

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Génétique*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Étude moléculaire du syndrome des ovaires polykystiques
dans la région de Constantine :
Implication du polymorphisme du gène *DICER1***

Présenté et soutenu par : ALLATOU Racha Hasna
CHELLAT Asma

Le 04/11/2020

Jury d'évaluation :

Président : SATTA Dalila (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : REZGOUN Mohamed Larbi (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : SEMMAME Ouarda (MC-B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2019 - 2020

Remerciements

Nous tenons à remercier, en premier lieu, très sincèrement, **Professeur SATTA Dalila** qui, en tant que responsable de la formation Génétique, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer malgré ses charges académiques et professionnelles.

Au **professeur ABADI Noureddine**, directeur du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (CHU Benbadis Constantine) qui nous ont ouvert les portes des structures dont ils avaient la responsabilité et qui ont tous mis à notre disposition pour nous permettre de travailler dans les meilleures conditions.

Nos remerciements s'adressent particulièrement à **Docteur REZGOUNE Mohamed Larbi**, notre promoteur, pour sa générosité et la grande patience dont il a su faire preuve. Son encadrement, ses critiques constructives, ses précieux conseils nous ont été d'une aide précieuse. Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers lui qui a eu la gentillesse de lire et corriger ce travail et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nous remercions l'honorable jury qui a consenti à juger notre modeste travail. Nous leurs témoignons notre profonde considération. **Docteur SEMMAME Ouarda**, nous tenons à vous remercier chaleureusement d'avoir accepté de juger nos travaux et d'avoir dégagé du temps pour vous y consacrer. Jadis nos enseignants, espérant que vous allez voir, dans ce manuscrit, les fruits du dévouement avec lequel vous avez fait preuve durant les enseignements que vous nous avez prodigué.

Nos vifs remerciements à tous **nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie**, de l'université des frères Mentouri Constantine 1, et qui ont pleinement assuré notre formation durant nos années d'études. Un spécial remerciement aux **membres de l'équipe de formation Génétique (Licence et Master)**. Nous vous prions d'accepter, chers maitres, l'expression de notre profonde gratitude. Merci et mille mercis à vous.

De peur d'en avoir oublié, nous souhaiterons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ce formidable parcours universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père **YOUCEF**.*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la femme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore **FATIHA**.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à mes frères **KADER** et **ZAKI** et mes sœurs **DJALILA** et **ZOULEIKHA**, ma nièce **GAMRA** et mes neveux **WASSIM** et **AADEN** et à mon petit **NADJEM**, à mon beau-frère **MOHAMED LARBI** et mes belles sœurs **RAYANE** et **MAYA**, je dédie ce travail dont le grand plaisir leur revient en premier lieu pour leur conseil, aides et encouragement.*

*À celle qui a partagé mes maux et mon bonheur ; la fleur de ma vie **ZINEB**.*

*À ma formidable binôme, **RACHA***

*Enfin, j'espère que dieux garde ma grande mère **HADJIRA** qui m'entoure avec son affection et sa «baraka», que j'aime et à qui je dédie ma réussite.*

À tous ceux qui m'aime... je les remercie tous.

*.....**ASMA***

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère et éternel. À l'homme et la femme mes précieux offres du Dieu mes chers parents **NEDJMA** et **DOUADI** qui ont souffert sans me laisser souffrir et qui n'ont épargné aucun effort pour me rendre heureuse ; mes yeux que Dieu les protège et les garde en bonne santé.*

À ma petite et belle-sœur et mon beau-frère qui n'ont pas cessé de m'encourager tout au long de mes études que Dieu les protège et leur offre le bonheur.

*À toute ma petite et belle famille ; mes grands-pères et grands-mères maternels et paternel tous mes oncles et tantes spécialement **YOUCEF**, **HICHEM** et **SAMIRA**, à mes belles cousines que Dieu les protège inshallah.*

*À mes chers copains, copines, voisins à mes vraies sœurs les plus belles **KAOUTER** et **NIHED** et mon **TAREK** merveilleux le gentil frère ; Merci pour leur encouragements tout au long de ma carrière que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*Sans oublier mon binôme **ASMA** pour sa gentillesse et son soutien durant toute la période de préparation de notre mémoire.*

..... **RACHA**

Abréviations

Akt : Protein kinase B

AMH : Hormone Anti-Müllérienne

AR : Récepteur des Androgènes

ARN : Acide Ribo-Nucléique

ARNm : ARN messagers

ARNnc : ARN non-codants

ASO : Allele Specific Oligonucleotide

BBP : Bleu de Bromo-Phénol

BET : Bromure d'Éthidium

BMC : Biologie Moléculaire et Cellulaire

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CI : Confidence Interval

DENN : Differentially Expressed in Normal and Neoplastic cells

DENND1A : DENN Domain Containing 1A

DGCR8 : DiGeorge syndrome critical region gene 8

DICER : endoribonuclease or helicase with RNase motif

EDTA : Ethylene Diamino Tetracetic Acid

FSH : Hormone Folliculo-Stimulante

GWAS : Genome-Wide Association Study

HLA : Human Leukocyte Antigen

IGFBP-I : Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 1

IRS-1 : Insulin receptor substrate 1

LH : Hormone Lutéinisante

miARN : micro ARN

mTOR : mammalian Target Of Rapamycin

NIH : National Institut of Health

PASR : Promoter-Associated Short RNA

PAZ : Piwi/Argonaute/Zwile

PCR : Polymérisation de Réaction en Chaîne

PKC : Protein kinase C

RFLP : Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction

RISK : RNA-Induced Silencing Complex

RNP : Ribo-Nucléo-Protéine

S6K : Ribosomal protein S6 Kinase

SdRNA : snoRNA-derived RNA

SDS : Sodium Dodecyl Sulfate

SHBG : Sex Hormone-Binding Globulin

siRNA : petits ARN interférents

SLN : signal de localisation nucléaire

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

SpliARN : Splice-site associated smRNAs

SOPK : Syndrome des Ovaires Poly-Kystiques

TASR : Termini-Associated Short RNAs

TRBP : TAR RNA-binding protein

TSH : Thyroid Stimulating Hormone

XPO5 : exportine de type 5

Table des matières

Introduction

Page 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l’ovaire

1-Embryologie	03
2-Anatomie	04
3-Physiologie fonctionnelle	05
3-1-Fonction exocrine.....	06
3-2-Fonction endocrine.....	06
3-3-Cycle ovarien.....	07

Chapitre II : Syndrome des ovaires polykystiques

1-Définition	09
2-Épidémiologie	09
3-Étiologie	10
4-Physiopathologie et aspects moléculaires	11
5-Symptomatologie clinique et biologique	14
5-1- Symptomatologie clinique	14
5-1-1- Critères échographiques.....	14
5-1-2- Anovulation.....	14
5-1-3- Troubles du cycle	14
5-1-4- Hyperandrogénie	14
5-1-5- Syndrome métabolique	15
5-2- Symptomatologie biologique	15
6-Prise en charge du SOPK	16

Chapitre III : Génétique du syndrome des ovaires polykystiques

1-Aspects génétiques du syndrome des ovaires polykystiques	17
2-Études familiales	17
3-Anomalies moléculaires impliquées dans le SOPK	18
3-1- Gènes impliqués dans la synthèse des glucocorticoïdes.....	20
3-1-1- Gène <i>CYP17</i>	20
3-1-2- Gène <i>CYP11A</i>	20
3-1-3- Gène <i>CYP21</i>	20
3-1-4- Gène du récepteur aux androgènes	21
3-1-5- Gène de la <i>SHBG</i>	21
3-2- Gènes impliqués dans le métabolisme des carbohydrates.....	21
3-2-1- Gène du récepteur de l’insuline et le gène de l’insuline	21
3-2-2- Gène <i>IRS</i>	22
3-2-3- Gène de la résistine.....	22

3-2-4- Gène de la calpaïne 10.....	23
3-3-Gènes impliqués dans l'action et la régulation des gonadotrophines.....	23
3-3-1- Gène de la LH et de son récepteur.....	23
3-3-2- Gène de La FSH et son récepteur.....	24
3-3-3- Gène de la follistatine.....	24
3-3-4- Gènes du récepteur de la dopamine.....	24
3-4- Autres gènes candidats.....	24
3-4-1- Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité.....	24
3-4-2- Autres gènes impliqués dans la physiologie ovarienne.....	24
3-4-3- Gène <i>DENNDIA</i>	25
3-5- Modification épigénétiques.....	25
3-6- Méta-analyses et gènes candidats.....	26

Chapitre IV : ARN non codants : implication du gène *DICER1*

1-ARNs non codants.....	27
1-1- Définition.....	27
1-2- Fonction.....	28
1-3- Localisation génique.....	29
1-4- Biosynthèse des miARN.....	29
2-Implication des ARN non codant en pathologies humaines.....	30
3-ARN non codant et SOPK.....	31
4-Gène <i>DICER1</i>.....	32
4-1- <i>DICER1</i> structure et domaines	32
4-2- Particularités fonctionnelles.....	33
5-<i>DICER1</i> et SOPK.....	34

Partie pratique

Patients et méthodes

1-Patients.....	35
2-Témoins.....	35
3-Analyse génétique.....	35
3-1- Extraction d'ADN à partir de sang total.....	36
3-1-1- Prélèvement sanguin.....	36
3-1-2- Extraction de l'ADN.....	36
3-2-Détermination de la concentration, la pureté et de la qualité de l'ADN extrait.....	37
3-3- Génotypage.....	37
3-3-1- Amplification de la région d'intérêt.....	37
3-3-2- Digestion et migration sur gel d'agarose.....	38
4-Analyse statistique.....	40

Résultats

Résultats et discussion	42
Conclusion et perspectives	50
Références bibliographiques	53

Résumés

Liste des figures

Figure 01 : Appareil reproducteur féminin	04
02 : Évolution folliculaire de l’ovaire	05
03 : Chronologie du développement folliculaire	08
04 : Physiopathologie du syndrome des ovaires polykystiques.....	11
05 : Le rôle des androgènes dans les défauts de signalisation de l’insuline dans les tissus périphériques du SOPK	12
06 : Folliculogénèse normale et défaut folliculaire dans le SOPK	13
07 : Physiopathologie du SOPK : interaction entre facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux	25
08 : Méta-analyse des GWAS réalisées chez les patientes atteintes de SOPK	26
09 : Mécanismes d’action des miARN	30
10 : Représentation schématique de la structure du Dicer	33
11 : Représentation schématique du site de restriction de l’enzyme <i>Bshn1</i>	39
12 : Fréquences génotypiques pour le polymorphisme rs3742330 du gène <i>DICER1</i>	43
13 : Fréquences alléliques pour le polymorphisme rs3742330 du gène <i>DICER1</i>	43
14 : Liste des mutations pathogènes répertoriées du gène <i>DICER1</i>	46
15 : Analyse <i>in silico</i> de la liaison des microARN au gène <i>DICER1</i>	48

Liste des photographies

Photographie 01 : Analyse par RFLP du polymorphisme rs3742330 du gène DICER1 sur un fragment PCR digéré par pour <i>Bshn1</i>	39
Photographie 02 : Contrôle PCR de l'amplification partielle d'une partie de la région 3'UTR du gène <i>DICER1</i>	42
Photographie 03 : Profil de restriction des produits de l'amplification partielle de la région 3'UTR du gène <i>DICER1</i> après digestion par <i>Bshn1</i>	42

Liste des tableaux

Tableau I : Séquences des amorces utilisées pour l'amplification de la région d'intérêt	37
II : Composition du milieu réactionnel de la PCR pour l'amplification de la région d'intérêt	38
III : Programme du thermocycleurs pour l'amplification de la région d'intérêt	38
IV : Tableau de contingence croisé	41
V : Formulation des différents modèles de comparaison pour l'étude de l'effet des allèles A et G pour le polymorphisme du gène <i>DICER1</i>	41
VI : Résultats de l'analyse statistique de l'effet du polymorphisme.....	44

Décrit pour la première fois par *Stein* et *Leventhal* en 1935, le Syndrome des Ovaires Poly-Kystiques (SOPK) est la plus fréquente des maladies endocriniennes chez les femmes jeunes en âge de procréer. Causé par un déséquilibre hormonal chez les femmes, ce dysfonctionnement se traduit généralement par des cycles menstruels irréguliers avec des règles peu abondantes (oligoménorrhée) ou absentes, une acné persistante et une pilosité importante (hirsutisme) (**Escobar, 2018**). Le SOPK est caractérisé donc par une hyperandrogénie clinique et/ou biologique, un dysfonctionnement ovulatoire et une morphologie anormale des ovaires (polykystiques), avec une physiopathologie complexe qui implique plusieurs facteurs selon les caractéristiques suivants : cycle irrégulier, hirsutisme et hypertrophie des ovaires avec la présence de nombreux petits follicules (**Daniel, 2015**). Tous ces symptômes ne sont pas toujours présents, ce qui rend le diagnostic assez difficile (**Szydlarska et al., 2017**).

Depuis la première description de cette entité pathologique, l'étiologie du SOPK reste en grande partie méconnue. Aujourd'hui, la communauté scientifique admet volontiers qu'il s'agit d'une pathologie multifactorielle impliquant des facteurs environnementaux et génétiques. Néanmoins, de nombreux arguments suggèrent que l'excès d'androgènes ainsi que la résistance à l'insuline en causes sont probablement d'origine génétique (**Torre, 2007 ; Szydlarska et al., 2017**). Des études menées sur des apparentés au premier degré de femmes atteintes du SOPK ont suggéré une influence génétique dont le mode de transmission serait autosomique dominant avec une pénétrance variable. Plusieurs gènes candidats qui ont un rôle crucial dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien et la résistance à l'insuline ont été suspectés, particulièrement du fait que cette résistance est toujours associée au SOPK. Des études ont montré également qu'il y a implication de plusieurs anomalies métaboliques qui concernent les gènes codants pour les hormones féminines responsables du bon fonctionnement de l'appareil génital féminin et plus précisément les ovaires. Les données génétiques disponibles sur cette thématique dans la bibliographie suggèrent que le syndrome OPK est la conséquence d'une anomalie génétique majeure dans la production des androgènes ovariens, conjointement à des facteurs environnementaux ou d'autres facteurs à l'origine d'une hyper-insulinémie. À l'heure actuelle, les gènes candidats qui ont été explorés sont ceux impliqués dans la synthèse et l'action des hormones stéroïdes, ceux impliqués dans le métabolisme des glucides, et ceux impliqués dans l'action et la régulation des gonadotrophines. Ces gènes candidats avaient été sélectionnés car ils pouvaient rendre compte de certaines caractéristiques du syndrome des ovaires polykystiques. Néanmoins, d'autres gènes, impliqués dans d'autres voies métaboliques, peuvent être potentiellement incriminés (**Fenichela et al., 2017**).

Des études encore plus récentes suggèrent que les mécanismes moléculaires conduisant au SOPK sont influencés par des modifications épigénétiques telles que la méthylation des cytosines, les modifications post-traductionnelles des histones et les acides ribonucléiques (ARN) non codants, induites par plusieurs facteurs différents (**Dunaif, 2016 ; Fenichela et al., 2017**). Certains microARN (miARN) sont impliqués dans le contrôle des gènes nécessaires à la synthèse des androgènes, à l'inflammation, à l'adipogenèse et à la signalisation, pouvant ainsi s'intégrer dans la physiopathologie du SOPK. Des études récentes ont révélé que plusieurs miARN s'avèrent avoir un intérêt remarquable en tant que nouveaux biomarqueurs dans ce syndrome (**Fenichela et al., 2017**). De par ces fonctions multiples dans le métabolisme des miARN, le gène *DICER1* pourrait constituer une piste très prometteuse à explorer pour la recherche d'une étiologie génétique à ce dysfonctionnement de la reproduction.

La fertilité atténuée est l'une des principales préoccupations des patientes atteintes de SOPK, et diverses stratégies thérapeutiques sont utilisées pour tenter d'améliorer la fonction ovulatoire. Donc, la prise en charge de ces patientes dépend de ses plaintes ; mais jusqu'à maintenant il n'existe pas de traitement universel car les objectifs d'un traitement pharmacologique efficace doivent tenir compte de l'excès d'androgènes, de l'oligo-ovulation et de la résistance à l'insuline (**Escobar, 2018**).

Dans ce mémoire de Master et à travers ce modeste travail de recherche nous avons essayé de :

- Faire une recherche bibliographique bien documentée et actualisée sur physiopathologie du syndrome des ovaires polykystiques en mettant l'accent sur l'aspect génétique et épigénétique de ce dysfonctionnement.
- Réaliser une étude moléculaire de type cas-témoins visant à contribuer à la détermination de l'impact du polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1*, élément clef de la voie de biosynthèse et régulation des miARN, dans la genèse du syndrome des ovaires polykystiques sur une population de femmes issues de la région de Constantine. Le génotypage du polymorphisme d'intérêt sera fait par une Polymérisation de Réaction en Chaîne (PCR) et étude du Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction (RFLP).

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS SUR L'OVAIRE

1- Embryologie

Les éléments des embryons humains participant à la formation des organes génitaux sont indifférenciés au départ comme ceux de tous les mammifères. Les gonades (ovaires) se développent à partir du feuillet mésoblastique. Leur développement passe par différentes étapes :

- **Gonocytes primordiaux** : les gonocytes primordiaux apparaissent dès la 3^{ème} semaine du développement embryonnaire dans le mésenchyme extra-embryonnaire tapissant la paroi postérieure du lécithocèle.
- **Crêtes génitales** : les crêtes génitales apparaissent dès la 4^{ème} semaine de développement embryonnaire de chaque côté de la ligne médiane entre le mésonéphros et la racine du mésentère dorsal. L'ensemble constitue le blastème somatique commun.
- **Migration des gonocytes primordiaux** : à la 5^{ème} et 6^{ème} semaine, il y a migration des gonocytes primordiaux en direction des crêtes génitales. Le blastème somatique commun prolifère activement et forme des cordons qui entourent progressivement les gonocytes primordiaux. Il est impossible à ce stade de distinguer la gonade mâle et la gonade femelle : c'est le stade de gonade indifférenciée. Les embryons possèdent, quel que soit leur sexe, deux systèmes pairs de conduits génitaux : les canaux de Wolff et les canaux de Müller. Dans le sexe féminin, les canaux de Wolff disparaissent et ne laissent que quelques reliquats embryonnaires peu importants sur le plan fonctionnel. Les canaux de Müller formeront les trompes et l'utérus.
- **Différenciation sexuelle féminine** : les gonocytes se multiplient dans la partie corticale de la gonade, tandis que la partie médullaire reste dépourvue de cellules germinales mais pourvue de cellules de Leydig à sécrétion androgénique. Les ovocytes se transforment en ovogonie et pénètrent à l'intérieur des cordons du blastème somatique commun. Chaque ovogonie s'entoure d'une couche de cellules folliculaires issues du blastème somatique commun. Les autres cellules blastémiques donneront les cellules interstitielles et les cellules du stroma ovarien (Diarra, 2019).

- **Différentiation des ovogonies** : vers la 11^{ème} semaine, les ovogonies atteignent 5 à 6 millions. En même temps, apparaissent les premiers follicules primordiaux : certains ovocytes près de la médullaire s'entourent de la granulosa constituée d'une assise cellulaire nourricière, régulière et cubique. Les cellules de la granulosa et les cellules de Sertoli forment une barrière autour des cellules germinales et déversent une sécrétion nourricière. Elles sécrètent l'inhibine, l'activateur du plasminogène, les protéoglycanes et l'hormone antimüllérienne. Cependant, les cellules de Sertoli du testicule sécrètent tôt l'hormone antimüllérienne (d'où l'involution des canaux de Müller), tandis que les cellules de la granulosa de l'ovaire sécrètent l'AMH (Hormone Anti-Müllérienne) seulement après la naissance, dans les couches les plus internes du follicule antral (Diarra, 2019).

2- Anatomie

Glande génitale paire de la femme, l'ovaire est un organe à la forme d'une amande, légèrement aplatie, qui présente un grand axe presque vertical légèrement oblique en bas. De couleur blanche rosée, qui tranche nettement avec les formations du voisinage, sa consistance est ferme, mais très friable et irrégulière chez la femme en période d'activité génitale, et à la ménopause, il prend un aspect scléreux. L'ovaire mesure environ 4 cm de long sur 2 cm de large et 1 cm d'épaisseur, son poids est de 6 à 8 grammes pendant la période d'activité génitale de la femme et de 1 à 2 grammes après la ménopause. Les deux ovaires, droit et gauche, sont placés dans la cavité pelvienne dans une fossette latéro-utérine en arrière du ligament large contre la paroi latérale du pelvis, ils sont extra péritonéaux (Bahri, 2017 ; Naimi, 2019) (figure 01).

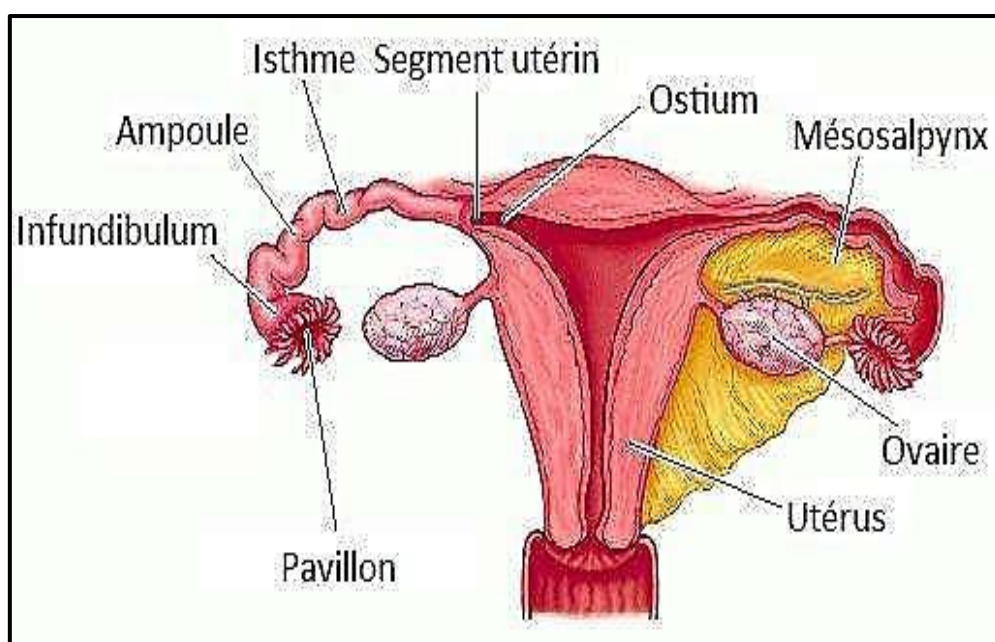


Figure 01 : Appareil reproducteur féminin (Kamina *et al.*, 2003).

3- Physiologie fonctionnelle

L'appareil génital est composé de : deux ovaires ainsi que des voies génitales.

- **Les ovaires ou gonades femelles** : sont des organes pairs et symétriques, situés dans la cavité pelvienne en arrière du ligament large dans une dépression du péritoine appelée la fossette ovarienne. Dans un seul ovaire on distingue deux zones :
 - **Une zone centrale ou zone médullaire** : elle a un rôle nourricier. Elle renferme les nerfs, les vaisseaux sanguins. Elle est composée d'un tissu conjonctif.
 - **Une zone périphérique ou zone corticale** : c'est la zone fertile de l'organe. On y trouve les ovules à divers stades de développement (**figure 02**). Selon le stade de développement, on distingue :
 - Les follicules primordiaux
 - Les follicules primaires
 - Le follicule secondaire : (pré-antral)
 - Le follicule cavitaire (tertiaire / antral)
 - Le follicule mûr ou pré-ovulatoire (de De Graaf)
 - Le corps jaune
 - Les follicules involutifs : il s'agit en fait des follicules qui n'ont pas atteint le stade pré-antral et qui sont donc dépourvus de thèque interne.

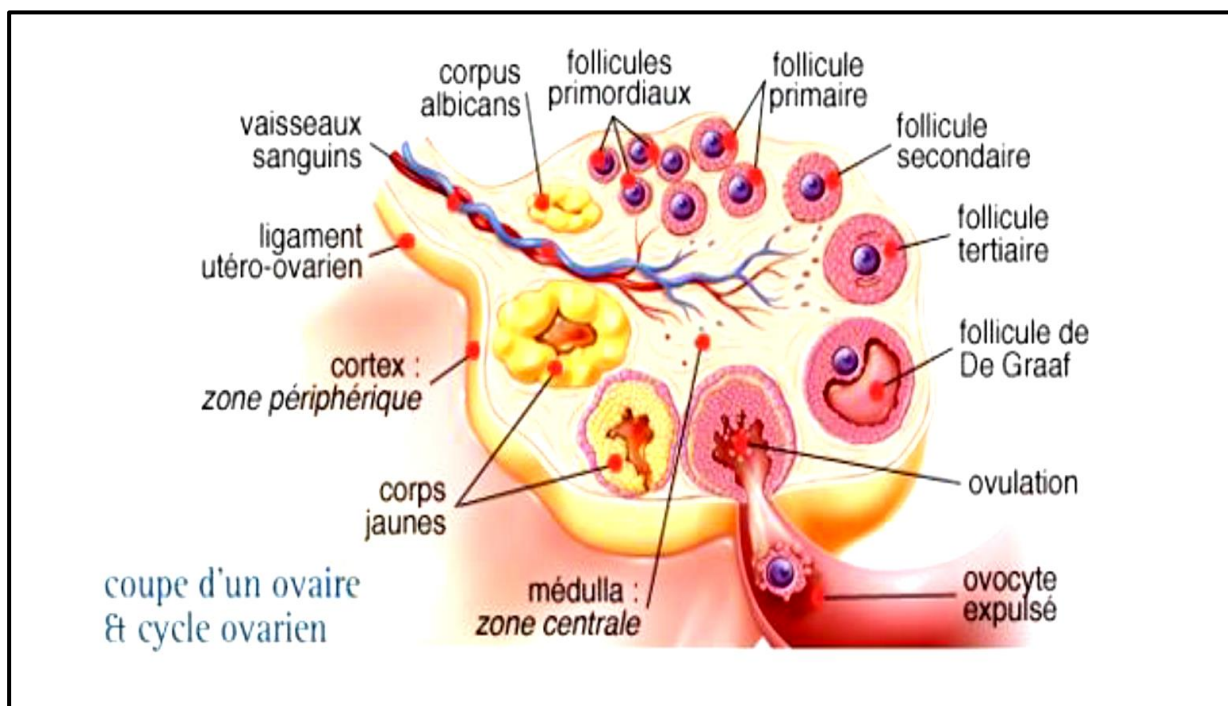


Figure 02 : Évolution folliculaire dans l'ovaire (Kamina *et al.*, 2003).

- **Les voies génitales** sont composées de la trompe utérine, les trompes de Fallope, de l'utérus, ainsi que du vagin et de la vulve (**Diarra, 2019**).

En période d'activité génitale, les ovaires assurent deux fonctions majeures, l'une exocrine (folliculogénèse) permettant la maturation et émission cyclique de l'ovocyte, et l'autre endocrine (stéroïdogénèse) assurant l'imprégnation hormonale œstroprogestative de l'appareil génital féminin sous le contrôle des gonadotrophines hypophysaires : l'Hormone Folliculo-Stimulante (FSH) et l'Hormone Lutéinisante (LH) (**Bahri, 2017 ; Naimi, 2019**).

3-1- Fonction exocrine

La folliculogénèse correspond au processus de croissance et de maturation folliculaire à partir de follicules primordiaux jusqu'à l'ovulation. La folliculogénèse comporte deux phases distinctes se déroulant normalement de façon continue au cours du cycle, à partir de la puberté jusqu'à la ménopause.

- **La première phase** permet un recrutement et une croissance continue de follicules primordiaux en follicules primaires (46 mm), puis secondaires et finalement follicules préantraux (0,1 à 0,2 mm).
- **La seconde phase**, dépendante des gonadotrophines hypophysaires, se déroule sur 50 à 65 jours. Cette croissance folliculaire est marquée par l'accumulation de liquide dans l'antrum et par la multiplication des cellules de la granulosa et de la thèque interne. Seul le dernier stade conduisant les follicules à devenir potentiellement sélectionnables pour une ovulation ultérieure est accessible à l'échographie (2 à 5 mm) (**Bahri, 2017**).

3-2- Fonction endocrine

L'ovaire est une glande endocrine qui produit plusieurs hormones :

- **Les œstrogènes** : élaborés par les glandes thécales (interstitielles) et le corps jaune (petites cellules lutéales).
- **La progestérone** sécrétée par les grandes cellules lutéales du corps jaune.
- **Les androgènes** sécrétés par les cellules du hile de l'ovaire.

Toutes ces sécrétions ovariennes ainsi que la maturation folliculaire sont sous le contrôle hormonal de l'axe hypothalamo-hypophysaire (**Djebien, 2019**).

3-3- Cycle ovarien

L'activité ovarienne au cours du cycle comporte quatre phases : la phase menstruelle qui marque le début de chaque cycle, la phase folliculaire, la phase ovulatoire et la phase lutéale. À la naissance, les ovaires contiennent environ 2 millions d'ovocytes contenus au sein de follicules primordiaux qui n'ont pas la capacité de se multiplier et dont beaucoup vont involuer spontanément. Au moment de la puberté, seuls 400 000 ovocytes persistent, dont 400 environ arriveront à maturation complète.

La phase folliculaire, qui dure de 12 à 16 jours, est marquée par le recrutement d'un follicule primordial que sa maturation conduit à devenir un follicule ovulatoire. Ce processus de recrutement, contrôlé entre autres par l'hormone antimüllérienne, se déroule sur plusieurs mois : d'abord se fait le passage du stade de follicule primordial à celui de follicule primaire (prolifération de cellules de la granulosa), puis se fait le passage au stade de follicule secondaire (formation de multiples couches de cellules de la granulosa) qui dure 120 jours. Le follicule continue sa croissance inévitablement jusqu'à ce qu'il soit détruit par atrophie ou qu'il ait ovulé.

Les cinq stades ultérieurs sont étalés sur 65 jours. Le premier stade (25 jours) comporte la transformation en follicules préantraux de classe 1 marqués par l'apparition de cellules thécales. Pendant les 40 jours restants, 70% de ces follicules préantraux vont évoluer vers les stades ultérieurs, passant par le stade de follicule antral débutant de classe 2, puis de classe 3 et 4. Cette croissance folliculaire est marquée par l'accumulation de liquide dans l'antrum, de la granulosa et de la thèque interne. Seul le dernier stade (follicule antral de classe 5), qui conduit les follicules à devenir sélectionnables et donc des candidats potentiels à l'ovulation, est accessible à l'échographie puisque les follicules qui étaient inférieurs ou égaux à 1 mm deviennent plus volumineux et visibles, mesurant de 2 à 5 mm. Ce passage de la classe 4 à la classe 5 a lieu pendant la phase lutéale du cycle précédent l'ovulation, impliquant que des follicules prêts (de trois à 11) qui sont visibles en imagerie au cours de cette phase et, *à fortiori*, dès le début du cycle suivant. Dans les follicules sélectionnables, qui deviennent plus sensibles à la FSH, les cellules de la thèque interne contenant des récepteurs à la LH en plus grand nombre que les follicules en croissance basale, assurent la production d'androstènedione.

La seule différence du follicule sélectionné pour l'ovulation est de nature fonctionnelle, assurant une fonction enzymatique aromatasase plus développée et donc une plus grande sécrétion d'œstradiol. La différence morphologique va apparaître au cours de la phase folliculaire du cycle, avec la croissance d'un follicule qui passe progressivement de 5 à 7 mm en début de phase folliculaire, à 18 à 25 mm en fin de phase, alors que les autres vont évoluer vers l'atrophie (Naimi, 2019) (figure 03).

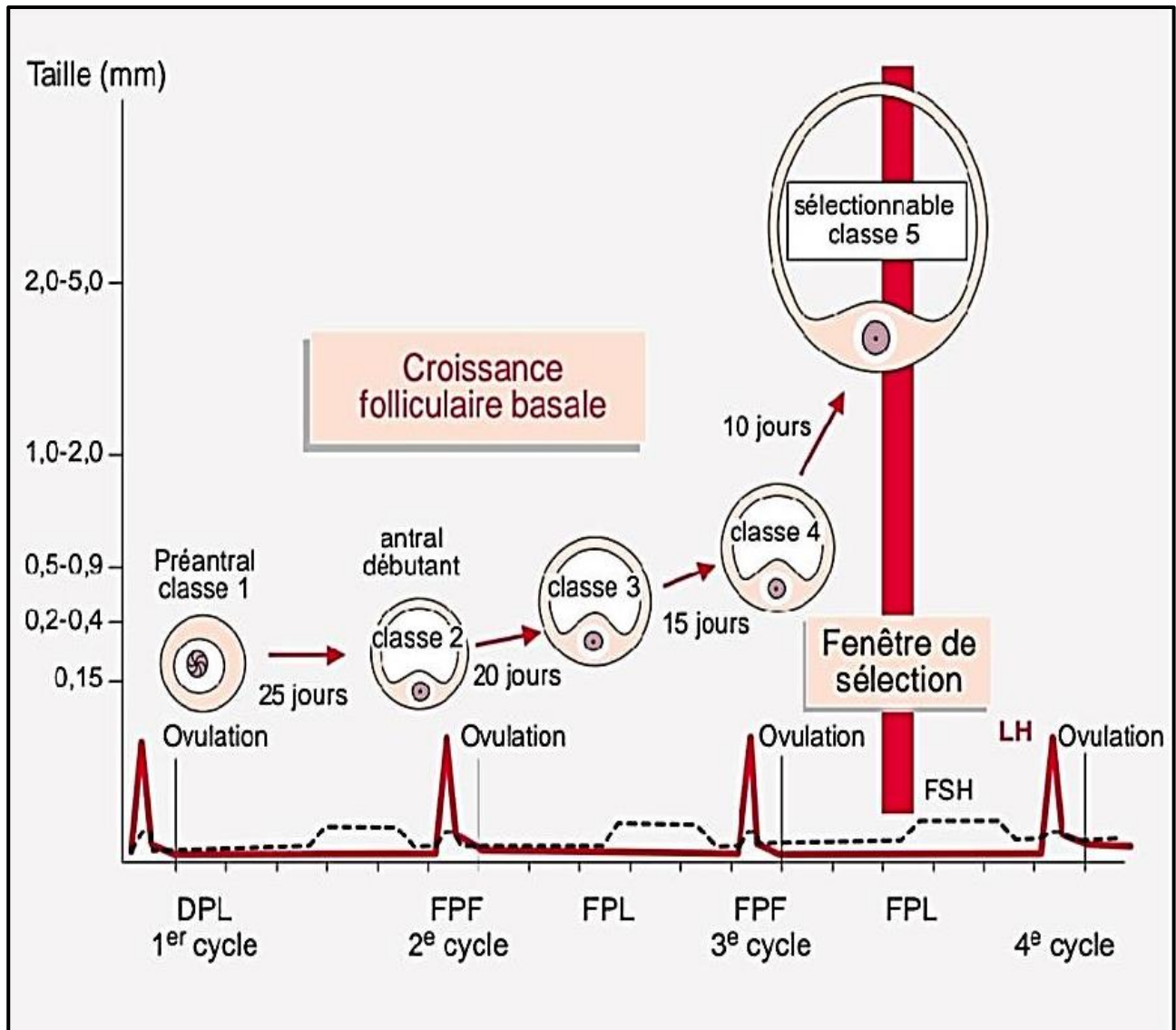


Figure 03 : Chronologie du développement folliculaire (Young *et al.*, 1999).

DPL : Début de Phase Lutéale ; **FPF** : Fin de Phase Folliculaire. **FPL** : Fin de Phase Lutéale

LH : Luteinizing Hormone ; **FSH** : Follicle Stimulating Hormone.

CHAPITRE II

SYNDROME DES OVAIRES POLYKYSTIQUES

1- Définition

La définition de Rotterdam est la classification du SOPK la plus utilisée et elle est actuellement appuyée par la plus part des sociétés scientifiques et des autorités sanitaires. Cette définition propose que le SOPK puisse être diagnostiqué chez toute femme présentant au moins deux des trois caractéristiques suivantes :

- Hyperandrogénie clinique et/ou biochimique.
- Dysfonctionnement ovulatoire.
- La morphologie des ovaires polykystiques (PCOM).

Ces définitions nécessitent l'exclusion de troubles spécifiques qui pourraient présenter des signes et des symptômes qui chevauchent ceux du SOPK, tels que : l'hyperplasie congénitale non classique, l'hyperprolactinémie, la dysfonction thyroïdienne, l'hypercortisolisme et les tumeurs sécrétant les androgènes (**Escobar, 2018**). Une définition concise et consensuelle a longtemps manqué et reste encore très discutée aujourd'hui. Depuis 1990, et la conférence de la National Institut of Health (NIH) ; une majorité des praticiens s'accordaient pour définir le syndrome des ovaires polykystiques comme une maladie primitive conjuguant irrégularité menstruelle et hyperandrogénie (oligo-anovulation). D'autres études ont démontré que le SOPK est la plus fréquente des maladies endocriniennes chez les femmes jeunes ou en un âge de procréer. Les désordres hormonaux féminins en cause, dont l'excès d'androgène et la résistance à l'insuline, à la base d'une symptomatologie clinique sont probablement d'origine génétique (**Merviel et al., 2017**). Ce syndrome est reconnu comme étant la principale cause d'anovulation et d'infertilité associée à une maladie métabolique. C'est une pathologie multifactorielle impliquant des facteurs environnementaux et/ou génétiques intervenant à divers niveaux et à divers degrés (**Bachelot, 2016**).

2- Épidémiologie

De nombreuses femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques sont en surpoids (IMC égal ou supérieur à 25) ou carrément obèses (IMC égal ou supérieur à 30). Aux États-Unis, l'obésité affecte environ 80% des femmes atteintes de SOPK tandis qu'en dehors (en Europe), elle ne touche que 50% des femmes atteintes de ce syndrome. Cette association accrue aux États-Unis semble être similaire à l'augmentation de la prévalence de l'obésité dans l'ensemble du pays. Les estimations de la prévalence du SOPK, telles que définies par les critères NIH indiquent que le SOPK est une endocrinopathie courante affectant 4% à 8% des femmes en âge de procréer (**Sirmans, 2014**).

Récemment, plusieurs groupes ont démontré que la prévalence du SOPK varie en fonction des critères diagnostiques utilisés. Ces études indiquent systématiquement que les estimations de la prévalence utilisant les critères de Rotterdam sont deux à trois fois supérieures à celles obtenues en utilisant les critères NIH / NICHD (National Institute of Child Health and Human Development) (**Sirmans, 2014**).

Les antécédents familiaux de SOPK sont un facteur de risque bien établi. Étant considéré par certains auteurs comme un trouble héréditaire, les problèmes qui entravent les progrès dans la démarche de prouver ce fait, comprennent l'hétérogénéité des phénotypes du SOPK, ainsi que la difficulté d'attribuer un phénotype aux femmes ménopausées et aux filles prépubères. Pour les OPK, il a été observé que plus tard, à un âge avancé, vers la fin de la trentaine, l'irrégularité menstruelle et l'hyperandrogénie tendent à se normaliser, supprimant ainsi les principaux symptômes amenant ces femmes à consulter (**Torre, 2007**).

3- Étiologie

L'étiologie du syndrome des ovaires polykystiques est inconnue et vraisemblablement multifactorielle. Le caractère hétérogène de l'affection suggère une origine multigénique. Le SOPK est en rapport avec une anomalie ovarienne primitive qui va s'exprimer suite à des interactions avec des facteurs environnementaux. La prédisposition génétique à cette maladie a été fortement suggérée par la fréquence des formes familiales de SOPK (**Bachelot, 2016**).

Une origine évolutive commune basée sur l'avantage de survie a été suggérée pour les troubles métaboliques prévalents tels que l'obésité et le diabète. En outre, une théorie similaire a également été proposée pour le SOPK. Selon celle-ci, dans les temps anciens, les humains étaient exposés à des conditions environnementales extrêmement stressantes caractérisées par une activité physique quasi continue, une alimentation riche en glucides complexes et en protéines mais pauvres en graisses et de longues périodes de famines, de traumatismes et d'infections. Dans de telles conditions, la combinaison de génotypes et phénotypes économes pourrait être essentielle à la survie et faciliter leur sélection au cours de l'évolution. C'est une perspective évolutive intéressante qui mérite d'être développée (**Escobar, 2018**).

4- Physiopathologie et aspects moléculaires

Le SOPK représente la cause la plus fréquente des anovulations normo-gonadotropes. Plusieurs théories ont été proposées pour expliquer la pathogenèse du SOPK. L'une d'elles est que les défauts neuroendocriniens entraînent une augmentation de la fréquence d'impulsion et de l'amplitude de la LH et une FSH relativement faible, cela provoque des défauts intrinsèques dans la production d'androgènes ovariens, il peut y avoir une altération du métabolisme du cortisol et une production excessive d'androgènes surrénaliens (Aziz *et al.*, 2006) (figure 04).

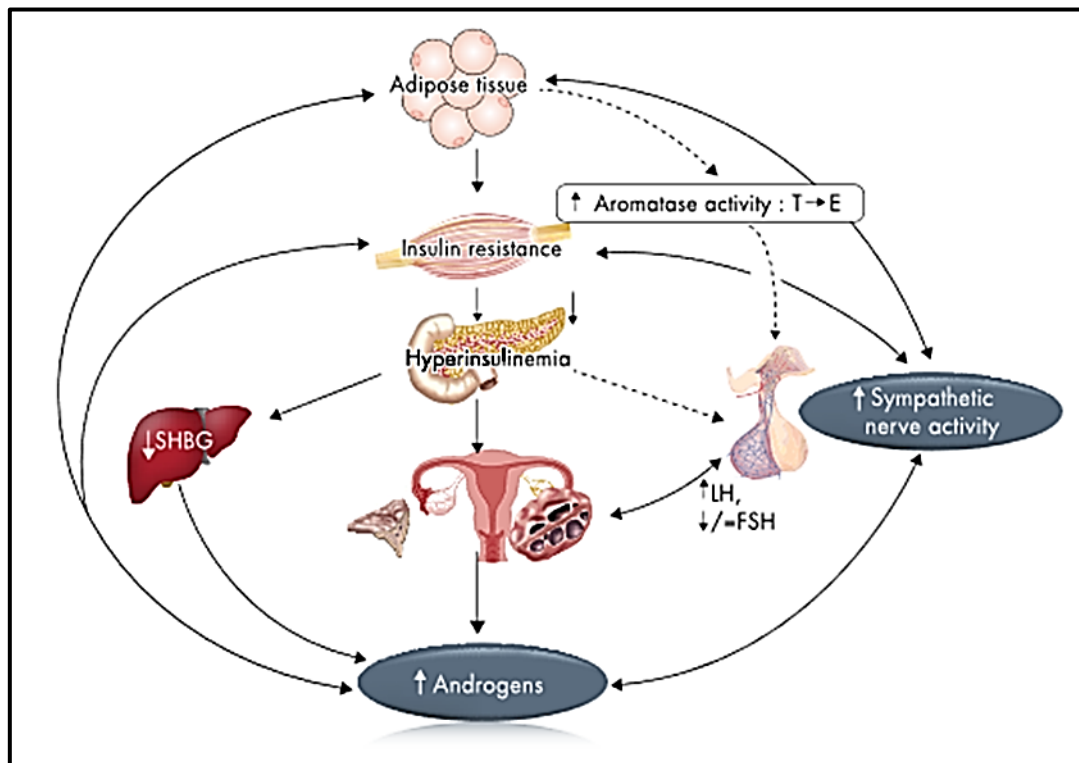


Figure 04 : Physiopathologie du syndrome des ovaires polykystiques (Daniel *et al.*, 2015).

SHBG : Sex Hormone-Binding Globulin

La physiopathologie du SOPK est complexe et reflète les interactions entre les facteurs génétiques, métaboliques, fœtaux et environnementaux. L'importance relative de ces facteurs peut varier chez les femmes individuellement touchées. L'obésité est l'aberration métabolique prédominante dans le SOPK puisque plus de 50% des femmes avec le SOPK sont en surpoids ou obèses. Des défauts de signalisation de l'insuline ont été observés dans les muscles squelettiques et les tissus non adipeux de femmes atteintes de SOPK (Daniel, 2015) (figure 05).

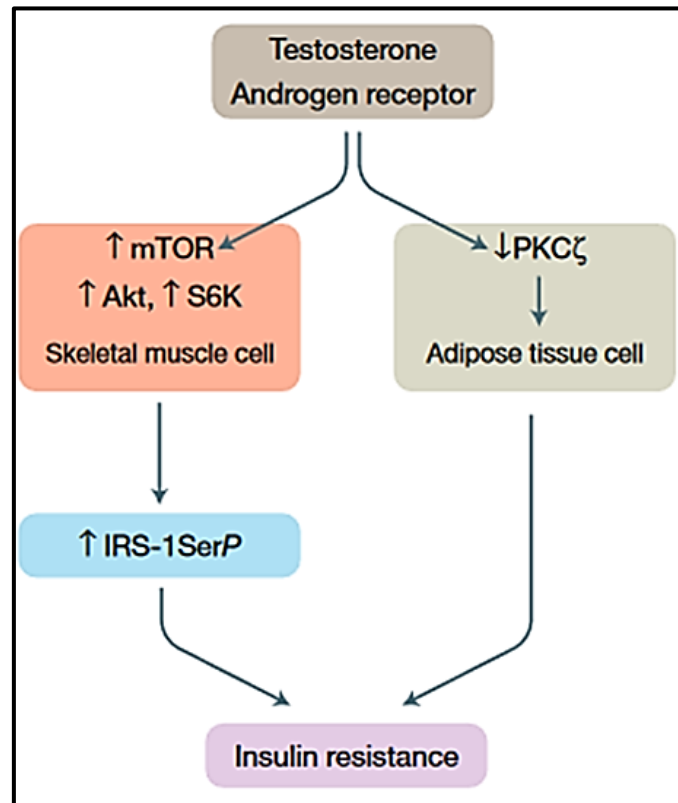


Figure 05 : Le rôle des androgènes dans les défauts de signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques du SOPK (Diamanti, 2008).

mTOR : mammalian Target Of Rapamycin ; **PKC** : Protein kinase C; **Akt** : Protein kinase B
S6K : Ribosomal protein S6 Kinase ; **IRS-1** : Insulin receptor substrate 1

L'anovulation dans le SOPK est attribuée aux perturbations de la folliculogénèse qui caractérisent ce syndrome. Dans la folliculogénèse normale, les facteurs de croissance : le facteur de différenciation de croissance 9 (GDF-9), la protéine morphogénétique osseuse 15 (BMP-15) stimulent la transition du stade primordial au stade primaire, tandis que la FSH régule les stades ultérieurs de la folliculogénèse vers la sélection du follicule dominant. Pendant la folliculogénèse, les androgènes et l'insuline jouent un rôle synergique avec la LH, qui exerce son action principale aux stades folliculaires moyens à tardifs. L'équilibre entre FSH et AMH pourrait être essentiel pour l'activité de l'aromatase au moment et après la sélection du follicule dominant. L'excès de petits follicules entraîne une augmentation des taux d'AMH, ce qui interfère avec la réactivité folliculaire à la FSH. L'augmentation de l'insuline induit l'expression des récepteurs de la LH et la lutéinisation prématurée (Diamanti, 2008) (figure 06).

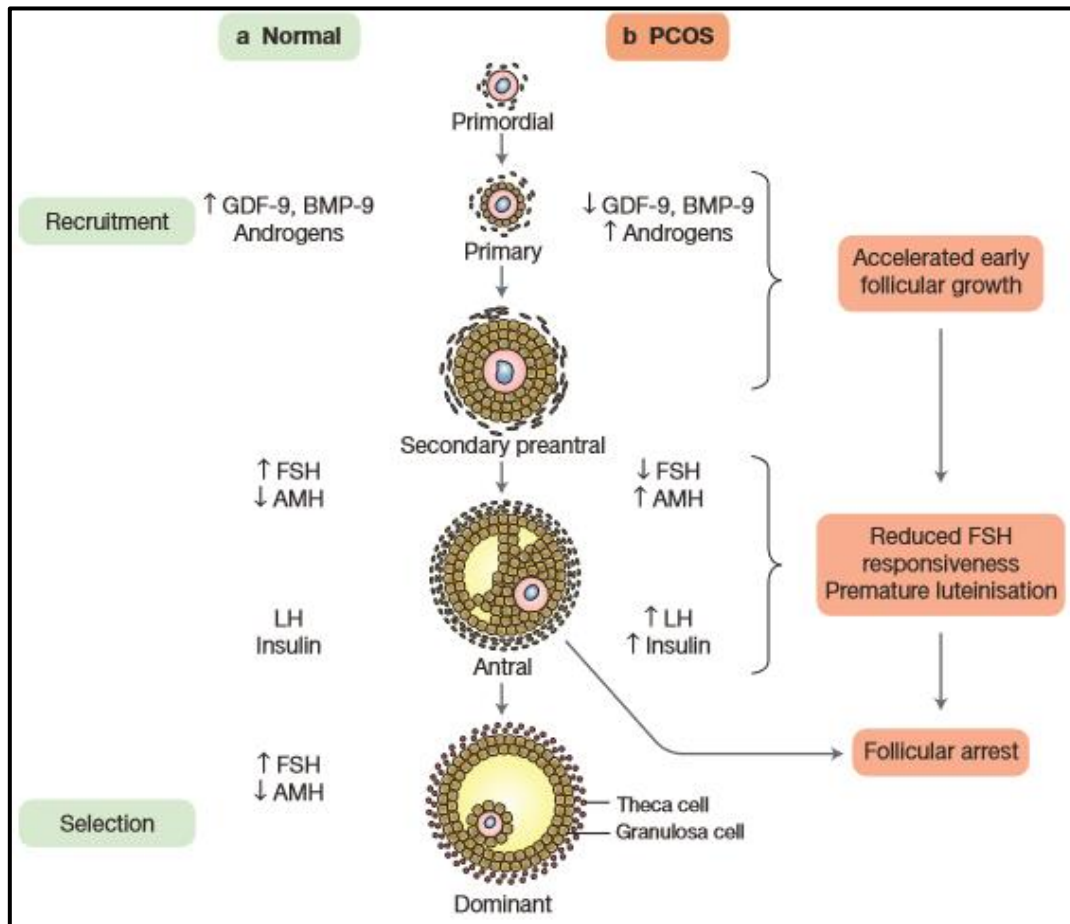


Figure 06 : Folliculogénèse normale et défaut folliculaire dans le SOPK (Diamanti, 2008).

La folliculogénèse et qualité ovocytaire :

- **Dans le cas normal**, la croissance de l’ovocyte dépend de plusieurs interactions intra-ovariennes, endocrines et paracrines et qui concernent la folliculogénèse. Toutes ces composantes créent un microenvironnement favorable pour l’ovocyte mature, et dont la qualité sera ainsi influencée par deux micro-environnements hétérogènes mais fonctionnellement complémentaires : local ovarien et endocrinien plasmatique.
- **Dans le cas du SOPK**, ce sont à la fois les facteurs extra-ovariens et intra-ovariens qui sont modifiés et qui sont susceptibles de perturber la qualité ovocytaire, directement ou indirectement. Parmi les facteurs endocrines (ou extra-ovariens), l’augmentation de la LH est considérée comme un facteur délétère de la qualité ovocytaire, puis de la qualité embryonnaire. De plus, l’hyperandrogénie et l’hyperinsulinisme sont également incriminés (Sermondale *et al.*, 2012).

5- Symptomatologie clinique et biologique

Les manifestations cliniques du SOPK sont très hétérogènes. L'hétérogénéité semble être ajustée par plusieurs facteurs, tels que les facteurs génétiques, l'état nutritionnel dans l'utérus, l'exposition prénatale aux androgènes, la résistance à l'insuline, et les changements de poids corporel (**Zhang et al., 2013**).

5-1- Symptomatologie clinique

5-1-1- Critères échographiques

L'échographie pelvienne est l'examen de référence pour le diagnostic positif. La période optimale pour l'examen échographique se situe entre j3 et j5, après des règles spontanées ou provoquées par une brève séquence progestative. Les critères sont les suivants : une augmentation du volume ovarien ($>10 \text{ cm}^3$ par ovaire) ; et/ou une échostructure contenant plus de 12 follicules de 2 à 9 mm pour l'ensemble de chacun des ovaires. Cet aspect à l'échographie est partagé avec d'autres étiologies connues comme l'hyperplasie surrénalienne congénitale, les tumeurs sécrétrices d'androgènes et le syndrome de cushing (**Reyss et al., 2006 ; Isnard, 2018**).

5-1-2- Anovulation

L'absence d'ovulation est un problème clef chez les femmes qui ont été diagnostiquées avec un SOPK, une condition également caractérisée par une hyperandrogénie, une hyper-insulinémie bien marquée et une morphologie ovarienne échographique typique. L'anovulation chronique se manifeste le plus souvent par une oligoménorrhée (- 8 règles par an) ou par une aménorrhée. Les cycles anovulatoires peuvent entraîner des saignements utérins dysfonctionnels et une diminution marquée de la fertilité (**Torre, 2007 ; Pundir et al., 2018**).

5-1-3- Troubles du cycle

L'oligo-anovulation est le plus souvent responsable d'un trouble du cycle exprimé par un excès d'androgènes qui pourrait, par ailleurs, empêcher l'apoptose des cellules de la granulosa, ce qui induirait une résistance à l'atréxie folliculaire (**Torre, 2007**).

5-1-4- Hyperandrogénie

L'hyperandrogénie est une sécrétion excessive d'androgènes qui se manifeste cliniquement par : l'hirsutisme, l'acné, un trouble du cycle. L'hyperandrogénie ovarienne est principalement attribuée à un défaut stéroïdogène inhérent aux cellules thèques dans le SOPK (**Maeliss et al., 2013**).

5-1-5- Syndrome métabolique

L'association du SOPK avec d'autres comorbidités a été observée notée depuis plusieurs années. Bien que la démonstration de la résistance à l'insuline ne soit pas nécessaire pour poser le diagnostic du SOPK, il est clair qu'elle joue un rôle de premier plan dans sa physiopathologie. Le syndrome métabolique est défini par un groupe d'hyperglycémie, d'obésité centrale, d'hypertension et de dyslipidémie (**Eckel et al., 2005**). Les anomalies métaboliques liées à la résistance à l'insuline et à l'obésité sont dans le SOPK, dans de nombreuses circonstances, plus importantes que l'anovulation et l'excès d'androgènes. Des défauts de signalisation de l'insuline ont été observés dans les muscles squelettiques et les tissus non adipeux de femmes atteintes de SOPK (**Diamanti, 2008**).

5-2- Symptomatologie biologique

Un bilan hormonal est pratiqué entre le 2^{ème} et le 5^{ème} jour du cycle. Chez une patiente aménorrhéique, les règles sont provoquées par un traitement à base de progestérone pendant 10 jours, après avoir écarté le diagnostic d'une grossesse. Le bilan comporte le dosage de la FSH, LH, prolactine, testostérone, Delta 4-androstènedione, SDHA (Sulfate de Déhydroépiandrostérone), la 17-bêta-œstradiol, la 17-hydroxy-progestérone, la TSH (Thyroid Stimulating Hormone), et parfois le dosage de la glycémie et de l'insulinémie (**Cheung, 2010**). Ce bilan montre de façon variable :

- Une inversion du rapport FSH / LH dans 40% des cas (la LH est supérieure à la FSH)
- La prolactine peut être parfois légèrement augmentée mais < 50 ng/ml
- Les androgènes sont parfois légèrement augmentés : testostérone totale entre 0,7 et 1,2 ng/ml, Delta 4 androstènedione reste inférieure à 5 ng/ml, SDHA et la 17-hydroxy-progestérone parfois élevée.
- Une tendance au diabète et une hyper-insulinémie (**Coussieu, 2004**).

6- Prise en charge du SOPK

Le syndrome des ovaires polykystiques est une pathologie fréquente chez la femme jeune, associant une infertilité à une maladie métabolique. La prise en charge initiale comprendra, en cas de surpoids ou d'obésité, un régime alimentaire strict permettant de perdre au moins 5 à 10% de la masse corporelle. Par la suite, le citrate de clomifène (Clomide®) est classiquement le traitement de première intention dans la stratégie de stimulation d'un SOPK. C'est un traitement très simple, disponible, administré par voie orale, peu coûteux, peu risqué, et qui ne présente que peu d'effets secondaires. La dose prescrite habituellement est de 50 mg soit 1 comprimé par jour (variant de 25 à 250 mg/j pour les obèses) pendant 5 (à 10) jours. Le citrate de clomifène permet d'obtenir une ovulation dans 60 à 80% des cas avec des taux de grossesse de 15 à 25% par cycle (40 à 80% après 6 cycles). En cas de résistance au citrate de clomifène, le choix se fera entre la multi-perforation ovarienne (*drilling ovarien*) qui est une technique qui améliorerait l'ovulation mais qui est parfois pourvoyeuse d'hémorragies, d'adhérences pelviennes et d'infertilité tubaire secondaire. Cette technique peut être remplacée par une induction d'ovulation par la pompe à GnRH, ou la stimulation par les gonadotrophines. Le but du traitement par la pompe à GnRH est d'imposer un rythme physiologique de GnRH à la place de la sécrétion anarchique hypertonique de LH chez les femmes ayant un SOPK. Les risques de la stimulation ovarienne chez ces femmes sont les grossesses multiples. Une fois l'infertilité prise en charge, ces femmes devront être suivies à long terme du fait des risques cardiovasculaires et néoplasiques qu'elles présentent (Merviel *et al.*, 2017).

CHAPITRE III

GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DES OVAIRES POLYKYSTIQUES

1- Aspects génétiques du syndrome des ovaires polykystiques

Le syndrome des ovaires polykystiques est un spectre de maladies comprenant les symptômes d'une production excessive d'androgènes tels que l'hirsutisme, la peau grasse et l'acné ainsi que les manifestations de l'oligo-ovulation, par exemple l'oligoménorrhée, aménorrhée secondaire ou saignement utérin anormal. Les patients qui contractent ce syndrome peuvent également éprouver des difficultés à tomber enceinte. On pense que le problème d'infertilité dans les cas de SOPK est dû à plusieurs causes telles que le trouble ovulatoire et l'excès de production d'androgènes entraînant une mauvaise qualité des follicules et par la suite une mauvaise fécondation ou de faibles taux d'implantation. Malgré le manque d'informations complètes sur le phénotype, la littérature la plus ancienne suggérait clairement le regroupement du SOPK dans les familles et suggérait un mode d'hérédité le plus cohérent avec un modèle autosomique dominant. Le syndrome OPK est un trouble hétérogène et complexe qui a, à la fois, des implications négatives sur la reproduction et le métabolisme chez les femmes touchées. Parmi les gènes potentiellement impliqués, on peut citer le cytochrome P-450c17 (*CYP17*), l'enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol (*CYP11A SSC*), la 21 hydroxylase (*CYP21*), le récepteur aux androgènes, la SHBG, le récepteur à l'insuline (*IR*), l'insuline, les protéines substrats du récepteur de l'insuline (*IRS*), la *calpaïne-10*, *PPAR* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors), l'*IGF* et son récepteur (Jones et Goodarzi, 2016).

L'étiologie multifactorielle du SOPK repose sur une architecture génétique complexe qui n'a commencé que récemment à être élucidée. L'utilisation de l'analyse de gènes candidats a fourni plusieurs pistes prometteuses comme locus de risque de SOPK ou comme modificateurs génétiques des phénotypes des composants du SOPK (Torre, 2007 ; Daniel *et al.*, 2015 ; Jones et Goodarzi, 2016).

2- Études familiales

Les études de ségrégation familiale ont souligné la forte incidence du SOPK chez les apparentés aux sujets atteints et ont évoqué le rôle majeur de la composante génétique dans la genèse de ce syndrome. Du fait de la variabilité des phénotypes du SOPK, les critères utilisés pour identifier les cas index et les membres atteints de la famille diffèrent selon les études. Ceci pourrait expliquer, d'une part la variabilité des résultats en termes d'incidence du SOPK et d'autre part, l'absence de consensus entre les études concernant le mode de transmission exact de ce syndrome. Après plusieurs prospections, il a été conclu que ce syndrome était transmis selon un mode autosomique dominant avec, toutefois, une pénétrance incomplète assez faible (Kosova et Urbanek, 2013).

En effet, il a été rapporté des cas de SOPK chez les jumeaux monozygotes ou dizygotes, ce qui a rarement été analysé. Selon cette étude, le SOPK aurait un mode d'héritabilité plus complexe qu'autosomique dominant, probablement lié à l'X ou polygénique (Trimèche, 2004). D'autres études menées sur des jumelles ont montré une héritabilité de 79% compatible avec une influence majeure des facteurs génétiques dans le SOPK (Ewens *et al.*, 2010). En résumé, le SOPK démontre une agrégation familiale non mendélienne compatible avec une maladie génétique complexe résultant de l'interaction entre les gènes de susceptibilité et les facteurs environnementaux (Kosova et Urbanek, 2013).

3- Anomalies moléculaires impliquées dans le SOPK

Les anomalies moléculaires associées au SOPK peuvent intéresser tous les niveaux de fonction et de régulation ovariennes. Les études de liaison réalisées dans des familles de SOPK ont permis de tester un certain nombre de gènes candidats, en particulier ceux impliqués dans la stéroïdogénèse, dans la synthèse et la régulation des gonadotrophines, dans le métabolisme des carbohydrates, et les gènes codant pour les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) (Trimèche, 2004). Les principaux gènes candidats sont ceux codant pour des facteurs impliqués dans la synthèse, le transport, la régulation des effets des androgènes. D'autres gènes candidats sont ceux codant pour des facteurs impliqués dans le métabolisme de l'insuline, tels que les récepteurs de l'insuline, les protéines en cascade de cette signalisation responsables de la liaison de l'insuline à son récepteur, le système IGF, ainsi que d'autres facteurs de croissance (Duran et Welt, 2014 ; De Leo *et al.*, 2016).

3-1- Gènes impliqués dans la synthèse des glucocorticoïdes

3-1-1- Gène *CYP17*

Le gène *CYP17* est situé dans le chromosome 10q24.3 et qui code pour l'enzyme cytochrome P450c17 α avec une activité 17- α hydroxylase. Cette enzyme convertit la prégnénolone et la progestérone en 17-hydroxy-pregnénolone et 17-hydroxy-progestérone, qui se poursuivra avec la conversion des deux formes de stéroïdes en déhydro-épi-androstérone et androstènedione. Une étude menée sur une cellule thèque ovarienne d'une patiente atteinte du SOPK a établi une augmentation de la transcription du gène *CYP17* dépendante de l'AMPc, et d'autre a révélé qu'un polymorphisme T/C d'un seul nucléotide dans la région du promoteur, entraîne une augmentation de l'activité du CYP17. Le polymorphisme est situé au niveau de la région non traduite 5' (5'-UTR) qui va par la suite améliorer l'activité du CYP17 et augmentera consécutivement le taux de biosynthèse des androgènes (Wiweko *et al.*, 2011).

3-1-2- Gène *CYP11A*

CYP11A est le gène codant pour l'enzyme de clivage de la chaîne latérale (P450_{scc}). Il a un rôle crucial concernant la limitation de la vitesse de la voie de la stéroïdogénèse, car le SOPK est principalement associé à un excès d'androgènes. En outre, la variation du gène *CYP11A* peut être impliquée dans l'étiologie de l'hyperandrogénie. Les conséquences phénotypiques des variations du gène *CYP11A* dépendent de l'origine ethnique, de l'exposition aux facteurs environnementaux ou interfèrent avec d'autres facteurs génétiques (Shaaban *et al.*, 2019).

3-1-3- Gène *CYP21*

Ce gène code pour la 21-hydroxylase, c'est la protéine responsable de la conversion de la 17-OH-progesterone en 11-désoxycortizole et seules quelques études ont analysé l'association entre le polymorphisme du *CYP21* et le SOPK. Le gène qui code pour la CYP 21 est un pseudogène (*CYP21P*) situé dans le complexe d'histocompatibilité HLA sur le chromosome 6 (6p21.3). Il comporte 10 exons et 9 introns couvrant une distance de 3 kb et montrant une haute homologie avec une identité nucléotidique de 98% dans les séquences exoniques et de 96% dans les introniques. Les différentes mutations de ce gène sont des mutations ponctuelles et des petites délétions et insertions, très rarement des recombinaisons inter-géniques entre le *CYP21* et *CYP21P*. Le déficit de la 21-hydroxylase peut être la cause de l'apparition d'une symptomatologie clinique chez les atteintes du SOPK (Pucci *et al.*, 2010).

3-1-4- Gène du récepteur aux androgènes

Le gène *AR* (Androgen Receptor) est porté par le bras long du chromosome X (Xq11.2). La portion N-terminale de ce gène est le siège d'un important polymorphisme, avec notamment un nombre variable de répétitions de CAG codant pour la glutamine. Il a été démontré que le niveau d'action transcriptionnelle du récepteur des androgènes varie selon le nombre de répétitions CAG : plus le nombre de CAG est bas, plus l'activité du récepteur est élevée. Les androgènes et le récepteur des androgènes sont considérés comme importants puisqu'ils ont un rôle crucial dans le folliculogénèse et l'hyperandrogénie. Le gène *AR* est exprimé dans les ovocytes, les cellules de la granulosa et les cellules de la thèque, et est régulé temporellement au cours du développement folliculaire (Trimèche *et al.*, 2003 ; Wang *et al.*, 2015 ; Astapova *et al.*, 2019).

3-1-5- Gène de la *SHBG*

La protéine codée par ce gène, connue sous le nom de SHBG, régule en fait l'accès des tissus aux androgènes. La réduction des niveaux de SHBG est un attribut des femmes à phénotype hyperandrogéniques qui augmente la libération d'androgènes libres dans les tissus. Ce gène code pour la globuline liant les hormones sexuelles et en particulier à la testostérone et à l'œstradiol. Des études ont démontré que la *SHBG* peut potentiellement être un gène de susceptibilité dans le syndrome des ovaires polykystiques. La libération des androgènes libres dans les tissus est augmentée par la réduction du taux de SHBG chez les femmes atteintes de ce syndrome. En outre, les concentrations plus faibles de SHBG dans le placenta pendant le développement embryonnaire contribuent à la « programmation fœtale » du SOPK. La redondance du penta-nucléotide (TAAAA)_n influence les niveaux d'expression de SHBG, et une longueur de répétition plus courte est liée à une transcription plus importante du gène. La corrélation positive de l'hyperandrogénie avec le polymorphisme (TAAAA)_n dans le promoteur du gène *SHBG* a été confirmée par plusieurs groupes (**Shaaban et al., 2019**).

3-2- Gènes impliqués dans le métabolisme des carbohydrates

3-2-1- Gène du récepteur de l'insuline et gène de l'insuline

Une étude du gène du récepteur de l'insuline chez 24 patientes adultes ayant un SOPK et une insulino-résistance confirmée a décrit un certain nombre de polymorphismes dont la variation du nombre de répétition (ATTT) et (TC) sur l'exon 11, les variants (Asp519, Ala523) sur l'exon 8, (Asn 838) sur l'exon 13 et (Tyr984, His1058) sur l'exon 17. Le gène de susceptibilité serait localisé en 19p13.3, dans la région du gène du récepteur de l'insuline (**Trimèche et al., 2003**). Le récepteur de l'insuline est toujours présent dans cellules normales et cellules touchées. Il existe une homologie structurelle et fonctionnelle entre l'IGF et le récepteur de l'insuline dont le récepteur IGF-I est également présent dans l'ovaire, et son ligand IGF-I est synthétisé par l'ovaire (**Diamant-Kandarakis, 2012**).

L'insuline peut se lier au récepteur de l'IGF-I et l'activer, et l'IGF-I peut se lier au récepteur de l'insuline et l'activer également. L'action de l'insuline ovarienne sur la stéroïdogénèse est ainsi préservée, malgré la résistance aux actions métaboliques de l'insuline dans le SOPK. L'augmentation des niveaux d'insuline en synergie avec celle de la LH peut déclencher l'expression prématurée du récepteur de LH dans une sous-population de petits follicules conduisant à une différenciation terminale prématurée de la granulosa et à l'arrêt de la croissance folliculaire qui peut contribuer à l'anovulation (**Diamant-Kandarakis et Dunaif, 2012**).

L'insuline est bien connue pour jouer un rôle pré-pondéral dans le SOPK, principalement chez les femmes obèses et réagit de manière croisée avec le récepteur du facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGF-1) pour améliorer la stéroïdogénèse ovarienne et surrénalienne, activant la phosphorylation de la tyrosine kinase et plusieurs cascades de signalisation intracellulaire. L'insulino-résistance est due, en grande partie, à des mutations différentes dans le gène du récepteur de l'insuline (**Chehin et al., 2020**).

3-2-2- Gène *IRS*

Les protéines substrats du récepteur de l'insuline (IRS proteins : IRS-1 et IRS-2) sont indispensables à la transduction du signal de l'insuline dans les cellules. Les polymorphismes des gènes codant pour IRS-1 (Gly972Arg) et IRS-2 (Gly1057Asp) ont été associés à la susceptibilité au diabète de type 2 (**Trimèche et al., 2003**). Les protéines des substrats des récepteurs de l'insuline (IRS) sont essentielles pour la transduction du signal médié par l'insuline dans les tissus cibles (**Ruan et al., 2012**). L'activation du récepteur de l'insuline augmente la phosphorylation des substrats intracellulaires, principalement les protéines du substrat et du récepteur de l'insuline (**Lin et al., 2015**).

3-2-3- Gène de la résistine

Ce gène appelé « résistine » ou « résistance à l'insuline » en raison de sa capacité à résister à l'action de l'insuline. Le gène codant pour la résistine humaine est situé sur le chromosome 19p13.2 et couvre 1369 pb, avec trois introns et quatre exons. La résistine est un propeptide de 108 acides aminés, qui comprend un peptide signal, une région variable et une extrémité C-terminale conservée. La résistine (12,5 kDa) circule dans le sang humain sous la forme d'une protéine dimère constituée de deux polypeptides de 92 acides aminés qui sont liés par un pont disulfure et forment des complexes de poids moléculaire élevé et des complexes de poids moléculaire faible. Il a démontré que la résistine diminue la stéroïdogénèse induite par l'IGF-1 dans les cellules primaires de la granulosa humaine et donc la résistine humaine plasmatique semble être corrélée à l'IR comme conséquence de l'obésité elle-même plutôt que comme facteur causal indépendant. Des études ont démontré que les hormones ovariennes n'avaient aucun effet sur les concentrations de résistine dans le sérum. Finalement, la résistine ne semble pas être un facteur majeur dans la pathogenèse du SOPK, même si son implication exacte mérite d'être précisée (**Estienne et al., 2019**).

3-2-4- Gène de la calpaïne 10

Le gène humain *calpain-10*, membre de la famille des calpaines cystéine protéases, est situé sur le chromosome 2q37.3 et se compose de 15 exons et 14 introns, couvrant une région d'environ 31 kb. Les variations génétiques du gène *calpain-10* peuvent entraîner des troubles du métabolisme du glucose et provoquer une résistance à l'insuline, affectant ainsi la sensibilité individuelle au SOPK. L'activité transcriptionnelle de la Calpaïne-10 est élevée dans les cellules des îlots pancréatiques, les muscles et le foie, ce qui suggère qu'elle participe à la régulation de la sécrétion et de l'action de l'insuline et à la production hépatique de glucose. Les polymorphismes du gène codant pour la calpaïne 10 peuvent être impliqués dans la pathogénèse des troubles hyper-androgènes et du SOPK (Shen *et al.*, 2013).

3-3- Gènes impliqués dans l'action et la régulation des gonadotrophines

Un grand nombre des gènes candidats au titre de facteur de risque génétique du SOPK sont impliqués dans la régulation de la sécrétion ou de l'action des gonadotrophines, suggérant une origine neuroendocrine reproductive de la physiopathologie du SOPK. Ces gènes identifiés comme des marqueurs du risque de SOPK régulent un certain nombre de fonctions reproductrices, neuro endocrines et métaboliques. (Gourbesville *et al.*, 2019).

3-3-1- Gène de la LH et de son récepteur

La LH joue un rôle déterminant dans la production thécale des androgènes. L'analyse structurale du gène de la sous-unité b de la LH révèle l'existence de polymorphismes Trp8Arg et Ile15Thr responsables de variants structuraux de la LH. Ces anomalies ont été retrouvées avec la même fréquence chez les femmes avec un SOPK et chez les sujets normaux. Il est intéressant de rappeler que des mutations inactivatrices du récepteur de la LH ont été identifiées chez des filles de caryotype normal (XX), ayant une aménorrhée primo-secondaire avec un taux élevé de LH et des ovaires polykystiques à l'échographie (Trimèche *et al.*, 2003).

3-3-2- Gène de La FSH et son récepteur

La FSH joue un rôle déterminant dans la maturation folliculaire et la sécrétion d'estrogènes par les cellules de la granulosa. Chez les patientes ayant un SOPK, il existe un arrêt de la maturation folliculaire, ce qui suggère des anomalies probables du gène de la FSH et/ou de son récepteur résultant d'un polymorphisme C76T sur l'exon 3 (Trimèche *et al.*, 2003).

3-3-3- Gène de la follistatine

La follistatine neutralise l'activine, et son augmentation arrête le développement folliculaire en supprimant la sécrétion de FSH et accroît la production d'androgènes. Seul ce gène semble fortement lié au phénotype SOPK (Jonard, 2002).

3-3-4- Gènes du récepteur de la dopamine

La dopamine inhibe la sécrétion de GnRH et de prolactine. Des polymorphismes en association avec le phénotype OPK ont été identifiés au niveau des gènes des récepteurs D2 et D3 de la dopamine (Trimèche *et al.*, 2003).

3-4- Autres gènes candidats

3-4-1- Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité

Les études concernant l'association du SOPK avec certains loci du système HLA rapportent des conclusions controversées. La survenue d'un SOPK serait liée à certains allèles du système HLA et l'héritabilité serait de type autosomique récessif (Trimèche *et al.*, 2003).

3-4-2- Autres gènes impliqués dans la physiologie ovarienne

IGF-I et IGFBP-I (Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 1) : le SOPK est associé à une élévation plasmatique de la fraction libre de l'IGF-I qui affecte la maturation folliculaire par des mécanismes autocrines et /ou paracrines. Cette élévation est secondaire à la baisse de l'IGF BP-I qui serait la conséquence de l'hyperinsulinisme.

GDF-9 et GDF-9B : la présence de GDF-9 et GDF-9B (mieux connu sous l'appellation de BMP15) dans les follicules ovariens humains a fait évoquer la possibilité d'une action de ces facteurs de croissance dans la régulation de la folliculogénèse (Jonard *et al.*, 2002).

3-4-3- Gène *DENNDIA*

Le gène *DENNDIA* (DENN Domain Containing 1A) code pour une protéine appelée conecden1 présentant un domaine DENN (Differentially Expressed in Normal and Neoplastic cells) impliquée dans le transport membranaire, dont l'altération provoque l'augmentation d'expression des ARNm *CYP17* et *CYP11A1*, tous deux impliqués dans la stéroïdogénèse ovarienne. Le produit du gène *DENNDIA* diminuant l'expression génique de *CYP17*, de *CYP11A1* et ainsi de la biosynthèse des androgènes. De par sa fonction, *DENNDIA* apparaît ainsi comme une cible potentielle pour une thérapeutique du SOPK (Gourbesville *et al.*, 2019).

3-5- Modification épigénétiques

Il semble maintenant probable que le SOPK survient à la suite de la conjonction de facteurs génétiques et environnementaux. Cependant, les variants génomiques, protecteurs ou sensibles, impliqués peuvent être influencés par des facteurs environnementaux par le biais de modifications épigénétiques. Il existe aujourd'hui de solides preuves expérimentales suggérant que ces changements épigénétiques induits (méthylation de l'ADN, modifications post-traductionnelles des histones et expression des microARN) peuvent contribuer à la programmation développementale de certaines maladies chroniques chez l'adulte et qui peuvent même être transmises à plusieurs générations. Le SOPK pourrait en faire partie. Ainsi, à partir de l'analyse du méthylome (taux de méthylation de la cytosine) dans la région promotrice des gènes candidats, certaines modifications ont été identifiées dans le cas du SOPK. L'hyperméthylation des promoteurs de plusieurs gènes candidats a été constatée. Dans une étude comparant le profil de méthylation de l'ADN et l'analyse transcriptionnelle dans le tissu ovarien de femmes avec ou sans SOPK, une concordance a pu être établie dans le cas du SOPK pour 54 gènes entre la perturbation de l'expression ovarigène et les modifications de méthylation aux sites CpG de leur promoteur. Certains de ces gènes étaient impliqués dans les processus de signalisation moléculaire, d'inflammation, de contrôle métabolique ou de prolifération en accord avec leur implication dans le développement du SOPK. Ces résultats, qui doivent être confirmés et consolidés, suggèrent donc fortement que des changements épigénétiques induits, par exemple, par des facteurs environnementaux pourraient influencer les mécanismes moléculaires conduisant au SOPK (Fenichela *et al.*, 2017) (figure 07).

Certains microARN ou miARN sont impliqués dans le contrôle de l'expression de gènes nécessaires à la synthèse des androgènes, à l'inflammation, à l'adipogenèse et à la signalisation, pouvant ainsi s'intégrer dans la physiopathologie du SOPK. Deux miARN semblent être d'un intérêt particulier en tant que biomarqueurs dans le SOPK, l'un (miR-222) positivement corrélé avec l'insuline et l'autre (miR-146a) négativement corrélé avec la testostérone (Fenichela *et al.*, 2017).

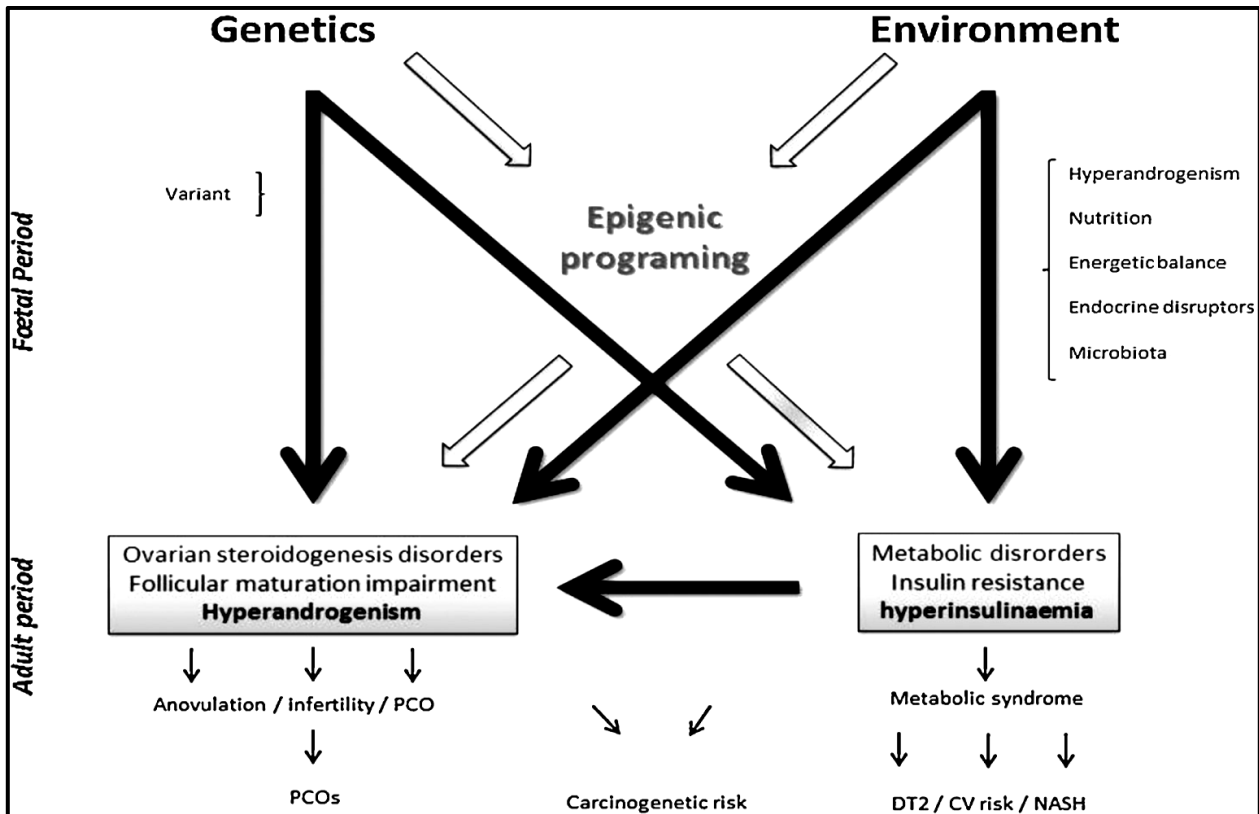


Figure 07 : Physiopathologie du SOPK : interaction entre facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux (Fenichela *et al.*, 2017).

3-6- Méta-analyses et gènes candidats

Des études familiales suggèrent une origine génétique au SOPK. Des prospections menées sur des apparentés au premier degré de femmes atteintes de SOPK ont conduit à supposer une influence génétique dont le mode de transmission serait, *a priori*, autosomique dominant avec une pénétrance variable. Des études récentes d'association pangénomiques de type GWAS (Genome-Wide Association Study) ont été menées. Ces études réalisées sur de larges populations identifient des variants géniques ou polymorphismes nucléotidiques SNP (Single Nucleotide Polymorphism) et leurs corrélations avec des traits phénotypiques du syndrome. Une comparaison de séquences d'ADN est réalisée entre individus ayant des phénotypes différents pour un même caractère (ici, le SOPK). En 2011, une étude qui a porté sur la population chinoise a permis d'identifier 3 loci significativement associés au SOPK. Deux loci ont été identifiés sur le chromosome 2 : 2p16.3 à proximité du gène du récepteur LHCG (*LHCGR*), et 2p21 à proximité du gène *THADA*. Le locus 9q33.3 à proximité du gène *DENNDIA* était significativement associé au SOPK (Gourbesville *et al.*, 2019).

Une deuxième étude de type GWAS publiée en 2012 a permis de confirmer les 3 loci préalablement mis en évidence et d'identifier 8 nouveaux loci à risque pour le SOPK : *FSHR*, *C9ORF3*, *RAB5B*, *YAP1*, *HMGA2*, *TOX3*, *INSR* et *SUMO1P1*. Par la suite, une autre étude de type GWAS a été menée sur une population européenne de femmes OPK. Dans ce travail, 3 loci significativement associés à ce dysfonctionnement ont pu être identifiés. Deux nouveaux loci (8p32.1) dans la région de *GATA4* et de *NEIL2*, et un locus (8p32.1) dans la région du gène *FSH*. En 2018, une nouvelle GWAS a permis la mise en évidence de 3 nouveaux loci associés au SOPK (proche de *PLGRKT*, *ZBTB16* et *MAPRE1*) en plus des 16 préalablement identifiés par les études européennes et chinoises. Au final, le nombre total de loci associés au SOPK s'élève aujourd'hui à 19 (Gourbesville *et al.*, 2019).

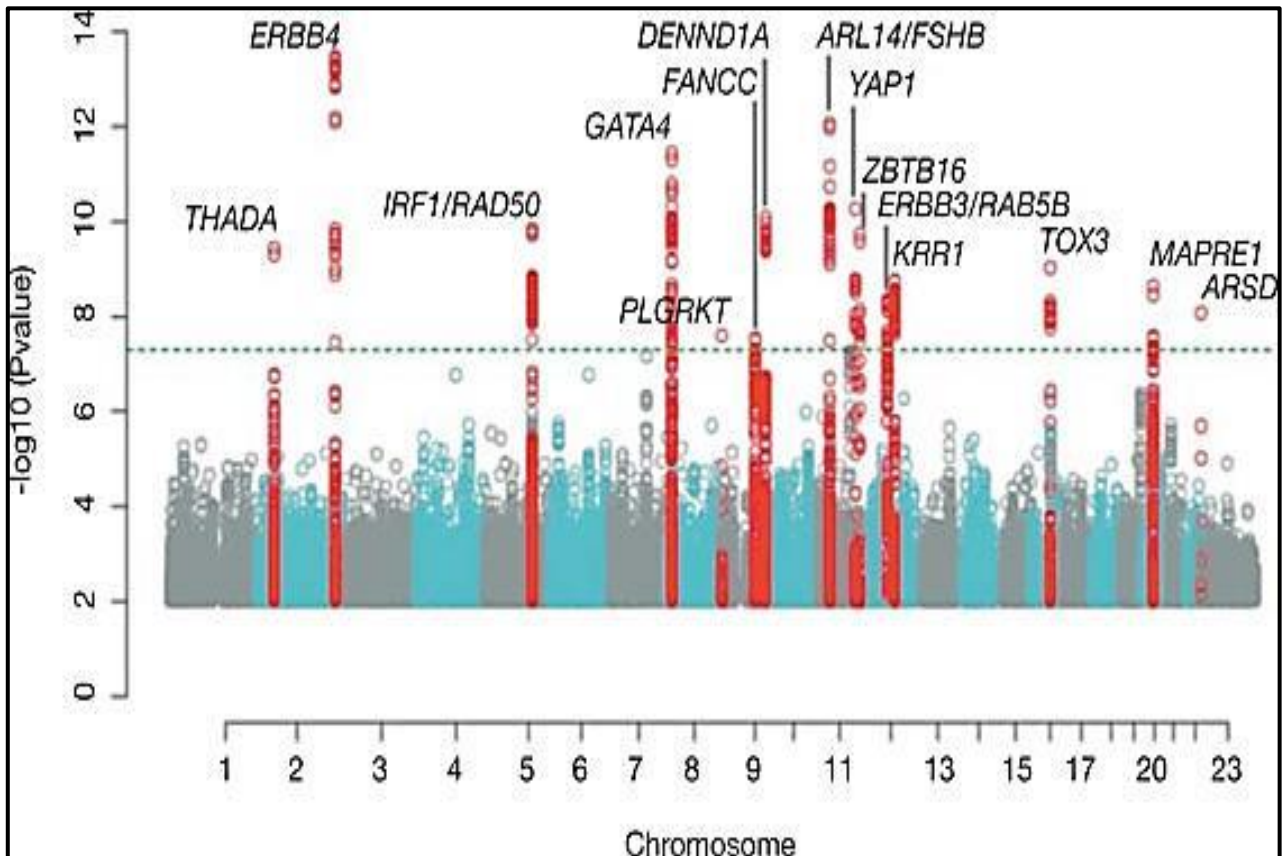


Figure 08 : Méta-analyse des GWAS réalisées chez les patientes atteintes de SOPK (Gourbesville *et al.*, 2019).

CHAPITRE IV

ARN NON CODANTS :
IMPLICATION
DU GÈNE *DICER1*

1- ARNs non codants

Il existe dans toutes cellules deux types d'acides ribonucléiques (ARN), les ARN messagers (ARNm), qui sont traduits en protéines, et les ARN non-codants (ARNnc), dont l'importance fonctionnelle a pendant longtemps été sous-estimée. L'étude des ARNnc a connu ces dernières années un regain d'intérêt très important en raison du nombre conséquent de mécanismes biologiques dans lesquels ils sont impliqués (**Clerget *et al.*, 2015**). Les ARNnc sont ainsi impliqués dans la maturation du pré-ARNm, la traduction des ARNm, dans la maturation d'autres ARN, dans la sécrétion des protéines, mais également dans le développement cellulaire ou encore dans le contrôle de l'expression génique. Enfin, depuis une dizaine d'années, les progrès accomplis particulièrement en matière de séquençage à haut-débit ont entraîné la découverte de plusieurs ARNnc tels que les tiARN (transcription initiation RNA), les PASR (Promoter-Associated Short RNA), les TASR (Termini-Associated Short RNAs), les spliARN (Splice-site associated smRNAs), dont les activités ne sont, néanmoins, pas encore toujours distinctement établies (**Taft *et al.*, 2010**). Ces différents ARNnc sont généralement assimilés au sein de complexes protéiques, constituant alors des particules ribonucléoprotéiques (RNP), assemblées selon des processus de maturation complexes et souvent propres à chaque ARN. De façon surprenante, des études récentes ont néanmoins démontré que certains ARNnc pouvaient servir de précurseurs à d'autres ARNnc. Ainsi, la caractérisation des ARNnc associés à certaines protéines comme les protéines de la famille Argonaute, l'une des protéines associées aux microARN matures, a montré l'existence de petits ARN dérivés de snoARN, ou sdRNA (snoRNA-derived RNA). Aussi, bien que plusieurs classes de snoARN aient été identifiés il y a de nombreuses années et que leurs fonctions semblaient avoir été identifiées depuis, cette découverte a entraîné un regain d'intérêt pour l'étude de leur maturation, et plus particulièrement sur leur possibilité de générer de petits ARN de type miARN. Il semble aujourd'hui d'autant plus intéressant de réaliser ces études qu'il apparaît que ces petits ARN dérivés et/ou leurs précurseurs seraient impliqués dans de nombreuses pathologies, comme le cancer de la prostate (**Dong *et al.*, 2008**), du foie (**Kawaji *et al.*, 2008**), du poumon (**Liao *et al.*, 2010**), du cerveau (**Dong *et al.*, 2008**) ou certaines leucémies (**Valleron *et al.*, 2012**).

1-1- Définition

Les miARNs sont des molécules d'ARN de petite taille, de 19 à 25 nucléotides, simples brins, non codants et endogènes. Ils contrôlent l'expression génique au niveau post-transcriptionnel. L'expression génique commence par l'étape de transcription qui permet la synthèse d'ARN à partir d'ADN grâce à des ARN polymérases soit de type I, de type II ou de type III pour respectivement la synthèse d'ARN ribosomique (ARNr), messagers (ARNm) et de transfert (ARNt) (**Boyer, 2009**).

La transcription des ARN messagers nécessite au préalable la liaison de facteurs de transcription spécifiques à proximité de l'ARN polymérase II. Dans le noyau des cellules eucaryotes, la grande majorité des ARN pré-messagers transcrits subissent des modifications post-transcriptionnelles : ajout de la coiffe en 5', épissage des introns et polyadénylation en 3'. Puis, les ARN messagers des cellules eucaryotes sont traduits dans le cytoplasme en protéines et peuvent subir des modifications post-traductionnelles. Ces ARNs sont utilisés comme intermédiaires par les cellules pour la synthèse de protéines. Chez les eucaryotes, un ARNm correspond en général à un seul gène et code une seule protéine. Les miARNs sont des régulateurs post-transcriptionnels de l'expression génique en régulant l'expression des ARN codants. En effet, les miARNs sont capables d'éteindre l'activité d'un gène en agissant directement sur l'ARNm correspondant. En s'appariant avec les ARNm, ils guident leur dégradation ou la répression de la traduction en protéines. Ainsi, les miARNs participent au contrôle de l'expression d'une protéine en inhibant la traduction et/ou en induisant la dégradation de l'ARNm correspondant. La transcription des gènes des miARNs est assez similaire à celle des gènes codants. La découverte des miARNs a révolutionné la biologie et les projets de recherche sont nombreux à s'intéresser à ces ARNs non codants. L'identification de nouveaux miARNs ne cesse de croître (**Derrien et Guigó, 2011**). Un registre de miARNs a été créé, la base de données appelée miRBase, pour lister les différents types et faciliter l'appellation des nouveaux miARNs. La version la plus récente, à ce jour, est la version 22.0 de Mars 2018 et elle recense 38 589 miARNs matures chez l'homme (**Kozomara *et al.*, 2019**) (<http://www.mirbase.org/>).

1-2- Fonction

Les miARN sont des régulateurs de l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel. Il est aujourd'hui estimé qu'un miARN peut réguler des centaines de cibles. Une cible peut être régulée par de nombreux miARN et 60% des gènes peuvent être régulés par les miARN. La fonction essentielle de ces petits ARN est d'inhiber l'expression d'un gène par un appariement habituellement imparfait avec l'ARNm cible. De ce fait, les miARN sont engagés dans une multitude de processus biologiques, physiologiques et pathologiques. Ils peuvent avoir un rôle dans l'embryogenèse, la croissance cellulaire, la migration cellulaire, l'invasion cellulaire, la mort cellulaire, la formation de métastases, la fibrose, la chimiorésistance, ainsi que dans de nombreuses autres pathologies (**Shechner *et al.*, 2009 ; Derrien et Guigó, 2011**).

1-3- Localisation génique

Les miARN peuvent être localisés dans les régions intergéniques ou être indépendants et posséder leur propre promoteur. Ils peuvent également se placer dans les régions intergéniques, au niveau des introns de leur gène hôte et être soumis à la même régulation transcriptionnelle de celui-ci. Certains miARN peuvent se localiser dans des exons des gènes hôtes. Ils peuvent être transcrits de façon mono-cistronique (miR-210), bi-cistronique (miR-221/222) ou poly-cistronique (miR-17/92) et possèdent dans ces cas une forte homologie de séquence entre les membres d'une même famille. Les miARN suivis de lettre comme miR-29a, miR-29b et miR-29c ont une séquence d'appariement avec l'ARNm qui se distingue de quelques bases, alors que les miARN suivis de chiffres sont transcrits par des locus géniques différents mais possèdent la même séquence mature de fixation à l'ARNm (Di Leva *et al.*, 2014).

1-4- Biosynthèse des miARN

Il existe différentes voies de biosynthèse des miARN, la plus commune étant la suivante : les miARN sont généralement transcrits par l'ARN polymérase de type II en un transcrit unique, primaire et long de 1 à 3 kb : le pri-miARN. Le pri-miARN possède une coiffe en 5' et est polyadénylé. Dans de rares cas, des auteurs ont rapporté, pour une des miARN, une transcription par l'ARN polymérase de type III et concerneraient des miARN englobés dans des séquences Alu du génome. Le pri-miARN est clivé par la ribonucléase de type III Drosha qui est associée avec *DiGeorge syndrome critical region gene 8* (DGCR8) afin de former le miARN précurseur (pré-miARN) long de 70 à 100 nucléotides. DGCR8 est une protéine permettant de reconnaître et de se fixer aux ARN double brin et va permettre de positionner la sous-unité catalytique de la RNase III Drosha au niveau du miARN. Ce pré-miARN va ensuite être exporté dans le cytoplasme par l'exportine de type 5 (XPO5) par un mécanisme RanGTP. Dans le cytoplasme va se dérouler la maturation du miARN. La ribonucléase de type III *endoribonuclease or helicase with RNase motif* (DICER) va cliver le pré-miARN en un miARN double-brin mature de 18 à 25 nucléotides. DICER va pour cela interagir avec *TAR RNA-binding protein* (TRBP) ce qui va alors favoriser l'enrôlement des protéines de la famille Argonaute, majoritairement Ago2, lorsque le miARN double brin est formé. Ceci va permettre la formation du complexe *RNA-Induced Silencing Complex* (RISC). Les deux brins du miARN sont séparés par une hélicase : le brin dit mature, majoritaire, sera incorporé dans le complexe RISC et reste associé à Ago2 alors que le brin « passager, minoritaire » sera le plus souvent dégradé. Ce complexe miARN-RISC, souvent abrégé miRISC, permet l'activité du miARN (Kim *et al.*, 2014).

Les enzymes clefs de la biosynthèse des miARN sont impliquées dans de nombreux procédés de synthèse d'autres petits ARN et sont soumises à régulation. Ces régulations permettent d'accentuer l'affinité avec le miARN, d'augmenter la stabilité des complexes formés et de réguler leur localisation. Ainsi, l'altération de ce procédé dans les pathologies peut être une cause de dérégulation de l'expression des miARN et par conséquent de leurs cibles, et peut être une cible potentielle de thérapie. On retrouve par exemple une diminution de l'expression de *DICER1* dans les cancers du sein et du poumon ce qui a été associée à un mauvais pronostic. Aujourd'hui, en plus de la voie classiquement décrite de biosynthèse des miARN, on peut retrouver une synthèse indépendante de Drosha et DGCR8 ou indépendante de DICER (Kim *et al.*, 2014).

2- Implication des ARN non codant en pathologies humaines

Les miARNs modulent entre 30% et 60% de nos gènes. Chaque miARN peut réguler une centaine de cibles et chaque gène peut être modulé par plusieurs miARN (figure 09). Il a été montré que les miARN sont impliqués dans un grand nombre de fonctions physiologiques essentielles telles que le développement, la croissance, la prolifération, l'apoptose, la différenciation cellulaire et la régulation du cycle cellulaire. Par conséquent, les miARN pourraient être des régulateurs pivots dans le développement normal ainsi que dans le développement des diverses pathologies. Ils ont été particulièrement étudiés en oncologie (Di Leva *et al.*, 2014).

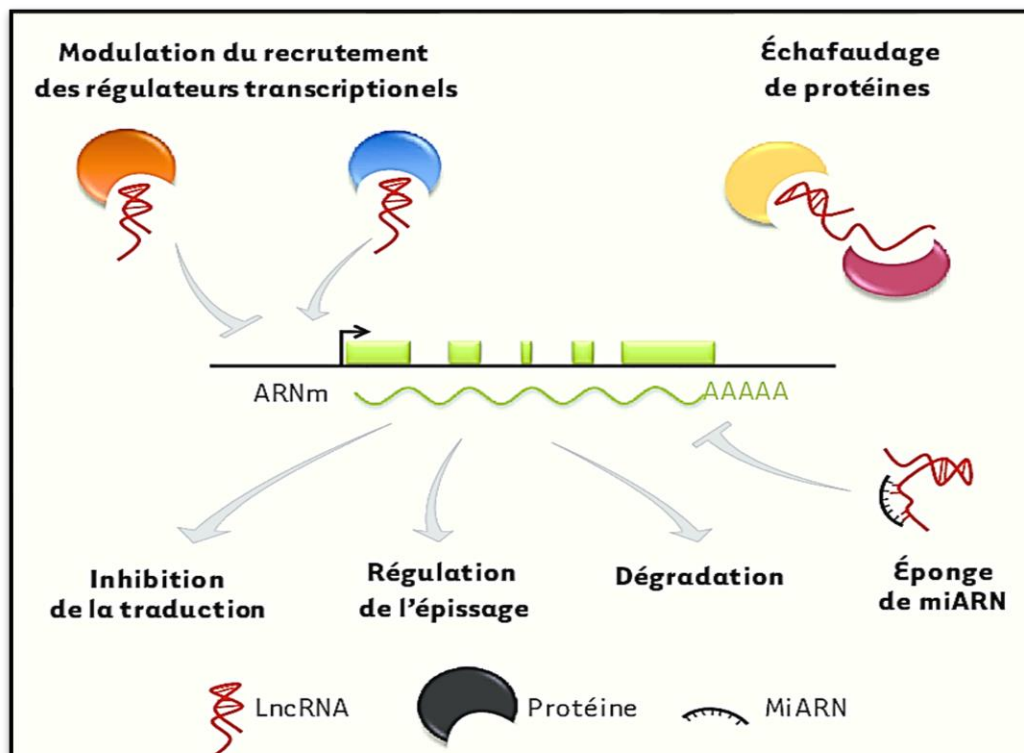


Figure 09 : Mécanismes d'action des miARN (Mathieu *et al.*, 2014).

Étant donné leurs contributions aux processus physiologiques, une altération du niveau d'expression des miARN pourrait mener au développement de pathologies, comme le cancer. En effet, de nombreuses études démontrant une dérégulation des miARN dans divers types de cellules cancéreuses suggèrent que les miARN peuvent agir comme des suppresseurs de tumeurs ou des oncogènes potentiels. La participation des miARN au développement de pathologies ne se limite cependant pas aux cancers. En effet, le nombre d'études suggérant l'implication de miARN dans le développement de diverses maladies comme la maladie d'Alzheimer, le diabète néonatal transitoire et la dystrophie facio-scapulo-humérale, pourrait découler de la dérégulation de l'expression d'un miARN. Ces molécules représentent des cibles thérapeutiques potentielles. Bien qu'ils soient encore à leur début, des essais cliniques utilisant des agents thérapeutiques à base d'ARN sont déjà à l'étude. La plupart d'entre eux implique de petits ARN interférents (siRNA) ou des oligonucléotides antisens (ASO) qui mènent à la dégradation de leurs ARN cibles (Mathieu *et al.*, 2014).

3- ARN non codant et SOPK

Les microARN, petits ARN non codants participant à la régulation post-transcriptionnelle des gènes, dont l'expression peut elle-même être modulée par des mécanismes épigénétiques au niveau du promoteur de leur gène. Leur étude systématique se développe dans de nombreux domaines, dont la cancérologie, car leur identification dans le sérum ou différents fluides biologiques pourraient représenter une source d'informations physiopathologiques et constituer des biomarqueurs facilement accessibles. Plusieurs études récentes ont analysé, dans le sérum (Sorensen *et al.*, 2014 ; Ding *et al.*, 2015) et dans le liquide folliculaire (Roth *et al.*, 2014), le profil des miARN dans le SOPK. Des différences ont été notées pour certains miARN associés au contrôle de gènes impliqués dans la synthèse des androgènes, l'inflammation, l'adipogenèse et la signalisation de l'insuline, pouvant donc s'intégrer dans la physiopathologie du SOPK (Murri *et al.*, 2013 ; Ilie *et al.*, 2015). Deux miARN semblent particulièrement intéressants comme biomarqueurs dans le SOPK, l'un (miR-222) corrélé positivement à l'insulinémie, l'autre (miR-146a) corrélé négativement à la testostéronémie, et ce après ajustement multivariée à l'âge et à l'indice de masse corporelle (Long *et al.*, 2014).

4- Gène *DICER1*

Le gène *DICER1* est localisé sur le chromosome 14 (en 14q32.13) et code la protéine DICER1, une endoribonucléase de la famille des RNases. Cette protéine est responsable de la maturation des miARN, intervenant dans la régulation de l'expression des gènes. En effet, DICER1 clive les pré-miARN, forme précurseur des miARN, pour obtenir les miARN matures, molécules d'ARN double-brin d'environ 22 nucléotides. Les miARN, qui forment ensuite avec différentes protéines un complexe nommé RISC, sont transformés en ARN simple brin et s'hybrident par complémentarité complète ou partielle avec leurs ARNm cibles, ce qui entraîne une inhibition de l'expression des gènes par clivage de ces ARN messagers ou inhibition de leur traduction en protéine. Une perturbation du taux en miARN a été observée dans de nombreux types de cancers. L'inactivation du gène *DICER1* est responsable d'un défaut de maturation des miARN, pouvant induire des anomalies du développement, une perte de contrôle du cycle cellulaire et l'apparition de tumeurs. Par ailleurs, DICER1 intervient également dans la biogenèse des siRNA, en clivant un long ARN double-brin en ARN double-brin d'environ 22 nucléotides ; les étapes suivantes sont alors les mêmes que pour les miARN, c'est-à-dire prise en charge de la molécule d'ARN double-brin par le complexe RISC et inhibition de l'expression des gènes. Étant donnée l'expression ubiquitaire du gène *DICER1* et son rôle dans la régulation de l'expression de nombreux gènes, les mécanismes conduisant au développement de certains types tumoraux préférentiellement à d'autres ne sont pas encore élucidés. Le gène *DICER1* peut être considéré comme un gène suppresseur de tumeur, le syndrome DICER1 étant une prédisposition génétique à différents types de cancers, de transmission autosomique dominante, associée à la présence d'une mutation constitutionnel inactivatrice du gène *DICER1* au niveau de l'un des deux allèles. Cependant, une inactivation complète du second allèle du gène *DICER1* au niveau tumoral est rarement observée. Il s'agit généralement d'une mutation faux-sens induisant une perte de fonction partielle, uniquement de l'activité ribonucléase IIIb de DICER1 (**Orbach et al., 2016**).

4-1- *DICER1* structure et domaines

DICER1 est un membre de la troisième classe de la famille des RNase III qui est hautement conservée chez plusieurs espèces. Cette protéine d'environ 215 kDa contient un domaine « DEXH-box RNA hélicase/ATPase », deux domaines RIII et un domaine de liaison à 10 l'ARNdb. Chez certaines espèces, la protéine DICER1 contient un domaine Piwi/Argonaute/Zwille (PAZ) et/ou un signal de localisation nucléaire (SLN) (**Plante, 2005**).

Les principaux domaines fonctionnels de DICER1 sont ordonnés du N- au C-terminal comme suit: domaine hélicase inclus avec DExD / H, TRBP-BD et HELICc, domaines DUF283, PAZ (Piwi / Argonaut / Zwiile), RNase IIIa et IIIb domaines et domaine de liaison à l'ARNdb (RBD). DICER1 ressemble à la forme de la lettre L, avec une tête, un corps et une base. En tête, le domaine PAZ de Dicer est unique et qu'il possède une boucle supplémentaire enrichie en acides aminés basiques, qui modifie le potentiel électrostatique et la surface moléculaire de la poche. Sur la moitié inférieure du corps de DICER1 se trouvent les domaines RNase IIIa et IIIb, qui forment le noyau catalytique. Le domaine DExD / H est situé à la base du L et forme une pince à proximité du site actif du domaine RNase III (Song *et al.*, 2017).

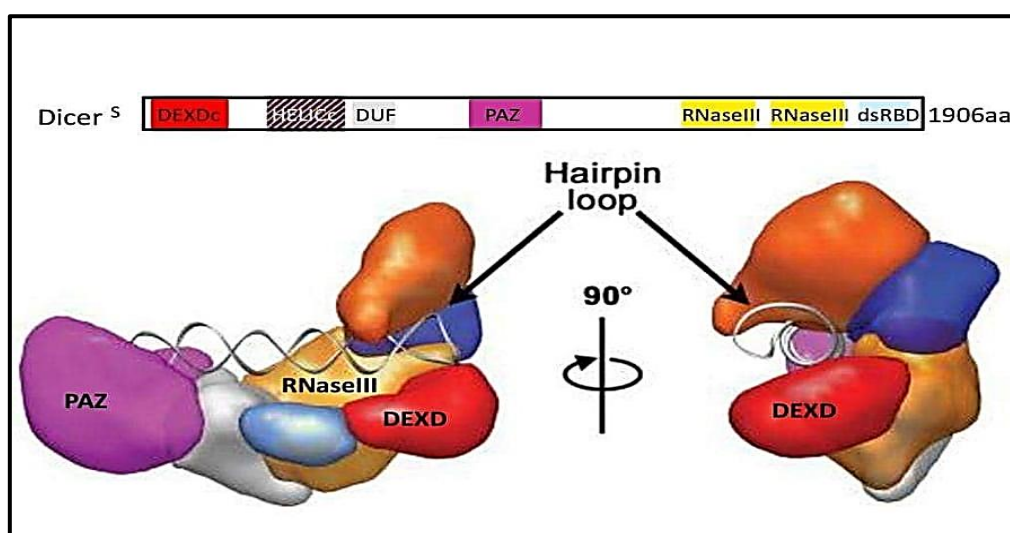


Figure 10 : Représentation schématique de la structure du Dicer (Lau *et al.*, 2012)

4-2- Particularités fonctionnelles

L'enzyme DICER1 fait partie de la famille des ribonucléases (RNase) III. Il est plus connu sous le nom d'endonucléase qui fonctionne dans la voie d'interférence ARN (ARNi) pour cliver de longues molécules d'ARN double brin (ARNdb) en molécules courtes d'ARNdb, appelées petits ARN, y compris les microARN, (miARN), et les petits ARN interférents (siRNA). En effet, DICER1 est considéré comme un facteur clef dans la biogenèse de la plupart des petits ARN régulateurs, et la majorité des études sur DICER1 se sont concentrées sur ce rôle. Cependant, de plus en plus de preuves montrent que DICER a également des fonctions en dehors de la petite voie de l'ARN. La fonction endonucléase de DICER1 n'est pas seulement impliquée dans la biogenèse des petits ARN, mais également dans le traitement d'autres substrats endogènes et exogènes. De plus, sa fonction ne se limite pas au clivage, mais peut réguler ainsi d'autres processus cellulaires (Murchison et Partridge, 2005 ; Song et Rossi, 2017).

Il est intéressant de constater que l'ARNm de DICER1, chez certaines espèces, est lui-même régulé par un mécanisme dépendant d'un miARN. Ceci suggère un mécanisme d'auto-régulation pour la voie de l'iARN. Il a été démontré récemment que la structure des extrémités, en particulier la longueur et la séquence de l'extrémité 3' protubérante, est importante pour la spécificité et l'efficacité de DICER1. De plus, la séquence de l'ARN double brin semble être un facteur pouvant contribuer à la détermination des sites de clivage par DICER1 (Plante, 2005).

5- DICER1 et SOPK

L'importance des miARNs en ce qui concerne la fertilité féminine, le développement des follicules et la maturation des ovocytes est devenue évidente après des résultats obtenus en utilisant les souris *DICER1* knock-out (technique de l'inactivation génétique). La protéine codée par le gène *DICER1* est connue pour être une enzyme clef de la biogénèse de miARNs. La désactivation de *DICER1* entraîne chez la souris une létalité au début du développement embryonnaire, tandis que les modèles de désactivation de ce gène spécifiques aux tissus ovariens entraînent l'infertilité chez les souris femelles, un faible poids ovarien, un faible taux d'ovulation, des cycles menstruels anormaux et une dysrégulation des gènes liés au développement. Des défauts dans la progression méiotique en raison de la formation défectueuse du fuseau achromatique sont observés. Des défauts dans le développement et la fonction du corps jaune (*corpus luteum*) sont constatés en raison de l'angiogenèse anormale dans le corps luteum, et la formation de kystes remplis de liquides sur les oviductes (Sørensen *et al.*, 2014). La relation entre le gène *DICER1* et le SOPK a été démontrée également par le biais de la résistance à l'insuline qui est l'une des principales caractéristiques associées au SOPK. Il a été constaté que l'expression de la protéine DICER1 est régulée en baisse dans les adipocytes de patients atteints de SOPK. Pour générer un modèle de résistance à l'insuline, les adipocytes matures ont été cultivés dans un milieu à faible teneur en glucose. Il a été conclu que la résistance à l'insuline peut contribuer à la diminution des taux de la protéine DICER1 dans le tissu adipeux des patients atteints de SOPK. Cette observation suggère que le dysfonctionnement dans le niveau d'expression et/ou l'activité de la protéine DICER1 joue probablement un rôle important dans l'obésité des patients atteints de SOPK. Le miR-223, qui est un facteur clef dans l'adipose, et il est régulé par *DICER1*. D'autres miARNs peuvent également être impliqués dans ce processus pathologique (Qin *et al.*, 2019).

Partie pratique

Patients et méthodes

1- Patients

Les personnes incluses dans notre étude moléculaire sont toutes des femmes diagnostiquées avec un syndrome des OPK et recrutées au niveau du service de gynécologie du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Benbadis - Constantine. Toutes nos patientes, après lecture et explications exhaustives, ont signé un consentement éclairé nous autorisant à l'utilisation de leurs données clinico-biologiques et de leur matériel génétique (ADN) pour la réalisation de l'étude moléculaire.

Dans cette étude, nous avons inclus un total de 11 patientes répondants au seul critère d'inclusion d'avoir un SOPK confirmé par un médecin clinicien de la structure sanitaire où s'est fait le recrutement. Nous avons exclu de cette prospection les patientes présentant les caractères suivants :

- Sujets déshydratés et difficiles à piquer,
- Sujets dont l'état de santé est détérioré,
- Sujets refusant de faire le prélèvement et de participer à l'étude.

Notre cohorte de femme OPK provient d'une étude génétique sur l'implication du polymorphisme Alu Ins/Del du gène *TPA* réalisée précédemment dans le cadre d'un mémoire de Master en Génétique (année universitaire 2018-2019) (**Chellat *et al.*, 2019**). L'impossibilité de procéder à un recrutement prospectif de notre propre cohorte de malades est due à la situation sanitaire particulière liée à la pandémie du Covid19 durant notre période d'étude.

2- Témoins

Notre population témoin pour l'étude moléculaire de type cas-témoins provient de la banque d'ADN du laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (BMC) de l'Université Constantine 1. La population témoin sélectionnée est composée d'un panel de 14 sujets apparemment sains, sans problème de santé apparent ou mentionné après la réalisation d'un questionnaire. Les témoins proviennent de la même étude antérieure décrite précédemment.

3- Analyse génétique

Après recrutement des patients et des témoins, l'extraction de l'ADN s'est faite au niveau du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire de l'université Constantine 3. L'analyse moléculaire qui a suivi pour l'étude du polymorphisme A/G (rs3742330) du gène *DICER1* (OMIM : 606241) a été effectuée au niveau du laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (BMC) - Université Constantine 1.

3-1- Extraction d'ADN à partir de sang total

3-1-1- Le prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin (5 à 10 ml) destiné à l'extraction de l'ADN est recueilli dans des conditions stériles par ponction veineuse, dans un tube vacutainer contenant l'EDTA (Ethylene Diamino Tetracetic Acid) comme anticoagulant.

3-1-2- L'extraction de l'ADN

Les leucocytes sont la source d'ADN la plus aisément exploitable. La technique employée sur un prélèvement de sang total utilise un solvant inorganique, le NaCl, dite méthode de *Miller*. L'extraction se fait en trois étapes ; la préparation des leucocytes, l'extraction de l'ADN proprement dite et enfin la solubilisation (*Miller et al., 1988*). Après réalisation d'un prélèvement sanguin de 5 à 10 ml dans des tubes EDTA, l'extraction de l'ADN est lancée immédiatement ou si les conditions ne le permettent pas dans les 3 à 4 jours qui suivent la réalisation du prélèvement conservé à +4°C. L'extraction de l'ADN se fait en 3 étapes :

- **Préparation des leucocytes** : les leucocytes sont séparés du sang par lyse hypotonique des dans un tampon Tris-EDTA (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7,5) (TE) 20:5 pendant 10 minutes dans la glace. Après lavage, le culot est remis en suspension dans le TE 20:5.
- **Extraction de l'ADN** : se fait par ajout d'un tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2 mM, Tris 10 mM, pH 8,2), du Sodium Dodécyle Sulfate (SDS) à 10% et de la protéinase K à 10 mg/ml. Les tubes sont mis en rotation sur une roue, à 27°C, pendant une nuit, et sont refroidis le lendemain dans la glace pendant 5 minutes. On ajoute ensuite 1 ml de NaCl 4M pour permettre la libération de l'ADN nucléaire dans le lysat ainsi que la digestion et l'élimination des protéines qui lui sont associées par précipitation avec ce solvant inorganique. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur. Une fois la pelote d'ADN récupérée avec une pipette Pasteur, elle est rincée deux fois dans l'éthanol à 70% et mise ensuite dans un tube Nunc® de 1,5 ml.
- **Solubilisation** : l'ADN ainsi obtenu est solubilisé en phase aqueuse et ce en ajoutant entre 300 et 1000 µl d'eau bidistillée selon la grosseur de la pelote. On laisse une nuit sur un agitateur-rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète. Cette opération dure entre 1 et 2 jours.

3-2- Détermination de la concentration, la pureté et de la qualité de l'ADN extrait

Sachant que la méthode d'extraction de l'ADN utilisée au niveau du laboratoire de Biologie Génétique du CHU Benbadis est particulièrement fiable et reproductible, avec un ADN de très bonne qualité : concentration élevée, absence de contamination par les ARN et/ou les protéines. Aussi, dans l'impossibilité d'évaluer la pureté ainsi que la concentration de l'ADN extrait par spectrophotométrie, nous avons procédé directement à l'étude moléculaire par PCR immédiatement après l'extraction.

3-3- Génotypage

Afin de génotyper notre population pour le polymorphisme d'intérêt (rs3742330) du gène *DICER1*, nous avons été amené à réaliser une technique RFLP. Cette technique est basée sur le fait de la différence de taille des amplicons (le produit de l'amplification) des allèles sauvages et mutés, digérés par une enzyme de restriction. En effet, la taille des fragments attendus est de 232 pb dans le cas de l'allèle sauvage (allèle A) et deux fragments de 187 pb et 45 pb dans le cas de l'allèle muté (allèle G), ce qui nous permet d'identifier les trois génotypes : AA (homozygote sauvage), AG (hétérozygote) et GG (homozygote muté).

3-3-1- Amplification de la région d'intérêt

Pour prospecter le polymorphisme A/G (rs3742330) du gène *DICER1* (OMIM : 606241), nous avons amplifié par PCR une partie de la région 3'UTR en utilisant une paire d'amorces spécifiques.

Tableau I : Séquences des amorces utilisées pour l'amplification de la région d'intérêt.

Amorces	Séquence (5'→3')	Taille de la région amplifiée (pb)
<i>DICER1</i> (F)	5'-CCTGCCTTGACAACATGAAA- 3'	232 pb
<i>DICER1</i> (R)	5' -GGTCTCAGTTTGGTGGCTTC- 3'	

Solution d'amorces préparée séparément pour (F) et (R) par une dilution au 1/6^{ème} à partir de la solution mère : 10µl (F) ou (R) + 50µl d'eau bidistillée.

Les réactifs utilisés pour la préparation du milieu réactionnel de la PCR ainsi que les quantités nécessaires pour chaque tube sont mentionnés dans le tableau ci-après. La préparation du milieu réactionnel de la PCR se fait dans la glace.

Tableau II : Composition du milieu réactionnel de la PCR pour l'amplification de la région d'intérêt

Réactif	Vol/tube (µl)
ADN (~100ng)	2
Tampon 10X (sans MgCl ₂)	2
dNTP 2Mm	3,2
MgCl ₂ 50Mm	0,6
Taq Polymérase (Kit Bioline® 250U)	0,16
H ₂ O bidistillée	8,4
Amorces (F)	2
Amorces (R)	2
Total	20

Tableau III : Programme du thermocycleurs pour l'amplification de la région d'intérêt (durée : 01 h et 26 minutes).

Processus	Température (°C)	Temps	Cycles
Dénaturation initiale	95	5 minutes	01
Dénaturation	95	30 secondes	35
Hybridation	57	30 secondes	
Élongation	72	30 secondes	
Élongation finale	72	5 minute	01

Les produits de PCR sont stockés à 4°C jusqu'à utilisation.

3-3-2- Digestion et migration sur gel d'agarose

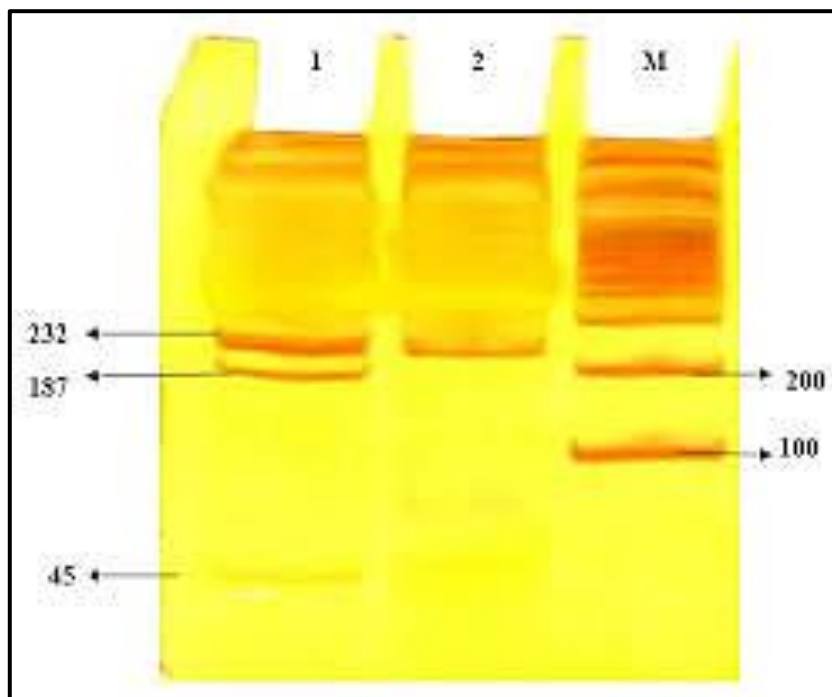
Le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1* fait apparaître un site de restriction pour *Bshn1* ; enzyme extraite de la bactérie *Bacillus sphaericus* identifiée avec l'ATCC (American Type Culture Collection) 12488.

Les produits de PCR sont mis en incubation pendant toute la nuit à 37°C dans l'étuve en présence de l'enzyme de restriction *Bshn1* (Kit BioLabs®) et du tampon de digestion 1X (CutSmart® Buffer) (Kit BioLabs®). La digestion est stoppée par l'augmentation de la température de l'étude à 65°C pendant 01 heure de tems.

La migration des produits de PCR digérés et colorés au Bleu de Bromo-Phénol (BBP) (dilué au 1/2 dans le TBE1X) se fait sur un gel d'agarose (UltraPure™ Agarose) à 3% préparé avec du Bromure d'Éthidium (BET). La migration se fait sous un courant à 100V pendant 1 heures et en parallèle avec le marqueur de taille XIV (Marquer XIV - 100 pb, Roche®).



Figure 11 : Représentation schématique du site de restriction de l'enzyme *Bshn1* (Chandra *et al.*, 2003).



Photographie 01 : Analyse par RFLP du polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1* sur un fragment PCR digéré par *Bshn1* (Mohseni et Ghorbian, 2018).

La colonne M désigne le marqueur de taille utilisé. La colonne 2 représente le génotype homozygote sauvage (AA) (fragment de 232 pb). La colonne 1 représente le génotype hétérozygote AG (fragments de 187 et 45 pb).

4- Analyse statistique

Nous avons procédé à une étude transversale de type cas-témoins pour chercher à déceler une différence dans la distribution d'un variant génétique (rs3742330 du gène *DICER1*) entre une population de cas, constituée d'individus diagnostiqués avec un syndrome OPK, et une population de témoins (supposés sains) sélectionnés dans la population générale et qui ne sont *a priori* pas porteurs du trouble étudié. L'objectif de cette étude étant de vérifier, sur un « échantillon représentatif » de la population algérienne, des données publiées dans la littérature qui associent (ou non) le polymorphisme étudié à un risque accru de développer un SOPK.

L'analyse statistique réalisée dans le cadre de notre étude a été principalement basée sur des comparaisons de fréquences génotypiques et alléliques entre patients et témoins sains, par l'utilisation du test du χ^2 (aussi appelé test de *Pearson*) à partir du logiciel Epi-info® (version 6.0); logiciel de statistiques appliquées à l'épidémiologie disponible en accès et téléchargement gratuit à l'adresse : <http://www.epiconcept.fr>.

Avant toute analyse statistique, nous avons procédé à une évaluation de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* (*Hardy-Weinberg* Equilibrium (HWE)) pour éviter des erreurs importantes dues à un biais de génotypage ou de sélection. Pour vérifier que notre population est en équilibre d'*Hardy-Weinberg*, nous avons utilisé le test du χ^2 standard. Cette évaluation classique du χ^2 est possible lorsque les effectifs sont supérieurs à 5. Dans le cas contraire, il est nécessaire d'utiliser le χ^2 corrigé, soit avec la correction de *Yates* (effectif inférieur à 5) soit avec la correction de *Fisher* (effectif inférieur à 3). Cela a été fait en ligne sur le site : <http://analysis.bio-x.cn/SHEsisMain.htm>.

Les résultats du génotypage pour le polymorphisme étudié de tous nos patients et témoins recrutés pour cette étude ont été traités par Excel (Microsoft Office® 2016) (pour le calcul des fréquences génotypiques et alléliques) et comparés par le logiciel Epi-info® (version 6.0) afin d'évaluer la signification de l'association entre le facteur de risque étudié et la susceptibilité au SOPK. Pour le faire, on utilise un tableau de contingence croisé 2×2 typique :

Tableau IV : Tableau de contingence croisé.

	Patients	Contrôles	Total
Présence du facteur de risque génétique présumé de la pathologie	A	B	a + b
Absence du facteur de risque génétique présumé de la pathologie	C	D	c + d
	a + c	b + d	a + b + c + d

Les OR et les intervalles de confiance (Confidence Interval : CI) à 95% ont été calculés en tenant compte de l'allèle à risque ou des génotypes contenant l'allèle à risque pour notre polymorphisme. L'évaluation du degré de significativité (*p-value*) des différences de fréquences de chaque génotype entre malades et témoins correspond à la probabilité que l'écart global soit imputable seulement aux fluctuations du hasard. Lorsque la probabilité *p* est égale ou inférieure à 0,05 (5%), il y a moins de 5 chances sur 100 que la distribution résulte du hasard. Ainsi, la différence de distribution entre les populations de malades et de témoins pour un marqueur donné, est jugée comme étant statistiquement significative et le marqueur génétique étudié, dans ce contexte, peut être considéré comme étant associé au SOPK.

Nous avons analysé 3 effets possibles des allèles A et G sur notre population de patients en comparaison avec nos témoins.

Tableau V : Formulation des différents modèles de comparaison pour l'étude de l'effet des allèles A et G pour le polymorphisme du gène *DICER1*.

Effet analysé	Modèle de comparaison
Effet dominant	G/G + G/A vs A/A
Effet récessif	A/A + G/A vs G/G
Effet hétérozygote	A/A vs G/A
Effet allélique	A vs G

**Résultats
et
discussion**

Le génotypage du gène *DICER1* pour le polymorphisme rs3742330 a été réalisé par PCR/RFLP. Après amplification partielle d'une partie de la région 3'UTR et digestion des produits amplifiés par *Bshn1*. Le profil de restriction obtenu permet la distinction entre : l'homozygote AA, l'hétérozygote AG et l'homozygote GG (voir photographie ci-après).



Photographie 02 : Contrôle PCR de l'amplification partielle d'une partie de la région 3'UTR du gène *DICER1*.



Photographie 03 : Profil de restriction des produits de l'amplification partielle d'une partie de la région 3'UTR du gène *DICER1* après digestion par *Bshn1*.

Dans l'encercle bleu sur la photos, figure un profil d'un homozygote sauvage AA avec une seule bande correspondant à des fragments de 232 pb. Par contre, dans l'encercle rouge figure un profil d'un hétérozygote AG correspondant à des fragments de tailles différentes ; de 232 pb et 187 pb.

Après la lecture de la totalité des profils électrophorétique ainsi obtenus, les fréquences génotypiques et alléliques pour les patientes OPK et témoins présumés sains ont été calculées (figures 12 et 13).

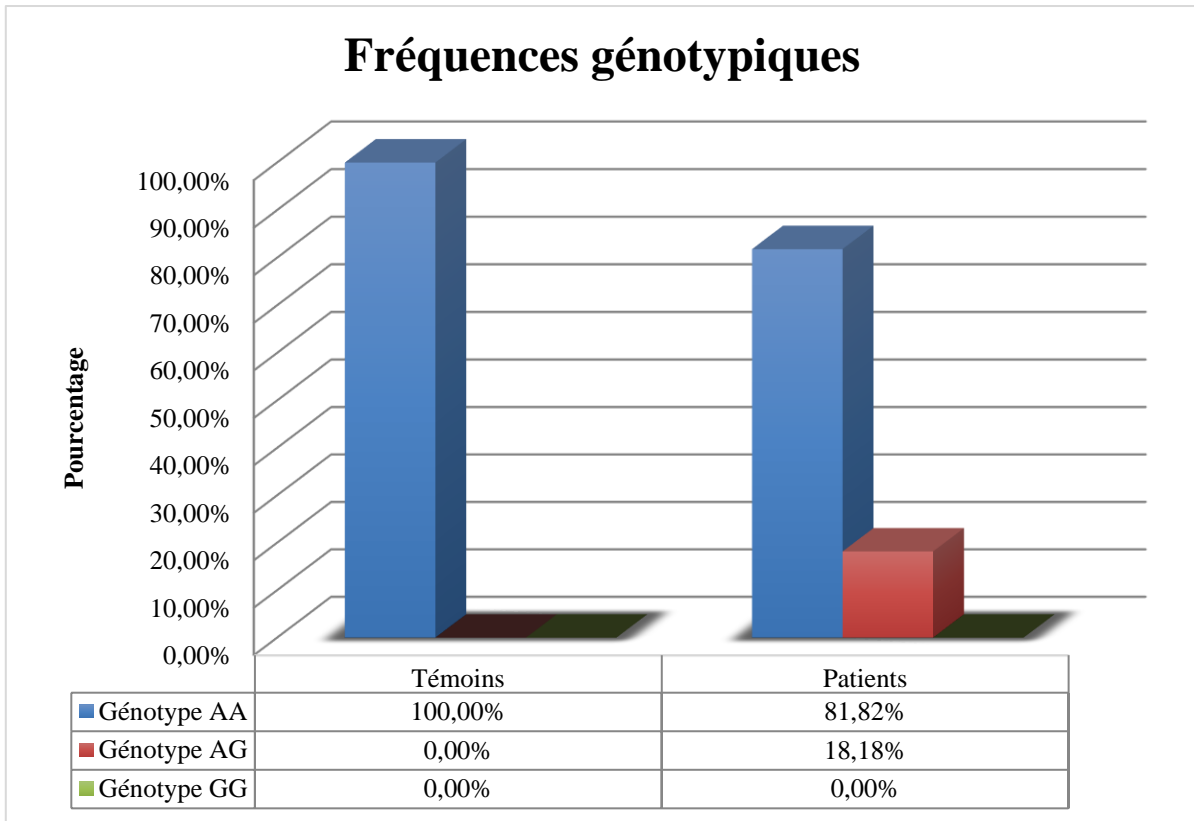


Figure 12 : Fréquences génotypiques pour le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1*.

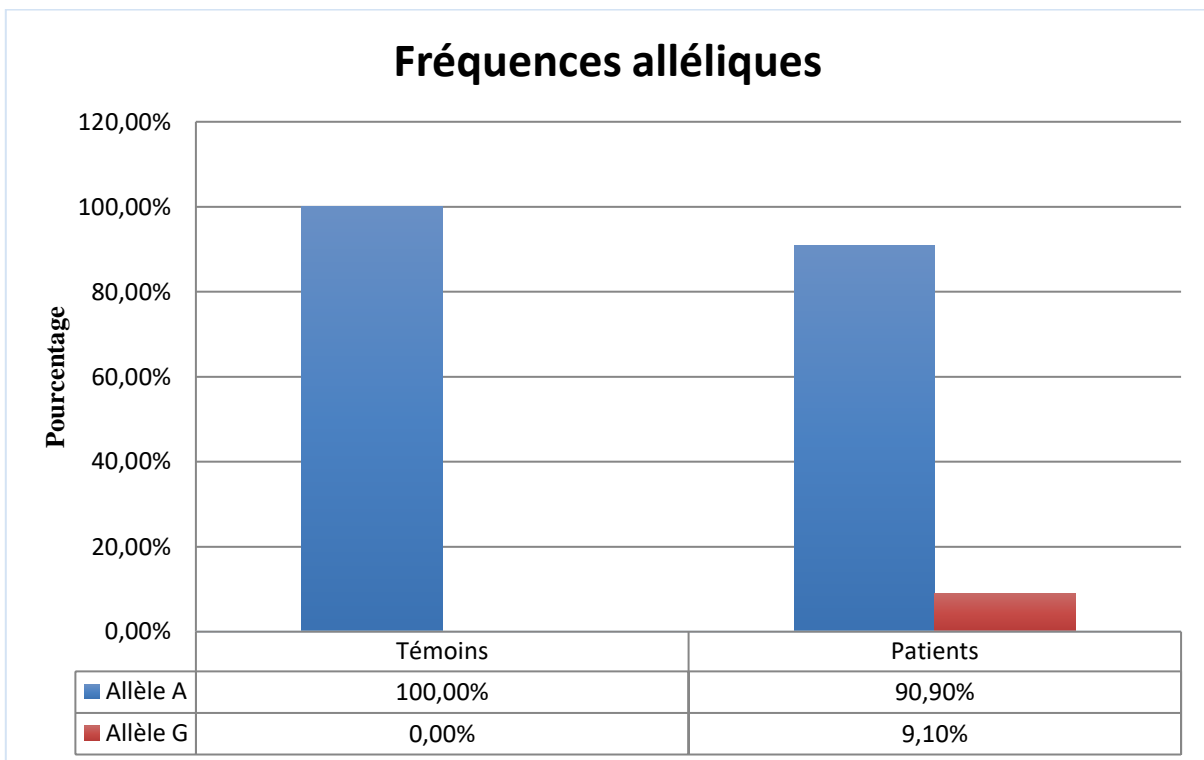


Figure 13 : Fréquences alléliques pour le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1*.

L'analyse des résultats du génotypage du gène *DICER1* pour le polymorphisme rs3742330 révèle une distribution des fréquences génotypiques et alléliques hétérogènes entre les deux groupes. En effet, le génotype homozygote sauvage AA est le plus fréquent chez les femmes OPK et les témoins (81,82% pour les patientes et 100% pour les témoins). Le génotype hétérozygote AG est inexistant chez les témoins mais il est bien présent chez les patientes avec une fréquence de 18,18%. Un fait remarquable est que dans les deux groupes d'étude (témoins et patients), le génotype homozygote muté GG est inexistant. Nous pouvons donc dire, à première vue, que les fréquences génotypiques et alléliques présentent une certaine hétérogénéité entre les patientes et les témoins.

De même que pour les génotypes, la distribution des fréquences alléliques calculées paraît aussi différente entre patientes et témoins. En effet, chez les témoins, l'allèle sauvage A est bien le seul à être présent. Par contre, chez les patientes OPK, l'allèle muté est bien présent, mais à une fréquence faible de 9,10%.

Tableau VI : Résultats de l'analyse statistique de l'effet du polymorphisme.

	Témoins n	%	Patientes n	%	OR	P	
AA	100		81,82		-	-	
	14		09				
AG	00,00		18,18		0,525 (0,214-1,286)	0,1560	n.s
	000		02				
GG	00,00		00,00		/	/	
	000		000				
AG+GG	00,00		18,18		0,525(0,214-1,286)	0,1560	n.s
	000		02				
Allèle A	100		90,90		-	-	
	28		20				
Allèle G	00,00		9,10		0,699(0,412-1,185)	0,1886	n.s
	000		02				

Nous avons évalué, en premier lieu, la valeur de l'équilibre de Hardy-Weinberg pour nos deux cohortes ; femmes atteintes du SOPK et témoins supposés sains pour le polymorphisme étudié. Nous avons obtenu une valeur p de **0,740** pour les femmes OPK, supérieure à 0,05 ce qui suppose que l'équilibre de Hardy-Weinberg est respecté pour cette cohorte. Malheureusement, pour les témoins, nous avons obtenu une valeur non calculable pour l'évaluation de cette équilibre. Cela est dû probablement au fait de l'impossibilité de calculer cette équilibre en l'absence de représentativité des génotypes hétérozygote et homozygote muté.

Une fois les fréquences génotypiques et alléliques calculées, nous avons procédé à l'analyse statistique des données obtenues. Après le calcul de l'OR et de la valeur p ; toutes les différences de distribution génotypiques et alléliques observées ne sont pas statistiquement significatives. Ces résultats suggèrent que le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1* ne constitue pas un facteur de risque du dysfonctionnement étudié, et ce du moins dans notre population d'étude. Malheureusement, les tailles très réduites de nos cohortes des patientes OPK (11 femmes) et des témoins (14 femmes), ne permettent pas de tirer des conclusions claires concernant la distribution de ce polymorphisme dans la population générale algérienne, ni son implication dans la développement du syndrome OPK.

Le gène *DICER1* est un gène exprimé de manière ubiquitaire. Il code la protéine DICER1, une ribonucléase (RNase) participant dans la régulation de l'expression de plusieurs gènes. Dans le cytoplasme, elle coupe les précurseurs de miARN en miARN matures, petits ARN double brin d'environ 22 nucléotides compétents pour inhiber l'expression de leurs gènes cibles en s'hybridant à leurs ARNm. Ceci emmène à un blocage de leur traduction en protéine ou un clivage de l'ARNm. Néanmoins, des prospections récentes suggèrent que des miARN peuvent aussi être produits par une voie indépendante de DICER1 (**Treiber et al., 2019**). Une dérégulation des miARN suite à des mutations diverses du gène *DICER1* a été observée dans de nombreuses pathologies et cancers (**figure 14**). Dans ce qui est appelé le syndrome DICER par exemple, les patients sont porteurs hétérozygotes au niveau constitutionnel d'un variant « pathogène » du gène *DICER1* conduisant habituellement à une perte d'activité complète de la protéine. Au niveau tumoral, on contemple une inactivation du deuxième allèle qui est le plus souvent incomplète et causée par un variant faux-sens entraînant un permutation d'acide aminé dans le domaine RNase IIIb de la protéine DICER1 (**De Cauwer et al., 2012**).

Plus rarement, l'inactivation est complète par perte d'hétérozygotie. Ces variants dans le domaine RNase IIIb entraînent la perte de l'activité RNase IIIb, tandis que l'activité RNase IIIa reste fonctionnelle. La croissance tumorale en cause serait donc liée à un déséquilibre en brins de miARN matures lié à cette perte relative d'activité RNase, les domaines RNase IIIa et IIIb clivant chacun un brin distinct des précurseurs de miARN (De Cauwer *et al.*, 2012 ; Heravi-Moussavi *et al.*, 2012).

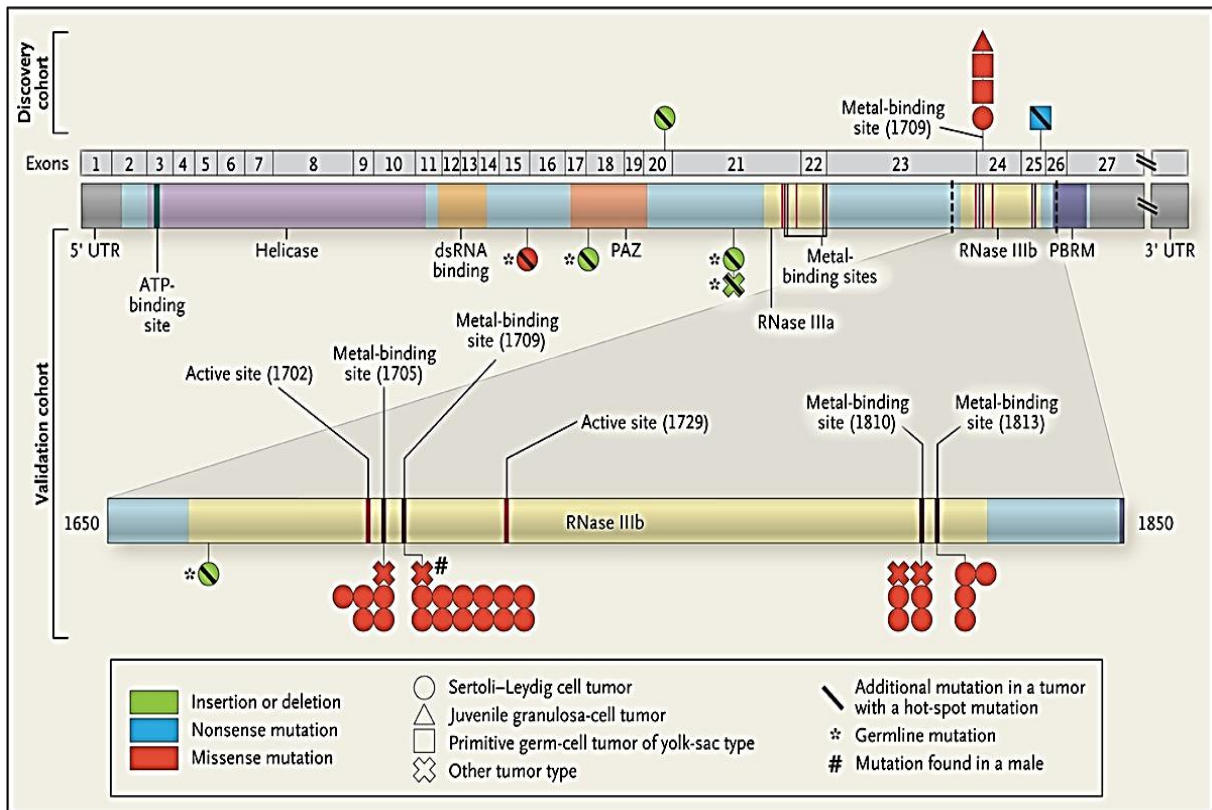


Figure 14 : Liste des mutations pathogènes répertoriées du gène *DICER1* (Heravi-Moussavi *et al.*, 2012).

Par ailleurs, de nombreuses prospections récentes ont dévoilé que la protéine DICER1 a des activités autres que la maturation des miARN. Elle agit particulièrement au niveau nucléaire de multiples manières : elle est engagée dans la voie dite de l'ARN interférence, en empêchant au niveau du promoteur la transcription de certains gènes en ARN messagers, elle est impliquée dans la voie de dégradation des ARN double brin endogènes produits par la transcription bidirectionnelle de régions génomiques. Aussi, elle a un rôle dans le maintien de l'intégrité du génome, en aidant à l'identification des cassures double brin de l'ADN par les systèmes de réparation de l'ADN et dans la maintenance des télomères (Kaneko *et al.*, 2011).

Dans le cytoplasme, elle participe à la dégradation d'ARN double brin produits par la transcription de séquences Alu, éléments répétés dans le génome (**Pong *et al.*, 2018**). Un excès de ces ARN double brin a même été associé à la dégénérescence maculaire liée à l'âge, conséquence de la toxicité des ARN double brin sur l'épithélium pigmenté de la rétine (**Kaneko *et al.*, 2011**).

À notre connaissance, après une recherche bibliographique rigoureuse, cette étude est la première menée en Algérie sur le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1*, et ce indépendamment du dysfonctionnement étudié. C'est ainsi donc la première ayant exploité l'implication de ce polymorphisme dans le développement du syndrome des ovaires polykystiques. En conséquence, la distribution réelle du variant allélique muté G pour ce gène dans la population générale algérienne demeure inconnue.

De par le monde, et après exploration des bases de données scientifiques (PubMed, Embase et Google Scholar), nous avons constaté que le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1* a été exploré essentiellement pour son implication potentielle dans le développement de certaines pathologies cancéreuses. En effet, 729 études ont été recensées sur PubMed en utilisant comme mots clefs de recherche : *DICER1* et cancer. Les investigations concernant son implication dans les dysfonctionnements reproductifs sont très rares. Nous n'avons recensé que 3 articles ayant évoqué le rôle potentiel de ce polymorphisme dans les avortements spontanés à répétition (**Arias-Sosa *et al.*, 2018 ; Mohseni et Ghorbian, 2018 ; Ghasemi *et al.*, 2020**), ainsi que deux publications sur les infertilités masculines idiopathiques (**Qin *et al.*, 2012 ; Moghbelinejad *et al.*, 2012**). Dans une seule étude, l'incrimination de ce polymorphisme dans le développement du syndrome OPK a été évoqué; il s'agit d'une étude construite sur le modèle cas-témoins et qui a été menée en 2018 par *Mohseni et Ghorbian* sur une population de femmes iraniennes souffrant de pertes de grossesses inexplicables (**Mohseni et Ghorbian, 2018**).

Le polymorphisme d'intérêt sur le gène *DICER1* est localisé dans la région non traduite 3' du gène. Ce variant a une signification possible pour la stabilité de la transcription de l'ARNm. Il contient plusieurs sites pour la régulation des miARN cibles, la modification des histones, la méthylation de l'ADN et la liaison aux facteurs de transcription. Il n'existe aucune preuve directe démontrant que le SNP rs3742330 du gène *DICER1* est lié à une altération de la stabilité de l'ARNm. Cependant, la région dans laquelle le polymorphisme rs3742330 est localisé a été définie comme étant le site cible de liaison de deux mi-ARN : hsa-miR-5582-5p et miR-3622a-5p (**Oz *et al.*, 2018**).

Une analyse *in silico* de la liaison des microARN et de prédiction de la fonction a été réalisée par modélisation computationnelle. Cette investigation suggère que le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1* se situe dans la séquence cible potentielle de hsa-miR-632 dans la région DICER 3'UTR. L'allèle G muté pourrait réduire l'affinité de la liaison microARN-ARNm en perturbant la structure locale de l'ARNm de *DICER1*, conduisant éventuellement une expression accrue de la protéine DICER1 (Song *et al.*, 2017) (figure 15).



Figure 15 : Analyse *in silico* de la liaison des microARN au gène *DICER1* (Song *et al.*, 2017).

À l'heure actuelle, malgré la masse des connaissances acquises dans le domaine de la génétique des troubles reproductifs, la physiopathologie du syndrome des ovaires polykystiques reste complexe et reflète des interactions potentielles entre les facteurs génétiques, métaboliques, fœtaux et environnementaux (Daniel, 2015).

Au niveau hypothalamo-hypophysaire, les patients atteints de SOPK présentent des anomalies de sécrétion de gonadotrophine, y compris une augmentation de l'amplitude et de la fréquence du pulse de LH et une augmentation des taux circulants de LH, plus évidents chez les patientes non obèses, tandis qu'au niveau ovarien, les follicules présentent une résistance relative à l'hormone folliculostimulante, qui, en partie, peut être intrinsèque au trouble. La résistance à l'insuline et l'hyper-insulinémie compensatrice jouent un rôle critique dans la physiopathologie du SOPK. L'excès d'insuline, agissant en synergie avec la LH, stimule la production d'androgènes par les cellules de la thèque ovarienne et l'excès d'androgènes supprime la production hépatique de globuline liant les hormones sexuelles. Ces deux facteurs favorisent le développement de l'hyperandrogénie (Aziz, 2018).

L'expression de la protéine DICER1 est régulée en baisse dans les adipocytes de patientes atteintes de SOPK. Le dysfonctionnement dans le niveau d'expression et/ou l'activité de la protéine DICER1 joue probablement un rôle important dans l'obésité des patientes atteintes de SOPK (Qin *et al.*, 2019). Alors, comme nous l'avons déjà mentionné, il n'existe pas d'études précises sur le polymorphisme rs3742330 du gène *DICER1* en relation avec le SOPK. Dans une étude récente sur la prééclampsie qui est une complication médicale courante de la grossesse associée à des morbidité et mortalité de la mère et du nouveau-né, DICER1 a été identifié dans les cellules trophoblastiques car il s'agit d'une molécule critique dans la biogénèse des miARN. Le polymorphisme rs3742330 et l'expression de l'ARNm placentaire de *DICER1*, a été associé au risque de la prééclampsie. En effet, le génotype placentaire *DICER1* rs3742330 AG était associé à un risque deux fois plus élevé de prééclampsie légère. Par contre, le génotype homozygote muté GG a été associé à un risque plus important, d'environ trois fois plus élevé, de prééclampsie sévère (Eskandari *et al.*, 2018).

En ce qui concerne notre recherche bibliographique sur les ARN non-codants, nous avons constaté que ces derniers participent à la régulation post-transcriptionnelle de nombreux gènes, et de ce fait, peuvent être impliqués dans de nombreux dysfonctionnements et pathologies. Plusieurs études récentes réalisés sur le SOPK ont pu analyser dans le sérum (Sorensen *et al.*, 2014 ; Ding *et al.*, 2015) et dans le liquide folliculaire (Roth *et al.*, 2014) le profil des micro ARN. Des différences significatives ont été notées pour certains miARN associés au contrôle des gènes impliqués dans la synthèse des androgènes, l'inflammation, l'adipogenèse et la signalisation de l'insuline, pouvant donc logiquement s'intégrer dans la physiopathologie du syndrome OPK (Murri *et al.*, 2013 ; Ilie *et al.*, 2015). Comme cité précédemment dans le volet bibliographie, des recherches ont démontré que deux micro ARN semblent intéressants comme biomarqueurs dans le SOPK l'un (miR-222) corrélé positivement à l'insulinémie et l'autre (miR-146a) corrélé négativement à la testostéronémie (Long *et al.*, 2014).

Conclusion
et
Perspectives

Le syndrome des ovaires polykystiques est l'un des troubles hormonaux féminins les plus communs. Ses facettes multiples : reproductifs, métaboliques, néoplasiques et cardiovasculaires, ont un impact majeur sur la santé publique. L'excédent d'androgène et la résistance à l'insuline, vraisemblablement d'origine génétique, sont au fondement d'une grande part du tableau clinique. La résistance à l'insuline associée au SOPK semble s'accompagner davantage de menace d'intolérance au glucose, de diabète de type 2, d'anomalies du profil lipidique et peut conduire au développement d'affections cardiovasculaires. L'infertilité, les troubles des règles et l'hirsutisme poussent habituellement ces patientes à consulter.

Le SOPK est extrêmement répondeur, même si sa fréquence réelle en Algérie est mal estimée. Il s'agit d'une pathologie, d'apparence anodine, mais particulièrement dangereuse à long terme, et malheureusement trop souvent ignorée par les patientes comme par les médecins. La prise en charge thérapeutique est multidisciplinaire et doit comprendre les volets diététique, endocrinologique et gynécologique. Une compréhension améliorée des mécanismes physiopathologiques a conduit ces dernières années à l'apparition de nouvelles options thérapeutiques accroissant la sensibilité à l'insuline. En dehors du désir de grossesse qui est souvent le premier motif de consultation, la prise en charge vise à réduire les effets de l'hyperandrogénie et à corriger les facteurs de risques cardiovasculaires, respiratoires et gynécologiques. En cas d'infertilité par anovulation, la prise en charge devra être assurée par des praticiens entraînés en minimisant le risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne et de grossesse multiple. Encore faut-il diagnostiquer ce syndrome et le prendre en charge, ce qui n'est pas toujours le cas malheureusement. Une meilleure connaissance des mécanismes physiopathologiques du SOPK devrait permettre, d'en percer les secrets et de proposer aux femmes qui en sont atteintes des approches thérapeutiques plus novatrices et plus efficaces.

Un faisceau de preuves disponibles actuellement suggère que le SOPK pourrait être héréditaire et de multiples études ont été menées pour tenter d'isoler une cause génétique. Dans des cas exceptionnels, l'altération au niveau d'un seul gène a permis de reproduire le phénotype OPK, néanmoins, l'ensemble des données scientifiques disponible sur cette thématique, plaident plutôt pour un désordre multigénique complexe. Les gènes candidats pourraient être régulateurs de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien, ou bien entraîner une résistance à l'insuline. Des analyses moléculaires sur les tissus cibles de patientes OPK ont permis de reconnaître certains gènes candidats dont la majorité paraissent participer modestement à ce phénotype.

Parmi ces gènes, on peut citer le cytochrome P-450c17 (CYP17), l'enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol (CYP11A), la 21 hydroxylase (CYP21), le récepteur aux androgènes, la SHBG, le récepteur à l'insuline, l'insuline, les protéines substrats du récepteur de l'insuline, la calpaïne-10, les PPAR, l'IGF et son récepteur. Même si des prospections ont rapporté ces associations par des modèles statistiques, certains chercheurs ont supposé que l'existence d'un tel lien entre le rôle de ces gènes et les symptômes du SOPK pourrait être dues au hasard. Devant l'échec de l'hypothèse monogénique, d'autres scientifiques se sont orienté vers un concept d'unicité en imputant ce trouble au chromosome 19, porteur (entre autres) du gène du récepteur de l'insuline et de la follistatine. Des études sur un grand nombre de patientes devraient donc être réalisées avant toute conclusion.

Le recours à la génomique et la protéomique est devenu plus fréquent au cours des dernières années afin d'identifier de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la pathophysiologie du SOPK. Ces approches constituent des outils attrayants pour essayer d'éclaircir le mécanisme de la pathologie. Les échantillons utilisés dans ces recherches sont essentiellement le liquide folliculaire, les cellules et les tissus ovariens. À travers une approche de comparaison d'échantillons provenant de femmes saines et de patientes OPK, de nombreuses études ont trouvé des différences significatives au niveau de l'expression de certains gènes impliqués dans la voie de signalisation de l'insuline, ainsi qu'au niveau des protéines associées à la régulation de processus physiologiques, cellulaires et métaboliques. D'autres voies de signalisation dans lesquelles des gènes différemment exprimées ont été repérées impliquent la fibrinolyse, la thrombose et la réponse immunitaire...etc.

L'étude des miARN peut s'inscrire dans une approche complémentaire de celle de l'ADN (génomique), des ARNm (transcriptome) et des protéines (protéome). D'ailleurs, on parle actuellement de « miRnome ». Ces miARN sont plus directement représentatifs de l'activité génomique cellulaire. Les acteurs de la voie des miARN ont été impliqués ces dernières années dans un large éventail de maladies. Dans le cas du SOPK, il a été démontré qu'il existe des mi-ARN associés au contrôle de gènes impliqués dans la synthèse des androgènes, l'adipogenèse et la signalisation de l'insuline. Dans ce contexte de ferveur scientifique à l'égard de ces molécules, nous nous sommes intéressé au rôle potentiel de l'un des acteurs clés de cette voie, le gène *DICER1*, dans la genèse du syndrome des ovaires polykystiques sur une population de femmes issues de la région de Constantine.

Malheureusement, avec l'avènement de la crise sanitaire liée au Covid-19, la restriction de l'accès au lieu du stage, le manque de réactifs, nous a grandement restreint dans la réalisation du volet pratique de notre étude. En effet, la taille réduite de notre population d'étude ne permet pas de tirer des conclusions claires quant à l'implication de ce polymorphisme A/G du gène *DICER1* dans genèse du SOPK.

Les études génomiques et protéomiques réalisées à ce jour ont engendré une liste assez étendue de gènes potentiellement associées au SOPK. Ces données requièrent une interprétation fiable car, jusqu'à ce jour, il n'existe pas d'hypothèse unificatrice unique qui explique la physiopathologie du SOPK. Ces études offrent la possibilité de mettre en place des biomarqueurs potentiels du SOPK qui pourront aider à classifier des sous-ensembles de cette entité pathologique et à développer par la suite des interventions et des traitements personnalisés plus adaptés aux patientes concernées. Les enjeux en termes de politique de santé sont de taille. On peut penser que la découverte de nouveaux gènes de susceptibilité ouvrira la voie à de nouvelles thérapeutiques et à la mise en place d'études de prévention, qui viseront à préserver la fécondité, à atténuer les conséquences préjudiciables de l'hyperandrogénie et à contrôler l'évolution du syndrome métabolique.

Après la réalisation de ce modeste travail de recherche et la synthèse des données disponibles sur cette thématique, plusieurs perspectives d'avenir peuvent être proposées :

- La mise en place d'enquêtes épidémiologiques multicentriques à l'échelle nationale pour avoir une idée réelle sur la prévalence de cette pathologie en Algérie. Dans cette démarche, il ne faudra pas perdre de vue que l'essentiel des femmes avec un SOPK sont prises en charge au niveau de cabinets de gynécologies privés. La réalisation d'une enquête épidémiologique nationale à grande échelle pourrait mettre en évidence des facteurs étiologiques spécifiques à la population algérienne.
- Informer et sensibiliser les femmes algérienne à l'influence de ce syndrome sur leurs santé et la nécessité d'une prise en charge multidisciplinaire. Cela pourrait être accompagné par la mise en place, au niveau des structures de santé publique de proximité (EPHP) de cellules d'accueil et d'orientation composées de médecins et de nutritionnistes pour s'assurer d'une prise en charge gratuite pour les femmes OPK.
- Conduire des études génétiques familiales et moléculaires visant à définir le profil génétique de susceptibilité aux SOPK des femmes algériennes. Cela pourra déboucher sur la mise en place de marqueurs spécifiques de cette pathologie permettant un dépistage à un âge précoce (dès l'adolescence).

Références bibliographiques

1. **ARIAS-SOSA LA, ACOSTA ID, LUCENA-QUEVEDO E et al.** 2018. Genetic and epigenetic variations associated with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 35(3), 355-366.
2. **ASTAPOVA O, MINOR BM. N et HAMMES SR.** 2019. Physiological and Pathological Androgen Actions in the Ovary. *Endocrinology*. 160(5) : 1166-1174.
3. **AZZIZ R.** 2018. Polycystic Ovary Syndrome. *Obstetrics & Gynecology*. 132(2) : 321-336.
4. **AZZIZ R, CARMINA E, DEWAILLY E et al.** 2006. Position statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome : an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Meta.* 91 : 4237-4245.
5. **BACHELOT A.** 2016. Le syndrome des ovaires polykystiques : diagnostic clinique et biologique. *Ann Biol Clin.* 74(6) : 661-7.
6. **BAHRI K.** 2017. Prise en charge des ovaires polykystiques. Thèse doctorat en médecine. *En ligne.* Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH - Maroc.
7. **BUDI WIWEKO.** 2011. Relation between *CYP17* Polymorphism and Hyperandrogenemia in Polycystic Ovarian Syndrome. *Indonesian Journal of Obstetrics and Gynecology.* 35 : 1.
8. **CHANDRA G, SELVARAJ P, REETHA AM et al.** 2003. *BamH1* polymorphism of Human Cytochrome P450 gene, CYP2D6, in quiescent and relapse patients of pulmonary tuberculosis. *Biomedicine.* 23(1&2) : 27-32.
9. **CHEHIN MB, FRAIETTA R, LORENZON A et al.** 2020. The insulin signaling pathway is dysregulated in cumulus cells from obese, infertile women with polycystic ovarian syndrome with an absence of clinical insulin resistance. *Therapeutic Advances in Reproductive Health.* 14: 263349412090686.
10. **CHEUNG AP.** 2010. Syndrome des ovaires polykystiques : Point de vue contemporain. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada.* 32 (5) : 426-8.
11. **CLERGET G, BOURGUIGNON-IGEL V, REDERSTORFF M et al.** 2015. Alcoholic precipitation of small non-coding RNAs. In *Small Non-Coding RNAs* (pp. 11-16). Humana Press, New York, NY.
12. **COUSSIEU C.** 2004. Exploration de la fonction de reproduction versant féminin. *Cahier de formation Biologie Médicale N°30. Bioforma.* ISBN : 2-913-633-41-2.
13. **DANIEL A, DUMESIC , SHARON E et al.** 2015. Scientific Statement on the Diagnostic Criteria, Epidemiology, Pathophysiology, and Molecular Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine Reviews.* 36(5) : 487-525.
14. **DAVID P. BARTEL.** 2009. MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Elsevier Inc.*

15. **DE CAUWER A, MARIOTTE A, SIBILIA J et al.** 2018. DICER1: A key player in rheumatoid arthritis, at the crossroads of cellular stress, innate immunity, and chronic inflammation in aging. *Front Immunol.* 9 : 1647.
16. **DE LEO V, MUSACCHIO M. C, CAPPELLI V et al.** 2016. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS : an update. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 14(1).
17. **DERRIEN T et GUIGO R.** 2011. Des longs ARN non codants humains activateurs de la transcription des gènes. Long non-coding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Médecine/Sciences. EDP Sciences.* 27(4) : 359-61.
18. **DI LEVA, G, GAROFALO M, CROCE CM et al.** 2014. MicroRNAs in cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 9 : 287-314.
19. **DIAMANTI-KANDARAKIS E et DUNAIF A.** 2012. Insulin Resistance and the Polycystic Ovary Syndrome Revisited: An Update on Mechanisms and Implications. *Endocrine Reviews.* 33(6) : 981-1030.
20. **DIARRA Z.** 2019. kamatetumeurs de l'ovaire : aspects épidémiologiques et anatomopathologiques. thèse de doctorat en médecine. *En Ligne.* Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako- Mali.
21. **DING CF, CHEN WQ, ZHU YT, Bo YL, Hu HM et al.** 2015. Circulating microRNAs in patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Fertil (Camb).* 18 : 22-9.
22. **DJEBIEN S.** 2019. Les Ovaires . *Histologie -2^{ème} année médecine.*
23. **DONG H, ZHANG B, SHI PY et al.** 2008. Terminal structures of West Nile virus genomic RNA and their interactions with viral NS5 protein. *Virology.* 381(1) : 123-135.
24. **DUNAIF A.** 2016. Perspectives in Polycystic Ovary Syndrome: From Hairto Eternity. *J Clin Endocrinol Metab .*101(3) : 759-768.
25. **DURAN J et WELT C.** 2014. Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. *Seminars in Reproductive Medicine.* 32(03) : 177-182.
26. **ECKEL RH, GRUNDY SM et ZIMMET PZ.** 2005. The metabolic syndrome. *Lancet.* 365 : 415-1428146.
27. **ESCOBAR-MOREALLE HF.** 2018. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology.* 14(5) : 270-284.
28. **ESKANDARI F, TEIMOORI B, REZAEI M et al.** 2018. Relationships between Dicer 1 polymorphism and expression levels in the etiopathogenesis of preeclampsia. *Journal of Cellular Biochemistry.* 119(7) : 5563-5570.

29. **ESTIENNE A, BONGRANI A, REVERCHON M et al.** 2019. Involvement of Novel Adipokines, Chemerin, Visfatin, Resistin and Apelin in Reproductive Functions in Normal and Pathological Conditions in Humans and Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(18) : 4431.
30. **EVANTHIA DIAMANTI-KANDARAKIS.** 2008. Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert reviews* <http://www.expertreviews.org/> in molecular medicine. 10 : e3.
31. **EWENS KG, STEWART DR, ANKENER W et al.** 2010. Family-based analysis of candidate genes for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 95(5) : 2306-2315.
32. **FENICHEL P, ROUGIER C, HIERONIMUS S et al.** 2017. Which origin for polycystic ovaries syndrome: genetic, environmental or both?. In *Annales d'endocrinologie*. 78(3) : 176-185. Elsevier Masson.
33. **GHASEMI, M, REZAEI M, YAZDI A et al.** 2020. The effects of DICER1 and DROSHA polymorphisms on susceptibility to recurrent spontaneous abortion. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 34(3) : e23079.
34. **GOURBESVILLE C, KERLAN V et REZNIK Y.** 2019. Le syndrome des ovaires polykystiques: quelles nouveautés en 2019?: Keeping up with PCOS in 2019. In *Annales d'Endocrinologie* (Vol. 80 : S29-S37). Elsevier Masson
35. **HERAVI-MOUSSAVI A, ANGLÉSIO MS, CHENG SW et al.** 2012. Recurrent somatic DICER1 mutations in nonepithelial ovarian cancers. *N Engl J Med*. 366(3) : 234-42.
36. **HONG S, HONG Y S, JEONG K et al.** 2020. Relationship between the characteristic traits of polycystic ovary syndrome and susceptibility genes. *Scientific reports*. 10(1) : 1-8.
37. **ILIE IR et GEORGESCU CE.** 2015. Polycystic ovary syndrome-epigenetic mechanisms and aberrant MicroRNA. *Adv Clin Chem*. 71 : 25-45.
38. **ISNARD V, PAILLET S, PATIN V et al.** 2018. Stimulation ovarienne sous gonadotrophines chez des patientes atteintes de syndrome des ovaires polykystiques. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*. 47(1) : 44-53.
39. **KANEKO H, DRIDI S, TARALLO V et al.** 2011. DICER1 deficit induces Alu RNA, toxicity in age-related macular degeneration. *Nature*. 471(7338) : 325-30.
40. **JONARD S et DEWAILLY D.** 2002. Syndrome des ovaires polykystiques : apports récents de la génétique . *Gynécol Obstét Fertil*. 30 : 603-9.
41. **JONES MR et GOODARZI MO.** 2016. Genetic determinants of polycystic ovary syndrome: progress and future directions. *Fertility and Sterility*. 106(1) : 25-32.

42. **KAMINA P, DEMONDION X, RICHER JP et al.** 2003. Anatomie clinique de l'appareil génital féminin. Encycl. Méd Chir. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris. *Gynécologie*. 10 : A10.
43. **KAWAJI H, NAKAMURA M, TAKAHASHI Y et al.** 2008. Hidden layers of human small RNAs. *BMC genomics*. 9(1) : 157.
44. **KIM H, ABEYSIRIGUNAWARDEN SC, CHEN K et al.** 2014. Protein-guided RNA dynamics during early ribosome assembly. *Nature*. 506(7488) : 334-338.
45. **KOSOVA G et URBANEK M.** 2013. Genetics of the polycystic ovary syndrome. *Molecular and cellular endocrinology*. 373(1-2) : 29-38.
46. **KOZOMARA A, BIRGAOANU M, GRIFFITHS-JONES S et al.** 2019. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*. 47(D1) : D155-D162.
47. **LAU PW, GUILLEY KZ, DE N et al.** 2012. The molecular architecture of human Dicer. *Nature Structural & Molecular Biology*. 19(4) : 436-440.
48. **LIAO J, YU L, MEI Y et al.** 2010. Small nucleolar RNA signatures as biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Molecular cancer*. 9(1) : 198.
49. **LONG W, ZHAO C, JI C et al.** 2014. Characterization of serum microRNAs profile of PCOS and identification of novel non-invasive biomarkers. *Cell Physiol Biochem*. 33 : 1304-15.
50. **MARQUEZ JL, PACHECO A, VALDES P et al.** 2008. Association between CAPN10UCSNP-43 gene polymorphism and polycystic ovary syndrome in Chilean women. *Clin. Chim. Acta*. 398 : 5-9 .
51. **MATHIEU E, BELHOCINE M, LAN TM et al.** 2014. Functions of lncRNA in development and diseases. *Médecine/Sciences*. 30 : 790-6 .
52. **MERVIEL P, BOUEE S, MENARD M et al.** 2017. Which ovarian stimulation to which women: The polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecologie, obstetrique, fertilité & sénologie*. 45(11) : 623.
53. **MILLER SA, DYKES DD, POLESKY H F et al.** 1988. A Simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16(3) : 1215.
54. **MOGHBELINEJAD, S, NAJAFIPOUR R., MOMENI, A et al.** 2018. Association of rs1057035 polymorphism in microRNA biogenesis pathway gene (DICER1) with azoospermia among Iranian population. *Genes & genomics*. 40(1) : 17-24.
55. **MOHSENI N et GHORBAN S.** 2018. Study of the association between Dicer (rs3742330 A> G) and Drosha (rs10719 C> T) gene polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 22(2) : 169-176.

56. **MURCHISON EP, PARTRIDGE JF, TAM OH et al.** 2005. Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells. *The National Academy of Sciences of the USA*. vol. 102 no. 34 : 12135-12140.
57. **MURRI M, INSENER M, FERNANDEZ-DURAN E et al.** 2013. Effects of polycystic ovary syndrome (PCOS), sex hormones and obesity on circulating miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103 and miRNA-155 expression. *J Clin Endocrinol Metab.* 98 : E1835-44.
58. **NAIMI G.** 2019. Le syndrome des ovaires polykystiques et fertilité . thèse de doctorat en medecine. Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH. Faculte de Medecine et de Pharmacie - Maroc.
59. **ORBACH D, FAYARD C, FRÉNEAUX P et al.** 2016. Pleuropneumoblastome, tumeur de Sertoli-Leydig et autres maladies associées au spectre des mutations de DICER1. *Revue d'Oncologie Hématologie Pédiatrique.* 4(4) : 226-236.
60. **OZ M, KARAKUS S, YILDIRIM M et al.** 2018. Genetic variants in the microRNA machinery gene (Dicer) have a prognostic value in the management of endometrial cancer. *Journal of cancer research and therapeutics.* 14(6) : 1279.
61. **PEIGNE M, VILLERS-CAPELLE A, ROBIN G et al.** 2013. Hyperandrogénie féminine. *La Presse Médicale.* 42(11) : 1487-1499.
62. **PLANTE P.** 2005. Identification et étude des protéines pouvant lier et être régulées par la ribonucléase dicer chez la levure *schizosaccharomyces pombe*. Mémoire de maîtrise en biologie cellulaire et moléculaire. *En Ligne.* Université de Laval Québec - Canada.
63. **PONG SK, GULLEROVA M.** 2018. Noncanonical functions of microRNA pathway enzymes -Drosha, DGCR8, Dicer and Ago proteins. *FEBS Lett.* 592(17) : 2973-86.
64. **PUCCI L, LUCCHESI D, LONGO V et al.** 2010. Lack of association between *CYP21* V281L variant and polycystic ovary syndrome in Italian women. *Gynecological Endocrinology.* 26(8) : 596-599.
65. **PUNDIR J, PSAROUDAKIS D, SAVNUR P et al.** 2018. Inositol treatment of anovulation in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of randomised trials. *BJOG.* 125 : 299-308.
66. **QIN, Y, XIA, Y, WU et al.** 2012. Genetic variants in microRNA biogenesis pathway genes are associated with semen quality in a Han-Chinese population. *Reproductive BioMedicine Online.* 24(4) : 454-461.
67. **QIN L, CHEN J, LI T et al.** 2019. Significant Role of Dicer and miR-223 in Adipose Tissue of Polycystic Ovary Syndrome Patients. *Hindawi BioMed Research International.*

68. **OZ M, KARAKUS S, YILDIRIM M et al.** 2018. Genetic variants in the microRNA machinery gene (Dicer) have a prognostic value in the management of endometrial cancer. *Journal of cancer research and therapeutics*. 14(6) : 1279.
69. **REYSS AC, PROUST-RICHARD C, CATTEAU-JONARD S et al.** 2008. Le consensus de Rotterdam appliqué à l'adolescente : quels examens prescrire et comment les interpréter pour établir le diagnostic de SOPK ?. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 34 : 341-346.
70. **ROTH LW, MCCALLIE B, ALVERO R et al.** 2014. Altered microRNA and gene expression in the follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet*. 31 : 355-62.
71. **RUAN Y, MA J, et XIE X.** 2012. Association of *IRS-1* and *IRS-2* genes polymorphisms with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. *Endocrine Journal*. 59(7) : 601-609.
72. **SCOTT-BOYER MP.** 2009. Annotation des ARN non codants du génome de *Candida albicans* par méthode bioinformatique . Mémoire de maîtrise en bio-informatique. *En Ligne*. Université de Montreal - Canada.
73. **SERMONDADE N, DUPONT C, MASSART P et al.** 2013. Influence du syndrome des ovaires polykystiques sur la qualité ovocytaire et embryonnaire. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 41(1) : 27-30.
74. **SHAABAN Z, KHORADMEHR A, JAFARZADEH SHIRAZI MR et al.** 2019. Pathophysiological mechanisms of gonadotropins- and steroid hormones-related genes in etiology of polycystic ovary syndrome. *Iran J Basic Med Sci*. 22 : 3-1.
75. **SHECHNER DM, GRANT RA, BAGBY SC et al.** 2009. Crystal structure of the catalytic core of an RNA-polymerase ribozyme. *Science*. 326(5957) : 1271-1275.
76. **SHEN W, LI T, HU Y et al.** 2013. Calpain-10 genetic polymorphisms and polycystic ovary syndrome risk: A meta-analysis and meta-regression. *Gene*. 531(2) : 426-434.
77. **SIRMANS S et PATE K.** 2013. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clinical Epidemiology*. (6) : 1.
78. **SONG X, ZHONG H, WU Q et al.** 2017. Association between SNPs in microRNA machinery genes and gastric cancer susceptibility, invasion, and metastasis in Chinese Han population. *Oncotarget*. 8(49) : 86435.
79. **SORENSEN AE, WISSING ML, SALO S et al.** 2014. MicroRNAs related to polycystic ovary syndrome (PCOS). 5 : 684-708.
80. **SZYDLARSKA D, MACHAJ M et JAKIMIUK A.** 2017. History of discovery of polycystic ovary syndrome. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 26(3) : 555-558.

81. **TAFT R, SIMONS C, NAHKURI S et al.** 2010. Nuclear-localized tiny RNAs are associated with transcription initiation and splice sites in metazoans. *Nature Structural & Molecular Biology*. 17(8) : 1030-1034.
82. **TREIBER T, TREIBER N, MEISTER G et al.** 2019. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 20(1) : 5-20.
83. **TRIMÈCHE S, THUAN JF et JEANDEL C.** 2004. Syndrome des ovaires polykystiques en période péripubertaire : polymorphisme clinique, biologique, métabolique et génétique. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*. 802-A-18.
84. **TORREA A et FERNANDEZA H.** 2007. Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) : état des connaissances. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 36 : 423-446.
85. **VALLERON W, YSEBAERT L, BERQUET L et al.** 2012. Small nucleolar RNA expression profiling identifies potential prognostic markers in peripheral T-cell lymphoma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 120(19) : 3997-4005.
86. **WANG F, PAN J, LIU Y et al.** 2015. Alternative splicing of the androgen receptor in polycystic ovary syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112(15) : 4743-4748.
87. **YOUNG J, GOUGEON A et SCHAISON G.** 1999. Le cycle ovarien. *Médecine/Sciences*. 15 : 183-90.
88. **ZHANG HY, GUO CX, ZHU FF et al.** 2013. Clinical characteristics, metabolic features, and phenotype of Chinese women with polycystic ovary syndrome: a large-scale case-control study. *Arch Gynecol Obstet*. 287 : 525-31.
89. **ZORANA D, SUZANA M, DENČIĆ TIJANA I et al.** 2020. Association between genetic variants in DICER1 and cancer risk: an updated meta-analysis. *Gene*. 145132.

Résumés

Molecular study of polycystic ovary syndrome (PCOS) in the region of Constantine: implication of *DICER1* gene polymorphism.

Abstract:

Poly-Cystic Ovary Syndrome (PCOS) is a fairly common endocrinopathy in women of childbearing age. Its pathophysiology is complex and reflects the interactions between genetic, metabolic, fetal and environmental factors. Insulin resistance plays a major role in PCOS. The resulting hyperglycemia, central obesity, hypertension and dyslipidemia are related to the metabolic syndrome. The multifactorial etiology of polycystic ovary syndrome is based on a complex genetic component, the mode of transmission of which may be autosomal dominant with variable penetrance. However, the analysis of several candidate genes has been promising and has implicated those encoding factors involved in the regulation and effects of androgens and others that are involved in insulin metabolism and the regulatory action of androgens and gonadotropins. Recently it has been shown that there are non-coding RNAs (mi-RNAs) associated with the control of genes involved in androgen synthesis, adipogenesis and insulin signaling.

In this context, after a literature review, we carried out a case-control molecular study aimed at contributing to the determination of the impact of the A/G polymorphism (rs3742330) of the *DICER1* gene (OMIM: 606241) in the genesis of Polycystic ovary syndrome in a population of women from the Constantine region.

The molecular study of this polymorphism carried out by PCR/digestion (RFLP) shows that in our patients, there is a predominance of the wild-type homozygous AA genotype (81.82%) followed by the heterozygous AG genotype (18.18%). However, in controls, we only found the wild-type homozygous genotype (100%). After performing chi-squared test and according to all comparison models, the differences in genotypic and allelic frequencies observed between patients and controls were statistically insignificant.

Unfortunately, the small size of our study population does not allow clear conclusions about the involvement of this polymorphism in the genesis of PCOS. It seems obvious to us that studying the involved molecules in the miRNA pathway in this dysfunction could contribute to a better understanding of its pathophysiology.

Keywords: polycystic ovary, genetic, non-coding RNA.

دراسة جزيئية لمتلازمة تكيس المبايض في منطقة قسنطينة: تأثير تعدد الأشكال لجين *DICER1*

الملخص:

تعد متلازمة المبيض المتعدد الكيسات (PCOS) من أمراض الغدد الصماء الشائعة لدى النساء في سن الإنجاب. الفيزيولوجيا المرضية معقدة وتعكس التفاعلات بين العوامل الوراثية والأبضية والجنينية والبيئية. تلعب مقاومة الأنسولين دورًا رئيسيًا في متلازمة تكيس المبايض. يرتبط ارتفاع السكر في الدم الناتج عن ذلك، والسمنة المركزية، وارتفاع ضغط الدم، وخلل الدهون في الدم بمتلازمة التمثيل الغذائي. يعتمد المسببات متعددة العوامل لمتلازمة المبيض المتعدد الكيسات على مكون وراثي معقد، قد يكون أسلوب انتقاله سائدًا وراثيًا مع تغلغل متغير. ومع ذلك، فإن تحليل العديد من الجينات المرشحة كان واعدًا وأدى إلى تورط عوامل الترميز التي تشارك في تنظيم وتأثيرات الأندروجينات وغيرها التي تشارك في استقلاب الأنسولين والإجراءات التنظيمية للأندروجين والجوناوتروبين. لقد ثبت مؤخرًا أن هناك حمض نووي ريبوي غير مشفر (mi-RNA) مرتبط بالتحكم في الجينات المشاركة في تخليق الأندروجين وتكوين الدهون وإشارات الأنسولين.

في هذا السياق، بعد مراجعة الأدبيات، أجرينا دراسة جزيئية لحالة وضبط تهدف إلى المساهمة في تحديد تأثير تعدد الأشكال (rs3742330) A/G لجين *DICER1* (OMIM: 606241) في نشأة متلازمة المبيض المتعدد الكيسات لدى نساء منطقة قسنطينة.

تظهر الدراسة الجزيئية لتعدد الأشكال لهذا الجين الذي تم إجراؤها بواسطة PCR / RFLP، أنه في مجموعة المرض هناك غلبة للنمط الجيني AA المهيمن متمثل النوع (81.82%) متبوعًا بالنمط الجيني متغاير النوع AG (18.18%). ومع ذلك، في الضوابط، وجدنا فقط النمط الجيني متمثل من النوع البري المهيمن (100%). بعد إجراء اختبار X^2 ، وفقًا لجميع نماذج المقارنة، كانت الفروق في الترددات الوراثية والأليلية الملاحظة بين المرضى والضوابط غير ذات دلالة إحصائية.

لسوء الحظ، لا يسمح الحجم الصغير لعينة دراستنا باستخلاص استنتاجات واضحة حول مشاركة تعدد الأشكال في نشأة متلازمة تكيس المبايض. يبدو واضحًا لنا أن دراسة تورط العناصر الجزيئية في مسار الحمض النووي الريبي غير المشفر في هذا الخلل الوظيفي يمكن أن تسهم في فهم أفضل لفيزيولوجيا المرض.

الكلمات المفتاحية: تكيس المبايض، علم الوراثة، الحمض النووي الريبي غير المشفر.

Année universitaire : 2019 - 2020

Présenté par : ALLATOU Racha Hasna
CHELLAT Asma

**Etude moléculaire du syndrome des ovaires polykystiques
dans la région de Constantine : implication du polymorphisme du gène *DICER1***

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Le Syndrome des Ovaires Poly-Kystiques (SOPK) est une endocrinopathie assez fréquente chez les femmes en âge de procréer. Sa physiopathologie est complexe et reflète les interactions entre les facteurs génétiques, métaboliques, fœtaux et environnementaux. La résistance à l'insuline joue un rôle de premier plan dans le SOPK. L'hyperglycémie qui en résulte, l'obésité centrale, l'hypertension et la dyslipidémie sont en relation avec le syndrome métabolique. L'étiologie multifactorielle du syndrome des ovaires polykystiques repose sur une composante génétique complexe dont le mode de transmission pourrait être autosomique dominant de pénétrance variable. Cependant, l'analyse de plusieurs gènes candidats a été prometteuse et a incriminé ceux codant pour des facteurs impliqués dans la régulation et les effets des androgènes et d'autres qui sont impliqués dans le métabolisme de l'insuline et l'action de régulation des gonadotrophines. Récemment il a été démontré qu'il existe des ARN non-codants (mi-ARN) associés au contrôle de gènes impliqués dans la synthèse des androgènes, l'adipogenèse et la signalisation de l'insuline.

Dans ce contexte, après une revue bibliographique, nous avons réalisé une étude moléculaire de type cas-témoins visant à contribuer à la détermination de l'impact du polymorphisme A/G (rs3742330) du gène *DICER1* (OMIM : 606241) dans la genèse du syndrome des ovaires polykystiques sur une population de femmes issues de la région de Constantine.

L'étude moléculaire de ce polymorphisme du gène *DICER1* réalisée par PCR/digestion (RFLP), montre que, chez nos patientes, il y'a une prédominance du génotype homozygote sauvage AA (81,82%) suivi par le génotype hétérozygote AG (18,18%). Cependant, chez les témoins, nous n'avons trouvé que le génotype homozygote sauvage (100%). Après réalisation du test du X^2 , selon tous les modèles de comparaisons, les différences des fréquences génotypiques et alléliques observées entre patients et témoins étaient statistiquement non significatives.

Malheureusement, la taille réduite de notre population d'étude ne permet pas de tirer des conclusions claires quant à l'implication de ce polymorphisme dans la genèse du SOPK. Il nous paraît évident que l'étude de l'implication des acteurs moléculaires de la voie des miARN dans ce dysfonctionnement pourrait contribuer à une meilleure compréhension de sa physiopathologie.

Mots-clefs : ovaires polykystiques, génétique, ARN non codant.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Président du jury : SATTA Dalila (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Dr REZGOUNE Mohamed Larbi (MC.A - UFM Constantine).

Examineur : SEMMAME Ouarda (MC-B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).