

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE



UNIVERSITE BADJI MOKHTAR
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



LABORATOIRE D'ECOLOGIE DES SYSTEMES TERRESTRES ET AQUATIQUES

THESE

Présentée En vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat

FORMATION DOCTORALE

Biodiversité, Evolution et Ecologie de la santé

THEME

*Origines, évolution et biodiversité de la
population Algérienne selon les ethnies:
les Chaouis à la wilaya de Khenchela.*

Présentée publiquement par: M^{elle}. SAOUDI Souad

Membres du jury:

Pr. TAHRAOUI Abdelkrim	(Université de Annaba)	(Président)
Pr. BOUSLAMA Zihad	(Université de Annaba)	(Directrice de thèse)
Dr. KEFI Rym	(Université de Tunis)	(Co-directrice de thèse)
Pr. BOUZERNA Noureddine	(Université de Annaba)	(Examineur)
Pr. ASSOUS Omar	(Université de Guelma)	(Examineur)
Pr. PALDI Andras	(Université de Paris)	(Examineur)

2015-2016

*Quand le dernier arbre sera abattu,
La dernière rivière empoisonnée,
Le dernier poisson capturé,
Alors seulement vous vous apercevrez que l'argent ne se mange pas.*

Parole amérindienne (Brésil)

Dédicaces

Je dédie ce travail à:

Ma mère, Farida que j'aime

Mon frère Sabri et ses enfants Yoanes Jassim et Amir

Ma sœur Lydia et ses enfants Mohamed Islem et Yavis

Mon fiancé, Sofiane

La population Chaoui

REMERCIEMENTS

Cette thèse est la conjugaison de différentes volontés et de circonstances toutes favorables. Il m'est agréable de pouvoir exprimer ma reconnaissance en premier lieu

A ALLAH tout puissant qui m'a donné la force et la volonté d'achever ce travail et je lui rends grâce, et au terme de ce dernier, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma reconnaissance et mes vifs remerciements à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à sa réalisation.

PRINCIPALEMENT

Ma Directrice de thèse, Madame le Professeur Zihad BOUSLAMA. J'ai beaucoup appris à vos côtés, toujours dans la bonne humeur. Je vous remercie de m'avoir si chaleureusement accueillie dans l'équipe, encadrée et conseillée au quotidien. Un immense merci pour votre confiance, pour votre disponibilité à toute heure, pour votre gentillesse et votre écoute qui m'ont permis de mener sereinement à terme ce travail.

Mesdames le Professeur Sonia ABDELHAK et le Docteur Rym KEFI ma co-directrice de thèse. Vous m'avez accueillie au sein du laboratoire de Génomique Biomédicale et d'Oncogénétique à l'institut Pasteur de Tunis. Vous avez consacré du temps et de l'intérêt à mes travaux. Votre soutien m'a été précieux, je vous exprime toute ma gratitude.

Je souhaiterais que chacun des membres de ce jury de thèse soit assuré de toute ma gratitude. C'est un grand honneur pour moi de soumettre mon travail à votre regard scientifique et de pouvoir être jugée par des Maîtres aussi compétents dans leurs domaines.

Tout d'abord, Monsieur le Professeur Abdelkrim TAHRAOUI, je vous remercie de siéger à ce jury, vos connaissances et votre culture scientifique sont une source d'admiration pour moi.

Monsieur le Professeur Noureddine BOUZERNA, vous me faites l'honneur de participer à ce jury de thèse en tant qu'examineur et de juger ce travail, permettez moi de vous témoigner ma vive reconnaissance et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Omar ASSOUS, je vous remercie d'avoir accepté d'être examineur de cette thèse. Je souhaite que cette approche de travail puisse présenter un intérêt pour vous.

*Je voudrais exprimer ma reconnaissance au **Professeur Andras PALDI**. Je vous remercie d'avoir accepté d'être examinateur de cette thèse, votre savoir et votre sens critique m'inspirent beaucoup de respect.*

*Mademoiselle **Mariem CHARGUI**, la petite fourmi du laboratoire de Génomique Biomédicale et d'Oncogénétique à l'institut Pasteur de Tunis, merci pour toute votre aide, sans vous je n'y serais pas arrivée.*

*A mes collègues du laboratoire d'Ecologie des Systèmes Terrestres et Aquatiques (Ecostaq), **Les Docteurs, Hana SOUALAH-ALILA, Wafa AMOURA et Khalil DRAÏDI** ainsi que **les Doctorants Dounia, Amina, Lynda, Selma et Amine**. Merci à vous tous pour votre joie et bonne humeur.*

Monsieur le Directeur de l'hôpital Ali Boushaba ainsi que tout le personnel du service de transfusion sanguine. Messieurs le Directeur des actions sociales, le Directeur de l'école des jeunes sourds et tout son personnel. Je vous suis infiniment reconnaissante, je vous remercie pour votre collaboration et de m'avoir facilité l'accès aux prélèvements sanguins.

Les donateurs de sang volontaires ainsi que les jeunes sourds et leurs parents, je vous adresse mes vifs remerciements pour votre collaboration et surtout compréhension.

Ma famille à Khenchela, mes tantes, mon oncle, mes cousins et mes cousines qui m'ont accueillie à grand bras ouverts lors de mes déplacements à Khenchela ainsi que leur aide pour la collecte d'échantillons.

*Mon amie de toujours, la **Doctorante Fatma GUELLATI** pour ta joie de vivre communicative et ton aide si précieuse dans le même bateau on se sent moins seule.*

*Mon fiancé, **Sofiane**. Je te remercie, même à plusieurs kilomètres de distance, pour ton soutien pendant ces quatre années de thèse, ta patience et surtout tes sacrifices pour que ma vie professionnelle soit des plus brillantes.*

*Ma famille, à savoir **mon frère Sabri, ma sœur Lydia et ma très chère petite maman Farida** pour avoir cru en moi, c'est grâce à vos encouragements et à votre soutien que j'ai pu arriver jusque là.....Je vous aime.*

PLAN DE TRAVAIL

Introduction générale	1
CHAPITRE I : <i>Etude de la structure familiale des Chaouis</i>	
Introduction	4
Généralités	
I. L'endogamie.....	6
I.1. L'endogamie dans le monde.....	6
I.2. Les motivations des mariages endogames.....	7
II. La consanguinité.....	8
II.1. La consanguinité dans le monde.....	9
II.2. Les causes des mariages consanguins.....	11
II.3. Les effets des mariages consanguins sur la population	
II.3.1. Les effets néfastes de la consanguinité.....	12
II.3.2. Les effets bénéfiques de la consanguinité.....	14
III. Les différents facteurs sociodémographiques présentés dans les études de l'endogamie et de la consanguinité.....	14
Matériel et Méthodes	
I. La zone d'étude	
I.1. Présentation de la wilaya de Khenchela.....	16
1.1.1. Les données sociales.....	16
1.1.2. Les sites naturels.....	17
1.1.3. Les sources thermales.....	17
I.2. Aperçu historique de la ville de Khenchela.....	17
I.2.1. La période Phénicienne.....	18
I.2.2. La période Romaine.....	19
I.2.3. La période Vandale.....	20
I.2.4. La période Byzantine.....	21
I.2.5. La période Arabe.....	22
I.2.6. La période Turque.....	24
I.2.7. La période Française.....	24
II. Les caractéristiques démogénétiques, culturelles et socio-économiques du couple étudié	
II.1. Les caractéristiques démogénétiques du couple.....	26

II.2. Les caractéristiques culturelles et socio-économiques du couple.....	26
III.L'étude de l'homogamie.....	26
III.1. La méthode d'étude de l'homogamie.....	27
III.2. La méthode d'étude de la consanguinité	
III.2.1. La méthodologie de mesure.....	28
a. Au niveau individuel.....	28
b. Au niveau de chaque population.....	29
III.2.2. Le coefficient de consanguinité apparente.....	29
Résultats et Discussion	
1. L'homogamie géographique (l'endogamie).....	30
2. La consanguinité.....	30
3. L'homogamie sociale	
3.1. L'homogamie culturelle.....	32
3.2. L'homogamie professionnelle.....	35
Conclusion	38

CHAPITRE II : Etude de la structure anthropogénétique des Chaouis

Introduction	39
Généralités	
I. L'Acide Désoxyribonucléique (ADN) humain.....	41
II. Les concepts de la génétique des populations.....	42
III. Les polymorphismes.....	43
III.1. Les polymorphismes bi-alléliques.....	44
III.2. Les polymorphismes multi-alléliques.....	44
IV. Les marqueurs génétiques.....	45
V. L'ADN mitochondrial humain.....	45
V.1. La description de l'ADN mitochondrial humain.....	45
V.2. La structure de l'ADN mitochondrial humain.....	46
V.3. La réplication et la transcription de l'ADN mitochondrial humain.....	48
V.4. La vitesse de mutation de l'ADN mitochondrial humain.....	48
V.5. Le mode de transmission de l'ADN mitochondrial humain.....	49
V.6. L'hétéroplasmie de l'ADN mitochondrial humain.....	49
V.7. Des haplotypes aux haplogroupes.....	50

V.8. Les applications de l'ADN mitochondrial humain.....	52
V.8.1. L'ADN mitochondrial humain et l'anthropologie génétique.....	52
V.8.2. L'ADN mitochondrial humain et les sciences forensiques (médecine légale et criminalistique).....	55
V.8.3. L'ADN mitochondrial humain et les pathologies humaines.....	55
a. Les cytopathies mitochondriales.....	56
b. L'ADN mitochondrial humain et les maladies multifactorielles.....	57

Matériel et Méthodes

I. La zone d'étude.....	16-25
II. La description et le prélèvement du matériel biologique.....	60
III. L'extraction saline de l'ADN génomique	
III.1. Le principe.....	60
III.2. Le protocole expérimental	
III.2.1. La lyse des globules rouges et des globules blancs.....	60
III.2.2. La préparation de l'ADN	
a. La précipitation des protéines au NaCl 6M.....	61
b. La précipitation de l'ADN à l'éthanol.....	61
IV. Le contrôle quantitatif et qualitatif de l'ADN génomique	
IV.1. Le contrôle quantitatif.....	62
IV.2. Le contrôle qualitatif.....	62
V. L'amplification de l'ADN génomique par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	
V.1. Le principe.....	62
V.2. La réalisation pratique.....	63
VI. L'électrophorèse sur gel d'agarose 1%	
VI.1. Le principe.....	64
VI.2. La réalisation pratique.....	65
VII. Le séquençage automatique	
VII.1. Le principe.....	65
VII.2. La purification des produits de PCR.....	66
VII.3. La réalisation pratique	
VII.3.1. La purification des produits PCR par l'EXO-SAP.....	67
VII.3.2. La PCR de séquence.....	67

VII.3.3. La précipitation à l'éthanol 70%.....	68
VII.3.4. La préparation du gel polyacrylamide.....	68
VIII. L'analyse bioinformatique des séquences.....	69

Résultats et Discussion

I. La description des séquences mitochondriales obtenues.....	70
II. La structure anthropogénétique de la population Chaoui.....	71
III. La comparaison inter-populationnelle des données génétiques.....	73
Conclusion	76

CHAPITRE III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Introduction	77
---------------------------	----

Généralités

I. Rappels sur la génétique humaine	
I.1. Les notions fondamentales de l'hérédité.....	79
I.2. Les modes de transmission des maladies génétiques	
I.2.1. L'hérédité mendélienne.....	80
I.2.2. L'hérédité mitochondriale.....	80
I.2.3. L'hérédité multifactorielle.....	81
I.3. L'arbre généalogique.....	81
II. L'oreille, l'audition et la surdité	
II.1. L'anatomie de l'oreille.....	82
II.1.1. L'os temporal.....	82
II.1.2. L'oreille externe	
a. Le pavillon.....	83
b. Le méat auditif externe ou meatus acusticus externus.....	83
II.1.3. L'oreille moyenne.....	83
A. La caisse du tympan (cavum tympani).....	84
B. Les osselets (ossicula auditus).....	84
II.1.4. L'oreille interne.....	85
A. Le labyrinthe osseux.....	85
B. Le labyrinthe membraneux.....	86
C. Le canal cochléaire.....	87

D. L'organe de Corti.....	87
II.2. La physiologie de l'audition	
II.2.1. La physiologie de l'oreille externe.....	89
II.2.2. La physiologie de l'oreille moyenne	
a. La transmission des ondes sonores.....	90
b. L'adaptation d'impédance.....	90
c. La protection de l'oreille interne.....	91
II.2.3. La physiologie de l'oreille interne et du nerf auditif	
A. Le nerf cochléaire.....	91
a. L'innervation afférente.....	92
b. L'innervation efférente.....	92
B. La composition des liquides labyrinthiques.....	93
C. La tonotopie cochléaire	
a. La tonotopie passive.....	94
b. La tonotopie active.....	95
D. La transduction.....	95
a. La propagation de l'onde mécanique dans les liquides cochléaires.....	96
b. La stimulation des cellules ciliées externes.....	96
c. La mise en jeu des mécanismes actifs.....	96
d. La stimulation des cellules ciliées internes.....	96
e. La libération du neurotransmetteur.....	96
E. L'intégration de l'information par les centres auditifs.....	97
II.3 La surdité	
II.3.1. La définition de la surdité.....	97
II.3.2. L'étiopathogénie.....	98
a. L'épidémiologie.....	98
b. La pathogénie.....	99
II.3.3. Le dépistage et le diagnostic.....	100
A. Le dépistage de la surdité néonatale	
a. Les moyens du dépistage de la surdité néonatale	
1. L'interrogatoire et l'examen clinique.....	100
2. L'exploration fonctionnelle objective.....	101
b. La stratégie du dépistage de la surdité néonatale.....	104
B. Le diagnostic de la surdité néonatale.....	105

a. L'interrogatoire et l'examen clinique ORL et général.....	105
b. Les examens paracliniques.....	105
II.3.4. La classification de la surdité	
A. La classification fonctionnelle.....	108
B. La classification audiométrique.....	108
C. La classification selon les étiologies des surdités.....	109
D. La classification selon l'apparition du langage.....	109
II.3.5. Les étiologies de la surdité.....	110
II.3.6. La surdité neurosensorielle d'origine génétique	
A. La codification internationale des surdités génétiques.....	110
B. Les caractéristiques génétiques des surdités héréditaires.....	110
C. Les modes de transmission.....	111
D. La classification des surdités d'origines génétiques	
a. Les surdités syndromiques.....	114
b. Les surdités non syndromiques.....	116
E. La prise en charge et le conseil génétique	
a. L'appareillage auditif	
1. Les prothèses auditives.....	118
2. L'implant cochléaire.....	118
b. La rééducation orthophonique.....	119
F. La surdité liée à des mutations du gène GJB2	
a. Les gènes codants.....	119
b. La protéine connexine	
1. Définition.....	121
2. Le rôle de la connexine 26.....	122
c. La physiopathologie	
1. Les mutations du gène de la connexine26.....	122
2. Les théories actuelles sur les mécanismes des surdités liées à la connexine 26.....	124
3. Les corrélations génotype-phénotype clinique	
3.1. La surdité autosomique récessive DFNB1.....	125
3.2. La surdité autosomique dominante DFNA3.....	125
3.3. La surdité syndromique.....	126

Matériel et Méthodes

I. La zone d'étude.....	16-25
II. La description des patients.....	127
III. L'enquête génétique familiale.....	127
IV. Les prélèvements sanguins.....	128
V. L'extraction saline de l'ADN génomique	
V.1. Le principe.....	128
V.2. Le protocole expérimental.....	128
VI. Le dosage de l'ADN.....	129
VII. La stratégie de recherche de mutations au niveau du gène GJB2.....	130
VIII. L'amplification des séquences nucléotidiques par la Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)	
VIII.1. Le principe de la PCR.....	131
VIII.2. Le protocole expérimental de la PCR	
VIII.2.1. La PCR des parties 1 et 2 de l'exon 2 du gène GJB2.....	131
VIII.2.2. La PCR de l'exon 1 du gène GJB2.....	133
IX. L'électrophorèse sur gel d'agarose 1%	
IX.1. Le principe.....	134
IX.2. La réalisation pratique.....	134
X. Le séquençage automatique	
X.1. Le principe.....	135
X.2. La purification des produits de PCR.....	136
X.3. La réalisation pratique	
X.3.1. La purification des produits PCR par l'EXO-SAP.....	136
X.3.2. La PCR de séquence.....	137
X.3.3. La précipitation à l'éthanol 70%.....	137
X.3.4. La préparation du gel polyacrylamide.....	138
XI. L'analyse bioinformatique des séquences.....	138

Résultats

I. Les résultats de l'enquête génétique familiale.....	139
II. Les résultats de l'étude moléculaire	
II.1. Les résultats de l'extraction d'ADN.....	139

II.2. Les résultats de l'amplification du gène GJB2 par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	139
II.3. Les résultats du séquençage	
II.3.1. Les résultats du séquençage de la partie 1 de l'exon 2 du gène GJB2.....	140
II.3.2. Les résultats du séquençage de la partie 2 de l'exon 2 du gène GJB2.....	140
II.3.3. Les résultats du séquençage de l'exon 1 du gène GJB2.....	140
Discussion	141
Conclusion	144
Conclusion générale et Perspectives	145
Références bibliographiques	146

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Fréquence des mariages consanguins dans divers pays arabes (Rozzet et Prem, 2003).....	10
Tableau 2: Répartition des taux d'endogamie aux différentes générations (N=112).....	30
Tableau 3: Répartition des taux de consanguinité aux différentes générations (N=112).....	30
Tableau 4: Répartition des taux des différentes classes de consanguinité à travers les générations.....	31
Tableau 5: Matrice de l'homogamie culturelle à la génération du Couple Etudié (N=112)...	35
Tableau 6: Répartition des professions au niveau des générations (N=112).....	35
Tableau 7: Matrice de la première forme d'homogamie professionnelle (N=112).....	36
Tableau 8: Matrice de la seconde forme d'homogamie professionnelle (N=112).....	37
Tableau 9: Séquences du couple d'amorces utilisé dans la réaction de PCR de HVS1.....	64
Tableau 10: Programme de cycle de température au niveau du thermocycleur.....	64
Tableau 11: Les indices de la diversité moléculaire au sein de la population Chaoui.....	70
Tableau 12: Distribution des sous-haplogroupes mitochondriaux dans la population Chaoui analysée.....	71
Tableau 13: Les différents haplogroupes mitochondriaux et leurs fréquences.....	72
Tableau 14: Comparaison des indices de la diversité moléculaire inter-populations.....	73
Tableau 15: Nombre d'haplotypes partagés inter-populations.....	74
Tableau 16: Valeurs de Fst, source générale de variation entre les populations.....	74
Tableau 17: Les surdités syndromiques les plus fréquentes ou nécessitant une prise en charge spécifique.....	115

Tableau 18: Les amorces utilisées dans la PCR de la partie 2 de l'exon 2 du gène GJB2.....	132
Tableau 19: Les amorces utilisées dans la PCR de la partie 1 de l'exon 2 du gène GJB2.....	132
Tableau 20: Les amorces utilisées dans la PCR de l'exon 1 du gène GJB2.....	133
Tableau 21: Liens de parenté et existence de cas de surdité dans les familles des patients.....	139

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Carte de la répartition des mariages consanguins dans le monde (Bittles, 1990).....	9
Figure 2: Répartition des différents niveaux d'étude à la Génération du couple Etudié (N=112).....	33
Figure 3: Répartition des différents niveaux d'étude à la Génération des Parents du Mari (N=112).....	34
Figure 4: Répartition des différents niveaux d'étude à la Génération des Parents de la Femme (N=112).....	34
Figure 5: Schéma de l'ADN mitochondrial humain (www.mitomap.org).....	47
Figure 6: Arbre phylogénétique des haplogroupes mitochondriaux et leur distribution McDonald, 2005).....	51
Figure 7 : Schéma de l'oreille humaine (Denoyelle <i>et al.</i> , 1998).....	89
Figure 8: Modèle de transmission d'une maladie autosomique récessive monogénique. Union de deux sujets hétérozygotes.....	112
Figure 9: Modèle de transmission d'une maladie autosomique dominante monogénique. Union d'un sujet malade et d'un sujet sain.....	112
Figure 10: Modèle de transmission d'une maladie monogénique liée à l'X. Union d'un homme sain et d'une femme conductrice.....	113
Figure 11: Structure et localisation du gène GJB2 (Martin et Evans, 2004).....	120
Figure 12: Schéma d'une jonction communicante entre deux cellules adjacentes (Abe <i>et al.</i> , 2000).....	121
Figure 13: Localisations des mutations de la connexine 26 rapportées dans la littérature et liées à la surdité (Stong <i>et al.</i> , 2006).....	123

LISTE DES ABREVIATIONS

DDS	Direction de la Santé
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADNmt	ADN mitochondrial
J.C	Jésus Christ
GCE	Génération du Couple Etudié
GPM	Génération des Parents du Mari
GPF	Génération des parents des la mère
N	Effectif total
FFP	Fille du Frère du Père
FSM	Fille de la Sœur de la Mère
FSP	Fille de la Sœur du Père
FFM	Fille du Frère de la Mère
gpp	grand-père paternel
gmp	grand-mère paternelle
gpm	grand-père maternel
gmm	grand-mère maternelle
pb	paire de bases
ARN	Acide Ribonucléique
HVS	Hyper Variable Segment
A	Adénine
G	Guanine
T	Thymine
C	Cytosine
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
rCRS	revised Cambridge Reference Sequence
ARNm	ARN messenger
ARNr	ARN ribosomal
ARNt	ARN de transfert
Ma	Million d'années
tRNA Ile	tRNA-Isoleucine
WLB	White Lysis Buffer
BLB	Blood Lysis Buffer
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
EDTA	Ethylène Diamine Tétra-Acétique
t/min	tours/minute
TE	Tris EDTA
rpm	rotations par minute
TBE	Tris Borate EDTA
nm	nanomètre
PCR	Polymerase Chaine Reaction
dNTP	désoxy Nucléotide Tri Phosphate
min	minute
BET	Bromure d'Ethidium
ddNTP	di désoxy Nucléotide Tri Phosphate
dATP	désoxy Adénosine Tri Phosphate
dCTP	désoxy Cytosine Tri Phosphate

dGTP	désoxy Guanine Tri Phosphate
dTTP	désoxy Thymine Tri Phosphate
BP	Before Present
GJB2	Gap Junction Beta 2
dB	décibel
KHz	Kilo Hertz
tRNA (Ser)	tRNA (Serine)
tRNA (Leu)	tRNA (Leucine)
Con26R	amorçe Connexine 26 Reverse (anti sens)
Con26F	amorçe Connexine 26 Forward (sens)
sec	seconde
Tm	melting Temperature

المخلص

المعلومات الأساسية:

يمثل الزواج المؤسسة الأساسية التي تقرر إعادة توزيع الجينات بين الأفراد على مدى الأجيال. و بالتالي لفهم التنوع البشري، تتخصص الأنثروبولوجيا في دراسة ه ذا التباين و إعادة بناء التاريخ البشري. يمثل الحمض النووي الميتوكوندري أداة هامة لدراسة علم الوراثة البشرية.

إن زواج الأقارب يقلل من التنوع الجيني من خلال تعزيز نمو الأفراد ذوي الجينات المتماثلة و ظهور التشوهات الخلقية و الأمراض الوراثية المتنحية.

في الدول المتقدمة، يمثل الأصل الجيني للصبم أكثر من 70 بالمائة من الحالات. يعتبر شمال إفريقيا الأكثر نفعا لدراسة الجينات المسؤولة على الصمم الخلقي الشديد أو العميق.

الأهداف:

في هذا السياق، نقترح دراسة البنية الأسرية و الأنثروبولوجية و دراسة تمهيدية للمسببات الجزيئية لمرض الصمم غير المتلازم ذو الصفة المتنحية لدى بربر المنطقة الشرقية من الجزائر: الشاوية من ولاية خنشلة.

المعدات و الأساليب:

أجري تحقيق جيني لعينة مكونة من 114 فرد بالغ، غير ذوي صلة قرابة و منحدرين من أمهات و جدات شاوية. تم جمع معطيات الأنساب و الديموجينية من جيل الزوج المدروس و من جيل الآباء (والدي الزوج و والدي الزوجة). هذه المعلومات تسمح لنا بتحديد نسب الأنواع المختلفة من الزواج المتماثل.

بالنسبة للدراسات الجزيئية للتنوع البيولوجي للحمض النووي الميتوكوندري و الصمم (الكشف عن طفرات المورثة BJK2)، فقد تم الحصول على عينات دموية و ذلك بعد إمضاء الجهات المانحة على موافقة خطية. علما أن دراسة الصمم أجريت على عائلتين من الشاوية.

النتائج:

يتميز بربر الشاوية بميلهم لزواج الأقارب. كشفت دراسة الحمض النووي الميتوكوندري أن المكونة الجينية السائدة هي المكونة الأوروآسيوية. بعد تحليل المورثة BJK2، لم يتم العثور على أية طفرة على مستواه.

الخلاصة:

طوال عدة أجيال والى أيامنا هذه، يمثل زواج الأقارب ممارسة إجتماعية شائعة لدى بربر الشاوية و ذلك قد يكون لنقص إستيعاب خطورة هذا النوع من الزواج على صحة الإنسان. يتكون بربر الشاوية من فسيفساء من المكونات الوراثية مع هيمنة المكونة الأوروآسيوية. نحن ننظر لتوسيع نطاق الدراسة لبربر الشاوية و إجراء إستراتيجيات أخرى للتشخيص الجيني لمرضاانا بالصمم المتنحي غير المتلازم.

الكلمات الدالة:

زواج الأقارب، الخيارات الزوجية، الحمض النووي الميتوكوندري، البربر، الصمم، BJK2.

Résumé

Rappel: Le mariage est l'institution de base qui décide de la redistribution des gènes entre les individus au fil des générations. Ainsi, pour comprendre la diversité des populations humaines, l'anthropobiologie étudie leur variabilité ainsi que la reconstitution de leur histoire évolutive. L'ADN mitochondrial constitue un important outil pour l'étude de la génétique des populations humaines.

Les mariages consanguins réduisent la variabilité génétique de la population en favorisant l'accroissement des individus homozygotes et à l'apparition des malformations congénitales et des maladies autosomiques récessives.

L'origine génétique des surdités congénitales touche plus de 70% des cas dans les pays développés. Les régions où la consanguinité est fréquente, telles que le Nord-africain, sont les plus bénéfiques dans la recherche de gènes impliqués dans la surdité congénitale sévère à profonde.

Objectifs: Dans ce contexte, nous proposons une étude de la structure familiale et anthropogénétique ainsi qu'une étude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive non syndromique au sein d'une population Berbère de l'Est Algérien, les Chaouis de la ville de Khenchela.

Matériel et méthodes: Une enquête génétique a été menée auprès d'un échantillon de 114 adultes, non apparentés et dont les mères et grands-mères maternelles sont Chaouis. Des données généalogiques et démogénétiques ont été recueillies au niveau de la génération du couple étudié, la génération des parents du mari et la génération des parents de la femme. Ces données nous permettront de déterminer les fréquences des différents types d'homogamie. Pour les études moléculaires de la biodiversité de l'ADN mitochondrial ainsi que surdité (la détection de mutations au niveau du gène GJB2), des prélèvements sanguins ont été obtenus après consentement des donneurs. Notons que l'étude sur la surdité n'a été effectuée que sur deux familles Chaouis.

Résultats: Les Chaouis forment une population à caractère homogame (endogamie et consanguinité). L'étude de la biodiversité de l'ADN mitochondrial a révélé que la composante génétique eurasiatique est la prédominante. Enfin, après analyse du gène GJB2, aucune mutation n'a été trouvée à son niveau.

Conclusion: Depuis plusieurs générations jusqu'à nos jours, les mariages homogames constituent une pratique sociale courante dans la population Chaoui en raison de la non-

compréhension de leurs impacts sur la santé humaine. La population Chaoui est en réalité une mosaïque de composantes génétiques avec une prédominance Eurasiatique.

Enfin, d'autres stratégies de diagnostic génétique de la surdité autosomique récessive sont envisagées pour nos patients : le *Whole Exome Sequencing* (WES) et le *Whole Genome Sequencing* (WGS).

Mots clés: Homogamie, choix matrimonial, ADN mitochondrial, Berbères, surdité, GJB2.

Abstract

Background: Marriage is the basic institution which decides genes redistribution between individuals over generations. Thus, to understand human population diversity, anthropology studies its variability and its evolutionary history reconstitution. Mitochondrial DNA is an important tool to study genetics of human populations.

Inbreeding reduces the genetic variability of the population by promoting the increase of homozygous individuals and the appearance of congenital malformations and autosomal recessive diseases.

In developed countries, genetic congenital hearing loss affects over 70% of cases. In North Africa, inbreeding is common which make this region very interesting to study genes involved in severe to profound congenital deafness.

Aims: We propose a study of the family and the anthropogenetic structure of Chaoui population from Khenchela and a preliminary study of the molecular etiology of autosomal recessive nonsyndromic hearing loss.

Materials and methods: A genetic investigation was carried among 114 unrelated individuals whose mothers and maternal grandmothers are Chaouis. Genealogical and demogenetic data were collected at the studied couple generation, at the husband parents generation and at wife parents generation. These data will allow us to determine the different types of assortative mating frequencies. For molecular studies of mitochondrial DNA and deafness (detecting mutations in the GJB2 gene), blood samples were obtained after consent of donors. The study on deafness was conducted on two Chaouis families.

Results: Chaouis form a homogamous population (endogamy and consanguinity). The study of mitochondrial DNA biodiversity revealed that Eurasian genetic component is the predominant. Finally, after GJB2 gene analysis, no mutation was found.

Conclusion: Since several generations until nowadays, assortative marriage is a common social practice in the Chaoui population because its impact is not always understood. Chaoui population is actually a mosaic of genetic components with an Eurasian predominance. Finally, other strategies of genetic diagnosis are envisaged for our patients with autosomal recessive hearing loss: the Whole Exome Sequencing (WES) and the Whole Genome Sequencing (WGS).

Key words: Homogamy, matrimonial choice, mitochondrial DNA, Berbers, deafness, GJB2.

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

SAOUDI. S, 2015

Selon Chalbi et Zakaria (1998), l'étude des modalités de choix du conjoint permet de distinguer le type de société.

En effet, le choix du conjoint a des conséquences directes sur la répartition, la structure et l'hétérogénéité du bassin génétique d'une population (Tremblay *et al.*, 2000).

Pour les sociologues, l'homogamie est un choix matrimonial unissant des individus de caractéristiques semblables telles que la religion, le statut socio-économique, l'âge, le niveau d'instruction, l'apparence physique, l'intérêt professionnel, etc. (Abdelrahman, 1994 ; Sanchez-Andres et Mesa, 1994 ; Jaffe et Chacon-Puignau, 1995 ; Berezkei *et al.*, 1997 ; Kalmijn, 1998 ; Berezkei *et al.*, 2002), ce qui garantit une stabilité de la vie conjugale (Weisfeld *et al.*, 1992 ; Joshua *et al.*, 2001 ; Berezkei *et al.*, 2002).

L'homogamie géographique, ou encore l'endogamie, est considérée comme un facteur d'immobilité sociale de l'individu et, à la limite, de l'isolement génétique du groupe reproducteur (Saugstad et Odegard, 1977 ; Reddy, 1984 ; Kucher *et al.*, 1999 ; Bittles, 2002 ; Ben Arab *et al.*, 2004) aboutissant à un taux de consanguinité élevé (Caro Dobon et Santo Tomas Martinez, 1994 ; Biondi *et al.*, 1996 ; Rajab et Patton, 2000).

Les raisons les plus fréquentes pour la préférence de ce type de choix matrimonial sont les traditions et la participation parentale dans le choix du futur partenaire de leur enfant (Ben Arab *et al.*, 2004).

Les généticiens classent le mariage consanguin selon le coefficient de consanguinité, défini par la probabilité qu'un individu issu d'union consanguine possède en un locus donné deux allèles identiques (Denic et Al-Gazali, 2002 ; Denic, 2003).

Le Pakistan détient le taux de consanguinité le plus élevé (76%) dont 62.5% sont des cousins germains (Hashmi, 1997).

Le mariage est l'institution de base qui décide de la plupart des redistributions des gènes entre les individus au fil des générations, ainsi nous pourrions suivre de près le sort du patrimoine génétique de la population (Talbi *et al.*, 2008).

Parallèlement, pour comprendre la diversité des populations humaines actuelles, l'anthropobiologie aborde tant leur variabilité que la reconstitution de leur histoire évolutive (Charles *et al.*, 2003).

INTRODUCTION GENERALE

SAOUDI. S, 2015

Un important outil est utilisé pour l'étude de la génétique des populations humaines, l'AND mitochondrial (ADNmt).

L'étude de la diversité de l'ADNmt fournit des informations sur les origines des populations, sur les voies de migrations ainsi que d'autres modèles des flux génétiques (Kefi *et al.*, 2014).

L'ADNmt présente différentes propriétés telles que l'hérédité uniparentale exclusivement maternelle, l'absence de recombinaison et le taux élevé de mutations.

La consanguinité réduit largement la variabilité génétique inter et intra-population en favorisant l'accroissement de l'homozygotie, ce qui engendre une plus grande homogénéité au sein de la population ainsi que l'augmentation d'apparition des anomalies par fixation des gènes délétères (Biémont *et al.*, 1974 ; Solignac *et al.*, 1995).

La consanguinité favorise l'apparition des malformations congénitales et des maladies héréditaires rares (maladies autosomiques récessives) (Jaber *et al.*, 1997 ; Khoury et Massad, 2000 ; Bellis *et al.*, 2001 ; Overall et Nichols, 2001 ; De Costa, 2002 ; Modell et Darr, 2002).

L'origine génétique des surdités congénitales touche plus de 70% des cas dans les pays développés (Van Camp *et al.*, 1997). Environ 90% des surdités non syndromique, sévère à profonde, sont transmises selon un mode autosomique récessif (DFNB) (Brownstein *et al.*, 2012).

Les régions où la consanguinité est fréquente, telles que le Nord-africain, sont les plus bénéfiques dans la recherche de gènes impliqués dans la surdité congénitale sévère à profonde (Guilford *et al.*, 1994).

Devant la rareté des données sur la structure familiale et anthropogénétique ainsi que l'étiologie moléculaire de la surdité non syndromique des populations de l'Est Algérien, nous proposons, pour la première fois, une étude couvrant ces axes de recherche sur une population Berbère de l'Est Algérie ; les Chaouis à la Wilaya de Khenchela.

Cette population présente la caractéristique d'être confrontée à des pratiques d'homogamie depuis plusieurs générations.

Cette étude vise, dans un premier temps, à déterminer les fréquences des différents types d'homogamie chez les Chaouis (endogamie, consanguinité, homogamie culturelle et homogamie sociale).

INTRODUCTION GENERALE

SAOUDI. S, 2015

Par la suite, nous essayeront de déterminer les différents haplogroupes mitochondriaux des Chaouis ainsi que leurs affiliations continent-spécifiques.

Enfin, nous avons envisagés une analyse préliminaire des causes génétiques de la surdité non syndromique chez deux familles Chaouis dont la descendance est atteinte.

CHAPITRE I

Etude de la structure familiale des Chaouis

INTRODUCTION

Introduction

SAOUDI. S, 2015

Au sein d'une population, les unions entre individus se font selon deux modes différents.

Dans le premier mode, les unions sont faites au hasard et les tirages des gamètes se font à partir d'une urne commune à la population des géniteurs de composition donnée. Tandis que dans le second mode, le choix matrimonial n'est plus au hasard, mais plutôt régi par des intérêts et des motivations divers : économiques, socio-culturels ou religieux qui limitent les tirages des gamètes à une urne beaucoup plus restreinte, correspondant à une même catégorie donnée pour les deux sexes, on parle alors d'homogamie.

Il existe différents types d'homogamie: l'homogamie géographique (l'endogamie), l'homogamie culturelle, l'homogamie professionnelle, l'homogamie sociale et l'homogamie familiale (la consanguinité).

L'endogamie ou encore l'homogamie géographique, fait référence aux unions entre deux personnes ayant la même origine régionale. Il en résulte une immobilité sociale de l'individu, et à la limite, l'isolement génétique du groupe reproducteur, par rapport à l'ensemble de la population.

L'homogamie culturelle, s'agit d'unions entre deux personnes ayant le même niveau d'instruction.

L'homogamie professionnelle, représente les unions entre deux individus ayant la même profession.

L'homogamie sociale, représente les unions entre deux individus dont les pères respectifs, ou bien le conjoint et le père de la femme, ont le même niveau social.

L'homogamie familiale, ou la consanguinité, s'agit d'unions entre deux individus génétiquement apparentés où le tirage des gamètes se fait dans une même urne familiale.

L'endogamie a fait l'objet de plusieurs études dans différents pays du monde et les raisons la motivant sont diverses selon la région. Elles peuvent être dues à l'isolement géographique (Shwidetsky, 1976 ; Chalbi, 1989), à l'insécurité ou à la peur de l'étranger (Tillon, 1966) entre autres.

L'endogamie reste encore très fréquente dans le monde arabe tel qu'en Jordanie, en Palestine, en Syrie, en Iraq, au Koweït, en Arabie Saoudite, au Kurdistan, en Iran, en Égypte,

Introduction

SAOUDI. S, 2015

au Soudan, au Liban et en Afrique du Nord. Ces études ont noté une pratique dynamique de l'endogamie dans les milieux ruraux (Bou-Assy *et al.*, 2003).

L'endogamie géographique ou ethnique pourrait entraîner un accroissement de la consanguinité. Les mariages entres des individus biologiquement apparentés restent très courants surtout dans les sociétés Arabo-musulmanes où ils représentent 20 à 50 % de la totalité des mariages (Bittles 1991, 1994).

Les enfants issus de couples apparentés ont une probabilité plus élevée de voir augmenter les taux d'homozygotie de leurs gènes. Ainsi, la consanguinité a fait l'objet de nombreuses études à travers le monde dans le but de dégager ses incidences et son impact sur la santé des populations humaines.

Plusieurs travaux menés dans différents pays ont constaté des niveaux de consanguinité très élevés, préférentiellement entre cousins de premier degré.

Dans ce premier chapitre, nous nous sommes proposés de réaliser une étude sur les différents types d'homogamie au sein de la population Chaoui (Berbère du Nord-Est Algérien, Khenchela) qui présente des caractéristiques historiques, culturelles, socio-économiques et démographiques bien spécifiques qui nous ont amené à juger intéressante l'étude des modèles d'unions au sein de cette population.

GENERALITES

I. L'endogamie

L'endogamie par définition, est un modèle de famille, où le choix matrimonial consiste à choisir son conjoint dans sa propre catégorie. Il en résulte une immobilité sociale de l'individu, et à la limite, l'isolement génétique du groupe reproducteur, par rapport à l'ensemble de la population. Dans la plupart des études, la catégorie correspond à l'origine régionale des conjoints. L'endogamie a fait l'objet de plusieurs études dans différents pays du monde arabes et occidentaux. Selon Lathrop et Pison (1982), l'intensité de l'endogamie dépend de la parenté, de l'éloignement géographique ou de la stratification sociale.

Les raisons de ce type d'union sont diverses et variables suivant le pays. Elles peuvent être liées à l'isolement géographique (Shwidetsky, 1976 ; Chalbi, 1989), l'insécurité ou la peur de l'étranger (Tillon, 1966).

Nous allons, dans ce qui suit, essayer de présenter des données sur l'endogamie, ses motivations ainsi que les méthodes de son étude.

I.1. L'endogamie dans le monde

L'endogamie serait apparue à la préhistoire lors du passage de la vie de chasse à l'économie productive, nouveau mode de vie basé sur l'agriculture et l'élevage. Ainsi, les tribus ont adopté une stratégie reproductive endogamique pour conserver et défendre leurs biens des étrangers (Tillon, 1966).

Les unions endogamiques sont encore très fréquentes dans le monde arabo-islamique et constituent une particularité du système des alliances. En effet, l'endogamie est encore contractée en Jordanie, en Palestine, en Syrie, en Iraq, au Koweït, en Arabie saoudite, au Kurdistan, en Iran, en Égypte, au Soudan, en Afrique du Nord et au Liban. Les études effectuées sur cette pratique ont révélé qu'elle est toujours en vigueur dans les milieux ruraux (Bou-Assy *et al.*, 2003).

Aux Emirats Arabes Unis, des enquêtes faites entre Octobre 1994 et Mars 1995, sur certaines communautés ont montré la persistance des choix matrimoniaux endogames en dépit de l'évolution importante des conditions économiques et sociales (Al Ghazali *et al.*, 1997).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Les mariages endogames ont pour conséquence l'apparition d'un nombre élevé d'isolats génétiques. C'est le cas de l'Inde, un pays caractérisé par une population composée de plusieurs milliers de sous-populations divisées par des barrières géographiques, linguistiques et religieuses (Bittles, 2002).

Durant le siècle dernier et suite à l'industrialisation des sociétés, il eut une nette tendance à la diminution de l'endogamie cédant la place au profit d'unions à caractère exogame (mariages avec des nouveaux venus, métissages, etc.). Cette évolution du modèle du choix du partenaire est perçue par certains auteurs.

Clegg et ses collaborateurs (1998) ont effectué une étude sur les populations de deux îles britanniques « Barra » et « Harris » et ont montré que l'endogamie, qui était importante avant 1900, a décliné d'une façon significative après 1950 suite à l'industrialisation dans ces îles.

I.2. Les motivations des mariages endogames

Dans les pays développés, les unions endogames sont en nette régression, alors qu'elles continuent d'être privilégiées d'une manière flagrante dans le monde arabo-musulman. Plusieurs raisons sont invoquées pour expliquer ces préférences pour ce type de mariage. Pour la majorité des individus, il est préférable de choisir son conjoint dans son entourage plutôt qu'ailleurs : Concept de « la connaissance du voisinage » (Boyce *et al.*, 1967).

Une étude historique faite sur les stratégies de reproduction familiale dans le canton alpin de Ticino en Suisse au XIX^{ème} siècle montre que l'endogamie matrimoniale était encouragée par des règles et normes locales et que les mariages exogames étaient souvent pénalisés par une réelle discrimination concernant les droits d'héritage et les droits d'accès aux biens communaux (Lorenzetti, 1999).

D'autres études faites sur plusieurs communautés habitant ces mêmes régions alpines à la même période citée ci-dessus, indiquent que l'endogamie matrimoniale obéit à une logique économique qui vise à prévenir l'accès des étrangers aux ressources locales et familiales et à éviter les lourdes conséquences des mariages exogames surtout dans le cas où les filles ont accès à la propriété locale. A partir de ce fait, l'importance du mariage était essentielle

Généralités

SAOUDI. S, 2015

puisque une « mauvaise » union pouvait mettre en danger le sort de la famille et de la communauté (Lorenzetti, 2003).

Une autre étude sur des communautés alpines appartenant à cette même région, indique que, dans plusieurs cas, la dot est devenue pratiquement un héritage en avance (Audenino, 1990).

Une des causes principales des mariages endogames est la soumission et la dépendance des enfants candidats au mariage vis à vis de leurs parents qui imposent et arrangent les unions qu'ils choisissent. L'ingérence dans leurs affaires s'étend parfois jusqu'à décider du nombre d'enfants à procréer (Lacoste-Dujardin, 1987).

Parmi les autres motifs de ce choix matrimonial, on évoque aussi la consolidation des liens familiaux qui empêchent les ruptures et les divorces (Khuri, 1970) et la volonté de perpétuer le patrimoine familial (Chelhod, 1965).

Dans le cas des mariages exogames, ce choix est dicté par les nouvelles conditions de vie moderne notamment la facilité et la rapidité des déplacements des individus avec l'amélioration des communications et des transports (Boyce *et al.*, 1967).

II. La consanguinité

La consanguinité est généralement associée au concept de l'endogamie. En effet, l'accroissement de la consanguinité serait du à la pratique de l'endogamie géographique ou ethnique. Par définition, la consanguinité est l'union entre individus apparentés. C'est-à-dire qu'ils ont au moins un ancêtre commun dans leur passé généalogique. Donc, ces deux individus ont un gène donné, porté par chacun d'eux provenant de la réplique du même gène porté par l'ancêtre commun (Malécot, 1948).

Selon Jaquart (1970), les individus issus d'unions consanguines ont une probabilité plus élevée de voir augmenter les taux d'homozygotie de leurs gènes. L'étude de la consanguinité tire son importance du fait de son incidence sur la structure génétique et son impact sur la santé des populations humaines.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

II.1. La consanguinité dans le monde (Figure 1 et Tableau 1)

Plusieurs études dans des pays développés d'Europe et d'Amérique du Nord ont noté une remarquable régression de la pratique de la consanguinité (Fumetti, 1976 ; Vogel et Motulsky, 1979).

Cependant, ce modèle familial reste assez fréquent dans les pays arabo-musulmans où 20 à 50% de la totalité des unions sont consanguines (Bittles 1991, 1994).

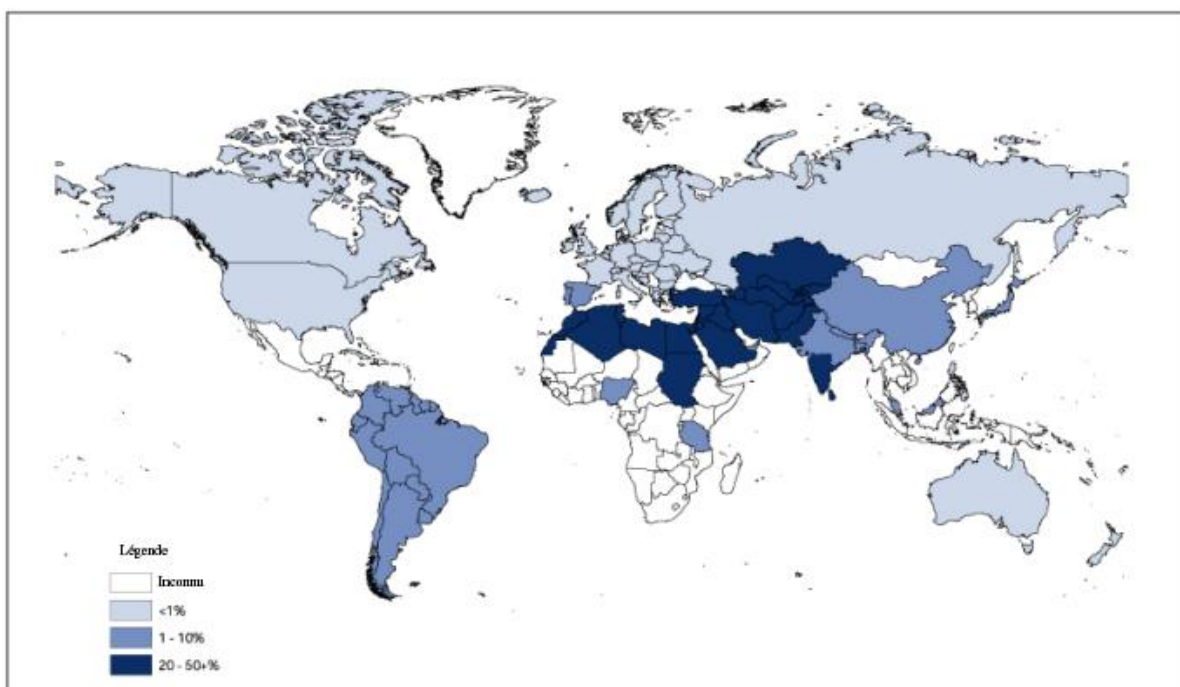


Figure 1: Carte de la répartition des mariages consanguins dans le monde (Bittles, 1990).

En effet, malgré la modernisation des sociétés arabo-musulmanes, les mariages consanguins restent bien ancrés avec une certaine préférence pour les unions entre cousins germains (Khlal et Halabi, 1986 ; Ben Hamadi, 1996).

Dans les Émirats Arabes Unies (E.A.U), le taux de consanguinité est de 50.5% où 26.2% des mariages consanguins sont entre cousins germains (Al-Ghazali.*et al.*, 1997).

Deux enquêtes nationales démographiques au Yémen (1990 et 1997) indiquent que 39.9% des femmes mariées yéménites ont une relation de parenté avec leurs maris. Il a été observé que

Généralités

SAOUDI. S, 2015

les mariages entre cousins germains constituent à eux seuls 33.3% du total des mariages avec une prédominance du mariage entre descendants de frères (Rozzet et Prem, 2003).

Une autre étude menée sur un échantillon de 1050 femmes yéménites prises au hasard a montré que les unions entre apparentés représentent 44.7% du total des unions où 71.6% sont des unions entre cousins germains (Gunaid *et al.*, 2004).

Au Maroc, le taux de consanguinité est de 32% dans les régions montagneuses et isolées du Rif (Lamdouar-Bouazzaoui, 1994) et de 30.3% dans la population isolée de Fritissa au Moyen Atlas (Latifi *et al.*, 2004).

En Algérie, il y a une tendance à l'augmentation de la consanguinité (Kouaouci, 1993).

En Tunisie, une enquête menée auprès de familles échantillonnées au hasard sur le choix matrimonial du couple interrogé ainsi que de celui de leurs parents respectifs, a indiqué que 32.71% des unions à la génération du couple étudié sont consanguines et qu'elles atteignent respectivement 33.25% et 34.04% chez la génération des parents du mari et celle des parents de la femme (Ben Mrad et Chalbi, 2004).

Tableau 1: Fréquence des mariages consanguins dans divers pays arabes (Rozzet et Prem, 2003).

Pays	Années	Fréquences	Références
Algérie	1994	36.4%	Office National Algérien des Statistiques, 1994
Arabie Saoudite	1995	57.7%	El Hamzi <i>et al.</i> , 1995
Bahreïn	1995	32.0%	Ministère de la santé, 1997
E. A. U.	1997	50.5%	Al-Gazali <i>et al.</i> , 1997
Egypte	1996	39.0%	Conseil National de la Population, 1996
Jordanie	1992	51.3%	Khoury et Massad, 1992
Koweït	1996	36.0%	Ministère de la santé, 1996
Liban	1998	21.0%	Ministère de la santé publique, 1998
Libye	1996	46.5%	Comité Populaire Général de la Santé et l'Assurance

Généralités

SAOUDI. S, 2015

			Sociale, 1996
Mauritanie	1992	60.1%	Office National des Statistiques, 1992
Oman	1996	54.0%	Ministère de la santé, 1996
Qatar	1999	46.0%	Ministère de la Santé, 1999
Soudan	1995	65.0%	Ministère fédéral de la santé et centre national des statistiques sanitaires, 1995
Syrie	1995	38.0%	Bureau central des statistiques, 1995
Tunisie	1996	40.0%	Ministère de la santé publique, 1996

II.2. Les causes des mariages consanguins

La motivation des mariages consanguins a été expliquée par plusieurs auteurs.

- Cette forme de mariage offre aux couples et à leurs parents plus d'avantages que d'inconvénients sur les plans, individuel et familial. Elle assure la sécurité affective et matérielle des conjoints, la stabilité du mariage, l'acceptation du partenaire et de ses parents dans leur être et leur avoir, le renforcement des liens interfamiliaux, la libération des parents du fardeau de leur enfant, la cohésion et la solidarité collective (Bou-Assy *et al.*, 2003) ;
- Ces mariages sont considérés comme les plus stables de point de vue social et les plus économiquement bénéfiques car ils permettent le maintien des biens familiaux qui sont conservés à travers la structure de la famille ou celle de la tribu (Bittles, 1994 ; Al-Ghazali *et al.*, 1997) ;
- Les mariages consanguins garantissent aux jeunes filles une meilleure entente avec leurs belles familles (Bittles, 1991, 1994) ;
- La conservation de l'esprit généalogique attaché à la pureté du sang (Lamdouar-Bouazzaoui, 1994) ;
- La peur de l'étranger et l'aisance des préparatifs relatifs au mariage au sein de la famille élargie (Radovanovic *et al.*, 1999 ; Bittles, 1991).

Cependant, il existe d'autres facteurs favorisant la régression des unions consanguines laissant la place aux unions entre non-apparentés.

En effet, l'évolution de la science et de la technologie, la rapidité des communications et des moyens de transport et la migration ont permis aujourd'hui de rapprocher les distances et de favoriser l'éclatement des isolats et la dislocation des clans familiaux (Lamdouar-Bouazzaoui, 1994).

II.3. Les effets des mariages consanguins sur la population

II.3.1. Les effets néfastes de la consanguinité

L'étude des mariages consanguins tire son importance génétique du fait que des parents rapprochés ont plus de chances de porter les mêmes allèles que deux individus pris au hasard. Il en résulte que pour un gène considéré, les enfants issus des mariages consanguins seront plus fréquemment homozygotes que les autres.

Cette augmentation du degré d'homozygotie est d'autant plus marquée que la relation de parenté est plus grande (Thompson, J. S et Thompson, M. W., 1978). Par conséquent, les unions consanguines contribueront à l'appauvrissement de la variabilité génétique du groupe en favorisant l'apparition des homozygotes. Cette particularité offre une possibilité de manifestation de gènes délétères ou néfastes dans le génotype. De plus les effets néfastes de la consanguinité sur la fécondité des couples, ainsi que la mortalité et la morbidité de la progéniture ont été démontrés dans différents travaux et dans diverses populations (Sutter, Tabah, 1971 ; Zlotogora, 1997; Soulaymani *et al.*, 1999 ; Hussain *et al.*, 2001; Nabulsi *et al.*, 2003).

L'étude des effets de la consanguinité présente un intérêt médical indiscutable et constitue aussi un bon support pour l'analyse de la structure génétique des populations humaines. La consanguinité peut entraîner des conséquences négatives sur la santé des descendants : elle augmente, entre autres, l'incidence des maladies génétiques (Der Kaloustian *et al.*, 1980).

En effet, le développement des connaissances en génétique humaine et en épidémiologie a permis l'identification de maladies dites génétiques. De ces mêmes connaissances découle la notion de risque. Selon Briard et ses collaborateurs (Mustapha, 1997), le risque dépend de deux catégories de facteurs : le lien de parenté entre les conjoints

Généralités

SAOUDI. S, 2015

et l'existence dans la famille d'affections héréditaires autosomiques récessives ou multifactorielles. Les auteurs avancent également que la consanguinité ne crée pas de gènes pathogènes, mais qu'elle les associe plus fréquemment.

Une enquête sur la mortalité des nouveaux nés au Pakistan, ciblant 1011 femmes mariées appartenant à des cités multi-ethniques et multireligieuses économiquement modestes, a révélé que la consanguinité est un facteur à risque statistiquement significatif dans la mortalité des nouveaux nés (0-28 jours) et que cette mortalité néonatale est particulièrement fréquente chez certaines familles caractérisées par une pratique courante des mariages entre cousins proches (Hussain, 2002).

Au Liban, les travaux réalisés par Der Kaloustian et ses collaborateurs (1980) ont ouvert d'importantes voies de recherche sur les désordres génétiques autosomiques récessifs. Ces chercheurs ont en effet publié une liste de trente-six maladies autosomiques récessives rares diagnostiquées et reconnues pour la première fois dans le pays. Les taux élevés de consanguinité dans les différentes confessions religieuses libanaises seraient à l'origine de la propagation des maladies autosomiques récessives observées.

Des recherches génétiques et médicales en Inde montrent qu'au sein des populations où les mariages consanguins sont largement pratiqués, les maladies génétiques récessives continuent de gagner une plus grande prééminence dans le spectre global des maladies (Bittles, 2002).

Des travaux faits sur les conséquences médicales de la consanguinité sur la santé publique au Maroc indiquent que cette dernière semble accroître le taux de malformations congénitales, celui de la mortalité périnatale particulièrement la mortinatalité et aussi les taux de la débilité mentale, de surdi-mutité, des hémoglobinopathies et enfin de l'ichtyose (Lamdouar-Bouazzaoui, 1994).

Une étude conduite dans le Nord de la Tunisie sur 5020 individus dans le but d'évaluer l'effet des unions consanguines sur la surdité non syndromique montre que le risque d'attraper l'allèle le plus fréquemment responsable de la manifestation de cette maladie est

Généralités

SAOUDI. S, 2015

relativement plus élevé chez les individus consanguins et spécialement ceux issus d'une union entre cousins germains (Ben Arab *et al.*, 2004).

Plusieurs travaux ont été déjà réalisés au laboratoire de Génétique et Biométrie de la faculté des sciences de Tunis sur la mesure de la consanguinité et ont montré ses effets sur les avortements spontanés, la mortalité périnatale et sur les maladies héréditaires (Chalbi et Ben Arab, 1984 ; Ben Mustapha et Chalbi, 1988 ; Zakaria, 1993 ; El Bok, 1994).

II.3.2. Les effets bénéfiques de la consanguinité

La consanguinité peut aussi entraîner des effets bénéfiques tels que fournir des possibilités de dons ou d'aptitudes supérieures.

L'exemple le plus indicatif reste celui donné par l'arbre généalogique de la famille Bach dont la lignée se distingue par un génie musical distingué (Ould Mohamed Vall, 1993). (Sutter, 1958) a observé un petit nombre de familles présentant des enfants, issus de mariages entre cousins germains, qui sont nettement supérieurs aux parents sur les deux plans physique et mental.

III. Les différents facteurs sociodémographiques présentés dans les études de l'endogamie et de la consanguinité

Chez l'Homme, les rencontres matrimoniales sont régies par un certains nombre de facteurs tels que :

- Le degré de corrélation entre l'âge des époux ;
- Le niveau d'instruction du mari et de la femme ;
- La profession du mari et de la femme ;
- Le type d'habitat ;
- Le lien de parenté entre les époux.

Les données culturelles, socio-économiques, géographiques et ethniques influent sur la détermination des mariages consanguins.

L'évolution positive ou négative de tous ces facteurs a une incidence directe sur la progression ou la régression de ce mode d'union.

Chapitre I : Etude de la structure familiale des Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

En effet, les changements touchant le développement social, la généralisation de l'instruction obligatoire, l'urbanisation de la population et l'émancipation de la femme semblent agir sur le mode de vie des familles nous amenant ainsi à prédire avec prudence la baisse de la consanguinité au fil des prochaines décennies en Algérie comme ailleurs dans le monde.

MATERIEL
ET
METHODES

L'enquête a été effectuée dans la région des Aurès, dans la ville de Khenchela. Nous avons établi un questionnaire (Annexe 1) approprié afin de recueillir des informations démographiques sur le couple étudié, sur le passé généalogique des parents de chaque conjoint ainsi que les différentes caractéristiques sociales, économiques et culturelles qui peuvent influencer sur le choix matrimonial, en considérant les différentes générations.

I. La zone d'étude

I.1. Présentation de la wilaya de Khenchela

La wilaya de Khenchela est située dans les hauts plateaux du Nord-Est Algérien dans la région des Aurès à 1200 mètres d'altitude. Elle occupe une position géographique entre la chaîne steppique et les hauts plateaux, ce qui lui donne un caractère forestier agro-pastoral et saharien. Elle est entourée par les wilayas d'Oum El Bouaghi au Nord, Batna et Biskra à l'Ouest, El Oued au Sud et Tébessa à l'Est. Elle occupe une superficie estimée à 9710 Km².

La région se caractérise par trois climats :

- Un climat très rude en hiver, modéré en été dans les régions montagneuses centrales.
 - Un climat modéré en hiver, chaud et sec en été dans les steppes sahraouies du Sud.
 - Un climat très froid en hiver, sec en été dans les hautes steppes au Nord.
- Cette diversité climatique a donné à la wilaya un penchant naturel multiple conférant des spécificités touristiques non négligeables.

I.1.1. Les données sociales

Les habitants de la wilaya de Khenchela sont estimés à 422 500 repartis à travers 21 communes et 8 daïras, exerçant diverses activités, l'agriculture en premier lieu, suivie de l'industrie et du commerce.

Malgré les mutations sociales connues par le peuple algérien, la société Khenchelie est restée conservatrice à travers sa population, son identité et la tradition de la région, la femme Khenchelie porte encore le voile traditionnel propre à la région et se pare de bijoux en argent. Dans les maisons Khenchelies demeurent toujours les plats traditionnels tel que le plat de Barboucha ou couscous, le R'fiss ainsi que plusieurs plats très célèbres.

I.1.2. Les sites naturels

La wilaya de Khenchela dispose de potentiels touristiques naturels importants et variés; une chaîne géologique exceptionnelle au Nord-Est, des montagnes auréssiennes où se situe le sommet le plus haut, celui du mont Chelia (2328 mètres), les forêts de cèdres considérées comme les plus belles forêts de cèdres du bassin méditerranéen comme:

- Les forêts de Beni-Oudjnan et Beni-Amloul ;
- Les forêts Ouled Yakoub ;
- Les espaces de Ouled El-Arab et Beni-Berbre

Cette diversité naturelle exceptionnelle est apte à attirer les visiteurs et touristes.

I.1.3. Les sources thermales

Le Hammam Essalihine est situé dans la commune d'El Hamma, site touristique et thérapeutique par excellence, à 7 Km du chef lieu de la wilaya dont la date de son exploitation remonte à l'époque romaine.

La température de ses eaux avoisine les 70°C. Sa composition chimique lui confère des propriétés thérapeutiques indiquées pour les maladies rhumatismales, respiratoires et dermatologiques. Il dispose de 40 cabines pour bain thermal, de 5 piscines et il enregistre jusqu'à 700 000 visiteurs par an. Situé dans une région forestière, c'est un lieu de prédilection pour les nombreux touristes; piscine romaine circulaire et vestige réhabilité. A ce merveilleux paysage naturel allié au vestige antique où se situe la station thermale de Hammam Essalihine, s'ajoute d'innombrables structures d'accueil.

I.2. Aperçu historique de la wilaya de Khenchela

Aux premiers temps, l'histoire de Khenchela se confond avec les origines des Berbères que moult récits essayèrent d'expliquer.

Comme tous les éléments fournis sur ces origines ne constituent pas un ensemble cohérent de vérités incontestables, Ibn Khaldoun ; écrivain des plus consciencieux ; les passa en revue avec le plus grand soin pour affirmer que le seul fait réel dispensant de toute opposition est celui que: « les Berbères sont les enfants de Canâan, fils de Cham, fils de Noé et leur aïeul se nommait Mazighh ».

I.2.1. La période Phénicienne

L'histoire des Berbères commence par la colonisation Phénicienne. Il est relaté en ce sens que les Tyriens avaient fondé des comptoirs sur la côte africaine dès le XII^{ème} siècle avant J.C. ceux-ci n'eurent cependant avec les habitants de la Berbérie que des relations commerciales qui ont incité la formation de multiples comptoirs pour assurer la régularité des échanges.

Ainsi, ils fondèrent Carthage au IX^{ème} siècle avant J.C qui deviendra par la suite une grande puissance économique pour imposer sa domination jusqu'aux côtes d'Espagne.

Ce n'est que dans la deuxième moitié du V^{ème} siècle avant J.C que Carthage commença à conquérir les terres africaines.

Son expansion vers l'intérieur du Maghreb se traduira par la dépossession des autochtones de leurs terres pour la création de grosses exploitations rurales. Cette pénétration violente à l'aide de mercenaires provoqua de rudes réactions des Berbères qui refusèrent ainsi cette forme de domination.

Au cours du siècle suivant, les Berbères ; en multipliant les révoltes ; manifestèrent à l'égard des puniques un esprit d'indépendance qui sera le précurseur d'une organisation à laquelle se heurtèrent tous les colonisateurs.

A cette époque et jusqu'au début des guerres puniques, les Berbères qui étaient des tribus plus ou moins isolées commencèrent à se regrouper pour former des Royaumes: celui des Massyles à l'Ouest gouverné par Syphax et celui des Massyles dont le roi était Navaros (Naoures), père de Gaia, père de Massinissa.

Durant la 2^{ème} guerre punique, les royaumes Numides apparaîtront avec un rôle véritablement important où l'on assista à l'émergence de Massinissa, roi des Massyles, que Grecs et Romains reconnurent en lui un vrai monarque.

Durant son règne, Massinissa prendra le plus grand soin de son pays en propageant l'agriculture et en développant la vie urbaine.

Deux ans après la mort de Massinissa en 148 avant J.C, l'an 146 avant J.C verra la prise et l'anéantissement de Carthage par les Romains et une nouvelle existence pour les Numides.

I.2.2. La période Romaine

La région de Khenchela verra son histoire se préciser au 1^{er} siècle après J.C, lorsque les Romains atteignirent les contreforts des Aurès et fondèrent une colonie nouvelle.

Macula (Khenchela) ; située à près de 1200 mètres d'altitude ; au point terminus des Aurès, permettant la surveillance des immenses plaines, qui vers l'Ouest se dirigent vers Batna et vers le Sud, sur Biskra et le Sahara ; est créée par la III^{ème} Augusta ; lorsque celle-ci quitta Tébessa pour se porter plus à l'Ouest afin d'assurer la sécurité des communications face aux tribus montagnardes qui étaient trop turbulentes.

Toutefois, Macula, dont la fondation est attribuée à cette III^{ème} légion Romaine, fût certainement créée à l'époque de la dynastie Flavienne (69-96) car on a retrouvé à Hammam Salhine (fontaine chaude), dénommée alors Aquae Fluviana, une inscription en l'honneur de Vespasien et de ses fils Titus et Domitien qui date de l'an 75.

La III^{ème} Augusta séjourna à Macula jusqu'à l'année 100 où de nouveau elle fit route vers l'Ouest pour se stationner à Thamugadi (Timgad) vers l'an 123 ou 124 laissant derrière elle un détachement limité pour y tenir garnison et un fort de colons Romains installés dans la région.

A cette époque, les Romains s'établirent solidement tout en créant des villages, des routes... l'importance et le nombre de ruines existant actuellement au niveau de la Wilaya attestent de la vitalité de la région et de la présence agissante des Romains qui s'est développée le long des grandes voies de pénétration militaire (grande voie « Lambèse-Tébessa » passant par Khenchela) pour s'étendre ensuite à l'intérieur de la région (II^{ème} et III^{ème} siècle).

Avec le départ de la III^{ème} Augusta, la sécurité et la protection des colons Romains deviennent rapidement insuffisantes face aux multiples troubles des montagnards et journaliers agricoles. La révolte commença sous la conduite d'Axido et de Fasir pour se mêler par la suite au donatisme. En effet, à la mort de Gordien en l'an 244 et à l'exemple de l'Aurès, Macula se lança dans une religion de révolte. C'est l'époque des schismes qui divisa les églises africaines et qui est marquée par la rébellion des prêtres et évêques donatistes.

Au début du IV^{ème} siècle, se tient un grand concile à Baghaï sous la présidence de l'évêque Donat. Celui-ci déclara Cécilien évêque de Carthage déchu et le remplaça par Majorinus (an 312).

Constantin prévenu, demanda les avis des conciles d'Arles en 312 et de Rome en 314 sur les causes du conflit. Il déposa Donat et conforta ainsi la position de l'église officielle qu'il considéra comme un des principaux soutiens de l'état.

Les partisans de Donat protestèrent contre la dite décision et Constantin dû prescrire aux gouverneurs de provinces de sévir contre tout acte de tentative de rébellion.

Les Romains cherchant à étouffer par les armes le début de la révolte, perdirent plusieurs soldats au lieu dit « Locus Octaviensis » aux environs de Baghaï.

La révolte donatiste ne faisant que s'amplifier, Constantin envoya dans la région, notamment vers Baghaï, deux émissaires chargés d'or et de cadeaux (Paul et Macaire) avec mission de s'employer à lutter contre la misère et à ramener l'unité.

Au moment, raconte Optat, où ils approchaient de Baghaï, Donat l'évêque de cette ville envoya des crieurs publics dans toutes les localités bourgs, marchés, ...pour qu'on accourut en foule autour de lui. Des cohortes se formèrent à la tête desquelles se mirent Saida et Faxis. Effrayés, Paul et Macaire sollicitèrent le compte Sylvestre des troupes en armes qui leurs furent envoyés aussitôt.

Les circoncellions se fortifièrent dans Baghaï et la lutte fût acharnée de part et d'autre. Ceux-ci mis en déroute, n'abandonnèrent pas la lutte et se déplacèrent à Thamugadi (Timgad) pour en faire leur quartier général.

Ce n'est que vers 330, après dix années de poursuite, que les circoncellions se dispersèrent mais les troubles sociaux qu'ils provoquèrent se poursuivirent malgré la rigueur de la répression.

L'agitation soulevée dans la région subsistera ainsi à l'état latent jusqu'à la fin de l'occupation romaine en 455 lorsque Genseric s'était rendu maître de toute l'Afrique romaine.

I.2.3. La période Vandale

Au début de cette nouvelle occupation, les Vandales ne se soucièrent pas de gouverner directement les anciennes provinces romaines. Qu'en ce sens, Genseric n'aurait exercé sur la Numidie qu'un contrôle intermittent, si ce n'est aucun contrôle.

En 477, Genseric mourut. Ses successeurs, moins habiles, ne tardèrent pas à irriter les tribus Berbères de l'Aurès en bouleversant l'économie de la Numidie et son organisation sociale.

Le prolétariat Berbère, odieusement exploité par les propriétaires fonciers, finit par se trouver organisé en de grandes tribus qui se déclarèrent indépendantes sous les princes puissants qui seront au siècle suivant de rudes adversaires pour les généraux de Byzance.

L'invasion Vandale commença alors à s'écrouler, les colons romains ne pouvant bénéficier d'une protection suffisante, se mêlèrent aux autochtones et adoptèrent leur genre de vie et se confondirent complètement avec eux.

Il y eut en ce temps là certains chefs Berbères qui se déclarèrent princes des Berbères et des Romains.

En 534, Belisaire défait les Vandales et la période Byzantine commença.

I.2.4. La période Byzantine

La reconquête de l'Aurès par les Romains se heurta comme d'habitude à la détermination farouche des tribus Berbères d'être indépendantes.

Guntharis, Lieutenant de Soloman est alors vaincu au pied des Aurès. Soloman (Principal Lieutenant de Belisaire) dirigeant une forte armée, se porta contre l'Aurès où son Lieutenant vient d'être vaincu.

Il campa au pied de la montagne, près du fleuve Abigas (actuellement Oued Boughouguel). Il livra une bataille au roi Berbère Iabdas qui dirigeait une forte armée de 40 000 hommes et le battit à Babosis (actuellement Yabous).

Vaincu, Iabdas se retrancha vers les montagnes où il avait constitué son arrière garde et commença à réorganiser ses troupes armées.

La campagne de Soloman connaîtra alors un grand succès sur les Berbères qu'il consolida par un réseau de forteresses au cœur même de l'Aurès. Il pût ainsi maintenir la paix durant quatre ans.

Son népotisme ainsi que l'instinct de révolte des Berbères provoquèrent de nouveaux troubles.

Soloman livra combat à tous les Berbères de l'Aurès près de Tébessa en 545 et fût battu et tué.

Après Soloman et à la mort de Justinien (565), la puissance romaine gravement compromise, les Byzantins se consumèrent en luttes intestines et tous les liens avec les tribus de l'Aurès se relâchèrent. Ces dernières répudièrent toute obéissance pour vivre dans une indépendance totale.

Près d'un siècle durant, les Byzantins n'essayèrent même plus de rétablir leur domination sur les Berbères. Ils vivaient alors dans une lente agonie pendant laquelle l'histoire ne signale que qu'une sorte de désagrégation progressive.

En 646, la région de Khenchela (Mascuda) dépend comme la Berbérie entière de Patrice Grégoire qui se déclara indépendant à la mort de Heraclus en prenant les insignes de la royauté.

A cette date, Baghaï (ville forte et importante érigée en citadelle au VI^{ème} siècle) continue à être occupée par les Byzantins.

Les Berbères de l'Afrique du Nord étaient quant à eux constitués de deux grandes confédérations de tribus rassemblées: les Zénatas et les Sanhadjas.

Les Zénatas habitaient le pays qui s'étend depuis Tripoli jusqu'au Moulouia (Maroc) et renferment le mont Aurès, le Zab et les régions Sud de Telemcen.

Leur tribu la plus nombreuse et la plus puissante était celle de Djeroua qui sera gouvernée par la Kahina pendant 67 ans. La tribu des Maghraoua vient en deuxième position et les Beni Ifren en troisième position.

Les Sanhadjas, en conflit perpétuel avec les Zénatas, sont constitués de lignées qui fonderont par la suite chacune un empire: les Talkatas en Ifrikia (Tunisie) et en Espagne et les Messoufas et les Lemtounas au Maghreb.

Ils seront les partisans les plus dévoués des Fatimides et mèneront de multiples guerres aux Zénatiens, partisans des Omeyyades.

I.2.5. La période Arabe

Lorsque la période Arabe commença, en 647, ce fût le Khalifa Othman qui autorisa son frère de lait Abdallah Ibn Saâd Ibn abi Sarh à lancer une expédition en Afrique.

Le Patrice Grégoire est battu et tué dans cette même année.

En l'an 693, Hassan Ibn Ennoômane est nommé gouverneur de l'Afrique. Aussitôt rentré à Kaïraouan, il prendra Carthage et marchera contre l'Aurès dirigé alors par la Kahina, maîtresses de plusieurs tribus Berbères rassemblées dont la plus puissante était celle de Djeroua.

La Kahina dont le siège fût probablement la citadelle de Baghaï, réussira à défaire les troupes de Hassan Ibn Ennoômane.

En 695 et après avoir reçu les renforts suffisants, Hassan Ibn Ennoômane lancera une nouvelle expédition. Il affrontera la Kahina et la tua.

Celle-ci vécut 127 ans et aura gouverné les Djeraoua pendant 67 ans.

En 704, Hassan Ibn Ennoômane est remplacé par Moussa Ibn Noceïr.

Dans sa conquête, les chefs Berbères embrassèrent l'Islam qui s'étendra jusqu'en Espagne (Tarek Ibn Ziad, chef Berbère, commendera alors une armée de 17 000 Arabes et 12 000 Berbères qu'il lancera sur l'Espagne en 710 jusqu'à 711).

La Berbérie est désormais musulmane. Les habitants de Baghaï et de Khenchela embrassent l'Islam.

Les événements qui se succédèrent au Maghreb central (rivalités de palais, émergence de confréries religieuses, ...) entraînèrent une décomposition totale du royaume Hafside dont faisait partie la région de Khenchela.

Celui-ci se trouva à la fin du XV^{ème} siècle divisé en de nombreux territoires avec des formes très variées d'organisation.

Les grandes villes telles que Bougie et Constantine seront indépendantes. Des gouverneurs avec des conseils locaux administrent les affaires de ces petits états. Ailleurs, l'organisation tribale devint la principale structure administrant des limites déterminées.

Dans la région Est du Maghreb central, sur les plateaux Constantinois, s'étendaient selon Ibn Khaldoun, de nouvelles tribus Berbères arabisées descendant des Houaras: les Henenchas, les Nememchas et les Haractas.

I.2.6. La période Turque

La domination Turque succédant au gouvernement Arabe (occupation d'Alger en 1515), limitée au départ aux régions côtières, s'étendait progressivement à l'intérieur du pays, qu'en ce sens Khenchela fera partie dès le XVIII^{ème} siècle du Beylik de Constantine.

De par leur politique, les turques ne visaient essentiellement que de tirer un impôt des habitants. Cet impôt est notamment prélevé sur les tribus au nom du Bey par un Cheikh qui lui est soumis.

L'autorité de ce cheikh étant toujours contestée, les turques essayèrent de recouvrer leurs impôts par la force en envoyant des colonnes armées de Constantine.

Sentant l'arrivée de cette armée, les tribus locales se retiraient et faisaient le vide derrière elles. Les poursuites qui s'engageaient alors arrivaient jusqu'à Guentis au Sud de la plaine de Garaat sans que les turques ne triomphent des insoumis pour être obligés à se retirer toujours avec de maigres avantages.

A l'image de l'Aurès tout entier, les Turques n'auront sur Khenchela et sa région qu'une souveraineté nominale et ce jusqu'à l'occupation Française qui se produira en 1830.

I.2.7. La période Française

Durant cette période de colonisation récente, il ne se passait un jour où il n'y avait pas d'actions de révoltes et ce jusqu'à la libération totale du pays.

Pour la région de Khenchela, berceau de la révolution Algérienne d'où partirent les premières salves de feu annonçant au monde entier le soulèvement du peuple Algérien.

Nous retiendront pour les besoins de l'histoire les faits marquants ci-après:

- 1842: Au printemps de cette année, la première colonne du général Négrier de Tébessa est dirigée sur la région de Khenchela (venant de Aïn Babouche de Oum El Bouaghi et de Tébessa) ;
- 1843: Les français, par le Général Baraguay D'Hilliers, imposent aux habitants de Ouled Rechache la participation à la contribution de guerre de 15 000 Francs ;
- Le 1^{er} Mai 1845: La colonne de l'Aurès campe dans la plaine de Yabous ;
- Le 8 Mai 1845: Elle occupe Bouhmama puis Tamza ;
- 1846: Révolte de Béni Oudjana. Le commandant supérieur de Biskra se porte contre les Ouled Ahmed Ben Ali (Siar) ;

Chapitre I : Etude de la structure familiale des Chaouis

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

- 1847: Construction d'une redoute à Khenchela. Celle-ci fût achevée par le Capitaine du génie Samson devenu commandant supérieur de Khenchela ;
- 1849: Insoumission des Ouled Rechache. Organisation des commandements indigènes en Cheikhates ;
- 1850: Opposition farouche à l'incursion de l'armée Française commandée par le Général Saint Arnaud (Babar, Kheirane, Djellal et El Ouldja) (deux soldats tués, 25 habitants fusillés, récoltes incendiées et villages détruits) ;
- 1852: Révolte des Hraktas qui avaient assailli la poste de Aïn El Beïda ;
- 1855: Mouvements dans la tribu des Ouled M'loul ;
- 1859: Insurrection presque totale de toutes les tribus de l'Aurès ;
- 1869: Fin de la division en Cheikhates ;
- 1871: Une colonne Française parcourt l'Aurès pour réprimer la révolte ;
- 1873: Arrêté du 20/12/1873. La tribu des Ouled Rechache qui était rattachée au cercle de Tébessa est distraite pour être rattachée au cercle de Khenchela ;
- 1^{er} Septembre 1874: Le centre de Khenchela est livré à la colonisation française ;
- 1876: Le Capitaine Dubreuille, chef du bureau arabe de Khenchela, est assailli à Sbikha par les Ouled Rechache ;
- 1880: la première commune mixte de Khenchela fût constituée par arrêté du 21/10/1880 et comprend la partie orientale de l'Aurès (la plaine de Rémila), la partie de la vallée de Oued El Abiod et deux douars des Hractas détachés des communes mixtes d'Oum El Bouaghi et de Meskiana ;
- 1^{er} Janvier 1913: Formation de la deuxième commune mixte par l'adjonction de l'ancien territoire des tribus des Ouled Rechache et du Djebel Chechar qui faisaient partie de la commune militaire de Khenchela ;
- 1916: Rébellion des Béni M'loul-Brardja et de Ouldja ;
- 1917: Mouvement des Ouled Boudershem ;
- 1954: Déclenchement de la guerre de libération. Khenchela se souviendra du premier et du dernier martyr de la révolution (source: DDS de la wilaya de Khenchela).

II. Les caractéristiques démogénétiques, culturelles et socio-économiques du couple étudié

II.1. Les caractéristiques démogénétiques

1. Age des époux ;
2. Lieu de naissance ;
3. Lien de parenté entre les conjoints.

II.2. Les caractéristiques culturelles et socio-économiques

1. Région de résidence du couple ;
2. Niveau d'instruction ;
3. Profession.

Nous avons au cours de cette étude établi une liste de caractéristiques démogénétiques, socio-économiques et culturelles afin de pouvoir recueillir des données nécessaires à l'étude de l'homogamie au sein de la population Chaoui de Khenchela à travers différentes générations, ainsi que l'influence des différents facteurs sociodémographiques sur le choix matrimonial.

Avant d'entamer notre enquête, nous nous sommes fixés quelques critères d'échantillonnage afin que les échantillons qu'on allait obtenir soit représentatifs pour le mieux de la communauté Chaouis de Khenchela ciblée par cette enquête et puissent nous fournir des données uniquement propres et caractéristiques de la population concernée.

En effet, au cours de notre enquête, nous avons ciblé uniquement les individus de mères et grands-mères maternelles Chaouis.

Les individus de mères non Khencheloises (non Chaouis) et de pères Chaouis n'ont pas fait partie de notre échantillon.

III. L'étude de l'homogamie

Nous nous sommes proposé d'étudier le phénomène d'homogamie au sein de la population Chaoui de Khenchela grâce à la mesure de l'homogamie ainsi que l'analyse de l'évolution du phénomène étudié à travers différentes générations qui sont : la génération du couple étudié et celle des parents du couple (GPM et GPF) pour comparer par la suite l'intensité du comportement homogame dans notre échantillon.

Du point de vue données, nous disposons dans notre échantillon, d'informations sur les couples dans les deux générations, nous permettant de dresser des tableaux de mariages où nous pouvons classer les conjoints en deux catégories:

- Les individus homogames.
- Les individus non homogames.

Signalons que dans cette étude nous n'avons pas tenu compte des mariages conclus entre des individus non Khenchelois puisque l'objectif principal de cette enquête est de mesurer les taux d'homogamie au sein de la population Chaoui de Khenchela.

En effet, l'étude de l'homogamie dans notre échantillon se fera selon la méthode classique du taux d'homogamie afin de mesurer l'intensité du comportement homogame.

III.1. La méthode d'étude de l'homogamie

L'étude de l'endogamie se ramène à l'analyse d'un tableau croisé de mariage où figurent les catégories des maris d'un côté et celles des femmes de l'autre. Les mariages homogames, c'est à dire conclu entre conjoints appartenant à la même catégorie figurent dans la diagonale principale (Chalbi, Zakaria, 1998).

Considérons un tableau de mariage donné, à l'intersection de la $i^{\text{ème}}$ ligne et la $j^{\text{ème}}$ colonne se trouve l'élément n_{ij} , nombre de mariages conclus entre un homme appartenant à la catégorie i et une femme appartenant à la catégorie j . Soient n_i et n_j les totaux marginaux, somme des éléments de la ligne i et somme des éléments de la colonne j et soit $n_{..}$ l'effectif total des mariages.

La méthode la plus simple et la plus employée pour mesurer l'intensité du comportement homogame est la mesure du taux d'homogamie qui représente le rapport du nombre de mariages homogames au nombre total de mariages.

L'endogamie géographique ou ethnique peut accroître la consanguinité surtout dans les petits groupes où il y a alors davantage de chances d'unir des gamètes portant la même information génétique.

Au concept de l'endogamie s'ajoute généralement en association, celui de la consanguinité dont nous présenterons les aspects essentiels dans le paragraphe qui suit.

III.2. La méthode d'étude de la consanguinité

III.2.1. La méthodologie de mesure

Le taux de consanguinité est souvent utilisé dans les enquêtes. Il est fort utile pour une description globale. Cependant l'information ainsi obtenue ne tient pas compte des différents degrés de mariages consanguins conclus réellement dans la population ainsi que leur distribution.

Il est plus indiqué d'estimer une consanguinité moyenne dans la population, qui est calculée en deux étapes (Jaquart, 1977).

a. Au niveau individuel :

Ce paramètre est égal au degré de parenté des deux parents, le père P et la mère M. Il est estimé par la quantité:

$$F_i = \sum_A \left(\frac{1}{2}\right)^{n_P+n_M} \left[\frac{1+F_A}{2} \right]$$

Où :

F_A : coefficient individuel de consanguinité de l'ancêtre A (ancêtre commun aux deux parents P et M).

n_P et n_M : nombres de générations qui séparent respectivement P et M de cet ancêtre A.

Des valeurs usuelles de F_i ont été établies comme suit :

- 1/8 dans le cas d'unions entre doubles cousins germains ;
- 1/16 dans le cas d'unions entre cousins germains ;
- 1/32 dans le cas d'unions entre cousins inégaux ;
- 1/64 dans le cas d'unions entre cousins issus de germains.

b. Au niveau de chaque population

On calcule le coefficient de consanguinité moyen désigné comme le coefficient de consanguinité de Bernstein α .

$$\alpha = \sum_i f_i F_i$$

Où :

f_i : fréquence relative des couples de conjoints ayant une parenté mesurée par F_i , coefficient de consanguinité de leur enfant (Jacobi et Jacquart, 1971).

α permet de mesurer en quelque sorte, de génération en génération, l'appauvrissement génétique de la population (Chapman, Jacquart, 1971).

III.2.2. Le coefficient de consanguinité apparente

Le coefficient de Bernstein α est généralement estimé par le coefficient de consanguinité apparente, indicateur désigné par C_a soit :

$$C_a = 1/8 R_{dcg} + 1/16 R_{cg} + 1/32 R_{ci} + 1/64 R_{cig}$$

Où :

R_{dcg} : fréquence des unions entre doubles cousins germains ;

R_{cg} : fréquence des unions entre cousins germains ;

R_{ci} : fréquence des unions entre cousins inégaux ;

R_{cig} : fréquence des unions entre cousins issus de germains.

RESULTATS

ET

DISCUSSION

1. L'homogamie géographique (l'endogamie)

Tableau 2: Répartition des taux d'endogamie aux différentes générations (N=112).

Génération	Taux d'endogamie (%)
GCE	97.32
GPM	91.96
GPF	93.75

GCE: Génération du Couple Etudié, **GPM:** Génération des Parents du Mari et **GPF:** Génération des Parents de la Femme.

A partir de ces résultats, on peut constater à priori que les Chaouis de Khenchela sont fortement endogames toutes générations confondues. On note aussi que le taux d'endogamie chez la génération du couple étudiée est légèrement plus élevé que ceux de la génération parentale (Tableau 2).

Ces résultats sont supérieurs à ceux décrits à Gharb-Chrarda-Béni Hssen où l'endogamie atteignait dans 70.48% à la (GCE), 92.31% à la (GPM) et 85.85% à la (GPF) (Hami *et al.*, 2006) et au Moyen Atlas (81.2%) chez une population humaine isolée où les Berbères étaient les plus endogames (82.15%) (Latifi *et al.*, 2004).

Plusieurs auteurs considèrent l'endogamie étant un facteur d'immobilité sociale de l'individu et de l'isolation génétique de la population (Saugstad et Odegard, 1977 ; Reddy, 1984 ; Kucher *et al.*, 1999 ; Bittles, 2002 ; Ben Arab *et al.*, 2004).

2. La consanguinité

Tableau 3: Répartition des taux de consanguinité aux différentes générations (N=112).

Génération	Taux de consanguinité (%)	Coefficient moyen de consanguinité (Ca) ($\times 10^{-3}$)
GCE	56.25	37.95
GPM	52.68	27.54
GPF	60.71	30.79

GCE: Génération du Couple Etudié, **GPM:** Génération des Parents du Mari et **GPF:** Génération des Parents de la Femme.

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

Les unions endogames et consanguines sont le choix matrimonial le plus pratiqué dans le monde arabo-musulman et les Chaouis de Khenchela ne font pas l'exception. En effet, les unions consanguines toutes catégories comprises sont fortement représentées (Tableau 3).

Ces résultats sont plus élevés que ceux enregistrés en Inde: 11.9%, en Croatie: 9.3% et à Sabra, Ouest Algérien: 33.33% et 35.48% observés respectivement à la (GCE) et à la génération parentale (Bittles, 2002 ; Kerkeni *et al.*, 2006 ; Moussouni, 2007). Par contre, nos résultats sont quasi égaux à ceux trouvés en Arabie Saoudite: 56% (El Mouzan *et al.*, 2008).

Nous notons des coefficients moyens de consanguinité de: 37.95×10^{-3} à la (GCE), 27.54×10^{-3} à la (GPM) et 30.79×10^{-3} à la (GPF) (Tableau 3). Ces coefficients sont plus élevés que ceux observés au Maroc: 16.6×10^{-3} à la (GCE), 22.9×10^{-3} à la (GPM) et 17.5×10^{-3} à la (GPF) (Attazagharti *et al.*, 2006), au Qatar: 23.724×10^{-3} à la (GCE), 18.425×10^{-3} à la (GPM) et 16.41×10^{-3} à la (GPF) (Bener *et al.*, 2007) au Nord de la Suède: 2.0×10^{-3} (Bittles et Egerbladh, 2005) et au Sud d'Amérique: 0.53×10^{-3} (Orioli *et al.*, 1982).

La consanguinité augmente le taux d'homozygotie dans la population et de là le risque de morbidité. C'est pourquoi une étude serait intéressante afin d'explorer l'effet de la consanguinité sur l'apparition des maladies génétiques chez les Chaouis.

Tableau 4: Répartition des taux des différentes classes de consanguinité à travers les générations.

		classes de consanguinité (%)							Consanguinité éloignée (%)	Consanguinité non déterminée (%)
		Cousins germains				Double cousins germains	Cousins inégaux	Cousins issus de germains		
		FFP	FSM	FSP	FFM					
Génération	GCE (N=63)	33.33 21	7.94 5	3.17 2	3.17 2	3.17 2	7.94 5	11.11 7	11.11 7	19.05 12
	GPM (N=59)	32.2 19	5.08 3	1.69 1	-	1.69 1	3.39 2	-	8.47 5	47.46 28
	GPF (N=68)	35.29 24	2.94 2	4.41 3	1.47 1	1.47 1	4.41 3	-	4.41 3	45.59 31

GCE: Génération du Couple Etudié, **GPM:** Génération des Parents du Mari et **GPF:** Génération des Parents de la Femme, **FFP:** Fille du Frère du Père, **FSM:** Fille de le Sœur de la Mère, **FSP:** Fille de la Sœur du Père et **FFM:** Fille du Frère de la Mère.

Nous remarquons que le pourcentage des unions entre cousins germains est important : 47.61% à la (GCE), 38.98% à la (GPM) and 44.12% à la (GPF) avec la prédominance des unions entre descendants de frères.

Il est toutefois à signaler que la catégorie de consanguinité non définie est importante avec 19.05% à la (GCE), 47.46% à la (GPM) et 45.59% à la (GPF) (Tableau 4). Il semble qu'une grande partie de partenaires Chaouis présentent une relation de parenté non déterminée, c'est à dire qu'ils ont, dans leur passé généalogique, un ancêtre en commun.

En effet, l'une des caractéristiques les plus marquantes de la population Chaouis, c'est le lien de parenté qui caractérise la majorité des individus Chaouis vu la très forte pratique de l'endogamie et de la consanguinité pendant plusieurs siècles dans un marché matrimonial relativement restreint et strictement clos.

On remarque que ces taux de consanguinité dans toutes les générations Chaouis de Khenchela sont très élevés et dépassent largement les valeurs observées dans d'autres études En Tunisie et au Maroc (Ben M'rad et Chalbi, 2004 ; Latifi et al., 2004) qui ont aussi noté une préférence pour les mariages entre cousins germains.

3. L'homogamie sociale

3.1. L'homogamie culturelle

Les différents niveaux d'étude ont été regroupés en trois classes:

- **Niveau inférieur:** illettrés et école primaire ;
- **Niveau moyen:** écoles fondamentale et secondaire ;
- **Niveau supérieur:** université.

La figure 2 montre qu'à la génération du couple étudié (GCE), le niveau d'instruction est plus élevé chez les maris que chez les femmes.

La majorité des maris sont soit de niveau inférieur (52.68%) ou de niveau moyen (35.71%). Ceux qui ont bénéficié d'un enseignement supérieur ne représentent que 11.61%. Quant aux femmes, leur grande majorité (69.64%) présente un niveau d'étude qualifié d'inférieur, 25% ont un niveau moyen et seulement 5.36% sont de niveau supérieur.

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

Ces résultats joignent ceux réalisés au Maroc par Talbi et ses collaborateurs (2006), par Benhamadi (1994) et par Hami et ses collaborateurs (2007) où la distribution du niveau d'étude inférieur dans la population générale était la plus élevée surtout chez les femmes, enregistrée respectivement: 96.6%, 82.8% et 60.6%.

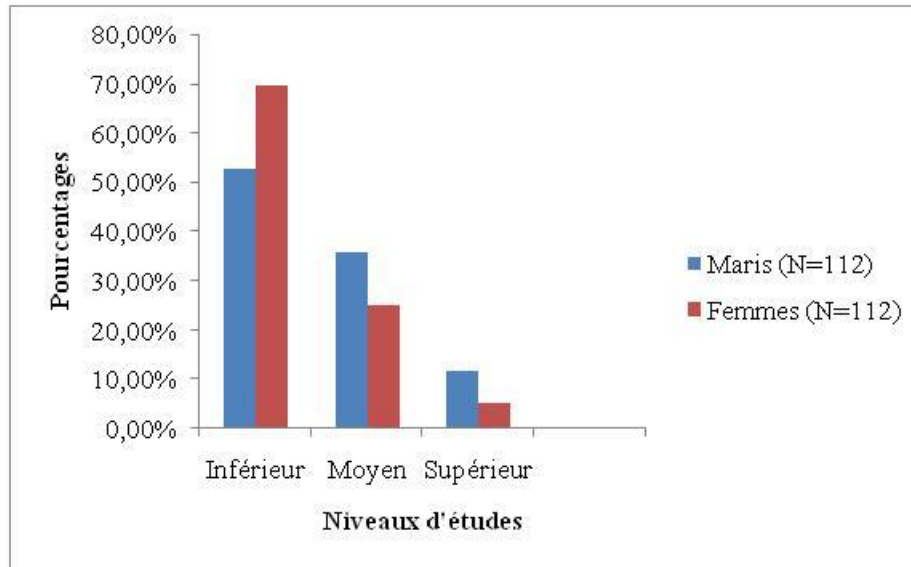
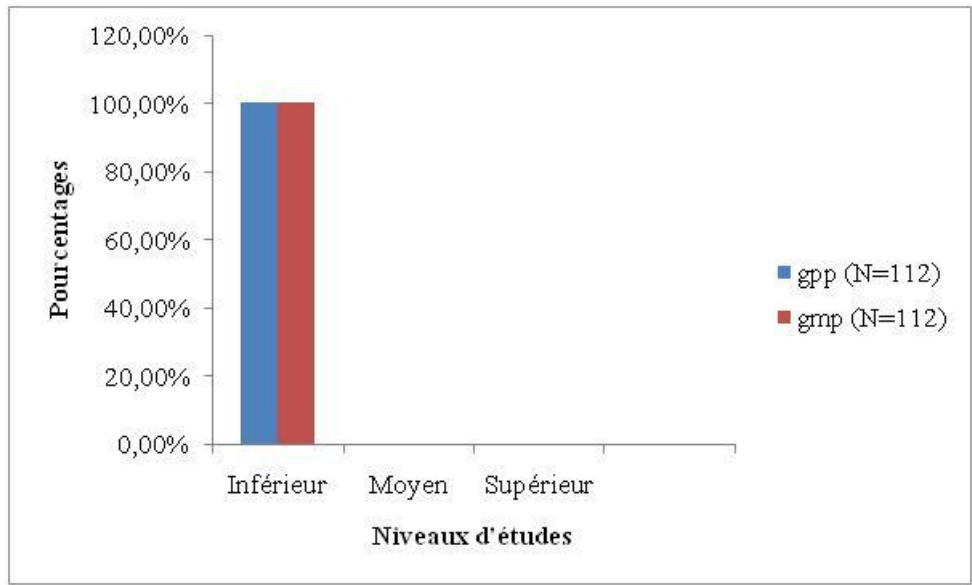


Figure 2: Répartition des différents niveaux d'étude à la Génération du couple Etudié (N=112).

Cependant, ausein des générations précédentes, nous constatons une régression du taux d'alphabétisation faute d'institutions éducatives, où 100% des couples de la génération parentale (GPM et GPF) ont un niveau d'instruction qualifié d'inférieur (Figure 3 et 4).

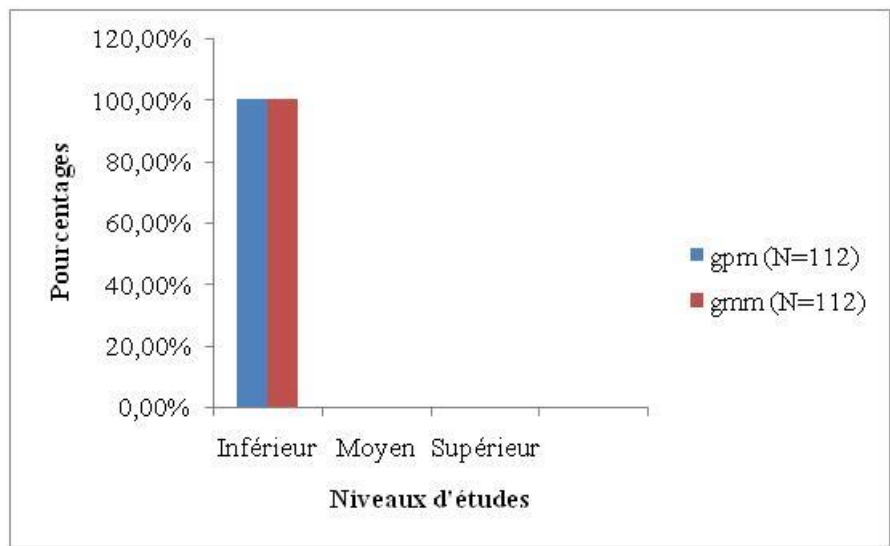
Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015



gpp : grand-père paternel et **gmp** : grand-mère paternelle.

Figure 3: Répartition des différents niveaux d'étude à la Génération des Parents du Mari (N=112).



gpm : grand-père maternel et **gmm** : grand-mère maternelle.

Figure 4: Répartition des différents niveaux d'étude à la Génération des Parents de la Femme (N=112).

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

La prévalence de l'homogamie culturelle était de 65.18% à la génération du couple étudié où 52 de 73 couples homogames (71.23%) ont un niveau d'étude inférieur (Tableau 5). Ce taux est plus élevé que ceux trouvés au Maroc par Hami et ses collaborateurs (2005) et Latifi et ses collaborateurs (2010) qui ont respectivement noté 54.29 % et 56.2% de couples homogames. Cette homogamie culturelle serait une situation imposée par la dominance du niveau d'étude inférieur plutôt qu'un choix prémédité.

Tableau 5: Matrice de l'homogamie culturelle à la génération du Couple Etudié (N=112).

		Niveaux d'étude des maris			Total
		Inférieur	Moyen	Supérieur	
Niveaux d'étude des femmes	Inférieur	52	21	5	78
	Moyen	7	17	4	28
	Supérieur	0	2	4	6
Total		59	40	13	112

3.2. L'homogamie professionnelle

Tableau 6: Répartition des professions au niveau des générations (N=112).

Professions	Génération					
	GCE		GPM		GPF	
	maris	femmes	gpp	gmp	gpm	gmm
Sans profession	3,57%	75,89%	0%	62,5%	0%	61,61%
Agriculteur	8,93%	0%	61,61%	17,86%	51,79%	20,54%
Eleveur	0%	0%	7,14%	0%	6,25%	0%
Commerçant	8,04%	0%	9,82%	0%	13,39%	0%
Fonction libérale	17,86%	3,57%	8,93%	9,82%	9,82%	5,36%
Fonctionnaire	49,1%	14,29%	12,5%	9,82%	18,75%	12,5%
Fonctionnaire cadre	8,93%	6,25%	0%	0%	0%	0%
Entrepreneur	3,57%	0%	0%	0%	0%	0%

GCE: Génération du Couple Etudié, **GPM:** Génération des Parents du Mari et **GPF:** Génération des Parents de la Femme, **gpp:** grand-père paternel, **gmp:** grand-mère paternelle, **gpm:** grand-père maternel et **gmm:** grand-mère maternelle.

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

L'analyse du tableau 6 montre que la majorité des maris à la génération du couple étudié occupent des professions de fonctionnaires (49.1%). Tandis que 75.89% des femmes sont au foyer.

Lorsqu'on remonte les générations, on remarque une diminution de la proportion des maris fonctionnaires en faveur d'une augmentation des pourcentages des professions agricoles.

La fréquence de l'homogamie professionnelle était de 16.07%. Elle n'a été décrite que chez les agriculteurs (44.44%) et chez les fonctionnaires (55.56%) (première forme, Tableau 7). Tandis que 46.43% des grands-pères exercent la même profession où les agriculteurs sont les plus homogames (86.54%) (deuxième forme, Tableau 8). Ces résultats sont inférieurs à ceux de Sbihi et ses collaborateurs (2011) qui ont noté que 37.7% des maris ont la même occupation professionnelle que leurs beaux-pères et que 58% des couples ont des pères exerçant des fonctions identiques.

Tableau 7: Matrice de la première forme d'homogamie professionnelle (N=112).

		Professions des grands-pères maternels								Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Professions des maris	1	-	2	1	-	-	1	-	-	4
	2	-	8	-	1	1	-	-	-	10
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	4	-	4	-	-	-	5	-	-	9
	5	-	13	3	3	-	1	-	-	20
	6	-	27	2	10	6	10	-	-	55
	7	-	2	1	-	3	4	-	-	10
	8	-	2	-	1	1	-	-	-	4
Total		0	58	7	15	11	21	0	0	112

1: sans profession, **2:** agriculteurs, **3:** éleveurs, **4:** commerçants, **5:** fonction libérales, **6:** fonctionnaires, **7:** fonctionnaires cadres et **8:** entrepreneurs.

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

Tableau 8: Matrice de la seconde forme d'homogamie professionnelle (N=112).

		Professions des grands-pères maternels								Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Professions des grands- pères paternels	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	2	-	45	2	10	5	7	-	-	69
	3	-	2	1	-	-	5	-	-	8
	4	-	4	-	1	3	3	-	-	11
	5	-	3	3	1	1	2	-	-	10
	6	-	4	1	3	2	4	-	-	14
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Total		0	58	7	15	11	21	0	0	112

1: sans profession, **2:** agriculteurs, **3:** éleveurs, **4:** commerçants, **5:** fonction libérales, **6:** fonctionnaires, **7:** fonctionnaires cadres et **8:** entrepreneurs.

CONCLUSION

Conclusion

SAOUDI. S, 2015

Dans ce premier chapitre sur l'étude de l'homogamie chez les Chaouis de la Wilaya de Khenchela nous avons pu définir les différents taux d'endogamie, de consanguinité et d'homogamie sociale en vue de les quantifier. Nous concluons de cette étude que l'homogamie, au sein de cette population, est globalement très forte à travers les générations étudiées.

Le taux d'endogamie est le plus élevé. Les facteurs que nous invoquons sont l'isolement relatif, la protection des biens du clan, la défiance à l'encontre des « non Khenchelois », etc. Par contre en homogamie sociale, cette population s'est ouverte, bien que modestement, en élargissant le choix matrimonial aux autres classes sociales faisant ainsi place aux unions exogames, encore rares mais en progression.

Des raisons multiples peuvent motiver cette ouverture, on citera l'émergence d'une minorité lettrée, l'habitat hors de l'enclave de la ville de Khenchela, la diversification de la nature et du lieu de travail, une nouvelle ouverture d'esprit et une tolérance vis à vis de ce qu'on appelait alors, péjorativement presque, « des étrangers ».

Nous constatons que les pourcentages de consanguinité au sein de la population Chaoui de Khenchela sont très élevés et largement supérieurs par rapport aux valeurs trouvées en Algérie.

La répartition des différents types d'unions consanguines montrent bien la très forte proportion d'unions entre individus de parenté proche ainsi que la place importante qu'occupent les mariages entre cousins germains et spécialement entre descendants de frères dans le marché matrimonial de la population.

L'endogamie favorise la consanguinité, elle tend aussi à accroître le taux d'homozygotie et favorise l'augmentation par rapport à la situation de rencontre au hasard des gamètes, des taux des phénotypes récessifs.

CHAPITRE II

Etude de la structure anthropogénétique des Chaouis

INTRODUCTION

Introduction

SAOUDI. S, 2015

Le génome mitochondrial humain est une molécule d'ADN circulaire, haploïde, bicaténaire, de petite taille (16569 pb). Les deux brins de cet ADN mitochondrial (ADNmt) diffèrent par leur composition en bases: le brin lourd, H (Heavy), comprend plus de résidus guanine tandis que le brin léger, L (Light), comprend plus de résidus cytosine (Anderson *et al.*, 1981).

Ce génome mitochondrial comporte 2 régions non codantes: une petite, de l'ordre de 30 pb, qui porte l'origine de réplication du brin léger (OL) et une plus importante, appelée région de contrôle ou D-Loop (Displacement Loop) qui fait environ 1000 pb et qui porte l'origine de réplication du brin lourd (OH) ainsi que les deux promoteurs de transcription, un pour chaque brin.

A l'exception de ces deux régions non codantes, le génome mitochondrial est saturé de gènes sans introns et les séquences intergéniques y sont pratiquement inexistantes.

Les gènes sont répartis sur les deux brins; la plupart étant situés sur le brin lourd. La molécule d'ADNmt comprend 37 gènes qui codent pour 22 ARN de transfert, 2 ARN ribosomiaux (12 S et 16 S) et 13 protéines (Anderson *et al.*, 1981, Chomyn *et al.*, 1985).

L'ADNmt constitue un outil de choix pour étudier la structure génétique ainsi que l'histoire des populations humaines. En effet, l'ADNmt est hérité de façon maternelle, il ne subit donc pas l'effet de la recombinaison et les arbres phylogénétiques reliant différents types d'ADNmt peuvent être interprétés comme des généalogies reflétant l'histoire maternelle de notre espèce (Giles *et al.*, 1980).

Par ailleurs, l'ADNmt évolue 5 à 10 fois plus vite que l'ADN nucléaire, de telle sorte que même des populations très liées peuvent présenter des différences entre leurs ADNmt (Brown *et al.*, 1979 ; Brown *et al.*, 1982 ; Dawid, 1972).

Plusieurs études du polymorphisme de l'ADNmt dans différentes populations humaines ont montré que cet ADNmt est très polymorphe (Brown, 1980 ; Wesley et Brown, 1980 ; Denaro *et al.*, 1981 ; Rebecca *et al.*, 1982 ; Blanc *et al.*, 1983 ; Cann et Wilson, 1983 ; Jhonson *et al.*, 1983 ; Cann *et al.*, 1984 ; Wallace *et al.*, 1985 ; Bonné-Tamir *et al.*, 1986 ; Brega *et al.*, 1986 ; Horai *et al.*, 1986 ; Cann *et al.*, 1987 ; Harihara *et al.*, 1988 ; Santachiara Benerecetti *et al.*, 1988 ; Scozzari *et al.*, 1988 ; Semino *et al.*, 1989 ; Stoneking *et al.*, 1990 ;

Chapitre II : Etude de la structure anthropogénétique des Chaouis

Introduction

SAOUDI. S, 2015

Templeton, 1992 ; Scozzari *et al.*, 1994 ; Yu-Sheng *et al.*, 1995 ; Huoponen *et al.*, 1997 ; Tawata *et al.*, 1997).

La principale région non codante (région de la D-Loop) est décrite comme étant la plus variable du génome mitochondrial humain (Cann *et al.*, 1984 ; Cann *et al.*, 1987 ; Aquadero et Greenberg, 1983 ; Horai et Hayasaka, 1990 ; Vigilant *et al.*, 1991 ; Ballinger *et al.*, 1992 ; Torroni *et al.*, 1993 ; Graven *et al.*, 1995 ; Bertranpetit *et al.*, 1995).

Dans ce deuxième chapitre nous nous sommes proposés d'étudier la structure anthropogénétique de la population Chaoui à la ville de Khenchela et ce en étudiant le polymorphisme du segment hyper variable 1 (HVS1) de la région de contrôle (la D-Loop) de l'ADN mitochondrial.

GENERALITES

I. L'Acide Désoxyribonucléique (ADN) humain

L'ADN « acide désoxyribonucléique » dont le nom est forgé selon la nomenclature chimique. Il s'agit en effet d'un polymère formé par un groupement acide composé d'atome de phosphore P et d'oxygène O (groupe phosphate) qui sont liés à un sucre qui est le désoxyribose qui est lui-même en appendice des enchaînements de bases azotées: l'adénine (notée A), la thymine (notée T), la cytosine (notée C) et la guanine (notée G). Rosalind Elsie Franklin (Franklin, 1953) réalise les premiers clichés par la technique de diffraction des rayons X sur des cristaux de l'ADN. Ces clichés ont alors révélé à Watson et Crick la structure à double hélice de ce polymère, ce qui leur a valu le prix Nobel de physiologie et de médecine, le 31 octobre 1962. Ils ont en effet décrit définitivement l'ADN dans sa structure en double hélice et sa composition de deux brins. Mais déjà, beaucoup bien antérieurement à cela, il avait déjà été montré que l'ADN portait les informations héréditaires et que c'est cette molécule qui constitue les gènes dans les chromosomes (Avery *et al.*, 1944). Support de l'hérédité car il est transmis lors de la reproduction, il porte donc l'information génétique et constitue le génome des êtres vivants. Les molécules d'ADN sont constituées par un enchaînement de séquence de nucléotides. Ces nucléotides sont constitués de l'ensemble des bases azotées liés à plusieurs phosphates. Ces nucléotides forment des séquences en étant reliés entre elles par des liaisons fortes impliquant un groupe phosphate 5'-3' phosphodiester. C'est l'enchaînement de ces séquences qui forment le brin d'ADN qui est lié à un deuxième brin complémentaire. En effet, cette complémentarité est le fait des bases azotées qui forment des liaisons hydrogènes (liaisons faibles) avec leurs bases complémentaires : les purines (A et G) complémentaires avec les pyrimidines (T et C). Cette liaison se forme ainsi selon les appariements suivants: base «A» associée à la base «T» par deux liaisons d'hydrogènes et la base «G» associée avec a base «C» par trois liaisons d'hydrogènes. Avant chaque division cellulaire, la molécule d'ADN double brin doit être dupliquée en deux molécules d'ADN filles simple brin distinctes. Les liaisons entre les deux brins étant de faible énergie, la séparation (ou la dénaturation) et le réassemblage des brins se font facilement. L'ADN est ainsi le support de l'information génétique mais aussi le support de ses variations à l'origine de la biodiversité. Le génome humain est constitué de deux génomes distincts, le génome nucléaire situé dans le noyau des cellules et le génome mitochondrial localisé dans les mitochondries.

Dans le noyau, le génome humain est constitué d'environ 3.2 milliards de paires de nucléotides ou paires de bases. Cependant, le nombre de gènes est estimé à seulement 20 000 à 25 000 gènes. Le reste du génome est constitué d'introns ou de portions de gènes non codantes ou d'ADN intergénique. C'est la reproduction à l'identique d'un ADN mère en ADN fille qui permet la transmission du génome d'une cellule mère aux cellules filles. Cette procédure se fait par le mécanisme de réplication. Lorsque les deux brins sont séparés, l'ADN polymérase, l'enzyme qui catalyse la formation des liaisons nucléotidiques permet une nouvelle association de complémentarité de nucléotides libres sur le brin matrice, répliquant ainsi une copie de l'ADN mère et reformant une nouvelle double hélice identique à la double hélice d'origine. Cependant, malgré les liaisons fortes et la complémentarité des bases azotées qui assurent la stabilité de l'information génétique au cours de ces réplifications, la séquence d'un ADN peut se modifier. La modification peut concerner quelques nucléotides qu'on définit comme étant des mutations. Ces mutations peuvent être dues principalement à des erreurs lors de la réplication des séquences de l'ADN (ajout, délétion ou substitution de nucléotides), ou bien à des recombinaisons génétiques. Les modifications peuvent être dues à des échanges de séquences nucléotidiques avec un autre ADN, ce qui est défini comme étant une recombinaison génétique, décrit encore comme les brassages intra et interchromosomique. Ces processus sont à l'origine des différentes variations de l'ADN dans le monde vivant. C'est ce qui est à l'origine de la diversité actuelle des êtres vivants, c'est-à-dire, la biodiversité (Razafindrazaka, 2010).

II. Les concepts de la génétique des populations

La génétique des populations humaines est l'une des disciplines participant à l'étude biologique des populations humaines. Toute étude de génétique des populations commence par l'essence même de la discipline sur laquelle repose toute la pertinence du travail mené: la définition de la population et la constitution de l'échantillon de référence (ou d'analyse) à partir de celle-ci (Mazières, 2006).

*** Définir la population et choisir l'échantillon**

The term "population" is itself problematic: are humans really divided into separate populations, and if they are, how do we define them? (MacEachern, 2000).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

La définition de la population en tant que sujet d'étude anthropologique va dépendre de la discipline et des questions posées. Par exemple, l'épidémiologiste va s'intéresser aux cas cliniques observés dans une région géographique ou dans une classe d'âge, ou encore dans une catégorie de personnes définie par leur activité. De ce point de vue, la population serait alors un terme générique qui pourrait se caractériser comme l'ensemble des individus ayant en commun une ou plusieurs caractéristiques pour lesquelles des données peuvent être recueillies et analysées. Pour définir sa population d'étude comme il se doit, l'anthropobiologiste va pour cela recueillir les données relatives à l'aire de répartition, l'appartenance linguistique, l'histoire démographique, la structure sociale, le mode du choix du conjoint et tout autre information l'aidant à cerner son groupe d'étude et le renseignant sur la dynamique des gènes de ce groupe qu'il va ensuite s'efforcer d'interpréter (Salzano, 1971). Nous retiendrons cette définition proposée par Crubézy et ses collaborateurs (2002):

Une population regroupe les individus des deux sexes et de tous âges qui partagent un même territoire, qui échangent des conjoints, qui observent des règles communes de comportement social et qui ont, par conséquence, un patrimoine génétique commun.

Une fois l'identification et la définition de la population réalisées, il s'agit d'en sélectionner un échantillon représentatif.

Pour les populations actuelles, la pertinence de l'échantillon va dépendre de trois éléments principaux: la taille de la population, le nombre de sujets dans l'échantillon et surtout le choix des sujets à prélever en fonction de la question posée. La taille de l'échantillon est également d'une haute importance, c'est elle qui va déterminer la représentativité de la population (Mazières, 2006).

III. Les polymorphismes

Chez les organismes diploïdes (organismes à deux jeux de chromosomes, l'un d'origine maternelle, l'autre de provenance paternelle), un caractère n'est pas en général commandé par un gène unique, mais par un couple de gène homologues, dits allèles. Du fait des mutations, l'allèle peut se présenter sous des multiples formes. Le caractère est alors dit polymorphique. Quand deux allèles sont identiques, on parle d'homozygotie. Dans le cas contraire, on parle d'hétérozygotie. Nous sommes en général hétérozygotes pour la majorité de nos gènes. D'une manière générale, le polymorphisme génétique se traduit par l'existence,

Généralités

SAOUDI. S, 2015

à un locus donné, de plusieurs types de gènes ou de séquences présents à plus d'1% dans la population; chacune de ces formes constituant un allèle (Crubézy *et al.*, 2002).

Chez l'homme, entre deux individus non apparentés, il existe de petites variations de séquences, estimées entre 1 à 2%, considérées comme non pathologiques, appelées polymorphismes. Ces polymorphismes génétiques peuvent se trouver dans les régions codantes ou non codantes d'un gène. Cette instabilité de l'ADN crée ainsi des variations qui s'accumulent au cours du temps (Ameziane *et al.*, 2005).

III.1. Les polymorphismes bi-alléliques

Il s'agit d'une mutation ponctuelle qui modifie un nucléotide sur un des deux chromosomes de la même paire d'où son nom "polymorphisme de nucléotide simple" ou "Single Nucleotide Polymorphism" (SNP). Les taux de mutations de ces variations ponctuelles ainsi que les insertions ou les délétions nucléotidiques sont très peu élevées et présentent dans certains cas des événements mutationnels uniques, non récurrentes comme c'est le cas de SNP du chromosome Y appelées UEPs (Unique Event Polymorphisms) puisqu'ils ne sont apparues qu'une seule fois dans l'évolution de l'espèce humaine. Le taux de mutation du chromosome Y est estimé à $2 \times 10^{-8}\%$ (Jobling et Tyler-Smith, 2003). Pour la région de contrôle de l'ADN mitochondrial par exemple, il est de 0.0043% par génération (Sigurgardottir *et al.*, 2000).

III.2. Les polymorphismes multi-alléliques

Les polymorphismes multi-alléliques qui sont de courtes séquences répétées de quelques bases à plusieurs centaines de base qui peuvent varier sur chacun des deux chromosomes. Sur chacun des deux chromosomes, le nombre de répétitions peut en effet ne pas être le même, ce qui entraîne donc une hétérozygotie pour le nombre de séquences répétées, et le nombre de variations de la séquence pouvant être différent entre deux individus, d'où la définition polymorphisme multi-allélique (Ameziane *et al.*, 2005).

Parmi ceux-ci, les microsatellites ou les STRs (Short Tandem Repeats), qui sont des séquences répétées simples de 2 à 6pb. On estime leur nombre entre 50 000 et 100 000 copies dans le génome. D'autres distinctions sont les VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats) dont le motif répété fait quelques dizaines de nucléotides de longueur (10 à 60 pb). Le taux de

mutations de STR est plus élevé et peuvent atteindre 1.2×10^{-3} . Les STR évoluent donc plus rapidement que les séquences d'ADN non répétitifs (Crubézy *et al.*, 2008).

IV. Les marqueurs génétiques

Parmi les marqueurs moléculaires utilisés en anthropologie moléculaire il y a des polymorphismes trouvés dans les régions non recombinantes du génome. Alors que notre génome est hérité de nos deux parents, il y a deux segments de notre ADN qui sont atypiques et sont hérités uniquement par un de nos parents, échappant ainsi à la recombinaison. Ces segments comprennent le chromosome Y et l'ADN mitochondrial. Pour étudier l'histoire du peuplement, ces marqueurs se sont révélés être des outils fondamentaux. Ils correspondent aux polymorphismes génétiques détectables par l'analyse directe de l'ADN (Crubézy *et al.*, 2008).

V. L'ADN mitochondrial humain (Figure 5)

La découverte de l'ADN mitochondrial (ADNmt) date de 1963 (Nas et Nas, 1963) mais il a fallu une vingtaine d'années pour que la séquence complète de l'ADNmt soit publiée (Anderson *et al.*, 1981). Depuis, les études s'intéressant à cette molécule se sont multipliées couvrant un grand nombre de domaines scientifiques et marquant ainsi le début de l'ère de la génomique mitochondriale.

V.1. La description de l'ADN mitochondrial humain

La mitochondrie est un organite situé dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Elle serait apparue il y a 1.5 à 2 milliards d'années à la suite d'une endosymbiose entre une protobactérie et une cellule hôte protoeucaryotique. Selon le type cellulaire une cellule possède entre 300 et 500 mitochondries. La mitochondrie occupe une place essentielle dans le métabolisme intermédiaire. Elle est le siège des réactions de catabolisme des acides aminés et du cycle de Krebs, de l'oxydation des acides gras et de la phosphorylation oxydative. Elle assure la respiration de la cellule et la production de l'énergie (Wallace *et al.*, 1999 ; Wallace, 2005) et possède son propre ADN. Selon le type de tissu, une cellule peut contenir entre 10 à 10 000 molécules d'ADNmt (Gotto, 2001 ; Reynier *et al.*, 2001).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

V.2 La structure de l'ADN mitochondrial humain

La structure de l'ADNmt est conservée chez tous les mammifères. L'ADNmt est un ADN double brin circulaire. Chez l'Homme, l'ADNmt mesure environ 5mm de long et sa masse est de 107 daltons. Il est constitué de 16569 paires de bases (Anderson *et al.*, 1981 ; Taanman, 1999). Les deux brins de l'ADNmt sont très différents dans leur composition en Guanine (G) et en cytosine (C). Vu cette différence de densité, on distingue : un brin lourd H (Heavy strand) riche en G et un brin léger L (Light strand) riche en résidus cytosine. Les deux brins sont codants et sont dépourvus d'introns (Taanman, 1999). Les séquences intergéniques sont absentes ou limitées à quelques nucléotides (Saccone, 2000).

L'unique région non codante de l'ADNmt est la région de contrôle, nommée D-Loop (Duplication Loop ou origine de la duplication). Il s'agit d'une région de 1121 pb contenant notamment l'origine de réplication et les deux promoteurs de la transcription, un pour chaque brin. En outre, cette région concentre la plupart de ses polymorphismes SNPs sur deux segments hypervariables, HVS1 (Annexe 2) et HVS2 (HVS pour hypervariable segment) (Taanman, 1999), situés respectivement entre les positions nucléotidiques 16024 et 16365, et 73 et 340 (numérotation nucléotidique en fonction de la séquence consensus CRS, Anderson *et al.*, 1981). Le fragment HVS1 englobe 60% des polymorphismes de la D-Loop (Ojala, 1981). Certains nucléotides de HVS1 et de HVS2 mutent plus fréquemment (90% des mutations n'interviennent que sur 27% des 340 bases qui constituent la région HV1) et sont appelés *hotspots* (points chauds) du fait de leur haute instabilité (Bandelt *et al.*, 2002). Chez le bactériophage T4 (virus qui affecte la bactérie *E. coli*), la présence de ces points chauds serait associée à la délétion d'une adénine appartenant à une série de six résidus adénosine. La fréquence des points chauds est donc probablement en fonction de la présence de bases identiques successives (doublet de bases, etc.) (Watson, 1970).

La très grande variabilité des ces deux régions a notamment permis un usage en identification individuelle puisqu'il est possible d'exclure un lien de parenté par lignées maternelles entre deux individus avec une probabilité de succès de plus de 99%. Inversement, si le même profil génétique est observé entre plusieurs individus de populations différentes, il est donc probable que ces deux populations aient été liées par le passé ou que le profil génétique en question ait été introduit d'une population à l'autre. La région de contrôle peut

Généralités

SAOUDI. S, 2015

donc, dans un deuxième temps, servir de traceur hautement informatif des mouvements des populations (Piercy *et al.*, 1993).

L'ADNmt renferme 37 gènes dont la plupart (28 gènes) sont situés sur le brin H. Ces gènes codent pour deux ARN ribosomiques (12S et 16S), 22 ARN de transfert (ARNt) et 13 protéines de la chaîne respiratoire. Néanmoins, la mitochondrie n'est pas autonome et dépend étroitement du génome nucléaire. Ainsi, la réplication et la transcription nécessitent une transactivation par des facteurs nucléaires (Anderson *et al.*, 1981).

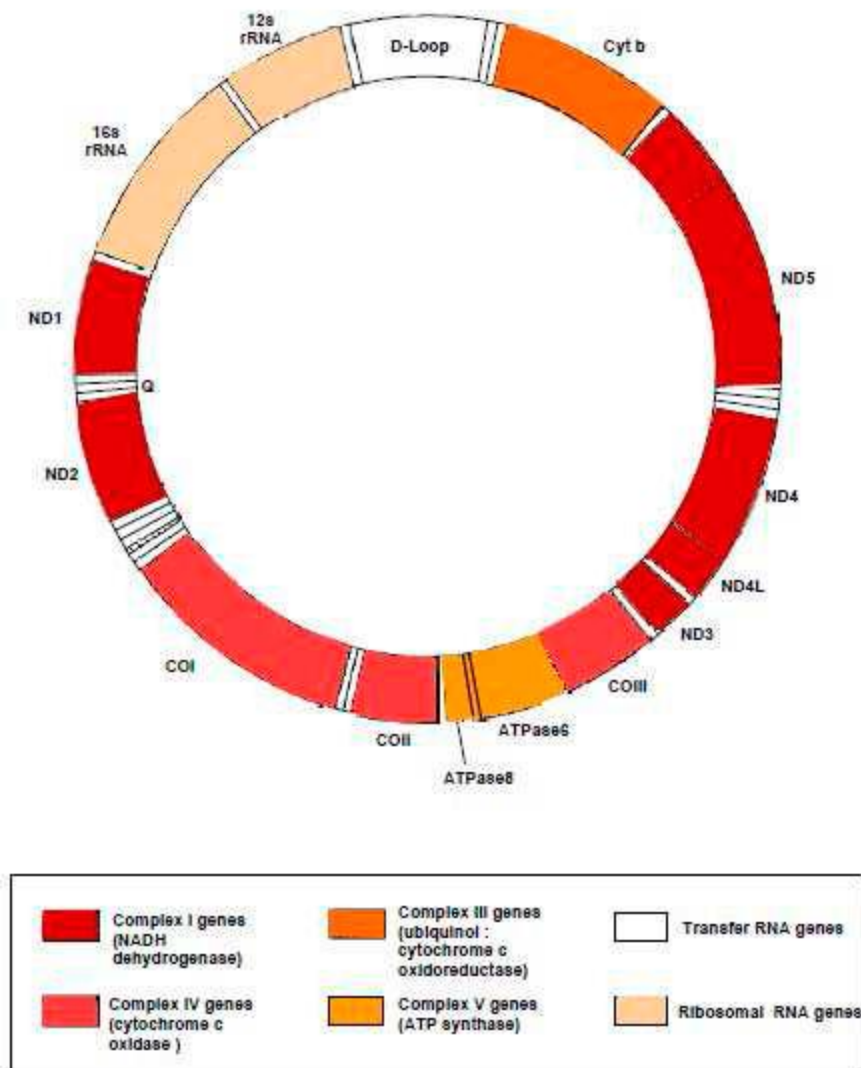


Figure 5: Schéma de l'ADN mitochondrial humain (<http://www.mitomap.org/MITOMAP/mitomapgenome.pdf>).

V.3. La réplication et la transcription de l'ADN mitochondrial humain

La réplication de l'ADNmt se fait de manière unidirectionnelle et semi conservatrice, suivant un modèle appelé « modèle de déplacement » dû au déplacement du brin H parental par rapport au brin H néosynthétisé (Taanman, 1999). La transcription débute au niveau des deux promoteurs HSP et LSP correspondant au brin H et au brin L respectivement. La transcription génère un grand transcrit qui une fois clivé, libère les ARN messagers (ARNm), les ARNr et les ARNt. Les ARNm sont par la suite polyadénylés (Ojala *et al.*, 1981).

Le code génétique de l'ADNmt est légèrement différent du code nucléaire universel. En effet le codon UGA par exemple qui est un codon STOP suivant le code universel, correspond au tryptophane selon le code mitochondrial. De même, les règles d'appariement codon-anticodon sont moins rigides. L'ARNt reconnaît n'importe lequel des 4 nucléotides à la troisième position. La conséquence de ce type de lecture est que la traduction est moins rigoureuse donnant ainsi une synthèse peptidique qui ne demande qu'un petit nombre d'ARNt différents (22 ARNt seulement) (Taanman, 1999).

V.4. La vitesse de mutation de l'ADN mitochondrial humain

L'ADNmt présente un taux moyen de mutation de 10 à 17 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire. Même en excluant la D-Loop ce taux demeure élevé. En effet, en fonction de type de mutation considéré, le taux de variation de l'ADNmt est de 10 à 12 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire (Ingman *et al.*, 2000).

L'évolution rapide de l'ADNmt est due d'une part, à l'absence de protéines protectrices (les histones), au manque de fidélité de la réplication et à la défaillance du système de réparation des erreurs commises par l'ADN polymérase mitochondriale (Croteau *et al.*, 1999). De plus l'ADNmt est constamment exposé aux radicaux oxygénés (ROS : Reactive Oxygen Species) libérés dans la matrice de la mitochondrie (Genova *et al.*, 2004).

Les mutations ne sont pas uniformément réparties sur l'ensemble du génome mitochondrial et s'accumulent préférentiellement au niveau de la D-Loop (Sigurgardottir *et al.*, 2000 ; Vigilant *et al.*, 1991). Cependant, le taux de variation de la D-Loop est très discuté. Dans la littérature, les travaux menés sur des familles ou analyse des généalogies (Sigurgardottir *et al.*, 2000) proposent des vitesses d'évolution comprises entre 0.32 mutation/site/Ma et 2.5 mutation/site/Ma, tandis que les vitesses estimées par les études

Généralités

SAOUDI. S, 2015

phylogénétiques (Vigilant *et al.*, 1991 ; Horai *et al.*, 1995) sont plus faibles (taux compris entre 0.025 et 0.260 mutation/site/Ma). Ces différences marquantes sont dues aux critères d'échantillonnage et à la taille des effectifs qui ne sont pas les mêmes dans les différentes études, aux biais introduits par les maladies (Fliss *et al.*, 2000) et à l'hétérogénéité de la vitesse de mutation au sein de la D-Loop, vu la présence de site appelé « point chauds » pour lesquelles les mutations sont très fréquentes (Stoneking, 2000 ; Meyer et Von Haeseler, 2003).

V.5. Le mode de transmission de l'ADN mitochondrial humain

Les mitochondries suivent un mode d'hérédité cytoplasmique (non mendélienne) qui fait que l'ADNmt est uni-parental. Il est admis qu'il se transmet exclusivement par la voie maternelle. Chez les mammifères, lors de la fécondation, les mitochondries de l'œuf proviennent du cytoplasme de l'ovocyte. Les mitochondries issues du spermatozoïde qui seraient éventuellement passées au sein du cytoplasme du zygote sont éliminées lors des croisements intraspécifiques à un stade précoce de l'embryogenèse (Cummins, 2000).

Ainsi, l'ADNmt, n'étant présent que sous une seule forme (la forme maternelle), n'est pas soumis au phénomène de recombinaison. Cependant, depuis quelques années de nombreux travaux ont mis en cause l'absence totale de l'intervention de l'ADNmt paternel (Eyre-Walker et Awadalla, 2001 ; Hagelberg *et al.*, 2000). Ces études ont été fortement critiquées et des arguments contredisant ont été proposées (Kumar *et al.*, 2000 ; Filosto *et al.*, 2003). En conséquence, jusqu'à présent, il n'y a aucune évidence d'une recombinaison de l'ADNmt, nous continuons, donc, à admettre que la transmission de l'ADNmt se fait uniquement par la mère (Piganeau et Eyre-Walker, 2004).

V.6. L'hétéroplasmie de l'ADN mitochondrial humain (Wallace, 1992)

Actuellement, la plupart des études sur la variation de séquence de l'ADN mitochondrial sont motivées par les questions sur la diversité des populations et leurs origines ou sur l'identification des mutations de l'ADN mitochondrial dans les maladies mitochondriales ou le vieillissement.

Il est considéré que l'ADN mitochondrial est transmis à travers le cytoplasme de l'ovocyte, il est donc d'un héritage maternel. Ainsi, la seule possibilité pour que la séquence

Généralités

SAOUDI. S, 2015

de l'ADN mitochondrial change est par une accumulation de mutations parmi les lignées maternelles.

Le taux de mutation résulterait en partie de la perte de protection des histones, des systèmes de réparation inefficace, et une exposition continuelle aux radicaux libres générés par la chaîne d'électrons. Le taux de fixation des mutations serait dû à un tri cellulaire inefficace des molécules mutantes dans la lignée germinale femelle et une dérive génétique rapide des molécules de l'ADN mitochondrial dans la population générale.

L'apparition de la mutation de l'ADN mitochondrial parmi les molécules normales crée donc ce mélange intracellulaire nommé hétéroplasmie. Par conséquent, les ADN mitochondriaux mutant et normaux sont distribués au hasard dans les cellules filles pendant la division mitotique ou méiotique, et le pourcentage des deux espèces de molécule dérivent dans chaque cellule pouvant mener à nouveau à une homoplasmie de molécules mutantes ou normales pures.

Les patients avec des maladies mitochondriales présentent habituellement un mélange de molécules mutantes et normales.

V.7. Des haplotypes aux haplogroupes

L'ensemble des mutations transmises en bloc à la génération suivante correspond à l'haplotype. Les haplotypes sont présents sur des sites polymorphes d'une même région du génome. Des SNP de la région hypervariable 1 (HVS1) de l'ADN mitochondrial hérités «en bloc» forment des haplotypes HVS1. C'est le caractère aléatoire de l'apparition des variations dans ces différents sites polymorphes, néanmoins maintenus par des taux de mutations par site, qui permettra ensuite d'observer les différences entre les haplotypes. Les haplotypes mitochondriaux permettront de tracer les lignées féminines à l'échelle d'une population, et les migrations ainsi que les flux géniques entre différentes populations éloignées géographiquement (Figure 6). A un échelon plus étendu qu'une population, les différenciations entre les haplotypes peuvent être importantes, voire trop importantes qu'il n'est plus si aisé de retracer et relier les lignées. Néanmoins, des haplotypes dérivant d'une même séquence ancestrale auront des mutations en commun qui les réassocient phylogénétiquement dans une même lignée maternelle: ce qui définit l'haplogroupe. Les mutations plus « stables » dans la région codante de l'ADN mitochondrial permettent de redéfinir les contextes phylogénétiques. Ces mutations sont d'ailleurs des mutations

Généralités

SAOUDI. S, 2015

« diagnostique » permettant l’affiliation d’une séquence à un haplogroupe donné. Les lettres de l’alphabet ont été choisies pour définir les haplogroupes et affinés pour chaque sous-branche par des chiffres, exemple B4a, haplogroupe de l’ADN mitochondrial. La répartition des haplogroupes est orientée géographiquement comme nous l’indique la carte ci-dessous. Il en existe même des continents, des régions, voire des populations spécifiques: par exemple l’haplogroupe B4a1a1a auquel on a attribué le nom du « motif Polynésien » par le fait qu’il est extrêmement fréquent jusqu’à atteindre des fréquences de plus de 90% chez les Populations polynésiennes du Pacifique. Pour l’ADN mitochondrial, les définitions des haplogroupes sont réalisées à partir de séquence de référence: rCRS (Revised Cambridge Reference Sequence) par exemple. Il s’agit en fait de la première séquence complète de l’ADN mitochondrial publiée par Anderson et ses collaborateurs (1981) (Razafindrazaka, 2010).

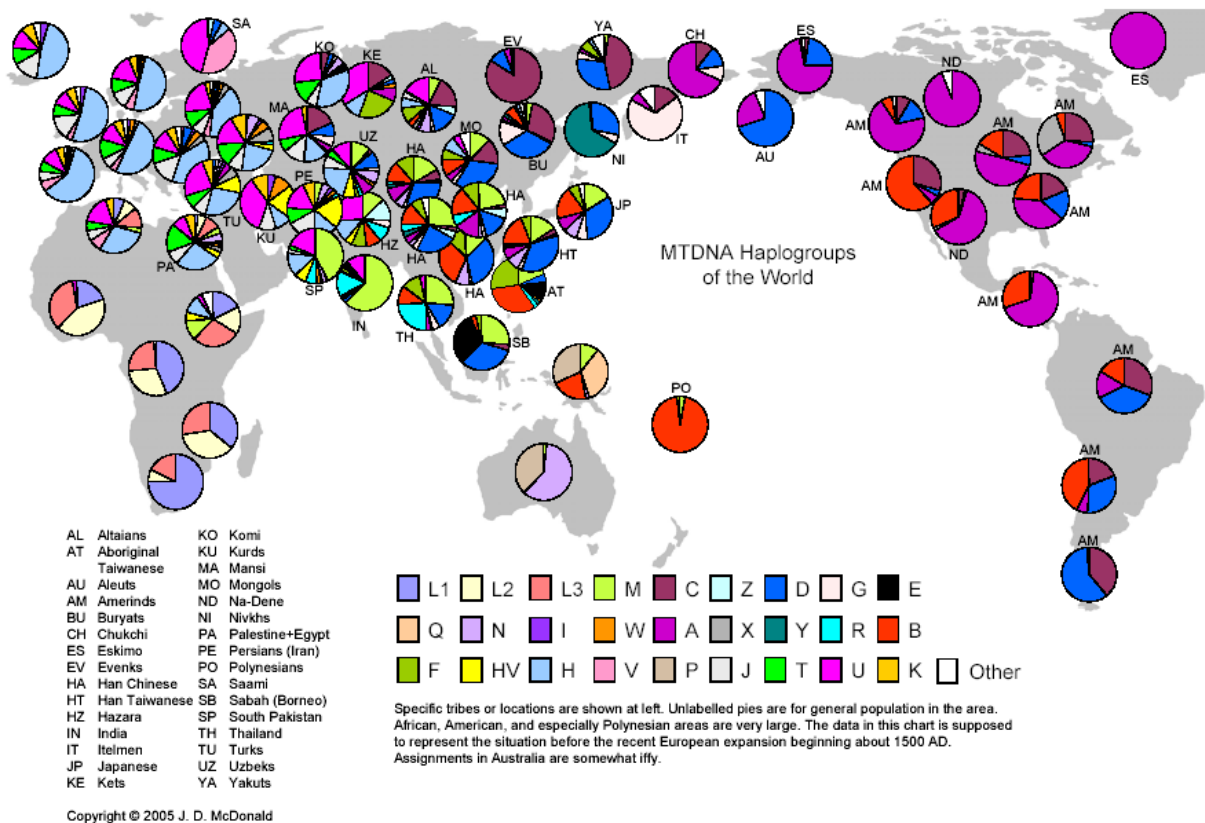


Figure 6: Distribution des haplogroupes mitochondriaux dans le monde (Mc Donald, 2005).

V.8. Les applications de l'ADN mitochondrial humain

Les propriétés de l'ADNmt (un taux élevé de substitution, absence de recombinaison et une transmission maternelle) font de cette molécule un bon outil biologique exploitable dans de nombreux domaines de recherches tels que la biologie de l'évolution, l'anthropologie génétique, l'histoire des maladies et la phylogénie (Kefi *et al.*, 2009).

V.8.1. L'ADN mitochondrial humain et l'anthropologie génétique

L'anthropologie génétique est la science qui étudie l'histoire naturelle des populations humaines en utilisant des techniques immunologiques, biochimiques et moléculaires. L'origine de notre espèce, la position de l'Homme de Neandertal dans l'évolution humaine et le peuplement de la terre par l'Homme moderne *Homo sapiens sapiens*, sont les principaux thèmes traités par cette discipline. La connaissance de la diversité mitochondriale d'une population humaine permet de déterminer ses origines et de tracer les voies de migrations qui ont été empruntées pour sa mise en place, puisque les variations observées sur l'ADNmt d'un sujet donné sont dues à l'accumulation d'événements au cours du temps à partir de son ancêtre. Les variants moléculaires de l'ADNmt ont été étudiés au moyen des polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP). D'abord, par une méthode de faible résolution utilisant 9 enzymes de restrictions et permettant d'analyser 2 à 3% de l'ADNmt. Puis par une méthode de haute résolution utilisant un système de 12 enzymes de restrictions, permettant d'analyser 20% de l'ADNmt (Johnson *et al.*, 1983 ; Torroni *et al.*, 1993). Depuis cette dernière décennie, le séquençage de l'ADNmt, ainsi que l'utilisation des méthodes statistiques et phylogénétiques (Neighbour-joining, median network, ...) (Bandelt *et al.*, 1993) viennent s'associer aux résultats des RFLPs pour fournir des informations plus précises concernant les modes de différenciation, d'expansion et de dispersion des populations humaines (Plaza *et al.*, 2003 ; Maca-Meyer *et al.*, 2003).

Le nombre des populations étudiées a remarquablement augmenté donnant naissance à un large éventail de types mitochondriaux dont la classification est devenue indispensable. Les différents caractères mitochondriaux appelés aussi « haplotypes » sont répartis en 19 haplogroupes qui sont encore subdivisés en sous haplogroupes (Olivieri *et al.*, 2006). La majorité de ces haplogroupes sont continents-spécifiques. Ainsi les haplogroupes L1, L2, L3 regroupent les populations sub-sahariennes africaines. Les haplogroupes H, I, J, K, T, U, V,

Généralités

SAOUDI. S, 2015

W et X, incluent les variants mitochondriaux des populations européennes, nord africaines, et les caucasiens de l'Asie de l'Ouest. Enfin, les haplogroupes A, B, C, D, E, F, G, et M réunissent la majorité des haplotypes de l'Asie, de l'Océanie et des natifs américains (Maca-Meyer *et al.*, 2003 ; Torroni *et al.*, 1996 ; Olivieri *et al.*, 2006).

Dans le but de rechercher l'origine de l'Homme, les premières études sur l'ADNmt couronnée par celle de Cann et ses collaborateurs (1987), ont avancé une hypothèse désignée « Out of Africa ». Selon cette hypothèse l'ancêtre commun de l'Homme Moderne appelé «Eve mitochondriale» serait apparu en Afrique entre 140.000 ans et 290.000 ans. Bien que les méthodes et les considérations suivies dans cette étude ont été sévèrement critiquées (Darlu et Tassy, 1987 ; Excoffier et Langaney, 1989 ; Hedges *et al.*, 1992 ; Chaabani, 2002), d'autres travaux utilisant aussi bien l'ADNmt que d'autres marqueurs du génome nucléaire sont en faveur de l'origine africaine de l'Homme (Chen *et al.*, 2000). En effet, l'analyse de l'ADNmt effectuée sur plusieurs populations mondiales actuelles a montré que les Kungs et les Pygmées (populations africaines subsahariennes) dont les séquences appartiennent exclusivement à l'haplogroupe L (daté de 126.000 et 165.000 ans), pourront être considérés comme les plus anciennes populations humaines actuelles (Chen *et al.*, 2000).

Une sortie de l'Afrique vers le Proche Orient, aurait eu lieu probablement autour de 60.000 ans, a été mise en évidence grâce à l'haplogroupe mitochondrial M1, dont les taux les plus élevés sont observés en Afrique de l'Est (Quintana-Murci *et al.*, 1999 ; Stevanovitch *et al.*, 2004).

L'étude de la diversité mitochondriale des populations actuelles et anciennes nord africaines (Kefi *et al.*, 2005) souligne un retour en Afrique entre 45.000 et 52.000 ans, attesté par l'haplogroupe mitochondrial U6 (Maca-Meyer *et al.*, 2003 ; Olivieri *et al.*, 2006).

D'autres flux de migrations en provenance du Proche Orient, de l'Europe vers 30.000 ans et plus tardivement depuis l'Afrique sub-saharienne ont contribué au pool génétique des populations nord africaines, et ont été mis en évidence grâce aux haplogroupes mitochondriaux tels que T, J, H et les haplogroupes subsahariens L1 et L2 (Plaza *et al.*, 2003 ; Kefi *et al.*, 2005).

Outre le continent africain, l'étude du peuplement de l'Europe a fait l'objet de nombreuses analyses quantitatives de la diversité mitochondriale (distance génétique, autocorrélation, ...). Les populations européennes à l'exception des Saamis, en Scandinavie,

Généralités

SAOUDI. S, 2015

forment un groupe homogène (Comas *et al.*, 1997 ; Simoni *et al.*, 2000). Néanmoins, un léger gradient de divergence est observé de l'Est à l'Ouest tout au long de la méditerranée, témoignant d'un flux génétique, suivant la lignée maternelle, depuis l'Asie vers l'Europe durant le Néolithique (8.000 ans) (Simoni *et al.*, 2000). L'estimation du temps de divergence des haplogroupes majoritaires en Europe montre que seulement 20 à 30% des européens actuels (individus appartenant aux haplogroupes T1, J1, U3) sont issus de migrations néolithiques depuis le Proche Orient. Alors que 70 à 80% des européens (individus appartenant aux haplogroupes U, T2, W...) seraient issus d'une population autochtone occupant l'Europe dès le Paléolithique Supérieur (45.000 ans) (Richards *et al.*, 2000).

L'haplogroupe U5 est l'haplogroupe le plus ancien de l'Europe. U5 et U6 aurait un ancêtre commun en Asie du Sud Ouest, à partir duquel deux branches ont divergé : une vers la rive Nord de la méditerranée donnant naissance à l'haplogroupe U5 en Europe. Une seconde longeant la rive Sud de la méditerranée où elle aura donné naissance à l'haplogroupe U6 en Afrique du Nord (Maca-Meyer *et al.*, 2003 ; Olivieri *et al.*, 2006).

Les apports génétiques en provenance du Proche Orient au cours du Paléolithique et au Néolithique ne sont pas les seules sources de la diversité mitochondriale des populations européennes actuelles. Un flux génétique en provenance de l'Europe du Sud Ouest a été mis en évidence grâce à l'haplogroupe V (Torroni *et al.*, 1998). La fréquence et la diversité de l'haplogroupe V suit un gradient décroissant de la Péninsule Ibérique vers l'Europe du Nord Est (Torroni *et al.*, 1998 ; Torroni *et al.*, 2001).

La présence de U6 (1 à 2 %) en Europe indique un apport génétique de l'Afrique du Nord qui y aurait eu lieu avant 8.000 ans (Plaza *et al.*, 2003 ; Gonzalez *et al.*, 2003).

Enfin, la présence de l'haplogroupe L (2 à 3%) en Europe témoigne d'un apport génétique de type africain subsaharien qui pourrait être lié à des migrations pendant la désertification du Sahara au cours du Néolithique et aux compagnes d'esclavages pendant l'époque historique (Gonzalez *et al.*, 2003).

V.8.2. L'ADN mitochondrial humain et les sciences forensiques (médecine légale et criminalistique)

L'étude de l'ADNmt s'est avérée très utile en médecine légale et en criminalistique, notamment quand l'investigation de l'ADN nucléaire échoue à cause de la dégradation et la faible quantité du matériel biologique, ce qui est souvent le cas (Wilson *et al.*, 1995).

C'est ainsi qu'il était possible d'identifier de nombreux restes non déterminés, comme des victimes de la guerre du Vietnam (Holland *et al.*, 1993), des victimes d'affaires criminelles (Lutz *et al.*, 1996 ; Bender *et al.*, 2000) ou des victimes de catastrophes naturelles comme le tsunami (Deng *et al.*, 2005).

De même, grâce à l'analyse de l'ADNmt des énigmes de l'histoire ont pu être résolues, tels que l'identification des restes de la famille Romanov, derniers tsars de Russie disparus en 1918 et découverts en 1991 (Gill *et al.*, 1994).

En forensique, c'est le séquençage des fragments HVS1 et HVS2 de la région de contrôle de l'ADN mitochondrial qui se fait en routine. Des bases de données regroupant ces séquences en provenance de différentes populations humaines ont été élaborées dans le but d'augmenter le succès dans la résolution des affaires. Parmi ces banques nous citons la banque de donnée de la FBI (Federal Bureau of Investigation-USA) (Monson *et al.*, 2002) et la banque EMPOP réalisée par la l'institut de médecine légale d'Innsbruck en Australie et l'AFDIL (Armed Forces DNA Identification Laboratory-USA) (Parson et Dur, 2007). Récemment, des travaux proposent l'analyse de certaines régions codantes de l'ADNmt afin d'accroître la discrimination entre les spécimens analysés (Nilsson *et al.*, 2008 ; Parson *et al.*, 2008).

V.8.3. L'ADN mitochondrial humain et les pathologies humaines

L'ADN mitochondrial est vulnérable au stress oxydatif et aux dérivés oxygénés: ROS (Reactive Oxygen Species) produits au cours des réactions de la phosphorylation oxydative. Il s'agit d'un cercle vicieux dans lequel les ROS induisent une augmentation des mutations mitochondriales ce qui altèrent le transfert des électrons au niveau de la mitochondrie et augmente par conséquent la production des ROS, et ainsi de suite (Chan, 2006).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Les mutations affectant l'ADNmt et/ou l'ADN nucléaire entraînent un changement dans l'activité des enzymes mitochondriales et donc un déficit de la phosphorylation oxydative et de la respiration cellulaire ce qui donnent naissance à des pathologies telles que les cytopathies mitochondriales et des maladies multifactorielles (Chan, 2006 ; Cohen et Gold, 2001 ; Sperl *et al.*, 2006 ; Di Mauro et Schon, 2003).

a. Les cytopathies mitochondriales

Les pathologies mitochondriales ou « cytopathies mitochondriales » (ou défaillance de la phosphorylation oxydative : OXPHOS) ne sont pas aussi rares qu'on le croyait et leur fréquence est estimée à 10 à 15 cas/100 000 individus. Ces maladies peuvent survenir à n'importe quel âge et peuvent concerner un seul type d'organe c'est le cas par exemple de la neuropathie optique de Leber (LHON) ou tous les organes et toutes les fonctions cellulaires c'est le cas par exemple du syndrome de Kearns-Sayre (KSS). Cependant, les tissus les plus dépendants en énergie tels les muscles squelettiques et cardiaques, le système nerveux et le système neurosensoriel et les systèmes endocriniens sont le plus souvent affectés. Les cytopathies mitochondriales présentent divers aspects cliniques, morphologiques et biochimiques. Leur diagnostic nécessite trois types d'investigations: métabolique, biochimique et génétique. L'investigation métabolique apporte des arguments en faveur ou non d'une cytopathie mitochondriale et seules les investigations enzymatiques et moléculaires peuvent confirmer le diagnostic (Chan, 2006 ; Cohen et Gold, 2001).

Une centaine de maladie mitochondriales sont actuellement recensées. Du fait que les causes peuvent être dues à des mutations ponctuelles ou à des délétions au niveau des gènes mitochondriaux et/ou nucléaires, la transmission de ces maladies peut être donc maternelle ou mendélienne (Jacobs *et al.*, 2006).

La base de données MITOMAP (www.mitomap.org) fait l'inventaire de toutes les mutations mitochondriales et nucléaires publiées jusqu'à présent.

Le diagnostic des maladies mitochondriales reste difficile du fait de la variabilité des symptômes: des anomalies génomiques différentes peuvent présenter le même phénotype. La même anomalie à son tour peut donner lieu à des phénotypes différents (Enns *et al.*, 2006).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Un diagnostic prénatal peut être proposé en cas d'altération d'un gène nucléaire identifié. Il est beaucoup plus difficile en cas de mutation de l'ADN mitochondrial du fait de l'hétéroplasmie (Chan, 2006 ; Cohen et Gold, 2001).

Les syndromes mitochondriaux les plus décrits dans la littérature sont : le Syndrome de Kearns-Sayre (KSS) (Carod-Artal *et al.*, 2006), la Neuropathie Optique Héritaire de Leber (Howell *et al.*, 2003 ; Gropman *et al.*, 2004), le Syndrome de MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers) (Shoffner *et al.*, 1990), Le syndrome de Leigh (Encéphalomyopathie nécrosante subaigüe) (Kirby *et al.*, 2000 ; Ugalde *et al.*, 2007), Le Syndrome de MELAS (Myopathie mitochondriale encéphalopathie-acidose lactique) (Finster, 2007) et Le Syndrome de NARP (neuropathie-ataxie-rétinite pigmentaire) (Enns *et al.*, 2006).

Le KSS par exemple est une maladie neuromusculaire, débutant avant l'âge de 20 ans, caractérisée par une surdité, une cardiomyopathie, une myopathie des muscles squelettiques une insuffisance rénale, des déficits hormonaux (hypoparathyroïdie, diabète) et des muscles déficitaires en activité du cytochrome C oxydase et présentant une prolifération mitochondriale (Ragged Red Fibers).

Sur le plan moléculaire, le KSS est dû à des grandes délétions (allant de 4000 à 9500 pb) et à la mutation A3243G au niveau de l'ADNmt (Carod-Artal *et al.*, 2006).

b. L'ADN mitochondrial humain et les maladies multifactorielles

Les désordres mitochondriaux peuvent être impliqués dans des pathologies humaines telles que les maladies neuro-dégénératives, les myopathies, les ischémies cardiaques et cérébrales, les maladies métaboliques, les cancers, la surdité et le vieillissement (Chan, 2006 ; Cohen et Gold, 2001).

Outre les mutations nucléaires, des mutations de l'ADNmt altérant le fonctionnement des enzymes mitochondriales comme le pyruvate carboxylase et/ou le transfert des électrons au niveau de la chaîne respiratoire entraînent une altération du métabolisme du glucose au niveau du foie, causant des maladies de surcharges lysosomales (Cohen et Gold, 2001).

Les mutations A3243G au niveau du gène mitochondrial tRNA Leu, (caractéristique du syndrome de MELAS), T14709C dans le gène codant pour tRNA glu (Violettes *et al.*,

Généralités

SAOUDI. S, 2015

1997) et A8296G touchant le gène codant tRNA lys ont été associées au diabète de type MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness) (Kameoka *et al.*, 1998 ; Maassen *et al.*, 2004).

De plus, il a été montré qu'un dysfonctionnement mitochondrial, réduisant l'oxydation des acides gras, inhibe chez les patients atteints de diabète de type II, le transport du glucose au niveau des muscles (Lowell et Shulman, 2005).

Le syndrome métabolique à transmission maternelle, caractérisé par une hypertension, une hypermagnésémie et une hypercholestérolémie a été associé à la mutation T4291C affectant le gène mitochondrial tRNA Ile (Wilson *et al.*, 2004).

En ce qui concerne le tissu cardiaque, des études ont souligné l'existence d'une délétion de 4977 pb localisée entre les positions 8470 et 13477 chez des patients âgés de 43 à 74 ans, ayant subi une intervention chirurgicale au niveau de l'artère coronaire ou un remplacement de la valve aortique (Zhang *et al.*, 1999).

Une quarantaine de mutations mitochondriales ont été classées comme étant impliquées dans des surdités syndromiques ou non syndromiques. Parmi ces mutations, celles affectant les gènes mitochondriaux codant pour ARNr 12 S tels que T1095C, C1494T, et A1555G, sont responsable d'une surdité due à une toxicité en présence des antibiotiques de type streptomycine et aminoglycoside (Kokotas *et al.*, 2007).

Le rôle de la mitochondrie dans la formation des tumeurs a été évoqué depuis plus d'une cinquantaine d'année. La littérature est riche en travaux décrivant des mutations mitochondriales associées à de nombreux cancers tels que le cancer de la vessie (Fliss *et al.*, 2000), le cancer des poumons (Fliss *et al.*, 2000 ; Jin *et al.*, 2007), le cancer du pancréas (Jones *et al.*, 2001), le cancer de la thyroïde (Abu-Amero *et al.*, 2006) et les cancers gastriques (Jin *et al.*, 2007).

En fin, il a été mis en évidence des haplogroupes mitochondriaux prédisposant aux cancers. L'haplogroupe N caractérisé par le polymorphisme G10398A représente un facteur à risque pour le cancer du sein et l'œsophage (Darvishi *et al.*, 2007).

L'haplogroupe U chez les nord américains caucasiens a été décrit comme un haut risque pour le cancer de la prostate (Booker *et al.*, 2006).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Le cancer de l'œsophage est l'un des cancers les plus mortels dans le monde, dont les taux les plus élevés ont été repérés dans l'aire géographique allant du centre de la Chine jusqu'au Nord de l'Iran. L'haplogroupe mitochondrial D, plus spécifiquement D4a et D5a prédisposent génétiquement au cancer de l'œsophage chez la population chinoise (Li *et al.*, 2007).

L'implication de la mitochondrie et plus particulièrement l'ADNmt dans le processus du vieillissement est un sujet de débat à cause des mécanismes encore incompréhensibles jusqu'à présent. Ce qui est certain est que le mécanisme du vieillissement est accompagné par une diminution de l'activité respiratoire des mitochondries ainsi que par une accumulation des délétions et des mutations ponctuelles au niveau de l'ADNmt. Une augmentation de 1 à 10% des taux de délétions au niveau des cellules du cerveau et du muscle a été observée chez des sujets âgés comparés aux sujets jeunes (Sperl *et al.*, 2006).

MATERIEL
ET
METHODES

De l'extraction de l'ADN au traitement des données, toutes les étapes d'analyse des échantillons ont été réalisées au Laboratoire de Génomique Biomédicale et d'Oncogénétique (Institut Pasteur de Tunis), sous la responsabilité du Professeur Sonia ABDELHAK et la codirection du Docteur Rym BEN-ATIG KEFI.

I. La zone d'étude (Voir Chapitre I, pages : 16-25)

II. La description et le prélèvement du matériel biologique

En 2013, une mission menée à l'établissement hospitalier publique Ali BOUSHABA (Khenchela) a permis de prélever, dans les règles d'éthique, 114 échantillons sanguins de 15 ml chacun d'individus adultes, sains, non apparentés et dont les mères et les grands-mères maternelles sont de Khenchela. Tous les prélèvements sanguins ont été collectés dans des tubes contenant un anticoagulant de type EDTA (acide Ethylène Diamino Tétra Acétique) et conservés à -20°C.

III. L'extraction saline de l'ADN génomique

III.1. Le principe

Nous allons utiliser une méthode d'extraction d'ADN génomique basée sur la précipitation différentielle des protéines par les sels « Salting-out ». Après la lyse des globules rouges, les globules blancs sont lysés en présence d'une solution hypotonique (WLB). Les protéines subissent une digestion enzymatique par la protéinase K et les lipides sont solubilisés par une solution détergente (SDS).

La solution est débarrassée des protéines par précipitation, à l'aide d'une solution saline saturée ; puis l'ADN génomique est précipité à l'alcool.

III.2. Le protocole expérimental

III.2.1. La lyse des globules rouges et des globules blancs

- 1- Transverser les 10 ml de sang prélevé sur tube EDTA dans un tube de 50 ml et compléter le volume jusqu'à 35 ml avec la solution BLB 1X. Le tube doit être clairement identifié (code et date de prélèvement).
- 2- Lysé des globules rouges au moins 30 minutes dans la glace.
- 3- Centrifuger pendant 10 minutes à 2500 t/min.
- 4- Eliminer le surnageant.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

- 5- Resuspendre le culot dans 35 ml de BLB 1X et répéter la lyse dans la glace comme au point 2 pendant 20 minutes seulement.
- 6- Centrifuger pendant 15 minutes à 2500 t/min.
- 7- Répéter les étapes 5 et 6 deux à trois fois jusqu'à obtention d'un culot très propre.
- 8- Ajouter 4 ml de WLB 1X, 20 µl de protéinase K et 200 µl de SDS (20%).
- 9- Laisser incuber une nuit à 37°C.

III.2.2. La préparation de l'ADN

Les tubes ayant été incubés toute la nuit sont sortis du bain-marie afin de procéder à la suite de l'extraction.

a. La précipitation des protéines au NaCl 6M

- 1- Ajouter 1.5 ml de NaCl 6M filtré.
- 2- Agiter fortement pendant 15 secondes: une mousse blanche se forme.
- 3- Centrifuger pendant 15 minutes à 3500 t/min.
- 4- Transverser délicatement le surnageant dans un autre tube propre et recentrifuger comme à l'étape 3.
- 5- Répéter l'étape 4 jusqu'à l'obtention d'un surnageant limpide.

b. La précipitation de l'ADN à l'éthanol

- 1- Ajouter 2 volumes d'éthanol (100%) froid.
- 2- Pêcher délicatement la méduse d'ADN avec une pipette Pasteur boulée.
- 3- Laver à deux reprises la méduse d'ADN dans de l'éthanol (70%) dans un tube de 10 ml et la mettre dans une tube propre de 1.5 ml.
- 4- Ajouter 0.5 ml de tampon TE afin de resuspendre la méduse d'ADN.
- 5- Mettre sur la roue pendant 24 à 48 heures pour dissoudre complètement la méduse d'ADN.

Dans notre étude, nous avons procédé à l'extraction d'ADN filament suite à la non-formation de la méduse d'ADN après l'ajout des deux volumes d'éthanol (100%) froid (étape 1 de la précipitation de l'ADN à l'éthanol). Le protocole expérimental est le suivant:

1. Incuber les échantillons pendant 24 heures à -20°C.
2. Centrifuger pendant 10 minutes à 2500 rpm.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

3. Garder le culot et jeter le surnageant d'un coup sec.
4. Ajouter 5ml d'éthanol 70%.
5. Recentrifuger pendant 10 minutes à 2500 rpm.
6. Garder le culot et jeter le surnageant d'un coup sec.
7. Renverser les tubes sur du papier velin sur la paillasse jusqu'à séchage.
8. Ajouter 200 µl de TE (Tris-EDTA: tampon d'élution).
9. Transverser dans des tubes Eppendorf et garder à -20°C.

IV. Le contrôle quantitatif et qualitatif de l'ADN génomique

IV.1. Le contrôle quantitatif

Une aliquote est diluée au 1/100 pour l'estimation de la concentration de l'ADN génomique par la mesure de la densité optique (DO) à 260 nm au spectrophotomètre.

L'absorbance est proportionnelle à la concentration de l'ADN génomique.

Une unité de DO à 260 nm correspond à 50 µl d'ADN génomique/ml.

La mesure de l'absorbance à 280 nm permet d'évaluer la présence de protéines.

Le rapport de pureté DO 260 nm/DO 280 nm doit être compris entre 1.8 et 2. Une valeur inférieure à 1.8 témoigne d'une contamination par des protéines, alors qu'une valeur supérieure à 2 témoigne d'une contamination par les sels. Ces contaminations peuvent une surestimation de la quantité de l'ADN génomique.

IV.2. Le contrôle qualitatif

Pour évaluer l'état de dégradation de l'ADN génomique, on réalise une électrophorèse sur gel d'agarose 0.8% dans un tampon TBE 0.5x. Pour cela, on teste 5 µl d'ADN génomique ajouté à un volume de 1 µl de bleu de dépôt.

L'obtention de smear témoigne d'un état dégradé de l'ADN, tandis qu'une bande nette de forte intensité atteste d'un état non dégradé de l'acide nucléique.

V. L'amplification de l'ADN mitochondrial par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

V.1. Le principe

Il s'agit d'une amplification enzymatique d'un fragment d'ADN de taille connue par réaction de polymérisation en chaîne. Cette technique utilise de façon répétitive l'activité

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

d'une polymérase thermostable: la Taq polymérase pour reproduire *in vitro* la séquence d'ADN à amplifier selon un procédé d'extension d'amorces.

Ce procédé consiste à utiliser deux amorces nucléotidiques monocaténares de synthèse constituée chacune d'une vingtaine de nucléotides et parfaitement complémentaires aux séquences flanquant la région à amplifier. Le couple d'oligonucléotides (sens et antisens) est choisi à l'aide des banques de données.

La réaction de PCR comprend trois principales étapes: la dénaturation, l'hybridation et l'élongation. Pendant la première étape, l'ADN génomique subit une dénaturation physique par augmentation de la température. Au cours de la seconde étape, les amorces s'hybrident à l'ADN génomique en se fixant à leurs sites complémentaires spécifiques. A la dernière étape, la Taq polymérase se sert de l'extrémité 3'OH libre de l'amorce pour synthétiser un nouveau brin complémentaire à l'ADN matrice, dans le sens 5' → 3', tout en incorporant les 4 dNTP. La Taq incorpore environ 2000 nucléotides par minutes, le temps de la polymérisation par cycle dépend donc de la taille du produit à amplifier. Ces trois étapes sont répétées plusieurs fois et au bout de n cycles, on obtient la quantité d'ADN initiale multipliée par 2ⁿ. Une étape finale d'élongation est réalisée après la fin des (n) cycles pour achever la synthèse de tous les produits de PCR.

V.2. La réalisation pratique

Afin d'amplification le segment hyper variable 1 (HVS1) de la région de control (D-Loop) de l'ADN mitochondrial nous avons procédé comme suit:

1. Préparer le Mix de la PCR:

- H₂O distillée = 16.3 µl
 - TP (10X) = 2.5 µl
 - MgCl₂ (50 mM) = 1.5 µl
 - dNTP (10 mM) = 0.5 µl
 - Amorce sens (16025) = 0.5 µl
 - Amorce anti-sens (9AS) = 0.5 µl
 - Taq polymérase = 0.2 µl
- } (x) le nombre de tubes

Tableau 9: Séquences du couple d'amorces utilisé dans la réaction de PCR de HVS1.

	Séquences	Taille
Amorce sens (16025)	5' TCTTTCATGGGGAAGCAGATTT 3'	519 pb
Amorce anti-sens (9AS)	5' CGTGTGGGCTATTTAGGCT 3'	

2- Injecter dans chaque tube de PCR 3 µl des ADNs génomiques dilués à 1/10 et 22 µl du mix.

3- Mettre les tubes dans le thermocycleur selon un programme déterminé (Tableau 10) et lancer la réaction de PCR.

Tableau 10: Programme de cycle de température au niveau du thermocycleur.

	Etapes de la PCR				
	Dénaturation initiale	Dénaturation	Hybridation	Elongation	Elongation finale
Température (°C)	96	95	55	72	72
Durée (min)	5	1	1	1	7
	40 cycles				

VI. L'électrophorèse sur gel d'agarose 1%

VI.1. Le principe

L'électrophorèse sur gel d'agarose 1% contenant du BET 1/10000 (Bromure d'Ethidium) permet d'examiner les résultats de la PCR et de vérifier que le produit d'amplification est à la taille attendue. Le BET est un agent intercalant qui se glisse entre les bases azotées donnant ainsi une fluorescence sous exposition aux U.V, ce qui permet de visualiser l'ADN et de vérifier sa migration.

La vitesse de migration dépend de la taille du fragment de l'ADN à amplifier. Ainsi, plus la taille est élevée, moins est la distance de migration. Le pourcentage d'agarose dépend aussi de la taille du produit d'ADN à tester.

Du bleu de dépôt est ajouté aux produits de PCR. Cette solution permet d'alourdir l'ADN permettant ainsi son maintien au fond des puits.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

Un marqueur de taille et un témoin négatif (uniquement le mix de PCR) sont déposés en même temps que l'ADN pour estimer respectivement la taille des produits amplifiés et pour tester les éventualités de contamination.

Par la suite le gel d'agarose 1% contenant les ADNs, le marqueur de taille et le témoin négatif est déposé dans une cuve d'électrophorèse.

La visualisation de l'ADN est réalisée sous exposition aux rayons U.V.

VI.2. La réalisation pratique

1. Préparer le gel d'agarose 1% en mélangeant 5 g d'agarose et 50 ml de TBE 1X.
2. Mettre la préparation sur l'agitateur jusqu'à obtention d'un mélange homogène.
3. Ajouter 8 µl de BET 1/10000 et mélanger.
4. Couler le gel.
5. Dans chaque puits du gel, dispatcher 2 µl d'ADN à tester mélanger à une goutte de bleu de dépôt.
6. Ajouter 2 µl de marqueur de taille dans un puits vide.
7. Ajouter 2µl de témoin négatif dans un autre puits vide.
8. Mettre le gel dans la cuve d'électrophorèse et laisser migrer les ADNs.
9. Après migration, visualiser les bandes de migration sous U.V.

VII. Le séquençage automatique

VII.1. Le principe

Cette technique repose sur le principe de séquençage enzymatique développé par Sanger pour établir la séquence nucléotidique des molécules d'ADN.

A l'origine, la méthode de Sanger consistait à synthétiser, *in vitro*, des brins d'ADN complémentaires à l'ADN matrice en utilisant une amorce marquée à la radioactivité et des didésoxyribonucléotides (ddNTP) qui lorsqu'ils sont incorporés bloquent l'extension des nouveaux brins synthétisés à cause de l'absence d'une extrémité 3' OH libre. La compétition entre l'incorporation des dNTPs et des ddNTPs aboutit à la synthèse d'un ensemble de brins radioactifs de longueurs différentes qui peuvent être visualisés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Depuis, cette méthode a été améliorée et automatisée. Le marquage des fragments d'extension est réalisé désormais par l'incorporation de ddNTPs fluorescents.

Dans notre étude, les produits PCR purifiés ont été séquencés grâce au séquenceur automatique ABI Prism 377 Perkin Elme DNA sequence (APPLIED BIOSYSTEMS) en utilisant le kit Big Dye Terminator (APPLIED BIOSYSTEMS). Ce kit comprend:

- Le *Terminator Ready Reaction Mix* qui présente l'avantage de contenir tous les composants nécessaires à la réaction de séquençage dans un seul tube:

- *A-Dye Terminator* marqué au dichloro [R6G] ;
- *C-Dye Terminator* marqué au dichloro [ROX] ;
- *G-Dye Terminator* marqué au dichloro [R110] ;
- *T-Dye Terminator* marqué au dichloro [TAMRA].
- Désoxyribonucléotides triphosphates (dATP, dCTP, dGTP et dTTP) ;
- *AmpliTaq DNA Polymerase FS*, avec pyrophosphatase thermostable ayant une mutation au niveau de son site actif qui la rend moins discriminante envers les didésoxyribonucléotides ;
- $MgCl_2$;
- Tampon Tris-HCl, pH = 9.

- Control Prime (forward), 0.8 pmol/ μ l ;

- ADN de contrôle double brin, 0.2 μ g/ μ l.

Au cours de l'électrophorèse, la lecture se fait en temps réel à travers une fenêtre de détection, après excitation des fluorophores par un laser bichromatique. Le séquenceur automatique, *ABI Prism 377 DNA Sequencer*, intègre les données de migration et les transforme en électrophorégrammes sous forme de pics de couleurs différentes correspondant aux séquences nucléotidiques des fragments d'ADN synthétisés.

VII.2. La purification des produits de PCR

La purification permet d'obtenir des produits d'amplification débarrassés de tous les composants du mélange réactionnel de la PCR.

Cette purification est réalisée à l'aide de deux enzymes: l'exonucléase I, qui permet d'éliminer les amorces libres grâce à son activité exonucléasique et l'enzyme Shrimp Alkaline

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

Phosphatase (SAP), qui permet d'éliminer les phosphates en 5' des dNTP et donc rend leur incorporation dans l'ADN impossible.

A chaque 5µl du produit de PCR, sont ajoutés 0.5 µl de l'enzyme exonucléase I, 0.5 µl de l'enzyme SAP et 4 µl de H₂O bidistillée stérile pour obtenir un volume final de 10 µl. La réaction est incubée pendant 40 minutes à 37°C, la température d'action des enzymes, puis pendant 20 minutes à 80°C permettant la dénaturation des enzymes et donc stopper leurs actions.

VII.3. La réalisation pratique

VII.3.1. La purification des produits PCR par l'EXO-SAP

- 1- Vortexer l'EXO I et le FastAP puis faire un coup de centrifugation.
- 2- Préparation du mix (0.25 µl EXO + 0.5 µl SAP + 4.25 µl H₂O).
- 3- Vortexer et faire un coup de centrifugation de l'eppendorf.
- 4- Dispatcher dans chaque puits de la plaque de séquençage 5 µl du mix et 5 µl des produits de PCR.
- 5- Fermer les puits avec des barrettes.
- 6- Faire un coup de centrifugation de la plaque pour enlever les bulles d'air.
- 7- Placer la plaque dans le thermocycleur :

Le programme: $\left\{ \begin{array}{l} 37^{\circ}\text{C} \rightarrow 40 \text{ minutes (activation des enzymes)} \\ 80^{\circ}\text{C} \rightarrow 20 \text{ minutes (inactivation des enzymes)} \end{array} \right.$

VII.3.2. La PCR de séquence

- 1- Préparation du mix (4 µl Tp5* + 4 µl H₂O + 1 µl Big dye).
- 2- Vortexer et faire un coup de centrifugation.
- 3- Dispatcher dans chaque puits 9 µl du mix et pipeter à chaque fois.
- 4- Ajouter 1 µl du primer antisens 9AS.
- 5- Mettre dans chaque puits 10 µl de produits purifiés.
- 6- Placer la plaque dans le thermocycleur pour la réaction de séquence :

$\left. \begin{array}{l} 96^{\circ}\text{C} \rightarrow 10 \text{ secondes} \\ 50^{\circ}\text{C} \rightarrow 5 \text{ secondes} \\ 60^{\circ}\text{C} \rightarrow 4 \text{ minutes} \end{array} \right\} 25 \text{ cycles}$
4°C → ∞

VII.3.3. La précipitation à l'éthanol 70%

- 1- Mettre dans chaque puits 80 μ l d'éthanol 70%.
- 2- Refermer avec les barrettes et mélanger trois fois au minimum par renversement.
- 3- Couvrir la plaque avec du papier aluminium et laisser pendant 15 minutes à température ambiante.
- 4- Centrifuger à 4700 t/min pendant 15 minutes.
- 5- Jeter le surnageant d'un coup sec et laisser la plaque à l'envers.
- 6- Enlever l'excédent d'alcool en plaçant la plaque sur du papier absorbant.
- 7- Faire un coup de centrifugation à 1000 t/min pendant 2 minutes (la plaque doit être mise à l'envers et sur du papier absorbant sec).
- 8- Laisser sécher les gouttelettes d'alcool qui restent (environ 2 minutes à l'air libre).
- 9- Dispatcher 15 μ l de formamide par puits et mélanger en pipetant.
- 10- Après resuspension, chauffer les échantillons pendant 2 minutes à 95°C pour dénaturer l'ADN.

VII.3.4. La préparation du gel polyacrylamide

Afin de séparer un ensemble de fragments d'ADN qui diffèrent selon la taille par une seule paire de base, on utilise le gel polyacrylamide à 6%.

La préparation du gel de polyacrylamide se fait de la manière suivante:

1. Dissoudre 18 g d'urée dans 5.625 ml d'acrylamide à 40% et 20 ml d'eau désionisée, en présence d'une cuillère de résine.
2. Agiter à froid jusqu'à dissolution de l'urée.
3. L'agitation est suivie par la filtration et le dégazage.
4. Ajouter au mélange 10 ml de TBE 5X.
5. Ajouter à la solution ainsi préparée 250 μ l de PSA (persulfate d'ammonium) à 10% et 30 μ l de TEMED (tetraméthylène-diamine).
6. Couler le gel entre deux plaques de verre, du système d'électrophorèse vertical, préalablement nettoyées avec de l'eau et de l'éthanol et séparées par des espaceurs de 2 mm.
7. Après polymérisation, monter le gel sur la cuve du séquenceur automatique et le mettre pré-run pendant 20 minutes. Cette étape permet le chauffage du gel dont la température doit atteindre 50°C afin d'assurer les conditions dénaturantes de la migration qui dure entre 7 heures et 10 heures.

VIII. L'analyse bioinformatique des séquences

Les séquences obtenues sont analysées avec le logiciel *Blast 2 sequences*. A l'aide du logiciel *Sequencher* (version 4.10.1), elles sont alignées et comparées à la séquence de référence du segment hyper variable 1 (HVS1) extraite de la séquence de référence de l'ADN mitochondrial humain (rCRS: revised Cambridge reference Sequence) disponible sur (<http://mitomap.org/MITOMAP/HumanMitoSeq>) et ce afin d'identifier les polymorphismes de chaque séquence.

Les haplogroupes ont été estimés par le logiciel en ligne *Haplogrep* (<http://haplogrep.uibk.ac.at/>).

Les fréquences des haplogroupes obtenus ont été calculées et comparées à celles observées dans d'autres populations (les Syriens, les M'zabs, les Marocains Berbères du Sud et les Italiens).

L'assignation des différents haplogroupes mitochondriaux à leurs origines, qui sont continents spécifiques, s'est faite à partir de la littérature.

L'analyse de la structure génétique des Chaouis a été effectuée avec le logiciel *Arlequin* (version 3.5.1.2) où une recherche d'haplotypes partagés avec quatre populations (les Syriens, les Mozabites, les Marocains Berbères du Sud et les Italiens) a été réalisée ainsi que le calcul des différents indices de la diversité moléculaire qui ont fait par la suite l'objet d'une comparaison inter populationnelle (populations sus-citées).

Ainsi, l'indice F_{st} (généré par *Arlequin*) a été interprété afin d'estimer les sources de diversité génétique entre les quatre populations.

En effet, lorsqu'une seule population est considérée, F_{st} représente la source générale de variation entre les populations.

F_{st} mesure ainsi la proportion de variance totale trouvée entre les populations.

Si une population a subi une importante dérive génétique par rapport à la population d'origine, F_{st} sera très important. A l'inverse, s'il y a eu des flux génétique maintenus entre les deux populations, F_{st} sera aux alentours de 0. F_{st} varie ainsi entre 0 et 1 (Jobling *et al.*, 2004).

RESULTATS

ET

DISCUSSION

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) du segment hyper variable 1 (HVS1) a été concluante pour 78.95% (90 sur 114) des individus testés.

26.67% (24 sur 90 individus) présentent des séquences mitochondriales similaires à la séquence de référence révisée de Cambridge (rCRS) et 73.33% (66 sur 90) des individus restants présentent des haplotypes mitochondriaux différents de la rCRS.

I. La description des séquences mitochondriales obtenues

A l'aide du logiciel *ARLEQUIN* (version 3.5.1.2), nous avons pu enregistrer les résultats suivants:

- Le nombre des sites polymorphiques est égal à 164.
- La composition nucléotidique est la suivante:
C: 34.55%
T: 21.66%
A: 34.50%
G: 9.29%
- Les indices de la diversité moléculaire sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11: Les indices de la diversité moléculaire au sein de la population Chaoui.

Indices	Nombres
Transitions	83
Transversions	99
Substitutions	182
Indels	2
Sites de transition	82
Sites de transversion	99
Sites de substitution	163
Sites d'indels	2

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

II. La structure anthropogénétique de la population Chaoui

Les 66 haplotypes ont pu être classés en sous-haplogroupes mitochondriaux présentés dans le tableau 12.

Tableau 12: Distribution des sous-haplogroupes mitochondriaux dans la population Chaoui analysée.

Codes des séquences	Sous-haplogroupes	Codes des séquences	Sous-haplogroupes	Codes des séquences	Sous-haplogroupes
SEQ0002	G2a1d2	SEQ0051	T1a	SEQ0086	T2b
SEQ0003	F1+16189	SEQ0052	J2b1a	SEQ0087	H1+16189
SEQ0005	R0a2c	SEQ0056	U5b1+16189	SEQ0088	J
SEQ0007	R8a1+16093	SEQ0057	B5b	SEQ0089	F1+16189
SEQ0011	JT	SEQ0058	T1a	SEQ0090	H+16362
SEQ0012	V7a	SEQ0061	U6a	SEQ0091	H2b
SEQ0017	U6a	SEQ0063	L3b	SEQ0092	R8a1+16093
SEQ0018	HV1	SEQ0064	J	SEQ0095	JT
SEQ0019	K	SEQ0066	M33b1	SEQ0096	V7a
SEQ0020	T	SEQ0067	U5b1+16189	SEQ0098	L3b
SEQ0021	T2b	SEQ0070	T2c	SEQ0099	H7a1
SEQ0025	J1b	SEQ0071	U5b1+16189	SEQ0100	U6a
SEQ0027	U6a	SEQ0072	V7a	SEQ0101	U5b1c
SEQ0031	T	SEQ0075	L3e1	SEQ0102	U5b1b1+16192
SEQ0033	G2a1d2	SEQ0076	R8a1+16093	SEQ0103	B5b
SEQ0034	M11a2	SEQ0077	R8a1+16093	SEQ0104	T2c
SEQ0035	V7a	SEQ0078	T1a	SEQ0107	L1c3a
SEQ0036	HV1	SEQ0079	T2b+16296	SEQ0110	L3b
SEQ0038	T2e	SEQ0080	T2c	SEQ0112	J
SEQ0039	H1a	SEQ0081	H2b	SEQ0113	U5a2c3
SEQ0049	L0a1'4	SEQ0082	L2b1a	SEQ0114	H1+16189
SEQ0050	H2a2	SEQ0084	V7a	SEQ0115	R0a2c

*** Les composantes génétiques de la population Chaoui**

Les Berbères sont les autochtones du Nord Africain. Les lignées maternelles berbères montrent une grande diversité, ainsi que de fortes disparités régionales.

Plus que la moitié (allant jusqu'à 90% dans certaines régions) des populations Berbères appartiennent à des lignées eurasiennes, telles que H, HV, R0, J, T, U, K, N1, N2, et X2, principalement originaires d'Ibérie (H1 et H3) et pour le reste du Moyen-Orient ou du Proche-Orient. 5 à 45% des Berbères sont de lignées maternelles subsahariennes (L0, L1, L2, L3, L4

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

et L5). Il y a seulement trois lignées indigènes Nord-africaines, U6, X1 et M1, qui représente de 0 à 35% de la population selon la région.

Dans cet échantillon de la population Chaoui, les différents sous-haplogroupes mitochondriaux ont été regroupés en 16 haplogroupes distincts. La composante eurasiatique est la plus dominante (72.72%), suivie par la composante subsaharienne (10.61%), puis par la composante du nouveau monde (9.09%) et en fin par la composante Nord africaine (7.57%) (Tableau 13). La présence d’haplogroupes du nouveau monde (B, F et G) chez les Chaouis, pourrait être associée à la migration depuis ces terres jusqu’au en Algérie, entre autres. Vu que l’Algérie est située sur la côte Méditerranéenne, il n’est pas surprenant que nous observons, dans cette étude, des fréquences d’haplogroupes du nouveau monde.

Tableau 13: Les différents haplogroupes mitochondriaux et leurs fréquences.

Lignées mitochondriales	Haplogroupes mitochondriaux	Nombre d’individus	Pourcentage
Subsaharienne	L	7	10.61%
	M	1	1.51%
Eurasiatique	J	5	7.58%
	T	12	18.18%
	JT	2	3.03%
	U5	6	9.09%
	K	1	1.51%
	V	5	7.58%
	H	8	12.12%
	HV	2	3.03%
	R	6	9.09%
	Nord africaine	U6a	4
M1		1	1.51%
Nouveau monde	B	2	3.03%
	F	2	3.03%
	G	2	3.03%
Total		66	99.99%

Nos résultats concordent avec ceux de (Frigi *et al.*, 2006) qui ont rapporté la prédominance de la composante eurasiatique, dans deux communautés Berbères au Nord Tunisien, suivie par la composante subsaharienne puis par la composante Nord africaine. L’étude a été menée dans la ville de Sejenane et au village de Takrouna où la distribution des

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

haplogroupes était 64% eurasiatique, 32% subsaharien et 4% Nord africain (à la ville) et 97% eurasiatique, 3% subsaharien et 0% Nord africain (au village).

III. La comparaison inter-populationnelle des données génétiques

A l'aide du logiciel *ARLEQUIN* (version 3.5.1.2), une comparaison entre la population étudiée, les Chaouis, et quatre autres populations: les Syriens, les M'zabs, les Marocains Berbères du Sud et les Italiens, nous a permis de noter ces différents résultats:

- La comparaison des indices de la diversité moléculaire inter-populations sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 14: Comparaison des indices de la diversité moléculaire inter-populations.

Indices	Chaouis	Syriens	M'zabs	Marocains Berbères du Sud	Italiens
Transitions	83	65	36	35	69
Transversions	99	7	0	1	4
Substitutions	182	72	36	36	73
Indels	2	0	0	0	0
Sites de transition	82	65	36	35	69
Sites de transversion	99	7	0	1	4
Sites de substitution	163	70	36	35	71
Sites d'indels	2	0	0	0	0

- Le nombre d'haplotypes partagés entre les Chaouis et les quatre autres populations sont notés dans le tableau 15.

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

Tableau 15: Nombre d'haplotypes partagés inter-populations.

Populations	Nombre d'haplotypes partagés
Chaouis / Syriens	11
Chaouis / M'zabs	9
Chaouis / Marocains Berbères du Sud	10
Chaouis / Italiens	3

- La deuxième analyse réalisée visait à situer la diversité génétique de la communauté Berbère Chaoui par comparaison avec des populations du sud de l'Europe (Italie), du Moyen-Orient (Syrie), Marocains Berbères du Sud et du Nord-africain (M'zabs, Algérie).

La comparaison de F_{st} par paires de population est mentionnée dans le tableau 16.

Tableau 16: Valeurs de F_{st} , source générale de variation entre les populations.

	1	2	3	4	5
1	0.00000				
2	0.03675	0.00000			
3	0.00735	0.07554	0.00000		
4	0.01410	0.08861	0.00773	0.00000	
5	0.00825	0.06174	0.01200	0.00451	0.00000

1: Chaouis, **2:** M'zabs, **3:** Marocains Berbères du Sud, **4:** Italiens et **5:** Syriens.

Dans notre étude, nous remarquons que $F_{st_{Chaouis/M'zabs}}$ (0.03675) est le plus élevé, c'est-à-dire que 3.675% de l'ensemble des fréquences alléliques est trouvé entre les deux populations comparées, ce qui signifie que les Chaouis et les M'zabs ont subi une grande différenciation génétique.

Cependant, $F_{st_{Chaouis/Italiens}}$ (0.01410) est moins élevé (1.41% des fréquences alléliques partagées), ce qui signifie que les Chaouis et les Italiens, aussi, ont connu une dérive génétique importante.

Résultats & Discussion

SAOUDI. S, 2015

Par contre, $F_{st}^{\text{Chaouis/Marocains Berbères du Sud}} = 0.00735$ et $F_{st}^{\text{Chaouis/Syriens}} = 0.00825$. Ceci indique que 0.735% et 0.825% des fréquences alléliques sont communes respectivement entre Chaouis et Marocains Berbères du Sud et Chaoui et Syriens. Ainsi, nous pouvons dire qu'il existe des flux génétique maintenus entre les Chaouis et les Marocains Berbères du Sud et les Syriens.

Ainsi, l'analyse des cinq populations composant notre base de données génétiques a révélé que la population Berbère Chaoui est génétiquement proches des populations Marocaines Berbères du Sud et du Moyen-Orient (Syriens), mais moins proche de la population Italienne et des M'zabs, considérés étant un *out-layer* (un isolat).

Ces résultats s'expliqueraient par la structure du patrimoine génétique des Berbères qui est en effet caractérisée par un pourcentage élevé de certains haplogroupes rencontrés communément dans les populations européennes et eurasiatique (Coudray *et al.*, 2009).

La proximité génétique observée entre les Chaouis et les populations du sud de l'Europe révèle que ces populations partageaient un ancêtre commun.

Deux hypothèses sont discutées. L'une daterait ces origines communes du Paléolithique supérieur avec l'expansion d'hommes anatomiquement modernes, depuis le Proche-Orient, et s'étendant le long des deux rives de la Méditerranée.

L'autre hypothèse soutient ces origines proche-orientales, mais les dateraient plutôt du Néolithique, il y a 10 000 ans BP. Quoiqu'il en soit, les polymorphismes communs aux populations Berbères et Sud-européennes ont également pu être introduits ou maintenus par des flux géniques à travers le détroit de Gibraltar. Par exemple, des échanges ont pu avoir lieu au cours de la préhistoire, lors de l'expansion des populations européennes à partir du refuge francocantabrique, il y a 20 000 ans BP. Ou alors ces échanges ont pu se produire au cours de l'histoire, lors de l'invasion et l'occupation pendant près de sept siècles (du VIII^{ème} au XV^{ème} siècle) de la péninsule Ibérique par des troupes Berbères musulmanes, almoravides puis almohades (Coudray *et al.*, 2009).

CONCLUSION

Chapitre II : Etude de la structure anthropogénétique des Chaouis

Conclusion

SAOUDI. S, 2015

Ce travail constitue un premier pas dans la recherche de l'origine génétique maternelle de la population Chaoui.

Il met en évidence la présence d'une origine biologique eurasiatique (L, M, J, T, JT, U5, K, V, H, HV et R) prédominante avec un taux de 72.72%.

D'autres origines ont été déterminées: subsaharienne (L) à 10.61%, du nouveau monde (B, F et G) à 9.09% et du Nord africain (U6a et M1) à 7.57%.

L'haplogroupe T présentait le taux le plus élevé (18.18%) dans la composante eurasiatique.

Après comparaison interpopulationnelle des Fst des Chaouis, des Marocains Berbères du sud, des Syriens, des Italiens et des M'zabs, notre population semble avoir des liens génétiques avec les Syriens et les Marocains Berbères du sud.

CHAPITRE III

*Etude préliminaire de
l'étiologie moléculaire de la
surdité autosomique récessive
non syndromique chez les
Chaouis*

INTRODUCTION

Introduction

SAOUDI. S, 2015

La surdité constitue le déficit sensoriel le plus fréquent. Elle affecte environ 1 enfant sur 1000 et sa prévalence augmente avec l'âge (Vincent, 2003). Actuellement, l'origine génétique est incriminée dans 60 à 80% des cas où 10% des surdités génétiques sont syndromiques, c'est-à-dire associées à d'autres signes et 90% sont isolées (non syndromiques) (Vincent, 2011).

Le mode de transmission autosomique récessif est prédominant (près de 80%), les formes autosomiques dominantes (20%), liées à l'X (1%) et mitochondrial (< 1%) ont également été décrits. Les surdités génétiques sont, dans la grande majorité des cas, des maladies monogéniques et la déficience auditive est le plus souvent due à une atteinte cochléaire (Denoyelle et Marlin, 2005).

Une codification internationale a été établie pour nommer chaque locus de surdité non syndromique. Par convention et à mesure de la découverte des loci, le code commence soit par DFNA (pour deafness, autosomique dominant) soit par DFNB (pour deafness, autosomique récessif), soit par DFNX (pour deafness, liée à l'X). On donne ensuite un numéro par ordre de découverte : DFNB1, DFNA1, etc. (Denoyelle et Marlin, 2005).

Ainsi plus de 67 gènes incriminés dans les surdités non syndromiques ont été identifiés à ce jour en particulier le gène GJB2 localisé en 13q11, qui code pour la Connexine 26; protéine transmembranaire intervenant dans le transport intercellulaire au niveau de l'oreille interne. Ce gène est muté dans environ 10% de toutes les surdités de l'enfant et dans plus de 50 % des surdités récessives non syndromiques. Plus de 100 différentes mutations et de nombreux polymorphismes de GJB2 ont été décrits. La mutation 35delG représente 65% des anomalies de ce gène dans les populations caucasiennes. D'autres mutations fréquentes existent dans d'autres ethnies. Le taux de porteurs hétérozygotes sains dans la population caucasienne est estimé entre 1 et 3%. Ces mutations sont responsables d'une surdité neurosensorielle de transmission autosomique récessive (DFNB1), d'une surdité neurosensorielle beaucoup plus rare de transmission autosomique dominante (DFNA3) et de différentes surdités associées à des signes cutanés: syndrome de Vohwinkel (surdité associée à une hyperkératose palmoplantaire), syndrome de KID, etc. (Denoyelle *et al.*, 1998).

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Introduction

SAOUDI. S, 2015

Dans ce troisième et dernier chapitre, nous nous sommes proposés d'étudier, d'une façon préliminaire, l'étiologie moléculaire de la surdité non syndromique chez la population Chaoui, population n'ayant jamais fait l'objet d'une étude de ce genre, et ce en analysant en premier lieu la variabilité génétique du gène GJB2 chez deux patients de deux familles Chaouis.

GENERALITES

Généralités

SAOUDI. S, 2015

I. Rappels sur la génétique humaine

I.1. Les notions fondamentales de l'hérédité

Dans la génétique humaine, on emploie indifféremment les termes d'hérédité monogénique, d'hérédité monofactorielle ou d'hérédité mendélienne pour caractériser la transmission des maladies génétiques dues à une mutation dans un seul gène. La génétique mendélienne remonte à Gregor Mendel 1866 et ses expériences sur les caractères des pois (Domart et Bourneuf, 1990).

Il est utile de rappeler les lois mendéliennes:

- **La première loi de Mendel** est celle d'**uniformité des caractères à la première génération**.

Pour chacun des croisements de deux variétés ne différant que par un caractère, l'une des deux formes parentales se trouve chez tous les hybrides. Mendel qualifia se trait de dominant et celui qui ne se manifeste pas de récessif.

Convention: Mendel utilisa une lettre majuscule pour désigner le caractère dominant et une lettre minuscule pour le caractère récessif correspondant ;

- **La deuxième loi de Mendel** est appelée: **loi de ségrégation des caractères** ;
- **La troisième loi de Mendel** est appelée: **loi d'association indépendante des caractères**.

Le noyau des cellules somatiques humaines comporte 46 chromosomes (23 paires). Les autosomes sont les 22 paires de chromosomes qui sont identiques dans les deux sexes et les gonosomes ou les chromosomes sexuels sont les chromosomes X et Y. Le gène est l'unité fondamentale de l'information génétique. Le site physique où se situe un gène sur le chromosome est dénommé locus (loci au pluriel). Les allèles sont les différentes formes que peut prendre un même gène, à un locus donné. Les allèles diffèrent entre eux par mutation mais le terme de mutation n'est pas synonyme de pathologie. En effet, une mutation peut n'avoir aucune conséquence sur le phénotype (mutation silencieuse ou polymorphisme).

Quand la mutation du gène entraîne une maladie, on parle alors d'allèle morbide. Un individu qui possède deux allèles identiques à un même locus est dit homozygote, tandis qu'un individu possédant deux allèles différents à un même locus est dit hétérozygote. Le génotype

Généralités

SAOUDI. S, 2015

décrit la constitution génétique de la cellule ou de l'individu. Le phénotype désigne les caractères observés. En génétique humaine, il peut s'agir aussi bien d'un caractère non pathologique (groupes sanguins, groupes tissulaires HLA, ...) que d'une maladie. Une maladie congénitale est présente à la naissance. Elle peut être génétique ou non (la rubéole contractée au cours de la grossesse peut engendrer des anomalies congénitales). A l'inverse, beaucoup de maladies génétiques ne sont pas congénitales et ne s'expriment qu'au cours de la vie. On estime, par exemple, que 10% des maladies monogéniques ne sont découvertes qu'à l'âge adulte (Domart et Bourneuf, 1990 ; Denoyelle et Marlin, 2005).

I.2. Les modes de transmission des maladies génétiques

Il existe trois modes de transmission des maladies génétiques. En plus de l'hérédité mendélienne, il existe l'hérédité mitochondriale et l'hérédité multifactorielle (Domart et Bourneuf, 1990 ; Denoyelle et Marlin, 2005).

I.2.1. L'hérédité mendélienne

Les modes de transmission d'une maladie mendélienne se distinguent par des probabilités de risque très caractéristiques.

On définit pour les maladies mendéliennes quatre modes de transmission, autosomique ou lié à l'X, selon que le gène impliqué est localisé sur un autosome ou le gonosome ; dominant ou récessif, selon que la maladie est dominant ou récessive.

I.2.2. L'hérédité mitochondriale

Les cellules possèdent, outre le génome nucléaire, un deuxième système génétique constitué par les génomes mitochondriaux.

Les mitochondries sont des petits compartiments cellulaires où la consommation d'oxygène permet à la cellule de trouver sa source d'énergie.

Chaque cellule renferme, dans son cytoplasme, plusieurs dizaines ou centaines de mitochondries qui se divisent indépendamment du noyau.

Lors de la fécondation, le spermatozoïde apporte un noyau d'origine paternelle qui fusionner avec le noyau de l'ovule qui est d'origine maternelle, mais le cytoplasme de l'œuf ainsi réalisé est exclusivement d'origine maternelle.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Par conséquent, les maladies mitochondriales sont des maladies à transmission maternelle exclusive (mode de transmission non mendélien).


I.2.3. L'hérédité multifactorielle


Une maladie multifactorielle n'est pas mendélienne parce qu'elle dépend à la fois de plusieurs gènes simultanément et de facteurs de l'environnement. Sa transmission ne présente, donc, pas les probabilités de risque observables dans les maladies mendéliennes.


I.3. L'arbre généalogique

Il est utile de connaître les symboles internationaux utilisés en génétiques. Ils permettent de dresser un arbre généalogique afin de faciliter l'analyse et le diagnostic génétique lors d'une consultation de conseil génétique


* Les symboles utilisés pour la réalisation d'un arbre généalogique


Individu de sexe masculin sain vivant: 

Individu de sexe masculin sain décédé: 

Individu de sexe masculin malade vivant: 

Individu de sexe masculin malade décédé: 

Individu de sexe féminin sain vivant: 

Individu de sexe féminin sain décédé: 


Individu de sexe féminin malade vivant: 


Individu de sexe féminin malade décédé: 

Individu de sexe indéterminé sain vivant: 

Individu de sexe indéterminé sain décédé: 


Individu de sexe indéterminé malade vivant: 


Individu de sexe indéterminé malade décédé: 

Individu adopté de sexe masculin sain vivant: ()

Généralités

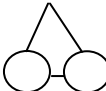
SAOUDI. S, 2015

Union non consanguine: 

Union consanguine: 

Union libre: - - - -

Jumeaux dizygotes malades vivants: 

Jumelles monozygotes saines vivantes: 

Couple sans descendance: 

Fausse couche: ●

Grossesse en cours:

II. L'oreille, l'audition et la surdité

II.1. L'anatomie de l'oreille (Legent *et al.*, 1984).

L'oreille est un organe à la fois de l'audition et de l'équilibration. Il comprend trois parties: l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne (Figure 7).

- L'oreille externe est située sur la surface latérale du crâne. C'est un organe superficiel auquel l'anatomie de surface et le langage courant réservent le nom d'oreille.
- L'oreille moyenne et l'oreille interne sont profondément enfouies dans l'épaisseur de l'os temporal de la boîte crânienne.

L'anatomie de l'oreille ne peut être envisagée sans une description du contenant osseux à l'intérieur duquel elle est développée: l'os temporal.

II.1.1. L'os temporal

L'os temporal est une pièce importante du squelette crânien, il participe à la constitution de la voûte crânienne et à la base du crâne.

Il est constitué de la réunion de trois pièces osseuses: la partie pétreuse ou rocher, la partie squameuse ou écaille et la partie tympanique de l'os temporal anciennement dénommé tympanal (Legent *et al.*, 1984 ; Thomassin *et al.*, 2008).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

II.1.2. L'oreille externe

L'oreille externe est constituée du pavillon et du méat auditif externe (Legent *et al.*, 1984 ; Thomassin *et al.*, 2008 ; Delas et Dehesdin, 2008).

a. Le pavillon

Le pavillon de l'oreille ou auricula (pinna) est un organe pair, situé en arrière de l'articulation temporomandibulaire et de la région parotidienne, en avant de la mastoïde, au dessous de la région temporale.

On lui décrit une face latérale, un bord libre et une face médiale. Il est uni au crâne par la partie moyenne de son tiers antérieur. Les deux tiers postérieurs forment la zone mobile du pavillon.

Il est constitué d'une lame cartilagineuse, formée de reliefs et de creux drapés d'un tissu cutané ainsi que de ligaments suspenseurs et de muscles.

b. Le méat auditif externe ou meatus acusticus externus

C'est un cylindre légèrement aplati d'avant en arrière et rétréci à sa partie moyenne. Grossièrement orienté en dedans et en avant se terminant au contact du tympan avec lequel il se continue par le tissu cutané.

Il est relativement souple dans son tiers externe où il a une structure fibro-cartilagineuse.

Il est au contraire rigide dans ses deux tiers internes où ses parois sont entièrement osseuses.

L'oreille externe est irriguée par les branches de la carotide externe. Le drainage veineux peut se faire vers la veine jugulaire externe et la veine temporale superficielle mais également vers la veine émissaire mastoïdienne et le plexus ptérygoïdien.

Le drainage lymphatique se fait vers les ganglions prétragiques et intra-parotidiens pour les territoires antérieurs et les ganglions de la chaîne spinale et jugulo-carotidienne supérieure pour les territoires inférieurs et postérieurs.

II.1.3. L'oreille moyenne (Legent *et al.*, 1984 ; Thomassin *et al.*, 2008).

L'oreille moyenne comprend trois parties: les annexes mastoïdiennes (annexae mastoïdeae), développées vers l'arrière ; la caisse de tympan (cavum tympani), au milieu, qui

Généralités

SAOUDI. S, 2015

contient les osselets et la trompe auditive (tuba auditiva), qui rejoint vers l'avant le rhinopharynx externe.

A. La caisse du tympan (cavum tympani)

La caisse du tympan se présente comme une cavité parallélépipédique irrégulière à six faces. Cinq de ses faces sont osseuses et la sixième (paroi latérale) est en grande partie membraneuse, représentée par le tympan.

La caisse du tympan contient les osselets et leurs annexes (articulations, ligaments et muscles) et est tapissée par une muqueuse de type respiratoire.

Deux parois sont importantes dans la physiologie auditive: la paroi médiale ou paroi labyrinthique et la paroi latérale ou paroi membraneuse.

B. Les osselets (ossicula auditus)

Les trois osselets de la caisse du tympan sont disposés entre la membrane tympanique et la fenêtre vestibulaire.

De la superficie vers la profondeur, on trouve le marteau, l'enclume et l'étrier.

a. Le marteau (malleus), est l'osselet le plus superficiel. Il possède un manche enchâssé dans l'épaisseur du tympan et une tête s'articulant avec l'enclume (articulation incudo-malléaire) par emboîtement réciproque (diarthrose).

b. L'enclume, décrit une courte apophyse en rapport avec la fossa incudis et une longue apophyse qui s'articule avec la tête de l'étrier (articulation incudo-stapédienne) par une énarthrose.

c. L'étrier, est l'osselet le plus interne, en rapport avec le labyrinthe par la platine de l'étrier ou apophyse lenticulaire constituant une véritable syndesmose tympanostapédienne (syndesmosia tympanostapedia).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

II.1.4. L'oreille interne (Legent *et al.*, 1984 ; Thomassin *et al.*, 2008 ; Sauvage *et al.*, 1999).

L'oreille interne, ou labyrinthe, est située au sein de la pyramide pétreuse de l'os temporal. Elle comporte un ensemble de cavités osseuses, ou labyrinthe osseux protégeant en son sein des structures tubulaires formant le labyrinthe membraneux.

Au sein de ce dernier se trouve l'organe sensoriel cochléaire destiné à l'audition et les capteurs sensitifs vestibulaires spécialisés dans l'équilibre.

A. Le labyrinthe osseux

Il dérive de la couche périostique interne de la capsule optique. Il est formé par le vestibule, les canaux semi-circulaires et la cochlée.

Deux canaux issus du labyrinthe osseux rejoignent les enveloppes cérébrales: les espaces sous-arachnoïdiens pour l'aqueduc du limaçon et la dure-mère pour l'aqueduc du vestibule.

a. Le vestibule ou vestibulum

C'est la partie centrale du labyrinthe osseux, cavité grossièrement quadrangulaire ou ovoïde à axe sensiblement perpendiculaire au rocher. Sa paroi latérale est occupée par la fenêtre ovale. La paroi inférieure forme le début de la lame spirale de la cochlée. La paroi supérieure est occupée par l'orifice ampullaire du canal semi-circulaire (CSC) supérieur en avant, séparé de l'orifice du CSC latéral par la crête ampullaire supérieure.

La paroi antérieure est occupée par la lampe vestibulaire du limaçon. La paroi postérieure présente l'orifice commun des CSC supérieur et postérieur en haut et l'orifice du CSC postérieur en bas.

La paroi médiale répond à la moitié postérieure du conduit auditif interne.

b. La cochlée ou le limaçon (cochlea)

La cochlée osseuse ou limaçon est un tube osseux ou tube limacéen, long de 30 mm et de 1 à 2 mm de diamètre.

Il comprend deux tours et demi de spires et est enroulé autour d'un axe appelé columelle ou modiolus. Ce dernier est un cône couché dont l'axe presque horizontal est oblique en avant et latéralement. Son sommet est en rapport avec le protympanum et sa base excavée constitue la fossette cochléaire occupant la partie antéro-inférieure du fond du conduit auditif interne.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

c. Les canaux semi-circulaires

Ce sont trois tubes cylindriques incurvés en fer à cheval, situé chacun dans un plan de l'espace (canal semi-circulaire supérieur, postérieur et latéral) et s'ouvrant dans le vestibule par deux orifices: l'un renflé ou orifice ampullaire, siège des cellules sensorielles et l'autre non ampullaire.

d. L'aqueduc du vestibule

C'est un canal qui s'étend du vestibule (où il naît du fond de la fossette sulciforme) à la face postérieure du rocher.

Il s'ouvre à la face postérieure de la pyramide pétreuse au niveau de la fossette unguéale. Il contient le sac endolymphatique.

e. L'aqueduc du limaçon

Son orifice est situé sur la paroi médiale de la portion non enroulée du limaçon à 1mm en avant de la fenêtre cochléaire.

Son canal se dirige en arrière, en dedans et en bas et se termine à la face inférieure de la pyramide pétreuse par un orifice situé entre la fosse jugulaire en arrière et le canal carotidien en avant. Il est annexé au système périlymphatique, le faisant communiquer avec l'espace sous-arachnoïdien.

B. Le labyrinthe membraneux

Il est situé dans le labyrinthe osseux dont il épouse sensiblement les contours, il comporte:

- **Le labyrinthe antérieur**, destiné à l'audition, comprenant le canal cochléaire ;
- **Le labyrinthe postérieur**, destiné à l'équilibration, comprenant l'utricule, le saccule, les canaux semi-circulaires et le système endolymphatique ;
- **Le labyrinthe membraneux**, contient l'endolymphe. Entre le labyrinthe membraneux et le labyrinthe osseux, se situe un deuxième compartiment liquidien: la périlymphe.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

C. Le canal cochléaire

C'est un tube long de 30 mm qui comporte deux segments:

- **Le premier, (lagaena)** est court et se termine en arrière par un cul-de-sac (coecum cochléaire) logé au niveau de la fossette cochléaire.

Sa face intérieure isole le vestibule de la cavité sous-vestibulaire en fermant la fente vestibulotympanique. De sa face supérieure naît le ductus reuniens de Hensen qui fait communiquer le canal cochléaire avec le saccule.

- **Le deuxième** segment continue le précédent en avant. Il est long et s'enroule dans le limaçon osseux en comblant l'espace compris entre le bord libre de la lame spirale et la partie correspondante de la lame des contours.

En coupe, il est prismatique et comporte trois faces: supérieure, externe et inférieure.

D. L'organe de Corti

C'est l'élément sensoriel où sont situés les récepteurs de l'audition. Il repose sur la membrane basilaire entre deux sillons: le sillon spiral interne et le sillon spiral externe.

Il comporte plusieurs systèmes de cellules et de structures.

a. Les cellules sensorielles

Ce sont les cellules ciliées, disposées en deux groupes, de part et d'autre des piliers.

- **Les cellules ciliées internes (CCI)**, au nombre de 3500, par cochlée et disposées en une seule rangée (Legent *et al.*, 1984) ;
- **Les cellules ciliées externes (CCE)**, au nombre de 20 000, forment trois rangées. L'extrémité inférieure de ces cellules est arrondie et repose sur les cupules créées par les cellules de soutien. Leur extrémité supérieure est contenue dans la membrane réticulaire. Elles sont disposées en "W" ouvert vers le modiolus (Legent *et al.*, 1984).

b. Les cellules de soutien

Elles supportent les cellules sensorielles.

Ce sont:

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- **Les cellules de Deiters**, reposent sur la membrane basilaire. Leur pôle supérieur reçoit et ancre solidement la base des cellules ciliées externes. Elles sont fusiformes délimitant entre elles les espaces de Nuel. Leur apex émet un prolongement (phalange) dont l'extrémité supérieure s'élargit en plateau et comble les espaces séparant les cellules ciliées ;
- **Les cellules de soutiens**, analogues aux cellules de Deiters, entourent complètement les cellules ciliées internes ;
- **Les cellules de Hensen**, placées en dehors des cellules de Deiters et tapissent la lèvre interne du sillon spiral externe ;
- **Les piliers**, forment deux rangées de cellules qui s'écartent à leur base et se rejoignent à leur sommet en délimitant le tunnel de Corti contenant la cortilymphe.

Les autres cellules de l'organe de Corti sont:

- **Les cellules de Claudius**, transition entre les cellules de Hensen et les cellules du sillon spiral externe ;
- **Les cellules cubiques**, des sillons spiralés externe et interne.

En plus des cellules, il existe des membranes qui sont au nombre de deux:

- **La membrane réticulaire**, formée de fibrilles de collagène et réuni les pôles apicaux des cellules de Deiters et les cellules ciliées externes ;
- **La membrane tectoriale (membrana tectoria)**, acellulaire, elle est constituée par une couche superficielle fibreuse et une couche profonde gélatineuse. Elle recouvre par son segment moyen l'organe de Corti. Elle est amarrée par son segment médial au sillon spiral interne et par son segment latéral (filet marginal) aux cellules de Deiters et aux cellules de Hensen.

c. Les fibres nerveuses

Elles gagnent ou quittent l'organe de Corti par l'habenula perforata au travers de la membrane basilaire.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

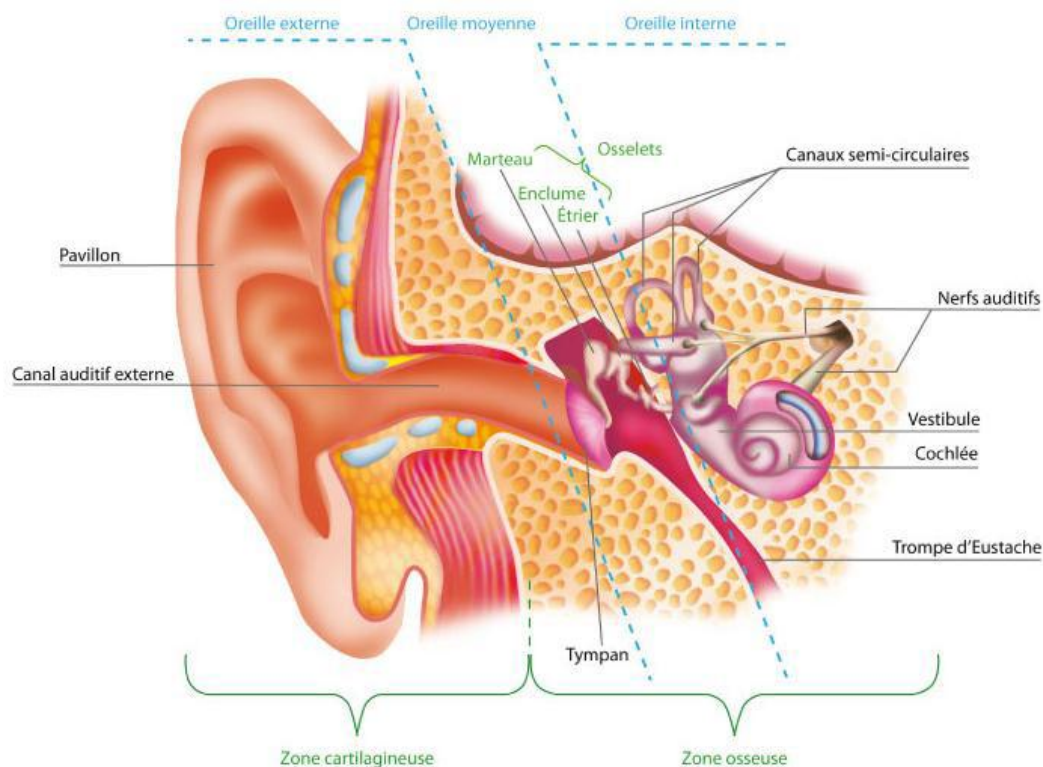


Figure 7 : Schéma de l'oreille humaine (Denoyelle *et al.*, 1998).

II.2. La physiologie de l'audition

II.2.1. La physiologie de l'oreille externe (Gelfand, 1998 ; Nouvian *et al.*, 2006)

L'oreille externe possède quatre pôles principaux. Elle permet la localisation du son, grâce au pavillon le conduisant directement vers le tympan par le méat auditif externe.

Elle assure une amplification globale de 15 à 20 dB dans la gamme des fréquences de 1.5 à 7 KHz. La transmission se fait par conduction aérienne.

Elle protège le tympan des agressions mécaniques et elle modifie également la phase et l'amplitude du signal sonore incident en fonction de l'angle d'incidence et la fréquence du signal sonore.

Chaque élément anatomique participe à ce rôle ; ainsi le pavillon permet une amplification avec un gain inférieur à 10 Décibels pour les fréquences comprise entre 5 et 6

Généralités

SAOUDI. S, 2015

KHz. Le méat acoustique externe et la membrane tympanique affectent les fréquences voisines de 2 à 5 KHz.

Ainsi, elle se comporte comme une antenne acoustique au sein de laquelle le pavillon, associé au volume crânien, sert à la diffraction des ondes ; sa conque avec le conduit auditif externe (CAE), jouent le rôle d'un résonateur, ce qui se traduit par l'amplification de l'onde sonore.

II.2.2. La physiologie de l'oreille moyenne (Gelfand, 1998 ; Decreamer *et al.*, 1989)

Elle possède quatre rôles principaux:

a. La transmission des ondes sonores

Son rôle est de convertir une onde sonore qui atteint le tympan en une variation de pression au niveau de l'oreille interne.

L'onde sonore fait ainsi vibrer le tympan (Tonnodorf et Khanna, 1972 ; Decreamer *et al.*, 1989) qui mobilise à son tour la chaîne ossiculaire par l'intermédiaire du manche du marteau. La platine de l'étrier par ses mouvements de piston, fait vibrer la fenêtre vestibulaire créant des déplacements du liquide dans la rampe vestibulaire (Decreamer et Khanna, 1994).

b. L'adaptation d'impédance

L'impédance d'un milieu est une dimension caractérisée par sa résistance, capacité à ne pas trop se déformer et son élasticité, c'est-à-dire, sa capacité à se remettre en état initial après une déformation. La transformation d'impédance au niveau de l'oreille moyenne n'est pas homogène sur toutes les fréquences, elle présente un pic de transmission autour des fréquences conversationnelles (Nedzelnitsky, 1980).

Le passage du milieu aérien au milieu liquidien de l'oreille interne devrait entraîner une perte de 30 dB. En effet, sans l'oreille moyenne, seul 1% de l'énergie acoustique serait transmise aux liquides de l'oreille interne. Les trois facteurs permettant ce mécanisme sont essentiellement:

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- Le système de bras de levier des osselets (marteau-enclume), qui amplifie les forces d'un facteur de 1.15 à 2.5. Le manche du marteau en projection apparaît plus long que la branche descendante de l'enclume ;
- La surface de vibration du tympan (55 mm^2), est 20 à 30 fois plus grande que celle de la platine de l'étrier. Cela entraîne une amplification des pressions au niveau de la fenêtre ovale ;
- Un troisième facteur plus négligeable résulte dans la membrane tympanique elle-même (Huber, 2001).

c. La protection de l'oreille interne

Une stimulation sonore de forte intensité déclenche une contraction réflexe bilatérale de l'ensemble des muscles de l'oreille moyenne.

Cependant, seul le muscle de l'étrier se contracte véritablement, le muscle du marteau ne se contractant que de manière très exceptionnelle. On parle alors de réflexe stapédien. Dans des conditions physiologiques, l'étrier effectue un mouvement de piston et de rotation autour d'un axe vertical. La contraction musculaire et la souplesse de l'articulation étrier-enclume permettent un changement de l'axe à l'horizontal pour des sons dépassant les 120 dB. Cela engendre alors un moindre mouvement des liquides labyrinthiques contribuant à la protection contre les sons forts. Cependant, le seuil du réflexe est plus bas d'environ 10 dB en stimulation ipsilatérale. Son seuil est d'environ 80 à 85 dB (Toth Liampé Idioszeghy Prépassy, 2000).

II.2.3. La physiologie de l'oreille interne et du nerf auditif

A. Le nerf cochléaire

C'est le nerf de l'audition, il naît de l'organe de Corti à l'intérieur de la cochlée membraneuse. En fait, l'organe de Corti reçoit une double innervation, à la fois afférente et efférente. L'innervation afférente provient des neurones de type I et II du ganglion spiral, dont les axones se projettent vers les noyaux cochléaires du tronc cérébral. L'innervation efférente provient de neurones appartenant à deux systèmes distincts dont les corps cellulaires se situent dans les noyaux du tronc cérébral. Le prolongement axonal de l'ensemble de ces neurones constitue le nerf cochléaire (Gelfand, 1998).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

a. L'innervation afférente

Les fibres nerveuses suivent d'abord les canaux de la lampe spirale pour rejoindre leurs corps cellulaires situés dans le canal spiral. L'ensemble des corps cellulaires forme le ganglion spiral de Corti. La grande majorité des fibres du nerf cochléaire sont des fibres de type I connectées aux CCI. Elles représentent 95% de la population neuronale du ganglion spiral [64]. Ce sont des neurones de grosse taille myélinisés, y compris autour du soma. Ils se connectent par un seul bouton dendritique à une seule CCI (Kiang *et al*, 1982).

Plusieurs neurones de type I vont contacter une même CCI (en moyenne, une dizaine par CCI). Ainsi, chez l'homme, il existe environ 30 000 neurones de type I pour 3 500 CCI. Le neurotransmetteur utilisé par les CCI est le glutamate. Une minorité des fibres représentant à peine 5% de la population neuronale sont de type II et sont connectées aux CCE. Les neurones de type II sont plus petits que les neurones de type I et ne sont pas myélinisés. Le prolongement périphérique de ces neurones est ramifié. Chaque neurone de type II va ainsi établir des synapses avec une dizaine de CCE différentes appartenant généralement à la même rangée (Ottersen et Takumi, 1998).

b. L'innervation efférente

L'origine de cette innervation efférente semble être le complexe olivaire bulbaire supérieur (SOC). Les fibres qui innervent les cellules ciliées proviennent des deux côtés du cerveau mais sont originaires de différents endroits. Le SOC reçoit les informations de l'aire corticale auditive. Le tractus fibreux contenant les fibres efférentes est connu sous le nom de bandelettes cochléo-olivaire (OCB). Les voies du même côté du cerveau sont appelées les OCB directes et les voies du côté opposé du cerveau s'appellent les OCB croisées. Les fibres efférentes se distribuent essentiellement aux CCE par une synapse en forme calicielle. Une petite quantité est connectée aux CCI. Le système efférent médian innerve directement les CCE, tandis que le système efférent latéral innerve les dendrites des fibres de type I du nerf auditif. L'innervation efférente des dendrites des neurones de types I est assurée par le système olivocochléaire efférent latéral. Les fibres du système efférent latéral contactent directement les dendrites des neurones du type I du nerf auditif, juste sous le bouton synaptique formé avec la CCI. Le système efférent latéral utilise plusieurs neurotransmetteurs

Généralités

SAOUDI. S, 2015

dont l'acétylcholine, l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), la dopamine et des neuromodérateurs tels que la calcitonine generated peptide (CGRP), les enképhalines et les dynorphines (Dallos, 1992 ; Puel, 1995).

L'innervation efférente des CCE est assurée par le système olivocochléaire efférent médian, appelé ainsi du fait de la présence des corps cellulaires des neurones dans le noyau dorsomédian du corps trapézoïde, sur le pourtour du complexe olivaire supérieur médian. Le contact entre les CCE et les neurones du système efférent médian s'effectue par l'intermédiaire de grosses terminaisons axoniques. Le neurotransmetteur utilisé par le système efférent médian est l'acétylcholine (Hoffman, 1988).

L'acétylcholine, libérée par le système efférent médian, active des récepteurs nicotiques $\alpha 9$ et $\alpha 10$, ce qui entraîne une entrée de calcium. Cette entrée de calcium active à son tour des canaux potassiques sensibles au calcium (Zorrilla de San Martinet, 2010). Les canaux potassiques activés entraînent une sortie de potassium et par conséquent entraînent l'hyperpolarisation des CCE. En contrôlant le potentiel de membrane des CCE, le système efférent médian module donc l'activité de ces cellules, dont le rôle majeur est d'amplifier l'intensité des ondes sonores.

La réduction du gain de l'amplificateur cochléaire permet au système efférent médian d'assurer une protection contre les fortes intensités de stimulation. Le canal cochléaire qui contient l'endolymphe est séparé de l'os par l'espace périlymphatique rempli de périlymphe. Le rôle physiologique des liquides est double:

- Transmettre le signal mécanique à partir de la fenêtre vestibulaire ;
- Concourir à la transduction mécano-électrique par la mise en jeu de phénomènes moléculaires entre liquides et cellules ciliées (Zorrilla de San Martinet, 2010).

B. La composition des liquides labyrinthiques (Nouvian *et al.*, 2006 ; Dallos, 1992 ; Robinette et Glatke, 2007 ; Tamer, 2008 ; Ferrary *et al.*, 2007).

La composition des liquides labyrinthiques est différente. La composition de l'endolymphe est de type intracellulaire. La composition en K^+ y est élevée (environ 150 mmol/l), sauf dans le sac endolymphatique où elle est de 8 mmol/l.

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

La concentration en Na^+ est faible (environ 1 mmol/l), sauf dans le sac où elle est de 150 mmol/l.

La concentration en Cl^- est d'environ 110mmol/l et celle des protéines est inférieure à 0.3 g/l.

Le potentiel de repos de l'endolymphe est positif et varie selon les cavités: 80 à 110 mV dans le canal cochléaire et 10mv dans l'appareil vestibulaire.

L'osmolarité est supérieure à celle de la périlymphe et du plasma. Il faut également noter qu'il existe un gradient électrochimique à l'intérieur du canal cochléaire selon lequel les concentrations de K^+ et de Cl^- ainsi que le potentiel de repos l'osmolarité diminuent de la base vers l'apex de la cochlée.

La sécrétion de l'endolymphe est assurée par la strie vasculaire, pour la cochlée. Le liquide précurseur est la périlymphe. Les électrolytes sont transportés de la périlymphe vers l'endolymphe par des mécanismes actifs. La réabsorption de l'endolymphe se fait soit par certaines zones spécialisées de la strie vasculaire ou de l'épithélium vestibulaire, soit par le sac endolymphatique.

*** La périlymphe**, est un liquide de type extracellulaire qui sépare les deux labyrinthes.

La concentration de Na^+ y est d'environ 150 mmol/l, celle de K^+ de 5 mmol/l, celle de Cl^- de 110 mmol/l et celle des protéines de 1 à 2 g/l. Cette composition diffère entre les rampes vestibulaires et tympaniques.

Les concentrations de K^+ , des protéines et du glucose sont plus élevées dans la périlymphe vestibulaire.

C. La tonotopie cochléaire (Decreamer *et al.*, 1989 ; Dallos, 1992 ; Robinette et Glatcke, 2007)

a. La tonotopie passive

La vibration engendrée par l'onde de pression atteint son amplitude maximale en un point précis, d'autant plus proche de l'apex que la fréquence de stimulation est grave.

Ce phénomène passif, connu depuis 1962 (Georg Von Bekesy), définit la tonotopie cochléaire passive. Il est du aux propriétés structurales et mécaniques de la membrane basilaire et permet l'analyse fréquentielle des sons parvenant à la cochlée.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

b. La tonotopie active

La tonotopie passive ne suffit pas à expliquer l'extrême sensibilité et sélectivité fréquentielle de la cochlée. Il existe en effet des mécanismes actifs endocochléaires dus à la contraction des CCE. La protéine prestine, située sur la membrane de la CCE, joue un rôle central. En effet, il a été démontré que la non-expression du gène prestine chez une souris (prestin *-/-*) a entraîné une baisse d'audition de 50 dB avec absence des otoémissions acoustiques, témoins de l'activité des CCE (Liberian *et al.*, 2002).

La prestine permettrait, par la fixation de l'ion Cl⁻, un changement de la surface membranaire (Oliver *et al.*, 2001).

Lors de faibles stimulations, les CCE se contractent en phase avec les déplacements de la membrane. Il existe ainsi une augmentation des déplacements de la membrane tectoriale entraînant l'excitation des CCI (Zheng *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'inhibition latérale associée à l'électromotilité des CCE participe à la sélectivité en fréquences en entraînant une hyperpolarisation de la CCE voisine et par conséquent son allongement. En plus, le nombre de synapses avec les CCI varie en fonction de leur position sur la membrane basilaire. En effet, on trouve davantage de contacts synaptiques entre les CCI et les neurones ganglionnaires de type I dans la région la plus sensible en fréquences (Zhao et Santos-Sacchi, 1999).

D. La transduction (Gelfand, 1998 ; Nouvian *et al.*, 2006 ; Dallos, 1992 ; Robinette et Glatke, 2007)

La transduction des informations mécaniques en signaux électrochimiques est assurée par les cellules sensorielles (les CCE et les CCI). Ces dernières sont coiffées à leur pôle apical de trois rangées de stéréocils.

Lors de la réception d'un son, la vibration de la fenêtre vestibulaire entraîne la propagation d'une onde de pression le long de la rampe vestibulaire. Les liquides étant indéformables, la surpression engendrée est compensée par la déformation de la fenêtre cochléaire.

La transduction correspond aux phénomènes électrochimiques permettant le codage de l'information mécanique en signal électrique. On distingue cinq étapes successives:

Généralités

SAOUDI. S, 2015

a. La propagation de l'onde mécanique dans les liquides cochléaires

La vibration de la fenêtre vestibulaire entraîne la propagation d'une onde de pression à travers la périlymphe entraînant une ondulation de la membrane basilaire. Cette onde se propage le long de la membrane basilaire avec un maximum d'amplitude situé d'autant plus près de la base que la fréquence est aigüe (tonotopie passive).

b. La stimulation des cellules ciliées externes

Le mouvement de cisaillement de la membrane tectoriale provoque la déflexion des stéréocils des CCE, implantés dans la membrane tectoriale. Ce phénomène entraîne la déflexion de l'ensemble des stéréocils grâce aux tip-links et aux liens transversaux. Le mouvement des stéréocils permet l'ouverture des canaux cationiques non spécifiques, situés à chaque extrémité des stéréocils. Ces canaux laissent alors entrer le potassium de l'endolymphe dans les CCE. C'est une transduction mécano-électrique (Sidi *et al.*, 2003).

c. La mise en jeu des mécanismes actifs

Les CCE, dépolarisées par l'entrée passive de potassium, se contractent. Cette contraction modifie le couplage entre la membrane basilaire et la membrane tectoriale et amplifie localement les vibrations de la membrane basilaire grâce aux mécanismes actifs (tonotopie active). C'est une transduction électromécanique. Il existe donc une double transduction mécano-électrique puis électromécanique (Emilyan *et al.*, 2008).

d. La stimulation des cellules ciliées internes

La CCI est stimulée lors de la déflexion de ses stéréocils. Leurs mouvements sont favorisés par le contact direct des plus grands stéréocils avec la bande de Hensen de la membrane tectoriale. Cette déflexion provoque l'ouverture passive des canaux mécano-sensibles entraînant l'entrée de potassium et donc une dépolarisation de la CCI (Dallos, 1992).

e. La libération du neurotransmetteur

La dépolarisation de la CCI provoque une entrée de calcium entraînant la fusion des vésicules synaptiques à la membrane plasmique (Brandt, 2003).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Il existe deux catégories de vésicules (Moser et Beutner, 2000) :

- Celles situées à côté des canaux calciques sont appelées RRP (Readily Releasable Pool). Ce sont des vésicules à libération rapide ;
- Les autres, à distance des canaux calciques, sont appelées SRP (Slowly Releasable Pool) ou vésicules à libération lente.

Il y a ensuite libération du neurotransmetteur (glutamate) dans la fente synaptique. Ce dernier se fixe sur les récepteurs AMP A des terminaisons nerveuses des fibres de type I du nerf cochléaire (Ruel *et al.*, 1999).

Il existe deux types de récepteurs:

- Les récepteurs ionotropiques, responsables de la réponse neuronale rapide spécifique selon le degré de libération du glutamate ;
- Les récepteurs métabotropiques, couplés à des protéines G, responsables de réactions lentes après stimulation par le glutamate. Ils ont un rôle dans la plasticité synaptique et permettent une régulation des seuils d'excitabilité neuronale (Dallos, 1992).

E. L'intégration de l'information par les centres auditifs

L'information est codée sous forme d'une série de potentiel d'action qui se propage le long des fibres afférentes de type I. Ces fibres forment le nerf cochléaire qui relie la cochlée aux noyaux du tronc cérébral. Puis, à travers plusieurs relais, les informations sont transmises au cortex auditif (Gelfand, 1998).

II.3 La surdité

II.3.1. La définition de la surdité

La surdité est un état pathologique caractérisé par une perte partielle ou totale uni ou bilatérale du sens de l'ouïe. Deux grandes variétés de surdité doivent être distinguées:

- Les surdités de transmission qui sont dues soit à une pathologie de l'oreille externe, de l'oreille moyenne ou des deux ;

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- Les surdités de perception (ou de réception ou neurosensorielle) qui sont liées aux atteintes de l'oreille interne ou à celles des voies nerveuses.
- les surdités mixtes correspondant à l'association des surdités de perception et de transmission où l'une peut prédominer sur l'autre.

Il existe des surdités mixtes correspondant à l'association des surdités de perception et des surdités de transmission où l'une peut prédominer sur l'autre.

Les surdités de perception peuvent encore être classées en:

- Cochléaire ou endocochléaire lorsque l'affection siège au niveau du limaçon ;
- Rétrocochléaire lorsque la lésion est située sur le premier neurone ;
- Centrale lorsque le deuxième et les troisièmes neurones sont en cause (Cohen-Salmon *et al.*, 1997).

II.3.2. L'étiopathogénie

La surdité néonatale est définie, par le *Joint Committee on Infant Hearing (JCIH)*, comme étant un état pathologique caractérisé par une baisse partielle ou totale de l'audition. Elle peut être uni ou bilatérale. C'est la conséquence d'une atteinte permanente de la conduction osseuse ou une atteinte de la perception du son, d'origine cochléaire ou rétrocochléaire. Cette surdité néonatale, inclut également les neuropathies auditives par atteintes neurologiques et les infections néonatales précoces du système auditif (Sininger et Starr, 2001 ; JCIH, 2007).

La surdité néonatale est une surdité prélinguale. Son diagnostic tardif entraîne un trouble de l'acquisition du langage ou de son développement et il s'en suit des répercussions néfastes sur la scolarité et sur l'insertion sociale (Gracey, 2003 ; Kenna, 2003 ; JCIH, 2007).

a. L'épidémiologie

L'OMS estime que globalement, le nombre de personnes ayant une surdité, définie comme une perte de plus de 40 dB, a plus que doublé. Il est passé de 120 millions de personnes en 1995 à 278 millions de personnes en 2005. Il s'agit donc du déficit neurosensoriel le plus répandu dans le monde (Resnikoff *et al.*, 2002).

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

1 à 6‰ enfants nés vivants ont une perte auditive permanente à la naissance ou pendant la période néonatale dont 90% dans des pays en voie de développement (Olusanya *et al.*, 2008).

* **Les facteurs de risques** (JCIH, 2007 ; Harrison et Roush, 1996 ; JCIH, 2000 ; Meyer, 1999 ; Abdulbari, 2005 ; Cruz, 2008 ; Bielecki, 2011)

Les facteurs de risque sont :

- Histoire familiale de surdité néonatale ;
- Infection in utero TORCH (toxoplasmose, oreillons, rubéole, syphilis, cytomégalovirus et herpes);
- Malformation crâniofaciale;
- Faible poids de naissance (> 1500g) ;
- Exsanguino-transfusion pour hyper bilirubinémie ;
- Médication ototoxique ;
- Ventilation assistée pendant plus de 5 jours en unité de soins intensifs ;
- Un syndrome connu pour associer une surdité ;
- Consommation excessive d'alcool et de stupéfiant pendant la grossesse ;
- Infections néonatales incluant les méningites bactériennes ou virales ;
- Traumatismes obstétricaux incluant surtout les traumatismes crâniens ou auriculaires.

b. La pathogénie

La surdité néonatale peut être due à une anomalie anatomique et/ou biochimique entravant la transmission du son, la transduction mécano-électrique ou la transmission de l'influx nerveux.

Elle peut être d'origine génétique dans 60% des cas ou d'origine environnementale dans 40% des cas (Morton et Nance, 2006 ; Petit, 1996).

Les causes environnementales peuvent être des infections prénatales (cytomégalovirus, herpèsvirus, rubéole, toxoplasmose, etc.) des infections post-natales (méningites bactériennes ou virales), souffrance fœtale, hyper bilirubinémie ou médicaments ototoxiques.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

80% des causes génétiques sont transmises sur un mode autosomique récessif, 15% sont transmise autosomique dominant et 5% sont liées au chromosome X ou à une hérédité mitochondriale (Duncan, 2007).

II.3.3. Le dépistage et le diagnostic

La surdité est l'anomalie la plus fréquente à la naissance (Finitzo et Crumley, 1999 ; White, 2010). C'est une pathologie muette, caractérisée par sa latence clinique, ce qui entraîne un retard au diagnostic.

La moyenne d'âge du diagnostic de la surdité de l'enfant est de 30 mois si aucun moyen ou programme de dépistage n'est mis en place (Harrison et Roush, 1996). Bien que les surdités sévères et profondes puissent être diagnostiquées avant 30 mois, les surdités légères et modérées sont souvent diagnostiquées à l'âge scolaire (Elssmann *et al.*, 1987).

A. Le dépistage de la surdité néonatale

a. Les moyens du dépistage de la surdité néonatale

1. L'interrogatoire et l'examen clinique

Ils recherchent surtout les facteurs de risque de la surdité néonatale (JCIH, 2007 ; JCIH, 2000 ; Meyer, 1999 ; Maisoun et Zakzouk, 2003 ; Abdulbari, 2005 ; Cruz, 2008 ; Bielecki, 2011).

- L'interrogatoire, de la mère et l'analyse du carnet de santé du nouveau-né permettent de rapporter le suivi de la grossesse, les conditions de l'accouchement et les paramètres de la naissance (type d'accouchement, poids, Apgar à 1 minute et à 5 minutes et la présence d'une pathologie particulière) ;
- L'examen clinique du nouveau-né, en plus les malformations de l'oreille externe, s'attachent à réaliser un examen clinique général à la recherche d'une pathologie qui peut s'associer à la surdité pour constituer un syndrome.

Il est admis que le dépistage par la recherche des facteurs à risque ne peut détecter que 50% des surdités (JCIH, 2007 ; Harrison et Roush, 1996).

Une version de l'audiométrie comportementale a été appliquée pour le dépistage de la surdité. Dans les pays francophones (France et Belgique) et ce depuis 1969, le test de Veit et

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Bizaguet (Veit et Bizaguet, 1968) est fondé sur l'observation de réponses comportementales à la présence de stimuli sonores.

En Grande-Bretagne, Bennett (1979) décrit l'ARC (Auditory Response Cradle). En 1980, Mc Farland et ses collaborateurs décrivent le Crib-O-Gram aux U.S.A. En 1992, Tucker et Bhattacharya décrivent le PARC en Grande-Bretagne (Portable Auditory Response Cradle), une version plus récente de l'ARC.

L'ARC ou le PARC, comprennent un processus d'analyse des mouvements de l'enfant en réponse à la perception d'un stimulus acoustique. Le temps de déroulement du test est d'environ 12 à 20 minutes.

Le Crib-O-Gram (COG), utilise également un transducteur d'analyse des mouvements de l'enfant à un stimulus acoustique présenté 20 fois sur une période de 7 à 24 heures. L'analyse des mouvements se fait pendant 15 secondes avant la présentation du stimulus et pendant 6 secondes après.

Les appareils employés dans la réalisation de ces tests présentent en général des stimuli acoustiques de l'ordre de 70 à 90 dB SPL (Sound Pressure Level) sur une ou les deux oreilles de l'enfant par un microphone.

Ainsi, les surdités modérées sont par définition non identifiables. La réaction comportementale observée est de type neurologique avec des réactions d'éveil et des réactions motrices réflexes du corps.

Le nombre de réactions comportementales douteuses ou suspectes est trop important par rapport au faible nombre d'enfants qui présentent une déficience auditive confirmée, rendant ces tests peu fiables pour le dépistage de masse.

2. L'exploration fonctionnelle objective

*** La recherche des otoémissions acoustiques (OEA)**

Ces OEA sont issues de la contraction des cellules ciliées externes et reflètent leur bon fonctionnement. Les sons issus de la cochlée sont enregistrables par une sonde mise dans le méat acoustique externe et reflète une audition d'au moins 30 dB, selon les appareils. Cet appareillage avait, autrefois, un volume et un poids très importants. Actuellement, c'est un

Généralités

SAOUDI. S, 2015

appareil d'à peine 300 g qui est constitué d'une sonde avec embout fait d'une sortie et de deux entrées: une sortie pour délivrer le son de stimulation, une entrée pour enregistrer les otoémissions acoustiques et une autre entrée pour analyser le son parasite (Yuan, 2003 ; Ashmore, 2008).

➤ **Les otoémissions acoustiques spontanées**

Les otoémissions acoustiques peuvent être spontanément présentes en dehors de toute stimulation sonore. Ce sont les OEA spontanées. Elles ne sont pas utilisées en clinique car elles ne sont présentes que chez moins de 50% des sujets normaux entendants (Probst *et al.*, 1991).

➤ **Les otoémissions acoustiques provoquées** (Yuan, 2003 ; Ashmore, 2008)

Ce sont celles utilisées en clinique pour le dépistage. Elles possèdent une sensibilité avoisinant les 100% et une spécificité de près de 65%.

Cependant, elles ont beaucoup de faux positifs (15.1%) si le test est pratiqué 24 heures après la naissance et chutent à 4% après 72 heures (Owen *et al.*, 2001).

D'autres facteurs limitant pour l'enregistrement des OEA sont la présence d'une pathologie de l'oreille moyenne ou externe ou l'augmentation du bruit de fond parasite.

Les otoémissions acoustiques provoquées (OEAP) sont de deux types: les OEAP transitoires et les produits de distorsion des otoémissions acoustiques ou Distorsion Product Oto Acoustic Emission (DPOAE).

• **Les OEA transitoires**

Les otoémissions acoustiques provoquées transitoires sont des sons de très faible intensité émis par la cochlée en réponse à une stimulation acoustique brève. Ils sont transmis en retour par le système tympano-ossiculaire et enregistrés à l'aide d'un microphone dans le conduit auditif externe.

Lorsqu'elles sont présentes avec une intensité, une reproductibilité et un spectre de réponse suffisants, on peut alors conclure à un fonctionnement normal du système auditif périphérique depuis le tympan jusqu'à la cochlée comprise sur la gamme des fréquences intermédiaires.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- **Les produits de distorsion des otoémissions acoustiques (DPOAE)**

Ils reflètent la non-linéarité de la cochlée en bon état physiologique. Ce type d'otoémission, spécifique en fréquences, permet de réaliser un audiogramme objectif et reflète l'état fonctionnel des CCE.

L'absence ou la pauvreté des mécanismes actifs cochléaires au-dessous de 1 KHz, ne permet pas de tester les fréquences graves. Au-delà de 6 KHz, c'est l'équipement utilisé en clinique qui limite l'enregistrement des produits de distorsion (Giraud, 1997).

La durée du test est une variable liée à l'âge. Plus un test est long, moins il est supportable par l'enfant. Il est plus long que chez l'adulte et dépend de la vigilance de l'enfant. Il est en moyenne de 12 minutes (Kennedy, 1991 ; Dolhen *et al.*, 1991).

La vacuité du méat externe est importante à considérer. Ainsi, 70% des oreilles avec un résultat initialement négatif et 60% des résultats partiellement positifs, ont eu une possibilité d'enregistrement des OEAP dans les 24 heures suivantes après nettoyage du méat auditif externe (Maxon *et al.*, 1993 ; McNellis et Klein, 1997).

Le simple fait de nettoyer le méat auditif externe avant l'introduction de la sonde d'OEAP, permet de faire progresser le taux de succès d'enregistrement de 76% à 91% (Chang *et al.*, 1993) et il a été démontré que de réaliser une otoscopie ou de remettre en place la sonde dans le méat auditif externe après une première introduction permet d'augmenter le taux de succès d'enregistrement (Vohr *et al.*, 1996).

Un autre fait à considérer est celui du bruit de fond qui est extrêmement gênant pour l'enregistrement des OEA (Jacobson et Jacobson, 1994). Le premier bruit de fond peut être endogène, venant de l'enfant lui-même. Le taux de succès d'enregistrement diminue fortement de l'état de sommeil à l'état d'agitation. La deuxième source de bruit de fond est exogène. Un bruit de fond de l'ordre de 45 dB SPL à l'intérieur d'une mini-cabine d'enregistrement, est tout à fait compatible avec le recueil des OEAP en moins de 10 minutes sur les deux oreilles chez le nouveau-né (Vohr *et al.*, 1996).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

*** L'enregistrement des potentiels évoqués auditifs (PEA)**

C'est la méthode de référence pour confirmer une surdité, qu'elle soit dépistée par la recherche des OEA ou par une audiométrie comportementale. L'appareillage de recueil des PEA dans le cadre du dépistage a subi une miniaturisation et une automatisation et une automatisation pour devenir facile d'utilisation. Il est actuellement utilisé dans le dépistage (JCIH, 2007 ; Alberti *et al.*, 1983).

b. La stratégie du dépistage de la surdité néonatale

Si la pertinence du dépistage de la surdité néonatale est reconnue par toutes les publications, la stratégie telle qu'elle a été recommandée par le National Institute of Health (NIH) n'est pas unanime. Le dépistage néonatal universel se fait, dans la plupart des séries internationales publiées, par l'étude des otoémissions acoustiques. Lorsque ces dernières sont altérées, le nouveau-né est revu 2 à 3 semaines après le premier test. Au cours de cet examen, le dépistage de la surdité est fait soit par l'étude des OEA, soit par l'étude des PEA du tronc cérébral, lorsqu'il existe un facteur de risque de la surdité (JCIH, 2007 ; Morton et Nance, 2006 ; Meyer, 1999 ; Bielecki, 2011, Prpic *et al.*, 2007 ; Lam, 2006).

L'étude des PEA est également utilisée dès le premier test pour les nouveau-nés ayant séjournés dans un service de réanimation pendant plus de cinq jours. Ce choix de technique est fait car les surdités neurologiques, très fréquentes dans ce contexte, peuvent ne pas être détectées par les OEA (JCIH, 2007).

D'autres programmes de dépistage néonatal existent de par le monde. La stratégie peut être totalement différente afin de diminuer le coût du dépistage. Le coût est de 36.9 euros pour un sel dépistage néonatal en Grande-Bretagne (Arehart *et al.*, 1998). En Inde, pays émergent à forte densité de population, une étude menée conjointement dans trois hôpitaux a conclu que le dépistage néonatal de la surdité, tel qu'il a été recommandé par le NIH, ne peut être pratiqué. Ceci est dû au manque de spécificité des OEA à cet âge (avant la sortie de la clinique d'accouchement) et à la présence de beaucoup de faux positifs nécessitant le recours à l'étude des PEA, ce qui augmente considérablement le coût. Les auteurs de cette étude proposent une alternative au dépistage néonatal de la surdité en recommandant sa pratique chez tous les nourrissons de l'âge de 3 mois par l'étude des OEA (Mathur et Dhawan, 2006).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Plusieurs autres stratégies ont été développées dans d'autres pays dont le but est de réduire le coût du dépistage (Grill, 2005 ; Olusanya *et al.*, 2008 ; Benito Orejas *et al.*, 2008 ; Flynn *et al.*, 2004 ; Chiong *et al.*, 2003).

B. Le diagnostic de la surdité néonatale

Toutes les publications s'accordent sur le fait que la confirmation de la surdité se fait par l'analyse des PEA par un appareil conventionnel, même si elle a été dépistée par un appareil d'enregistrement automatisé. L'analyse des PEA par appareil conventionnel sert également pour la recherche du seuil auditif et la recherche étiologique (JCIH, 2007 ; JCIH, 2000).

Toutefois, il existe d'autres examens pouvant être utiles ultérieurement pour le diagnostic étiologique (JCIH, 2007 ; JCIH, 2000 ; Abdulbari, 2005 ; Cruz, 2008) qui sont:

a. L'interrogatoire et l'examen clinique ORL et général

1. L'interrogatoire

L'interrogatoire dirigé des parents de l'enfant doit s'enquérir de tous les éléments en faveur d'une cause extrinsèque. Il faut rechercher dans la famille l'existence d'une surdité ou de signes pouvant s'intégrer dans un syndrome avec surdité. Un arbre généalogique simple peut être réalisé par l'ORL, précisant chez les ascendants et collatéraux atteints de surdité, son type et sa relation éventuelle avec celle que présente l'enfant. Ces données aideront le généticien dans son enquête nécessairement plus complète.

2. L'examen clinique

Un examen clinique ORL et général complet est nécessaire pour rechercher le diagnostic.

Il doit être orienté vers la recherche des principaux syndromes. Par exemple, les mèches blanches et les yeux vairons, témoins du syndrome de Waardenburg, ne sont jamais signalés spontanément par les familles.

b. Les examens paracliniques

Ils sont pratiqués pour confirmer le diagnostic, mais également pour classer la surdité et rechercher son étiologie. Ce sont:

Généralités

SAOUDI. S, 2015

1. La recherche des otoémissions acoustiques

L'enregistrement des OEA est simple. Le son émis par l'oreille est capté par un microphone placé dans le méat auditif externe de l'enfant. Ce placement est non-traumatique, indolore et dans la majorité des cas ne réveille pas l'enfant qui dort.

La durée moyenne de l'examen varie considérablement car certaines études n'ont rapporté que le temps nécessaire à la réalisation du test, alors que d'autres ont inclut le temps nécessaire à l'installation de l'enfant, à l'explication du déroulement du test et de l'interprétation et à l'enregistrement de ses résultats (Kennedy, 1991 ; Dolhen *et al.*, 1991).

2. La recherche des PEA

La recherche des PEA se fait par une méthode standard (par électrodes per cutanées ou mieux par pastilles de contact actuellement). Elle permet de faire le diagnostic de surdité et de rechercher son seuil afin de la classer. Le recueil des PEA est un enregistrement d'électro-encéphalogramme d'un patient en réponse à un stimulus auditif court. La réponse recueillie provient des différents éléments constituant la voie auditive et ce à l'aide d'électrodes de surface placées sur le crâne du sujet ou actuellement par pastilles. Les PEA les plus couramment utilisés dans l'exploration objective des troubles auditifs sont les PEA précoces. Une mesure PEA se décompose en deux temps, la stimulation acoustique et ensuite le recueil. Cette stimulation acoustique entraine l'activation progressive des différents éléments constituant la voie auditive. Le recueil, est quant à lui très court (quelques millisecondes) pour les PEA précoces. Afin de bien distinguer cette réponse du reste de l'activité cérébrale, un moyennage et une amplification sont réalisés. Ces derniers, synchronisés sur la stimulation, permettent de garder intacte la réponse recherchée tout en permettant de réduire toute autre activité (cérébrale, musculaire, ...) (Fortnum *et al.*, 2001).

3. L'impédancemétrie

Elle est utilisée pour la recherche d'une otite sécrétoire associée. L'effet d'une otite sécrétoire est plus important chez l'enfant avec une surdité préexistante que chez l'enfant avec une audition normale (Brookhouser *et al.*, 1994).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

4. Les examens biologiques

Ils sont utilisés à la recherche d'une anomalie biologique en particulier: troubles des hormones thyroïdiennes, hématurie, protéinurie, etc.

5. Les examens cytogénétiques

Ils sont orientés par l'interrogatoire et l'examen clinique.

6. Les examens radiologiques

Surtout la tomodensitométrie et l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) qui sont utiles pour la recherche étiologique, mais également si une implantation cochléaire est envisagée.

7. L'examen ophtalmologique avec fond d'œil (FO)

8. L'électrocardiogramme (ECG)

Il est utilisé dans le cas des surdités syndromiques, si la surdité est sévère à profonde.

9. Les OEA et les audiogrammes

Ils sont utilisés pour les parents et la fratrie.

10. L'EEG

Il est utilisé si un autisme est suspecté.

II.3.4. La Classification de la surdité

La classification des surdités peut s'effectuer de multiples façons. Les deux classifications couramment utilisées sont: la classification fonctionnelle et la classification audiométrique.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

A. La classification fonctionnelle (Boudjenah F, 2014)

Elle répartit les surdités en trois catégories:

a. Les surdités de transmission

Elles ont pour origine des lésions de l'oreille externe et/ou de l'oreille moyenne. L'audition par voie osseuse est normale. Les surdités de transmission peuvent bénéficier d'un traitement médical ou médico-chirurgical adapté.

b. Les surdités de perception

Elles ont pour cause des lésions des voies neurosensorielles de l'audition (oreille interne, nerf auditif et voies centrales).

c. Les surdités mixtes

Elles associent la surdité de transmission à la surdité de perception où l'une prédomine sur l'autre.

B. La classification audiométrique (Fortnum *et al.*, 2001)

Plusieurs classifications ont été proposées. La classification la plus utilisée est celle du Bureau international d'audiophonologie de la conférence de Lisbonne (Portugal) du 1^{er} Mai 1997. Elle définit les surdités en fonction du seuil minimal de perception des sons, exprimé en décibels (dB HL pour decibels Hearing Level).

L'audition est dite normale, si la perte auditive moyenne ne dépasse pas 20 dB.

La surdité est dite:

a. Légère

Entre 21 et 40 dB de perte auditive.

b. Moyenne

Avec deux degrés:

- **Le premier degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 41 et 55 dB ;
- **Le deuxième degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 56 et 70 dB.

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

A ce niveau d'audition, la parole ne peut être perçue que si le sujet élève la voix ou regarde les lèvres.

c. Sévère

Pour une perte auditive de 71 à 90 dB, avec deux degrés:

- **Le premier degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 71 et 80 dB ;
- **Le deuxième degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 81 et 90 dB.

La parole est perçue à voix haute près de l'oreille ainsi que les bruits forts.

d. Profonde

Au-delà de 90 dB avec trois degrés:

- **Le premier degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 91 et 100 dB ;
- **Le deuxième degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 101 et 110 dB ;
- **Le troisième degré:** la perte tonale moyenne est comprise entre 111 et 120 dB.

Aucune perception de la parole, seuls les bruits très puissants sont perçus

e. Total ou cophose

La perte tonale moyenne est supérieure à 120 dB et rien n'est perçu.

C. La classification selon les étiologies des surdités (Denoyelle et Marlin, 2005)

Les surdités sont classées en trois catégories:

- Environnementales ou acquises ;
- Génétiques ;
- Inconnues.

D. La classification selon l'apparition du langage (Morton et Nance, 2006)

Le langage étant la finalité de la prise en charge de la surdité, surtout chez l'enfant, cette surdité a donc été classée en prélinguale et en post linguale.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

II.3.5. Les étiologies de la surdité (JCIH, 2007 ; JCIH, 2000 ; Morton et Nance, 2006 ; Duncan, 2007 ; Denoyelle et Marlin, 2005 ; Gualandi *et al.*, 2002)

Chez l'Homme, la fréquence des causes incriminées dans la surdité varie selon l'âge. A la naissance, la cause la plus fréquente est génétique, alors que le reste des étiologies environnementales augmentent proportionnellement avec l'âge.

L'hypoacousie est retrouvée à chaque fois qu'un élément de l'appareil auditif est atteint dans son intégrité structurelle ou physiologique. L'atteinte peut être une anomalie anatomique ou biochimique d'origine génétique ou environnementale. Elle peut être isolée ou intégrée dans un syndrome polymalformatif.

II.3.6. La surdité neurosensorielle d'origine génétique

A. La codification internationale des surdités génétiques

Une codification internationale a été établie pour nommer chaque locus de surdité non syndromique. La codification est créée par convention et à mesure de la découverte des loci. Le code commence soit par DFNA (pour deafness, autosomique dominant), soit par DFNB (pour deafness, autosomique récessif), soit par DFN (pour deafness, liée à l'X). On donne ensuite un numéro par ordre de découverte (Denoyelle et Marlin, 2005).

B. Les caractéristiques génétiques des surdités héréditaires

Dans le cas des surdités génétiques, la pénétrance incomplète, l'expressivité variable et l'hétérogénéité génétique et allélique entrave l'établissement d'une corrélation entre une mutation spécifique (génotype) et ses manifestations cliniques et audiométriques (phénotype) (Kochhar *et al.*, 2007).

Ces surdités présentent comme caractéristiques:

- **Une pénétrance incomplète**, qui se voit quand le sujet a le génotype à risque sans être atteint de la maladie.

Par exemple, seulement 60% des individus hétérozygotes porteurs de la mutation du gène PAX3 (syndrome de Waardenburg type I et type III) développent la surdité (Read et Newton, 1997).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- **Une expressivité variable**, qui se voit quand pour un même génotype à risque ou une mutation, la maladie peut prendre différentes formes.
Par exemple, les individus hétérozygotes porteurs de la mutation du gène WFS1 peuvent présenter une surdité de perception modérée comme seul symptôme (Lesperance *et al.*, 2003), sinon d'autres symptômes cliniques du syndrome de Wolfram (diabète sucré et/ou atrophie optique) (Valero *et al.*, 2008).
- **Une hétérogénéité génétique**, qui se voit quand des mutations dans des gènes différents se manifestent par le même phénotype.
Par exemple, la surdité prélinguale de transmission autosomique récessive est le fait de pas moins d'une trentaine de gènes (GJB2, GJB6, OTOF, TECTA, MYO7A, ...) (Valero *et al.*, 2008).
- **Une hétérogénéité allélique**, qui se voit quand une seule mutation donne naissance à différentes maladies ou phénotypes. Par exemple, la mutation 35delG dans le gène GJB2 (connexine 26) peut donner une surdité autosomique récessive non syndromique (DFNB1), une surdité autosomique dominante non syndromique (DFNA3) ou un syndrome avec manifestations cutanées, vasculaires ou thyroïdiennes (Gualandi *et al.*, 2002).
- **Une empreinte parentale**, qui se voit quand la maladie dépend du fait que la mutation responsable a été transmise par le père ou par la mère.

C. Les modes de transmission (Cohen-Salmon *et al.*, 1997)

La transmission familiale des surdités répond:

- Dans 80 à 85% des cas à un mode autosomique récessif ;
- Dans 10 à 15% des cas à un mode autosomique dominant ;
- Dans 1 à 3% des cas à la transmission récessive liée au sexe ;
- Dans un pourcentage non encore déterminé à une transmission mitochondriale (l'anomalie est transmise uniquement par les mères).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

a. Le mode autosomique récessif (AR)

Dans ce mode de transmission, les deux allèles du gène doivent être mutés pour que le sujet soit sourd. Les deux parents porteurs de l'allèle muté du gène en cause (porteurs hétérozygotes) sont normo-entendants et, statistiquement, un quart des enfants (garçon ou fille) sont sourds, porteurs de mutations sur les deux allèles du gène (homozygotes) (Figure 8). Le mode de transmission autosomique récessif est favorisé par la consanguinité. On estime qu'environ trois quarts des surdités non syndromiques se transmettent sur le mode AR et ce mode est le deuxième en fréquence dans les surdités syndromiques.

b. Le mode autosomique dominant (AD)

Dans ce mode de transmission, les sujets ayant un seul allèle muté (hétérozygotes) sont sourds.

Dans les familles atteintes de surdité autosomique dominante, l'un des parents est sourd et porte sur un seul allèle du gène la mutation pathogène, mutation qu'il va transmettre à la moitié de ses enfants qui seront alors sourds (Figure 9).

L'expressivité est très souvent variable dans ce mode de transmission, plusieurs sujets atteints dans la famille pouvant présenter des surdités de sévérité très différente.

Lorsque la surdité est syndromique, les signes associés au syndrome peuvent être absents ou discrets chez certains sourds de la famille, chez qui la surdité paraît alors isolée et certains membres porteurs de l'anomalie génétique peuvent être entendants.

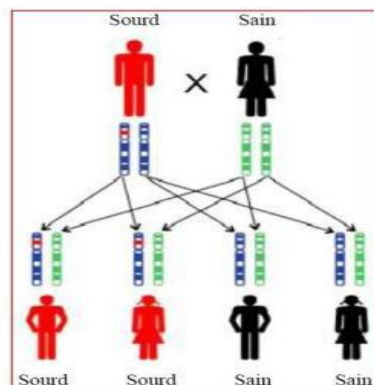


Figure n° 4 modèle de transmission d'une maladie autosomique dominante monogénique. Union d'un sujet malade et d'un sujet sain.

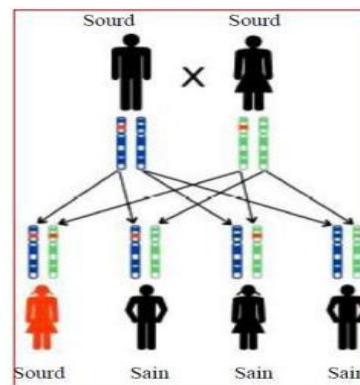


Figure n° 5 Modèle de transmission d'une maladie autosomique récessive monogénique. Union de deux sujets hétérozygotes

Généralités

SAOUDI. S, 2015

c. Le mode de transmission lié à l'X

Le gène en cause est situé sur le chromosome X. Chez les garçons qui n'ont qu'un X, la maladie s'exprime et ils sont donc atteints de surdité, alors que les filles sont porteuses de la mutation mais entendantes (Figure 10).

Chez les femmes, lorsque l'X porteur de la mutation génétique est en général « compensé » par le deuxième X normal, la surdité est récessive liée à l'X. Rarement, comme dans le syndrome d'Alport, la surdité est dite dominante liée à l'X et les femmes ne sont alors pas seulement en mesure de transmettre la surdité, elles en sont aussi atteintes, de façon moins sévère que les garçons.

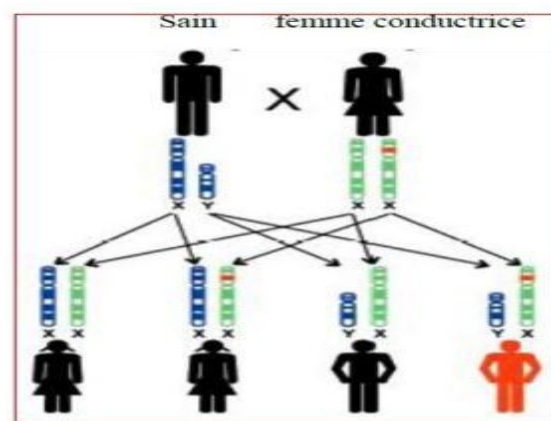


Figure n° 6 Modèle de transmission d'une maladie monogénique liée à l'X. Union d'un homme sain et d'une femme conductrice.

d. Le mode de transmission mitochondrial

Le génome mitochondrial est un petit fragment d'acide désoxyribonucléique (ADN) situé hors du noyau de la cellule, dans la mitochondrie. Il est transmis uniquement par la mère.

Lorsqu'un gène de surdité est situé sur l'ADN mitochondrial, l'arbre est caractéristique car hommes et femmes peuvent être sourds, mais seules les femmes pourront transmettre la surdité à leurs enfants qui sont en théorie tous sourds dans la fratrie.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

D. La classification des surdités d'origines génétiques

a. Les surdités syndromiques

Les surdités syndromiques associent une surdité à des signes cliniques impliquant d'autres organes. Elles ne rendent compte que d'une faible proportion des surdités de l'enfant (10 à 15% environ) et une part mal connue, probablement inférieure, des surdités de l'adulte. Ces surdités peuvent être neurosensorielles ou transitionnelles et leur mode de transmission dans les familles est variable d'un syndrome à l'autre (Billings et Kenna, 1999).

Environ 400 syndromes avec surdité ont été décrits, et plus d'une centaine de gènes sont identifiés à ce jour. Il est cependant important de connaître et de rechercher les principaux syndromes car la prise en charge et le bilan étiologique seront différents d'une surdité non syndromique. Cependant, la surdité est le plus souvent patente et le reste des éléments cliniques du syndrome sont plus difficilement décelables ou surviennent plus tardivement. Par conséquent, certains enfants sont, à tort, initialement étiquetés comme atteints de surdité non syndromique. En raison du très grand nombre de syndromes rares avec surdité, toute pathologie malformative chez l'enfant doit faire pratiquer un bilan auditif systématique. De plus, pour les surdités syndromiques comprenant une atteinte malformative cranio-faciale, la surdité est très souvent majorée par une otite chronique, et une surveillance otologique régulière s'impose. Les anomalies du génome mitochondrial provoquent principalement des problèmes neuromusculaires (encéphalopathies et myopathies) et métaboliques (diabète) auxquels s'associe fréquemment une surdité de perception congénitale ou évolutive. Il n'y a pas une mutation spécifique de cette maladie mais plusieurs mutations possibles du génome mitochondrial (mutations des gènes de tRNA) (Petit *et al.*, 2001).

Le tableau 17 résume les sept surdités syndromiques les plus importantes et qui doivent être connues des différents spécialistes prenant en charge des surdités en raison de leur fréquence et/ou de leur gravité potentielle.

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

Tableau 17: Les surdités syndromiques les plus fréquentes ou nécessitant une prise en charge spécifique (Billings et Kenna, 1999).

Syndromes	Modes de transmission	Gènes en cause	Principaux signes cliniques	Examens nécessaires
Waardenburg type I	AD (expressivité variable)	PAX3	Mèches blanches, yeux très bleus et dépigmentation rétinienne au FO	FO
Waardenburg type II	AD (expressivité variable)	MTIF et SLUG		FO
Waardenburg type III	AD (expressivité variable)	PAX3	+/- malformations des extrémités et dystopie canthale	FO
Waardenburg type IV	AR	EDNRB, EDN3 et SOW10	+/- maladie de Hirschprung	FO
Branchio-oto-rénal	AD (expressivité variable)	EYA1 et autres gènes sur 1q31	Anomalies de l'oreille externe et/ou de l'oreille moyenne, fistules ou kystes branchiaux et malformations rénales	Echographie rénale
Stickler	AD (expressivité variable)	STL1, STL2 et STL3	Fente platine, association de robin et anomalies squelettiques	Examen ophtalmologique
Usher	AR	MYO7A,	Rétinite	Examen

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Généralités

SAOUDI. S, 2015

		CDH23, PCDH15, USH1C, SANS, USH2A et USH3	pigmentaire progressive aboutissant à la cécité	ophtalmologique et FO électrorétinogramme
Pendred	AR	PDS	Goitre et malformation de l'oreille interne	Scanner des rochers, scintigraphie thyroïdienne avec test au perchlorate
Jervell et Lange-Nielsen	AR	KVLQT1 et KCNE1	Malaises et mort subite	ECG
Alport	Dominant lié à l'X, AR et AR	COL4A3, COL4A4 et CO4A5	Hématurie puis protéinurie => insuffisance rénale	Bandelettes urinaires

AD: autosomique dominant, **AR:** autosomique récessif, **ECG:** électrocardiogramme, **FO:** fond d'œil.

b. Les surdités non syndromiques

Les surdités isolées représentent les 2/3 des surdités d'origine génétique où le déficit auditif est le seul signe présenté par l'enfant ou l'adulte.

On estime à près de 120 le nombre de gènes impliqués. Ces loci se répartissent de la façon suivante : DFNA1, DFNB1, DFNX1 et DFNY auxquels on peut ajouter sept mutations du génome mitochondrial. Ces surdités sont classées selon leur mode de transmission. Les formes autosomiques récessives sont les plus fréquentes et la surdité est en général congénitale. Dans les formes dominantes, la surdité est le plus souvent progressive ou d'apparition retardée, au cours de l'enfance ou à l'âge adulte (Rabionet *et al.*, 2000).

1. Les formes autosomiques récessives ou DFNB

Ce sont les formes les plus fréquentes. Elles représentent 80% des cas de surdité non syndromique.

Actuellement, plus de 95 locis sont décrits (DFNB1 à 95) (Stong *et al.*, 2006).

- **La DFNB1**, liée à la mutation du gène de la Connexine 26 (CX26 ou GJB2), rend compte de près de 50% des surdités héréditaires ou familiales de l'enfant et 40% des

Généralités

SAOUDI. S, 2015

cas de surdités sporadiques en France. Une mutation particulière, la 35delG est largement prédominante (70% des mutations détectées).

La déficience auditive est congénitale, peu ou pas progressive, légère à profonde. Les courbes audiométriques sont plates ou descendantes. Le diagnostic positif se fait par biologie moléculaire.

- **D'autres gènes de connexine 43 et 30 (GJB6)** peuvent être responsables à moindre fréquence du même phénotype. De grandes délétions du gène GJB6 ont été identifiées comme pouvant causer une surdité DFNB1. Ces délétions dont del(GJB6-D13S1830) et del(GJB6-D18S1854) peuvent être soit homozygotes soit associées en trans à une mutation de GJB2.
- **La surdité DFNB4**, deuxième en fréquence (5 à 6% des enfants sourds), est liée à une mutation du gène de la pendrine (SLC26A4). Elle ressemble en tous points à celle du syndrome de Pendred dû au même gène mais reste isolée et sans atteinte thyroïdienne. La surdité prédomine sur les fréquences aiguës, moyenne à profonde, progressive et évolutive associant des troubles vestibulaires.
L'imagerie des rochers est l'élément fondamental pour rattacher une surdité isolée à une anomalie du gène de la pendrine (malformation de l'oreille interne type dilatation de l'aqueduc du vestibule et/ou dilatation cochléovestibulaire).
- **DFNB9**, liée au gène de l'otoferline qui code pour une protéine exprimée dans les CCI.
La surdité est sévère à profonde. Une des causes de faux négatifs: otoémissions normales dans les premières années, mais les PEA sont altérés (neuropathie auditive). Il s'agit d'une atteinte cochléaire avec bon résultat de l'implant cochléaire.

2. Les formes autosomiques dominantes ou DFNA

Elles représentent 12 à 15% des cas de surdité isolée (Zhang *et al.*, 2005).

- **DFNA2**, semble être une forme fréquente de surdité autosomique dominante. Il s'agit d'une surdité de perception débutant sur les fréquences aiguës, progressive, d'environ 1 dB par an.
- **DFNA3**, liée au gène GJB2.

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- **DFNA9**, liée au gène **COCH**, est responsable d'une atteinte des fréquences aiguës chez l'adulte jeune puis évolue rapidement pour atteindre toutes les fréquences.

3. Les formes liées à l'X ou DFN

Elles représentent 1 à 3% des cas de surdité isolée. La forme la plus fréquente (DFN3) est due à des mutations du gène **POU3F4**. Elles représenteraient 0,5% des surdités de l'enfant. Il s'agit, chez un garçon, d'une surdité mixte, sévère à profonde, rapidement progressive, débutant dans l'enfance, associée à une dysfonction vestibulaire (Melchionda *et al.*, 2005).

4. La surdité mitochondriale

Plusieurs mutations de l'ADN mitochondrial sont impliquées dans des surdités isolées. Il s'agit essentiellement de mutations ponctuelles spéciales (mutation spécifique du gène 12S rRNA (1555 A>G), mutations des tRNA (Ser) et tRNA (Leu)). Ces mutations ne vont engendrer la surdité que si elles entrent en contact avec des aminoglycosides contenu par exemple dans les antibiotiques comme la gentamicine ou la streptomycine. C'est un exemple type de maladie multifactorielle (Denoyelle, 1999).

E. La prise en charge et le conseil génétique

Lorsque le diagnostic est posé, la prise en charge doit être pluridisciplinaire. Deux moyens importants vont permettre à l'enfant l'apprentissage des modes de communication: il s'agit de l'appareillage auditif et de la rééducation orthophonique (Vincent *et al.*, 1990).

a. L'appareillage auditif

1. Les prothèses auditives

Les aides auditives permettent de capter l'information sonore puis de l'amplifier de façon adaptée au déficit auditif de l'enfant.

Les réglages pour l'audioprothésiste seront différents qu'il s'agisse d'un enfant ou d'un adulte. Une réhabilitation prothétique est recommandée systématiquement chez tous les enfants dont le seuil auditif est supérieur à 40 dB pour les deux oreilles (Vincent *et al.*, 1990).

2. L'implant cochléaire

L'implant cochléaire (IC) est une prothèse auditive implantable qui permet la transduction du signal acoustique en un signal électrique, rôle effectué normalement par les

Généralités

SAOUDI. S, 2015

cellules ciliées internes. En cas de surdité, ces cellules sont absentes ou en nombre insuffisant, l'IC va alors assurer cette transduction. L'implant cochléaire représente alors l'appareil prothétique le plus adapté pour rétablir, du moins en partie, les fonctions d'élaboration auditive puisqu'il stimule directement le nerf acoustique contournant la cochlée abîmée. Les indications classiques d'implantation cochléaire sont les suivantes:

- **Âge à l'implantation**, elle doit être la plus précoce possible, après la réalisation d'un bilan de surdité, d'un bilan orthophonique et d'un essai prothétique.
En ce qui concerne les surdités congénitales, l'âge d'implantation se situe en général entre 18 mois et cinq ans car il est à présent prouvé qu'une intervention précoce donne un meilleur pronostic sur le développement de la communication orale. Certains auteurs proposent même une implantation avant l'âge de 18 mois (Vincent *et al.*, 1990 ; Bouccara *et al.*, 2005).
- **Audiométrie**, en cas de surdité profonde, l'IC est indiquée lorsque le gain prothétique ne permet pas le développement du langage oral. Par contre en cas de surdité sévère, l'IC est indiquée lorsque le seuil d'intelligibilité de mots en liste ouverte est inférieur à 50% (Vincent *et al.*, 1990).
- **Absence de contre-indication médicale** (absence de pathologie de l'oreille moyenne) **ou radiologique** (anomalie de la cochlée) (Vincent *et al.*, 1990).

b. La rééducation orthophonique

Elle est mise en place après une évaluation des capacités de communication. La prise en charge orthophonique s'étale sur de nombreuses années. Lorsque les enfants sont sourds congénitaux, l'orthophonie a pour but de stimuler l'éveil auditif, de mettre en place des aides à la communication et de favoriser le langage oral (Vincent *et al.*, 1990).

F. La surdité liée à des mutations du gène GJB2

a. Les gènes codants

Quatre gènes de connexine, exprimés dans l'oreille interne, peuvent être impliqués dans des surdités isolées ou syndromiques:

- GJB2 (connexine 26, en 13q11. q12) ;

Généralités

SAOUDI. S, 2015

- GJB6 (connexine 30, en 13q11. q12) ;
- GJB3 (connexine 32, en Xq13. 1) ;
- GJB1 (connexine 31, en 1p34).

Le gène GJB2 (Gap Junction protein Beta 2) codant pour la connexine 26 est un petit gène constitué de deux exons, le premier exon n'est pas transcrit, le deuxième constitue la partie codante du gène (Figure 11). Le gène GJB2 est situé avec le gène GJB6 sur le locus DFNB1 qui est localisé sur le bras court du chromosome 13 (13q12. 11). Ce locus est le premier locus responsable de surdité neurosensorielle autosomique récessive (Maeda *et al.*, 2009 ; Martin et Evans 2004).

Près de 150 variations nucléotidiques de ce gène ont été rapportées incluant 25 polymorphismes. Le caractère délétère de certains allèles est encore controversé tel que les mutations M34T, V37I et R127H. La mutation 35delG due à une délétion d'un nucléotide (guanine) en position 35 est la plus fréquente dans les pays occidentaux et méditerranéens. Elle entraîne un décalage du cadre de lecture et aboutit donc à l'apparition d'un codon stop prématuré au codon 13 et par conséquent à la formation d'une protéine tronquée non fonctionnelle. D'autres mutations majoritaires sont retrouvées dans certaines populations : 167delT dans la population juive Ashkénaze, 235delC au Japon, en Chine, en Corée, ... (Cohen-Salmon *et al.*, 1997 ; Martin et Evans, 2004).

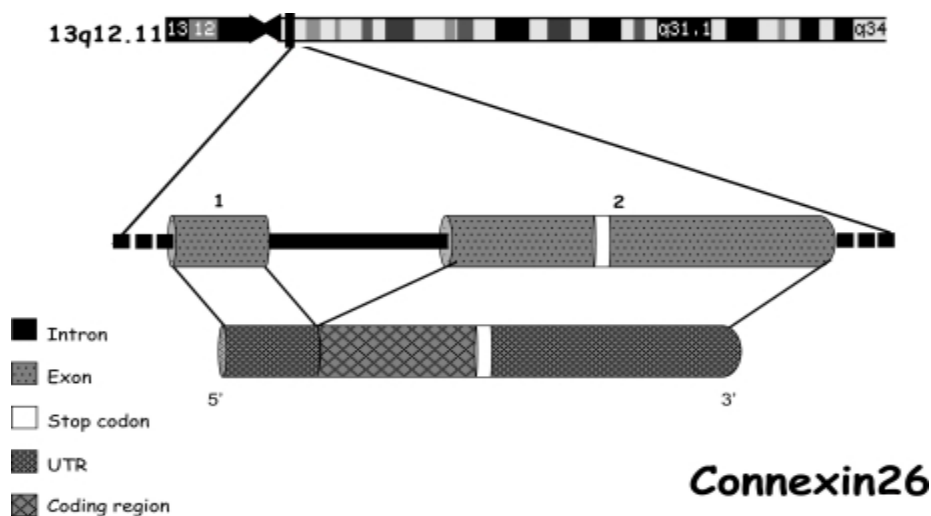


Figure 11: Structure et localisation du gène GJB2 (Martin et Evans, 2004).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

b. La protéine connexine

1. Définition

Les connexines sont de petites protéines transmembranaires, impliquées dans la formation de jonctions communicantes (Gap junctions) entre cellules adjacentes, pour la majorité des cellules de l'organisme (Figure 12). La jonction communicante est formée de deux connexons, un par membrane. Chaque connexon est un hexamère formé de 6 connexines ménageant entre elles un canal hydrophile de 2 nm de diamètre. Les connexines possèdent quatre domaines transmembranaires (M1 à M4), dont le troisième, le plus hydrophile, constitue l'intérieur du canal. Les extrémités amino- et carboxy-terminales sont cytoplasmiques et les deux boucles extracellulaires sont responsables de l'interaction entre deux connexons. Les connexines diffèrent principalement par la longueur et la composition de leur extrémité carboxy-terminale. Quinze connexines différentes sont actuellement connues chez les mammifères. Elles sont désignées en fonction de leur poids moléculaire ; par exemple, la connexine 26 a un poids moléculaire de 26 000 daltons (Abe *et al.*, 2000 ; Wang *et al.*, 2002).

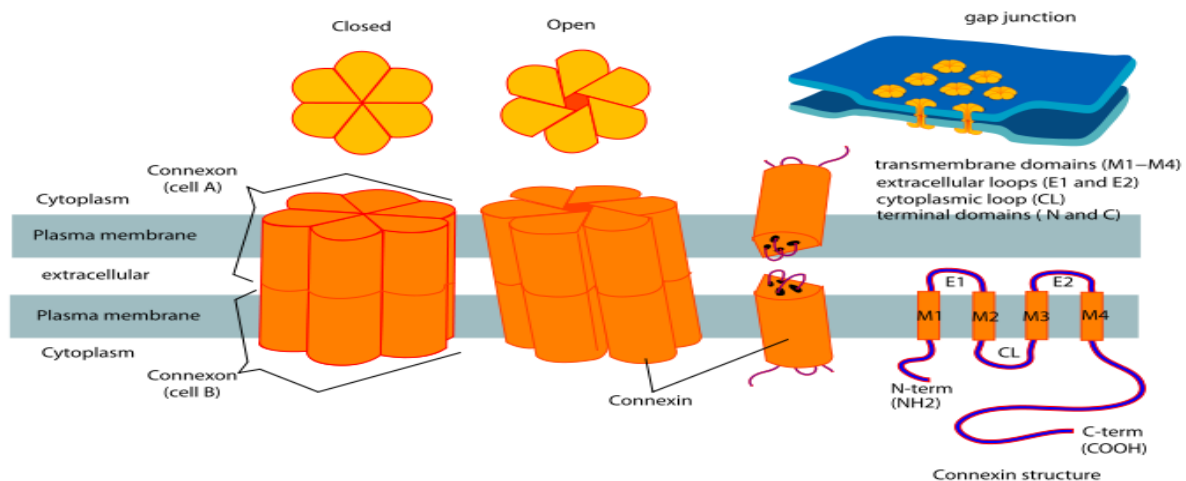


Figure 12: Schéma d'une jonction communicante entre deux cellules adjacentes (Abe *et al.*, 2000).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

2. Le rôle de la connexine 26

Durant le développement embryonnaire l'expression de la connexine 26 ainsi que la connexine 30 a été détectée dès 11 semaines de gestation. Le taux adulte est atteint à 20 semaines de gestation. Des études d'immunomarquage sur des cochlées de souris ont montré que la connexine 26 est présente au niveau du limbe spiral, du ligament spiral, des cellules de soutien de l'organe de Corti, des cellules ciliées internes et externes et au niveau de la strie vasculaire ainsi que sur la plupart (> 85%) des Gap junctions de la cochlée. Il a été démontré par co-immunoprécipitation que la connexine 26 est présente seule ou associée à la connexine 30 sur une même Gap junction. Ces études laissent suggérer que la connexine 26 ainsi que la connexine 30 sont impliquées dans le recyclage du potassium (K^+) en facilitant son transport rapide à travers le réseau des cellules de soutien vers la strie vasculaire, où il est activement attiré vers l'endolymphe. Une théorie plus récente, envisage une possible contribution du réseau de Gap junctions cochléaire à l'homéostasie de l'épithélium sensoriel avasculaire de l'organe de Corti (Akiyama *et al.*, 2007 ; Kikuchi *et al.*, 1995).

c. La physiopathologie

1. Les mutations du gène de la connexine26 (Figure 13)

1.1. Les mutations empêchant la formation de Gap junctions

Le cycle de vie de la connexine 26 comporte la synthèse de la protéine, son transport vers la membrane plasmique, son insertion membranaire et la formation de connexons puis sa dégradation. Ce type de mutations peut créer un dysfonctionnement ou une dégradation prématurée de la connexine avant son arrivée au niveau de la membrane cellulaire ou encore affecter les liaisons avec d'autres protéines intracellulaires (Abidi *et al.*, 2007).

1.2. Les mutations entraînant la formation de Gap junctions non fonctionnelles

Le couplage ionique intercellulaire est affecté, à l'origine d'un dysfonctionnement de la jonction intercellulaire ou encore d'une anomalie d'alignement de deux connexons (Stong *et al.*, 2006).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

1.3. Les mutations entraînant une perte spécifique dans le couplage biochimique intercellulaire

Ce type de mutations modifie la perméabilité des Gap junctions pour certaines molécules. Chang ses collaborateurs (2008) ont mis en évidence, chez des souris présentant ce type de mutations de la connexine 30, une réduction dramatique du transport du glucose par les Gap junctions avec des taux élevés de radicaux libres dans les cellules de soutien de la cochlée. Cette étude laisse suggérer l'hypothèse que le transport du glucose au niveau des Gap junctions pourrait également être perturbé en cas de mutation de la Connexine 26.

Le glucose étant la source majeure d'énergie pour l'activité métabolique des cellules, un déficit chronique au niveau de l'organe de Corti où la microcirculation est généralement pauvre, peut avoir des effets néfastes sur la survie et les fonctions cellulaires (Abidi *et al.*, 2007 ; Minarik *et al.*, 2005).

1.4. Les mutations causant un gain de fonction (hémi canal anormal s'ouvrant à l'état de repos)

Une mutation particulière de la connexine 26 (G45E) est responsable d'un changement de charge de la chaîne d'acide aminé du neutre au négatif. Il est donc probable qu'elle affecte la fixation du Ca^{++} aux hémi canaux. Les essais de marquage par colorant montrent qu'en présence de concentrations extra cellulaires normales en Ca^{++} survient une fuite à travers les canaux des Gap junctions, ce qui crée une surcharge et finalement une mort cellulaire (Stong *et al.*, 2006).

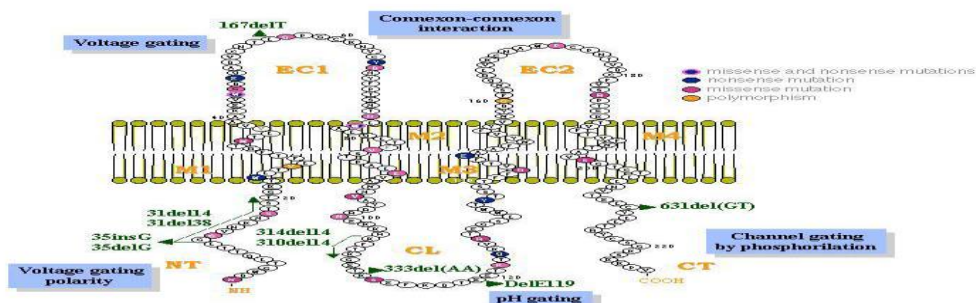


Figure 13: Localisations des mutations de la connexine 26 rapportées dans la littérature et liées à la surdité (Stong *et al.*, 2006).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

2. Les théories actuelles sur les mécanismes des surdités liées à la connexine 26

2.1. La perturbation du recyclage endo-cochléaire du K⁺

La notion d'implication des mutations des Gap jonctions cochléaires dans le recyclage du K⁺ est remise en cause.

En effet, de nouvelles données indiquent que le canal intercellulaire formé par les Gap jonctions n'est pas significativement perturbé par l'absence de la connexine 26 ou de la connexine 30. Les données de l'immunomarquage obtenues à partir de modèles de cochlées de souris avec délétion totale ou partielle de la connexine 26, confirment la présence de Gap jonctions monomériques dans les cochlées de souris mutées (Cohen-Salmon *et al.*, 2002).

Les mutations de la connexine 26 qui affectent spécifiquement le couplage biochimique sont suffisantes pour être responsables de surdité chez l'homme. Ceci indique que les anomalies du transfert des grosses molécules à travers les Gap jonctions peuvent être à la base des mécanismes de surdité (Beltramello *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2005).

2.2. Le déficit dans le transport facilité des métabolites à travers les Gap jonctions

Des études récentes montrent que le glucose de la circulation sanguine, pourrait atteindre les cellules de soutien de la cochlée (Chang *et al.*, 2008), les fibrocytes de la paroi latérale du canal cochléaire et le limbe spiral grâce aux Gap jonctions (Tekin *et al.*, 2001 ; Akiyama *et al.*, 2007).

Chang et ses collaborateurs (2008) montrent qu'il existe un déficit chronique en glucose et non un blocage de la voie de recyclage du K⁺ chez les souris avec une connexine 30 non fonctionnelle.

Ils ont également prouvé une réduction du transport du glucose à travers les Gap jonctions et l'augmentation de la production de ROS (reactive oxygen species: générés par l'épuisement d'ATP en cas de déficit en glucose) au niveau des cellules de soutien.

En se basant sur ces résultats, ils suggèrent que la surdité liée à des mutations responsables d'une perte de fonction des connexines est due à une réduction de l'efficacité du transfert des métabolites énergétiques (ex. glucose) à travers le réseau intercellulaire des Gap jonctions, particulièrement au niveau des régions de la cochlée où la circulation est pauvre (ex. organe de Corti).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

L'effet néfaste accumulé sur l'homéostasie cellulaire devient destructeur quand des quantités importantes de ROS sont produites, conduisant à une mort cellulaire et un dysfonctionnement cochléaire.

3. Les corrélations génotype-phénotype clinique

Le gène GJB2 est en cause d'une part dans la forme majoritaire de surdité de l'enfant, la surdité autosomique récessive DFNB1, et d'autre part dans une forme rare de surdité autosomique dominante, DFNA3 (Parry, 1997 ; Green *et al.*, 1999).

3.1. La surdité autosomique récessive DFNB1

Soixante mutations du gène GJB2 ont été décrites dans le monde. Il existe dans les pays occidentaux et méditerranéens, une mutation largement prédominante, la 35delG. Elle est due à la délétion d'une base d'ADN, une guanine, en position 35 dans la partie codante du gène. Cette mutation entraîne un décalage du cadre de lecture et aboutit à la formation d'une protéine tronquée. La déficience auditive est congénitale et stable dans la majorité des cas (une évolutivité est observée dans moins de 20% des cas, le plus souvent faible). Aucun épisode d'aggravation brutale de surdité n'a été décrit dans cette forme de surdité. La surdité est de tous degrés mais est le plus souvent sévère à profonde. Les courbes audiométriques sont dans la grande majorité des cas, plates (atteinte similaire de toutes les fréquences) ou descendantes (atteinte préférentielle des fréquences aiguës). La tomodynamométrie des rochers et les épreuves vestibulaires caloriques sont normales.

3.2. La surdité autosomique dominante DFNA3

L'implication du gène de la connexine 26 dans la forme de surdité DFNA3 a fait longtemps l'objet de controverses. Les caractéristiques de la surdité, transmise dans tous les cas sur un mode autosomique dominant, sont très différentes en fonction des mutations.

Par exemple pour la mutation W44C, la surdité est prélinguale, bilatérale et symétrique, modérée à profonde et atteint toutes les fréquences. Alors que pour la mutation C202F, la surdité apparaît entre 10 et 20 ans, atteint initialement les hautes fréquences et évolue lentement pour devenir légère à moyenne à 50 ans (Feldmann *et al.*, 2004 ; Morlé *et al.*, 2000).

Généralités

SAOUDI. S, 2015

3.3. La surdité syndromique

La surdité liée à la connexine 26 est le plus souvent isolée. Néanmoins, l'association à des signes cutanés a été décrite dans la littérature. Il s'agit de l'hyperkératose palmoplantaire associée à la mutation dominante G59A (Meşe *et al.*, 2007), la kératodermie mutilante ou syndrome de Vohwinkel associée à la mutation D66H (Kikuchi *et al.*, 1995) et enfin le KID syndrome (kératodermie- ichthyose-surdité) (Richard *et al.*, 2002).

MATERIEL
ET
METHODES

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

De l'extraction de l'ADN au traitement des données, toutes les étapes d'analyses des échantillons ont été réalisées au Laboratoire de Génomique Biomédicale et d'Oncogénétique (Institut Pasteur de Tunis), sous la responsabilité du Professeur Sonia Abdelhak et la codirection du Docteur Rym Ben-Atig Kefi.

I. La zone d'étude (Voir Chapitre I, pages : 16-25)

II. La description des patients

Une enquête génétique familiale (Annexe 3) préliminaire a été menée au niveau de l'école des jeunes sourds à Khenchela auprès de deux familles autochtones dont les enfants étaient atteints de surdité non syndromique. Les deux familles étaient constituées de parents sains. La première famille comprenait quatre enfants tous sourds (deux garçons et deux filles). Quant à la deuxième famille, elle comptait six enfants dont deux sains et quatre sourds (deux garçons et deux filles) (Annexe 4). Après l'obtention des consentements éclairés (Annexe 5) de la part des tuteurs légaux des patients, nous avons pu recueillir l'histoire familiale détaillée de ces sujets (antécédents familiaux, âge et circonstance de la découverte de la maladie, lien de parenté, pathologies associées, etc) grâce à l'enquête génétique familiale.

III. L'enquête génétique familiale

L'enquête consiste au recueil de l'histoire familiale établi à partir d'entretiens avec le propositus ou les membres de sa famille. L'information ainsi obtenue comprend des fiches rédigées où figurent la date de l'enquête, le nom de l'enquêteur, le code du dossier, la maladie génétique, les noms, les dates de naissance, les adresses, les descriptions de phénotypes, les informations concernant les conditions médicales, les antécédents familiaux, l'existence d'unions consanguines entre les membres de la famille ainsi que toutes observations jugées utiles. L'interrogation vise à recueillir des données sur le sujet mais aussi sur sa famille nucléaire, son conjoint et ses enfants (s'il est marié) et les familles nucléaires de son père et de sa mère. Nous cherchons ainsi à déterminer s'il existe plusieurs cas de la maladie dans la famille, y compris chez des parents éloignés. Toutes ces questions vont nous d'établir un arbre généalogique représentant la répartition de la maladie dans la famille et son mode de transmission.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

IV. Les prélèvements sanguins

Avant tout prélèvement, le patient est invité à remplir une fiche de renseignements nécessaires à l'étude ainsi qu'à signer le papier du consentement éclairé. Nous avons prélevé sur des tubes EDTA 5 ml de sang, des sujets sourds ainsi que de leurs parents sains, pour l'extraction d'ADN par kit. Pour des utilisations ultérieures, les tubes peuvent être conservés à +4°C ou à -20°C (pour une durée plus prolongée).

V. L'extraction de l'ADN génomique

V.1. Le principe

Nous allons utiliser une méthode d'extraction d'ADN génomique basée sur la précipitation différentielle des protéines par les sels « Salting-out ». Après la lyse des globules rouges, les globules blancs sont lysés en présence d'une solution hypotonique (WLB). Les protéines subissent une digestion enzymatique par la protéinase K et les lipides sont solubilisés par une solution détergente (SDS).

La solution est débarrassée des protéines par précipitation, à l'aide d'une solution saline saturée ; puis l'ADN génomique est précipité à l'alcool.

V.2. Le protocole expérimental

V.2.1. La lyse des globules rouges et des globules blancs

- 1- Transverser les 10 ml de sang prélevé sur tube EDTA dans un tube de 50 ml et compléter le volume jusqu'à 35 ml avec la solution BLB 1X. Le tube doit être clairement identifié (code et date de prélèvement).
- 2- Lysé des globules rouges au moins 30 minutes dans la glace.
- 3- Centrifuger pendant 10 minutes à 2500 t/min.
- 4- Eliminer le surnageant.
- 5- Resuspendre le culot dans 35 ml de BLB 1X et répéter la lyse dans la glace comme au point 2 pendant 20 minutes seulement.
- 6- Centrifuger pendant 15 minutes à 2500 t/min.
- 7- Répéter les étapes 5 et 6 deux à trois fois jusqu'à obtention d'un culot très propre.
- 8- Ajouter 4 ml de WLB 1X, 20 µl de protéinase K et 200 µl de SDS (20%).
- 9- Laisser incuber une nuit à 37°C.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

V.2.2. La préparation de l'ADN

Les tubes ayant été incubés toute la nuit sont sortis du bain-marie afin de procéder à la suite de l'extraction.

a. La précipitation des protéines au NaCl 6M

- 1- Ajouter 1.5 ml de NaCl 6M filtré.
- 2- Agiter fortement pendant 15 secondes: une mousse blanche se forme.
- 3- Centrifuger pendant 15 minutes à 3500 t/min.
- 4- Transverser délicatement le surnageant dans un autre tube propre et recentrifuger comme à l'étape 3.
- 5- Répéter l'étape 4 jusqu'à l'obtention d'un surnageant limpide.

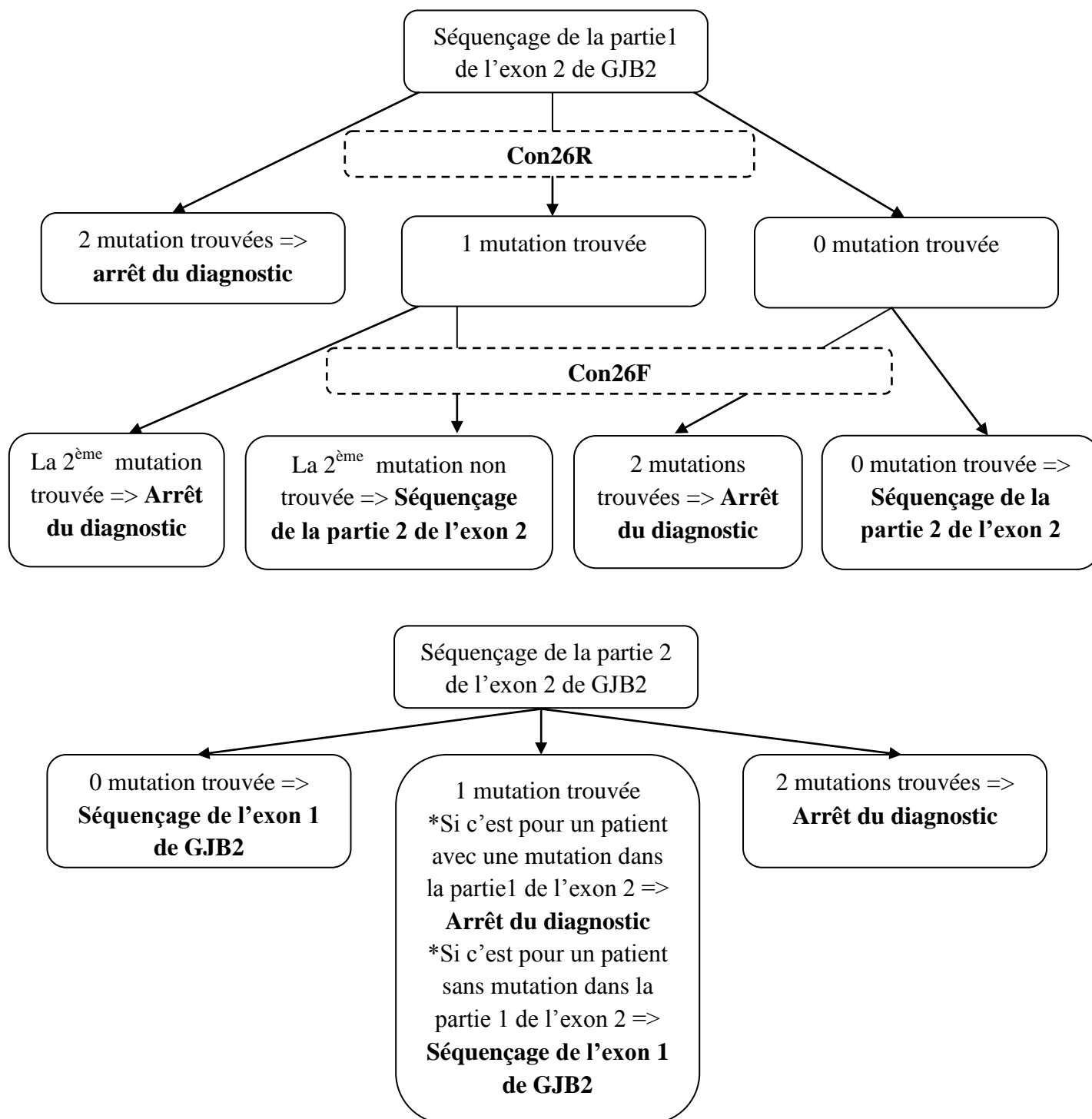
b. La précipitation de l'ADN à l'éthanol

- 1- Ajouter 2 volumes d'éthanol (100%) froid.
- 2- Pêcher délicatement la méduse d'ADN avec une pipette Pasteur boulée.
- 3- Laver à deux reprises la méduse d'ADN dans de l'éthanol (70%) dans un tube de 10 ml et la mettre dans une tube propre de 1.5 ml.
- 4- Ajouter 0.5 ml de tampon TE afin de resuspendre la méduse d'ADN.
- 5- Mettre sur la roue pendant 24 à 48 heures pour dissoudre complètement la méduse d'ADN.

VI. Le dosage de l'ADN

La concentration en ADN de l'échantillon est estimée par spectrophotométrie. En effet, les acides nucléiques présentent un pic d'absorption dans l'ultraviolet. Le maximum de cette absorption se situe à 260 nm. L'interférence par des contaminants se reconnaît par calcul d'un « ratio ». Les protéines absorbent à 280 nm, le ratio A_{260}/A_{280} est utilisé pour estimer la pureté de l'acide nucléique. L'ADN pur devrait avoir un ratio d'environ 1.8, tandis que l'ARN pur devrait avoir une valeur d'environ 2.0. L'absorption à 230 nm reflète la contamination de l'échantillon par des substances telles que les hydrates de carbone, les peptides, les phénols ou les composés aromatiques. Dans le cas d'échantillons purs, le ratio A_{260}/A_{230} devrait être d'environ 2.2. Au laboratoire, le « NANODROP » est utilisé pour réaliser le dosage. Il suffit de déposer dans l'appareil 2 μ l d'ADN extrait pour déterminer sa concentration et obtenir la courbe qui renseigne sur sa pureté.

VII. La stratégie de recherche de mutations au niveau du gène GJB2



Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

VIII. L'amplification des séquences nucléotidiques par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)

VIII.1. Le principe de la PCR

La réaction PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'amplifier in vitro une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier.

Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle.

Pour avoir la réplication d'un ADN double brin, il faut agir en trois étapes:

- Dénaturation de l'ADN pour obtenir des matrices simple brin;
- Hybridation des amorces spécifiques;
- Réalisation de la réaction de polymérisation du brin complémentaire par l'enzyme polymérase.

A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin.

VIII.2. Le protocole expérimental de la PCR

VIII.2.1. La PCR des parties 1 et 2 de l'exon 2 du gène GJB2

1. Préparer le Mix de la PCR:

H ₂ O = 16.4 µl	}	(x) le nombre de tubes
TP (10X) = 2.5 µl		
MgCl ₂ (50 mM) = 0.75 µl		
dNTP (20 mM) = 0.25 µl		
Amorce (F) [5 µM] = 1µl		
Amorce (R) [5 µM] = 1 µl		
Taq polymérase = 0.1 µl		

Chapitre III : Etude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité autosomique récessive chez les Chaouis

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

2. Mettre dans chaque tube de PCR, 22 µl du Mix et 3 µl d'ADN dilué 1/10.

3. Lancer la PCR dans un thermocycleur ABI (Applied Biosystem 2720).

96°C	4 min	} 35 cycles
94°C	30 sec	
53°C	35 sec	
72°C	40 sec	
72°C	10 min	
14°C	pause	

Les amorces utilisées dans la réaction de PCR des parties 1 et 2 de l'exon 2 du gène GJB2 sont mentionnées respectivement dans les tableaux 18 et 19.

Tableau 18: Amorces utilisées dans la PCR de la partie 1 de l'exon 2 du gène GJB2.

	Partie 1 de l'exon 2 de GJB2	Conservation des amorces
Amorce (Con26F)	5' GAGGTTGTGTAAGAGTTGGTGTT 3'	-20°C
Amorce (Con26R)	5' TCTTCTCATGTCTCCGGTAG 3'	
Tm	53°C	
Taille	457 pb	

Tableau 19: Amorces utilisées dans la PCR de la partie 2 de l'exon 2 du gène GJB2.

	Partie 2 de l'exon 2 de GJB2	Conservation des amorces
Amorce (GJB2 2F)	5' CCAGGCTGCAAGAACGTGT 3'	-20°C
Amorce (GJB2 2R)	5' ACAGCTGAGCACGGGTTG 3'	
Tm	53°C	
Taille	597 pb	

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

VIII.2.2. La PCR de l'exon 1 du gène GJB2

1. Préparer le Mix de la PCR:

H ₂ O = 16.4 µl	} (x) le nombre de tubes
TP (10X) = 2.5 µl	
MgCl ₂ (50 mM) = 0.75 µl	
dNTP (20 mM) = 0.25 µl	
Amorce (F) [5 µM] = 1 µl	
Amorce (R) [5 µM] = 1 µl	
Taq polymérase = 0.1 µl	

2. Mettre dans chaque tube de PCR, 22 µl du Mix et 3 µl d'ADN dilué 1/10.

3. Lancer la PCR dans un thermocycleur ABI (Applied Biosystem 2720).

96°C	4 min	} 35 cycles
94°C	30 sec	
60°C	35 sec	
72°C	40 sec	
72°C	10 min	
14°C	pause	

Les amorces utilisées dans la réaction de PCR de l'exon 1 du gène GJB2 sont mentionnées respectivement dans le tableau 20.

Tableau 20: Amorces utilisées dans la PCR de l'exon 1 du gène GJB2.

	Exon 1 de GJB2	Conservation des amorces
Amorce (GJB2 1F)	5' GCCGCCCCCTCCGTAAC TTTC 3'	-20°C
Amorce (GJB2 1R)	5' CGTGTGTTGGTCCAGCCCCC 3'	
Tm	60°C	
Taille	362 pb	

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

IX. L'électrophorèse sur gel d'agarose 1%

IX.1. Le principe

L'électrophorèse sur gel d'agarose 1% contenant du BET 1/10000 (Bromure d'Ethidium) permet d'examiner les résultats de la PCR et de vérifier que le produit d'amplification est à la taille attendue. Le BET est un agent intercalant qui se glisse entre les bases azotées donnant ainsi une fluorescence sous exposition aux U.V, ce qui permet de visualiser l'ADN et de vérifier sa migration.

La vitesse de migration dépend de la taille du fragment de l'ADN à amplifier. Ainsi, plus la taille est élevée, moins est la distance de migration. Le pourcentage d'agarose dépend aussi de la taille du produit d'ADN à tester.

Du bleu de dépôt est ajouté aux produits de PCR. Cette solution permet d'alourdir l'ADN permettant ainsi son maintien au fond des puits.

Un marqueur de taille et un témoin négatif (uniquement le mix de PCR) sont déposés en même temps que l'ADN pour estimer respectivement la taille des produits amplifiés et pour tester les éventualités de contamination.

Par la suite le gel d'agarose 1% contenant les ADNs, le marqueur de taille et le témoin négatif est déposé dans une cuve d'électrophorèse.

La visualisation de l'ADN est réalisée sous exposition aux rayons U.V.

IX.2. La réalisation pratique

1. Préparer le gel d'agarose 1% en mélangeant 5 g d'agarose et 50 ml de TBE 1X.
2. Mettre la préparation sur l'agitateur jusqu'à obtention d'un mélange homogène.
3. Ajouter 8 µl de BET 1/10000 et mélanger.
4. Couler le gel.
5. Dans chaque puits du gel, dispatcher 2 µl d'ADN à tester mélanger à une goutte de bleu de dépôt.
6. Ajouter 2 µl de marqueur de taille dans un puits vide.
7. Ajouter 2µl de témoin négatif dans un autre puits vide.
8. Mettre le gel dans la cuve d'électrophorèse et laisser migrer les ADNs.
9. Après migration, visualiser les bandes de migration sous U.V.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

X. Le séquençage automatique

X.1. Le principe

Cette technique repose sur le principe de séquençage enzymatique développé par Sanger pour établir la séquence nucléotidique des molécules d'ADN.

A l'origine, la méthode de Sanger consistait à synthétiser, *in vitro*, des brins d'ADN complémentaires à l'ADN matrice en utilisant une amorce marquée à la radioactivité et des didésoxyribonucléotides (ddNTP) qui lorsqu'ils sont incorporés bloquent l'extension des nouveaux brins synthétisés à cause de l'absence d'une extrémité 3' OH libre. La compétition entre l'incorporation des dNTPs et des ddNTPs aboutit à la synthèse d'un ensemble de brins radioactifs de longueurs différentes qui peuvent être visualisés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Depuis, cette méthode a été améliorée et automatisée. Le marquage des fragments d'extension est réalisé désormais par l'incorporation de ddNTPs fluorescents.

Dans notre étude, les produits PCR purifiés ont été séquencés grâce au séquenceur automatique ABI Prism 377 Perkin Elme DNA sequence (APPLIED BIOSYSTEMS) en utilisant le kit Big Dye Terminator (APPLIED BIOSYSTEMS). Ce kit comprend:

- Le *Terminator Ready Reaction Mix* qui présente l'avantage de contenir tous les composants nécessaires à la réaction de séquençage dans un seul tube:

- *A-Dye Terminator* marqué au dichloro [R6G] ;
- *C-Dye Terminator* marqué au dichloro [ROX] ;
- *G-Dye Terminator* marqué au dichloro [R110] ;
- *T-Dye Terminator* marqué au dichloro [TAMRA].
- Désoxyribonucléotides triphosphates (dATP, dCTAP, dGTP et dTTP) ;
- *AmpliTaq DNA Polymerase FS*, avec pyrophosphatase thermostable ayant une mutation au niveau de son site actif qui la rend moins discriminante envers les didésoxyribonucléotides ;
- MgCl₂ ;
- Tampon Tris-HCl, pH = 9.

- Control Prime (forward), 0.8 pmol/μl ;

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

- ADN de contrôle double brin, 0.2 µg/µl.

Au cours de l'électrophorèse, la lecture se fait en temps réel à travers une fenêtre de détection, après excitation des fluorophores par un laser bichromatique. Le séquenceur automatique, *ABI Prism 377 DNA Sequencer*, intègre les données de migration et les transforme en électrophorégrammes sous forme de pics de couleurs différentes correspondant aux séquences nucléotidiques des fragments d'ADN synthétisés.

X.2. La purification des produits de PCR

La purification permet d'obtenir des produits d'amplification débarrassés de tous les composants du mélange réactionnel de la PCR.

Cette purification est réalisée à l'aide de deux enzymes: l'exonucléase I, qui permet d'éliminer les amorces libres grâce à son activité exonucléasique et l'enzyme Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP), qui permet d'éliminer les phosphates en 5' des dNTP et donc rend leur incorporation dans l'ADN impossible.

A chaque 5 µl du produit de PCR, sont ajoutés 0.5 µl de l'enzyme exonucléase I, 0.5 µl de l'enzyme SAP et 4 µl de H₂O bidistillée stérile pour obtenir un volume final de 10 µl. La réaction est incubée pendant 40 minutes à 37°C, la température d'action des enzymes, puis pendant 20 minutes à 80°C permettant la dénaturation des enzymes et donc stopper leurs actions.

X.3. La réalisation pratique

X.3.1. La purification des produits PCR par l'EXO-SAP

- 1- Vortexer l'EXO I et le SAP puis faire un coup de centrifugation.
- 2- Préparation du mix (0.25 µl EXO + 0.5 µl SAP + 4.25 µl H₂O).
- 3- Vortexer et faire un coup de centrifugation de l'éppendorf.
- 4- Dispatcher dans chaque puits de la plaque de séquençage 5 µl du mix et 5 µl des produits de PCR.
- 5- Fermer les puits avec des barrettes.
- 6- Faire un coup de centrifugation de la plaque pour enlever les bulles d'air.
- 7- Placer la plaque dans le thermocycleur :

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

Le programme: $\left\{ \begin{array}{l} 37^{\circ}\text{C} \rightarrow 10 \text{ minutes (activation des enzymes)} \\ 80^{\circ}\text{C} \rightarrow 20 \text{ minutes (inactivation des enzymes)} \end{array} \right.$

X.3.2. La PCR de séquence

- 1- Préparation du mix (4 μl Tp5* + 4 μl H₂O + 1 μl Big dye).
- 2- Vortexer et faire un coup de centrifugation.
- 3- Dispatcher dans chaque puits 9 μl du mix et pipeter à chaque fois.
- 4- Ajouter 1 μl du primer: Con26R pour la partie 1 de l'exon 2 de GJB2, GJB2 2F pour la partie 2 de l'exon 2 de GJB2 et GJB2 1F pour l'exon 1 de GJB2.
- 5- Mettre dans chaque puits 10 μl de produits purifiés.
- 6- Placer la plaque dans le thermocycleur pour la réaction de séquence:

Le programme:

$\left. \begin{array}{l} 96^{\circ}\text{C} \rightarrow 10 \text{ secondes} \\ 50^{\circ}\text{C} \rightarrow 5 \text{ secondes} \\ 60^{\circ}\text{C} \rightarrow 4 \text{ minutes} \end{array} \right\} \times 25 \text{ cycles}$
4°C $\rightarrow \infty$

X.3.3. La précipitation à l'éthanol 70%

- 1- Mettre dans chaque puits 80 μl d'éthanol 70%.
- 2- Refermer avec les barrettes et mélanger trois fois au minimum par renversement.
- 3- Couvrir la plaque avec du papier aluminium et laisser pendant 15 minutes à température ambiante.
- 4- Centrifuger à 4700 t/min pendant 15 minutes.
- 5- Jeter le surnageant d'un coup sec et laisser la plaque à l'envers.
- 6- Enlever l'excédent d'alcool en plaçant la plaque sur du papier absorbant.
- 7- Faire un coup de centrifugation à 1000 t/min pendant 2 minutes (la plaque doit être mise à l'envers et sur du papier absorbant sec).
- 8- Laisser sécher les gouttelettes d'alcool qui restent (environ 2 minutes à l'air libre).
- 9- Dispatcher 15 μl de formamide par puits et mélanger en pipetant.

Matériel & Méthodes

SAOUDI. S, 2015

X.3.4. La préparation du gel polyacrylamide

Afin de séparer un ensemble de fragments d'ADN qui diffèrent selon la taille par une seule paire de base, on utilise le gel polyacrylamide à 6%.

La préparation du gel de polyacrylamide se fait de la manière suivante:

1. Dissoudre 18 g d'urée dans 5.625 ml d'acrylamide à 40% et 20ml d'eau désionisée, en présence d'une cuillère de résine.
2. Agiter à froid jusqu'à dissolution de l'urée.
3. L'agitation est suivie par la filtration et le dégazage.
4. Ajouter au mélange 10 ml de TBE 5X.
5. Ajouter à la solution ainsi préparée 250 μ l de PSA (persulfate d'ammonium) à 10% et 30 μ l de TEMED (tetraméthylène-diamine).
6. Couler le gel entre deux plaques de verre, du système d'électrophorèse vertical, préalablement nettoyées avec de l'eau et de l'éthanol et séparées par des espaceurs de 2 mm.
7. Après polymérisation, monter le gel sur la cuve du séquenceur automatique et le mettre pré-run pendant 20 minutes. Cette étape permet le chauffage du gel dont la température doit atteindre 50°C afin d'assurer les conditions dénaturantes de la migration qui dure entre 7 heures et 10 heures.

XI. L'analyse bioinformatique des séquences

Les séquences obtenues sont analysées à l'aide du logiciel *Sequencher* (version 4.10.1). Elles sont alignées et comparées aux séquences de référence des deux parties de l'exon 2 et l'exon 1 extraites de la séquence de référence du gène GJB2, et ce afin d'identifier les mutations de chaque séquence.

RESULTATS

Résultats

SAOUDI. S, 2015

I. Les résultats de l'enquête génétique familiale

Après la collecte des informations nécessaires, les principaux résultats de l'enquête génétique familiale préliminaire, des deux patients atteints de surdité non syndromique, sont présentés dans le tableau 21.

Tableau 21: Les liens de parenté et l'existence de cas de surdité dans les familles des patients.

	Données				
	Consanguinité			Même cas dans la famille	
	Parents	gpp	gpm	gpp	gpm
Patient 1	+	+	+	-	+
Patient 2	-	+	+	-	+

gpp: grands-parents paternels et **gpm:** grands-parents maternels.

II. Les résultats de l'étude moléculaire

II.1. Les résultats de l'extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN a été réalisée par la méthode classique «Salting- Out» à partir du sang total des patients étudiés (un patient pour chaque famille).

Le rapport de l'absorbance DO260/DO280, est compris pour tous les échantillons entre les valeurs 1.8 et 2, ce qui laisse conclure que ces extraits ne sont pas contaminés par les protéines et peuvent être qualifiés de purs.

II.2. Les résultats de l'amplification du gène GJB2 par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR du gène GJB2 a été réalisée pour l'exon 1 et pour les deux fragments de l'exon 2 (partie 1 et partie 2).

Les produits d'amplification obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose 1% ont été visualisés sous UV.

Résultats

SAOUDI. S, 2015

Les résultats montrent que les produits amplifiés, dans le but d'être séquencés, ne contiennent pas de contaminants et que la taille des bandes recherchées pour chaque exon est obtenue.

Le produit d'amplification par PCR étant de bonne qualité et ne contenant pas de contaminants, le séquençage peut alors être réalisé.

II.3. Les résultats du séquençage

II.3.1. Les résultats du séquençage de la partie 1 de l'exon 2 du gène GJB2

Suite au séquençage de la partie 1 de l'exon 2 du gène GJB2 en utilisant l'amorce Con26R, aucun des deux patients ne présentait une mutation à ce niveau.

II.3.2. Les résultats du séquençage de la partie 2 de l'exon 2 du gène GJB2

Suite au séquençage de la partie 2 de l'exon 2 du gène GJB2 en utilisant l'amorce GJB2 2F, aucun des deux patients ne présentait une mutation à ce niveau.

II.3.3. Les résultats du séquençage de l'exon 1 du gène GJB2

Suite au séquençage de l'exon 1 du gène GJB2 en utilisant l'amorce GJB2 1F, aucun des deux patients ne présentait une mutation à ce niveau.

En résumé, chez les deux patients atteints de surdité non syndromique récessive, nous n'avons pas trouvé de mutations dans le gène GJB2.

DISCUSSION

Discussion

SAOUDI. S, 2015

La surdité, toutes origines confondues, est le déficit neurosensoriel le plus fréquent chez l'enfant. Elle touche 1.3 à 2.3 enfants sur 1000 dans les pays industrialisés.

Sur une population française, des anomalies homozygotes de la connexine 26 ont été retrouvées dans 51% des cas de surdités prélinguales récessives et dans 31% des cas sporadiques. Cette proportion était de 55% lorsque la surdité était profonde, de 48% si l'atteinte était sévère, de 42% si elle était de sévérité moyenne et de 14% parmi les surdités prélinguales légères. La prévalence des surdités bilatérales sévères et profondes est estimée entre 0.5 à 2 enfants pour 1000 naissances. Au Maroc, on compte environ 640 000 naissances par an, ce qui correspondrait à 640 nouveau-nés qui naissent avec une surdité bilatérale sévère ou profonde par an sans énumérer les surdités acquises (Santé en chiffre, 2010).

Ces chiffres démontrent bien que la surdité de l'enfant doit être considérée comme un problème de santé publique.

Plus de 50% des surdités non syndromiques autosomiques récessives sont causées par des mutations dans le gène GJB2 (locus DFNB1).

La protéine connexin-26 (Cx26) est codée par le gène GJB2. Elle appartient à la famille des connexines, impliquées dans la communication jonctionnelle intercellulaire (Kelsell *et al.*, 1997).

Trois mutations dans GJB2 sont d'une importance particulière suite à leurs distributions ethno-spécifiques (Azaiez *et al.*, 2006).

Dans la majorité des populations Caucasiennes, la c.35delG serait la mutation la plus répandue (plus de 70%) de toutes les mutations de GJB2 (Hilgert *et al.*, 2009).

Chez les Juifs Ashkenazi, la c.167delT compterait 40% des allèles pathologiques dans la population sourde (Liu *et al.*, 2002 ; Morell *et al.*, 1998 ; Sobe *et al.*, 2000).

Enfin, chez la population asiatique, la c.235delC aurait des proportions variant de 1.5% en Mongolie (Tekin *et al.*, 2010) à 50% au Japon (Tsukada *et al.*, 2010).

En Tunisie, la mutation la plus commune du gène GJB2 est la c.35delG (Ben Said *et al.*, 2012). En effet, trois études ont porté sur ce sujet en analysant les mutations de GJB2 en Tunisie.

Discussion

SAOUDI. S, 2015

La première a rapporté que la mutation c.35delG a été retrouvée chez 11 familles sur 70 (15.71%) (Masmoudi *et al.*, 2000). Tandis qu'elle a été détectée chez 17 familles sur 70 (24.29%) dans la deuxième étude (Belguith *et al.*, 2005) et chez 23 familles sur 102 (22.55%) dans la troisième étude (Belguith *et al.*, 2009).

En Slovénie, Battellino et ses collaborateurs (2011) ont rapporté que 31.6% des sujets atteints de surdité non syndromique prélinguale sont porteurs de la mutation c.35delG que ce soit à l'état homozygote ou hétérozygote composite.

En Algérie, 76% de tous les allèles mutants de GJB2 sont dus à la mutation c.35delG (Ammar-Khodja *et al.*, 2009).

La forte prévalence des mutations du gène GJB2 et surtout de la mutation 35delG pourrait être expliquée par la longue tradition des mariages consanguins responsables de la concentration de certaines mutations, mais aussi l'apparition plus fréquente de maladies congénitales à transmission autosomique récessive.

D'autres mutations du gène GJB2 ont été décrites. Par exemple les mutations: c.235delC, p.V37I, p.G130A et IVS1+1G>A (c.-3170G>A) ont été décrites pour la première fois en Tunisie (Riahi *et al.*, 2013).

La c.235delC est une délétion d'une cytosine à la position 235, décrite pour la première fois au Japon (Yuan *et al.*, 2010). Il s'agit de la mutation la plus prévalente chez les populations asiatiques avec une fréquence allélique de 3.9% (Ohtsuka *et al.*, 2003) à 5.3% (Tsukada *et al.*, 2010) au Japon, 1.5% en Mongolie (Tekin *et al.*, 2007), 6.9% en Corée (Lee *et al.*, 2008) et 12.34% en Chine (Dai *et al.*, 2009).

La p.V37I est une mutation missense (c.109G>A) décrite pour la première fois en tant que polymorphisme aux U.S.A par Kelley et ses collaborateurs (1998) mais après, elle a été considérée étant pathogénique (Pollak *et al.*, 2007).

Cette mutation est hautement prévalente en Asie de l'Est avec une fréquence allélique de 6.2% en Chine (Li *et al.*, 2012) et de 1.75% au Japon (Tsukada *et al.*, 2010).

Discussion

SAOUDI. S, 2015

La p.G130A est une mutation missense (c.389G>C). Elle a été décrite pour la première fois au Taiwan avec une fréquence allélique de 0.15% (Hwa *et al.*, 2003). Cette mutation a été également retrouvée en Iran et en Italie avec des fréquences alléliques respectivement de 0.18% et 0.13% (Chaleshtori Hashemzadeh *et al.*, 2005; Primignani *et al.*, 2009).

La mutation IVS1+1G>A a été retrouvée, chez un patient, à l'état hétérozygote composite avec la mutation c.35delG. Cette mutation est prédite à déséquilibrer le phénomène d'épissage, ce qui engendrerait un ARNm non détectable (Yuan *et al.*, 2010).

Dans notre étude préliminaire de l'étiologie moléculaire de la surdité non syndromique chez des patients Chaouis, aucune mutation du gène GJB2 n'a été enregistrée, ce qui nous laisse à suggérer l'existence d'autres gènes impliqués dans l'étiologie de la surdité non syndromique chez ces patients.

Il serait intéressant d'analyser d'autres gènes qui ont été identifiés comme gènes candidats de la surdité non syndromique afin de déterminer leur contribution.

CONCLUSION

Conclusion

SAOUDI. S, 2015

La surdité autosomique récessive non syndromique constitue un véritable problème de santé publique, vue sa grande fréquence.

A travers notre étude, l'implication incontestable et fréquente de la mutation c.35delG du gène GJB2 dans la surdité autosomique récessive non syndromique chez les Chaouis, comme c'est le cas dans d'autres pays du pourtour méditerranéen, n'a pas pu être confirmée. Nous n'avons également pas identifié d'autres mutations du gène de la connexine 26.

La recherche systématique de la mutation 35delG, chez un sujet atteint d'une surdité, est aujourd'hui un outil important pour la santé publique. Elle permet d'améliorer considérablement la qualité du conseil génétique sollicité par les parents et de répondre avec précision à de nombreuses questions sur le caractère héréditaire de la surdité, les risques pour les enfants à venir et l'évolution de la surdité.

Un séquençage de toute la partie codante du gène GJB2 doit être entrepris en l'absence de cette mutation.

L'absence d'altérations génétiques de GJB2 chez nos patients suggère clairement l'implication d'autres gènes nécessitant une analyse génétique plus poussée, telle que le *Whole Exome Sequencing* ou encore le *Whole Genome Sequencing*.

Actuellement, les méthodes de séquençage à haut débit sont porteuses de grands espoirs en terme d'innovations médicales notamment dans le diagnostic moléculaire des surdités d'origine génétique. Un panel de 100 gènes possiblement impliqués dans les surdités syndromiques et non syndromiques pourrait être testé.

CONCLUSION
GENERALE
&
PERSPECTIVES

La caractérisation de la structure familiale et anthropogénétique de la population Chaoui, située dans l'Est Algérien, à travers l'analyse du mode du choix matrimonial et la biodiversité de l'ADN mitochondrial a permis de déterminer respectivement les fréquences des principales classes d'homogamie et les différentes composantes génétiques mitochondriales de cette population.

Ainsi, les mariages homogames constituent, depuis plusieurs générations et encore à ce jour une pratique sociale courante dans notre population, malgré que l'impact de telle pratique ne soit pas toujours compris.

La diversité mitochondriale des Chaoui peut refléter des contributions génétiques inégales d'origines eurasiatique, subsaharienne, Nord-africaine et du nouveau monde ayant eu lieu au cours de la préhistoire et de l'histoire. Ainsi, la population Chaoui, à l'instar de la population Nord-africaine, dans son ensemble, est en réalité une mosaïque de composantes génétiques.

L'étude préliminaire des causes génétiques de la surdité autosomique récessive non syndromique chez deux familles Chaouis nous a permis d'exclure l'implication du gène GJB2. Des analyses moléculaires antérieures sont envisagées pour ces deux familles. La stratégie adoptée sera l'étude de l'implication de gènes candidats, le *Whole Exome Sequencing* et le *Whole Genome Sequencing*.

Des travaux antérieurs sont prévus dans la perspective d'étudier la structure familiale et anthropogénétique de la population Chaoui sur tout le territoire des Aurès et d'étudier l'impact des mariages consanguins sur l'apparition des maladies génétiques.

Des analyses génétiques plus poussées sont programmées pour les patients atteints de surdité non syndromique autosomique récessive, en commençant d'abord par le *Whole Exome Sequencing* (WES) qui, comme son nom l'indique, permet la détection de mutation sur l'ensemble de l'exome. Si les résultats obtenus sont négatifs, alors nous procéderont à une analyse du génome entier, c'est ce que l'on appelle le *Whole Genome Sequencing* (WGS).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

A

Abdelrahman A.I. 1994. Niveau d'instruction et homogamie dans le nord et le milieu urbain du Soudan, 1945-1979. *Journal of Biosocial Science*, 26 (3), 341-348.

Abdulbari B. 2005. Is there any association between consanguinity and hearing loss. *Int. J. Pediat. Otorhinolaryngol*, 69, 327-333.

Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. 2000. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J. Med. Genet*, 37, 41-43.

Abidi O, Boulouiz R, Nahili H. 2007. GJB2 (connexin 26) gene mutations in Moroccan patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss and carrier frequency of the common GJB2-35delG mutation. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 71, 1239-1245.

Abu-Amero K.K, Alzahrani A.S, Zou M, Shi Y. 2006. Association of mitochondrial DNA transversion mutations with familial medullary thyroid carcinoma/multiple endocrine neoplasia type 2 syndrome. *Oncogene*, 25, 677-684.

Akiyama M, Sakai K, Arita K, Nomura Y, Ito K, Kodama K, McMillan JR, Kobayashi K, Sawamura D, Shimizu H. 2007. A novel GJB2 mutation p. Asn54His in a patient with palmoplantar keratoderma, sensorineural hearing loss and knuckle pads. *J Invest Dermatol*, 127, 1540-1543.

Al Ghazali L.I, Bener A, Abdulrazzaq Y.M, Micallef R, Al Khayat I, Gaber T. 1997. Consanguineous marriages in the United Arab Emirates. *Journal of Biosocial Science*, 29, 491-497.

Alberti P.W, Hyde M.L, Riko K, Corbin H, Abramovitch S. 1983. An evaluation of BERA for hearing screening in high risk neonates. *Laryngoscope*, 93, 1115-1121.

Ameziane N, Bogard M, Lamoril J. 2005. *Principes de biologie moléculaire en biologie clinique*, 705.

Ammar-Khodja F, Faugère V, Baux D, Giannesini C, Léonard S, Makrelouf M, Malek R, Djennaoui D, Zenati A, Claustres M, Roux A.F. 2009. Molecular screening of deafness in

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Algeria: high genetic heterogeneity involving DFNB1 and the Usher loci, DFNB2/USH1B, DFNB12/USH1D and DFNB23/USH1F. *Eur. J. Med. Genet*, 52 (4), 174–179.

Anderson S, Bankier A.T, Barrel B.G, Bruijn M.H.L, Coulson A.R, Drouin J, Eperon I.C, Nierlich D.P, Roe B.A, Sanger F, Schreier P.H, Smith A.J.H, Staden R, Young I.G. 1981. Sequence and organisation of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290, 457-465.

Aquadero C.F, Greenberg B.D. 1983. Human mitochondrial DNA variation and evolution: analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics*, 103, 287-312.

Arehart K.H, Yoshinaga-Itano C, Thomson V, Gabbard S.A, Stredler Brown A. 1998. State of the States: The status of universal newborn screening, assessment and intervention systems in 16 states. *American Journal of Audiology*, 7, 101-114.

Ashmore J. 2008. Cochlear outer hair cell motility. *Physiol Rev*, 88, 174-210.

Attazagharti N, Hami H, Soulaymani A, Benali D, Khadmaoui A, Mokhtari A. 2006. Consanguinité et Isonymie dans la Région du Gharb au Maroc. *Biologie & Santé*, 6 (2), 1-8.

Avery O.T, Macleod C.M, Mc Carty M. 1944. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types: Induction of Transformation by a Desoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type Iii. *J Exp Med*, 79, 137-58.

Azaiez H, Van Camp G, Smith R.J. 2006. Connexins and deafness: from molecules to disease. *Semin. Hear*, 27, 148–159.

B

Ballinger S.W, Schurr T.G, Torroni A, Gan Y.Y, Hodge J.A, Hassan K, Chen K.H, Wallace D.C. 1992. Southeast Asian Mitochondrial DNA Analysis Reveals Genetic Continuity of Ancient Mongoloid Migrations. *Genetics*, 130, 139-152.

Bandelt H.J, Forster P, Rohl A. 1993. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol*, 16, 37-48.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Bandelt H.J, Quintana-Murci L, Salas A, Macaulay V. 2002. The fingerprint of phantom mutations in mitochondrial DNA data. *Am J Hum Genet*, 71, 1150-1160.

Battellino S, Gorazd R, Zargi M, Trebusak Podkrajsek K, Peterlin B. 2011. Connexin 26 (GJB2) and connexin 30 del(GJB6-D13S1830) mutations in Slovenians with prelingual non-syndromic deafness. *Int. Adv. Otol*, 7 (3), 372-378.

Belguith H, Hajji S, Salem N, Charfeddine I, Lahmar I, Amor M.B, Ouldim K, Chouery E, driss N, Drira M, Mégarbané A, Rebai A, Sefiani A, Masmoudi S, Ayadi H. 2005. Analysis of GJB2 mutation: evidence for a Mediterranean ancestor for the 35delG mutation. *Clin. Genet*, 68 (2), 188-189.

Belguith H, Tlili A, Dhouib H, Ben Rebeh I, Lahmar I, Charfeddine I, Driss N, Ghorbel A, Ayadi H, Masmoudi S. 2009. Mutation in gap and tight junctions in patients with nonsyndromic hearing loss. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 385 (1), 1-5.

Bellis G, Valentin C, Glavce C, Popescu I, Ciovisa C, Vladareanu F, Gerard N, Krishnamoorthy R, De Braekeleer M. 2001. Génétique des populations de la β thalassémie en Sicile et en Algérie-données comparées à la Roumanie. *Antropo*, 1, 1-5.

Beltramello M, Piazza V, Bukauskas F.F. 2005. Impaired permeability to Ins(1,4,5)P3 in a mutant connexin underlies recessive hereditary deafness. *Nat. Cell. Biol*, 7, 63-69.

Ben Arab S, Masmoudi S, Beltaief N, Hachicha S, Ayadi H. 2004. Consanguinity and endogamy in Northern Tunisia and its impact on non-syndromic deafness. *Genetic Epidemiology*, 27 (1), 74-79.

Ben Hamadi B. 1994. Les ménages consanguins au Maroc: caractéristiques et déterminants. In the Proceedings of the 1994 Aranjuez Conference, 223-234.

Ben Hamadi B. 1996. Modèles de Familles et Fécondité au Maroc. Congrès Régional Arabe de Population, U. I. E. S. P, Le Caire, 250-272.

Ben Mrad L, Chalbi N. 2004. Le choix matrimonial en Tunisie est-il transmissible? Colloques du Groupement des Anthropologistes de Langue Française (GALF), *Antropo*, 7, 31-37.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Ben Mustapha M, Chalbi N. 1988. La mortalité infantile et la consanguinité. O.N.F.P.Tunis, In Famille et Population, 7.

Ben Said M, Dhouib H, Ben Zina Z, Ghorbel A, Moreno F, Masmoudi S, Ayadi H, Hmani-Aifa M. 2012. Segregation of a new mutation in SLC26A4 and p.E47X mutation in GJB2 within a consanguineous Tunisian family affected with Pendred syndrome. Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol, 76 (6), 832-836.

Bender K, Schneider P.M, Rittner C. 2000. Application of mtDNA sequence analysis in forensic casework for the identification of human remains. Forensic. Sci. Int, 113, 103-107.

Bener A, Hussain R, Teebi A.S. 2007. Consanguineous Marriages and Their Effects on Common Adult Diseases: Studies from an Endogamous Population. Medical Principles and Practice, 16, 262-267.

Benito Orejas J.I, Ramirez Cano B, Morais Pérez D, Fernandez-Calvo J.L, Almaraz Gomez A. 2008 Mar. Results of applying a universal protocol for early detection of hypoacusia in newborn infants for 42 months. Acta Otorrinolaringol Esp, 59 (3), 96-101.

Bennett M.J. 1979. Trials with the auditory response cradle. Neonatal responses to auditory stimuli. Br J Audiol, 13, 125-34.

Berezkei T, Voros S, Gal A, Bernath L. 1997. Resources, attractiveness, family commitment; reproductive decisions in human mate choice. Ethology, 103 (8), 681-699.

Berezkei T, Gyuris P, Koves P, Bernath L. 2002. Homogamy, genetic similarity, and imprinting; parental influence on mate choice preferences. Personality and Individual Differences, 33, 677-690.

Bertranpetit J, Sala J, Calafell F, Underhill P.A, Moral P, Comas D. 1995. Human mitochondrial DNA variation and the origin of Basques. Ann. Hum. Genet, 59, 63-81.

Bielecki I. 2011. Risk factors associated with hearing loss in infants: An analysis of 5282 referred neonates. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 75, 925-930.

Biemont C, Bouffette A.R, Bouffette J. 1974. Théorie chromosomique de l'inbreeding : Modèle probabiliste. Bulletin of mathematical biology, 36, 417-434.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Billings K.R, Kenna M.A. 1999. Causes of pediatric sensorineural hearing loss. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 125, 517-21.

Biondi G, Raspe P, Mascie-Taylor C.G, Lasker G.W. 1996. Repetition of the same pair of surnames in marriages in Albanian Italians, Greek Italians, and the Italian population of Campobasso Province. Hum. Biol, 68 (4), 573-583.

Bittles A. H. 1990. Consanguineous Marriage: Current Global Incidence and its Relevance to Demographic Research. Population Studies Center, Research Report no. 90-186. Ann Arbor: University of Michigan.

Bittles A.H. 1991. Consanguinité: A major variable in studies on North African reproduction behaviour; Morbidity and Mortality? D. H. S. World Conference, 321-341.

Bittles A.H. 1994. The role and significance of consanguinity as a demographic variable. Population and Development Review, 20, 561-584.

Bittles A.H. 2002. Endogamy, Consanguinity and community genetics. J. Genet, 81 (3), 91-98.

Bittles A.H, Egerbladh I. 2005. The influence of past endogamy and consanguinity on genetic disorders in northern Sweden. Annals of Human Genetics, 69, 549-558.

Blanc H, Chen K.H, D'Amore M.A, Wallace D.C. 1983. Amino-acid change associated with the major polymorphic HincII site of oriental and caucasian DNAs mitochondrial. Am. J. Hum. Genet, 35, 167-176.

Bonné-Tamir B, Jhonson M.J, Natali A, Wallace D.C, Cavalli-sforza L.L. 1986. Human Mitochondrial DNA Types in Two Israeli Populations- A Comparative Study at the DNA Level. Am. J. Hum. Genet, 38, 341-351.

Booker L.M, Habermacher G.M, Jessie B.C, Sun Q.C, Baumann A.K, Amin M, Lim S.D, Fernandez-Golarz C, Lyles R.H, Brown M.D, Marshall F.F, Petros J.A. 2006. North American white mitochondrial haplogroups in prostate and renal cancer. J. Urol, 175, 468-472.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Bou-Assy F, Dumont S, Saillant F. 2003. Représentations sociales du mariage endogame et de ses conséquences biologiques sur la santé des descendants chez des fiancés apparentés : Cas de deux villages chiites au Liban. In *Service Social*, 50 (1), 174-198.

Bouccara D, Mosnier I, Bozorg-Grayeli A, Ferrary E, Sterkers O. 2005 Dec. Réhabilitation auditive : les possibilités actuelles. *NPG*, 5 (30), 28-33.

Boyce A.J, Küchemann C.F, Harrison G.A. 1967. Neighbourhood Knowledge and the distribution of marriage distances. *Ann. Hum. Genetic*, 30, 335-338.

Brandt A. 2003. CaV 1.3 Channels are essential for development and presynaptic activity of cochlear inner hair cells. *J. Neurosci*, 23, 10832-10840.

Brega A, Scozzari R, Maccioni L, Iodice C, Wallace D.C, Bianco I, Cao A, Santachiara Benerecetti A.S. 1986. Mitochondrial DNA polymorphisms in Italy. *Ann. Hum. Genet*, 50, 327-338.

Brookhouser P, Worthington D, Kelly W. 1994. Fluctuating and/or progressive sensorineural hearing loss in children. *Laryngoscope*, 104, 958-964.

Brown W.M, George M.J.R, Wilson A.C. 1979. Rapid Evolution of Animal Mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 1967-1971.

Brown W.M. 1980. Polymorphism in Mitochondrial DNA of Human as Revealed by Restriction Endonuclease analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 3605-3609.

Brown W.M, Prager E.M, Wang A, Wilson A.C. 1982. Mitochondrial DNA Sequences of Primates: Tempo and Mode of Evolution. *J. Mol. Evol*, 18, 225-239.

Brownstein Z, Bhonker Y, Avraham K.B. 2012. High-throughput sequencing to decipher the genetic heterogeneity of deafness. *Genome Biol*, 13, 245.

C

Cann R.L, Wilson A.C. 1983. Length Mutations in Human Mitochondrial DNA. *Genetics*, 104, 699-711.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

- Cann R.L**, Brown W.M, Wilson A.C. 1984. Polymorphic sites and the Mechanism of Evolution in Human Mitochondrial DNA. *Genetics*, 106, 479-499.
- Cann R.L**, Stoneking M, Wilson A.C. 1987. Mitochondrial DNA and Human Evolution. *Nature*, 325, 31-36.
- Caro Dobon L**, Santo Tomas Martinez J. 1994. Inbreeding in Ojeda and Pernia, 1875-1985, Province of Palencia, Spain. *Journal of Biosocial Science*, 26 (3), 327-340.
- Carod-Artal F.J**, Lopez Gallardo E, Solano A, Dahmani Y, Herrero M.D, Montoya J. 2006. Mitochondrial DNA deletions in Kearns-Sayre syndrome. *Neurologia*, 21, 357-364.
- Chaabani H**. 2002. GM polymorphism and the evolutionary history of modern humans. *Ann. Genet*, 45, 197-206.
- Chalbi N**, Ben Arab S. 1984. Consanguinity and its influence on some deleterious traits in human groups in North Tunisia, Proc 2nd Mediterranean Conf, 583-592.
- Chalbi N**. 1989. Kinship, marriage systems and evolution in some endogamous populations of North Tunisia. XXIst International Population Conference, UUSP, New-Delhi.
- Chalbi N**, Zakaria D. 1998. Modèles de famille, endogamie et consanguinité apparente en Tunisie. Essais de mesure. *Famille et Population*, Nouvelle série, 1, 39-59.
- Chaleshtori Hashemzadeh M**, Hoghooghi Rad L, Dolati M, Sasanfar R, Hoseinipour A, Montazer Zohour M, Pourjafari H, Tolooi A, Ghadami M, Farhud D.D, Patton M.A. 2005. Frequencies of mutations in the connexin 26 gene (GJB2) in two populations of Iran (Tehran and Tabriz). *Iran. J. Publ. Health* 34 (1), 1-7.
- Chan D.C**. 2006. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. *Cell*, 125, 1241-1252.
- Chang K.W**, Vohr B.R, Norton S.J, Lekas M.D. 1993. External and middle ear status related to evoked otoacoustic emission in neonates. *Arch Otolaryngol Head Neck Surj*, 119, 276-82.
- Chang Q**, Tang W, Ahmad S, Zhou B, Lin X. 2008. Gap junction mediated intercellular metabolite transfer in the cochlea is compromised in connexin 30 null mice. *PLoS ONE*, 3 (12), e4088.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Chapman A, Jacquart A. 1971. Un isolat d'Amérique Centrale : les indiens Jicaques du Honduras. Génétique et Populations, Hommage à Jean Sutter, INED, In Cahier n° 60, PUF.

Charles S, Esther R, Brunetto C, Larcier S.A. 2003. Anthropologie biologique ; Evolution et biologie humaine. Ed De Boeck, 15, 449-451.

Chelhod J. 1965. Le mariage avec la cousine parallèle dans le système Arabe. L'Homme, 3-4, 113-173.

Chen Y.S, Olckers , Schurr T.G, Kogelnik A.M, Huoponen K, Wallace D.C. 2000. mtDNA variation in the South African Kung and Khwe-and their genetic relationships to other African populations. Am. J. Hum. Genet, 66, 1362-1383.

Chiong C.M, Llanes E.G, Tirona-Remulla A.N, Calaquian C.M, Reyes-Quintos M.R. 2003 Jan. Neonatal hearing screening in a neonatal intensive care unit using distortion-product otoacoustic emissions. Acta Otolaryngol, 123 (2), 215-218.

Chomyn A, Mariottini P, Cleeter M.W.J, Ragan C.I, Matsuno-Yagi A, Hatefi Y, Doolittle R.F, Atardi G. 1985. Six Unidentified Reading Frames of Human Mitochondrial DNA Encode Components of Respiratory Chain NADH Deshydrogenase. Nature, 314, 592-597.

Clegge J, Ringrose T. 1998. Some factors affecting marital distances in the outer Hebrides. Journal of Biosocial Science, 30 (1), 43-62.

Cohen B.H, Gold D.R. 2001. Mitochondrial cytopathy in adults: what we know so far. Cleve. Clin. J. Med, 68, 625-626.

Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Leibovici M, Petit C. 1997. Otogelin: a glycoprotein specific to the acellular membranes of the inner ear. Proc Natl Acad Sci USA, 94, 14450-14455.

Comas D, Calafell Mateu E, Pérez-Lezaun A, Bosch E, Bertranpetit J. 1997. Mitochondrial DNA variation and the origin of the Europeans. Hum. Genet, 99, 443-449.

Coudray C, Olivieri A, Achilli A, Pala M, Melhaoui M, Cherkaoui M, El-Chennawi F, Kossmann M, Torroni A, Dugoujon J.M. 2009. The Complex and Diversified Mitochondrial Gene Pool of Berber Populations. Annals of Human Genetics, 73, 196-214.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Croteau D.L, Stierum R.H, Bohr V.A. 1999. Mitochondrial DNA repair pathways. *Mutat. Res*, 434, 137-148.

Crubézy E, Braga J, Larrouy G. 2002. *Abrégé Anthropologie*. Ed (Masson), 305.

Crubézy E, Braga J, Larrouy G. 2008. *Anthropobiologie: Evolution humaine: MASSON*, 339.

Cruz C.F.M. 2008. Risk factors associated with sensorineural hearing loss in infants at the neonatal intensive care unit: 15 years-experience at the national institute of perinatology (Mexico City). *Archives of Medical Research*, 39, 686-694.

Cummins J.M. 2000. Fertilization and elimination of the paternal mitochondrial genome. *Hum. Reprod*, 15, 92-101.

D

Dai P, Yu F, Han B, Liu Xu, Wang G, Li Q, Yuan Y, Liu Xi, Huang D, Kang D, Zhang X, Yuan H, Yao K, Hao J, He J, He Y, Wang Y, Ye Q, Yu Y, Lin H, Liu L, Deng W, Zhu X, You Y, Cui J, Hou N, Xu X, Zhang J, Tang L, Song R, Lin Y, Sun S, Zhang R, Wu H, Ma Y, Zhu S, Wu B.L, Han D, Wong L.J.C. 2009. GJB2 mutation spectrum in 2063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment. *J. Transl. Med*, 7, 26.

Dallos P. 1992 Dec. The active cochlea. *J Neurosci*, 12 (12), 4575-4585.

Darlu P, Tassy P. 1987. Disputed African origin of human populations. *Nature*, 329, 111-112.

Darvishi K, Sharma S, Bhat A.K, Rai E, Bamezai R.N. 2007. Mitochondrial DNA G10398A polymorphism imparts maternal Haplogroup N a risk for breast and esophageal cancer. *Cancer. Lett*, 249, 249-255.

Dawid I.B. 1972. Evolution of Mitochondrial DNA Sequences in *Xenopus*. *Devel. Biol*, 29, 139-151.

DDS: Direction de la Santé de la wilaya de Khenchela.

De Costa C.M. 2002. Consanguineous marriage and its relevance to obstetric practice. *Obstet. Gynecol. Surv*, 57 (8), 530-536.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Decreamer W.F, Khanna S.M, Funnell W.R. 1989. Interferometric measurement of the amplitude and phase of tympanic membrane vibrations in cat. *Hear Res*, 38, 1-7.

Decreamer W.F, Khanna S.M. 1994. Modelling the malleus vibration as a rigid body motion with one rotational and one translational degree of freedom. *Hear Res*, 72, 1-8.

Delas B, Dehesdin D. 2008. Anatomie de l'oreille externe. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Oto-rhino-laryngologie.

Denaro M, Blanc H, Jhonson M.J, Johnson M.J, Chen K.H, Wilmsen E, Cavalli-Sforza L, Wallace D.C. 1981. Ethnic Variation in HpaI Endonuclease Cleavage Patterns of Human Mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 5768-5772.

Deng Y.J, Li Y.Z, Yu X.G, Li L, Wu D.Y, Zhou J, Man T.Y, Yang G, Yan J.W, Cai D.Q, Wang J, Yang H.M, Li S.B, Yu J. 2005. Preliminary DNA identification for the tsunami victims in Thailand. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 3, 143-157.

Denic S, Al-Gazali L. 2002. Breast cancer, consanguinity, and lethal tumor genes: simulation of BRCA1/2 prevalence over 40 generations. *Int. J. Mol. Med.*, 10 (6), 713-719.

Denic S. 2003. Consanguinity as risk factor for cervical carcinoma. *Med. Hypotheses*, 60 (3), 321-324.

Denoyelle F, Lina-Granade G, Plauchu H, Bruzzone R, Chaïb H, Lévi-Acobas F, Weil D, Petit C. 1998. Connexin 26 gene linked to a dominant deafness. *Nature*, 393 (6683), 319-320.

Denoyelle F. 1999. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to connexin 26 gene defect: implication for genetic counselling. *Lancet*, 353,1298-1303.

Denoyelle F, Marlin S. 2005. Surdités de perception d'origine génétique. EMC Oto-rhino laryngologie, 2, 343-364.

Der Kaloustian V, Naffah J, Loiselet J. 1980. Genetic diseases in Lebanon. *American Journal of Medical Genetics*, 7, 187-203.

Di Mauro S, Schon E.A. 2003. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N. Engl. J. Med*, 348, 2656-2668.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Dolhen P, Hennaux C, Chantry P, Hennebert D. 1991. The occurrence of evoked otoacoustic emissions in a normal adult population and neonates. *Scand Audiol*, 20, 203-204.

Domart A, Bourneuf. 1990. *Hérédité; Nouveau Larousse Médical*, 486.

Duncan R.D. 2007. Pediatric Otolaryngologists' Use of Genetic Testing. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 133, 231-236.

E

El Bok S. 1994. Contribution à l'étude des maladies héréditaires de la population de Bousalem (Tunisie). Effets de la consanguinité. D.E.A.Faculté des Sciences de Tunis, 83.

El Mouzan M.I, Al Salloum A.A, Al Herbish A.S, Qurashi M.M, Al Omar A.A. 2008. Consanguinity and major genetic disorders in Saudi children: a community-based cross-sectional study. *Annals of Saudi Medicine*, 28(3), 169-173.

Elsmann S.A, Matkin N.D, Sabo M.P. 1987 Sept. Early identification of congenital sensorineural hearing impairment. *The Hearing Journal*, 40 (9), 13-17.

Emilyan A. Ivanov, Svetla P, Pentcheva. 2008 Sep. Characteristics of electromotility of outer hair cell lateral wall. *J Biomed Clin Res*, 1 (1), 05-11.

Enns G.M, Bai R.K, Beck A.E, Wong L.J. 2006. Molecular clinical correlation in family with variable tissue mitochondrial DNA T8993G mutation load. *Mol. Genet. Metab*, 88, 364-371.

Excoffier L, Langaney A. 1989. Origin and differentiation of human mitochondrial DNA. *Am. J. Hum. Genet*, 4473-4485.

Eyre-Walker A, Awadalla P. 2001. Does human mtDNA recombine? *J. Mol. Evol*, 53, 430-435.

F

Feldmann D, Denoyelle F, Loundon N. 2004. Clinical evidence of the nonpathogenic nature of the M34T variant in the connexin26 gene. *Eur J Hum Genet*, 12, 279-284.

Ferrary E, Couloigner V, Sterkers O. 2007. *Physiologie des liquides labyrinthiques*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Oto-rhino-laryngologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Filosto M, Mancuso M, Vives-Bauza C, Vila M.R, Shanske S, Hirano M, Andreu A.L, S DiMauro. 2003. Lack of paternal inheritance of muscle mitochondrial DNA in sporadic mitochondrial myopathies. *Ann. Neurol*, 54, 524-526.

Finitzo T, Crumley W.G. 1999. The role of the pediatrician in hearing loss. From detection to connection. *Pediatric Clinics of North America*, 15-34.

Finster J. 2007. Genetic, pathogenetic, and phenotypic implications of the mtA3243G tRNA leu (UUR) mutation. *Acata. Neurol. Scand*, 116, 1-14.

Fliiss M.S, Usadel H, Caballero O.L, Wu L, Buta M.R, Eleff S.M, Jen J, Sidransky D. 2000. Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science*, 287, 2017-2019.

Flynn M, Austin N, Flynn T.S, Ford R, Buckland L. 2004 Nov. Universal newborn hearing screening introduced to NICU infants in Canterbury Province, New Zealand. *N Z Med J*, 26, 117 (1206), U1183.

Fortnum H.M, Summerfield A.Q, Marshall D.H. 2001 Sep. Prevalence of permanent childhood hearing impairment in the United Kingdom and applications for universal neonatal hearing screening: questionnaire based ascertainment study. *BMJ*, 8, 323 (7312), 536-540.

Franklin R.E, Gosling R.G. 1953. Evidence for 2-chain helix in crystalline structure of sodium deoxyribonucleate. *Nature*, 172, 156-157.

Frigi S, Yacoubi B, Pereira F, Pereira L, Cherni L, AmorimA, Elgaaied A.B. 2006. mtDNA lineages in two Tunisian Berber communities: Comparing diversities between villages and towns. *International Congress Series*, 1288, 121-123.

G

Gelfand S.A. 1998. *Hearing: An introduction to psychological acoustics*. New York: Marcel Dekker, 32-45.

Genova M.L, Pich M.M, Bernacchia A, Bianchi C, Biondi A, Bovina C, Falasca A.I, Formigini G, Castelli G.P, Lenaz G. 2004. The mitochondrial production of reactive oxygen species in relation to aging and pathology. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 1011, 86-100.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Giles R.E, Blanc H, Cann H.M, Wallace D.C. 1980. Maternal Inheritance of Human Mitochondrial DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 6715-6719.

Gill P, Ivanov P.L, Kimpton C, Piercy R, Benson N, Tully G, Evett I, Hagelberg E, Sullivan K. 1994. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. Nat. Genet., 6, 130-135.

Giraud A.L. 1997 Oct. Influence of contralateral noise on distortion product latency in humans: Is the medial olivocochlear efferent system involved? J. Acoust. Soc. Am, 102 (4).

Gonzalez A.M, Brehm A, Pérez J.A, Maca-Meyer N, Flores C, Cabrera V.M. 2003. Mitochondrial DNA affinities at the Atlantic fringe of Europe. Am. J. Phys. Anthropol, 120, 391- 404.

Goto Y. 2001. Clinical and molecular studies of mitochondrial disease. J. Inherit. Metab. Dis, 24, 181-188.

Gracey K. 2003. Current concepts in universal newborn hearing screening and early hearing detection and intervention programs. Advances in Neonatal Care, 3, 308-317.

Graven L, Passarino G, Semino O, Boursot P, Santachiara S, Langaney A, Excoffier L. 1995. Evolutionary correlation between control region sequence and restriction polymorphisms in the mitochondrial genome of a large Senegalese Mandenka sample. Mol. Biol. Evol, 12, 334-345.

Green G.E, Scott D.A, Mc Donald J.M, Woodworth G.G, Sheffield V.C, Smith R.J.H. 1999. Carrier rates in the Midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness. JAMA, 281,2211-2216.

Grill E. 2005. Comparing the clinical effectiveness of different new-born hearing screening strategies. A decision analysis. BMC Public Health, 5, 12.

Gropman A, Chen T.J, Perng C.L, Krasnewich D, Chernoff E, Tift C, Wong L.J. 2004. Variable clinical manifestation of homoplasmic G14459A mitochondrial DNA mutation. Am. J. Med. Genet, 124A, 377-382.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Gualandi F, Ravani A, Berto A, Sensi A, Trabanelli C, Falciano F. 2002. Exploring the clinical and epidemiological complexity of GJB2-linked deafness. *Am J Med Genet*, 112, 38-45.

Guilford P, Ayadi H, Blanchard S, Chaib H, Le Paslier D, Weissenbach J, Drira M, Petit C. 1994. A human gene responsible for neurosensory, non-syndromic recessive deafness is a candidate homologue of the mouse sh-1 gene. *Hum Mol Genet*, 3, 989-993.

Gunaid A. A, Hummad N.A, Tamim K. A. 2004. Consanguineous marriage in the capital city Sana'a, Yemen. *Journal of Biosocial Science*, 36, 111-121.

H

Hagelberg E, Goldman N, Lio P, Whelan S, Schiefenhover W, Clegg J.B, Bowden D.K. 2000. Evidence for mitochondrial DNA recombination in a human population of island Melanesia. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*, 267, 1595-1596.

Hami H, Attazagharti N, SoulaymaniA, Mokhtari A. 2005. Homogamie dans la Région du Gharb-Chrarda-Béni Hssen (MAROC). Une enquête prospective (Juin 2003-Février 2004). *Antropo*, 9, 51-60.

Hami H, Soulaymani A, MokhtariA. 2006. Endogamie, Isonymie et Consanguinité dans la Région du Gharb-Chrarda-Béni Hssen (MAROC). *Antropo*, 11, 223-233.

Hami H, Soulaymani A, Mokhtari A. 2007. Traditions matrimoniales dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer au Maroc. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*, 19, 1-2.

Harihara S, Saitou N, Hirai M, Gojobori T, Park K.S, Misawa S, Ellepa S.B, Ishida T, Omoto K. 1988. Mitochondrial DNA Polymorphism among Five Asian Populations. *Am. J. Hum. Genet*, 43, 134-143.

Harrison M, Roush J. 1996. Age of suspicion, identification and intervention for infants and young children with hearing loss: A national study. *Ear and hearing*, 17, 55-62.

Hashmi M.A. 1997. Frequency of consanguinity and its effect on congenital malformation-a hospital based study. *J. Pak. Med. Assoc*, 47 (3), 75-78.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Hedges S.B, Kumar S, Tamura K, Stoneking M. 1992. Human origins and analysis of mitochondrial DNA sequences. *Science*, 255, 737-739.

Hilgert N, Smith R.J, Van Camp G. 2009. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *Mutat. Res*, 681 (2-3), 189-196.

Hoffman D.W. 1988. Putative neurotransmitters in the rat cochlea at several ages. *Brain Research*, 460, 366-368.

Holland M.M, Fisher D.L, Mitchell L.G, Rodriquez W.C, Canik J.J, Merril C.R, Weedn V.W. 1993. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. *J. Forensic. Sci*, 38, 542-553.

Horai S, Gojobori T, Matsunaga E. 1986. Mitochondrial DNA Polymorphisms in Japanese .I. Analysis with restriction enzymes of four or five base pair recognition. *Hum.Genet*, 72, 105-117.

Horai S, Hayasaka K.1990. Intraspecific nucleotide sequences in the major region of human mitochondrial noncoding region of human mitochondrial DNA. *Am. J. Hum. Genet*, 46, 828-842.

Horai S, Hayasaka K, Kondo R, Tsugane K, Takahata N. 1995. Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci .USA*, 92, 532-536.

Howell N, Ootra R.J, Bolhuis P.A, Spruijt L, Clarke L.A, Mackey D.A, Preston G, Herrnstadt C. 2003. Sequence analysis of the mitochondrial genomes from Dutch pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. *Am. J. Hum. Genet*, 72, 1460-1469.

Huber A.M. 2001. Evaluation of eardrum laser Doppler interferometry as a diagnostic tool. *Laryngoscope*, 111, 501-507.

Huoponen K, Torroni A, Wickman T.R, Sellito D, Gurley D.S, Scozzari R, Wallace D.C. 1997. Mitochondrial DNA and Y chromosome-Specific polymorphisms in the Seminole tribe of Floride. *Eur. J. Hum. Genet*, 5, 25.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Hussain R, Sullivan S.G, Bittles A.H. 2001. Consanguinity and early mortality in the Muslim populations of Pakistan. *American Journal of Human Biology*, 13, 777-787.

Hussain R. 2002. Risk Factors for Neonatal Mortality in Low- income Population Subgroups in Karachi, Pakistan. *Community Genetics*, 5, 249-256.

Hwa H.L, Ko T.M, Hsu C.J, Huang C.H, Chiang Y.L, Oong J.L, Chen C.C, Hsu C.K. 2003. Mutation spectrum of the connexin 26 (GJB2) gene in Taiwanese patients with prelingual deafness. *Genet. Med*, 5 (3), 161-165.

I

Ingman M, Kaessmann H, Paabo S, Gyllensten U. 2000. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature*, 408, 708-713.

J

Jaber L, Shohat T, Rotter J.I, Shohat M. 1997. Consanguinity and common adult diseases in Israeli Arab Communities. *Am. J. Med. Genet*, 70 (4), 346-348.

Jacobi L, Jacquart A. 1971. Consanguinité proche, consanguinité éloignée. In *Cahier, INED*, Paris, 60, 263-268.

Jacobs L.J, De Wert G, Geraedts J.P, De Coo I.F, Smeets H.J. 2006. The transmission of OXPHOS disease and methods to prevent this. *Hum. Reprod*, 12, 119-136.

Jacobson J.T, Jacobson C.A. 1994. The effects of noise in transient EOAE newborn hearing screening. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 29, 235-248.

Jacquart A. 1970. *Structures génétiques des populations*. Masson, Paris.

Jacquart A. 1977. La transition démographique : Le capital génétique est- il affecté? *Population science in the service of mankind*. U.I.E.S.P. edit Liège, 191-210.

Jaffe K, Chacon-Puignau G. 1995. Assortative mating: sex differences in mate selection for married and unmarried couples. *Hum. Biol*, 67 (1), 111-120.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Jin X, Zhang J, Gao Y, Ding K, Wang N, Zhou D, Jen J, Cheng S. 2007. Relationship between mitochondrial DNA mutations and clinical characteristics in human lung cancer. *Mitochondrion*, 7, 347-353.

Jobling M.A, Tyler-Smith C. 2003. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nat Rev Genet*, 4, 598-612.

Jobling M.A, Hurles M.E, Tyler-Smith C. 2004. *Human Evolutionary Genetics: origins, peoples and disease*. London / New York. Garland Science Publishing, 523.

Johnson M.J, Wallace D.C, Ferris S.D, Rattazi M.C, Cavalli-Sforza L.L. 1983. Radiation of Human mitochondrial DNA types analysed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J. Mol. Evol*, 19, 255-271.

Joint Committee on Infant Hearing (JCIH). 2000 Oct. Position statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *PEDIATRICS*, 106 (4), 798-817.

Joint Committee on Infant Hearing (JCIH). 4th Oct 2007. Position statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *PEDIATRICS*, 120 (4), 898-921.

Jones J.B, Song J.J, Hempen P.M, Parmigiani G, Hruban R.H, Kern S.E. 2001. Detection of mitochondrial DNA mutations in pancreatic cancer offers a massive advantage over detection of nuclear DNA mutations. *Cancer. Res*, 61, 1299-1304.

Joshua G, Chinitz, Robert A, Brown. 2001 Religious homogamy, Marital conflict, and stability in same-faith and interfaith Jewish. *Marriages Journal for the Scientific Study of Religion*, 40 (4), 723.

K

Kalmijn M. 1998. Inter-marriage and homogamy : Causes, patterns, trends. *Annu. Rev. Sociol*, 24, 395-421.

Kameoka K, Isotani H, Tanaka K, Zukari K.A, Fujimura Y, Shiota Y, Sasaki E, Majima M, Furukawa K, Haginomori S, Kitaoka H, Ohsawa N. 1998. Novel mitochondrial DNA

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

mutation in tRNA(Lys) (8296A-->G) associated with diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 245, 523-527.

Kefi R, Stevanovitch A, Bouzaid E, Béraud-Colomb E. 2005. Diversité mitochondriale de la population de Taforalt (12.000 ans, Maroc) : une approche génétique à l'étude du peuplement de l'Afrique du Nord. *Anthropologie*, 1, 55-64.

Kefi R, Hsouna S, Beraud-Colomb E, Abdelhak S. 2009. ADN mitochondrial : Propriétés et applications. *Archs. Inst. Pasteur Tunis*, 86, 1-4.

Kefi R, Hsouna S, Ben Halim N, Lasram K, Romdhane L, Messai H, Abdelhak S. 2014. Phylogeny and genetic structure of Tunisians and their position within Mediterranean populations. *Mitochondrial DNA*, 1-12.

Kelsell D.P, Dunlop J, Stevens H.P, Lench N.J, Liang J.N, Parry G, Mueller R.F, Leigh I.M. 1997. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature*, 387, 80-83.

Kenna M.A. 2003. Neonatal hearing screening. *Pediatr Clin North Am*, 50, 301-313.

Kennedy C.R. 1999. Otoacoustic emissions and auditory brainstem responses in the newborn. *Arch Dis Child*, 61, 1124-1129.

Kerkeni E, Monastiri K, Saket B, Rudan D, Zgaga L, Ben CheikhH. 2006. Association among Educational Level, Occupation Status, and Consanguinity in Tunisia and Croatia. *Croatian Medical Journal*, 47, 656-661.

Khlat M, Halabi S. 1986. Modernisation and consanguineous marriages in Beirut. *Journal of Biosocial Science*, 18, 489-495.

Khoury S.A, Massad D.F. 2000. Consanguinity, fertility, reproductive wastage, infant mortality and congenital malformations in Jordan. *Saudi Med. J*, 21 (2), 150-154.

Khuri F.I. 1970. Parallel cousin marriage reconsidered: A Mid Eastern Practice That Nullifies. The effect of marriage on the intensity of family relationships. *Man*, 5 (4), 597-608.

Kiang N.Y, Rho J.M, Northrop C.C, Liberman M.C, Ryugo D.K. 1982. Hair-cell innervation by spiral ganglion cells in adult cats. *Science*, 217, 175-7.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Kikuchi T, Kimura R.S, Paul D.L, Adams J.C. 1995. Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anal Embryol*, 191,101-118.

Kirby D.M, Kahler S.G, Freckmann M.L, Reddihough D, Thorburn D.R. 2000. Leigh disease caused by the mitochondrial DNA G14459A mutation in unrelated families. *Ann. Neurol*, 48, 102-104.

Kochhar A, Hildebrand MS, Smith RJ. Clinical aspects of hereditary hearing loss. *Genet Med*. 2007; 9: 393-408.

Kokotas H, Petersen M.B, Willems P.J. 2007. Mitochondrial deafness. *Clin. Genet*, 71, 379-391.

Kouaouci A. 1993. Famille, femme et contraception. CENEAP-FNUAP, Alger.

Kucher A.N, Puzyrev V.P, Sanchat N.O, Erdynieva L.S. 1999. Genetic demographic characteristics of the rural population of the Tuva Republic: Marriage structure and inbreeding. *Genetika*, 35 (7), 976-981.

Kumar S, Hedrick P, Dowling T, Stoneking M. 2000. Questioning evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Science*, 288 (5473), 1931.

L

Lacoste-Dujardin C. 1987. Fécondité et contraception au Maghreb. *Maghreb Review*, 2 (5-6), 130-135.

Lam B.C.C. 2006 Jun. Newborn hearing screening in Hong Kong. *Hong Kong Med J*, 12 (3).

Lamdouar-Bouazzaoui N. 1994. Consanguinité et santé publique au Maroc. *Bull Acad. Natle. Med*, 178 (6), 1013-1027.

Lathrop M, Pison G. 1982. Méthodes statistiques d'études de l'endogamie : Application à l'étude du choix du conjoint chez les Peul Bandé. *Population*, 3, 513-542.

Latifi M, Khadmaoui A, Soulaymani A, Mokhtari A. 2004. Système de reproduction dans une population humaine isolée du Moyen Atlas du Maroc (population de Fritissa). *Antropo*, 7, 73-78.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

- Latifi** M, Sbi L, Hami H, Hmimou R, Soulaymani A, Mokhtari A. 2010. Le Choix du conjoint dans la région de Fritissa (Est du Maroc). *Antropo*, 23, 99-107.
- Lee** K.Y, Choi S.Y, Bae J.W, Kim S, Chung K.W, Drayna D, Kim U.K, Lee S.H. 2008. Molecular analysis of the GJB2, GJB6 and SLC26A4 genes in Korean deafness patients. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol*, 72 (9), 1301-1309.
- Legent** F, Perlemuter L, Vandenbrouck C.I. 1984. Cahiers d'anatomie O.R.L, Masson, 4^{ème} édition. Oreille, 1-298.
- Lesperance** M.M, Hall 3rd J.W, San Agustin T.B, Leal S.M. 2003. Mutations in the Wolfram syndrome type 1 gene (WFS1) define a clinical entity of dominant low-frequency sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 129, 411-420.
- Li** L, Lu J, Tao Z, Huang Q, Chai Y, Li X, Huang Z, Li Y, Xiang M, Yang J, Yao G, Wang Y, Yang T, Wu H. 2012. The p.V37I exclusive genotype of GJB2: a genetic risk-indicator of postnatal permanent childhood hearing impairment. *PLoS One* 7 (5), e36621.
- Li** X.Y, Su M, Huang H.H, Li H, Tian D.P, Gao Y.X. 2007. mtDNA evidence: genetic background associated with related populations at high risk for oesophageal cancer between Chaoshan and Taihang Mountain areas in China. *Genomics*, 90, 474-481.
- Liberman** M.C, Gao J.G, He D.Z, Wu X.D, Jia S.P, Zuo J. 2002. Prestin is required for electromotility of the outer hair cell and for the cochlear amplifier. *Nature*, 419, 300-304.
- Liu** X.Z, et al. 2002. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. *Hum. Genet*, 111 (4-5), 394-397.
- Lorenzetti** L. 2003. Economic opening and society endogamy: migratory and reproduction logic in the Insubric mountains (18th and 19th centuries). In *History of the Family*, 8, 297-316.
- Lowell** B.B, Shulman G.I. 2005. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*, 307, 384-387.
- Lutz** S, Weisser H.J, Heizmann J, Pollak S. 1996. mtDNA as a tool for identification of human remains. Identification using mtDNA. *Int. J. Legal. Med*, 109, 205-209.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

M

Maassen J.A, Hart L.M.T, Van Essen E, Heine R.J, Nijpels G, Jahangir Tafrechi R.S, Raap A.K, Janssen G.M, Lemkes H.H. 2004. Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation. *Diabetes*, 1, 103-109.

Mac Eachern S. 2000. Genes, Tribes, and African History. *Curr Anthropol*, 999, 357-384.

Maca-Meyer N, Gonzalez A.M, Pestano J, Flores C, Larruga J.M, Cabrera V.M. 2003. Mitochondrial DNA transit between West Asia and North Africa inferred from U6 phylogeography. *BMC. Genet*, 4, 15.

Maeda S, Nakagawa S, Suga M, Yamashita E, Oshima A, Fujiyoshi Y, Tsukihara T. 2009. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. *Nature*, 458 (7238), 597-602.

Maisoun A.M, Zakzouk S.M. 2003. Hearing screening of neonates at risk. *S audi Med J*, 24 (1), 55-57.

Malécot G. 1948. *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson, Ed. Paris.

Martin P.E.M, Evans H.W. 2004. Incorporation of connexins into plasma membranes and gap junctions. *Cardiovasc Res*, 62, 378-387.

Masmoudi S, Elgaied-Boulila A, Kassab I, Ben Arab S, Blanchard S, Bouzouita J.E, Drira M, Kassab A, Hachicha S, Petit C, Ayadi H.2000. Determination of the frequency of connexin26 mutations in inherited sensorineural deafness and carrier rates in the Tunisian population using DGGE. *J. Med. Genet*, 37 (11), E39.

Mathur N.N, Dhawan R. 2006 Jul. An alternative strategy for universal infant hearing screening in tertiary hospitals with a high delivery rate, within a developed country, using transient evoked otoacoustic emissions and brainstem evoked response audiometry. *J Laryngol Otol*, 121 (7), 639-643.

Maxon A.B, White K.R, Vohr B.R, Behrens T.R. 1993. Using transient evoked otoacoustic emissions for neonatal hearing screening. *Br J Audiol*, 27, 149-153.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Mazières S. 2006. Le peuplement Amerindien de la Guyane française : apport des marqueurs moléculaires. Thèse de Doctorat en Anthropologie biologique, Université de Toulouse III, France.

Mc Farland W.H, Simmons F.B, Jones F.R. 1980. An automated hearing screening technique for newborns. *J Speech Hear Dis*, 45,495-503.

Mc Nellis E.L, Klein A.J. 1997. Pass/fail rates for repeated click-evoked otoacoustic emissions and auditory brain stem response screenings in newborns. *Otolaryngol Head Neck Surg*,116: 431-437.

Melchionda S, Bicego M, Marciano E, Franze A, Morgutti M, Bortone G, Zelante L, Carella M, D' Andrea P. 2005. Functional characterization of novel CX26 (T55N) mutation associated to non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun*, 337, 799-805.

Meşe G, Richard G, White T.W. 2007. Gap junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol*, 127, 2516-2524.

Meyer C. 1999. Neonatal screening for hearing disorders in infant at risk: Incidence, risk factors and follow-up. *Pediatrics*, 104, 900-904.

Meyer S, Von Haeseler A. 2003. Identifying site-specific substitution rates. *Mol. Biol. Evol*, 20, 182-189.

Minarik G, Ferakova E, Ficek A. 2005. *GJB2* gene mutations in Slovak hearing-impaired patients of Caucasian origin: spectrum, frequencies and SNP analysis. *Clin. Genet*, 68, 554-557.

Modell B, Darr A. 2002. Science and society: genetic counseling and customary consanguineous marriage. *Nat. Rev. Genet*, 3 (3), 225-229.

Monson K.L, Miller W.P, Wilson M.R, Dizinno J.A, Budowle B. 2002. The mtDNA Population Database : An Integrated Software and Database Ressources for Forensic Comparison. *Forensic Science Communications*, 4 (2).

Morell R.J, Kim H.J, Hood L.J, Goforth L, Friderici K, Fisher R, Van Camp G, Berlin C.I, Oddoux C, Ostrer H, Keats B, Friedman T.B. 1998. Mutations in the connexin 26 gene

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

(GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. N. Engl. J. Med, 339 (21), 1500-1505.

Morlé L, Bozon M, Alloisio N. 2000. A novel C202F mutation in the connexin26 gene (GJB2) associated with autosomal dominant isolated hearing loss. J Med Genet, 37, 368-369.

Morton C.C, Nance W.E. 18th May 2006. Newborn hearing screening: A silent revolution. New England Journal of Medicine, 354 (20), 2151-2164.

Moser T, Beutner D. 2000. Kinetics of exocytosis and endocytosis at the cochlear inner hair cell afferent synapse of the mouse. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97.

Moussouni A. 2007. Etude anthro-po-biologique de la consanguinité sur les paramètres de fitness et de morbidité dans la population de Sabra dans l'Ouest Algérien. Etude comparative dans le bassin Méditerranéen, thèse de Doctorat en anthropologie biologie, Université de Tlemcen, Algérie.

Mustapha M. 1997. Étude éco-génétique des maladies héréditaires de la population du nord du Liban : effets de la consanguinité. Thèse de diplôme d'études approfondies, Tunis, Université de Tunis II.

N

Nabulsi M.M, Tamim H, Sabbagh M, Obeid MY, Yunis K.A, Bitar F.F. 2003. Parental consanguinity and congenital heart malformations in a developing country. American Journal of Medical Genetics, 116A, 342-347.

Nas S, Nas M.M.K. 1963. Ultramitochondrial fibers with DNA characteristics. J. Cell. Biol, 19, 593- 629.

Nedzelitsky V. 1980. Sound pressures in the basal turn of the cat cochlea. J Acoust Soc Am, 68, 1676-1689.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Nilsson M, Andréasson-Jansson H, Ingman M, Allen M. 2008. Evaluation of mitochondrial DNA coding region assays for increased discrimination in forensic analysis. *Forensic Science International, Genetics*, 2, 1-8.

Nouvian R, Malinvaud D, Van Den Abbeele T, Puel J.L, Bonfils P, Avan P. 2006. *Physiologie de l'audition*. EMC (Elsevier SAS, Paris), Oto-rhino-laryngologie.

O

Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, Namba A, Abe S, Van Laer L, van Camp G, Usami S.I. 2003. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. *Hum. Genet*, 112 (4), 329-333.

Ojala D, Montoya J, Attardi G. 1981. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature*, 290, 470-474.

Oliver D, He D.Z, Klocker N, Ludwig J, Schulte E, Waldegger S. 2001. Intracellular anions as the voltage sensor of prestin, the outer hair-cell motor protein. *Science*, 292, 2340-2343.

Olivieri A, Achilli A, Pala M, Battaglia V, Fornarino S, Al-Zahery N, Scozzari R, Cruciani F, Behar D.M, Dugoujon J.M, Coudray C, Santachiara-Benerecetti A.S, Semino O, Bandelt H.J, Torroni A. 2006. The mtDNA legacy of the Levantine early Upper Palaeolithic in Africa. *Science*, 314, 1767-1770.

Olusanya B.O, Wirzb S.L, Luxonb L.M. 2008. Community-based infant hearing screening for early detection of permanent hearing loss in Lagos, Nigeria: a cross-sectional study. *Bulletin of the World Health Organization*, 86, 956-963.

Orioli I.M, Castilla E.E, Carvalho W.P. 1982. Inbreeding in a South-American newborn series. *Acta Anthropogenetica*, 6 (1), 45-55.

Ottersen O.P, Takumi Y. 1998 Feb. Molecular organization of a type of peripheral glutamate synapse: the afferent synapses of hair cells in the inner ear. *Progress in Neurobiology*, 54 (2), 127-148.

Ould Mohamed Vall A. 1993. Etude préliminaire des unions consanguines en Mauritanie, Conséquences. D.E.A. Faculté des Sciences de Tunis, p: 59.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Overall A.D, Nichols R.A. 2001. A method for distinguishing consanguinity and population substructure using multilocus genotype data. *Mol. Biol. Evol*, 18 (11), 2048-2056.

Owen M, Webb M, Evans K. 2001. Community based universal neonatal hearing screening by health visitors using otoacoustic emissions. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed*, 84, 157-162.

P

Parry G. 1997. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature*, 387, 80-83.

Parson W, Dur A. 2007. EMPOP--A forensic mtDNA database. *Forensic Science International; Genetics*, 1, 88-92.

Parson W, Fendt L, Ballard D, Borsting C, Brinkmann B, Carracedo A, Carvalho M, Coble M.D, Corte Real F, Desmyter S, Dupuy B.M, Harrison C, Hohoff C, Just R, Krämer T, Morling N, Salas A, Schmitter H, Schneider P.M, Sonntag M, Vallone P.M, Brandstätter A. 2008. Identification of West Eurasian mitochondrial haplogroups by mtDNA SNP screening: Results of the 2006-2007 EDNAP collaborative exercise. *Forensic Science International, Genetics*, 2, 61-68.

Petit C. 1996. Genes responsible for human hereditary deafness; Symphony of a thousand. *Nat Genet*, 14, 385-391.

Petit C, Levilliers J, Hardelin J.P. 2001. Molecular genetics of hearing loss. *Annu Rev Genet*, 35, 589-646.

Piercy R, Sullivan K.M, Benson N, Gill P. 1993. The application of mitochondrial DNA typing to the study of white Caucasian genetic identification. *Int J Legal Med*, 106, 85-90.

Piganeau G, Eyre-Walker A. 2004. Reanalysis of the indirect evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Heredity*, 92, 282-288.

Plaza S, Calafell F, Helal A, Bouzerna N, Lefranc G, Bertranpetit J, Comas D. 2003. Joining the pillars of Hercules: mtDNA sequences show multidirectional gene flow in the western Mediterranean. *Ann. Hum. Genet*, 67, 312-328.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Pollak A, Skorka A, Mueller-Malesinska M, Kostrzewa G, Kisiel B, Wligora J, Krajewski P, Oldak M, Korniszewski L, Skarzynski H, Polski R. 2007. M34T and V37I mutations in GJB2 associated hearing impairment: evidence for pathogenicity and reduced penetrance. *Am. J. Med. Genet*, 143A (21), 2534-2543.

Primignani P, Trotta L, Castorina P, Lalatta F, Sironi F, Radaelli C, Degiorgio D, Curcio C, Travi M, Ambrosetti U, Cesarani A, Garavelli L, Formigoni P, Milani D, Murri A, Cuda D, Coviello D.A. 2009. Analysis of the GJB2 and GJB6 genes in Italian patients with nonsyndromic hearing loss: frequencies, novel mutations, genotypes, and degree of hearing loss. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, 13 (2), 209-217.

Probst R, Lonsbury-Martin B.L, Martin G.K. 1991. A review of otoacoustic emissions. *J. Acoust. Sot. Am*, 69 (5).

Prpic I, Mahulja-Stamenkovic V, Bilic I, Haller H. 2007 Nov. Hearing loss assessed by universal newborn hearing screening-The new approach. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 71 (11), 1757-1761.

Puel J.L. 1995. Chemical synaptic transmission in the cochlea. *Prog Neurobiol*, 47, 449-462.

Q

Quintana-Murci L, Semino O, Bandelt H.J, Passarino G, Mc Elreavey K, Santachiara-Benerecetti A.S. 1999. Genetic evidence of an early exit of Homo sapiens sapiens from Africa through eastern Africa. *Nat. Genet*, 23, 437-441.

R

Rabionet R, Zelante L, Lopez-Bigas N, D'Agruma L, Melchionda S, Restagno G, Arbones M.L, Gasparini P, Estivill X. 2000. Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. *Hum. Genet*, 106 (1), 40-44.

Radovanovic Z, Shah N, Behbehani J. 1999. Prevalence and Social Correlates of Consanguinity in Kuwait. *Annal of Saudi medicine*, 19 (3), 206-210.

Rajab A, Patton M.A. 2000. A study of consanguinity in the Sultanate of Oman. *Ann. Hum. Biol*, 27 (3), 321-326.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Razafindrazaka H. 2010. Le peuplement humain de Madagascar : Anthropologie génétique de trois groupes traditionnels. Thèse de Doctorat en Biotechnologies et Anthropobiologie, Université de Toulouse III, France.

Read A.P, Newton V.E. 1997. Waardenburg syndrome. *J Med Genet*, 34, 656-665.

Rebecca L, Cann R.L, Wesley M, Brown W.M, Wilson A.C. 1982. Evolution of human mitochondrial DNA: A preliminary report. *Hum. Genet*, 157-165.

Reddy P.C. 1984. Distribution, endogamy, and isolation of Malas of Chittoor district Andhra Pradesh, India. *Soc. Biol*, Spring-Summer, 31 (1-2), 108-113.

Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel G.P. 2004. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ*, 82, 844-851.

Reynier P, May-Panloup P, Chrétien M.F, Morgan C.J, Jean M, Savagner F, Barrière P, Malthiery Y. 2001. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol. Hum. Reprod*, 7, 425-429.

Riahi Z, Hammami H, Ouragini H, Messai H, Zainine R, Bouyacoub Y, Romdhane L, Essaid D, Kefi R, Rhimi M, Bedoui M, Dhaouadi A, Feldmann D, Jonard L, Besbes G, Abdelhak S. 2013. Update of the spectrum of GJB2 gene mutations in Tunisian families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Gene*, 525, 1-4.

Richard G, Rouan F, Willoughby C.E. 2002. Missense mutations in GJB2 encoding connexin-26 cause the ectodermal dysplasia keratitis- ichthyosisdeafness syndrome. *Am J Hum Genet*, 70, 1341-1348.

Richards M, Macaulay V, Hickey E, Vega E, Sykes B, Guida V, Rengo C, Sellitto D, Cruciani F, Kivisild T, Villems R, Thomas M, Rychkov S, Rychkov O, Rychkov Y, Gölge M, Dimitrov D, Hill E, Bradley D, Romano V, Cali F, Vona G, Demaine A, Papiha S, Triantaphyllidis C, Stefanescu G, Hatina J, Belledi M, Di Rienzo A, Novelletto A, Oppenheim A, Norby S, Al-Zaheri N, Santachiara-Benerecetti S, Scozari R, Torroni A, Bandelt H.J. 2000. Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool. *Am. J. Hum. Gene*, 67, 1251-1276.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Robinette M.S, Glatke T.J. 2007. Otoacoustic emissions, clinical applications. 3rd edition, Thieme, 131-160.

Rozzet J, Prem C.S. 2003. The prevalence and correlates of consanguineous marriages in Yemen: similarities and contrasts with other Arab countries. *Journal of Biosocial Science*, 35, 1-13.

Ruel J. Chen C. Pujol R. Bobbin R.P. Puel J.L. 1999. AMPA-preferring glutamate receptors in cochlear physiology of adult guinea-pig. *J. Physiol*, 518: 667-680.

S

Saccone C. 2000. Evolution of the mitochondrial genetic system: an overview. *Gene*, 261, 153-159.

Salzano F.M. 1971. The ongoing evolution of Latin American populations. Ed. FM Salzano, Charles C. Thomas Publisher, Springfield, III. USA, 717 p.

Sanchez-Andres A, Mesa M.S. 1994. L'homogamie dans une population espagnole: effets des facteurs sociaux et de la durée de vie commune. *Journal of Biosocial Science*, 26 (4), 441-450.

Santachiara Benerecetti A.S, Scozzari R, Semino O, Torroni A, Brega A, Wallace D.C. 1988. Mitochondrial DNA Polymorphism in Italy. Molecular analysis of new and rare morphs from Sardinia and Rome. *Ann. Hum. Genet*, 52, 39-56.

Santé en chiffre. 2010. Direction de la Planification et des ressources financières, division de la planification et des études, Service des études et de l'information sanitaire. Ministère de la santé, Royaume du Maroc.

Saugstad L.F, Odegard O. 1977. Predominance of extreme geographical proximity of the spouses of heirs to independent farms in a mountain valley in Norway between 1600 and 1850. *Ann. Hum. Genet*, 40 (4), 419-430.

Sauvage J.P, Puyraud S, Roche O, Rahmane A. 1999. Anatomie de l'oreille. *Encycl Méd Chir* (Elsevier, Paris), Oto-rhinolaryngologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Sbii L, Latifi M, Hami H, Benali D, Soulaymani A, Mokhtari A. 2011. Etude de l'homogamie sociale dans la région de Souss-Massa-Drâa au Maroc. *Antropo*, 25, 97-103.

Schwidetsky I. 1976. Endogamie, distances multivariées et distances géographiques aux Canaries. Etude des isolats. INED, Paris.

Scozzari R, Torroni A, Semino O, Sirugo G, Brega A, Santachiara-Benerecetti A.S. 1988. Genetic studio on the Senegal population. Mitochondrial DNA polymorphism. *Am. J. Hum. Genet*, 43, 534-544.

Scozzari R, Torroni A, Semino O, Cruciani F, Spedini G, Santachiara-Benerecetti A.S. 1994. Genetic studies in Cameroon: mitochondrial DNA polymorphisms in Bamileke. *Hum. Biol*, 66, 1-12.

Semino O, Torroni A, Scozzari R, Brega A, De Benedictis G, Santachiara-Benerecetti A.S. 1989. Mitochondrial DNA polymorphisms in Italy. Population data. *Ann. Hum. Genet*, 53, 193-202.

Shoffner J.M, Lott M.T, Lezza A.M, Seibel P, Ballinger S.W, Wallace D.C. 1990. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA (Lys) mutation. *Cell*, 61, 931-937.

Sigurgardottir S, Helgason A, Gulcher J.R, Stefansson K, Donnelly P. 2000. The mutation rate in the human mtDNA control region. *Am J Hum Genet*, 66,1599-1609.

Simoni L, Calafell F, Pettener D, Bertranpetit J, Barbujani G. 2000). Geographic patterns of mtDNA diversity in Europe. *Am. J. Hum. Genet*, 66, 262-278.

Sininger Y.S, Starr A. 2001. Auditory Neuropathy. In: A new perspective on hearing disorders. Singular Thomson Learning: San Diego, Calif.

Sobe T, Vreugde S, Shahin H, Berlin M, Davis N, Kanaan M, Yaron Y, Orr-Urtreger A, Frydman M, Shohat M, Avraham K.B. 2000. The prevalence and expression of inherited connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss in the Israeli population. *Hum. Genet*, 106 (1), 50-57.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Solignac M, Periquet G, Anxolabehere D, Petit C. 1995. Génétique et Evolution 1: La variation des gènes dans les populations. Collect. Meth., Herman, Ed des Sciences et des Arts, pp, 289.

Soulaymani A, Benazzouz B, Mokhtari A. 1999. Impact du degré de parenté sur la prolificité, l'éclosabilité et la viabilité des descendants dans une population expérimentale de pigeons, J. Anim. Breed. Genet, 116, 139-150.

Sperl W, Jesina P, Zeman J, Mayer J.A, Demeirleir L, Van Coster R, Pickova A, Hansikova H, Houst'kova, Krejcik Z, Koch J, Smet J, Muss W, Holme E, Houstek J. 2006. Deficiency of mitochondrial ATP synthase of nuclear genetic origin. Neuromuscul. Disord, 16, 821-829.

Stevanovitch A, Gilles A, Bouzaid E, Kefi R, Paris F, Gayraud R.P, Spadoni J.L, El-Chenawi F, Beraud-Colomb E. 2004. Mitochondrial DNA sequence diversity in a sedentary population from Egypt. Ann. Hum. Genet, 68, 23-39.

Stoneking M, Jorde L.B, Bhatia K, Wilson A. 1990. Geographic Variation in Human Mitochondrial DNA from Papua New Guinea. Genetics, 124, 717-733.

Stoneking M. 2000. Hypervariable sites in the mtDNA control region are mutational hotspot. Am. J. Hum. Genet, 67, 1029-1032.

Stong, B.C, Chang Q, Ahmad S. 2006. A novel mechanism for connexin 26 mutation linked deafness: cell death caused by leaky gap junction hemichannels. Laryngoscope, 116, 2205-2210.

Sutter J. 1958. Recherches sur les effets de la consanguinité chez l'homme. Extrait de la biologie médicale, Paris.

Sutter J, Tabah L. 1971. Structure de la mortalité dans les familles consanguines. Génétique et Populations. Institut national des études démographiques. France, 60, 11-29.

T

Taanman J.W. 1999. The mitochondrial genome: Structure, transcription, translation and replication. Biochim. Biophys. Acta, 1410, 103-123.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Talbi J, Khadmaoui A, Soulaymani A, Chafik A. 2006. Caractérisation du comportement matrimonial de la population marocaine. *Antropo*, 13, 57-67.

Talbi J, Khadmaoui A, Soulaymani A, Chafik A. 2008. Caractérisation de l'évolution de la consanguinité dans la population des Doukkala (Maroc), *Antropo*, 17, 7-13.

Tamer A. 2008 Feb. Ionic composition of endolymph and perilymph in the inner ear of the Oyster oadfish, *Opsanus tau*. *Biol Bull*, 214 (1), 83-90.

Tawata M, Ikegishi Y, Iwase E, Aida K, Onaya T. 1997. Mitochondrial DNA mutation in Japanese detected by polymerase chain reaction restriction fragment single strand conformation polymorphism analysis. *Genetic Analysis*, 14, 17.

Tekin M, Arnos K.S, Xia X.J, Oelrich M.K, Liu X.Z, Nance W.E, Pandya A. 2001. W44C mutation in the connexin 26 gene associated with dominant non-syndromic deafness. *Clin Genet*, 59, 269-273.

Tekin M, Xia X.J, Erdenetungalag R, Cengiz F.B, White T.W, Radnaabazar J, Dangaasuren B, Tastan H, Nance W.E, Pandya A. 2010. GJB2 mutations in Mongolia: complex alleles, low frequency, and reduced fitness of the deaf. *Ann. Hum. Genet*, 74 (2), 155-164.

Templeton A.R. 1992. Human origins and analysis of mitochondrial DNA sequences. *Sciences*, 255, 737.

Thomassin J.M, Dessi P, Danvin J.B, Forman C. 2008. Anatomie de l'oreille moyenne. EMC, Oto-rhino-laryngologie, 1-19.

Thompson J.S, Thompson M.W. 1978. Précis de génétique médicale. Paris, Doin, 57.

Tillon G. 1966 : Le harem et les cousins. Le Seuil, Edit. Paris.

Tonndorf J, Khanna S.M. 1972. Tympanic membrane vibrations in human cadaver ears studied by time-averaged holography. *J. Acoust. Soc. Am*. 52 (4B), 1221-1233.

Torrioni A, Schurr T, Cabell M, Brown M, Neel J, Larsen M, Smith D, Vullo C, Wallace D. 1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding native American mtDNAs. *Am. J. Hum. Genet*, 53, 563-590.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Torrioni A, Sukernik R.L, Schurr T.G, Starikovskaya Y.B, Cabel M.F, Crawford M.H, Comuzzie A.Z, Wallace D.C. 1993. mtDNA Variation of Aboriginal Siberians Reveals Distinct Genetic Affinities With Native Americans. *Am. J. Hum. Genet*, 53, 591-608.

Torrioni A, Huoponen K, Francalacci P, Petrozzi M, Morelli L, Scozzari R, Obinu D, Savontaus M.L, Wallace D. 1996. Classification of European mt dans from an analysis of three European populations. *Genetics*, 144, 1835-1850.

Torrioni A, Bandelt H.J, D'Urbano L, Lahermo P, Moral P, Sellitto D, Rengo C, Forster P, Savontaus M.L, Bonn -Tamir B, Scozzari R. 1998. mtDNA analysis reveals a major late Paleolithic population expansion from southwestern to northeastern Europe. *Am. J. Hum. Genet*, 62, 1137-1152.

Torrioni A, Bandelt H.J, Macaulay V, Richards M, Cruciani F, Rengo C, Martinez-Cabrera V, Villems R, Kivisild T, Metspalu E, Parik J, Tolk H.V, Tambets K, Forster P, Karger B, Francalacci P, Rudan P, Janicijevic B, Rickards O, Savontaus M.L, Huoponen K, Laitinen V, Koivum ki S, Sykes B, Hickey E, Novelletto A, Moral P, Sellitto D, Coppa A, Al-Zaheri N, Santachiara-Benerecetti A.S, Semino O, Scozzari R. 2001. A signal, from human mtDNA, of postglacial recolonization in Europe. *Am. J. Hum. Genet*, 69, 844-852.

Toth Liamp  Idioszeghy Pr passy G. 2000 Jan-Feb. The diagnostic value of stapedius reflex and stapedius reflex exhaustion in myasthenia gravis. *Electromyogr Clin Neurophysiol*, 40 (1), 17-20.

Tremblay M, Heyer E, Saint-Hilaire M. 2000. Comparaisons intergénérationnelles de l'endogamie à partir des lieux de mariage et de résidence. L'exemple de la population du Saguenay. *Cahiers québécois de d mographie*, 29 (1), 119-146.

Tsukada K, Nishio S, Usami S. 2010. The Deafness Gene Study Consortium. A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients. *Clin. Genet*, 78 (5), 464-470.

Tucker S.M, Bhattacharya J. 1992. Screening of hearing impairment in the newborn using the auditory response cradle. *Arch Dis Child*, 67, 911-919.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

U

Ugalde C, Hinttala R, Timal S, Smeets R, Rodenburg R.J, Uusimaa J, Van Heuvel L.P, Nijtmans L.G, Majamaa K, Smeitink J.A. 2007. Mutated ND2 impairs mitochondrial complex I assembly and leads to Leigh Syndrome. *Mol. Genet. Metab*, 90, 10-14.

V

Valero R, Bannwarth S, Roman S, Paquis-Flucklinger V, Vialettes B. 2008. Autosomal dominant transmission of diabetes and congenital hearing impairment secondary to a missense mutation in the WFS1 gene. *Diab Med*, 25, 657-661.

Van Camp G, Willems P.J, Smith R.J. 1997. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet*, 60, 758-764.

Vialettes B.H, Paquis-Flucklinger V, Pelissier J.F, Bendahan D, Narbonne H, Silvestre-Aillaud P, Montfort M, Righini-Chossegros M, Pouget J, Cozzone P.J, Desnuelle C. 1997. Phenotypic expression of diabetes secondary to a T14709C mutation of mitochondrial DNA. Comparison with MIDD syndrome (A3243G mutation): a case report. *Diabetes Care*, 20, 1731-1737.

Viet P, Bizaguet G. 1968. Le dépistage des réactions auditives du nouveau-né. *Rev Laryngol Otol Rhinol*, 8, 433-439.

Vigilant L, Stoneking M, Harpending H, Hawkes K, Wilson A.C. 1991. African Populations and the Evolution of Human Mitochondrial DNA. *Science*, 1503-1507.

Vincent C. 2003. Les surdités génétiques. *Archives de Pédiatrie*, 10S, 1:150.

Vincent C. 2011. Surdités génétiques: mise au point. *La Revue de médecine interne* 32S, S2-S4.

Vincent M, Estève-Fraysse M.J, Fraysse B. 1990 Sep. Diagnosis of perceptive deafness in adults. *Rev Prat*, 1, 40 (19), 1751-1761.

Vogel F, Motulsky A.G. 1979. *Human Genetics*. Springer Verlag, 700 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Vohr B.R, White K.R, Maxon A.B. 1996. Effects of exam procedures on transient evoked otoacoustic emission (TEOAEs) in neonates. *J Am Acad Audiol*, 7, 77-82.

W

Wallace D.C, Garrisson K, Knowlen W.C. 1985. Dramatic founder effects in American mitochondrial DNAs. *Am. J. Phys. Anthropol*, 68, 149-155.

Wallace D.C, Shoffner J.M, Watts R.L, Juncos J.L, Torroni A. 1992. Mitochondrial oxidative phosphorylation defects in Parkinson's disease. *Ann. Neurol*, 32, 113-114.

Wallace D.C, Brown M.D, Lott M.T. 1999. Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene*, 238, 211-230.

Wallace D.C. 2005. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet*, 39, 359-407.

Wang Y. C, Kung C.Y, Su M.C. 2002. Mutations of Cx26 gene (GJB2) for prelingual deafness in Taiwan. *Eur. J. Hum. Genet*, 10, 495-498.

Watson J.D. 1970. *Molecular biology of the gene*. W.A. Benjamin, Inc. Second Edition, New York.

Weisfeld G.E, Russell R.J.H, Weisfeld C.C, Wells P.A. 1992, Correlates of satisfaction in British marriages. *Ethology and Sociobiology*, 13 (2), 125-145.

Wesley M, Brown W.M. 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of human as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, 44, 3605-3609.

White K. 2010 Oct. Twenty years of early hearing detection and intervention (EHDI): Where we've been and what we've learned. ASHA Audiology Virtual Conference.

Wilson M.R, DiZinno J.A, Polanskey D, Replogle J, Budowle B. 1995. Validation of mitochondrial DNA sequencing for forensic casework analysis. *Int. J. Legal. Med*, 108, 68-74.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Wilson F.H, Hariri A, Farhi A, Zhao H, Petersen K.F, Toka H.R, Nelson-Williams C, Raja K.M, Kashgarian M, Shulman G.I, Scheinman S.J, Lifton R.P. 2004. A cluster of metabolic defects caused by mutation in a mitochondrial tRNA. *Science*, 306, 1190-1194.

Y

Yu-Sheng C, Torroni A, Excoffier L, Santachiara-Benerecetti A.S, Wallace D.C. 1995. Analysis of mtDNA variation in African populations reveals the most ancient of all human continent-specific haplogroups. *Am. J. Hum. Genet*, 57, 133-149.

Yuan Y, Yu F, Wang G, Huang S, Yu R, Zhang X, Huang D, Han D, Dai P. 2010. Prevalence of the GJB2 IVS1+1G>A mutation in Chinese hearing loss patients with monoallelic pathogenic mutation in the coding region of GJB2. *J. Transl. Med*, 8, 127.

Yuan Z. 2003. The sources of electrically evoked otoacoustics emissions. *Hearing research*, 180, 91-100.

Z

Zakaria D. 1993. Etude épidémiologique et génétique des hémoglobinopathies dans le Nord-Ouest de la Tunisie. DEA. Faculté des Sciences de Tunis, p 79.

Zhang C, Lee A, Liu V.W, Pepe S, Rosenfeldt F, Nagley P. 1999. Mitochondrial DNA deletions in human cardiac tissue show a gross mosaic distribution. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 254, 152-157.

Zhang Y, Tang W, Ahmad S. 2005. Gap junction-mediated intercellular biochemical coupling in cochlear supporting cells is required for normal cochlear functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 15201-15206.

Zhao H.B, Santos-Sacchi J. 1999. Auditory collusion and a coupled couple of outer hair cells. *Nature*, 399, 359-362.

Zheng J, Shen W.X, He D.Z, Kevin B.L, Madison L.P, Dallos P. 2000. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature*, 405, 149-155.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SAOUDI. S, 2015

Zlotogora J. 1997. Genetics disorders among Palestinian Arabs: Effects of consanguinity. American Journal of Medical Genetics, 68, 472-475.

Zorrilla de San Martinet J. 2010 Sep. Ca^{2+} and Ca^{2+} -activated K^{+} channels that support and modulate transmitter release at the olivocohlear efferent-inner hair cell synapse. J Neurosci, 8, 30 (36), 12157-12167.

ANNEXES

ANNEXE 1

FICHE ENQUÊTE GENETIQUE

(Structure familiale et anthropogénétique)

Nom du propositus :

Prénom du propositus

Sexe :

Date et lieu de naissance :

Résidence :

Profession :

Niveau d'étude :

Nombre de la fratrie :

Position dans la fratrie :

Marié (e) :

Couple consanguin :

Classe de consanguinité :

Origine géographique de la mère :

Origine géographique de la grand-mère maternelle :

Origine géographique du père :

Origine géographique du grand-père paternel :

Antécédents familiaux :

FAMILLE DU PROPOSITUS (ENFANT)

Parents consanguins :

Classe de consanguinité :

Avortement :

Membres de la fratrie du propositus	Marié (e) / consanguinité	Statut (sain/malade)	Date de naissance	Décès/cause

FAMILLE DU PROPOSITUS (ADULTE)

Couple consanguin :

Classe de consanguinité :

Avortement :

	Origine géographique	Statut (sain/malade)	Date de naissance	Décès/cause
Conjoint du propositus				

Enfants du propositus	Marié (e) / consanguinité	Statut (sain/malade)	Date de naissance	Décès/cause

ANNEXE 2

SEQUENCE DE REFERENCE DE HVSI

16021 ctggttctttc atggggaagc agatttgggt accaccaag tattgactca cccatcaaca
16081 accgctatgt atttcgtaca ttactgccag ccaccatgaa tattgtacgg taccataaat
16141 acttgaccac ctgtagtaca taaaaacca atccacatca aaacccctc cccatgctta
16201 caagcaagta cagcaatcaa cctcaacta tcacacatca actgcaactc caaagccacc
16261 cctcaccac taggatacca acaaactac ccaccctta cagtacatag tacataaagc
16321 catttaccgt acatagcaca ttacagtcaa atcccttctc gtcccatgg atgaccccc
16381 tcagataggg gtcccttgac caccatcctc cgtgaaatca atatcccgca caagagtgt
16441 actctcctcg ctccgggccc ataacttg ggggtagcta aagtgaactg tatccgacat
16501 ctggttccta cttcagggtc ataaagccta aatagccac acgttccct taaataagac
16561 atcacgatg

ANNEXE 3

FICHE ENQUETE GENETIQUE

(Surdité)

Date:

Poids:

Enquêteur:

Taille:

Médecin Référent:

BMI:

Service/ hôpital:

Groupe sanguin:

N° DC/ DH:

Tour de taille:

Maladie génétique:

Tour de hanche:

Nom du propositus:

Tabagisme/alcoolisme (durée):

Adresse:

Stress:

Téléphone:

Observation:

Diagnostic suspecté:

Age au début de la maladie (circonstances de découverte):

Age au diagnostic:

Traitement médical:

Anomalies du développement pré et post natal:

Problèmes et accidents lors de l'accouchement:

Année du mariage (âge):

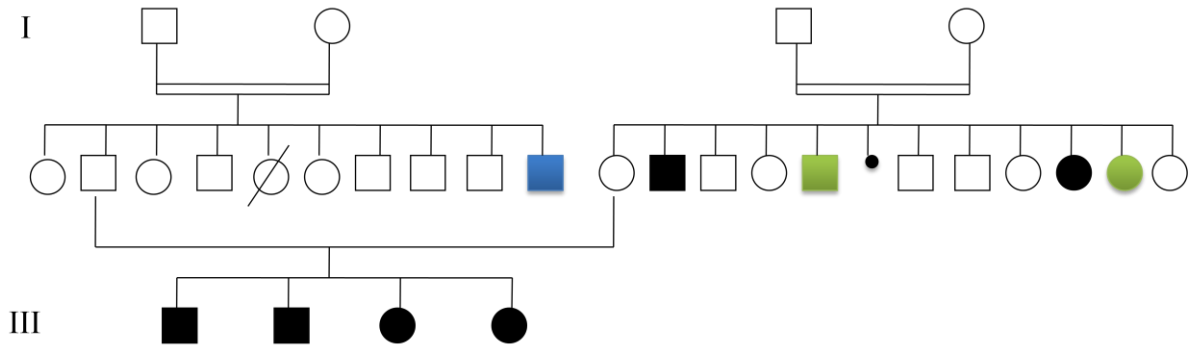
Autres maladies dans la famille

Maladie(s)	Nombre d'atteints	Vivant/décédé (âge et cause)	Age au moment d'apparition de la maladie	Remarques (lien de parenté...)
Surdité				
Maladies dermatologiques				
Maladies neurologiques				
Maladies cardiovasculaires (HTA)				
Obésité/diabète				
Infertilité				
Maladies oculaires				
Autres				

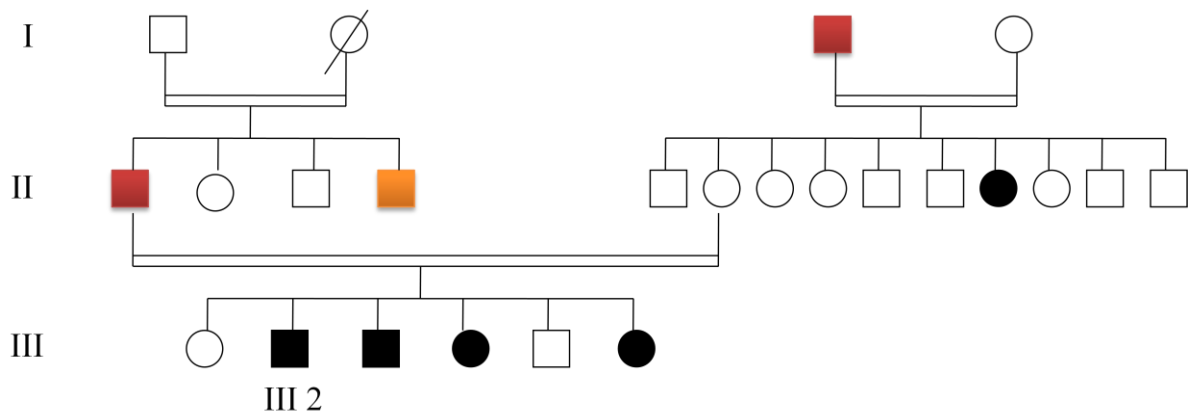
- Age à la marche?
- déséquilibre de marche?
- Troubles de vision nocturne?
- Présence d'atteintes épidermiques, rénales, cardiaques, ophtalmiques?
- Problèmes de thyroïde?
- antibiothérapie pour traiter la surdité ?
- Existence d'une étiologie environnementale de la surdité (méningite, ictère, souffrance néonatale...)?
- Y'a t-il des cas dans la famille avec une surdité à apparition tardive?
- Y'a t-il une association entre diabète et surdité?
- Naissance prématurée?

ANNEXE 4

ARBRE GENEALOGIQUE DES PATIENTS DE LA FAMILLE N° 1



ARBRE GENEALOGIQUE DES PATIENTS DE LA FAMILLE N° 2



ANNEXE 5

FICHE DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Je soussigné.....autorise M^{elle}. SAOUDI Souad, doctorante du Pr. BOUSLAMA Zihad et ses collaborateurs Le Professeur ABDELHAK Sonia et le Docteur KEFI Rym à dresser mon arbre généalogique et à collecter des informations sur ma famille et moi-même, ainsi que d'effectuer les analyses biologiques et génétiques nécessaires dans le cadre de la recherche scientifique sur la maladie de

Signature

أنا الممضي أسفله

أسمح للآنسة سعودي سعاد طالبة دكتوراه لدى البروفيسور بوسلامة زهاد و لثامل الفريق العامل معها بتصميم شجري العائلية و أخذ معلومات عني و عن عائلتي و إجراء التحاليل البيولوجية و الوراثة اللازمة قصد إجراء أبحاث علمية على

مرض

الإمضاء

LISTE DES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

- **S. SAOUDI**, N. BEN-HALIM, R. KEFI, S. ABDELHAK et Z. BOUSLAMA. *Etude préliminaire de la structure familiale et anthropogénétique de la population de Annaba*. 1er Congrès Méditerranéen de Biodiversité Animale et Ecologie de la Santé, 15-18 Octobre 2011, Annaba, ALGERIE.
- **S. SAOUDI**, R. KEFI, S. ABDELHAK et Z. BOUSLAMA. *Preliminary study of mitochondrial DNA polymorphism at the segment HVSI Of the urban population of Annaba*. Colloque scientifique de l'Institut Pasteur de Tunis (120ème anniversaire), 28-29 Novembre 2013, Tunis, TUNISIE.
- **S. SAOUDI**, N. BEN-HALIM, R. KEFI, S. ABDELHAK et Z. BOUSLAMA. *Study of homogamy in a Berber population in the Algerian East: The Chaouis*. Colloque scientifique de l'Institut Pasteur de Tunis (120ème anniversaire), 28-29 Novembre 2013, Tunis, TUNISIE.
- **S. SAOUDI** et Z. BOUSLAMA. *L'enquête génétique familiale*. VIIes Journées de Méthodologie de la Recherche Scientifique et d'Ethique, 20-21 Mars 2015, Annaba, ALGERIE.

PUBLICATION

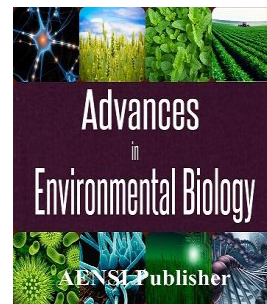
S. SAOUDI^{*}, N. BEN-HALIM, R. KEFI, S. ABDELHAK et Z. BOUSLAMA. 1. Feb, 2015. Consanguinity and homogamous marriages among Chaouis, a Berber population from Eastern Algeria. *Advances in Environmental Biology*, 9 (3), 403-408.



AENSI Journals

Advances in Environmental Biology

ISSN-1995-0756 EISSN-1998-1066

Journal home page: <http://www.aensiweb.com/AEB/>

Consanguinity and Homogamous Marriages Among Chaouis, a Berber Population from Eastern Algeria

¹Souad Saoudi, ²Nizar Ben-Halim, ²Rym Kefi, ²Sonia Abdelhak and ¹Zihad Bouslama

¹Laboratory of Ecology of Terrestrial and Aquatic Systems, Department of Biology, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, P.O. Box. 12 Annaba 23000, Algeria.

²Laboratory of Biomedical Genomics and Oncogenetics, Pasteur Institute of Tunis, P.O. Box .74, 13 Place Pasteur, Tunis 1002, Tunisia.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 November 2014

Received in revised form 31 December 2014

Accepted 22 January 2015

Available online 25 February 2015

Keywords:

Consanguinity, Endogamy, Cultural homogamy, Social homogamy, Matrimonial choice, Berber population.

ABSTRACT

The choice of the future partner in Arab-Muslim societies, especially traditional ones is based on some rules such as parental control or when the couple is belonging to the same category which determines homogamy type. This behavior has direct consequences on the distribution, the structure and the heterogeneity of the population's genetic patrimony. The purpose of this study is to evaluate the situation of inbreeding and homogamy types in the eastern population of Algeria and fill the lack of researches recorded on this topic. An investigation was carried out on consanguinity and assortative mating among Berbers (the Chaouis) from Eastern Algeria, in the state of Khenchela. The degree of parental relatedness, demogenetic, cultural and socio-economic data were collected from a sample of 112 Chaouis at the studied couple generation, the husband's parents' generation and the wife's parents' generation. Prevalence of consanguinity and the average coefficient of inbreeding were respectively (56.25%, 37.95×10^{-3}) at the studied couple generation, (52.68%, 27.54×10^{-3}) at the husband's parents' generation and (60.71%, 30.79×10^{-3}) at the wife's parents' generation. Endogamous unions were very high 97.32% at the studied couple generation, 91.96% at the husband's parents' generation and 93.75% at the wife's parents' generation. Professional homogamy was less pronounced: 16.07% when husbands at the studied couple generation and maternal grandfathers' professions were compared and 46.43% when paternal and maternal grandfathers' professions were compared. As a conclusion, the Chaouis remain a population with high proportions of consanguineous and homogamous marriages which are still the most common practice in spite of social movements and technological advances which knows the region. This preferential marriage seems to be well entrenched reflecting the desire to preserve an ethnic identity and thereby restricting the free choice of the partner. Otherwise, this system ensures the knowledge of genes flow in the population.

© 2015 AENSI Publisher All rights reserved.

To Cite This Article: Souad Saoudi, Nizar Ben-Halim, Rym Kefi, Sonia Abdelhak and Zihad Bouslama., Consanguinity and Homogamous Marriages Among Chaouis, a Berber Population from Eastern Algeria. *Adv. Environ. Biol.*, 9(3), 403-408, 2015

INTRODUCTION

Homogamy describes unions where partner choice is based on specific criteria (ethnic, religious, social, cultural and socioprofessional). Unions between individuals geographically close sharing the same socioprofessional profiles, contribute to the social immobility and to the increase of inbreeding [1].

Arab-Muslim societies are the most adepts of this type of marital choice. Consanguinity reached 22% in India [2], 65% in Sudan and 60.1 % in Mauritania [3], 56% in Saudi Arabia [4], 49% in the North of Jordan [5] and 54% in Qatar [6].

Consanguinity affects the distribution, the structure and the heterogeneity of the population genetic patrimony by modifying gene frequencies and genotype frequencies [7]. Related parents are more predisposed to carry same alleles than two individuals taken randomly from the population. This means that for a given gene, consanguineous offspring are more frequently homozygous than others.

Thus, this phenomenon contributes to the impoverishment of genetic variability by favoring the appearance of homozygotes and increasing birth defects and rare hereditary diseases [8].

Corresponding Author: Souad Saoudi, Department of Biology, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, P.O. Box. 12 Annaba 23000. Algeria.

Tel: +213 550 73 94 07;

E-mail: souad232008@hotmail.com

Few studies investigating inbreeding in Algeria were realized but no one has been carried among the Chaouis. Consanguinity reached in the general population 22% to 25% [9], 36.4 % in 1994 [10], 34.04% at Telemcen [11] and 38.30% in 12 Algerian towns [12].

This study aims to investigate matrimonial strategy among Chaouis by exploring different types of assortative mating: consanguinity, endogamy and social homogamy (cultural and professional) in order to establish the Chaouis family structure. Results could serve as an indispensable point of comparison for Algerian or international studies in this area and determine the effective role of inbreeding in the Chaouis pathology.

MATERIAL AND METHODS

The studied area:

The study was carried out in Khenchela, highlands of Northeastern Algeria, in the Aures region. Khenchela is situated at 1200 meters altitude and is bounded on North by Oum El Bouaghi, on Southwest by Batna and Biskra, on South by El Oued and on East by Tebessa. Its area is about 9715 km² with a population estimated to 422 500 people [13].

The familial investigation:

The investigation was conducted in the blood transfusion point of the public hospital Ali BOUSHABA, Khenchela on a sample of 112 unrelated adults Chaouis.

A questionnaire prepared in advance allowed us to obtain demogenetic, cultural and socio-economic data collected at the Studied Couple Generation noted (SCG), the Husband's Parents Generation noted (HPG) and the Wife's Parents Generation noted (WPG).

Data analysis:

The inbreeding coefficient **Ca** is calculated using the following equation [14]

$$Ca = 1/8 Rdcg + 1/16 Rcg + 1/32 Rci + 1/64 Rcig$$

Rdcg: Frequency of unions between double first cousins;

Rcg: Frequency of unions between first cousins;

Rci: Frequency of unions between first cousins once removed;

Rcig: Frequency of unions between second cousins.

Homogamy analysis was made using STATA 11 software. Cross tables were established according to the type of social homogamy (cultural and professional). Professional homogamy was obtained from two cross tables. The first one contains husbands / maternal grandfathers' occupations (first form) and the second one contains paternal grandfathers' / maternal grandfathers' professions (second form). Homogamy tendency appears in the main diagonal.

RESULTS AND DISCUSSION

Consanguinity:

Consanguineous and endogamous unions are the marital choice the most practiced in the Arab-Muslim world and Chaouis from Khenchela don't make the exception. Indeed, inbreeding rates were high: 56.25% at (SCG), 52.68% at (HPG) and 60.71% at (WPG). These results are higher than those described in India: 11.9% [15], in Croatia: 9.3% [16] and in Sabra, Western Algeria: 33.33% and 35.48% recorded respectively at (SCG) and at the parental generation [17]. However, they are almost equal to those found in Saudi Arabia: 56% [18].

Unions between first cousins were the most contracted: 47.61% at (SCG), 38.98% at (HPG) and 44.12% at (WPG). A preference for marriages with parallel patrilineal cousins was predominant (Table 1). These results are concordant with those found in Tunisia [19] and Morocco [20] who also noted a preference for marriages between first cousins. This type of union provides to couples and their parents more advantages than disadvantages on personal and familial plans. It ensures to spouses marriage stability, the acceptance of the partner and his parents in their being and having and strengthening interfamilial links [21].

Table 1: Distribution of consanguinity frequencies through generations.

Generations		Consanguinity classes (%)								
		First cousins				Double first cousins	First cousins once removed	Second cousins	Third cousins (%)	Consanguinity not determined (%)
		DFB	DMS	DFS	DMB					
SCG (N=63)		33.33	7.94	3.17	3.17	3.17	7.94	11.11	11.11	19.05
HPG (N=59)		32.2	5.08	1.69	-	1.69	3.39	-	8.47	47.46
WPG (N=68)		35.29	2.94	4.41	1.47	1.47	4.41	-	4.41	45.59

SCG: Studied Couple Generation, **HPG**: Husband's Parents Generation, **WPG**: Wife's Parents Generation, **DFB**: Daughter of Father's Brother, **DMS**: Daughter of Mother's Sister, **DFS**: Daughter of Father's Sister and **DMB**: Daughter of Mother's Brother.

The average coefficient of inbreeding was 37.95×10^{-3} at (SCG), 27.54×10^{-3} at (HPG) and 30.79×10^{-3} at (WPG). It was higher than those in Morocco: 16.6×10^{-3} at (SCG), 22.9×10^{-3} at (HPG) and 17.5×10^{-3} at (WPG) [22], among three generations in Jordan: 13.5×10^{-3} , 20×10^{-3} and 14.2×10^{-3} [23], in Qatar: 23.724×10^{-3} at (SCG), 18.425×10^{-3} at (HPG) and 16.41×10^{-3} at (WPG) [24], in Northern Sweden: 2.0×10^{-3} [25] and in South America: 0.53×10^{-3} [26]. The average inbreeding coefficient is used to evaluate the homozygosity risk at the population level, especially for genes responsible for inherited diseases. Therefore, a study is necessary to explore the association between consanguinity and genetic disorders among Chaouis.

Endogamy (geographic homogamy):

Chaouis are strongly endogamous: 97.32% at (SCG), 91.96% at (HPG) and 93.75% at (WPG). These results are higher than those described in two different Moroccan populations. Prevalence of endogamy in Gharb-Chrarda-Béni Hssen was 70.48% at (SCG), 92.31% at (HPG) and 85.85% at (WPG) [27]. It was 81.2% among an isolated humane population in the Moyen Atlas where Berbers were the most endogamous (82.15%) [20]. The high rate of consanguinity demonstrates that endogamy is still a matrimonial strategy among Chaouis.

[28] reported that several authors consider endogamy as a social immobility factor of the individual and of the genetic isolation of the population [29,30,31,15,32].

Social homogamy:

Cultural homogamy:

The different educational levels were classified into three classes:

- **Lower level:** illiterate and primary school;
- **Middle level:** secondary school;
- **Upper level:** university.

Description of spouses' cultural level revealed that low educational level was predominant especially among wives (69.64%) (Figure 1). These results join those of Moroccan studies where distribution of low educational attainment in the general population was the highest mostly among women: 96.6% [33], 82.8% [34] and 60.6% [35]. This imbalance could be due to the inequality of educational opportunity between men and women in Khenchela.

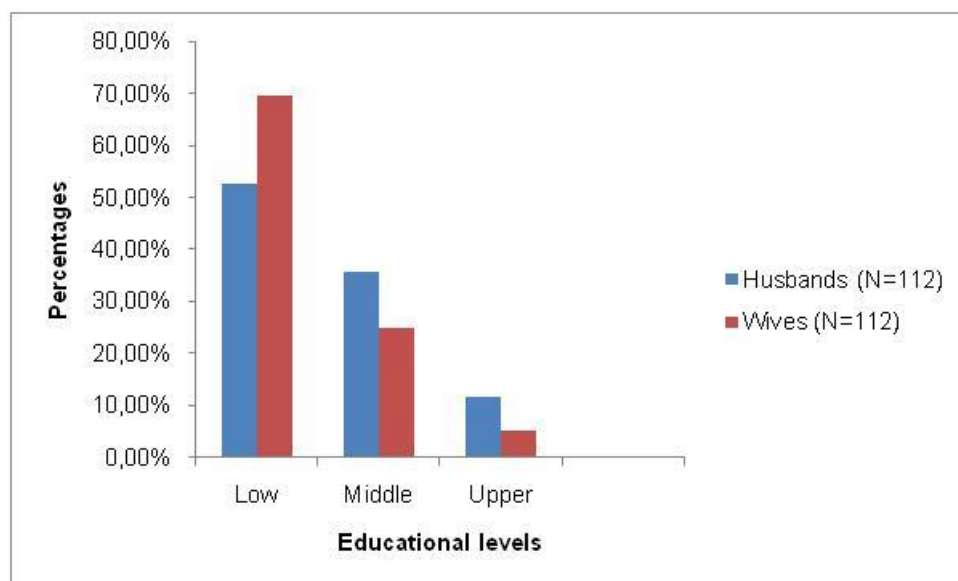


Fig. 1: Distribution of educational levels at the Studied Couple Generation.

Prevalence of cultural homogamy reached 65.18% at (SCG) where 52 of 73 homogamous couples (71.23%) had a low educational level (Table 2). It is higher than Moroccan results discussed by [28] and [36] who noted respectively 54.29 % and 56.2% of homogamous couples. This educational homogamy could be a situation imposed by the dominance of the low educational level rather than a premeditated choice.

Professional homogamy:

Frequency of professional homogamy was 16.07%. It was only among farmers (44.44%) and civil servants (55.56%) (first form, Table 3). While 46.43% of grandfathers have the same professions and farmers were the most homogamous (86.54%) (second form, Table 4). These results are lower than those of [37] where 37.7% of

women marry men who are socially similar to their fathers and 58% of couples have fathers sharing the same social status.

Table 2: Matrix of cultural homogamy among the Studied Couple Generation.

		Husbands educational levels			Total
		Lower	Middle	Upper	
wives educational levels	Lower	52	21	5	78
	Middle	7	17	4	28
	Upper	0	2	4	6
	Total	59	40	13	112

Agricultural work presents a major proportion in professional homogamy. These results match those of [33] who reported that a farmer prefers to marry his daughter to a farmer or a farmer's son, allowing the son in law to join its agricultural heritage to that of his wife.

Table 3: Matrix of professional homogamy (first form).

		Maternal grandfathers professions								Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Husbands professions	1	-	2	1	-	-	1	-	-	4
	2	-	8	-	1	1	-	-	-	10
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	4	-	4	-	-	-	5	-	-	9
	5	-	13	3	3	-	1	-	-	20
	6	-	27	2	10	6	10	-	-	55
	7	-	2	1	-	3	4	-	-	10
	8	-	2	-	1	1	-	-	-	4
Total	0	58	7	15	11	21	0	0	112	

1: Without a profession, 2: Farmers, 3: Rancher, 4: Trader, 5: Liberal function, 6: Civil servant, 7: High civil servant and 8: Entrepreneur.

Table 4: Social origin of the Studied Couple Generation (second form).

		Maternal grandfathers professions								Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Paternal grandfathers professions	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	2	-	45	2	10	5	7	-	-	69
	3	-	2	1	-	-	5	-	-	8
	4	-	4	-	1	3	3	-	-	11
	5	-	3	3	1	1	2	-	-	10
	6	-	4	1	3	2	4	-	-	14
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Total	0	58	7	15	11	21	0	0	112	

1: Without a profession, 2: Farmers, 3: Rancher, 4: Trader, 5: Liberal function, 6: Civil servant, 7: High civil servant and 8: Entrepreneur.

Conclusion:

Like the other Arab-Muslim societies, homogamous marriages among Chaouis from Khenchela occupy until now a very important place. Indeed, mate choice is done on a partner of the same geographical and ethnic origin contributing to the increase of inbreeding. This choice is related to social influences such as socioprofessional and educational levels and that whatever the degree of consciousness they have about the consequences.

The conducted study, for the first time, among Chaouis allowed us to define their family structure and to have an idea about their genetic structure. This could be extended in the future by studying marital choice by isonymy and its heredity through generations. Finally, an investigation on consanguinity impacts is very interesting to analyze the association between inbreeding, genetic disorders and pre-reproductive mortality among Chaouis which should be taken into consideration in genetic counseling.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank all the volunteers and to acknowledge the members of Blood Transfusion Laboratory, Ali BOUSHABA Hospital (Khenchela, ALGERIA) for their collaboration and availability.

REFERENCES

- [1] Ben M'Rad, L. and N. Chalbi, 2006. Milieu de résidence origine des conjoints et consanguinité en Tunisie. *Antropo*, 12: 63-71.
- [2] Bittles, A.H. and R. Hussain, 2000. An analysis of consanguineous marriage in the Muslim population of India at regional and state levels. *Annals of Human Biology*, 27(2): 163-171.

- [3] Rozzet, J. and C.S. Prem, 2003. The prevalence and correlates of consanguineous marriages in Yemen: similarities and contrasts with other Arab countries. *Journal of Biosocial Science*, 35: 1-13.
- [4] El Mouzan, M.I., A.A. Al Salloum, A.S. Al Herbish, M.M. Qurashi and A.A. Al Omar, 2007. Regional variations in the prevalence of consanguinity in Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 12: 1881-4.
- [5] Obeidat, B.R., Y.S. Khader, Z.O. Amarin, M. Kassawneh and M. Al Omari, 2010. Consanguinity and Adverse Pregnancy Outcomes: The North of Jordan Experience. *Maternal Child Health Journal*, 14 (2): 283-289.
- [6] Bener, A. and R. Hussain, 2006. Consanguineous unions and child health in the State of Qatar. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 20(5): 372-378.
- [7] Tremblay, M., E. Heyer and M. Saint-Hilaire, 2000. Comparaisons intergénérationnelles de l'endogamie à partir des lieux de mariage et de résidence. L'exemple de la population du Saguenay. *Cahiers Québécois de Démographie*, 29(1): 119-146.
- [8] Latifi, M., A. Khadmaoui, A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2004. Système de reproduction dans une population humaine isolée du Moyen Atlas du Maroc (population de Fritissa). *Antropo*, 7: 73-78.
- [9] Benallègue, A. and F. Kedji, 1984. Consanguinité et santé publique, une étude algérienne. *Archives Françaises de Pédiatrie*, 41(6): 435-440.
- [10] Algerian National Office of Statistics, 1994. The Algerian Maternal and Child Health Survey. The Republic of Algeria and the League of Arab State, Pan Arab Project for Child Development.
- [11] Zaoui, S. and C. Biémont, 2007. Fréquence et structure des mariages consanguins dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). *Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé*, 12(3): 289-295.
- [12] La Fondation nationale pour la promotion de la santé et de la recherche (Forem), 2007. Les dangers des mariages consanguins en Algérie.
- [13] Statistics Yearbook of Khenchela, 2012. Directorate of Health and Population of Khenchela.
- [14] Jakobi, L. and A. Jaquard, 1971. Consanguinité proche, consanguinité éloignée. Essai de mesure dans un village breton. *INED Paris*, 60: 263-268.
- [15] Bittles, A.H., 2002. Endogamy, consanguinity and community genetics. *Journal of Genetics*, 81(3): 91-98.
- [16] Kerkeni, E., K. Monastiri, B. Saket, D. Rudan, L. Zgaga and H. Ben Cheikh, 2006. Association among Educational Level, Occupation Status, and Consanguinity in Tunisia and Croatia. *Croatian Medical Journal*, 47: 656-661.
- [17] Moussouni, A., 2007. Etude anthro-po-biologique de la consanguinité sur les paramètres de fitness et de morbidité dans la population de Sabra dans l'Ouest Algérien. Etude comparative dans le bassin Méditerranéen, thèse de Doctorat en anthropologie biologie, Université de Tlemcen, Algérie.
- [18] El Mouzan, M.I., A.A. Al Salloum, A.S. Al Herbish, M.M. Qurashi and A.A. Al Omar, 2008. Consanguinity and major genetic disorders in Saudi children: a community-based cross-sectional study. *Annals of Saudi Medicine*, 28(3): 169-173.
- [19] Ben M'rad, L. and N. Chalbi, 2004. Le choix matrimonial en Tunisie est-il transmissible?. *Antropo*, 7: 31-37.
- [20] Latifi, M., A. Khadmaoui, A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2004. Système de reproduction dans une population humaine isolée du Moyen Atlas du Maroc (population de Fritissa). *Antropo*, 7: 73-78.
- [21] Bou-Assy, F., S. Dumont and F. Saillant, 2003. Représentations sociales du mariage endogame et de ses conséquences biologiques sur la santé des descendants chez des fiancés apparentés : Cas de deux villages chiites au Liban. *Service Social*, 50(1): 174-198.
- [22] Attazagharti, N., H. Hami, A. Soulaymani, D. Benali, A. Khadmaoui and A. Mokhtari, 2006. Consanguinité et Isonymie dans la Région du Gharb au Maroc. *Biologie & Santé*, 6(2): 1-8.
- [23] Hamamy, H., L. Jamhawi, J. Al-Darawsheh and K. Ajlouni, 2005. Consanguineous marriages in Jordan: why is the rate changing with time?. *Clinical Genetics*, 67(6): 511-516.
- [24] Bener, A., R. Hussain and A.S. Teebi, 2007. Consanguineous Marriages and Their Effects on Common Adult Diseases: Studies from an Endogamous Population. *Medical Principles and Practice*, 16: 262-267.
- [25] Bittles, A.H. and I. Egerbladh, 2005. The influence of past endogamy and consanguinity on genetic disorders in northern Sweden. *Annals of Human Genetics*, 69: 549-558.
- [26] Orioli, I.M., E.E. Castilla and W.P. Carvalho, 1982. Inbreeding in a South-American newborn series. *Acta Anthropogenetica*, 6(1): 45-55.
- [27] Hami, H., A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2006. Endogamie, Isonymie et Consanguinité dans la Région du Gharb-Chrarda-Béni Hssen (MAROC). *Antropo*, 11: 223-233.
- [28] Hami, H., N. Attazagharti, A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2005. Homogamie dans la Région du Gharb-Chrarda-Béni Hssen (MAROC). Une enquête prospective (Juin 2003-Février 2004). *Antropo*, 9: 51-60.
- [29] Saugstad, L.F. and O. Odegard, 1977. Predominance of extreme geographical proximity of the spouses of heirs to independent farms in a mountain valley in Norway between 1600 and 1850. *Annals of Human Genetics*, 40(4): 419-430.

- [30] Reddy, P.C., 1984. Distribution, endogamy, and isolation of Malas of Chittoor district Andhra Pradesh, India. *Social Biology*, Spring-Summer, 31(1-2): 108-113.
- [31] Kucher, A.N., V.P. Puzyrev, N.O. Sanchat and L.S. Erdynieva, 1999. Genetic demographic characteristics of the rural population of the Tuva Republic: Marriage structure and inbreeding. *Genetika*, 35(7): 976-981.
- [32] Ben Arab, S., S. Masmoudi, N. Beltaief, S. Hachicha and H. Ayadi, 2004. Consanguinity and endogamy in Northern Tunisia and its impact on non-syndromic deafness. *Genetic Epidemiology*, 27(1): 74-79.
- [33] Talbi, J., A. Khadmaoui, A. Soulaymani and A. Chafik, 2006. Caractérisation du comportement matrimonial de la population marocaine. *Antropo*, 13: 57-67.
- [34] Benhamadi, B., 1994. Les ménages consanguins au Maroc: caractéristiques et déterminants. In the Proceedings of the 1994 Aranjuez Conference, pp: 223-234.
- [35] Hami, H., A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2007. Traditions matrimoniales dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer au Maroc. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*, 19: 1-2.
- [36] Latifi, M., L. Sbihi, H. Hami, R. Hmimou, A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2010. Le Choix du conjoint dans la région de Fritissa (Est du Maroc). *Antropo*, 23: 99-107.
- [37] Sbihi, L., M. Latifi, H. Hami, D. Benali, A. Soulaymani and A. Mokhtari, 2011. Etude de l'homogamie sociale dans la région de Souss-Massa-Drâa au Maroc. *Antropo*, 25: 97-103.