N°/

**DISTRIBUTION DU NOMBRE DE COPIES DU GENE SMN1 DANS LA
POPULATION MALIENNE**

THESE

**Présentée et soutenue publiquement le 23 mai 2013
Devant la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie
Par : M. BOCOUM Nouhoum**

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)

JURY

**Président : Professeur Amadou DIALLO
Membre : Docteur Mahamadou S. TRAORE
Docteur Drissa KANIKOMO
Co-directeur : Docteur Guida LANDOURE
Directeur de thèse : Professeur Hammadoun Aly SANGO**

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Je dédie ce travail à:

Dieu Tout-Puissant, le clément et miséricordieux, qui m'a donné la chance et le courage d'accomplir ce travail, et à son Prophète Muhammad, paix soit sur lui.

A ma mère et à mon feu père: Merci pour votre amour et votre soutien tout au long de ma vie inébranlable.

A tous mes frères et sœurs : Merci d'être là quand j'avais fort besoin de vous.

A ma femme et ses trois filles pour leur amour et leur soutien.

A tous mes amis et camarades de la primaire aux secondaires voire même à l'université merci de votre apport inoubliable.

Tout d'abord, je tiens à remercier mon frère DR Sango Hammadoun Aly. Vous m'avez donné l'occasion de réaliser ce rêve tant attendu dès mes premiers pas à la faculté de médecine et d'odontostomatologie.

Je suis reconnaissant à mon oncle et ami DR Landouré Guida. Vos conseils et encouragements tout au long de mon cycle ont été très utiles. Merci pour toutes les connaissances acquises par vous et vos proches

Je remercie tous mes enseignants de la primaire, aux secondaires voire même à l'université,

Je remercie tous mes amis d'enfance de Djenne à Bamako de m'avoir donné le courage et la force d'accomplir ce travail.

Je remercie mon camarade et promotionnel DR. Sangaré Modibo pour son enseignement sur la SMA.

Un merci spécial à ma mère et à mon feu père pour leur soutien infatigable.

Un grand merci à tous mes frères et sœurs, car votre présence et votre soutien m'ont aidé à passer des moments difficiles.

Je remercie toute l'équipe Américaine de SMA et plus précisément le PR. Kenneth Fischbeck pour sa disponibilité et son dévouement dans la formation des étudiants pour la recherche clinique.

Je remercie également toute l'équipe SMA du Mali.

Hommages aux membres du jury

A notre maître et Président du jury

Professeur Amadou Diallo

Professeur honoraire à la faculté de médecine, d'odontostomatologie et de Pharmacie de Bamako,

Ancien recteur de l'université de Bamako

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos importantes occupations.

Votre simplicité, votre large culture médicale toujours d'actualité, votre disponibilité et vos qualités humaines exceptionnelles font de vous un maître admirable. Veuillez trouver ici cher maître, l'expression de notre profond respect et nos sincères remerciements.

A notre maitre et juge

Professeur Mahamadou Traore,

Directeur de recherche à l'INRSP

Biologiste généticien

Chargé de cours de génétique à la FMOS

Chef de service adjoint au laboratoire de cytogénétique et de biologie de la reproduction de l'INRSP

Membre du comité international de la revue Andrologie

Président de la société Malienne de Génétique Humaine

Membre du comité d'éthique de l'INRSP.

Cher maitre,

Malgré vos responsabilités multiples vous avez accepte de consacrer quelques moments de votre temps tellement précieux à l'examen de ce travail .C'est pour moi un privilège et un honneur.

Je vous pris de croire à l'expression de ma profonde reconnaissance.

A notre maitre et juge,

Docteur Kanikomo Drissa,

Chef de service de Neurochirurgie au CHU Gabriel Touré
Certificat d'étude spéciale en Neurochirurgie à Dakar
Certificat de Neuroanatomie,
Certificat de Neurophysiologie
Maîtrise en physiologie générale
Maître assistant en Neurochirurgie à la FMOS
Médecin légiste expert auprès des cours et tribunaux

Cher maitre,

C'est un réel plaisir pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury.
Votre rigueur et votre simplicité ont été toujours à la disposition de cette jeune
génération pour le bien être de la santé.

Votre désir de transmettre vos larges connaissances aux autres font de vous un
homme apprécié pour la science. Veuillez recevez cher maitre l'expression de ma
profonde considération.

A notre maitre et co-directeur de thèse
Docteur Landouré Guida,
PhD, Neurogénéticien au CHU du Point. G.

Cher maitre,

Il nous serait très difficile de trouver les mots justes pour exprimer notre reconnaissance, vous nous faites un grand honneur en acceptant de codiriger ce travail.

Nous avons été impressionnés par vos qualités humaines et votre croyance en Dieu.

Votre humilité et votre générosité, vos connaissances immenses en neurologie et en neurogenetique, votre rigueur scientifique, votre infinie disponibilité et votre enthousiasme communicatif font de vous un maitre admirable et admire de tous.

Honorable maitre trouvez ici l'assurance de notre admiration, de notre respect et de notre reconnaissance.

A notre maitre et Directeur de thèse

Docteur Sango Hammadoun Aly.

Epidémiologiste et spécialiste en Sante Publique

**Chef de service des Relations extérieures et de la Coopération à l'Universités
des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)**

Maitre assistant au D.E.R. de Sante Publique

Cher maitre,

Nous ne pourrions vous remercier sans évoquer le grand intérêt que vous accordez à la recherche.

Votre générosité, votre modestie ainsi que vos qualités humaines et pédagogiques, votre grande culture scientifique font de vous un maitre admirable et un exemple à suivre. Nous sommes fiers d'être un de vos élèves.

Recevez ici cher maitre, l'expression de notre profonde gratitude

SIGLES ET ABREVIATIONS

SMA	:	Amyotrophie spinale
SMN1	:	Survie du motoneurone en position telomerique
SMN2	:	Survie du motoneurone en position centromerique
SMN	:	Survie du motoneurone (Survival motor neuron)
NAIP	:	Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein
FMOS	:	Faculté de médecine et d'odontostomatologie
FAPH	:	Faculté de pharmacie
REG	:	Réticulum endoplasmique rugueux
C4	:	Quatrième vertèbre cervicale
T1 –T10	:	Nerfs thoraciques
L1	:	Première vertèbre lombaire
LCR	:	Liquide céphalorachidien
LCS	:	Liquide céphalospinal
T	:	Cellule en forme de T
HD	:	Maladie de Huntington
FTD	:	Démence fronto-temporale
SNC	:	Système nerveux central
IRM	:	Imagerie par résonance magnétique
RX	:	Radiographie
CMT	:	Charcot-Marie-Tooth
X	:	Chromosome X
EMG	:	Electroneuromyographie
CPK	:	Créatine phosphate kinase
C>T	:	Transition Cytosine –Thymine
DHPLC	:	Dénature chromatographie liquide haute performance
qRTPCR	:	Chain réaction polymérase en temps réel
USTTB	:	Universités des sciences ,des techniques et des technologies de Bamako
mmHg	:	Millimètre de mercure
Kg	:	Kilogramme
Cm	:	Centimètre
ADN	:	Acide désoxyribonucléique
ml	:	Millilitre
ARN	:	Acide ribonucléique
RBC Lysis	:	Solution qui permet de détruire les globules rouges
Cell	:	Cellules
RNase A	:	Enzyme qui détruit l'ARN
g	:	Tours

mn	:	Minute
µl	:	Microlitre
s	:	Seconde
C	:	Degré Celsius
1h	:	Une heure
P	:	Probabilité
PCR	:	Polymerase chain reaction
CT	:	Seuil de cycle
X2	:	Khi carré
ANOVA	:	Analyse de la variance
NIH, USA	:	National institut of Heath aux Etats-Unis
d'Amérique		
CPM	:	Consanguinité entre Père et Mère
CGPM	:	Consanguinité entre grand parent maternel
CGPP	:	Consanguinité entre grand parent paternel
4+	:	4 copies et plus

SOMMAIRE

I. Introduction :	1
II. Les objectifs de l'étude	63
1. Objectif général :	63
2. Objectifs spécifiques :	63
III. Généralités	64
1. Anatomie du système nerveux:	64
1.1. Le neurone: [7]	64
1.2. Le système nerveux central [8].	18
1.3. Système nerveux périphérique : [9]	70
2. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux :	72
2.1. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux central	72
2.2. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux périphérique	73
3. La SMA :	73
3.1. Historique de la SMA	73
3.2. Epidémiologie	74
3.3. Clinique	74
3.4. Diagnostic proprement dit	75
3.5. Diagnostiques différentiels	75
3.6. Examens complémentaires	75
3.7. Traitement	76
3.8. Génétique	76
IV. Méthodologie:	79
1. Cadre de l'étude:	79
2. Type, lieu et période de l'étude :	81
3. Population d'étude :	81
3.1. Echantillonnage :	81
3.2. Les critères de sélection:	81
4. Procédure de collecte des données :	37
4.1. Information:	81
4.2. Remplissage des questionnaires	82

4.3. Prise des paramètres physiques et hémodynamiques :	82
4.4. Collecte de sang :	82
4.5. Compensation:	82
4.6. Extraction d'ADN :	83
4.7. Technique de QRT PCR et détermination du nombre de copies de SMN1:	85
4.8. Variables:	87
4.9. Traitement et analyse des données :	87
4.10. Considérations éthiques:	88
V. RESULTATS:	89
1. Les caractéristiques socio-démographiques:	89
1.1. Le genre :	89
1.2. Age:	90
1.3. Ethnie:	91
1.4. Origine géographique:	92
2. Nombre de copies de <i>SMN1</i> :	93
2.1 Distribution du nombre de copies de <i>SMN1</i> dans la population générale:	93
2.2. Nombre de copies de <i>SMN1</i> en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité:..	94
2.3. Nombre de copies de <i>SMN1</i> en fonction des régions administratives d'origine.	95
2.4. Variabilité du nombre de copie de <i>SMN1</i> en fonction de l'ethnie:.....	96
2.5. Variabilité du nombre de copie de <i>SMN1</i> en fonction du taux de consanguinité: .	97
2.6. Variabilité du nombre de copies de <i>SMN1</i> en fonction des régions administratives:	97
VI. DISCUSSION:	99
VIII. CONCLUSION	102
IX. RECOMMANDATION	103
1. Aux autorités administratives et politiques:	103
2. Aux populations:	103

Liste des tableaux

Tableau 1: Stratification des étudiants de la FMOS et de la FAPH1

Tableau 2: Distribution du nombre de copies de *SMNI* en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité.4

Tableau 3: Distribution du nombre de copies de *SMNI* en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité.

Tableau 4: Distribution du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives d'origine.

Tableau 5: Variabilité du nombre de copie de *SMNI* en fonction de l'ethnie

Tableau 6: Variabilité du nombre de copie de *SMNI* en fonction du taux de consanguinité.

Tableau 7: Variabilité du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives.

Liste des figures :

Figure 1:Schéma représentant un neurone moteur myélinisé [7]	1
Figure 2: Schéma des différentes parties du cerveau [8].	5
Figure 3 : Coupe transversale de la moelle [8]	6
Figure 4 : Anatomie d'un nerf périphérique [9]	
Figure 5: Situation géographique de la Faculté de Médecine d'Odontostomatologie et de Pharmacie dans le district de Bamako	
Figure 6: Répartition des étudiants en fonction du sexe	
Figure 7: Répartition des étudiants en fonction de l'âge	
Figure 8: Répartition des étudiants selon les différents groupes ethniques	
Figure 9: Répartition des étudiants selon les régions administratives d'origine	
Figure 10 : Détermination du nombre de copies de <i>SMNI</i> dans la population générale	

I. Introduction :

L'amyotrophie spinale appelée (SMA) est une maladie non traitable qui constitue la première cause de mortalité infantile d'origine héréditaire et la seconde cause de décès par maladie autosomique récessive après la fibrose kystique [1]. C'est une maladie autosomique récessive due à des troubles musculaires caractérisés par une dégénérescence des cellules de la corne antérieure dans la moelle épinière aboutissant à une faiblesse de la branche proximale et les muscles du tronc. Il existe trois à quatre types d'amyotrophies spinales classées en fonction de l'importance de l'atteinte et de l'âge du patient à l'apparition des premiers symptômes [2].

Le **Type 1** ou amyotrophie spinale progressive (maladie de Werdnig- Hoffmann) se manifeste durant la phase intra-utérine ou au cours des deux premiers mois de la vie. Ces enfants atteints sont incapables de tenir la tête droite, de sucer ou de déglutir ni de s'asseoir.

Le **Type 2** ou amyotrophie spinale intermédiaire apparaît entre 6 mois et 2 ans. Certains patients parviennent à rester assis, rarement se tenir debout et souvent à marcher à l'aide d'un appui.

Le **Type 3** ou amyotrophie spinale juvénile (maladie de Kugelberg Welander) dans laquelle les premiers symptômes apparaissent entre 2 et 17 ans. Les altérations sont moins graves et la progression de la maladie est lente. L'atteinte est plus accentuée au niveau des membres inférieurs que supérieurs et ces patients n'ont besoin que d'une assistance limitée.

Le **Type 4** ou amyotrophie spinale adulte atteint les personnes âgées de 30 à 40 ans. La manifestation des premiers symptômes est insidieuse et la progression très lente.

La SMA est caractérisée par une absence du gène *SMN1* qui code pour la protéine SMN [3].

Des études génétiques ont montré que la localisation du gène *SMN1* est sujette à de multiplications, le nombre de copies *SMN1* pouvant dépasser deux. Mais la littérature rapporte une différence dans la prévalence des porteurs sains et du nombre de copies de *SMN1* selon les populations. Ainsi, des études ont montré que le taux de porteurs sains de SMA était plus élevé dans les populations d'origine blanche que noire avec une prévalence de 1/12.500 et 1/112.000 et une incidence de 1/23 et 1/50 respectivement [4, 5]. En plus, une étude récente a trouvé que les populations d'origine noire avaient un nombre plus élevé de copies de *SMN1* se situant entre 3 et 4 alors que la moyenne dans la population blanche était de 1 copie de *SMN1* par allèle [6].

Cependant, de nos jours aucune étude quantifiant le nombre de copies de *SMNI* n'a été réalisée au Mali où la population pratique des mariages consanguins et ethniques en absence de test prénuptial, favorisant probablement cette anomalie génétique.

Face à cette problématique de portage sain probablement élevé dans la population générale malienne, nous avons décidé de mener cette étude avec les objectifs ci-dessous.

II. Les objectifs de l'étude

1. Objectif général :

- Etudier la distribution du nombre de copies du gène *SMNI* dans la population malienne et de comparer cela aux données publiées obtenues ailleurs.

2. Objectifs spécifiques :

- Déterminer le nombre de copies de *SMNI* en fonction des caractéristiques socio démographiques des étudiants de médecine et de pharmacie de Bamako.
- Déterminer la fréquence des porteurs sains de SMA en fonction des caractéristiques socio démographiques dans la population estudiantine des Facultés de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et de Pharmacie (FAPH) du Mali.
- Déterminer la prévalence de la consanguinité à la FMOS et à la FAPH.

III. Généralités

1. Anatomie du système nerveux:

Le système nerveux chez l'homme est constitué du système nerveux central qui comprend le cerveau et la moelle épinière et du système nerveux périphérique constitué de nerfs crâniens et spinaux. A cela s'ajoute un troisième système appelé système autonome ou involontaire considéré comme faisant partie du système nerveux périphérique.

1.1. Le neurone: [7]

C'est l'unité fonctionnelle du système nerveux central. Il est formé d'un noyau et d'un cytoplasme. Ce cytoplasme contient des filaments appelés neurofibrilles, des inclusions lipidiques et le réticulum endoplasmique rugueux (REG) ou Corps de Nils.

Le noyau est limité par une membrane nucléaire qui contient une chromatine et un nucléole. La forme du corps du neurone est variable suivant les différentes parties, sa taille varie de 0 à 1000 micromètres. Ce sont aussi des cellules excitables ce qui leur permet de produire et de conduire les potentiels d'action. Il existe des neurones moteurs et des neurones sensoriels dont chacun est divisé en trois parties: un corps cellulaire ou soma, les dendrites et l'axone.

- Le corps cellulaire ou soma
- Les dendrites: ce sont des prolongements qui se trouvent sur le corps cellulaire disposés de façon irrégulière avec de nombreuses ramifications à sa terminaison. Ce nombre varie également suivant les cellules.
- L'axone: appelé aussi cylindraxe est formé d'une tige allongée de surface lisse. Il n'existe qu'un seul axone par cellule nerveuse alors qu'il peut exister différentes dendrites. Le neurone moteur est situé au niveau de la moelle et la terminaison de l'axone au niveau de la plaque motrice du muscle qu'il innerve. Il se termine aussi par des arborisations irrégulières et ramifiées.

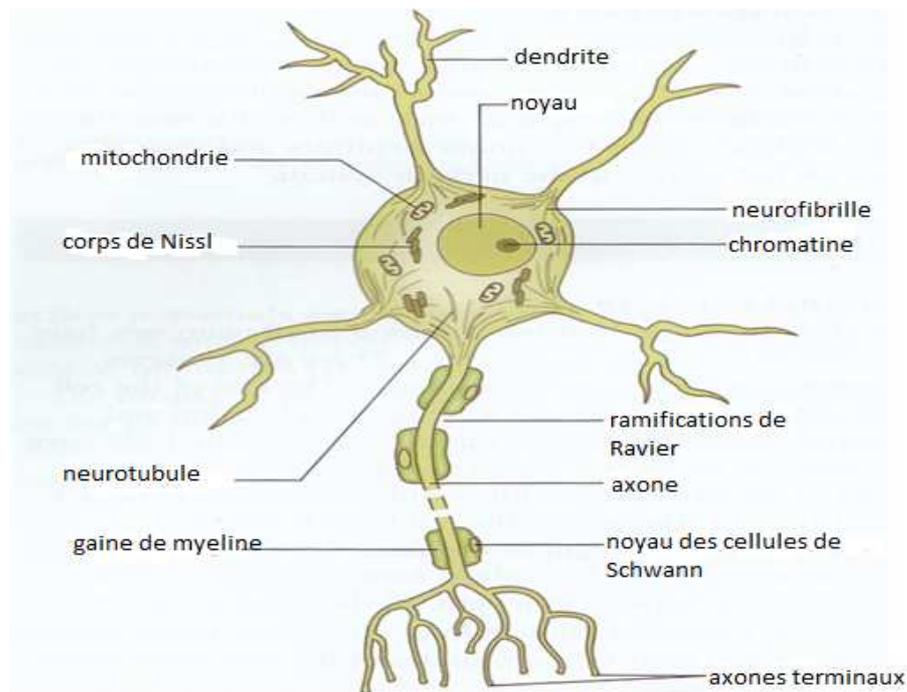


Figure 6: Schéma représentant un neurone moteur myélinisé [7].

1.2. Le système nerveux central [8].

1.2.1. Le cerveau

Le cerveau humain se compose de six parties: le télencéphale (hémisphères cérébraux), le diencephale (thalamus et l'hypothalamus), mésencéphale (cerveau moyen), le cervelet, la protubérance et le bulbe rachidien.

- Le cortex cérébral

Le cortex cérébral contient des zones sensorielles et les zones concernées par l'activité motrice.

Les zones sensorielles sont constituées d'aires sensorielles primaires et secondaires. Les aires sensorielles primaires sont constituées par les régions corticales. Ces zones jouent le rôle de l'intégration de l'expérience sensorielle.

Les zones concernées par l'activité motrice transmettent les impulsions liées à la fonction motrice, la modification du tonus musculaire et l'activité réflexe, la modulation de l'influx sensoriel et l'altération de la conscience.

- Le diencephale :

Composé du thalamus et l'hypothalamus, le diencephale est la partie la plus rostrale du tronc cérébral. Le thalamus est constitué de trois noyaux distincts : le noyau ventral postérieur, le

noyau ventral latéral, et le noyau ventral antérieur. Toutes les impulsions sensorielles se terminent dans les masses grises du thalamus à l'exception des impulsions olfactives. L'hypothalamus est impliqué dans les fonctions viscérales autonomes et endocriniennes.

- Le mésencéphale :

Il est divisé en trois parties : le tectum, la calotte, et les pédoncules cérébraux. La calotte et les pédoncules cérébraux sont séparés par la substantia nigra, un grand noyau dans le mésencéphale. Deux nerfs crâniens (les nerfs trochléaire et oculomoteur) se posent dans le mésencéphale, il contient aussi des noyaux importants pour les appareils auditifs et visuels.

- Le cervelet :

Le cervelet est l'organe de coordination, de l'équilibre et du tonus musculaire. Le cervelet contient une portion médiane appelée vermis cérébelleux, deux lobes latéraux et les hémisphères cérébelleux. Le vermis cérébelleux contrôle la plupart du temps la posture et les hémisphères cérébelleux contrôlent l'équilibre.

- Le pont :

Connu sous le nom de métencéphale, la protubérance représente la partie rostrale du cerveau postérieur. Il est divisé en deux parties: une partie dorsale appelée le tegmentum pontique, et une partie ventrale ou le bon pont. Les noyaux des nerfs crâniens y compris le visage, le nerf moteur oculaire externe, les nerfs trijumeaux et la cochlée se trouvent dans cette partie du tronc cérébral.

- La moelle

La moelle ou myélocéphale est le segment du cerveau la plus caudale de la tige. C'est la partie qui relie la moelle épinière au cerveau. Elle est le foyer de certains nerfs crâniens y compris l'hypoglosse, du nerf spinal, le nerf vague et le glossopharyngien.

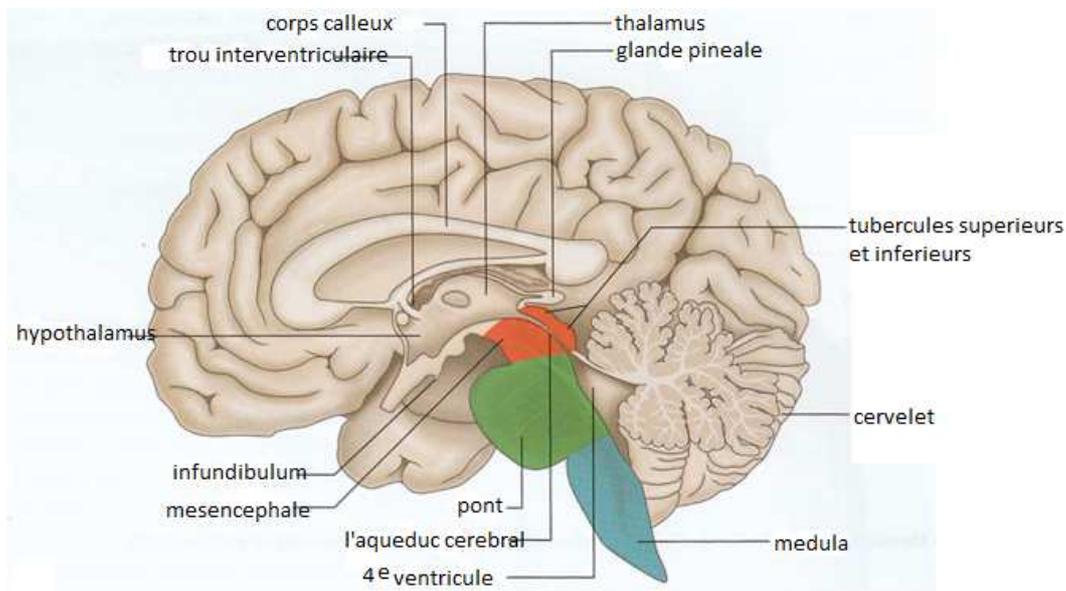


Figure 7: Schéma des différentes parties du cerveau [8].

1.2.2. La moelle épinière ou moelle spinale [8].

Elle est la partie du système nerveux qui se prolonge en dessous du tronc cérébral au niveau du bulbe rachidien. Elle est dans le canal rachidien qui la soutient et la protège, elle est faite de neurone et de cellules gliales. Son rôle est la propagation du message nerveux entre le cerveau et le reste du corps. Elle a une forme cylindrique aplatie d'avant en arrière. De haut en bas on note une région cervicale, thoracique, lombaire, sacrée et coccygienne. Le renflement cervical situé entre C4 et T1 est le point d'entrée et de sortie des neurones sensoriels et des motoneurones innervant les membres supérieurs et celui situé au niveau lombaire c'est-à-dire entre T10 et L1 regroupent les membres inférieurs.

En coupe transversale nous avons deux parties distinctes: une matière blanche qui est en périphérie les axones des neurones sensoriels et des motoneurones (faisceaux des fibres nerveuses à myéline) et une matière grise située au centre est constituée de corps cellulaire riche en neurones.

C'est aussi cette région qui entoure le canal ependymaire et provoque l'hypertrophie des ventricules cérébraux et le LCR. Trois enveloppes recouvrent et protègent la moelle, ce sont : la dure mère (face externe), l'arachnoïde et la pie-mère (au sein de la moelle). L'espace entre l'arachnoïde et la pie- mère contient du liquide céphalospinal (LCS) qui peut être prélevé au cours de la ponction lombaire. Elle possède en effet trois fonctions :

- Une première fonction descendante qui va relayer les informations motrices vers les muscles.
- Une deuxième fonction ascendante qui va véhiculer les informations sensorielles vers le cerveau.
- Une troisième fonction permettant la coordination de certains reflexes.

Donc le système nerveux central est composé de cellules nerveuses hautement spécialisées appelées neurones. Les cellules nerveuses établissent entre elles des connexions: les synapses. Des milliards de ces synapses contribuent au traitement d'un seul stimulus. Le message nerveux est acheminé par des fibres afférentes de la peau vers la moelle épinière jusqu'au cerveau, les axones qui les constituent sont généralement entourés d'une substance blanche appelée gaine de myéline. Cette gaine est générée par les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique et par les oligodendrocytes dans le système nerveux central.

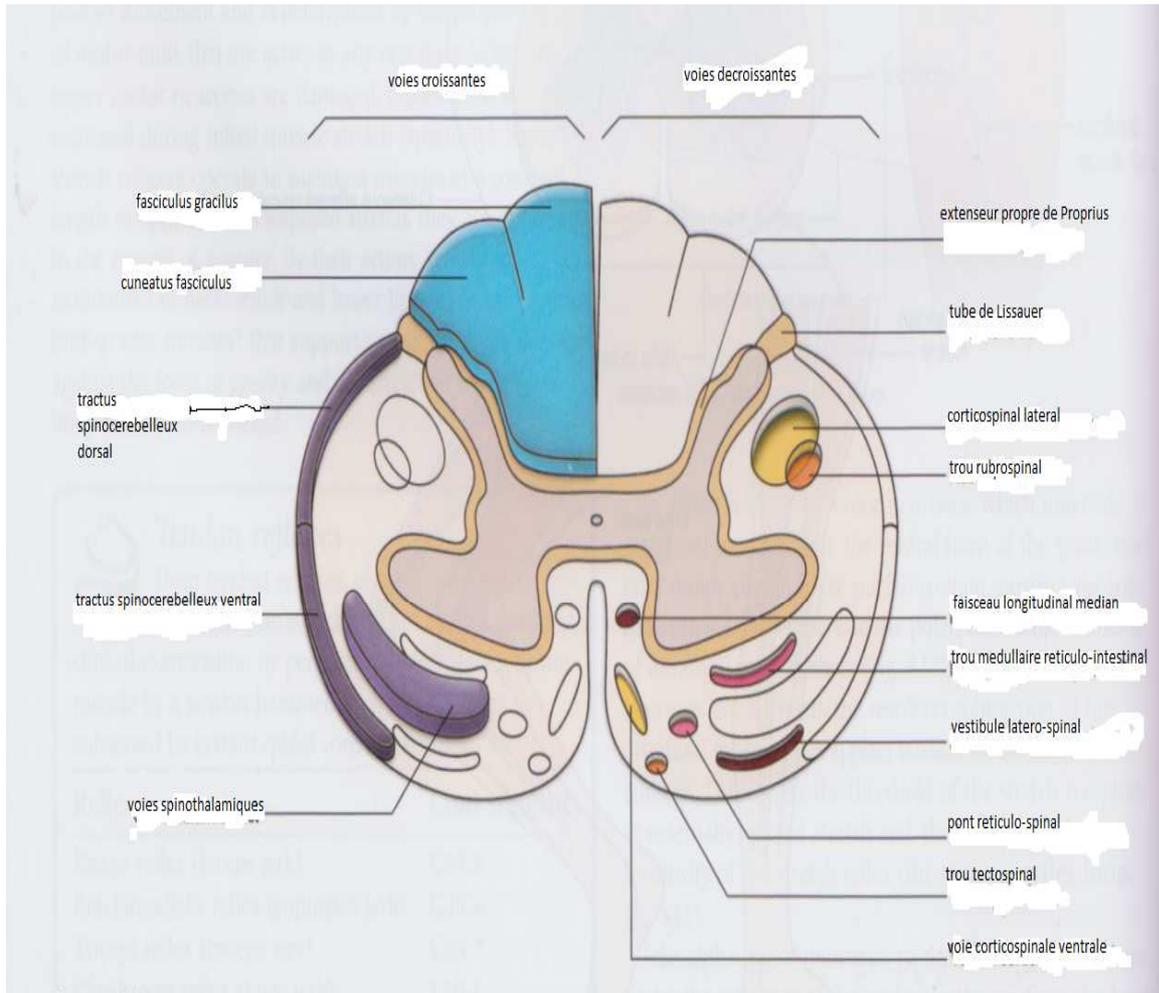


Figure 8 : Coupe transversale de la moelle [8]

1.3. Système nerveux périphérique : [9]

Il est constitué des racines spinales des nerfs rachidiens (nerfs spinaux) du plexus cervical, brachial, lombaire et sacré et les troncs nerveux constitués à leur tour de nerf médian, radial, ischiatique, fémoral entre autres.

Ce système est responsable de la propagation de la réception et du traitement des influx nerveux. Tous les muscles et les organes du corps dépendent de ces influx pour bien fonctionner.

Au niveau de la moelle épinière, une série de cellules sensibles en T ramènent le message nerveux de nature végétative ou motrice transmis par les capteurs sensoriels sensibles à la pression, à la température, au toucher, à la douleur ou à l'étirement (fuseau neuromusculaire) ; le corps cellulaire de cette cellule nerveuse étant exceptionnellement dans le ganglion spinal de la racine postérieure de la moelle va jusqu'à la moelle pour constituer la principale afférence de stimuli sensoriels. Ces stimuli peuvent informer le cerveau de façon consciente de ce qui se passe dans le corps ou dans notre environnement en vue d'une image conceptuelle, d'une mémorisation, d'un jugement ou d'une réponse volontaire ou en attente d'une régulation réflexe adéquate en parcourant des voies ascendantes dont les voies intéroceptives, proprioceptives consciente, inconsciente et extéroceptives. Ceux-ci subissent ensuite le rétrocontrôle du système nerveux par l'intermédiaire d'inter-neurones et des voies pyramidales ou extrapyramidales descendantes pour ensuite partir des cornes antérieures de la moelle épinière sous forme de fibres efférentes afin d'innover les organes vitaux ou les muscles. Finalement, le système nerveux agit souvent conjointement avec le système hormonal pour une très grande plasticité non pas selon la phrénologie mais selon les types de fibres afférentes associatives en aires sensorielles et motrices. Il est chargé de l'innervation du milieu intérieur concernant les viscères, les glandes exocrines et endocrines et la vasomotricité. Au plan moteur il innerve toutes les fibres musculaires lisses et au plan sensitif, il transmet la sensibilité viscérale, qui s'exprime par la sensation d'hyper péristaltisme, la douleur par tension ou réplétion des viscères creux, par compression d'épanchement intra péritonéal ou hypertrophie d'un viscère plein.

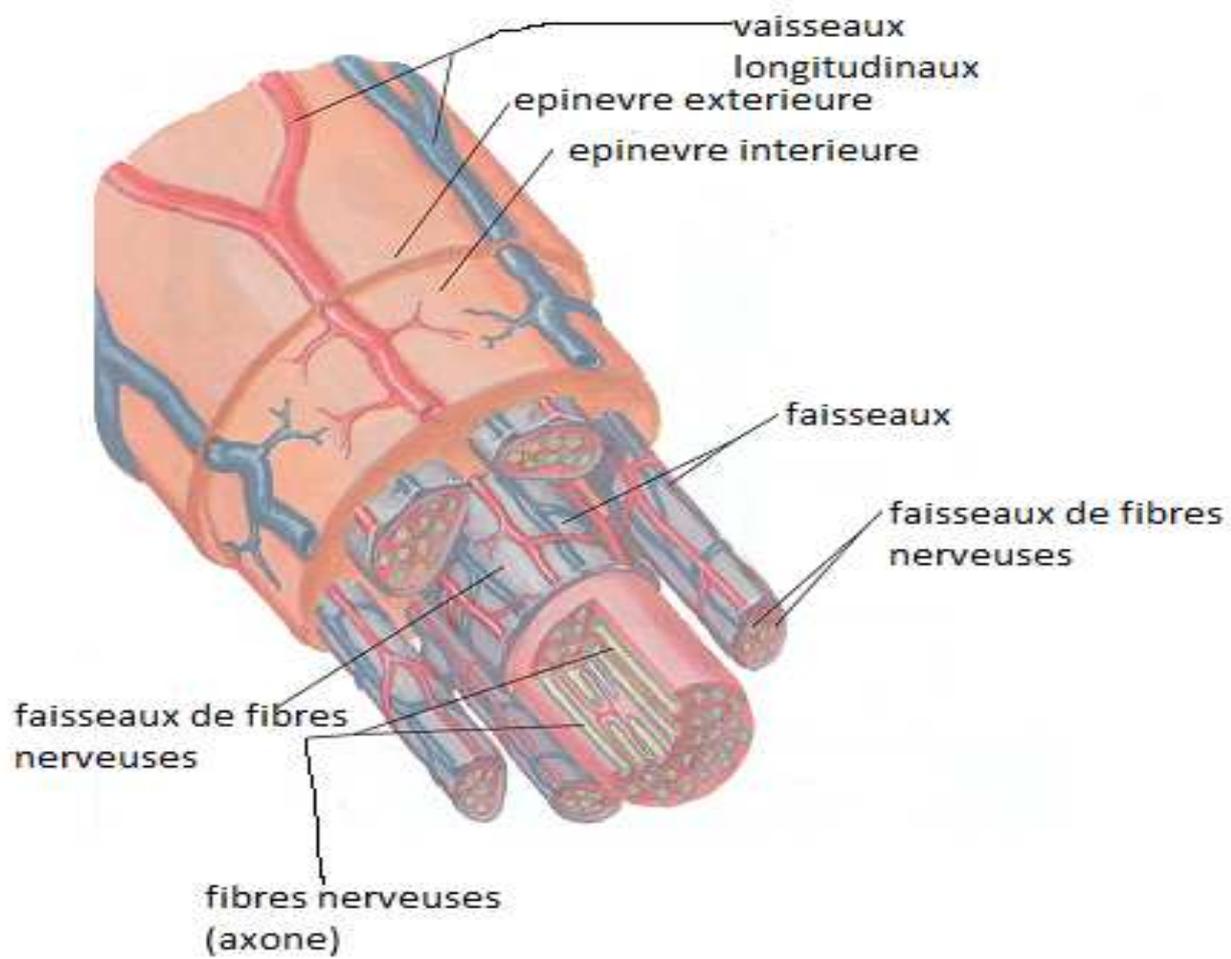


Figure 9 : Anatomie d'un nerf périphérique [9]

2. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux :

2.1. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux central

- **La maladie de Huntington** : C'est une affection autosomique dominante lente et progressive.

Le début se manifeste généralement à l'âge adulte, avec une moyenne de près de 40 ans. Cependant, l'apparition avant l'âge de 20 ans ou après 60 ans est bien décrite. La maladie progresse inexorablement et la mort survient environ 18 ans après à compter de la date d'apparition. La prévalence se situe entre 3 et 7 pour 100.000 hbts dans les populations de l'ouest d'origine européenne, mais la maladie de Huntington (HD) a été décrite dans les populations présentant un grand nombre différent d'ascendance.

La caractéristique neuropathologique de la maladie est la perte neuronale et une gliose dans le noyau caudé et le putamen (striatum) pouvant entraîner une atrophie. Les manifestations cliniques évoluent graduellement des mouvements involontaires, démence progressive, troubles psychiatriques, troubles de l'humeur et surtout vers les changements de personnalité comme le cas de la chorée, du parkinsonisme, de la dystonie, et les déficiences motrices involontaires avec des anomalies motrices mineures comme la maladresse, l'hyperréflexie et les troubles des mouvements oculaires apparaissent comme les premières manifestations de la HD. Le gène de la maladie est situé sur le chromosome 4p16.3 [10] et la mutation découverte une année plus tard par un groupe de recherche [11]. Des enquêtes présentées dans différentes parties du monde, y compris au nord-ouest de l'Europe, les États-Unis, la Scandinavie, l'Amérique du Nord, l'Australie, le Japon et l'Afrique du Sud, ont conduit à un général accord que la fréquence de la HD dans les populations d'origine européenne occidentale se situe entre 3 et 7 pour 100.000 habitants.

Cependant, avec cette interprétation, l'estimation de l'âge de début peut être plus difficile. HD peut commencer à tout âge. HD est caractérisée cliniquement par une maladie progressive qui se compose de troubles moteurs (principalement associés au système moteur extrapyramidal), altérations cognitives, et un dysfonctionnement psychiatrique. La HD n'a pas de signe spécifique ou unique présentant des symptômes.

Dans les premières phases, il ya une détérioration insidieuse et lente de la fonction intellectuelle ainsi que les changements de personnalité doux.

Avant la découverte du gène de la maladie, un diagnostic définitif de la HD serait faite en présence de (1) un antécédent familial en conformité avec la transmission autosomique dominante, un handicap moteur progressif impliquant à la fois le mouvement volontaire et involontaire, les troubles mentaux, y compris cognitive baissent, les troubles affectifs et / ou des changements de personnalité.

Il n'existe aucun traitement connu pour retarder la progression de la maladie. Mais cependant les neuroleptiques sont en mesure d'atténuer les mouvements choréiques dans une certaine mesure, mais les effets secondaires peuvent être graves. En effet un traitement aux antidépresseurs peut être utile dans les premiers stades pour atténuer les troubles de l'humeur.

- **La maladie d'Alzheimer:** Elle présente avec Lewy Body Variant et la démence fronto-temporale (FTD) les trois causes les plus fréquentes de démence de l'âge adulte et représentent ensemble une classe unique de maladies neurologiques. Ces malades présentent généralement à l'âge adulte du milieu à la fin une constellation de symptômes qui reflètent le dysfonctionnement et la dégénérescence des cellules nerveuses dans le cortex cérébral et d'autres régions du cerveau sélectionnées. Les symptômes cliniques de ces maladies varient mais comprennent des troubles progressifs de la mémoire et cognitifs plus les fonctions complexes telles que l'exécution des tâches motrices apprises (apraxie) et le raisonnement. Avec la forme FTD, le syndrome peut être éclipsé par des troubles du comportement (désinhibition, agressivité, etc.) et de la parole (aphasie) qui découlent de la participation du néocortex frontal. En plus, le symptôme FTD complexe comprend souvent des fonctionnalités supplémentaires telles que la rigidité musculaire, des tremblements, la bradykinésie (parkinsonisme) et une faiblesse musculaire du neurone moteur (amyotrophie). En revanche les caractéristiques de la AD et du LBV telles que les troubles de la mémoire récente et immédiate, les déficits dans la pratique, le raisonnement et le jugement, sont celles qui découlent de la participation du lobe temporal, l'hippocampe et le pariétal cortex associatifs avec de moindre implication des lobes frontaux (jusqu'à la fin de la maladie).

Par chevauchement LB et AD ont la plupart des caractéristiques cliniques et neuropathologiques mais se différencient par la présence d'éminentes hallucinations visuelles, la sensibilité aux tranquillisants comme la phénothiazine et la présence de Corps de Lewy dans le néocortex. Toutes les trois maladies présentent des caractéristiques des changements pathologiques dans le cerveau. En effet dans toutes ces trois maladies il ya perte importante de neurones dans certaines régions cérébrales corticales c'est-à- dire le néocortex hippocampe et la temporo-pariétale dans la AD et LBV et le cortex frontal dans la DFT.

Les gènes actuellement identifiés associés à un risque héréditaire de ces maladies représentent environ la moitié des facteurs génétiques probables responsables de ces maladies caractérisées par l'accumulation intracellulaire et / ou extracellulaire de protéines qui s'assemblent en fibrilles de feuilles plissées formes précoces de la maladie d'Alzheimer familiale. Des mutations dans ces gènes peuvent entraîner un traitement altéré avec un risque accru d'apparition tardive de la maladie d'Alzheimer (après 55 ans).

- La sclérose en plaque : C'est une maladie du SNC qui présente des symptômes très variés. Elle est caractérisée par la perte de myéline qui est une substance qui entoure les fibres nerveuses situées dans la moelle épinière et le cerveau.

Elle est plus répandue chez les femmes que chez les hommes et débute le plus souvent entre 20 et 40 ans avec comme symptômes handicap, troubles moteurs, troubles urinaires.

Les causes de la SEP sont méconnues mais cependant quelques facteurs de risques sont à l'origine de cette affection, des facteurs de prédisposition génétique peuvent être suspectés et 5 à 10% des malades sont porteurs d'antécédents.

Au début de la maladie les lésions peuvent se réparer et la maladie évolue insidieusement sous forme de poussées laissant dans un premier temps peu ou pas de séquelles. Le signe de Lhermitte est très évocateur correspondant aux décharges électriques dans les membres et le rachis après flexion de la tête.

Cependant il n'existe pas de test diagnostique permettant de détecter la maladie mais on se base sur un ensemble de signes et d'exams (IRM, RX thorax et ponction lombaire) pour déterminer si le patient est atteint ou non de la SEP.

- **La maladie de Parkinson :** La maladie de Parkinson est une maladie dégénérative qui résulte d'une mort lente et progressive de neurone du cerveau. Comme la zone du cerveau atteinte par la maladie joue un rôle important dans le contrôle de nos mouvements, d'où les personnes atteintes font peu à peu des gestes rigides saccades et incontrôlables. Les symptômes liés à la motricité apparaissent souvent de manière asymétrique, dans la plupart des cas le premier symptôme consiste en des tremblements rythmiques non contrôlables d'une main, puis de la tête et des jambes, se manifestant plus particulièrement au repos ou en période de stress.

La maladie touche plus souvent les personnes âgées de 55 ans et plus. En effet les hommes sont plus souvent touchés que les femmes. Une personne dont l'un des parents est atteint de la maladie présente un risque plus élevé d'être elle-même atteinte de la maladie. Mais la contribution génétique serait surtout importante chez ceux qui développent la maladie lorsqu'ils sont jeunes.

- **La sclérose latérale amyotrophique :** C'est une affection touchant le système nerveux central de l'adulte et entraînant une lésion des cellules nerveuses (neurones) qui provoque une paralysie progressive.

2.2. Les pathologies neurodégénératives du système nerveux périphérique

2.2.1. La maladie de Charcot –Marie – Tooth ou CMT :

Ce sont des neuropathies héréditaires sensitivomotrices liées à l'atteinte des nerfs périphériques qui relie la moelle épinière aux muscles. Ce sont des maladies génétiques rares dues à l'atteinte soit de la gaine de myéline qui est une enveloppe entourant les nerfs soit à l'atteinte de l'axone qui est appelé à conduire l'influx nerveux.

3. La SMA :

3.1. Historique de la SMA

Vers 1891, Guido Werdnig [12] rapporte les deux premiers cas d'une atrophie musculaire progressive, qui est une maladie familiale à laquelle il donne alors son nom. En 1889, entre la fin du 19^{ème} siècle et le début du 20^{ème} siècle, Johann Hoffmann décrit quatre autres cas d'«atrophie musculaire progressive» et rattache son nom à cette maladie, devenue depuis la maladie de Werdnig Hoffmann.

Vers les années 1899, Sevestre décrit un cas de paralysie flasque chez un nouveau-né. C'est ainsi que d'autres formes congénitales de la maladie auraient été décrites par Hermann Oppenheim vers 1900 sous l'appellation de «myotonie congénitale» renommée dès le début du 20 siècle c'est-à-dire vers 1908 par Collier et Wilson «amyotonie congénitale». L'existence de formes anténatales est évoquée pour la première fois avec la description vers les années 1902 par Beavor d'anomalies de la mobilité intra-utérine chez des mères ayant donné naissance à des enfants atteints d'amyotrophie spinale.

En effet, vers les années (1954 et 1956) [13] Kugelberg et Welander décrivent la forme débutante après l'âge de la marche, d'évolution lente et qui prendra plus tard le nom de maladie de Wohlfart Kugelberg Welander.

La première prospection consacrée à la maladie de Werdnig Hoffmann paraît vers 1950.

Les nombreuses études cliniques et génétiques de ces dernières années aboutissent à la conviction de l'homogénéité génétique des maladies de Werdnig Hoffmann et Kugelberg

Welander par la localisation du gène responsable en 1990 [14] et son identification en 1995 [3].

3.2. Epidémiologie

En effet les études épidémiologiques sur les amyotrophies spinales sont rares. Avec une incidence variant de 1/6 000 à 1/10 000 naissances vivantes selon les auteurs et une fréquence de porteurs sains de 1/35 à 1/50 dans les populations étudiées, l'amyotrophie spinale est, après la dystrophie musculaire de Duchenne, la maladie neuromusculaire la plus fréquente chez l'enfant [15, 16]. Elle est l'une des premières causes héréditaires de mortalité infantile.

La prévalence est très variable selon les études. Un individu sur 40 est porteur sain toutes formes confondues dans les populations caucasiennes. Un individu sur 80 est porteur sain du type I. Dans tous les types, le sexe-ratio (femmes/hommes) témoigne d'une nette prédominance masculine [17].

La consanguinité est un facteur favorisant surtout dans les pays méditerranéens et moyen orientaux où la prévalence est parfois très élevée [17]. Cette affection est la maladie génétique présentant le plus grand nombre de décès d'enfants âgés de moins de deux ans. Alors que des études antérieures ont indiqué que la fréquence des porteurs de SMA était similaire dans le monde entier, Zaldivar et al.[4] ont découvert que l'incidence de SMA du type 1 à Cuba est d'environ 1 sur 28 000 naissances vivantes. Quand la population était classée selon une ethnicité auto-rapportée, l'incidence était d'environ 1/12 500 pour les blancs, 1/112 000 pour les noirs et 1/104 000 pour ceux d'ethnicité mixte. Par conséquent, l'étude a conclu que la SMA de type 1 pouvait survenir moins fréquemment dans les populations d'ascendance africaine.

3.3. Clinique

Le tableau clinique est dominé par un déficit moteur, une amyotrophie et une abolition des réflexes prédominant aux membres inférieurs et en proximal, et s'associe souvent à des déformations au niveau des membres inférieurs et du rachis. Cette affection est classée en quatre types sur la base de l'âge d'apparition du début des symptômes et la sévérité clinique [17].

Tout d'abord, en raison du chevauchement des âges théoriques d'apparition de chaque type de SMA, il n'est pas toujours évident de faire la distinction entre un type I et un type II, ou un type II et un type III. C'est surtout l'évaluation des capacités acquises par l'enfant (tenue de la tête, position assise, marche) qui permet de faire la différence.

De manière générale, la SMA peut être confondue avec les autres maladies neuromusculaires des nourrissons et des enfants qui présentent les mêmes symptômes (amyotrophies spinales distales ou atypiques, myopathies congénitales) [18].

3.4. Diagnostic proprement dit

Le diagnostic de SMA se fait par la recherche des signes cliniques mais est confirmé par un test génétique effectué à partir d'une simple prise de sang ou de salive. Le test va permettre de mettre en évidence l'anomalie ou l'absence du gène *SMN1* à l'origine de la maladie et ce dans la quasi totalité des cas (98,6 %). Le diagnostic moléculaire de la SMA se fait par la mise en évidence de la délétion de l'exon 7 par la méthode de QRT-PCR [17-19].

3.5. Diagnostiques différentiels

On trouve notamment les dystrophies musculaires et d'autres formes d'amyotrophies spinales (amyotrophie spino-bulbaire liée à l'X ou syndrome de Kennedy, amyotrophie spinale scapulo-péronière).

3.6. Examens complémentaires

3.6.1. L'électroneuromyographie (EMG)

Elle montre des signes d'atteinte diffuse de la corne antérieure de la moelle. Les enzymes musculaires sont normales ou modérément élevées [17].

Elle permet de confirmer l'origine neurogène de l'atrophie musculaire et d'éliminer le diagnostic de dystrophie musculaire. C'est un examen qui garde toute son utilité car il permet dans certains cas de retenir le diagnostic en l'absence d'étude génétique. Elle est d'autant plus délicate que le sujet est plus jeune [20]. La conduction nerveuse motrice et sensitive est normale. A l'aiguille électrode, on trouve des signes de dénervation:

- Au repos, on note des fibrillations, des fasciculations et des potentiels lents de dénervation prédominant aux membres Inférieurs.
- A l'effort, on recueille des potentiels d'amplitude élevée battant à haute fréquence avec une sommation temporelle [17].

3.6.2. Biopsie musculaire

La biopsie musculaire n'a pas d'indication dans l'amyotrophie spinale sauf chez le petit enfant lorsque l'interprétation de l'EMG est difficile. Quand elle est pratiquée, elle montre des lésions typiques de dénervation: faisceaux de fibres atrophiées avoisinant des fibres musculaires hypertrophiées avec absence d'infiltration graisseuse. L'étude histochimique met en évidence des altérations portant essentiellement sur les fibres de type 1 dans les formes de types I et II. Cet aspect est nettement différent de celui qui se caractérise par une nette prédominance des fibres de type 2 dans les types III et IV [21].

3.6.3. Les enzymes sériques

Les CPK sont souvent normales ou modérément augmentées. Cependant, des taux très élevés évoquant une myopathie peuvent être observés.

3.7. Traitement

Pour l'instant, il n'existe aucun traitement spécifique. Cependant, de nombreuses recherches sont prometteuses. Il existe aussi une autre approche, la thérapie cellulaire par cellule souche qui permet de restaurer la fonction des motoneurones. Mais en effet une prise en charge multidisciplinaire s'impose pour lutter contre l'installation des déformations que l'on doit éviter et assurer un accompagnement du patient et de sa famille et enfin une réinsertion sociale du patient [17].

3.8. Génétique

Chez l'homme il existe 25000 à 30000 gènes pour les 23 paires de chromosomes qui contiennent plus d'un milliard de protéines. Le gène *SMN1* fait partie d'une région dupliquée: (la copie télomérique de la duplication contient le gène *SMN1* et la centromérique contient le gène *SMN2*). Le *SMN1* est le principal gène de détermination de la SMA [22]. Tous les patients atteints de SMA ont une mutation de *SMN1* mais conservent une ou plusieurs copies intactes du gène *SMN2* [23].

Cette affection est due à une mutation du gène de survie du motoneurone *SMN1* sur le chromosome 5q13 [3]. C'est une maladie à transmission autosomique récessive (il est nécessaire que les deux parents transmettent l'anomalie génétique pour que la descendance présente l'affection). Autrement dit l'enfant n'est malade que si chacun des deux parents transmet un gène anormal. Dans ce cas il y a un risque sur 4 d'avoir un enfant atteint d'amyotrophie spinale et ce risque existe à chaque grossesse. Leur risque d'avoir un enfant qui est un porteur asymptomatique (hétérozygote) est d'environ 50 % et leur chance d'avoir un enfant non affecté qui n'est pas un porteur (homozygote non affecté) est d'environ 25 %. Habituellement, les frères et sœurs non affectés d'une personne atteinte de SMA ont deux chances sur trois ou 66,7 % de chance d'être des porteurs hétérozygotes.

Bien que les séquences des gènes *SMN1* et *SMN2* soient presque identiques, il existe une transition C>T silencieuse pendant la traduction dans une séquence activatrice d'épissure exonique du *SMN2* [24, 25]. Bien qu'homozygote, la délétion du gène *SMN1* est l'agent causal du facteur de SMA et le gène *SMN2* joue donc un rôle dans la modulation de la gravité du phénotype *SMN1* [26].

La délétion du gène *SMN1* montre l'apparition précoce de la maladie tandis que la sévérité de la maladie est principalement influencée par le nombre de copies du gène *SMN2*, donc le *SMN2* joue un rôle modificateur de la maladie et peut servir comme un outil de pronostic utile. Diverses méthodes ont été rapportées pour la détermination de la copie du gène SMN. Ces méthodes comprennent le dénaturé chromatographie liquide haute performance (DHPLC) et la polymérase chain- réaction en temps réel (qRTPCR).

Chez 95% des patients la SMA est due à la suppression du gène *SMN1* ou sa conversion en *SMN2*, tandis que chez 5% des patients, la maladie est causée par des point-mutations intra-géniques de *SMN1*. Cependant, Hendrickson et al. [6] ont rapporté que la fréquence de porteur-sains de la mutation du gène *SMN1* était différente entre les différents groupes ethniques lors des tests de fréquence du gène *SMN1* chez 1000 sujets anonymes dans chacun des cinq principaux groupes ethniques. Ainsi, en Amérique du nord la fréquence était 2,7% chez les caucasiens, 1,8.% chez les asiatiques, 1,1% chez les afro-américains et 0,8% chez les hispaniques. Ce taux relativement bas de porteur-sains dans la population d'origine africaine avait été retrouvé dans des études menées en Afrique, plus précisément en Afrique du Sud avec un taux de porteurs de *SMN1* à 1/50 et de 1/35 parmi les populations de noirs et blancs, respectivement [5]. De même des études antérieures ont révélé également dans d'autres pays comme l'Israël, l'Allemagne et l'Australie des fréquences de porteurs de 1/49, 1/40, et 1/25 à 1/35, respectivement [16, 27, 28] .

En effet la majorité de la population en général est porteuse d'un gène *SMN1* sur chaque copie du chromosome 5q13. Cependant, plus récemment, Hendrickson et al. [6] ont découvert un taux d'allèles étonnamment élevé avec trois copies ou plus de *SMN1* chez les Afro-américains en comparaison des autres groupes ethniques en Amérique du Nord.

La détection des délétions hétérozygotes du gène *SMN1* peut également apporter une aide au diagnostic positif d'amyotrophie spinale infantile [29]. Si le test génétique permet d'identifier avec certitude la maladie, il ne peut cependant pas prédire le degré de gravité de l'affection.

A l'état actuel de la recherche, deux facteurs permettent de prévoir la gravité de la maladie

- L'importance de la délétion: Les délétions très étendues correspondent à des phénotypes sévères (formes type I).
- Le taux d'expression de la protéine SMN: une réduction très marquée du niveau d'expression de la protéine SMN va de pair avec les formes graves de la maladie [21].

D'autres gènes voisins de SMN (NAIP: Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein) ont été également identifiés par d'autres chercheurs [29, 30].

IV. Méthodologie:

1. Cadre de l'étude:

Notre étude s'est déroulée à la faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS) et à la faculté de pharmacie (FAPH) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (U.S.T.T.B) situées sur la colline du Point «G».

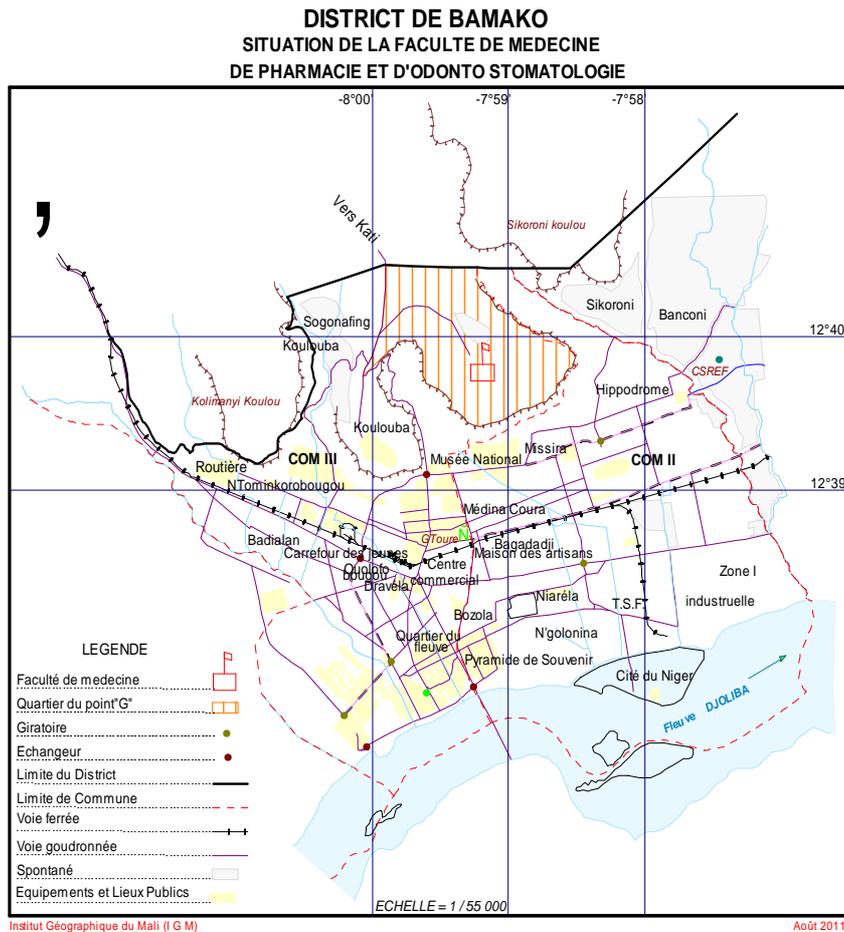


Figure 10: Situation géographique de la Faculté de Médecine d'Odontostomatologie et de Pharmacie dans le district de Bamako

Elles comptent 4380 étudiants dont 3275 en médecine et 1105 en pharmacie. Les sexes féminin et masculin représentent respectivement 25,2 et 74,8%.

Un décanat comprenant un doyen, un vice doyen, un secrétaire principal, un agent comptable gère les facultés. Le décanat est appuyé par un personnel administratif et technique.

Diverses nationalités africaines viennent pour la formation initiale dans ces deux facultés.

Tableau 2: Stratification des étudiants de la FMOS et de la FAPH.

Nationalités	Effectifs	%
Algérienne	3	0,07
Béninoise	49	1,1
Burkinabé	5	0,1
Camérounaise	281	6,4
Comoréenne	4	0,1
Congolaise (Brazza)	3	0,07
Djiboutienne	6	0,1
Gabonaise	38	0,9
Guinéenne	1	0,02
Ivoirienne	12	0,3
Malienne	3908	89,2
Mauritanienne	9	0,2
Nigérienne	12	0,3
Tchadienne	14	0,3
Togolaise	34	0,8
Tunisienne	1	0,02
Total	4380	100

2. Type, lieu et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude transversale réalisée à Bamako aux facultés de médecine (FMOS) et de pharmacie (FAPH) au Point «G». Elle s'est étendue sur une période de 2 ans allant du 26 Juillet 2010 à Juillet 2012.

3. Population d'étude :

Elle a porté sur la population estudiantine de la FMOS et de la FAPH.

3.1. Echantillonnage :

Le test exact de proportion (p) unique a été utilisé pour calculer la taille appropriée d'échantillon pour cette phase. On suppose qu'en cas de sélection aléatoire, on a 1 chance sur 50 de trouver un porteur dans la population générale. Par conséquent, notre hypothèse de différence nulle est p égales à 0,02 où la fréquence des porteurs sains équivaut à 1/50. Cette hypothèse est basée sur la fréquence des porteur-sains dans la population noire sud-africaine [5]. La seconde hypothèse correspond à un risque d'être porteur sain dans la population du Mali inférieur à 50 %. A l'aide d'un test bilatéral exact pour une proportion unique dans le logiciel PASS11, on a calculé une taille d'échantillon de 660 étudiants avec une puissance de 80% et un risque de première espèce alpha égale à 0,05.

3.2. Les critères de sélection:

3.2.1. Les critères d'inclusion:

Les étudiants de la FMOS, d'ascendance et de nationalité maliennes, âgés de 18 ans ou plus.

3.2.2. Les critères de non inclusion:

Les « étudiants assistants de recherche » ont été inéligibles pour la participation à cette étude aussi bien que les étudiants de la FMOS ayant refusé d'y participer.

4. Procédure de collecte des données :

La collecte des données a été réalisée comme suit :

4.1. Information:

Les participants ont été informés du déroulement de l'étude à travers des prospectus expliquant le protocole de façon détaillée. (Cf.annexes).

4.2. Remplissage des questionnaires

Pour le remplissage des questionnaires, nous avons utilisé une fiche d'enquête individuelle anonyme. Le formulaire d'enquête comportait six parties à savoir : les informations personnelles, les antécédents médicaux, les antécédents médicaux familiaux, autres informations utiles, les paramètres mesurables et enfin les résultats des tests génétiques.

Pour un contrôle de qualité nous avons attribué des stickers individuels (numéro d'identification unique) à chaque sujet de notre étude. Les stickers numéros étaient appliqués au formulaire d'enquête, à la fiche de consentement et aux tubes de prélèvement.

4.3. Prise des paramètres physiques et hémodynamiques :

Des paramètres comme la tension artérielle systolique et diastolique (mm Hg), le poids (Kg) et la taille (cm) ont été pris avant les prélèvements par les investigateurs associés à l'aide d'appareil à tension, d'une bascule et d'un mètre ruban puis portés sur les fiches d'enquête .

4.4. Collecte de sang :

Il a été prélevé 6 ml de sang chez tous les sujets de notre étude. Les veines d'abord ont été selon les cas la veine radiale, la cubitale ou la centrale. Le matériel utilisé comprenait du coton hydrophile, de l'éthanol, des épicroâniennes, des garrots et des tubes mouillés (à héparine).

4.5. Compensation:

Les étudiants ayant participé à notre étude ont bénéficié d'une compensation financière correspondant à 3000 FCFA fixée par le comité d'éthique de la FMOS.

4.6. Extraction d'ADN :

4.6.1. Matériels :

Nous disposons pour l'extraction d'ADN de deux laboratoires bien équipés. Le matériel utilisé comprenait:

- des centrifugeuses pour tubes à 1.5 ml, 15ml et 50 ml
- un bain-marie
- un shaker
- un vortexer,
- un spectrophotomètre pour quantifier l'ADN
- des éprouvettes de 10 ml
- des aspirateurs électriques
- des pipettes 200/1000 et les embouts correspondants
- des tubes eppendorf de 1,5 ml pour la collecte de l'ADN et Falcon de 50 ml pour la centrifugation

4.6.2. Le kit d'extraction:

Le kit d'extraction Puregene Gentra (QIAGEN, Valencia, CA, USA) a été utilisé.

Il comprend:

- RBC Lysis Solution qui permet de détruire les globules rouges,
- Cell Lysis Buffer qui lyse les cellules comme son nom l'indique afin d'exposer l'ADN nucléaire,
- Protein Precipitation Solution qui permet de précipiter les protéines afin de faciliter leur débarras par centrifugation,
- RNase A Solution qui permet de se débarrasser de l'ARN,
- DNA Hydratation Solution qui permet la dissolution de l'ADN précipité à la dernière phase de l'extraction.

4.6.3. L'extraction d'ADN proprement dite:

Avant le déroulement de l'extraction d'ADN, de l'éthanol 70 % a été constitué à partir de l'éthanol 100 % dont on disposait. De l'isopropranolol a été recueilli dans un tube Falcon de 50 ml pour utilisation imtempesive. Au laboratoire, le sérum était extrait du sang total préalablement recueilli dans des tubes mouillés. La technique utilisée pour l'extraction de sérum est la suivante:

Après une centrifugation à 2000g pendant 5mn on a noté trois composants du sang à savoir les globules rouges à la base, une fine couche blanche leucocytaire appelée Buffy-coat au milieu et le sérum en surface qu'on a extrait à l'aide d'une pipette munie d'un embout de 1000 µl. Le sérum qui était ensuite recueilli dans deux tubes éppendorf de 1.5 ml pour le même échantillon puis conservé à moins 80 degré Celsius dans un congélateur au laboratoire.

Ensuite le kit Puregene Gentra (QIAGEN) a été utilisé pour extraire l'ADN à partir de la couche leuco-plaquettaire. Ce protocole permet l'utilisation d'une grande quantité de Buffy-coat et produit une quantité élevée d'ADN. Il est défini en fonction de la quantité de RBC qui est l'une des différentes solutions utilisées dans l'extraction d'ADN. Pour une quantité de 900 µl, 9ml ou 30ml de RBC recueillie soigneusement dans un tube propre de 50ml à l'aide d'un aspirateur électrique muni d'une éprouvette, on ajoute respectivement 300ul, 3ml ou 10ml de l'échantillon. Sachant que notre échantillon s'élève à 6ml, la quantité de RBC nécessaire était de 30ml x2. L'ensemble est laissé à la température ambiante (15-25°C) pendant 5mn ensuite tourner et retourner environ 10 fois puis centrifuger à 2000g pendant 2 mn. Le surnageant obtenu est éliminé tandis que le reste mis au vortex. Après on ajoute 6ml de cell lysis, on vortexe pendant 10s puis on additionne 2ml de protein precipitation solution et nous centrifugeons à 2000g pendant 5mn. Le surnageant est recueilli dans un tube propre de 50ml puis, à l'aide d'une pipette 1000, nous avons mis 6ml avant de tourner et retourner le tube 50 fois (à la suite de quoi les filaments d'ADN étaient devenus visibles) puis nous avons centrifugé à 2000g pendant 3mn. Soigneusement, le surnageant obtenu est éliminé et le tube renversé sur un mouchoir en papier propre en l'inclinant un peu. Nous avons ajouté 500µl d'éthanol à 70% puis remué brièvement afin de purifier l'ADN, ensuite nous avons centrifugé à 2000g pendant 1mn.

Attentivement, le surnagent est éliminé et le tube est une fois de plus renversé sur un mouchoir propre pendant un bref moment (15 mn). On y a ajouté environ 500µl de DNA hydratation solution puis vortexé pendant cinq secondes, ensuite nous avons incubé à 65°C pendant 1h afin de dissoudre l'ADN. Enfin, nous avons procédé à une brève centrifugation suivie d'une incubation à température ambiante dans un shaker toute la nuit.

4.7. Technique de QRT PCR et détermination du nombre de copies de SMN1:

La détermination du nombre de copies de *SMN1* a été effectuée au laboratoire de la branche de Neuro-génétique du National Institutes of Health (NIH) aux Etats-Unis par la quantitative polymérase chaîne réaction à temps réel (**qRT-PCR**).

Dans la méthode PCR les standards internes sont conçus pour être amplifiés avec les mêmes paires d'amorces pour la copie *SMN1* avec des performances similaires à ceux pour l'ADN génomique équivalent et le rapport des produits de PCR légèrement plus petites que les produits du PCR de *SMN1*. Le nombre de copies de *SMN1* est déterminé par coamplification de *SMN1* et la norme interne et les ratios sont quantifiés. En effet pour déterminer le nombre de copies de *SMN1*, nous avons utilisé le protocole suivant :

Avec un microlitre d'ADN qui correspond à la concentration de 100 nano grammes/microlitre d'ADN du même ADN par réaction dissoute dans 8 microlitres d'eau distillée pour avoir en fin de réaction 9 microlitres de solution d'ADN, ensuite on prend 1 microlitre de la solution de primer droit et gauche et du probe étiquetées de marqueurs fournis par Applied biosystems qui est dissoute dans 10 µl de TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (2X) pour obtenir 11 µl. Nous avons ensuite ajouté les deux solutions ci-dessus dans un puits du 384-well plate pour avoir 20 microlitres comme le volume total de la réaction. Pour chaque échantillon d'ADN on a répété la réaction trois fois pour le *SMN1* et trois fois pour le gène de contrôle qui est le gène beta-globin. Le 384-well plate a été chargé sur la machine de qRT-PCR 7900 T sequence detection System marque Applied Biosystems et le programme SDS2.2.1 a été utilisé.

En effet la qRT-PCR dure 2 heures et les données sont collectées et analysées dans un document Excel.

La fin du point de détection de l'amplification de fluorescence marquée par les produits de PCR est faite par fonctionnement des échantillons à travers cet analyseur. L'avantage majeur de cette technique est que la norme interne est amplifiée avec les mêmes amorces qui amplifient les séquences prévues.

Ainsi l'efficacité de l'amplification de l'ADN pour les patients et la norme interne d'ADN devrait être très similaire et permettre à chacun de déterminer exactement le nombre de copies du gène. Alternativement la détection en temps réel (plutôt que de mettre fin à la détection de point) des réactions de PCR multiplexes utilisant l'hydrolyse ou l'hybridation de sondes fluorescentes à d'autres usages de stratégies de normalisation y compris: la méthode de la courbe standard et la méthode du seuil de comparaison.

- L'utilisation de la méthode de la courbe standard : C'est une méthode construite à partir de l'ADN du nombre de copies connues. Cette courbe est comme un standard de référence pour l'extrapolation des informations quantitatives sur le nombre de copies de *SMNI*. Le cycle au cours de laquelle la courbe traverse une threshold précise appelée le seuil de cycle (CT). Les variations introduites des entrées d'ADN peuvent être corrigées par normalisation au facteur d'étalonnage.
- L'utilisation de la méthode du seuil : qui étudie les valeurs CT des échantillons d'intérêt sont comparées avec les valeurs CT des facteurs d'étalonnage. Les valeurs CT des deux étalonnages et les échantillons d'intérêts sont normalisés d'un gène endogène pour le contrôle interne.

La qRT-PCR est capable de détecter le nombre de copies des loci génomiques et peut être utilisée pour le test et le diagnostic de SMA aussi bien que l'état des porteurs. Les avantages clés de la qRT-PCR comprennent l'extrême sensibilité permettant la détection d'au moins 5 copies (peut être une seule copie dans certains cas) d'une séquence ciblée rendant possible d'analyser les petits échantillons telle que seule l'analyse des cellules à des fins pré implantations pour le diagnostic génétique avec le standard approprié et le calcul de la variation moyenne des coefficients sont 5 à 10% permettant l'analyse reproductible du nombre de copies du gène. En temps réel les plateformes sont relativement rapides avec certains offrant à haut débit d'automatisation.

Et aussi en temps réel les plateformes sont réalisées en fin de réaction dans des récipients qui n'exigent pas de réaction post PCR. De ce fait les chances de croiser une contamination au labo sont minimales. L'importance de la limite des techniques de PCR quantitative incluent des composés présents dans certains échantillons biologiques où de prélèvements d'échantillons peuvent inhiber la PCR (c'est-à-dire l'héparine par exemple)

4.8. Variables:

Les variables caractéristiques principales de notre étude étaient :

- variables qualitatives : le sexe, l'ethnie, la consanguinité etc...
- variables quantitatives : l'âge, le nombre de copies des gènes *SMN1* et *SMN2* etc... Les autres variables se trouvent dans la fiche d'enquête en annexe.

4.9. Traitement et analyse des données :

Le masque de saisie, la saisie et l'analyse des données ont été effectués dans les logiciels **SPSS** statistiques (version 17.0.0.236) et SAS 9.0.

Le logiciel Word 2007 pour Windows a été utilisé pour la rédaction scientifique. Les graphiques ont été réalisés dans le tableur Excel 2007 pour Windows.

Notre moteur de recherche et de citations bibliographiques a été le logiciel EndNote6.

Les tests statistiques utilisés furent:

- le test de χ^2 (X2) qui compare deux ou plus variables qualitatives entre elles.
- le test d'analyse de la variance (ANOVA) qui compare une variable qualitative à des variables quantitatives.

4.10. Considérations éthiques:

Notre étude est un projet de recherche approuvé par les comités d'éthique malien (de la FMOS et FAPH) et américain (NIH, USA).

L'éligibilité des étudiants à notre étude était conditionnée à la formation aux consentements éclairés (verbal et écrits). L'exposé sur le consentement était présenté par un investigateur.

Cet exposé avait pour but de s'assurer que chaque participant avait compris dans les détails tous les points importants de l'étude à savoir : le caractère volontaire de la participation, le but de l'étude, un rappel sur la SMA, les critères de participation, les procédures, les risques et désagréments, la confidentialité et la compensation financière.

Les fiches d'enquête établies étaient dotées de numéros de sticker afin de garantir l'**anonymat** des participants et **la confidentialité** des informations recueillies. Le même numéro était retrouvé sur la fiche d'enquête et sur le tube de prélèvement pour un même participant.

Des numéros de téléphone des participants ont été répertoriés pour la retro information.

Toutes les données, y compris un fichier principal reliant les numéros d'échantillons d'ADN aux participants ont été stockées dans un serveur institutionnel sécurisé.

Le retrait des participants à notre étude était volontaire à tout moment.

V. RESULTATS:

Cette étude transversale s'étendant sur une période de deux ans s'est déroulée entre Juillet 2010 et Juillet 2012 avec un effectif de 660 étudiants dont 467 garçons (0,83%) et 193 (0,34%) filles.

L'éligibilité dans notre étude exigeait :

- le consentement éclairé;
- la nationalité Malienne;
- l'ascendance Malienne;
- les sujets âgés d'au moins 18 ans, sans distinction de race, d'ethnie, de religion ni de sexe.

La moyenne d'âge des sujets de notre étude était de $21,7 \pm 0,2$ avec une étendue de 18-36 ans sensiblement égale à 18.

1. Les caractéristiques socio-démographiques:

1.1. Le genre :

Le sexe masculin était le plus souvent représenté avec un effectif de 467 étudiants, soit environ 71%. Nous notons un rapport de masculinité (sexe ratio) égale à 2,41.

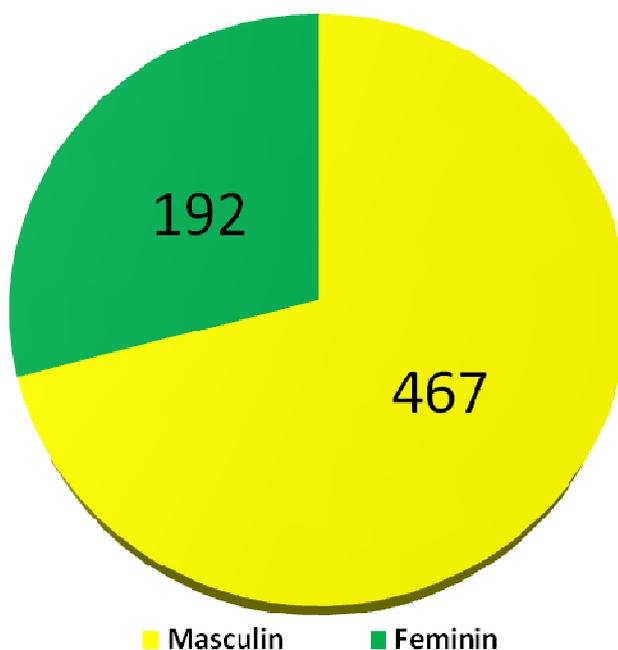


Figure 6: Répartition des étudiants en fonction du sexe

1.2. Age:

La classe modale d'âge de notre série était 18 et 22 ans.

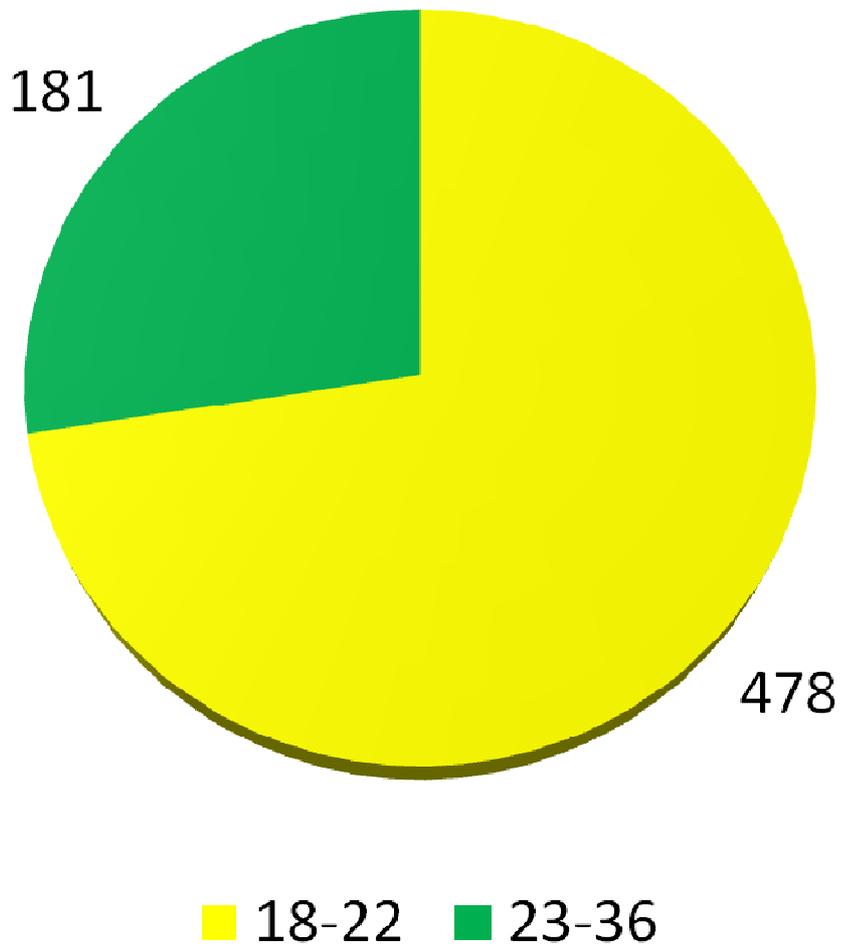


Figure 7: Répartition des étudiants en fonction de l'âge

1.3. Ethnie:

Dans notre étude, les Bamanans étaient majoritaires avec un pourcentage de 28,1% suivis des Peulh, les Minianka et les Sarakolés avec respectivement 10,9%, 9,9% et 8,8%.

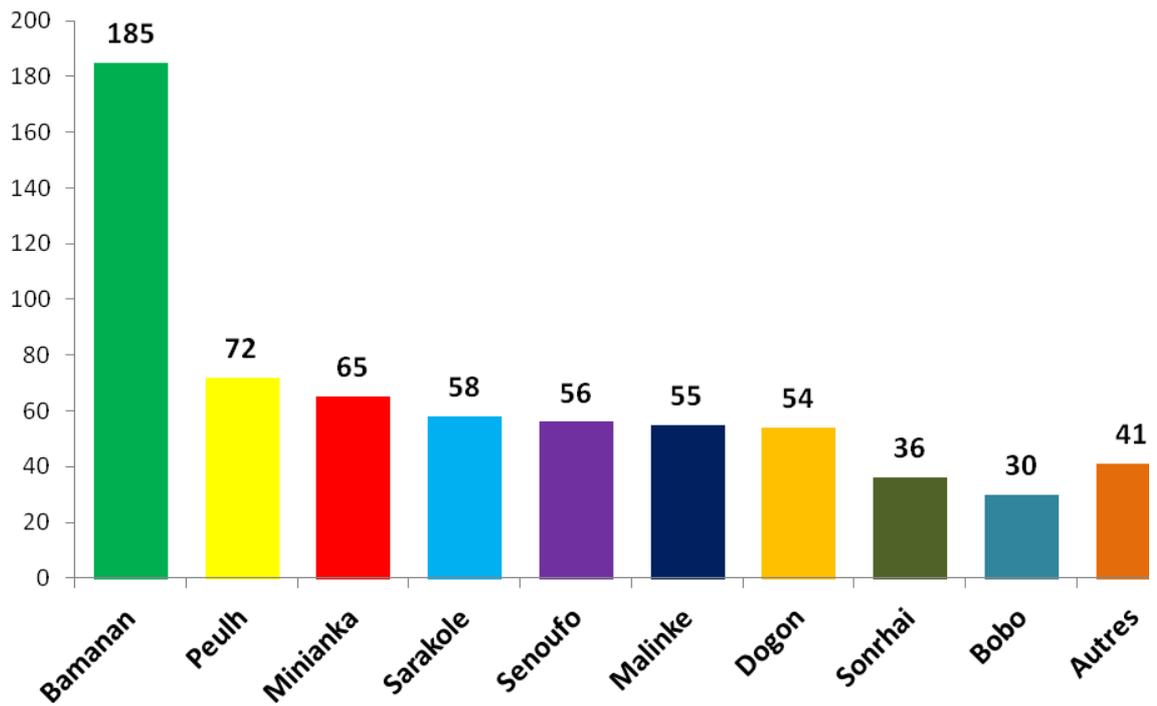


Figure 8: Répartition des étudiants selon les différents groupes ethniques

1.4. Origine géographique:

La région de Sikasso était la plus représentée avec un effectif de 210 étudiants, soit 38%, alors que les étudiants provenant de Kidal ne représentaient que 0,3%.

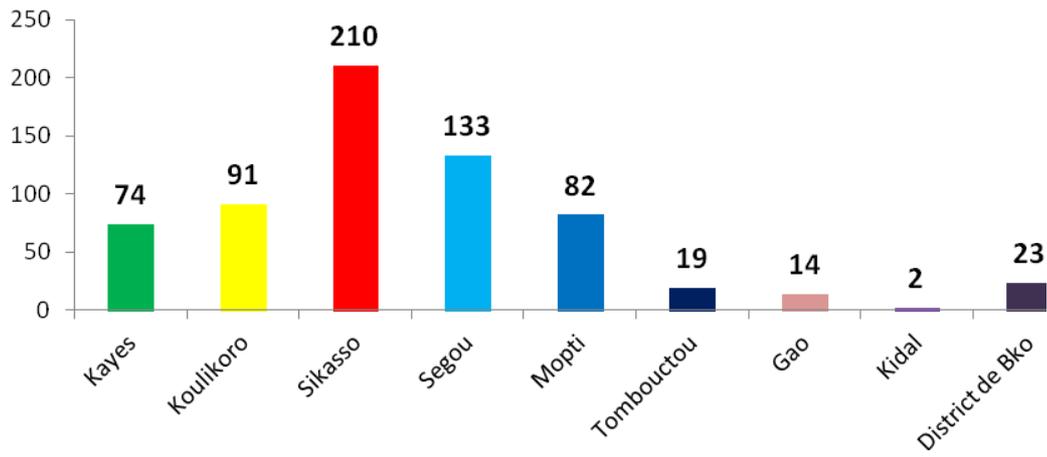


Figure 9: Répartition des étudiants selon les régions administratives d'origine

2. Nombre de copies de *SMN1*

2.1 Distribution du nombre de copies de *SMN1* dans la population générale:

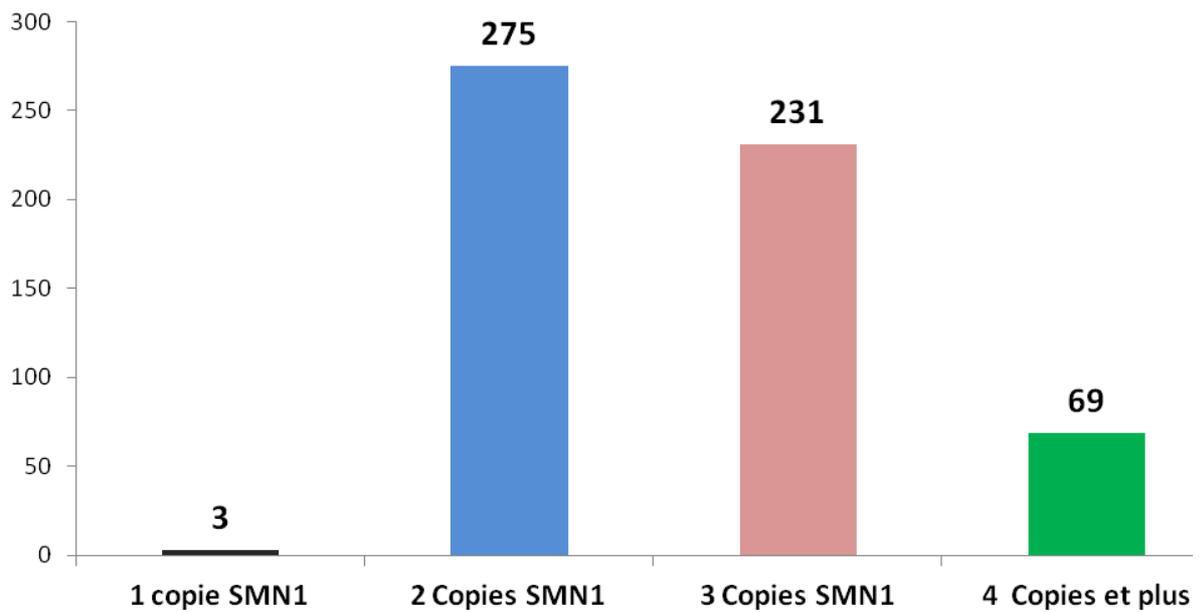


Figure 10 : Détermination du nombre de copies de *SMN1* dans la population générale.

Les sujets de notre étude ayant une copie de *SMN1* était au nombre de trois soit 0,52% et représentaient les porteurs sains de la SMA. Ceux de deux, trois et quatre copies et plus représentaient respectivement 275 (41,7%), 231 (35,1%) et 69 (10,5%).

Le nombre de copies le plus fréquemment rencontré était égal à 2.

2.2. Nombre de copies de *SMN1* en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité:

Tableau 3: Distribution du nombre de copies de *SMN1* en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité.

Variables		Nombre de copies de <i>SMN1</i>								Total	
		1		2		3		4+		n	%
		n	%	n	%	n	%	n	%		
Sexe	Masculin	3	100,0	197	71,6	156	67,5	48	69,6	404	69,9
	Feminin	0	0,0	78	28,4	75	32,5	21	30,4	174	30,1
CPM	Existence	1	33,3	48	17,5	30	13,0	13	18,8	92	16,2
	Absence	2	66,7	222	80,7	198	85,7	55	79,7	477	83,8
CGPM	Existence	1	33,3	35	12,7	23	10,0	6	8,7	65	11,2
	Absence	2	66,7	228	82,9	205	88,7	61	88,4	496	85,8
CGPP	Existence	2	66,7	45	16,4	22	9,5	8	11,6	77	13,3
	Absence	1	33,3	218	79,3	206	89,2	59	85,5	484	83,7
Ethnie	Bamanan	1	33,3	67	24,6	68	29,8	26	38,2	162	28,4
	Peulh	1	33,3	32	11,8	26	11,4	6	8,8	65	11,4
	Minianka	0	0	36	13,2	18	7,9	3	4,4	57	10,0
	Sarakolé	0	0	27	9,9	17	7,5	6	8,8	50	8,8
	Senoufo	0	0	25	9,2	16	7,0	5	7,4	46	8,1
	Malinke	0	0	26	9,6	22	9,6	3	4,4	51	8,9
	Dogon	1	33,3	21	7,7	20	8,8	6	8,8	48	8,4
	Sonrhahi	0	0	14	5,1	12	5,3	6	8,8	32	5,6
	Bobo	0	0	9	3,3	11	4,8	4	5,9	24	4,2
	Autres	0	0	15	5,5	18	7,9	3	4,4	36	6,3

4+: 4 copies et plus, **CPM:** consanguinité entre père et mère, **CGPM:** consanguinité entre grands parents maternels, **CGPP:** consanguinité entre grands parents paternels

L'analyse de ce tableau montre que le portage sain est exclusivement retrouvé dans le sexe masculin et intéresse trois groupes de populations culturellement et historiquement distinctes.

Le taux de consanguinité entre père et mère était de 16,2%, celui entre les grands parents maternels et paternels représentait 11,2% avec 13,3% pour les grands parents paternels.

Cependant, cette consanguinité n'a aucun effet sur le nombre de copies de *SMNI*. Toute fois, le nombre de copies de *SMNI* varie en fonction de l'ethnie avec les Bamanans ayant le nombre de copies les plus élevées 162 et 28,4 % suivis des Peulhs 65 et 11,4%, les Minianka 57 et 10,0% et les Malinké 50 et 8,8%. Le nombre de copie le plus faible a été rencontré chez les Bobo avec 24 et 4,2%

2.3. Nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives d'origine.

Tableau 4: Distribution du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives d'origine.

Régions	Nombres de copies de <i>SMNI</i>								Total	
	1		2		3		4+		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Kayes	0	0	27	9,8	34	14,7	4	5,8	65	11,2
Koulikoro	1	33,3	34	12,4	39	16,9	8	11,6	82	14,2
Sikasso	0	0	91	33,1	68	29,4	22	31,9	181	31,3
Ségou	0	0	56	20,4	43	18,6	16	23,2	115	19,9
Mopti	2	66,7	33	12,0	25	10,8	10	14,5	70	12,1
Tombouctou	0	0	9	3,3	6	2,6	4	5,8	19	3,3
Gao	0	0	7	2,5	6	2,6	0	0	13	2,2
Kidal	0	0	1	0,4	0	0	1	1,4	2	0,3
District de Bamako	0	0	11	4,0	7	3,0	3	4,3	21	3,6

Deux des trois porteur-sains, soit 66,7%, viennent de la cinquième région et l'autre de la deuxième région avec 33,3%.

Ainsi pour un nombre de copies égal a 2, 3, 4 et plus les régions de Sikasso et de Ségou sont les plus représentées respectivement avec 181 soit 31,3% et 115 soit 19,9% ; suivies des régions de Koulikoro avec 82 et 14,2% ; Mopti 70 et 12,1% ; Kayes 65 et 11,2%.

Le plus faible nombre de copies a été rencontré dans la région de Kidal avec 2 et 0,3%.

2.4. Variabilité du nombre de copie de *SMNI* en fonction de l'ethnie:

Tableau 5: Variabilité du nombre de copie de *SMNI* en fonction de l'ethnie

Ethnie	N	Moyenne	%	Nombre de copies de <i>SMNI</i>	
				Minimum	Maximum
Bamanan	185	2,73 ±0,05	28,37	1,00	4,00
Peulh	72	2,56 ±0,08	11,04	1,00	4,00
Minianka	65	2,42 ±0,07	09,96	2,00	4,00
Sarakolé	58	2,58 ±0,09	08,89	2,00	4,00
Senoufo	56	2,56 ±0,10	08,58	2,00	4,00
Malinké	55	2,54 ±0,08	08,43	2,00	4,00
Dogon	54	2,64 ±0,10	08,28	1,00	4,00
Sonrhai	36	2,75 ±0,13	05,52	2,00	4,00
Bobo	30	2,79 ±0,14	04,60	2,00	4,00
Autres	41	2,66 ±0,10	06,28	2,00	4,00
Total	652	2,63 ±0,02	100,00	1,00	4,00

Autres= Bozo, Ghana, Samogo, Kakolo, Tamacheq, Maure, Mossi, Gbandjé, Somono, Tamara, Koyaka, Kassonké, Dafing.

Le nombre moyen de copies de *SMN1* dans la population était $2,63 \pm 0,02$.

A l'analyse de ce tableau nous avons remarqué que 28,37 des Bamaman avaient un nombre moyen de copie de *SMN1* égale à $2,73 \pm 0,05$ suivis des Peulh représentant 11,04% pour un nombre moyen de copie équivalent à $2,56$ et les Minianka présentant une moyenne égale à $2,42 \pm 0,07$ avec une fréquence de 9,96.

2.5. Variabilité du nombre de copie de *SMN1* en fonction du taux de consanguinité:

Tableau 6: Variabilité du nombre de copie de *SMN1* en fonction du taux de consanguinité.

Consanguinité		N	Moyenne	%
CPM	Existence	103	$2,59 \pm 0,07$	15,87
	Absence	546	$2,64 \pm 0,03$	84,13
Total		649	$2,63 \pm 0,02$	100
CGPM	Existence	80	$2,52 \pm 0,08$	12,48
	Absence	561	$2,65 \pm 0,03$	87,52
Total		641	$2,63 \pm 0,02$	100
CGPP	Existence	85	$2,46 \pm 0,08$	13,26
	Absence	556	$2,66 \pm 0,03$	86,74
Total		641	$2,63 \pm 0,02$	100

CPM: consanguinité entre père et mère, **CGPM:** consanguinité entre grands parents maternels, **CGPP:** consanguinité entre grands parents paternels.

Il ressort de l'analyse de ce tableau que le nombre moyen de copie de *SMN1* semble sensiblement plus élevé en absence qu'en présence de consanguinité quelque soit le type de la descendance avec un nombre moyen de copies de $2,64 \pm 0,03$ pour CPM ; $2,65 \pm 0,03$ pour CGPM et $2,66 \pm 0,03$ pour CGPP.

2.6. Variabilité du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives:

Tableau 7: Variabilité du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives.

Régions	n	Moyenne	%
Kayes	74	2,64 ±0,07	11,41
Koulikoro	91	2,65 ±0,07	14,04
Sikasso	210	2,61 ±0,05	32,40
Ségou	133	2,65 ±0,06	20,52
Mopti	82	2,61 ±0,09	12,65
Tombouctou	19	2,73 ±0,18	02,93
Gao	14	2,46 ±0,14	02,16
Kidal	2	3,00 ±1,00	00,30
District de Bamako	23	2,61 ±0,16	03,54
Total	648	2,63 ±0,02	100,00

A la lumière de ce tableau nous avons constaté que 32,40% des ressortissants de la troisième région avait un nombre moyen de copies de *SMNI* correspondant à 2,61 ±0,05, 20,52% provenant de la région de Ségou une moyenne 2,65± 0,06, 14,04 et 12,65% des sujets venant des régions de Koulikoro et Mopti avec respectivement des moyennes égales à 2,65 ±0,07 et 2,61 ±0,09.

VI. DISCUSSION:

La constitution génétique normale voudrait que chacun ait deux copies du même gène, chacune provenant d'un des deux parents. Cependant, certaines régions génétiques telles que celles abritant le gène *SMN1* sont sujettes à de multiplication, donnant ainsi des nombres de copies de gènes supérieurs à deux.

L'amyotrophie spinale est une maladie héréditaire due le plus souvent à une délétion homozygote du gène *SMN1*. Les fréquences de porteurs sains rapportées dans la littérature varient entre 1/25 et 1/50 dans les populations étudiées, le plus souvent blanches [15, 16]. Bien que Hendrickson *et al.* aient rapporté une fréquence de porteur-sains deux fois ou plus moins élevée chez les afro-américains comparée aux caucasiens et aux asiatiques, aucune étude de grande envergure de dépistage de porteur-sains dans la population africaine n'avait été entreprise; l'étude sud-africaine se limitant aux parents de malades de SMA.

Notre étude a porté sur 578 sujets sains et a retrouvé un nombre moyen de copies de *SMN1* de 2,63 variant de 1 à 5 copies avec une fréquence de porteur-sains, c'est-à-dire du nombre de porteurs d'une seule copie de *SMN1* de 0,52%, soit 1/193. Cette fréquence est de loin inférieure à celles rapportées dans les populations occidentales telles que Israël, Allemagne et Australie variant entre 1/25 et 1/49 [16, 27,28], asiatiques de 1/47 [31] et même noires américaines [6]. Une revue de la littérature n'a retrouvé aucune description de SMA dans la population malienne [16, 27] bien que d'autres maladies autosomiques récessives y aient été décrites [32-34] et que le taux de consanguinité retrouvé dans cette étude soit relativement plus élevé que dans d'autres populations. En plus une consultation des registres du Service de Neurologie du Centre Hospitalier Universitaire du Point «G» n'a retrouvé qu'un seul cas non génétiquement confirmé de SMA. Cette rareté de la SMA dans la population malienne pourrait s'expliquer par ce très faible taux de portage sain mais aussi par la limitation de l'expertise et des moyens de diagnostic de cette maladie au Mali.

Le nombre de copies 2 correspondant au type sauvage est le plus souvent rencontré. Sa fréquence va de 78% en Corée du Sud [31] (Lee, TM, 2004), 83,5% en France [35], 90% en Taiwan [36] à 94% au Vietnam [37]. Cependant, ce pourcentage, bien toujours prédominant dans les populations d'origine noire africaine, est faible par rapport à celui des autres populations.

C'est ainsi que Hendrichson *et al.* rapportent 52,1% et notre étude 46,7% de nombre de copies égal à 2. Le pourcentage de participants avec un nombre de copies 3 et plus est de 52,6%.

Ce taux se rapproche de celui rapporté par Hendrickson dans la population noire américaine qui est de 47% mais est beaucoup élevé que ceux retrouvés dans d'autres études menées en Europe et en Asie. Ainsi, le pourcentage de participants avec un nombre de copies de *SMN1* de 3 ou plus est de 13,6 en France [35], 20% en Corée du Sud [31] alors qu'il est seulement de 5% au Vietnam [37]. De façon plus spécifique, la fréquence de porteurs de nombre de copies de *SMN1* de 4 ou plus dans notre étude est de 12,8% alors cette fréquence est presque nulle dans certaines populations occidentales. Ces nouvelles découvertes confirment les études antérieures menées sur les populations africaines et qui ont montré leur diversité. Ce nombre élevé de copies de *SMN1* pourrait s'expliquer par les blocs de haplotype qui apparaissent courts chez les africains, facilitant ainsi une duplication des régions génétiques par les crossing-over. Une autre explication pourrait être une pression génétique liée aux maladies infectieuses qui conditionneraient la structure génétique des africains.

Le Mali est un pays à forte tendance de mariages consanguins et intra-ethniques, augmentant ainsi le risque de maladies récessives. Nous avons retrouvé une prévalence de 16,1% de consanguinité entre le père et la mère. Bien qu'un peu élevée, cette consanguinité n'a eu aucune influence sur le nombre de copies de *SMN1*. Les maladies récessives étant le plus souvent précocement létales, une épuration génétique progressive pourrait expliquer ce phénomène et la rareté de cette maladie dans la population malienne.

Une variabilité du nombre de copies a été notée en fonction des ethnies. En effet, les ethnies classées mandingues (Bamanan, Soninké, Bobo) avaient le plus grand nombre de copies. Des études génétiques antérieures avaient montré une ressemblance génétique des peulhs aux occidentaux ou orientaux et divergence génétique des dogons par rapport aux autres populations environnantes [38]. Ici nous avons trouvé que deux des trois porteurs sains sont de ces populations avec un taux se rapprochant des populations occidentales.

Malgré le potentiel de mixture que les noirs américains auraient pu subir au cours de l'esclavage, Hendrickson et al. ont trouvé un nombre élevé de porteurs de 3 ou plus de copies de *SMN1*. Historiquement, les populations recherchées pour l'esclavage correspondaient à la stature des mandingues. Il est donc prévisible qu'elles aient la même structure génétique que les noirs américains.

De même une autre variabilité du nombre de copies notée en fonction des régions administratives a révélé que ce de la troisième, quatrième, deuxième et première régions représentant la partie sud du pays figurant dans la classe des mandingues ont un nombre de copies plus élevé 76,6% que ceux des régions du nord du Mali avec 18,1%. Ces régions du sud étant le berceau de l'esclavage d'où la similitude du nombre de copies avec ceux des noirs Américains.

VII. Contraintes de l'étude:

Des difficultés techniques comme la perte de certains échantillons soit par perte de sticker ou par extraction blanche (suite à une insuffisance de la quantité de sang prélevé) ont été rencontrées. Certains échantillons dont les fiches de consentement étaient disponibles n'ont pas été retrouvés. Aussi il y avait des échantillons sans consentement et la non disponibilité du matériel de PCR au Mali.

VIII. CONCLUSION

La SMA est une maladie autosomique récessive mortelle sans remède due à une dégénérescence des cellules de la corne antérieure de la moelle épinière. Cette affection survient en général depuis le bas âge provoquant des troubles neurologiques avec une impotence fonctionnelle empêchant le malade le plus souvent de s'asseoir, de se tenir debout ou de marcher.

L'objectif de notre étude était de déterminer la distribution du nombre de copies de *SMN1* dans la population Malienne et de comparer cela aux données obtenues ailleurs. Elle a permis :

- d'une part de savoir le nombre de porteurs sains 0,52% de *SMN1* dans la population estudiantine, de localiser ce portage sain parmi les différents groupes ethniques; 28,4% chez les Bamanan; 11,4% chez les Peulh; 10,0% chez les Minianka; 8,9% chez les Malinké; 8,8% chez les Sarakolé; les Dogon 8,4%; les Senoufo avec 8,1%; les Sonrhai 5,6%; les Bobo 4,2% et les autres avec 6,3% rencontrés au sein de la faculté provenant des différentes régions administratives et le District de Bamako,

- et d'autre part de nous renseigner sur le nombre de copies de *SMN1* 578 soit 100% qui est plus élevé dans les régions du sud que celle du nord du Mali. Ce nombre de copies égal à 578 est plus élevé chez les étudiants non issus du mariage consanguin que ceux issus de ce mariage. Nous pouvons formuler l'hypothèse que la consanguinité n'a pas influencé le nombre de copies de *SMN1*.

Par conséquent, cette étude a fourni non seulement des informations précieuses sur les personnes d'ascendance d'Afrique de l'Ouest en général et malienne en particulier, mais va servir également de base à plus d'investigations pour établir les raisons sous-jacentes de la variabilité du nombre de copies du SMN toutes populations confondues.

IX. RECOMMANDATION

1. Aux autorités administratives et politiques:

- Promouvoir et soutenir la formation des étudiants pour la recherche clinique.
- Equiper les laboratoires de neurogenetique de pointe pour la recherche clinique.
- Encourager le dépistage des maladies neurogenetiques dans les régions à faible nombre de copies de *SMN1*
- Mettre en place un système de surveillance et de visite à domicile des personnes suspectes de SMA et d'autres maladies neurogenetiques.

2. Aux populations:

- Sensibiliser la population sur les maladies héréditaires autosomique et récessives par les canaux d'information (medias écrits, téléviseurs et audio)
- Initier un conseil génétique sur les maladies autosomiques récessives chez toutes les personnes désireuses de procréer.
- Procéder à un diagnostic prénatal pour l'évaluation et la prise en charge de ces maladies héréditaires autosomiques et récessives.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Pearn, J., *Incidence, prevalence, and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy*. J Med Genet, 1978. **15**(6): p. 409-13.
2. Iannaccone, S.T., *spinal muscular atrophy*. Semin Neurol, 1998. **18**(1): p. 19-26.
3. Lefebvre, S., et al., *Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene*. Cell, 1995. **80**(1): p. 155-65.
4. Zaldivar, T., et al., *Evidence of reduced frequency of spinal muscular atrophy type I in the Cuban population*. Neurology, 2005. **65**(4): p. 636-8.
5. Labrum, R., J. Rodda, and A. Krause, *The molecular basis of spinal muscular atrophy (SMA) in South African black patients*. Neuromuscul Disord, 2007. **17**(9-10): p. 684-92.
6. Hendrickson, B.C., et al., *Differences in SMN1 allele frequencies among ethnic groups within North America*. J Med Genet, 2009. **46**(9): p. 641-4.
7. Crossman, A.R., Neary, D., , *Cells of the nervous system in Neuroanatomy: An illustrated colour text* C.A.a.N. D, Editor. 2010, Elsevier: Churchill, Livingstone, London. p. 29-32.
8. Crossman, A.R., Neary, D., *Introduction and overview.*, in *Neuroanatomy: An illustrated colour text*, R. Alan, Crossman and David Neary, Editor. 2010, Elsevier: Churchill, Livingstone, London. p. 67-86.
9. Felten, D.L., S. A. N., *Peripheral nervous system*, in *Netter's Atlas of neuroscience*, L. David, Felten., Anil, N., Shetty. , Editor. 2010, Saunders: Philadelphia. p. 135-206.
10. MacDonald, M.E., et al., *The Huntington's disease candidate region exhibits many different haplotypes*. Nat Genet, 1992. **1**(2): p. 99-103.
11. Warner, J.P., L.H. Barron, and D.J. Brock, *A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington's disease chromosomes*. Mol Cell Probes, 1993. **7**(3): p. 235-9.
12. Werdnig, G., *Two early infantile hereditary cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy, but on a neural basis. 1891*. Arch Neurol, 1971. **25**(3): p. 276-8.
13. Kugelberg, E., Welander, L., *Familial neurogenic spinal muscular atrophy simulating ordinary proximal dystrophy*. Acta Psychiatr. Scand., 1954. **29**: p. 42.
14. Gilliam, T.C., et al., *Genetic homogeneity between acute and chronic forms of spinal muscular atrophy*. Nature, 1990. **345**(6278): p. 823-5.
15. Ogino, S., et al., *Genetic risk assessment in carrier testing for spinal muscular atrophy*. Am J Med Genet, 2002. **110**(4): p. 301-7.
16. Smith, M., et al., *Population screening and cascade testing for carriers of SMA*. Eur J Hum Genet, 2007. **15**(7): p. 759-66.
17. Souirti, Z., Slimani, C., Birouk, N., Bouhouche, A., Belaidi, H., Kably, B., Benomar, A., Yahyaoui, M., Ouazzani, R., *Amyotrophies spinales progressives*. AMETHER, 2009. **1**(1): p. 18-21.
18. Corcia, P., et al., *[Genetics of motor neuron disorders]*. Rev Neurol (Paris), 2008. **164**(2): p. 115-30.
19. Bouhouche, A., et al., *High incidence of SMN1 gene deletion in Moroccan adult-onset spinal muscular atrophy patients*. J Neurol, 2003. **250**(10): p. 1209-13.
20. Lewelt, A., et al., *Compound muscle action potential and motor function in children with spinal muscular atrophy*. Muscle Nerve, 2010. **42**(5): p. 703-8.

21. Serratrice, G., Pelissier, J.F., Pouget, J., *Les maladies neuromusculaires*. MASSON, PARIS, 1994. **232**.
22. Anhuf, D., et al., *Determination of SMN1 and SMN2 copy number using TaqMan technology*. Hum Mutat, 2003. **22**(1): p. 74-8.
23. Lefebvre, S., et al., *Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy*. Nat Genet, 1997. **16**(3): p. 265-9.
24. Lorson, C.L., et al., *A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(11): p. 6307-11.
25. Lorson, C.L. and E.J. Androphy, *An exonic enhancer is required for inclusion of an essential exon in the SMA-determining gene SMN*. Hum Mol Genet, 2000. **9**(2): p. 259-65.
26. Arkblad, E., et al., *A population-based study of genotypic and phenotypic variability in children with spinal muscular atrophy*. Acta Paediatr, 2009. **98**(5): p. 865-72.
27. Feldkotter, M., et al., *Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy*. Am J Hum Genet, 2002. **70**(2): p. 358-68.
28. Basel-Vanagaite, L., et al., *Genetic carrier screening for spinal muscular atrophy and spinal muscular atrophy with respiratory distress 1 in an isolated population in Israel*. Genet Test, 2008. **12**(1): p. 53-6.
29. Essawi, M.L., et al., *Molecular analysis of SMN1 and NAIP genes in Egyptian patients with spinal muscular atrophy*. Bratisl Lek Listy, 2007. **108**(3): p. 133-7.
30. Mahadevan, M.S., et al., *SMA genes: deleted and duplicated*. Nat Genet, 1995. **9**(2): p. 112-3.
31. Lee, T.M., et al., *Quantitative analysis of SMN1 gene and estimation of SMN1 deletion carrier frequency in Korean population based on real-time PCR*. J Korean Med Sci, 2004. **19**(6): p. 870-3.
32. Traore, M., et al., *Novel mutation in the NHLRC1 gene in a Malian family with a severe phenotype of Lafora disease*. Neurogenetics, 2009. **10**(4): p. 319-23.
33. Meilleur, K.G., et al., *Hereditary spastic paraplegia and amyotrophy associated with a novel locus on chromosome 19*. Neurogenetics, 2010. **11**(3): p. 313-8.
34. Landouere, G., et al., *Novel mutation in the ATM gene in a Malian family with ataxia telangiectasia*. J Neurol, 2013. **260**(1): p. 324-6.
35. Cusin, V., et al., *Prevalence of SMN1 deletion and duplication in carrier and normal populations: implication for genetic counselling*. J Med Genet, 2003. **40**(4): p. e39.
36. Su, Y.N., et al., *Carrier screening for spinal muscular atrophy (SMA) in 107,611 pregnant women during the period 2005-2009: a prospective population-based cohort study*. PLoS One, 2011. **6**(2): p. e17067.
37. Tran, V.K., et al., *SMN2 and NAIP gene dosages in Vietnamese patients with spinal muscular atrophy*. Pediatr Int, 2008. **50**(3): p. 346-51.
38. Tishkoff, S.A., et al., *The genetic structure and history of Africans and African Americans*. Science, 2009. **324**(5930): p. 1035-44.

I. Introduction :

La SMA appelée amyotrophie spinale est une maladie non traitable qui constitue la première cause de mortalité infantile d'origine héréditaire et la seconde cause de décès par maladie autosomique récessive après la fibrose kystique [1]. C'est une maladie autosomique récessive caractérisée par des troubles musculaires dus à une dégénérescence des cellules de la corne antérieure dans la moelle épinière aboutissant à une faiblesse de la branche proximale et les muscles du tronc. Il existe trois à quatre types d'amyotrophies spinales classées en fonction de l'importance de l'atteinte et de l'âge du patient à l'apparition des premiers symptômes [2].

Le **Type 1** ou amyotrophie spinale progressive (maladie de Werdnig- Hoffmann).

La SMA est caractérisée par une absence du gène *SMN1* qui code pour la protéine SMN [3].

Des études génétiques ont montré que la localisation du gène *SMN1* est sujette à de multiples duplications, le nombre de copies *SMN1* pouvant dépasser deux. Mais la littérature rapporte une différence dans la prévalence des porteurs sains et du nombre de copies de *SMN1* selon les populations. Ainsi, des études ont montré que le taux de porteurs sains de SMA était plus élevé dans les populations d'origine blanche que noire avec une prévalence de 1/12.500 et 1/112.000 et une incidence de 1/23 et 1/50 respectivement [4, 5]. En plus, une étude récente a trouvé que les populations d'origine noire avaient un nombre plus élevé de copies de *SMN1* se situant entre 3 et 4 alors que la moyenne dans la population blanche était de 1 copie de *SMN1* par allèle [6]. Cependant, de nos jours aucune étude quantifiant le nombre de copies de *SMN1* n'a été réalisée au Mali où la population pratique des mariages consanguins et ethniques en absence de test prénatal, favorisant probablement cette anomalie génétique.

Face à cette problématique de portage sain probablement élevé dans la population générale malienne, nous avons décidé de mener cette étude avec les objectifs ci-dessous.

II. Les objectifs de l'étude

1. Objectif général :

- Etudier la distribution du nombre de copies du gène *SMNI* dans la population malienne.

2. Objectifs spécifiques :

- Déterminer le nombre de copies de *SMNI* en fonction des caractéristiques socio démographiques des étudiants de médecine et de pharmacie de Bamako.
- Déterminer la fréquence des porteurs sains de SMA en fonction des caractéristiques socio démographiques dans la population estudiantine des Facultés de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS) et de Pharmacie (FAPH) du Mali.
- Déterminer la prévalence de la consanguinité à la FMOS et à la FAPH.

III. Généralités

1. Anatomie du système nerveux:

Le système nerveux chez l'homme est constitué du système nerveux central qui comprend le cerveau et la moelle épinière et du système nerveux périphérique constitué de nerfs crâniens et spinaux. A cela s'ajoute un troisième système appelé système autonome ou involontaire considéré comme faisant partie du système nerveux périphérique.

1.1. Le neurone: [7]

C'est l'unité fonctionnelle du système nerveux central. Il est formé d'un noyau et d'un cytoplasme. Ce cytoplasme contient des filaments appelés neurofibrilles, des inclusions lipidiques et le réticulum endoplasmique rugueux (REG) ou Corps de Nils.

Le noyau est limité par une membrane nucléaire qui contient une chromatine et un nucléole. La forme du corps du neurone est variable suivant les différentes parties, sa taille varie de 0 à 1000 micromètres. Ce sont aussi des cellules excitables ce qui leur permet de produire et de conduire les potentiels d'action. Il existe des neurones moteurs et des neurones sensoriels dont chacun est divisé en trois parties: un corps cellulaire ou soma, les dendrites et l'axone.

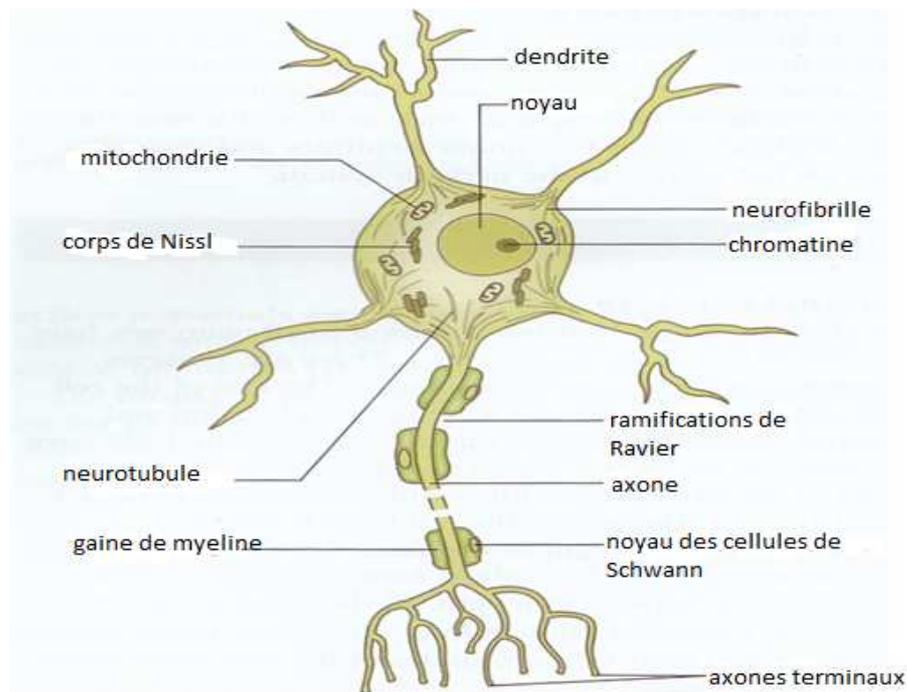


Figure 11:Schéma représentant un neurone moteur myélinisé [7].

1.2.1. Le cerveau

Le cerveau humain se compose de six parties: le télencéphale (hémisphères cérébraux), le diencephale (thalamus et l'hypothalamus), mésencéphale (cerveau moyen), le cervelet, la protubérance et le bulbe rachidien.

- Le cortex cérébral

Le cortex cérébral contient des zones sensorielles et les zones concernées par l'activité motrice.

Les zones sensorielles sont constituées d'aires sensorielles primaires et secondaires. Les aires sensorielles primaires sont constituées par les régions corticales. Ces zones jouent le rôle de l'intégration de l'expérience sensorielle.

Les zones concernées par l'activité motrice transmettent les impulsions liées à la fonction motrice, la modification du tonus musculaire et l'activité réflexe, la modulation de l'influx sensoriel et l'altération de la conscience.

- Le diencephale :

Composé du thalamus et l'hypothalamus, le diencephale est la partie la plus rostrale du tronc cérébral. Le thalamus est constitué de trois noyaux distincts :

le noyau ventral postérieur, le noyau ventral latéral, et le noyau ventral antérieur. Toutes les impulsions sensorielles se terminent dans les masses grises du thalamus à l'exception des impulsions olfactives. L'hypothalamus est impliqué dans les fonctions viscérales autonomes et endocriniennes.

- Le mésencéphale :

Il est divisé en trois parties : le tectum, la calotte, et les pédoncules cérébraux. La calotte et les pédoncules cérébraux sont séparés par la substantia nigra, un grand noyau dans le mésencéphale. Deux nerfs crâniens (les nerfs trochléaire et oculomoteur) se posent dans le mésencéphale, il contient aussi des noyaux importants pour les appareils auditifs et visuels.

- Le cervelet :

Le cervelet est l'organe de coordination, de l'équilibre et du tonus musculaire. Le cervelet contient une portion médiane appelée vermis cérébelleux, deux lobes latéraux et les hémisphères cérébelleux. Le vermis cérébelleux contrôle la plupart du temps la posture et les hémisphères cérébelleux contrôlent l'équilibre.

- Le pont :

Connu sous le nom de métencéphale, la protubérance représente la partie rostrale du cerveau postérieur. Il est divisé en deux parties: une partie dorsale appelée le tegmentum pontique, et une partie ventrale ou le bon pont. Les noyaux des nerfs crâniens y compris le visage, le nerf moteur oculaire externe, les nerfs trijumeaux et la cochlée se trouvent dans cette partie du tronc cérébral.

- La moelle

La moelle ou myélocéphale est le segment du cerveau la plus caudale de la tige. C'est la partie qui relie la moelle épinière au cerveau. Elle est le foyer de certains nerfs crâniens y compris l'hypoglosse, du nerf spinal, le nerf vague et le glossopharyngien.

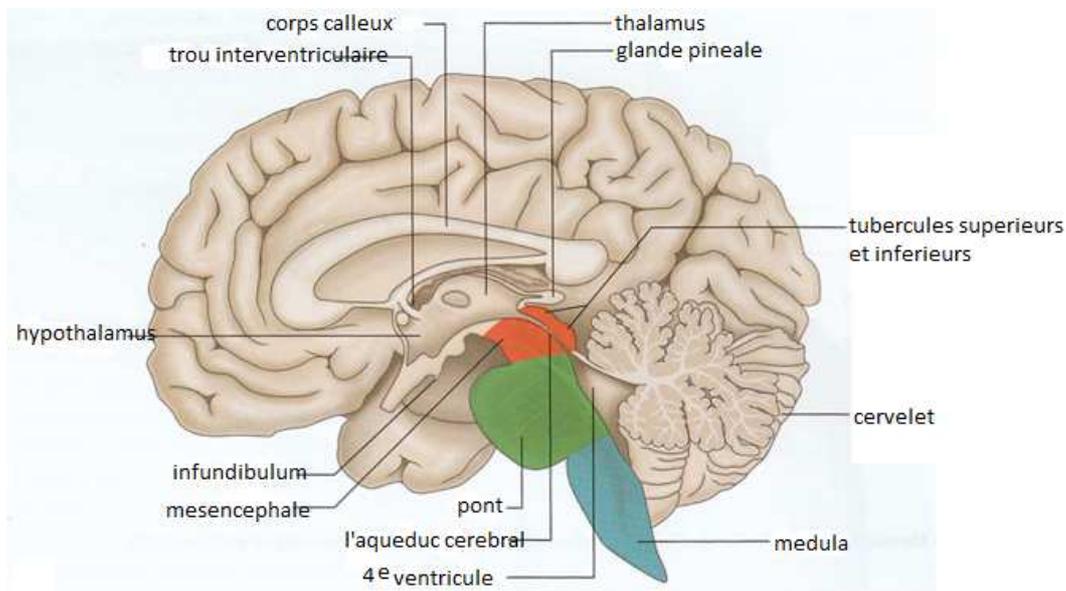


Figure 12: Schéma des différentes parties du cerveau [8].

1.2.2. La moelle épinière ou moelle spinale [8].

Elle est la partie du système nerveux qui se prolonge en dessous du tronc cérébral au niveau du bulbe rachidien. Elle est dans le canal rachidien qui la soutient et la protège, elle est faite de neurone et de cellules gliales. Son rôle est la propagation du message nerveux entre le cerveau et le reste du corps. Elle a une forme cylindrique aplatie d'avant en arrière. De haut en bas on note une région cervicale, thoracique, lombaire, sacrée et coccygienne. Le renflement cervical situé entre C4 et T1 est le point d'entrée et de sortie des neurones sensoriels et des motoneurones innervant les membres supérieurs et celui situé au niveau lombaire c'est-à-dire entre T10 et L1 regroupent les membres inférieurs.

En coupe transversale nous avons deux parties distinctes: une matière blanche qui est en périphérie les axones des neurones sensoriels et des motoneurones (faisceaux des fibres nerveuses à myéline) et une matière grise située au centre est constituée de corps cellulaire riche en neurones.

C'est aussi cette région qui entoure le canal ependymaire et provoque l'hypertrophie des ventricules cérébraux et le LCR. Trois enveloppes recouvrent et protègent la moelle, ce sont : la dure mère (face externe), l'arachnoïde et la pie-mère (au sein de la moelle). L'espace entre l'arachnoïde et la pie-mère contient du liquide céphalospinal (LCS) qui peut être prélevé au cours de la ponction lombaire. Elle possède en effet trois fonctions :

- Une première fonction descendante qui va relayer les informations motrices vers les muscles.
- Une deuxième fonction ascendante qui va véhiculer les informations sensorielles vers le cerveau.
- Une troisième fonction permettant la coordination de certains reflexes.

Donc le système nerveux central est composé de cellules nerveuses hautement spécialisées appelées neurones. Les cellules nerveuses établissent entre elles des connexions: les synapses. Des milliards de ces synapses contribuent au traitement d'un seul stimulus. Le message nerveux est acheminé par des fibres afférentes de la peau vers la moelle épinière jusqu'au cerveau, les axones qui les constituent sont généralement entourés d'une substance blanche appelée gaine de myéline. Cette gaine est générée par les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique et par les oligodendrocytes dans le système nerveux central.

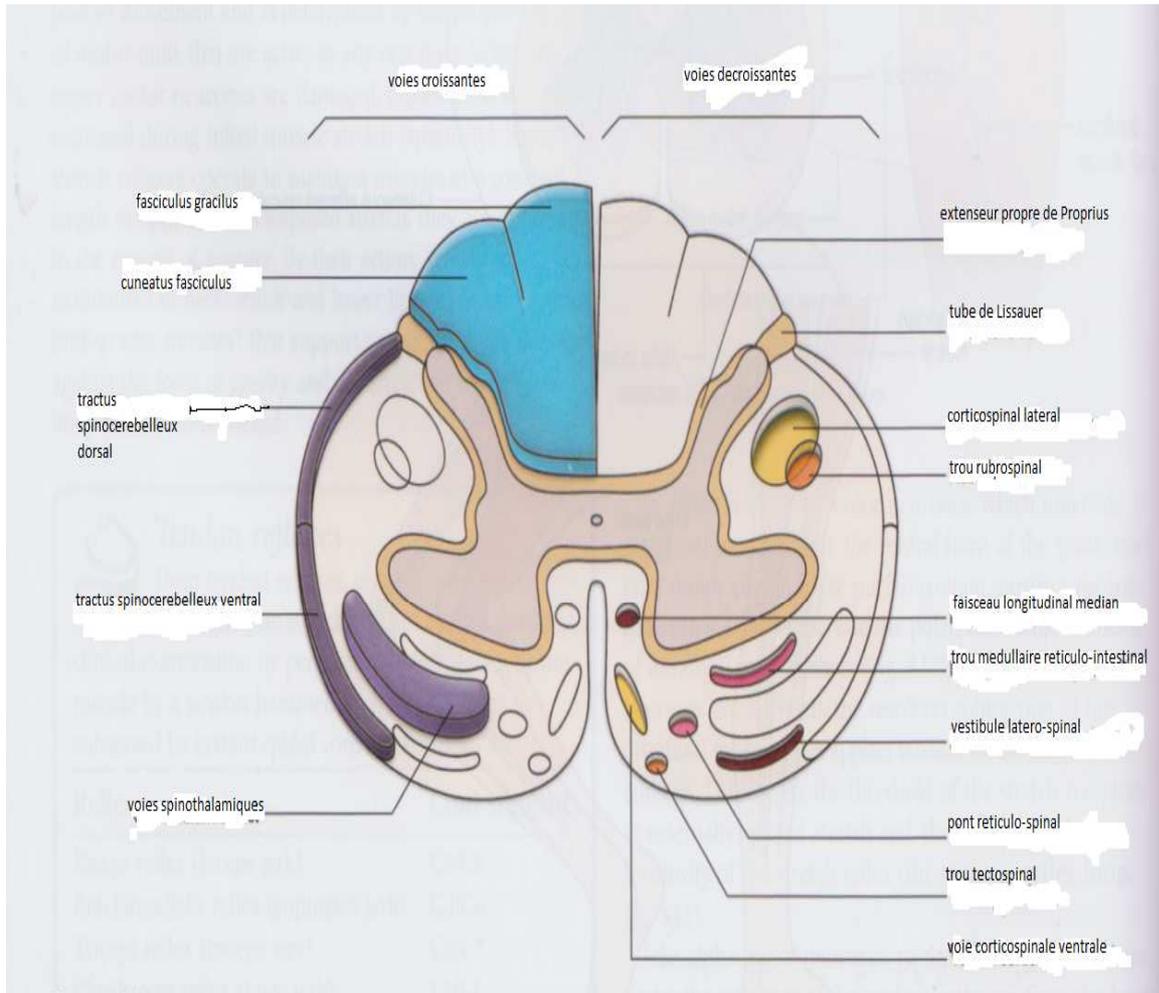


Figure 13 : Coupe transversale de la moelle [8]

1.3. Système nerveux périphérique : [9]

Il est constitué des racines spinales des nerfs rachidiens (nerfs spinaux) du plexus cervical, brachial, lombaire et sacré et les troncs nerveux constitués à leur tour de nerf médian, radial, ischiatique, fémoral entre autres.

Ce système est responsable de la propagation de la réception et du traitement des influx nerveux. Tous les muscles et les organes du corps dépendent de ces influx pour bien fonctionner.

Au niveau de la moelle épinière, une série de cellules sensibles en T ramènent le message nerveux de nature végétative ou motrice transmis par les capteurs sensoriels sensibles à la pression, à la température, au toucher, à la douleur ou à l'étirement (fuseau neuromusculaire) ; le corps cellulaire de cette cellule nerveuse étant exceptionnellement dans le ganglion spinal de la racine postérieure de la moelle va jusqu'à la moelle pour constituer la principale afférence de stimuli sensoriels. Ces stimuli peuvent informer le cerveau de façon consciente de ce qui se passe dans le corps ou dans notre environnement en vue d'une image conceptuelle, d'une mémorisation, d'un jugement ou d'une réponse volontaire ou en attente d'une régulation réflexe adéquate en parcourant des voies ascendantes dont les voies intéroceptives, proprioceptives consciente, inconsciente et extéroceptives. Ceux-ci subissent ensuite le rétrocontrôle du système nerveux par l'intermédiaire d'inter-neurons et des voies pyramidales ou extrapyramidales descendantes pour ensuite partir des cornes antérieures de la moelle épinière sous forme de fibres efférentes afin d'innover les organes vitaux ou les muscles. Finalement, le système nerveux agit souvent conjointement avec le système hormonal pour une très grande plasticité non pas selon la phrénologie mais selon les types de fibres afférentes associatives en aires sensorielles et motrices. Il est chargé de l'innervation du milieu intérieur concernant les viscères, les glandes exocrines et endocrines et la vasomotricité. Au plan moteur il innerve toutes les fibres musculaires lisses et au plan sensitif, il transmet la sensibilité viscérale, qui s'exprime par la sensation d'hyper péristaltisme, la douleur par tension ou réplétion des viscères creux, par compression d'épanchement intra péritonéal ou hypertrophie d'un viscère plein.

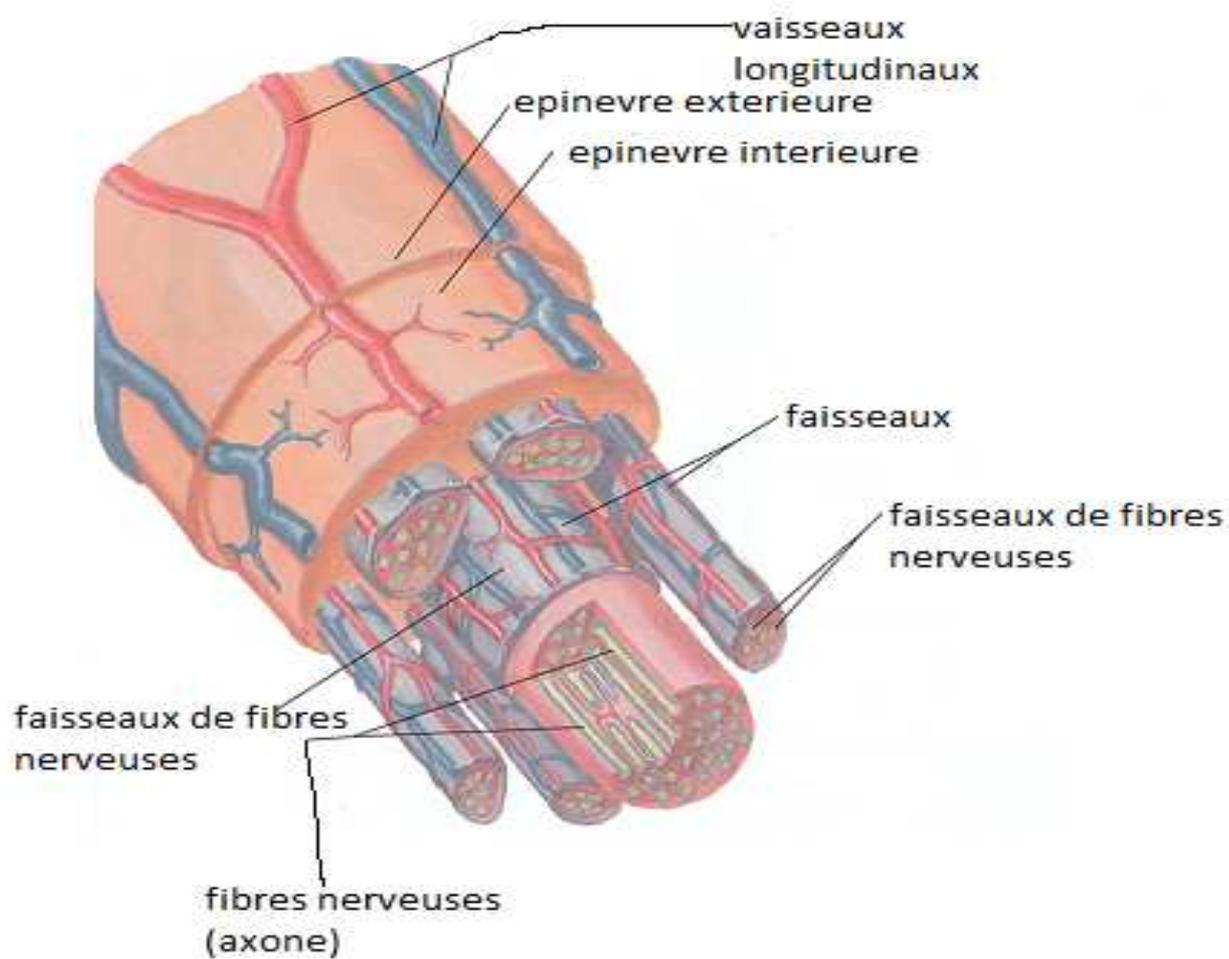


Figure 14 : Anatomie d'un nerf périphérique [9]

2. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux :

2.1. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux central

- **La maladie de Huntington** : C'est une affection autosomique dominante lente et progressive.

La caractéristique neuropathologique de la maladie est la perte neuronale et une gliose dans le noyau caudé et le putamen (striatum) pouvant entraîner une atrophie. Les manifestations cliniques évoluent graduellement des mouvements involontaires, démence progressive, troubles psychiatriques, troubles de l'humeur et surtout vers les changements de personnalité comme le cas de la chorée, du parkinsonisme, de la dystonie, et les déficiences motrices involontaires avec des anomalies motrices mineures comme la maladresse, l' hyperréflexie et les troubles des mouvements oculaires apparaissent comme les premières manifestations de la HD. Le gène de la maladie est situé sur le chromosome 4p16.3 [10] et la mutation découverte une année plus tard par un groupe de recherche [11]. Des enquêtes présentées dans différentes parties du monde, y compris au nord-ouest de l'Europe, les États-Unis, la Scandinavie, l'Amérique du Nord, l'Australie, le Japon et l'Afrique du Sud, ont conduit à un général accord que la fréquence de la HD dans les populations d'origine européenne occidentale se situe entre 3 et 7 pour 100.000 habitants.

Dans les premières phases, il ya une détérioration insidieuse et lente de la fonction intellectuelle ainsi que les changements de personnalité.

Avant la découverte du gène de la maladie, un diagnostic définitif de la HD serait faite en présence de (1) un antécédent familial en conformité avec la transmission autosomique dominante, un handicap moteur progressif impliquant à la fois le mouvement volontaire et involontaire, les troubles mentaux, y compris cognitive baissent, les troubles affectifs et / ou des changements de personnalité.

Il n'existe aucun traitement connu pour retarder la progression de la maladie. Mais cependant les neuroleptiques sont en mesure d'atténuer les mouvements choréiques dans une certaine mesure, mais les effets secondaires peuvent être graves. En effet un traitement aux antidépresseurs peut être utile dans les premiers stades pour atténuer les troubles de l'humeur.

2.2. Les pathologies neurodegeneratives du système nerveux périphérique

2.2.1. La maladie de Charcot –Marie – Tooth ou CMT :

Ce sont des neuropathies héréditaires sensitivomotrices liées à l'atteinte des nerfs périphériques qui relie la moelle épinière aux muscles. Ce sont des maladies génétiques rares dues à l'atteinte soit de la gaine de myéline qui est une enveloppe entourant les nerfs soit à l'atteinte de l'axone qui est appelé à conduire l'influx nerveux.

3. La SMA :

3.1. Historique de la SMA

Vers 1891, Guido Werdnig [12] rapporte les deux premiers cas d'une atrophie musculaire progressive, qui est une maladie familiale à laquelle il donne alors son nom. En 1889, [13] décrit quatre autres cas d'«atrophie musculaire progressive» et rattache son nom à cette maladie, devenue depuis la maladie de Werdnig Hoffmann.

C'est ainsi que d'autres formes congénitales de la maladie auraient été décrites par Hermann Oppenheim vers 1900 sous l'appellation de «myotonie congénitale» renommée dès le début du 20 siècle c'est-à-dire vers 1908 par [14]. L'existence de formes anténatales est évoquée pour la première fois avec la description vers les années 1902 par [15] d'anomalies de la mobilité intra-utérine chez des mères ayant donné naissance à des enfants atteints d'amyotrophie spinale.

En effet, vers les années (1954 et 1956) [16] décrivent la forme débutante après l'âge de la marche, d'évolution lente et qui prendra plus tard le nom de maladie de Wohlfart Kugelberg Welander.

La première prospection consacrée à la maladie de Werdnig Hoffmann paraît vers 1950.

Les nombreuses études cliniques et génétiques de ces dernières années aboutissent à la conviction de l'homogénéité génétique des maladies de Werdnig Hoffmann et Kugelberg

Welander par la localisation du gène responsable en 1990 [17] et son identification en 1995 [3].

3.2. Epidémiologie

En effet les études épidémiologiques sur les amyotrophies spinales sont rares. Avec une incidence variant de 1/6 000 à 1/10 000 naissances vivantes selon les auteurs et une fréquence de porteurs sains de 1/35 à 1/50 dans les populations étudiées, l'amyotrophie spinale est, après la dystrophie musculaire de Duchenne, la maladie neuromusculaire la plus fréquente chez l'enfant [18, 19]. Elle est l'une des premières causes héréditaires de mortalité infantile.

La prévalence est très variable selon les études. Un individu sur 40 est porteur sain toutes formes confondues dans les populations caucasiennes. Un individu sur 80 est porteur sain du type I. Dans tous les types, le sexe-ratio (femmes/hommes) témoigne d'une nette prédominance masculine [20].

La consanguinité est un facteur favorisant surtout dans les pays méditerranéens et moyen orientaux où la prévalence est parfois très élevée [20]. Cette affection est la maladie génétique présentant le plus grand nombre de décès d'enfants âgés de moins de deux ans. Alors que des études antérieures ont indiqué que la fréquence des porteurs de SMA était similaire dans le monde entier, Zaldivar et al.[4] ont découvert que l'incidence de SMA du type 1 à Cuba est d'environ 1 sur 28 000 naissances vivantes. Quand la population était classée selon une ethnicité auto-rapportée, l'incidence était d'environ 1/12 500 pour les blancs, 1/112 000 pour les noirs et 1/104 000 pour ceux d'ethnicité mixte. Par conséquent, l'étude a conclu que la SMA de type 1 pouvait survenir moins fréquemment dans les populations d'ascendance africaine.

3.3. Clinique

Le tableau clinique est dominé par un déficit moteur, une amyotrophie et une abolition des réflexes prédominant aux membres inférieurs et en proximal, et s'associe souvent à des déformations au niveau des membres inférieurs et du rachis. Cette affection est classée en quatre types sur la base de l'âge d'apparition du début des symptômes et la sévérité clinique [20].

Tout d'abord, en raison du chevauchement des âges théoriques d'apparition de chaque type de SMA, il n'est pas toujours évident de faire la distinction entre un type I et un type II, ou un type II et un type III. C'est surtout l'évaluation des capacités acquises par l'enfant (tenue de la tête, position assise, marche) qui permet de faire la différence.

De manière générale, la SMA peut être confondue avec les autres maladies neuromusculaires des nourrissons et des enfants qui présentent les mêmes symptômes (amyotrophies spinales distales ou atypiques, myopathies congénitales) [21].

3.4. Diagnostic proprement dit

Le diagnostic de SMA se fait par la recherche des signes cliniques mais est confirmé par un test génétique effectué à partir d'une simple prise de sang ou de salive. Le test va permettre de mettre en évidence l'anomalie ou l'absence du gène *SMN1* à l'origine de la maladie et ce dans la quasi totalité des cas (98,6 %). Le diagnostic moléculaire de la SMA se fait par la mise en évidence de la délétion de l'exon 7 par la méthode de QRT-PCR [20-22].

3.5. Diagnostiques différentiels

On trouve notamment les dystrophies musculaires et d'autres formes d'amyotrophies spinales (amyotrophie spino-bulbaire liée à l'X ou syndrome de Kennedy, amyotrophie spinale scapulo-péronière).

3.6. Examens complémentaires

3.6.1. L'électroneuromyographie (EMG)

Elle montre des signes d'atteinte diffuse de la corne antérieure de la moelle. Les enzymes musculaires sont normales ou modérément élevées [20].

Elle permet de confirmer l'origine neurogène de l'atrophie musculaire et d'éliminer le diagnostic de dystrophie musculaire. C'est un examen qui garde toute son utilité car il permet dans certains cas de retenir le diagnostic en l'absence d'étude génétique. Elle est d'autant plus délicate que le sujet est plus jeune [23]. La conduction nerveuse motrice et sensitive est normale. A l'aiguille électrode, on trouve des signes de dénervation:

- Au repos, on note des fibrillations, des fasciculations et des potentiels lents de dénervation prédominant aux membres Inférieurs.
- A l'effort, on recueille des potentiels d'amplitude élevée battant à haute fréquence avec une sommation temporelle [20].

3.6.2. Biopsie musculaire

La biopsie musculaire n'a pas d'indication dans l'amyotrophie spinale sauf chez le petit enfant lorsque l'interprétation de l'EMG est difficile. Quand elle est pratiquée, elle montre des lésions typiques de dénervation: faisceaux de fibres atrophiées avoisinant des fibres musculaires hypertrophiées avec absence d'infiltration graisseuse. L'étude histochemique met en évidence des altérations portant essentiellement sur les fibres de type 1 dans les formes de types I et II. Cet aspect est nettement différent de celui qui se caractérise par une nette prédominance des fibres de type 2 dans les types III et IV [24].

3.6.3. Les enzymes sériques

Les CPK sont souvent normales ou modérément augmentées. Cependant, des taux très élevés évoquant une myopathie peuvent être observés.

3.7. Traitement

Pour l'instant, il n'existe aucun traitement spécifique. Cependant, de nombreuses recherches sont prometteuses. Il existe aussi une autre approche, la thérapie cellulaire par cellule souche qui permet de restaurer la fonction des motoneurones. Mais en effet une prise en charge multidisciplinaire s'impose pour lutter contre l'installation des déformations que l'on doit éviter et assurer un accompagnement du patient et de sa famille et enfin une réinsertion sociale du patient [20].

3.8. Génétique

Chez l'homme il existe 25000 à 30000 gènes pour les 23 paires de chromosomes qui contiennent plus d'un milliard de protéines. Le gène *SMN1* fait partie d'une région dupliquée: (la copie télomérique de la duplication contient le gène *SMN1* et la centromérique contient le gène *SMN2*). Le *SMN1* est le principal gène de détermination de la SMA [25]. Tous les patients atteints de SMA ont une mutation de *SMN1* mais conservent une ou plusieurs copies intactes du gène *SMN2* [26].

Cette affection est due à une mutation du gène de survie du motoneurone *SMN1* sur le chromosome 5q13 [3]. C'est une maladie à transmission autosomique récessive (il est nécessaire que les deux parents transmettent l'anomalie génétique pour que la descendance présente l'affection). Autrement dit l'enfant n'est malade que si chacun des deux parents transmet un gène anormal.

Dans ce cas il y a un risque sur 4 d'avoir un enfant atteint d'amyotrophie spinale et ce risque existe à chaque grossesse. Leur risque d'avoir un enfant qui est un porteur asymptomatique (hétérozygote) est d'environ 50 % et leur chance d'avoir un enfant non affecté qui n'est pas un porteur (homozygote non affecté) est d'environ 25 %. Habituellement, les frères et sœurs non affectés d'une personne atteinte de SMA ont deux chances sur trois ou 66,7 % de chance d'être des porteurs hétérozygotes.

Bien que les séquences des gènes *SMN1* et *SMN2* soient presque identiques, il existe une transition C>T silencieuse pendant la traduction dans une séquence activatrice d'épissage exonique du *SMN2* [27, 28]. Bien qu'homozygote, la délétion du gène *SMN1* est l'agent causal du facteur de SMA et le gène *SMN2* joue donc un rôle dans la modulation de la gravité du phénotype *SMN1* [29].

La délétion du gène *SMN1* montre l'apparition précoce de la maladie tandis que la sévérité de la maladie est principalement influencée par le nombre de copies du gène *SMN2*, donc le *SMN2* joue un rôle modificateur de la maladie et peut servir comme un outil de pronostic utile. Diverses méthodes ont été rapportées pour la détermination de la copie du gène SMN. Ces méthodes comprennent le dénaturé chromatographie liquide haute performance (DHPLC) et la polymérase chain- réaction en temps réel (qRT-PCR).

Chez 95% des patients la SMA est due à la suppression du gène *SMN1* ou sa conversion en *SMN2*, tandis que chez 5% des patients, la maladie est causée par des point-mutations intragéniques de *SMN1*. Cependant, Hendrickson et al. [6] ont rapporté que la fréquence de porteur-sains de la mutation du gène *SMN1* était différente entre les différents groupes ethniques lors des tests de fréquence du gène *SMN1* chez 1000 sujets anonymes dans chacun des cinq principaux groupes ethniques aux Etats-Unis d'Amérique. Ainsi, en Amérique du nord la fréquence était 2,7% chez les caucasiens, 1,8.% chez les asiatiques, 1,1% chez les afro-américains et 0,8% chez les hispaniques. Ce taux relativement bas de porteur-sains dans la population d'origine africaine avait été retrouvé dans des études menées en Afrique du Sud avec un taux de porteurs de *SMN1* à 1/50 et de 1/35 parmi les populations de noirs et blancs, respectivement [5]. De même des études antérieures ont révélé également dans d'autres pays comme l'Israël, l'Allemagne et l'Australie des fréquences de porteurs de 1/49, 1/40, et 1/25 à 1/35, respectivement [19, 30, 31].

En effet la majorité de la population en général est porteuse d'un gène *SMN1* sur chaque copie du chromosome 5q13.

Cependant, plus récemment, Hendrickson et al. [6] ont découvert un taux d'allèles étonnamment élevé avec trois copies ou plus de *SMN1* chez les Afro-américains en comparaison avec des autres groupes ethniques en Amérique du Nord.

La détection des délétions hétérozygotes du gène *SMN1* peut également apporter une aide au diagnostic positif d'amyotrophie spinale infantile [32]. Si le test génétique permet d'identifier avec certitude la maladie, il ne peut cependant pas prédire le degré de gravité de l'affection.

A l'état actuel de la recherche, deux facteurs permettent de prévoir la gravité de la maladie

- L'importance de la délétion: Les délétions très étendues correspondent à des phénotypes sévères (formes type I).
- Le taux d'expression de la protéine SMN: une réduction très marquée du niveau d'expression de la protéine SMN va de pair avec les formes graves de la maladie [24].

D'autres gènes voisins de SMN (NAIP: Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein) ont été également identifiés par d'autres chercheurs [32, 33].

IV. Méthodologie:

1. Cadre de l'étude:

Notre étude s'est déroulée à la faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS) et à la faculté de pharmacie (FAPH) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (U.S.T.T.B) situées sur la colline du Point «G».

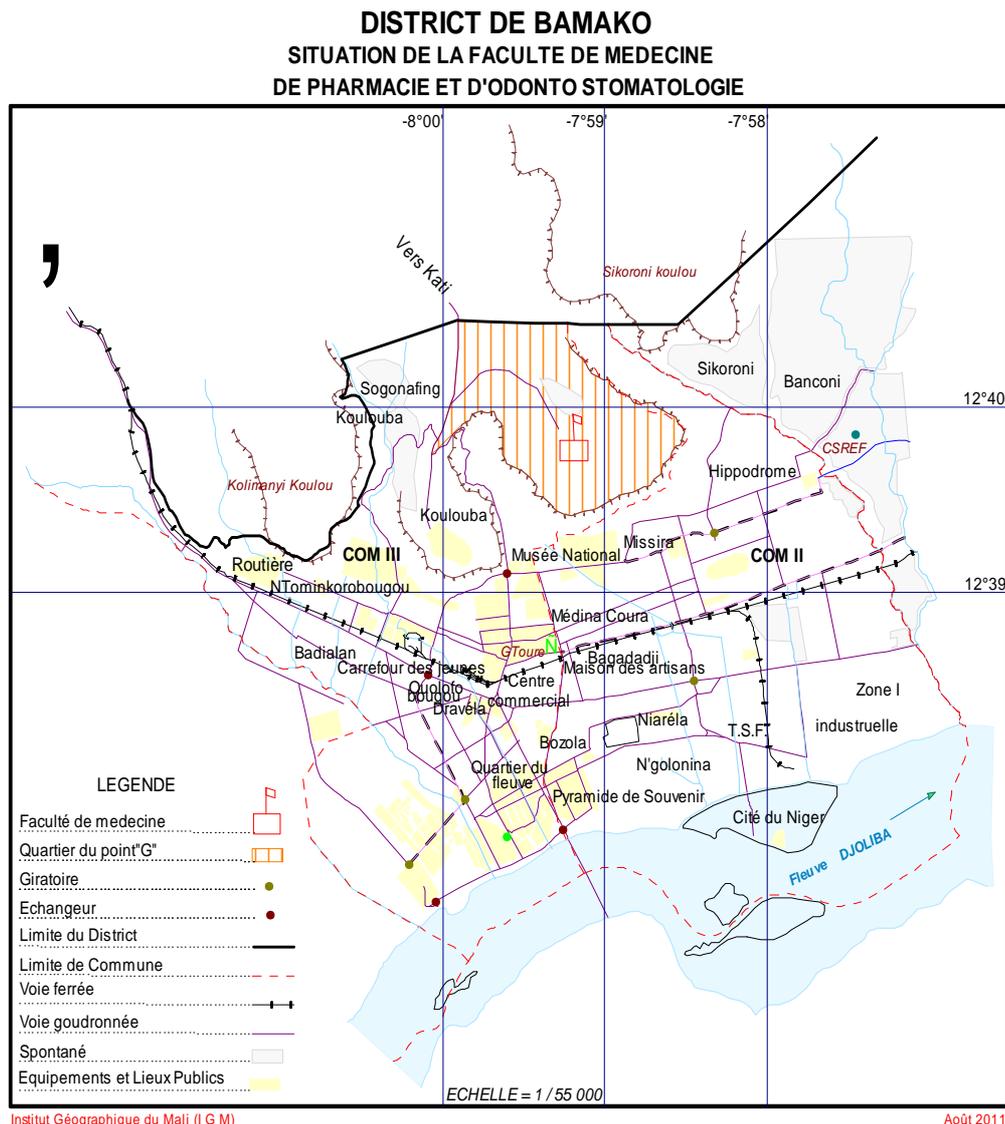


Figure 15: Situation géographique de la Faculté de Médecine d'Odontostomatologie et de Pharmacie dans le district de Bamako

Tableau 3: Stratification des différentes nationalités rencontrées au sein de la FMOS et de la FAPH.

Nationalités	Effectifs	%
Algérienne	3	0,07
Béninoise	49	1,1
Burkinabé	5	0,1
Camérounaise	281	6,4
Comoréenne	4	0,1
Congolaise (Brazza)	3	0,07
Djiboutienne	6	0,1
Gabonaise	38	0,9
Guinéenne	1	0,02
Ivoirienne	12	0,3
Malienne	3908	89,2
Mauritanienne	9	0,2
Nigérienne	12	0,3
Tchadienne	14	0,3
Togolaise	34	0,8
Tunisienne	1	0,02
Total	4380	100

Elles comptent 4380 étudiants dont 3275 en médecine et 1105 en pharmacie. Les sexes féminin et masculin représentent respectivement 25,2 et 74,8%.

Un décanat comprenant un doyen, un vice doyen, un secrétaire principal, un agent comptable gère les facultés. Le décanat est appuyé par un personnel administratif et technique.

Diverses nationalités africaines viennent pour la formation initiale dans ces deux facultés.

2. Type, lieu et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude transversale réalisée à Bamako aux facultés de médecine (FMOS) et de pharmacie (FAPH) au Point «G». Elle s'est étendue sur une période de 2 ans allant du 26 Juillet 2010 à Juillet 2012.

3. Population d'étude :

Elle a porté sur la population estudiantine de la FMOS et de la FAPH.

3.1. Echantillonnage :

Le test exact de proportion (p) unique a été utilisé pour calculer la taille appropriée d'échantillon pour cette phase. On suppose qu'en cas de sélection aléatoire, on a 1 chance sur 50 de trouver un porteur dans la population générale. Par conséquent, notre hypothèse de différence nulle est p égales à 0,02 où la fréquence des porteurs sains équivaut à 1/50. Cette hypothèse est basée sur la fréquence des porteur-sains dans la population noire sud-africaine [5]. La seconde hypothèse correspond à un risque d'être porteur sain dans la population du Mali inférieur à 50 %. A l'aide d'un test bilatéral exact pour une proportion unique dans le logiciel PASS11, on a calculé une taille d'échantillon de 660 étudiants avec une puissance de 80% et un risque de première espèce alpha égale à 0,05.

3.2. Les critères de sélection:

3.2.1. Les critères d'inclusion:

Les étudiants de la FMOS, d'ascendance et de nationalité maliennes, âgés de 18 ans ou plus.

3.2.2. Les critères de non inclusion:

Les « étudiants assistants de recherche » ont été inéligibles pour la participation à cette étude aussi bien que les étudiants de la FMOS ayant refusé d'y participer.

4. collecte des données :

4.1. Information:

Les participants ont été informés du déroulement de l'étude à travers des prospectus expliquant le protocole de façon détaillée. (Cf.annexes).

4.2. Administration des questionnaires :

Pour le remplissage des questionnaires, nous avons utilisé une fiche d'enquête individuelle anonyme. Le formulaire d'enquête comportait six parties à savoir : les informations personnelles, les antécédents médicaux, les antécédents médicaux familiaux, autres informations utiles, les paramètres mesurables et enfin les résultats des tests génétiques.

Pour un contrôle de qualité nous avons attribué des stickers individuels (numéro d'identification unique) à chaque sujet de notre étude. Les stickers numéros étaient appliqués au formulaire d'enquête, à la fiche de consentement et aux tubes de prélèvement.

4.3. Prise des paramètres physiques et hémodynamiques :

Des paramètres comme la tension artérielle systolique et diastolique (mm Hg), le poids (Kg) et la taille (cm) ont été pris avant les prélèvements par les investigateurs associés à l'aide d'appareil à tension, d'une bascule et d'un mètre ruban puis portés sur les fiches d'enquête .

4.4. Collecte de sang :

Il a été prélevé 6 ml de sang chez tous les sujets de notre étude. Les veines d'abord ont été selon les cas la veine radiale, la cubitale ou la centrale. Le matériel utilisé comprenait du coton hydrophile, de l'éthanol, des épicroâniennes, des garrots et des tubes mouillés (à héparine).

4.5. Compensation:

Les étudiants ayant participé à notre étude ont bénéficié d'une compensation financière correspondant à 3000 FCFA fixée par le comité d'éthique de la FMOS.

4.6. Extraction d'ADN :

4.6.1. Matériels :

Nous disposons pour l'extraction d'ADN de deux laboratoires bien équipés. Le matériel utilisé comprenait:

- des centrifugeuses pour tubes à 1.5 ml, 15ml et 50 ml
- un bain-marie
- un shaker
- un vortexer,
- un spectrophotomètre pour quantifier l'ADN
- des éprouvettes de 10 ml
- des aspirateurs électriques
- des pipettes 200/1000 et les embouts correspondants
- des tubes eppendorf de 1,5 ml pour la collecte de l'ADN et Falcon de 50 ml pour la centrifugation

4.6.2. Le kit d'extraction:

Le kit d'extraction Puregene Gentra (QIAGEN, Valencia, CA, USA) a été utilisé.

Il comprend:

- RBC Lysis Solution qui permet de détruire les globules rouges,
- Cell Lysis Buffer qui lyse les cellules comme son nom l'indique afin d'exposer l'ADN nucléaire,
- Protein Precipitation Solution qui permet de précipiter les protéines afin de faciliter leur débarras par centrifugation,
- RNase A Solution qui permet de se débarrasser de l'ARN,
- DNA Hydratation Solution qui permet la dissolution de l'ADN précipité à la dernière phase de l'extraction.

4.6.3. L'extraction d'ADN proprement dite:

Avant le déroulement de l'extraction d'ADN, de l'éthanol 70 % a été constitué à partir de l'éthanol 100 % dont on disposait. De l'isopropranolol a été recueilli dans un tube Falcon de 50 ml pour utilisation imtempesive. Au laboratoire, le sérum était extrait du sang total préalablement recueilli dans des tubes mouillés. La technique utilisée pour l'extraction de sérum est la suivante:

Après une centrifugation à 2000g pendant 5mn on a noté trois composants du sang à savoir les globules rouges à la base, une fine couche blanche leucocytaire appelée Buffy-coat au milieu et le sérum en surface qu'on a extrait à l'aide d'une pipette munie d'un embout de 1000 µl. Le sérum qui était ensuite recueilli dans deux tubes éppendorf de 1.5 ml pour le même échantillon puis conservé à moins 80 degré Celsius dans un congélateur au laboratoire.

Ensuite le kit Puregene Gentra (QIAGEN) a été utilisé pour extraire l'ADN à partir de la couche leuco-plaquettaire. Ce protocole permet l'utilisation d'une grande quantité de Buffy-coat et produit une quantité élevée d'ADN. Il est défini en fonction de la quantité de RBC qui est l'une des différentes solutions utilisées dans l'extraction d'ADN. Pour une quantité de 900 µl, 9ml ou 30ml de RBC recueillie soigneusement dans un tube propre de 50ml à l'aide d'un aspirateur électrique muni d'une éprouvette, on ajoute respectivement 300ul, 3ml ou 10ml de l'échantillon. Sachant que notre échantillon s'élève à 6ml, la quantité de RBC nécessaire était de 30ml x2. L'ensemble est laissé à la température ambiante (15-25°C) pendant 5mn ensuite tourner et retourner environ 10 fois puis centrifuger à 2000g pendant 2 mn. Le surnageant obtenu est éliminé tandis que le reste mis au vortex. Après on ajoute 6ml de cell lysis, on vortexe pendant 10s puis on additionne 2ml de protein precipitation solution et nous centrifugeons à 2000g pendant 5mn. Le surnageant est recueilli dans un tube propre de 50ml puis, à l'aide d'une pipette 1000, nous avons mis 6ml avant de tourner et retourner le tube 50 fois (à la suite de quoi les filaments d'ADN étaient devenus visibles) puis nous avons centrifugé à 2000g pendant 3mn. Soigneusement, le surnageant obtenu est éliminé et le tube renversé sur un mouchoir en papier propre en l'inclinant un peu. Nous avons ajouté 500µl d'éthanol à 70% puis remué brièvement afin de purifier l'ADN, ensuite nous avons centrifugé à 2000g pendant 1mn.

Attentivement, le surnagent est éliminé et le tube est une fois de plus renversé sur un mouchoir propre pendant un bref moment (15 mn). On y a ajouté environ 500µl de DNA hydratation solution puis vortexé pendant cinq secondes, ensuite nous avons incubé à 65°C pendant 1h afin de dissoudre l'ADN. Enfin, nous avons procédé à une brève centrifugation suivie d'une incubation à température ambiante dans un shaker toute la nuit.

4.7. Technique de QRT PCR et détermination du nombre de copies de SMN1:

La détermination du nombre de copies de *SMN1* a été effectuée au laboratoire de la branche de Neuro-génétique du National Institutes of Health (NIH) aux Etats-Unis par la quantitative polymérase chaîne réaction à temps réel (**qRT-PCR**).

Dans la méthode PCR les standards internes sont conçus pour être amplifiés avec les mêmes paires d'amorces pour la copie *SMN1* avec des performances similaires à ceux pour l'ADN génomique équivalent et le rapport des produits de PCR légèrement plus petites que les produits du PCR de *SMN1*. Le nombre de copies de *SMN1* est déterminé par coamplification de *SMN1* et la norme interne et les ratios sont quantifiés. En effet pour déterminer le nombre de copies de *SMN1*, nous avons utilisé le protocole suivant :

Avec un microlitre d'ADN qui correspond à la concentration de 100 nano grammes/microlitre d'ADN du même ADN par réaction dissoute dans 8 microlitres d'eau distillée pour avoir en fin de réaction 9 microlitres de solution d'ADN, ensuite on prend 1 microlitre de la solution de primer droit et gauche et du probe étiquetées de marqueurs fournis par Applied biosystems qui est dissoute dans 10 µl de TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (2X) pour obtenir 11 µl. Nous avons ensuite ajouté les deux solutions ci-dessus dans un puits du 384-well plate pour avoir 20 microlitres comme le volume total de la réaction. Pour chaque échantillon d'ADN on a répété la réaction trois fois pour le *SMN1* et trois fois pour le gène de contrôle qui est le gène beta-globin. Le 384-well plate a été chargé sur la machine de qRT-PCR 7900 T sequence detection System marque Applied Biosystems et le programme SDS2.2.1 a été utilisé.

En effet la qRT-PCR dure 2 heures et les données sont collectées et analysées dans un document Excel.

La fin du point de détection de l'amplification de fluorescence marquée par les produits de PCR est faite par fonctionnement des échantillons à travers cet analyseur. L'avantage majeur de cette technique est que la norme interne est amplifiée avec les mêmes amorces qui amplifient les séquences prévues.

Ainsi l'efficacité de l'amplification de l'ADN pour les patients et la norme interne d'ADN devrait être très similaire et permettre à chacun de déterminer exactement le nombre de copies du gène. Alternativement la détection en temps réel (plutôt que de mettre fin à la détection de point) des réactions de PCR multiplexes utilisant l'hydrolyse ou l'hybridation de sondes fluorescentes à d'autres usages de stratégies de normalisation y compris: la méthode de la courbe standard et la méthode du seuil de comparaison.

- L'utilisation de la méthode de la courbe standard : C'est une méthode construite à partir de l'ADN du nombre de copies connues. Cette courbe est comme un standard de référence pour l'extrapolation des informations quantitatives sur le nombre de copies de *SMNI*. Le cycle au cours de laquelle la courbe traverse une threshold précise appelée le seuil de cycle (CT). Les variations introduites des entrées d'ADN peuvent être corrigées par normalisation au facteur d'étalonnage.
- L'utilisation de la méthode du seuil : qui étudie les valeurs CT des échantillons d'intérêt sont comparées avec les valeurs CT des facteurs d'étalonnage. Les valeurs CT des deux étalonnages et les échantillons d'intérêts sont normalisés d'un gène endogène pour le contrôle interne.

La qRT-PCR est capable de détecter le nombre de copies des loci génomiques et peut être utilisée pour le test et le diagnostic de SMA aussi bien que l'état des porteurs. Les avantages clés de la qRT-PCR comprennent l'extrême sensibilité permettant la détection d'au moins 5 copies (peut être une seule copie dans certains cas) d'une séquence ciblée rendant possible d'analyser les petits échantillons telle que seule l'analyse des cellules à des fins pré implantations pour le diagnostic génétique avec le standard approprié et le calcul de la variation moyenne des coefficients sont 5 à 10% permettant l'analyse reproductible du nombre de copies du gène. En temps réel les plateformes sont relativement rapides avec certains offrant à haut débit d'automatisation.

Et aussi en temps réel les plateformes sont réalisées en fin de réaction dans des récipients qui n'exigent pas de réaction post PCR. De ce fait les chances de croiser une contamination au labo sont minimales. L'importance de la limite des techniques de PCR quantitative incluent des composés présents dans certains échantillons biologiques où de prélèvements d'échantillons peuvent inhiber la PCR (c'est-à-dire l'héparine par exemple)

4.8. Variables:

Les variables caractéristiques principales de notre étude étaient :

- variables qualitatives : le sexe, l'ethnie, la consanguinité etc...
- variables quantitatives : l'âge, le nombre de copies des gènes *SMN1* et *SMN2*, les numéros de téléphone, les numéros de sticker etc....

4.9. Traitement et analyse des données :

Le masque de saisie, la saisie et l'analyse des données ont été effectués dans les logiciels **SPSS** statistiques (version 17.0.0.236).

Le logiciel Word 2007 pour Windows a été utilisé pour la rédaction scientifique. Les graphiques ont été réalisés dans le tableur Excel 2007 pour Windows.

Notre moteur de recherche et de citations bibliographiques a été le logiciel EndNote6.

Les tests statistiques utilisés furent:

- le test de $\chi^2(X^2)$ qui compare deux ou plus variables qualitatives entre elles.
- le test d'analyse de la variance (ANOVA) qui compare une variable qualitative à des variables quantitatives.

4.10. Considérations éthiques:

Notre étude est un projet de recherche approuvé par les comités d'éthique malien (de la FMOS et FAPH) et américain (NIH, USA).

L'éligibilité des étudiants à notre étude était conditionnée à la formation aux consentements éclairés (verbal et écrits). L'exposé sur le consentement était présenté par un investigateur.

Cet exposé avait pour but de s'assurer que chaque participant avait compris dans les détails tous les points importants de l'étude à savoir : le caractère volontaire de la participation, le but de l'étude, un rappel sur la SMA, les critères de participation, les procédures, les risques et désagréments, la confidentialité et la compensation financière.

Les fiches d'enquête établies étaient dotées de numéros de sticker afin de garantir l'**anonymat** des participants et **la confidentialité** des informations recueillies. Le même numéro était retrouvé sur la fiche d'enquête et sur le tube de prélèvement pour un même participant.

Des numéros de téléphone des participants ont été répertoriés pour la retro information.

Toutes les données, y compris un fichier principal reliant les numéros d'échantillons d'ADN aux participants ont été stockées dans un serveur institutionnel sécurisé.

Le retrait des participants à notre étude était volontaire à tout moment.

V. RESULTATS:

Cette étude transversale s'étendant sur une période de deux ans s'est déroulée entre Juillet 2010 et Juillet 2012 avec un effectif de 660 étudiants dont 467 hommes (0,83%) et 193 (0,34%) femmes. L'éligibilité dans notre étude exigeait :

- le consentement éclairé;
- la nationalité Malienne;
- l'ascendance Malienne;
- les sujets âgés d'au moins 18 ans, sans distinction de race, d'ethnie, de religion ni de sexe.

La moyenne d'âge des sujets de notre étude était de 22 ans $\pm 2,23$ avec une étendue de 18-36 ans sensiblement égale à 18.

1. Les caractéristiques socio-démographiques:

1.1. Le genre :

Le sexe masculin était le plus souvent représenté avec un effectif de 467 étudiants, soit environ 71%. Nous notons un rapport de masculinité (sexe ratio) égale à 2,41.

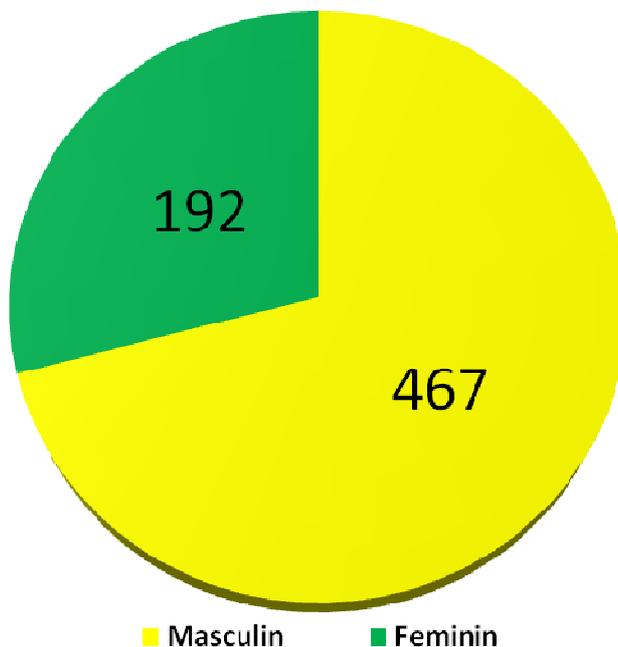


Figure 6: Répartition des étudiants en fonction du sexe

1.2. Age:

La classe modale d'âge de notre série était 18 et 22 ans.

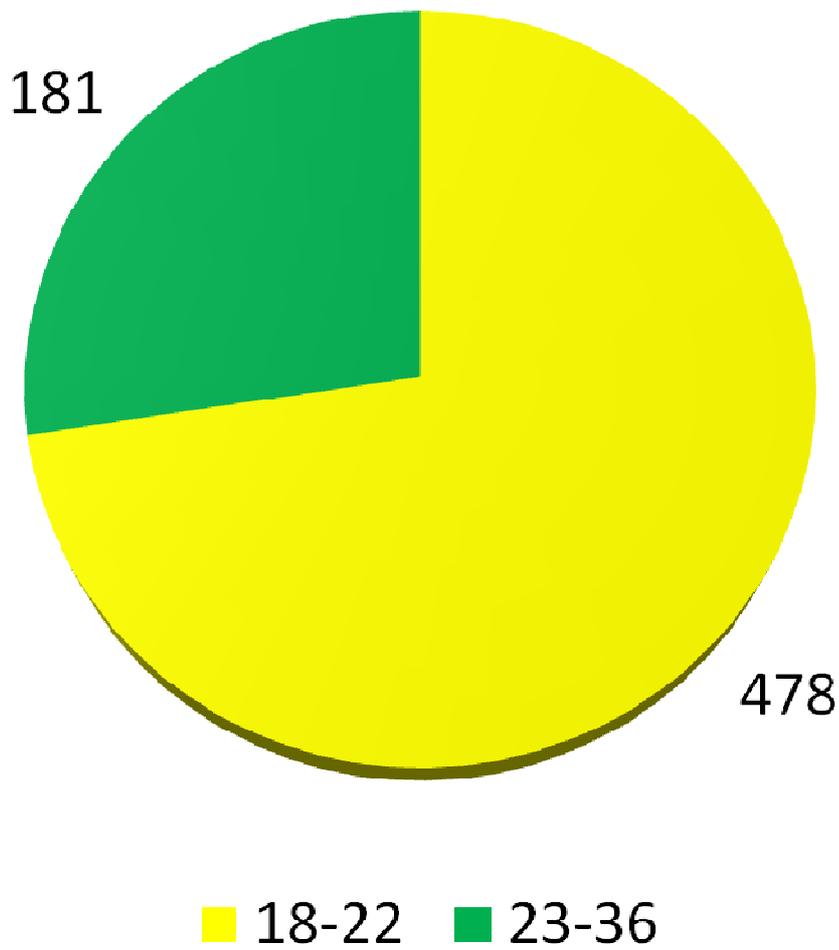


Figure 7: Répartition des étudiants en fonction de l'âge

1.3. Ethnie:

Dans notre étude, les Bamanans étaient majoritaires avec un pourcentage de 28,1% suivis des Peulh, les Minianka et les Sarakolés avec respectivement 10,9%, 9,9% et 8,8%.

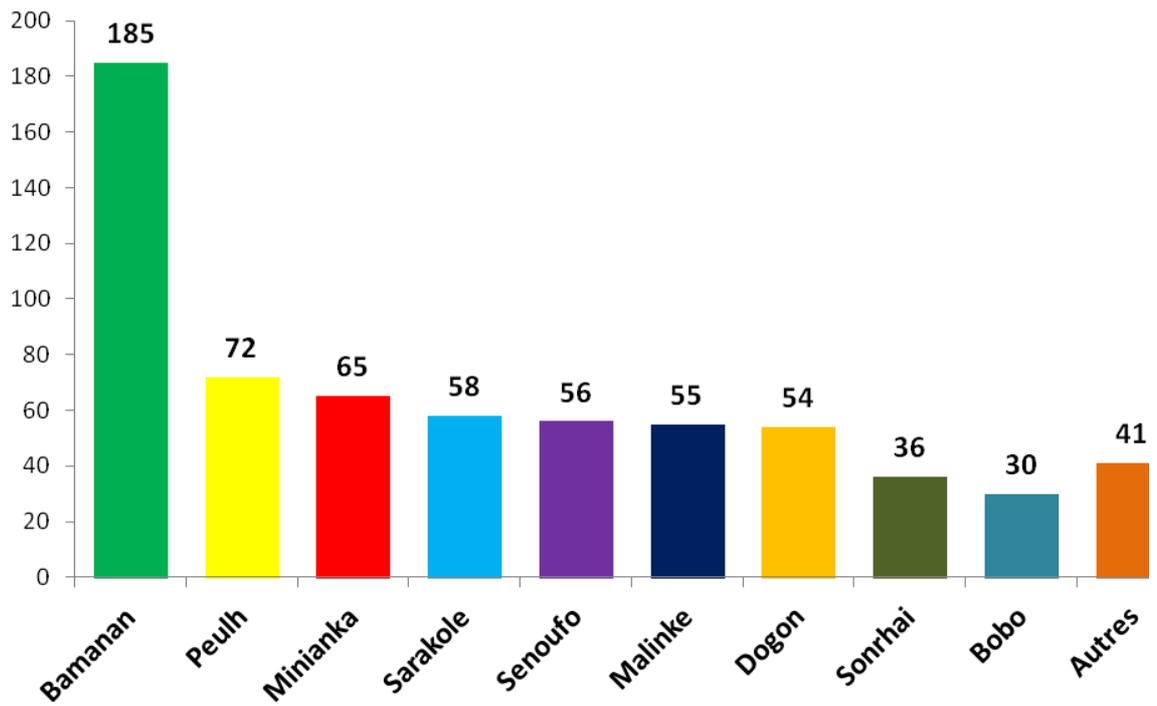


Figure 8: Répartition des étudiants selon les différents groupes ethniques

1.4. Origine géographique:

La région de Sikasso était la plus représentée avec un effectif de 210 étudiants, soit 38%, alors que les étudiants provenant de Kidal ne représentaient que 0,3%.

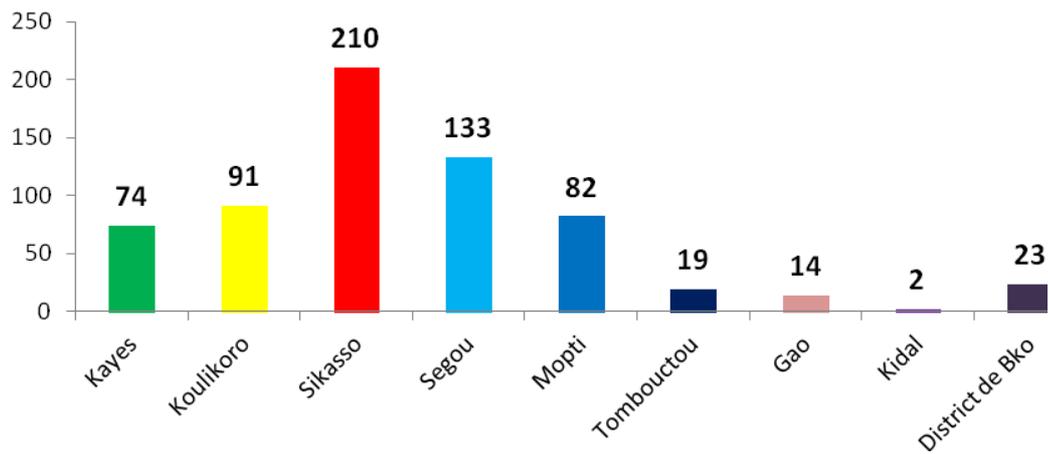


Figure 9: Répartition des étudiants selon les régions administratives d'origine

2. Nombre de copies de *SMN1*

2.1 Distribution du nombre de copies de *SMN1* dans la population générale:

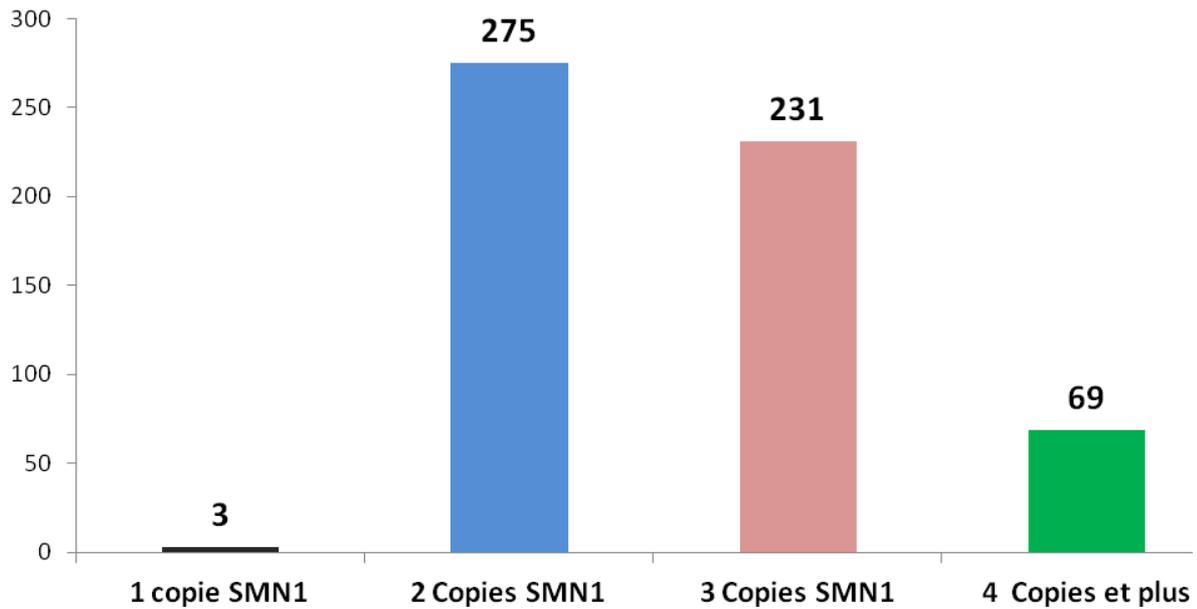


Figure 10 : Détermination du nombre de copies de *SMN1* dans la population générale.

Les sujets de notre étude ayant une copie de *SMN1* était au nombre de trois soit 0,52% et représentaient les porteurs sains de la SMA. Ceux de deux, trois et quatre copies et plus représentaient respectivement 275 (41,7%), 231 (35,1%) et 69 (10,5%).

Le nombre de copies le plus fréquemment rencontré était égal à 2.

2.2. Nombre de copies de *SMNI* en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité:

Tableau 3: Distribution du nombre de copies de *SMNI* en fonction du sexe, de l'ethnie et de la consanguinité.

Variables		Nombre de copies de <i>SMNI</i>								Total	
		1		2		3		4+		n	%
		n	%	n	%	n	%	n	%		
Sexe	Masculin	3	100,0	197	71,6	156	67,5	48	69,6	404	69,9
	Feminin	0	0,0	78	28,4	75	32,5	21	30,4	174	30,1
CPM	Existence	1	33,3	48	17,5	30	13,0	13	18,8	92	16,2
	Absence	2	66,7	222	80,7	198	85,7	55	79,7	477	83,8
CGPM	Existence	1	33,3	35	12,7	23	10,0	6	8,7	65	11,2
	Absence	2	66,7	228	82,9	205	88,7	61	88,4	496	85,8
CGPP	Existence	2	66,7	45	16,4	22	9,5	8	11,6	77	13,3
	Absence	1	33,3	218	79,3	206	89,2	59	85,5	484	83,7
Ethnie	Bamanan	1	33,3	67	24,6	68	29,8	26	38,2	162	28,4
	Peulh	1	33,3	32	11,8	26	11,4	6	8,8	65	11,4
	Minianka	0	0	36	13,2	18	7,9	3	4,4	57	10,0
	Sarakolé	0	0	27	9,9	17	7,5	6	8,8	50	8,8
	Senoufo	0	0	25	9,2	16	7,0	5	7,4	46	8,1
	Malinke	0	0	26	9,6	22	9,6	3	4,4	51	8,9
	Dogon	1	33,3	21	7,7	20	8,8	6	8,8	48	8,4
	Sonrhahi	0	0	14	5,1	12	5,3	6	8,8	32	5,6
	Bobo	0	0	9	3,3	11	4,8	4	5,9	24	4,2
	Autres	0	0	15	5,5	18	7,9	3	4,4	36	6,3

4+: 4 copies et plus, **CPM:** consanguinité entre père et mère, **CGPM:** consanguinité entre grands parents maternels, **CGPP:** consanguinité entre grands parents paternels

L'analyse de ce tableau montre que le portage sain est exclusivement retrouvé dans le sexe masculin et intéresse trois groupes de populations culturellement et historiquement distinctes.

Le taux de consanguinité entre père et mère était de 16,2%, celui entre les grands parents maternels et paternels représentait 11,2% avec 13,3% pour les grands parents paternels.

Cependant, cette consanguinité n'a aucun effet sur le nombre de copies de *SMNI*. Toute fois, le nombre de copies de *SMNI* varie en fonction de l'ethnie avec les Bamanans ayant le nombre de copies les plus élevées 162 et 28,4 % suivis des Peulh 65 et 11,4%, les Minianka 57 et 10,0% et les Malinké 50 et 8,8%. Le nombre de copie le plus faible a été rencontré chez les Bobo avec 24 et 4,2%

2.3. Nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives d'origine.

Tableau 4: Distribution du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives d'origine.

Régions	Nombres de copies de <i>SMNI</i>								Total	
	1		2		3		4+		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Kayes	0	0	27	9,8	34	14,7	4	5,8	65	11,2
Koulikoro	1	33,3	34	12,4	39	16,9	8	11,6	82	14,2
Sikasso	0	0	91	33,1	68	29,4	22	31,9	181	31,3
Ségou	0	0	56	20,4	43	18,6	16	23,2	115	19,9
Mopti	2	66,7	33	12,0	25	10,8	10	14,5	70	12,1
Tombouctou	0	0	9	3,3	6	2,6	4	5,8	19	3,3
Gao	0	0	7	2,5	6	2,6	0	0	13	2,2
Kidal	0	0	1	0,4	0	0	1	1,4	2	0,3
District de Bamako	0	0	11	4,0	7	3,0	3	4,3	21	3,6

Deux des trois porteur-sains, soit 66,7%, viennent de la cinquième région et l'autre de la deuxième région avec 33,3%.

Ainsi pour un nombre de copies égal a 2, 3, 4 et plus les régions de Sikasso et de Ségou sont les plus représentées respectivement avec 181 soit 31,3% et 115 soit 19,9% ; suivies des régions de Koulikoro avec 82 et 14,2% ; Mopti 70 et 12,1% ; Kayes 65 et 11,2%.

Le plus faible nombre de copies a été rencontré dans la région de Kidal avec 2 et 0,3%.

2.4. Variabilité du nombre de copie de *SMN1* en fonction de l'ethnie:

Tableau 5: Variabilité du nombre de copie de *SMN1* en fonction de l'ethnie

Ethnie	N	Moyenne	%	Nombre de copies de <i>SMN1</i>	
				Minimum	Maximum
Bamanan	185	2,73 ±0,05	28,37	1,00	4,00
Peulh	72	2,56 ±0,08	11,04	1,00	4,00
Minianka	65	2,42 ±0,07	09,96	2,00	4,00
Sarakolé	58	2,58 ±0,09	08,89	2,00	4,00
Senoufo	56	2,56 ±0,10	08,58	2,00	4,00
Malinké	55	2,54 ±0,08	08,43	2,00	4,00
Dogon	54	2,64 ±0,10	08,28	1,00	4,00
Sonrhai	36	2,75 ±0,13	05,52	2,00	4,00
Bobo	30	2,79 ±0,14	04,60	2,00	4,00
Autres	41	2,66 ±0,10	06,28	2,00	4,00
Total	652	2,63 ±0,02	100,00	1,00	4,00

Autres= Bozo, Ghana, Samogo, Kakolo, Tamacheq, Maure, Mossi, Gbandjé, Somono, Tamara, Koyaka, Kassonké, Dafing.

Le nombre moyen de copies de *SMN1* dans la population était 2,63 ±0,02.

A l'analyse de ce tableau nous avons remarqué que 28,37 des Bamaman avaient un nombre moyen de copie de *SMN1* égale à 2,73 ±0,05 suivis des Peulh représentant 11,04% pour un

nombre moyen de copie équivalent à 2,56 et les Minianka présentant une moyenne égale à 2,42 $\pm 0,07$ avec une fréquence de 9,96.

2.5. Variabilité du nombre de copie de *SMNI* en fonction du taux de consanguinité:

Tableau 6: Variabilité du nombre de copie de *SMNI* en fonction du taux de consanguinité.

Consanguinité		N	Moyenne	%
CPM	Existence	103	2,59 $\pm 0,07$	15,87
	Absence	546	2,64 $\pm 0,03$	84,13
Total		649	2,63 $\pm 0,02$	100
CGPM	Existence	80	2,52 $\pm 0,08$	12,48
	Absence	561	2,65 $\pm 0,03$	87,52
Total		641	2,63 $\pm 0,02$	100
CGPP	Existence	85	2,46 $\pm 0,08$	13,26
	Absence	556	2,66 $\pm 0,03$	86,74
Total		641	2,63 $\pm 0,02$	100

CPM: consanguinité entre père et mère, **CGPM:** consanguinité entre grands parents maternels, **CGPP:** consanguinité entre grands parents paternels.

Il ressort de l'analyse de ce tableau que le nombre moyen de copie de *SMNI* semble sensiblement plus élevé en absence qu'en présence de consanguinité quelque soit le type de la descendance avec un nombre moyen de copies de 2,64 $\pm 0,03$ pour CPM ; 2,65 $\pm 0,03$ pour CGPM et 2,66 $\pm 0,03$ pour CGPP.

2.6. Variabilité du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives:

Tableau 7: Variabilité du nombre de copies de *SMNI* en fonction des régions administratives.

Régions	n	Moyenne	%
Kayes	74	2,64 ±0,07	11,41
Koulikoro	91	2,65 ±0,07	14,04
Sikasso	210	2,61 ±0,05	32,40
Ségou	133	2,65 ±0,06	20,52
Mopti	82	2,61 ±0,09	12,65
Tombouctou	19	2,73 ±0,18	02,93
Gao	14	2,46 ±0,14	02,16
Kidal	2	3,00 ±1,00	00,30
District de Bamako	23	2,61 ±0,16	03,54
Total	648	2,63 ±0,02	100,00

A la lumière de ce tableau nous avons constaté que 32,40% des ressortissants de la troisième région avait un nombre moyen de copies de *SMNI* correspondant à 2,61 ±0,05, 20,52% provenant de la région de Ségou une moyenne 2,65± 0,06, 14,04 et 12,65% des sujets venant des régions de Koulikoro et Mopti avec respectivement des moyennes égales à 2,65 ±0,07 et 2,61 ±0,09.

VI. DISCUSSION:

La constitution génétique normale voudrait que chacun ait deux copies du même gène, chacune provenant d'un des deux parents. Cependant, certaines régions génétiques telles que celles abritant le gène *SMNI* sont sujettes à de multiplication, donnant ainsi des nombres de copies de gènes supérieurs à deux.

L'amyotrophie spinale est une maladie héréditaire due le plus souvent à une délétion homozygote du gène *SMNI*. Les fréquences de porteurs sains rapportées dans la littérature varient entre 1/25 et 1/50 dans les populations étudiées, le plus souvent blanches [18, 19]. Bien que Hendrickson *et al.* aient rapporté une fréquence de porteur-sains deux fois ou plus moins élevée chez les afro-américains comparée aux caucasiens et aux asiatiques, aucune étude de grande envergure de dépistage de porteur-sains dans la population africaine n'avait été entreprise; l'étude sud-africaine se limitant aux parents de malades de SMA.

Notre étude a porté sur 578 sujets sains et a retrouvé un nombre moyen de copies de *SMNI* de 2,63 variant de 1 à 5 copies avec une fréquence de porteur-sains, c'est-à-dire du nombre de porteurs d'une seule copie de *SMNI* de 0,52%, soit 1/193. Cette fréquence est de loin inférieure à celles rapportées dans les populations occidentales telles que Israël, Allemagne et Australie variant entre 1/25 et 1/49 [16, 27,[31], asiatiques de 1/47 [34] et même noires américaines [6]. Une revue de la littérature n'a retrouvé aucune description de SMA dans la population malienne [19, 30] bien que d'autres maladies autosomiques récessives y aient été décrites [35-37] et que le taux de consanguinité retrouvé dans cette étude soit relativement plus élevé que dans d'autres populations. En plus une consultation des registres du Service de Neurologie du Centre Hospitalier Universitaire du Point «G» n'a retrouvé qu'un seul cas non génétiquement confirmé de SMA. Cette rareté de la SMA dans la population malienne pourrait s'expliquer par ce très faible taux de portage sain mais aussi par la limitation de l'expertise et des moyens de diagnostic de cette maladie au Mali.

Le nombre de copies 2 correspondant au type sauvage est le plus souvent rencontré. Sa fréquence va de 78% en Corée du Sud [34], 83,5% en France [38], 90% en Taiwan [39] à 94% au Vietnam [40]. Cependant, ce pourcentage, bien toujours prédominant dans les populations d'origine noire africaine, est faible par rapport à celui des autres populations.

C'est ainsi que Hendrichson *et al.* rapportent 52,1% et notre étude 46,7% de nombre de copies égal à 2. Le pourcentage de participants avec un nombre de copies 3 et plus est de 52,6%.

Ce taux se rapproche de celui rapporté par Hendrickson dans la population noire américaine qui est de 47% mais est beaucoup élevé que ceux retrouvés dans d'autres études menées en Europe et en Asie. Ainsi, le pourcentage de participants avec un nombre de copies de *SMN1* de 3 ou plus est de 13,6 en France [38], 20% en Corée du Sud [34] alors qu'il est seulement de 5% au Vietnam [40]. De façon plus spécifique, la fréquence de porteurs de nombre de copies de *SMN1* de 4 ou plus dans notre étude est de 12,8% alors cette fréquence est presque nulle dans certaines populations occidentales. Ces nouvelles découvertes confirment les études antérieures menées sur les populations africaines et qui ont montré leur diversité. Ce nombre élevé de copies de *SMN1* pourrait s'expliquer par les blocs de haplotype qui apparaissent courts chez les africains, facilitant ainsi une duplication des régions génétiques par les crossing-over. Une autre explication pourrait être une pression génétique liée aux maladies infectieuses qui conditionneraient la structure génétique des africains.

Le Mali est un pays à forte tendance de mariages consanguins et intra-ethniques, augmentant ainsi le risque de maladies récessives. Nous avons retrouvé une prévalence de 16,2% de consanguinité entre le père et la mère. Bien qu'un peu élevée, cette consanguinité n'a eu aucune influence sur le nombre de copies de *SMN1*. Les maladies récessives étant le plus souvent précocement létales, une épuration génétique progressive pourrait expliquer ce phénomène et la rareté de cette maladie dans la population malienne.

Une variabilité du nombre de copies a été notée en fonction des ethnies. En effet, les ethnies classées mandingues (Bamanan, Soninké, Bobo) avaient le plus grand nombre de copies. Des études génétiques antérieures avaient montré une ressemblance génétique des peulhs aux occidentaux ou orientaux et divergence génétique des dogons par rapport aux autres populations environnantes [41]. Ici nous avons trouvé que deux des trois porteurs sains sont de ces populations avec un taux se rapprochant des populations occidentales.

Hendrickson et al. ont trouvé un nombre élevé de porteurs de 3 ou plus de copies de *SMN1*. Historiquement, les populations recherchées pour l'esclavage correspondaient à la stature des mandingues. Il est donc prévisible qu'elles aient la même structure génétique que les noirs américains.

De même une autre variabilité du nombre de copies notée en fonction des régions administratives a révélé que ceux de la troisième, quatrième, deuxième et première régions représentant la

partie sud du pays figurant dans la classe des mandingues ont un nombre de copies plus élevé 76,6% que ceux des régions du nord du Mali avec 18,1%.

VII. Contraintes de l'étude:

Des difficultés techniques comme la perte de certains échantillons soit par perte de sticker ou par extraction blanche (suite à une insuffisance de la quantité de sang prélevé) ont été rencontrées. Certains échantillons dont les fiches de consentement étaient disponibles n'ont pas été retrouvés. Aussi il y avait des échantillons sans consentement et la non disponibilité du matériel de PCR au Mali.

VIII. CONCLUSION

La SMA est une maladie autosomique récessive mortelle sans remède due à une dégénérescence des cellules de la corne antérieure de la moelle épinière. Cette affection survient en général depuis le bas âge provoquant des troubles neurologiques avec une impotence fonctionnelle empêchant le malade le plus souvent de s'asseoir, de se tenir debout ou de marcher.

L'objectif de notre étude était de déterminer la distribution du nombre de copies du gène *SMN1* dans la population Malienne et de comparer cela aux données obtenues et publiées ailleurs. Elle a permis :

- d'une part de savoir le nombre de porteurs sains 0,52% de *SMN1* dans la population estudiantine, de delimitier ce portage sain parmi les différents groupes ethniques qui est de 33,3% chez les Bamanan, 33,3% chez les Peuhl et 33,3% chez les Dogon au sein de la faculté provenant des différentes régions administratives et le District de Bamako,
- et d'autre part de nous renseigner sur le nombre de copies de *SMN1* 578 soit 100% qui est plus élevé dans les régions du sud que celle du nord du Mali. Ce nombre de copies égal à 578 est plus élevé chez les étudiants non issus du mariage consanguin que ceux issus de ce mariage. Nous pouvons formuler l'hypothèse que la consanguinité n'a pas influencé le nombre de copies de *SMN1*.

Par conséquent, cette étude a fourni non seulement des informations précieuses sur les personnes d'ascendance d'Afrique de l'Ouest en général et malienne en particulier, mais va servir également de base à plus d'investigations pour établir les raisons sous-jacentes de la variabilité du nombre de copies du gène *SMN1* dans la population générale.

Il serait scientifiquement important d'étudier la répercussion d'un grand nombre de copies de *SMN1* sur l'expression de la protéine SMN.

IX. RECOMMANDATION

1. Aux autorités administratives et politiques:

- Promouvoir et soutenir la formation des étudiants pour la recherche clinique.
- Equiper les laboratoires de neurogénétique de matériels de pointe pour la recherche clinique.
- Encourager le dépistage des maladies neurogénétiques dans les régions à faible nombre de copies de *SMN1*
- Mettre en place un système de surveillance et de visite à domicile des personnes suspectes de SMA et d'autres maladies neurogenetiques.

2. Aux populations:

- Sensibiliser la population sur les maladies héréditaires autosomiques et récessives par les canaux d'information (medias écrits, télévision et audio)
- Initier un conseil génétique sur les maladies autosomiques récessives chez toutes les personnes désireuses de procréer.
- Procéder à un diagnostic prénatal pour l'évaluation et la prise en charge de ces maladies héréditaires autosomiques et récessives.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Pearn, J., *Incidence, prevalence, and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy*. J Med Genet, 1978. **15**(6): p. 409-13.
2. Iannaccone, S.T., *spinal muscular atrophy*. Semin Neurol, 1998. **18**(1): p. 19-26.
3. Lefebvre, S., et al., *Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene*. Cell, 1995. **80**(1): p. 155-65.
4. Zaldivar, T., et al., *Evidence of reduced frequency of spinal muscular atrophy type I in the Cuban population*. Neurology, 2005. **65**(4): p. 636-8.
5. Labrum, R., J. Rodda, and A. Krause, *The molecular basis of spinal muscular atrophy (SMA) in South African black patients*. Neuromuscul Disord, 2007. **17**(9-10): p. 684-92.
6. Hendrickson, B.C., et al., *Differences in SMN1 allele frequencies among ethnic groups within North America*. J Med Genet, 2009. **46**(9): p. 641-4.
7. Crossman, A.R., Neary, D., , *Cells of the nervous system in Neuroanatomy: An illustrated colour text* C.A.a.N. D, Editor 2010, Elsevier: Churchill, Livingstone, London. p. 29-32.
8. Crossman, A.R., Neary, D., *Introduction and overview.*, in *Neuroanatomy: An illustrated colour text*, R. Alan, Crossman and David Neary, Editor 2010, Elsevier: Churchill, Livingstone, London. p. 67-86.
9. Felten, D.L., S. A. N., *Peripheral nervous system*, in *Netter's Atlas of neuroscience*, L. David, Felten., Anil, N., Shetty. , Editor 2010, Saunders: Philadelphia. p. 135-206.
10. MacDonald, M.E., et al., *The Huntington's disease candidate region exhibits many different haplotypes*. Nat Genet, 1992. **1**(2): p. 99-103.
11. Warner, J.P., L.H. Barron, and D.J. Brock, *A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington's disease chromosomes*. Mol Cell Probes, 1993. **7**(3): p. 235-9.
12. Werdnig, G., *Two early infantile hereditary cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy, but on a neural basis. 1891*. Arch Neurol, 1971. **25**(3): p. 276-8.
13. Hoffmann, J., *Über progressive neurotische Muskelatrophie*. Arch. psychiatr. Nervenkr., 1889. **20**: p. 661-673.
14. Collier, J., Wilson, S. A. K. , *Amyotonia Congenita Brain*. 1908. **31**: p. 1.
15. Beevor, C.E., *A case of congenital spinal muscular atrophy (family type) and a case of hemorrhage into the spinal cord at birth giving similar symptoms*. Brain 1902. **25**: p. 85-108.
16. Kugelberg, E., Welander, L., *Familial neurogenic spinal muscular atrophy simulating ordinary proximal dystrophy*. Acta Psychiatr. Scand., 1954. **29**: p. 42.
17. Gilliam, T.C., et al., *Genetic homogeneity between acute and chronic forms of spinal muscular atrophy*. Nature, 1990. **345**(6278): p. 823-5.
18. Ogino, S., et al., *Genetic risk assessment in carrier testing for spinal muscular atrophy*. Am J Med Genet, 2002. **110**(4): p. 301-7.
19. Smith, M., et al., *Population screening and cascade testing for carriers of SMA*. Eur J Hum Genet, 2007. **15**(7): p. 759-66.
20. Souirti, Z., Slimani, C., Birouk, N., Bouhouche, A., Belaidi, H., Kably, B., Benomar, A., Yahyaoui, M., Ouazzani, R., *Amyotrophies spinales progressives*. AMETHER, 2009. **1**(1): p. 18-21.

21. Corcia, P., et al., [*Genetics of motor neuron disorders*]. Rev Neurol (Paris), 2008. **164**(2): p. 115-30.
22. Bouhouche, A., et al., *High incidence of SMN1 gene deletion in Moroccan adult-onset spinal muscular atrophy patients*. J Neurol, 2003. **250**(10): p. 1209-13.
23. Lewelt, A., et al., *Compound muscle action potential and motor function in children with spinal muscular atrophy*. Muscle Nerve, 2010. **42**(5): p. 703-8.
24. Serratrice, G., Pelissier, J.F., Pouget, J., *Les maladies neuromusculaires*. MASSON, PARIS, 1994. **232**.
25. Anhuf, D., et al., *Determination of SMN1 and SMN2 copy number using TaqMan technology*. Hum Mutat, 2003. **22**(1): p. 74-8.
26. Lefebvre, S., et al., *Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy*. Nat Genet, 1997. **16**(3): p. 265-9.
27. Lorson, C.L., et al., *A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(11): p. 6307-11.
28. Lorson, C.L. and E.J. Androphy, *An exonic enhancer is required for inclusion of an essential exon in the SMA-determining gene SMN*. Hum Mol Genet, 2000. **9**(2): p. 259-65.
29. Arkblad, E., et al., *A population-based study of genotypic and phenotypic variability in children with spinal muscular atrophy*. Acta Paediatr, 2009. **98**(5): p. 865-72.
30. Feldkotter, M., et al., *Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy*. Am J Hum Genet, 2002. **70**(2): p. 358-68.
31. Basel-Vanagaite, L., et al., *Genetic carrier screening for spinal muscular atrophy and spinal muscular atrophy with respiratory distress 1 in an isolated population in Israel*. Genet Test, 2008. **12**(1): p. 53-6.
32. Essawi, M.L., et al., *Molecular analysis of SMN1 and NAIP genes in Egyptian patients with spinal muscular atrophy*. Bratisl Lek Listy, 2007. **108**(3): p. 133-7.
33. Mahadevan, M.S., et al., *SMA genes: deleted and duplicated*. Nat Genet, 1995. **9**(2): p. 112-3.
34. Lee, T.M., et al., *Quantitative analysis of SMN1 gene and estimation of SMN1 deletion carrier frequency in Korean population based on real-time PCR*. J Korean Med Sci, 2004. **19**(6): p. 870-3.
35. Traore, M., et al., *Novel mutation in the NHLRC1 gene in a Malian family with a severe phenotype of Lafora disease*. Neurogenetics, 2009. **10**(4): p. 319-23.
36. Meilleur, K.G., et al., *Hereditary spastic paraplegia and amyotrophy associated with a novel locus on chromosome 19*. Neurogenetics, 2010. **11**(3): p. 313-8.
37. Landouze, G., et al., *Novel mutation in the ATM gene in a Malian family with ataxia telangiectasia*. J Neurol, 2013. **260**(1): p. 324-6.
38. Cusin, V., et al., *Prevalence of SMN1 deletion and duplication in carrier and normal populations: implication for genetic counselling*. J Med Genet, 2003. **40**(4): p. e39.
39. Su, Y.N., et al., *Carrier screening for spinal muscular atrophy (SMA) in 107,611 pregnant women during the period 2005-2009: a prospective population-based cohort study*. PLoS One, 2011. **6**(2): p. e17067.
40. Tran, V.K., et al., *SMN2 and NAIP gene dosages in Vietnamese patients with spinal muscular atrophy*. Pediatr Int, 2008. **50**(3): p. 346-51.

41. Tishkoff, S.A., et al., *The genetic structure and history of Africans and African Americans*. Science, 2009. **324**(5930): p. 1035-44.

Annexe1

Etude des sujets porteurs sains de l'amyotrophie spinale à la FMPOS, Université de Bamako & Instituts nationaux de la santé des Etats- Unis d'Amérique (NIH) /NINDS/NGB

Nom et qualification de l'investigateur associé:

Date:

Sticker:

Numéro d'identification :

1- Informations personnelles:

Q1. Date de naissance:

Q2. Age:

Q3. Sexe:

Q4. Ethnie:

Q5. Statut matrimonial:

1) Célibataire oui non

2) Marié (e) oui non

3) Divorcé (e) oui non

Q6. Classe fréquentée à la FMPOS: S'il vous plait, encerclez le numéro correspondant

Medicine I II III IV V VI

Pharmacy I II III IV V VI

Q7. Région administrative d'origine: S'il vous plait, encerclez le numéro correspondant

I II III IV V VI VII VIII

Q8. Village ou ville natal (e):

Q9. Numéro de téléphone à domicile:

Q10. Numéro de téléphone portable:

Q11. Avez-vous eu des enfants? oui non *Si oui, combien:*

Q12. Consanguinité entre le père et la mère: oui non

Q13. Consanguinité entre le grand-père maternel et la grand-mère maternelle: oui non

Q14. Consanguinité entre le grand-père paternel et la grand-mère paternelle : oui non

2- Antécédents médicaux:

- Q15. Maladie cardiaque oui non *Si oui, préciser:*
- Q16. Hypertension artérielle oui non
- Q17. Diabète oui non *Si oui, préciser:*
a= Type1 b= Type2 c= Je ne sais pas
- Q18. Maladie thyroïdienne oui non *Si oui, préciser:*
a= Hypothyroïdie b= Hyperthyroïdie c= Je ne sais pas
- Q19. Accès palustre grave et compliqué oui non *Si oui, nombre de crises par an:*
- Q20. Accès palustre simple oui non *Si oui, nombre de crises par an:*
- Q21. Hyperthermie maligne oui non *Si oui, préciser:*
- Q22. Trait drépanocytaire oui non
- Q23. Cancer oui non *Si oui, préciser:*
- Q24. Anémie non hémorragique oui non
- Q25. Fausses couches oui non
- Q26. Migraine oui non
- Q27. Epilepsie oui non

3- Antécédents médicaux familiaux:

- Q28. Diabète oui non
- Q29. Maladie thyroïdienne oui non *Si oui, préciser:*
- Q30. Accès palustre grave et compliqué oui non
- Q31. Hyperthermie maligne oui non *Si oui, préciser:*
- Q32. Cancer oui non *Si oui, préciser:*
- Q33. Trait drépanocytaire oui non
- Q34. Anémie non hémorragique oui non
- Q35. Maladie cardiaque oui non *Si oui, préciser:*
- Q36. Hypertension artérielle oui non
- Q37. Fausses couches oui non
- Q38. Epilepsie oui non
- Q39. Migraine oui non
- Q40. Maladie de Parkinson oui non
- Q41. Ataxie (problème de coordination des mouvements volontaires) oui non

Q42. Troubles mentaux oui non *Si oui, préciser:*

Q43. Troubles visuels oui non *Si oui, préciser:*

a=Cécité crépusculaire b= glaucome c= autres

Q44. Surdité oui non *Si oui, préciser:*

4- Autres informations utiles:

Q45. Avez-vous des frères et sœurs? /_/ /

Q46. Avez-vous eu des enfants mort-nés? oui non *Si oui, préciser:*

Q47. Avez-vous eu un enfant décédé avant l'âge de trois (3) ans? oui non *Si oui, préciser:*

Note: De Q48   Q65, tu seras demandé(e)   fournir des informations sur tes parents et grands-parents.

Mère

Q48. Langue maternelle:

Q49. Ethnie:

Q50. Village ou ville natal (e):

Grand-mère maternelle

Q51. Langue maternelle:

Q52. Ethnie:

Q53. Village ou ville natal (e):

Grand-père maternel

Q54. Langue maternelle:

Q55. Ethnie:

Q56. Village ou ville natal (e):

Père

Q57. Langue maternelle:

Q58. Ethnie:

Q59. Village ou ville natal (e):

Grand-mère paternelle

Q60. Langue maternelle:

Q61. Ethnie:

Q62. Village ou ville natal (e):

Grand-père paternel

Q63. Langue maternelle:

Q64. Ethnie:

Q65. Village ou ville natal (e):

Note: S'il vous plait, ne répondez pas si vous ne connaissez pas la réponse aux questions

Q66   Q69 dans la section 5

5- Paramètres mesurables:

Q66. Taille:

Q67. Poids:

Q68. Indice de masse corporelle:

Q69. Tension artérielle:

Note: S'il vous plait, ne répondez à aucune question de Q70 à Q73 dans la section 6.

6. Résultats des tests génétiques:

Q70. Test des sujets porteurs sains de SMA : oui non

Q71. Test des sujets porteurs du trait de la drépanocytose oui non

Q72. Nombre de copies du gène *SMN1* /_/_/

Q73. Nombre de copies du gène *SMN 2* /_/_/

Signature du ou de la participant (e) _____ Date _____

Signature du témoin _____ Date _____

Signature de l'investigateur principal _____ Date _____

FICHE SIGNALÉTIQUE DE LA THÈSE

Mom: BOCOUM

Prénom : NOUHOUM

Titre de la thèse : DISTRIBUTION DU NOMBRE DE COPIES DE SMN1 DANS LA POPULATION MALIENNE A LA FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE. UNIVERSITES DE BAMAKO.

ANNEE : 2012-2013

Ville/Pays de soutenance : Bamako/MALI

Nationalité : MALIENNE

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de médecine et d'odontostomatologie.

Universités de Bamako.

Secteur d'intérêt : NEUROGENETIQUE / SANTE PUBLIQUE.

Résumé :

L'amyotrophie spinale appelée (SMA) est une maladie non traitable qui constitue la première cause de mortalité infantile d'origine héréditaire et la seconde cause de décès par maladie autosomique récessive après la fibrose kystique.

Nous avons réalisé une étude transversale descriptive sur la distribution du nombre de copies de SMN1 chez 660 étudiants de la FMOS et de la FAPH qui s'est déroulée de Juillet 2010 à Juillet 2012.

Nos sujets d'étude avaient un nombre de copies de SMN1 allant de un à cinq.

Le nombre de copies égal à 2 était le plus souvent rencontré avec 46,7%

Parmi les ethnies groupes ethniques répertoriés, les Bambara étaient majoritaires avec 28,4%. Toutes les régions du Mali ont été représentées avec un nombre moyen de copies de SMN1 en faveur Sikasso soit 32,40%. La notion de consanguinité a été également rapportée par nos sujets d'étude entre le Père et la mère 16,2% (CPM) ; consanguinité entre CGPM 11,2% et CGPP 13,3%.

Le sexe ratio (femmes/hommes) témoigne une nette prédominance masculine. La fréquence de la maladie est déterminée en fonction du nombre de copies de SMN1 et La gravité est influencée par le nombre de copies de SMN2. Le portage de la maladie est déterminé à partir du nombre de copies de SMN1 égal à 1. Plus ce nombre de copies est élevé plus la maladie ne se manifeste pas.

Mots clés : Distribution, gène SMN1, nombre de copies, consanguinité, ethnies, Mali.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce que s'y passe ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à compromettre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti, ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueuse et reconnaissante envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque !

Je le jure !