

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie animale

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 : Science biologique
Spécialité : Génétique

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Hypospadias et polymorphisme génique (implication du variant ID du gène *HLA G*)

Présenté par : LATRECHE Chahinez

Le 20/06/2022

SLIMANI Hawa

ZERTAL Rabab

Jury d'évaluation :

Encadrant : CHELLAT Djalila (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : GHARZOULI Razika (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : DAOUI Zeineb (MCB - Université Batna 2).

Année universitaire
2021 - 2022

Table des matières

Remerciements et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Rappel embryologique et anatomique

1. Généralités.....	3
2. Stade indifférencié.....	3
3. Stade différencié	4
4. Anatomie de la verge.....	5
4.1. Constitutions de la verge.....	5
4.1.1. Organes érectiles.....	6
4.1.2. Les enveloppes.....	6
5. Anatomie de l'urètre.....	7
6. Vascularisation et innervation.....	7

Chapitre 2 : Epidémiologie, classification et étiologie

1. Définition.....	9
2. Épidémiologie.....	9
3. Classification.....	9
Selon la position du méat urétral.....	9
Selon la classification de BARCAT.....	10
4. Anatomie pathologique.....	11
4.1. Description des lésions anatomiques au cours de l'hypospadias.....	11
5. Anomalies associées.....	13
6. Etiologie.....	13
Facteurs de risque génétique	13
Facteur de risque héréditaire.....	14

6.3. Facteurs de risque maternel.....	14
6.3.1. Un régime de grossesse.....	14
6.3.2. Poids de naissance.....	14
6.3.3. Age maternel.....	14
6.3.4. Autres facteurs de risque.....	14
Facteurs de risque environnementaux.....	15
Facteurs de risque endocriniens.....	15

Chapitre 3 : Génétique de l’hypospadias

1. Génétique moléculaire des hyospades.....	16
Gènes du développement des tubercules génitaux.....	16
2. Aspects moléculaires de l’hypo-virilisation.....	16
2.1. Dysgénésie testiculaire.....	16
2.2. Défauts de la biosynthèse des androgènes	17
2.3. Résistance aux androgènes.....	17
3. Epigénétique de l’hyospadias.....	18
4. Gène HLA-G.....	19
Structure et localisation de HLA-G	19
Expression d’HLA-G	20
Polymorphisme du gène HLA-G	20
Variations génétiques au locus HLA-G	20
Polymorphisme du gène HLA-G et maladies.....	20

Chapitre 4 : Diagnostic et traitement

1. Diagnostic.....	22
Exploration paraclinique	22
1.1.1. Exploration biologique.....	22
Exploration cytogénétique.....	22
Exploration morphologique.....	23
2. Traitement de l’hyospadias.....	23

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Type et lieu d'étude.....	24
2. Population d'étude.....	24
2.1. Population malade.....	24
2.2. Population témoin.....	24
3. Méthodes employées.....	24
3.1. Questionnaire.....	24
3.2. Prélèvement sanguin.....	24
Etude moléculaire.....	25
Extraction de l'ADN.....	25
3.3.2. Génotypage du gène HLA G.....	25
3.3.2.1. Amplification par PCR.....	25
4. Etude statistique	28

Résultats et discussion

1. Etude rétrospective... ..	30
Répartition des patients par année.....	30
Répartition des patients selon le type anatomique	30
Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge.....	31
Répartition des patients selon les malformations associées.....	32
2. Etude transversale de type cas-témoins	32
Répartition des hypospades selon le type anatomique.....	33
Répartition de la population selon l'âge	33
Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge.....	34
Répartition des patients en fonction de l'origine géographique.....	35
Répartition des patients selon le poids à la naissance	35
Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels (avortements).....	36
Répartition selon l'âge de la mère pendant de la grossesse.....	36
Répartition selon la profession du père (N=12)	37
Répartition selon le nombre de chirurgies pratiquées.....	38

3. Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme I/D du gène HLA-G.....	38
Répartition des patients et des témoins selon les fréquences génotypiques et alléliques.....	39
Conclusion et perspective.....	41
Références bibliographiques	42
Annexes	
Résumés	

Remerciements

*En premier lieu, nous remercions le bon **Dieu** tout puissant qui nous a éclairé tout le long de notre parcours et nous a donné la santé, le courage, la force et la patience pour bien mener notre projet de fin d'étude comme nous l'avons toujours souhaité.*

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements

*A notre Encadrant, professeur **REZGOUNE CHELLAT Djalila***

Qui nous a fait l'honneur de diriger ce projet de fin d'étude avec une grande gentillesse et bienveillance, nous vous remercions pour votre patience, délicatesse, efficacité, et d'avoir pris du temps pour nous guider et conseiller du début à la fin.

*Nous exprimons nos plus vifs remerciements et notre profonde gratitude à **LAOUAR Rania**, doctorante en génétique qui nous a beaucoup aidés et orientés depuis le début de notre stage, de la patience dont elle a fait preuve, ainsi de sa gentillesse.*

Merci énormément madame

Aux membres du jury

*Nous tenons à remercier sincèrement notre président de jury **Docteur GHARZOULI Razika**, merci infiniment d'avoir accepté de présider ce jury et pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail.*

*Nous remercions également docteur **DAOUI Zineb** qui a fait l'honneur de faire partie de notre jury, votre présence et votre expérience vont ajouter incontestablement une valeur scientifique à ce travail.*

*Au Docteur **DIB**, le chirurgien pédiatre et son anesthésiste monsieur **CHAABANE**, pour leur aide à l'élaboration de ce travail, leur soutien tout au long de la période de notre stage étaient de grand apport.*

MERCI

Dédicaces

De tous mes sentiments je tiens tout d'abord à dédier cet humble travail qui est le fruit qui exprime ma profond amour, respect et reconnaissance à :

*A la personne la plus chère, et la plus douce avec laquelle j'ai vécu les plus beaux moments de ma vie, **ma mère** qui m'a appris la confiance en moi, qui m'a aidé tout au long de mon chemin d'étude et m'a motivé pour que j'atteigne ce niveau. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours.*

*A mon **cher papa**, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices, et tous les efforts que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*A mon frère **YAHIA** et mes sœurs **IKRAM .RANIA.MAYSOUN.MARAM** pour leur soutien moral et leur aide dans les moments difficiles.*

*À ma grand mère **Aldjiya** et toute ma famille, tous ceux qui m'aiment et tous ceux que j'aime. À mon amie **Marwa**, qui m'a toujours accompagné.*

CHAHINEZ

A qui dois après Dieu ce que je suis devenue aujourd'hui aux parents les plus doux et les plus merveilleux.

***A mon cher père,** tous les mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma considération et mon amour éternel. Je te dédie à mon tour cette réussite qui concrétise ton rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements.*

***A ma très chère maman,** aucune dédicace ne peut exprimer l'amour que j'ai pour toi, tu es ma vie, mon bonheur, ma force et mon courage. Tu représentes pour moi le symbole de bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je vous dois cette réussite et je suis fière de te l'offrir. « Je t'aime très fort maman ! Que dieu le plus puissant te garde pour moi ».*

***A mes très chères sœurs,** OUMAIMA et BOUCHRA aucun mot n'est assez puissant pour vous exprimer le grand amour, la grande amitié et l'affection que vous m'inspirez. Je ne cesserai jamais de vous dire merci, même merci ne suffit pas, puisse le bon Dieu tout puissant vous protéger, vous procurer longue vie plein de joie et de réussite. Et sans oublier les bien-aimés de leur tante Mayar, Joud, wassim et Diaa je vous adore.*

***A mon cher fiancé,** qui n'a cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que je considère comme mon soutien et ma source de force. Que Dieu te protège et te donne succès et bonheur et enfin je remercie Dieu pour sa présence dans ma vie, Je t'aime.*

***A mon grand-père et ma grand-mère,** merci pour vos prières et votre amour pur, je demande à Dieu de prolonger leur vie avec beaucoup de santé.*

***A ma tante,** Saida merci pour votre amour et votre soutien inconditionnel, merci à mes tantes Saliha et Fairouz et Laila et les autres chacun à leur nom.*

***Enfin,** merci à toute ma famille, à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour achever ce travail.*

HAWA

Je dédie avec joie ce mémoire de fin d'étude :

*A mon très cher père : « **Zertal Mouloud** » Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grace à toi j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*A ma très chère maman : « **Aissani Samia** » ma vie, mon bonheur et ma force, tu représentes pour moi le symbole de bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation. Que le grand Dieu vous protège et vous donne santé et longue vie.*

*A mon cher frère **Adem** et sa femme **Amani** je vous aime. Que Dieu vous protège les uns les autres et pour nous aussi.*

*A mes chères sœurs **Wafa** et **Rokia** en souvenir de notre sincère et profonde amour et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*A mon meilleur ami que je n'ai jamais eu, **Yacine**, vous avoir dans ma vie m'aide et me rend très heureuse, un énorme merci pour ta patience, ton écoute, tes conseils et ta présence pendant toute cette période et toujours. De tout mon cœur je t'aime.*

*A mes adorables cousines **Ghada**, **Selma** et **Darine** je vous aime très fort.*

*A ma meilleure amie pour toujours **Chouby** je t'aime ma belle.*

*A mes neveux **Mohamed** et **Anis** je vous aime que dieu vous garde pour moi.*

*A mes chères tantes **Souad**, **Leila**, **Houda** et khalti **Akila** que j'aime trop, que dieu les protège pour nous.*

Rabab

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ADN :	Acide désoxyribonucléique.
ADNase :	Désoxyribonucléase.
AGD :	Académie de dentisterie générale.
AR :	Récepteur aux androgènes.
ARN :	Acide ribonucléique.
ARNm :	Acide ribonucléique messenger.
BMP7 :	Protéine morphogénétique osseuse 7.
BMP4 :	Protéine morphogénétique osseuse 4.
BET :	Bromor d'Ethidium.
CHD :	Congenital heart defects
CD4 :	Cluster de différenciation.
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité.
CPG :	Chromatographie en phase gazeuse.
CYP17A1 :	Cytochrome P450 famille 17 sous-famille A membre 1.
DHT :	Dihydrotestostérone.
DMRT1 :	Facteur de transcription lié à Doublesex et mab-3
DNMT3A :	ADN méthyle transférase 3 alpha.
DSD :	Trouble de la différenciation sexuelle.
EVT :	Trophoblaste extra villeux.
EDTA :	Acide Ethylène Diamine Trétraacétique.
EPH :	Etablissement Public Hospitalier.
FGF :	Facteur de croissance des fibroblastes.
FIV :	Fécondation in vitro.
FSH :	Hormone de stimulation de follicule.
GT :	Tubercule génital.
GATA4 :	Protéine de liaison GATA4.
HCG :	Hormone chorionique gonadotrope.
HLA-G :	Human Leucocyte Antigen-G.
HOXA13 :	Homeobox A 13.
HSD3B1 :	Hydroxy-delta-5-stéroïde déshydrogénase

IRM :	Imagerie par Résonance Magnétique.
LH :	Hormone lutéinisante.
MAMLD1 :	Cerveau comme domaine contenant.
NTD :	Anomalie du tube neural.
PCR :	Polymérase Chaîne Réaction.
PR :	Polyarthrite rhumatoïde
RPL :	Perte récurrente de grossesse.
SF1 :	Facteur Stéroïdogène 1.
SMFM :	<i>Society for Mternal-Fetal Medcine</i>
SNP :	Polymorphisme d'un seul nucléotide.
SOX 9 :	SRY-Box Transcription Factor 9
SRD5 A2 :	Steroid5Alpha-Reductase2.
SRY :	Région déterminante du sexe du chromosome Y.
TE :	Tris EDTA.
TBE :	Tris Borate EDTA.
TD1 :	Diabète de type 1.
WT1 :	Tumeur de Wilms.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Préparation du milieu réactionnel de la PCR.....	26
2	Programmation des cycles de PCR.....	27
3	Tableau de contingence.....	29
4	Répartition des patients par année.....	30
5	Répartition des patients selon le type anatomique.....	30
6	Répartition des patients selon les malformations associées.....	32
7	Répartition de la population selon l'âge.....	34
8	Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge.....	34
9	Répartition des hypospades en fonction de l'origine géographique.....	35
10	Répartition selon le poids à la naissance.....	35
11	Répartition selon l'âge de la mère pendant la grossesse.....	36
12	Répartition selon l'occupation du père.....	37
13	Répartition selon le nombre de chirurgies pratiquées.....	38
14	Répartition des fréquences génotypiques et alléliques parmi les patients et les témoins.....	39

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Représentation schématique simple de l'embryologie normale des organes génitaux externes masculins humains, qui est perturbée en cas d'hypospadias.....	4
2	Coupe transversale du pénis.....	7
3	Dénominations de l'hypospadias Localisation possible du méat urétral.....	10
4	Classification de l'hypospadias selon localisation du méat.....	11
5	Anatomie chirurgicale de l'hypospade : hypoplasie triangulaire de la face ventrale de la verge.....	11
6	Interaction entre la génétique, l'épi-génétique, les niveaux hormonaux maternels les expositions environnementales pendant le développement embryonnaire.....	19
7	Le locus HLA-G et les iso formes protéiques exprimés.....	19
8	PCR du polymorphisme ID du gène HLA-G.....	28
9	Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge	31
10	Répartition des hypospades selon le type anatomique	33
11	Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels	36
12	Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose a 2% des fragments amplifiés par PCR du polymorphisme ID gène HLA-G.....	39

Introduction

L'hypospadias est la 2^{ème} anomalie congénitale chez le garçon, qui correspond à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge responsable d'un abouchement ectopique de l'urètre. Elle résulte d'un défaut de fusion des deux surfaces épithéliales de la gouttière urétrale entre la 11^{ème} et la 18^{ème} semaine de développement. Plus l'arrêt de ce processus est précoce, plus la forme est proximale et sévère (**Boudaoud *et al.*, 2016**).

L'hypospadias est souvent classé en postérieur, pénien et antérieur selon la position préopératoire du méat. De nombreuses hypothèses ont été proposées concernant l'étiologie de l'hypospadias, notamment une prédisposition génétique, une stimulation hormonale prénatale inadéquate, des facteurs maternels-placentaires et des influences environnementales. Ainsi, il semble possible que l'étiologie de l'hypospadias soit multifactorielle (**Van der Horst et De Wall, 2017**).

De nombreux gènes ont été décrits dans la littérature ayant une relation avec l'hypospadias tels que les gènes du développement des tubercules génitaux et les gènes responsable de l'hypervirilisation. D'autres gènes restent à explorer pour élucider les bases moléculaires de l'hypospadias (**Kalfa *et al.*, 2019**).

HLA-G est une molécule de contrôle immunitaire. Comme une expression différentielle de la molécule a été rapportée même chez des individus sains, de nombreuses études se sont concentrées sur les polymorphismes au niveau des régions régulatrices de HLA-G, en particulier la région 3' non traduite (3'UTR). La présence/absence d'une séquence de 14 pb a été le premier polymorphisme décrit et c'est le plus étudié dans l'association entre HLA-G et les maladies. Il a été suggéré que le polymorphisme HLA-G pourrait avoir un rôle dans certaines complications de la grossesse, telles que la pré-éclampsie, certains cas d'avortements spontanés récurrents, l'échec de la fécondation in vitro et la susceptibilité génétique à ces complications (**Sipak-Szmigiel *et al.*, 2008 ; Kalotra *et al.*, 2018**).

Compte tenu de sa fréquence et de ses implications, l'hypospadias est un problème de santé important et peut représenter un fardeau considérable pour les ressources en soins de santé. En effet, en raison d'un risque élevé de complications, comme des sténoses récurrentes ou des fistules, les cas les plus graves nécessitent souvent plusieurs interventions chirurgicales (**Bouty *et al.*, 2015**).

Notre travail de recherche comporte une étude rétrospective et une étude moléculaire de type cas-témoins, il a pour principaux objectifs :

- Faire une recherche bibliographique bien actualisée sur l'hypospadias, son étiologie et sa génétique.
- Explorer les facteurs de risque de cette anomalie congénitale à travers l'étude rétrospective des cas opérés d'hypospadias.
- Rechercher une possible association entre le polymorphisme I/D du gène *HLA-G* et l'hypospadias.

Bibliographie

Chapitre 1

Rappel embryologique et anatomique

1. Généralités

L'embryologie du pénis et de la région urogénitale était difficile à comprendre car elle n'était pas basée sur l'étude de ce cas sur l'espèce humaine uniquement, mais plutôt sur des animaux tels que les souris, porcs et les rats, ce qui peut conduire à une mauvaise interprétation de nombreux aspects.

Le développement du sexe fœtal implique une série d'étapes séquentielles, la différenciation et la formation des organes génitaux internes et externes sont des étapes tardives du développement de l'ontogenèse humaine, qui sont régulées par l'action des hormones sexuelles.

Le développement du système uro-génital de type masculin, se déroule en deux étapes principales : une étape indifférenciée et une étape différenciée.

2. Stade indifférencié

Le développement précoce des organes génitaux externes est similaire chez les hommes et les femmes. Le cloaque embryonnaire, l'extrémité de l'intestin postérieur est séparée de la cavité amniotique par la membrane cloacale.

Comme à la fin de la 3^{ème} semaine de gestation, la gastrula embryonnaire subit un repliement latéral qui transforme la forme de l'embryon d'un disque plat en une forme cylindrique (**Elumalai et al., 2017**). Résultant de ce pliage, la couche endodermique de cellules forme un tube appelé tube intestinal qui maintient dans sa partie caudale une connexion avec le diverticule allantoïque ou l'allantoïde. Cette connexion forme le cloaque. Au début de la cinquième semaine de développement, un gonflement se développe dans les deux côtés de cette membrane, les plis cloacaux, qui se rejoignent sur la ligne médiane antérieure à la membrane cloacale, formant le tubercule génital (*GT*) (**Van der Zanden et al., 2012 ; Figure 1**).

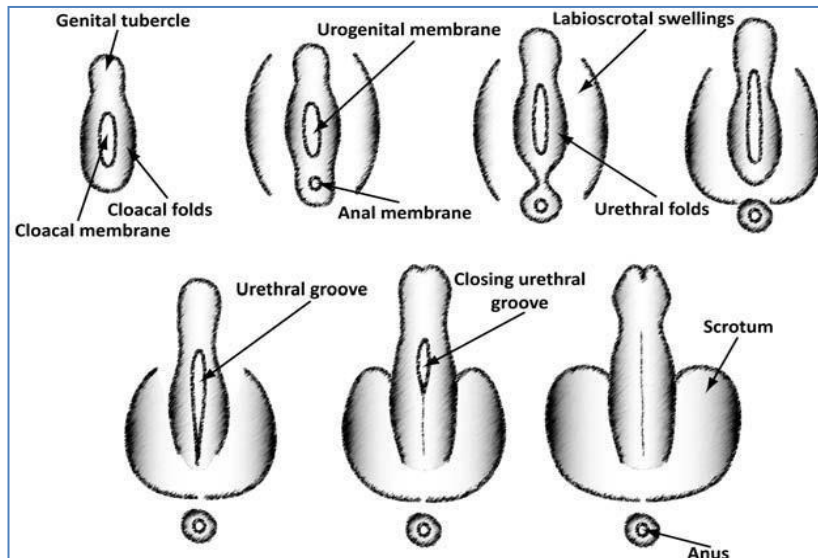


Figure 1 : Représentation schématique simple de l'embryologie normale des organes génitaux externes masculins humains, qui est perturbée en cas d'hypospadias.

(<https://doi.org/10.1093/humupd/dms002>).

Au cours de la septième semaine du développement humain, le septum uro-rectal fusionne avec la membrane cloacale, divisant le cloaque en urogénital primitif sinus et le rectum, et divisant la membrane cloacale dans l'urogénital et la membrane anale. Les gonflements à côté de la membrane urogénital sont alors appelés les plis urogénitaux et une nouvelle paire de gonflements, les renflements labioscrotaux, apparaissent de part et d'autre de ces plis. En plus, la membrane urogénitale se décompose (**Van der Zanden *et al.*, 2012**).

Le sinus urogénital reçoit ses affluents d'ouverture des conduits mésonéphriques qui proviennent du mésoderme intermédiaire, le sinus urogénital est maintenant définitif sous le niveau de l'ouverture des conduits et il est structurellement divisé en un pelvien et un phallique. Les pièces au-dessus de ce niveau, le canal vésico-urétral se forme (**Elumalai *et al.*, 2017**).

3. Stade différencié

Chez le fœtus mâle, la gonade indifférenciée devient le testicule et les canaux mésonéphrotiques deviennent les canaux déférents, éjaculateurs, et les glandes séminales (les canaux para-méso-néphrotiques disparus). Les organes génitaux externes se développent à partir de trois soulèvements : le tubercule génital, les plis urogénitaux, et les renflements labioscrotaux. Le tubercule génital formera le pénis, les plis urogénitaux donne l'urètre pénien et les renflements labioscrotaux donnent le scrotum et la fusion des

plis urétraux adjacents à la plaque urétrale entraîne la création du pénis (**Boudaoud et al., 2016**).

Entre la 11^{ème} et la 16^{ème} semaine de gestation, le tubercule génital s'allonge sous l'influence des androgènes testiculaires du fœtus. La plaque urétrale s'allonge pour former un sillon vers l'extrémité du phallus (**Van der Horst et al., 2017**).

À la fin du 3^{ème} mois de gestation, les plis urétraux autour de la plaque urétrale se referment et fusionnent pour former éventuellement le pénis ou l'urètre spongieux qui se termine au gland du pénis (la pointe du pénis) contribué par l'ectoderme de surface dans sa partie terminale via un cordon ectodermique court qui se développe pour fusionner avec l'urètre pénien au cours du 4^{ème} mois de gestation (**Elumalai et al., 2017**).

À l'issue du développement génital, on retrouve des structures d'origines embryologiques distinctes, dérivées de l'un des trois feuilletts : l'endoderme, l'ectoderme ou le mésoderme.

4. Anatomie de la verge

La verge ou pénis est l'organe de copulation. Elle pend devant les bourses, et mesure environ 10 cm de long, elle se divise en trois parties : postérieure ou racine qui est fixe et appartient au périnée antérieur, moyenne ou corps du pénis, antérieure ou gland.

- **La racine** : est située dans le périnée antérieur, c'est la partie fixe du pénis, qui est fixée sur la face interne des branches ischiopubiennes par les corps caverneux, à la symphyse pubienne, au pubis et à la paroi abdominale par les ligaments suspenseurs de la verge (**Turpin et al., 2008 ; Doumbia et al., 2014**).

- **Le corps** : il représente la partie mobile du pénis et présente :

Une face antéro-supérieure qui sépare les corps caverneux dans lequel chemine la veine profonde du pénis, et marquée par le sillon.

Une face inférieure représentant le corps spongieux ventral (**Doumbia et al., 2014**).

- **Le gland** : c'est l'extrémité terminale du pénis. Représente l'expansion distale du corps spongieux. Sa surface lisse et rosée. A la pointe du gland se trouve le méat urétral en forme de fente, long de 6 à 8 mm (**Raherison, 2008 ; Doumbia et al., 2014**).

4.1. Constitutions de la verge

La verge est constituée de trois corps cylindriques parallèles de tissu érectile : deux corps caverneux dorso-latéraux et le corps spongieux ventro-médial, tous les trois entourés par quatre enveloppes (**Turpin et al., 2008**).

4.1.1. Organes érectiles

Les corps caverneux : ils sont unis par un septum fenestré et entourés par l'albuginée. Les corps caverneux séparés du corps spongieux par le septum inter-caverneux du fascia profond qui délimite un compartiment dorsal et un compartiment ventral (**Turpin et al., 2008**).

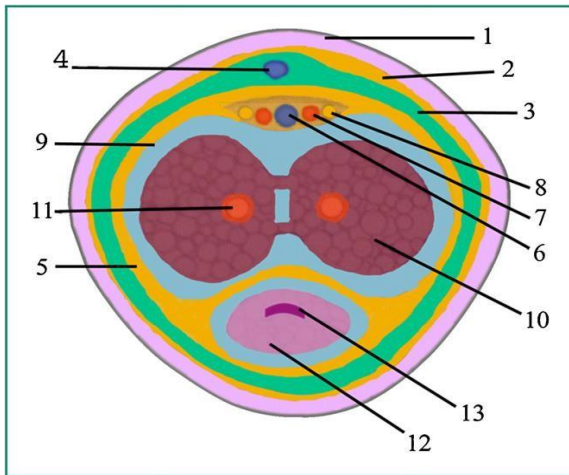
Les corps caverneux s'insèrent sur les branches ischio-pubiennes et se terminent à la base du gland (face dorsale de la verge). Ils sont constitués de sinusoides délimités par une charpente fibreuse et traversés par les artères caverneuses qui donnent des artères hélicines (**Rocher et al., 2012**).

Le corps spongieux : débute dans le périnée par la bulbe spongieuse puis se déplace dans la gouttière longitudinale inférieure que forment en s'adossant les corps caverneux (**Turpin et al., 2008**). Le corps spongieux contient l'urètre, s'insère sur le noyau fibreux central du périnée (médian) et se termine par le gland, l'albuginée qui entoure le corps spongieux est moins épaisse que celle des corps caverneux. Vers la périphérie, ces trois structures sont entourées par quatre enveloppes : le fascia de Buck, le fascia de Colles, le dartos pénien, et la peau (**Rocher et al., 2012**).

4.1.2. Les enveloppes

- **La peau** : elle est doublée à sa face profonde par le fascia superficiel du pénis constitué d'une couche de fibres musculaires lisses (**Turpin et al., 2008**).
- **Le dartos pénien** : le dartos recouvre les testicules et se situe sous la peau scrotale, il s'arrête le long du sillon génito-crural et s'attache aux branches ischio-pubiennes (**Vantomme et al., 2019**).
- **Le fascia de Colles** : il est attaché latéralement aux rameaux pubiens et en bas à la membrane périnéale qui est le fascia inférieur du diaphragme urogénital. La membrane périnéale et le Colles définissent l'espace périnéal superficiel. Cet espace contient l'urètre membraneux, l'urètre bulbaire et les glandes bulbo-urétrales. En plus, cet espace est adjacent à la paroi anale antérieure et à la fosse ischio-rectale (**Sarkis et al., 2009**).
- **Le fascia de Buck** : il entoure les corps caverneux et les corps spongieux jumelés de manière circonférentielle, et se divise en deux feuillets pour entourer complètement le corps spongieux sur l'aspect ventral du pénis. Une extension du fascia de Buck forme le ligament suspenseur, qui attache le pénis à la face inférieure du pubis, il est en continuité avec le fascia des muscles pelviens profonds. Le fascia de Buck est superficiel par rapport

au fascia de Dartos, qui est en continuité avec le fascia de Scarpa de l'abdomen et du fascia de Dartos du scrotum (Yiee *et al.*, 2010 ; Figure 2).



- 1: peau
- 2: *dartos*
- 3: fascia de Colles
- 4: veine superficielle dorsale de la verge
- 5: fascia profond de Buck
- 6: veine dorsale profonde de la verge
- 7: artère dorsale
- 8: nerf dorsal
- 9: albuginée
- 10: corps caverneux
- 11: artère caverneuse
- 12: corps spongieux
- 13 : urètre

Figure 2 : Coupe transversale du pénis (Rocher *et al.*, 2012).

5. Anatomie de l'urètre

L'urètre masculin est divisé en six parties : col de la vessie, urètre prostatique, urètre membraneux entouré par le sphincter externe, urètre bulbeux proximal au muscle ischiocavernosus, l'urètre pénien/pendulaire distal au muscle ischio-caverneux, et la fosse naviculaire dans le gland distal (Yiee *et al.*, 2010).

L'urètre s'étend à l'intérieur du corps spongieux. De la partie proximale à la partie distale, l'urètre est composé de la partie prostatique et de la partie membraneuse, qui forment ensemble l'urètre postérieur.

L'urètre antérieur commence au niveau du diaphragme urogénital et se compose des parties bulbeuse et pénienne. L'urètre antérieur est entouré par le corps spongieux (Tu *et al.*, 2020).

6. Vascularisation et innervation

La vascularisation artérielle du pénis est issue de branches de l'artère iliaque interne le plus souvent extra-pelvienne (artère pudendale interne) mais parfois intra-pelvienne (artère pudendale accessoire) suivant le trajet des nerfs caverneux (Cour *et al.*, 2013).

Il existe trois paires d'artères principales dans le pénis : caverneuse, dorsale et bulbo-urétrale. Toutes trois naissent d'une branche commune de l'artère pudendale interne, qui provient elle-même de l'artère iliaque interne (**Yiee *et al.*, 2010**).

Les descriptions récentes de l'innervation périphérique de la verge distinguent des nerfs, issus du plexus pelvien, destinés aux corps caverneux, des nerfs destinés au gland qui empruntent des rameaux communicants vers le tronc du nerf dorsal du pénis et des nerfs destinés au bulbe et au corps spongieux de l'urètre. Au sein de ces nerfs, des fibres nerveuses parasympathiques, sympathiques et sensibles ont été identifiées chez le fœtus (**Cour *et al.*, 2013**).

Chapitre 2

Epidémiologie, classification et étiologie

1. Définition

Le terme hypospadias est dérivé des mots grecs *hypo* « sous » et *spad* « quelque chose déchiré, de la travée à la déchirure, arraché » signifiant que l'orifice urétrale est situé sur le dessous du pénis (Stein, 2012).

Chez les nouveaux-nés de sexe masculin, l'hypospadias est la deuxième anomalie congénitale la plus fréquente après le testicule non descendu (Van der Horst *et al.*, 2017).

L'hypospadias est une malformation anatomique congénitale des organes génitaux externes de l'homme. Il est diagnostiqué lorsque la position du méat urétral est anormalement située au long de la face ventrale, tige du pénis, du scrotum ou du périnée (SMFM *et al.*, 2021).

2. Épidémiologie

L'hypospadias est une anomalie ou malformation congénitale « commune », les estimations de sa fréquence se situent entre 1/300 et 1/250 naissances masculins (Deméde *et al.*, 2008).

La prévalence de l'hypospadias montre une grande variation géographique, allant de 2,0 à 43,2 cas pour 10000 naissances (Bergman *et al.*, 2015). Cette malformation est plus fréquente chez les hommes caucasiens. Les prévalences les plus élevées sont retrouvées en Australie 34 pour 10 000 naissances, Israël 29 pour 10 000 naissances et la plus faible en Asie, soit 6 pour 10 000 naissances.

Les formes isolées sont plus fréquentes (88,5% des hypospades) que les formes syndromiques (Boudaoud *et al.*, 2016).

Malgré plus de 90 000 000 de naissances dépistées, la prévalence et les tendances mondiales réelles restent méthodologiques (Van der Host *et al.*, 2017).

3. Classification

Comme l'hypospadias est souvent associé à de multiples syndromes et à des anomalies génito-urinaires supplémentaires, le diagnostic d'hypospadias prénatal, en particulier d'hypospadias sévère, peut-être d'une grande valeur pour l'équipe clinique et les parents car permet des conseils précoces et dirige des tests supplémentaires (Li *et al.*, 2021).

3.1. Selon la position du méat urétral

La classification standard des hypospadias est basée sur la localisation du méat ectopique de l'urètre : distale (glandulaire, coronaire ou sous-coronaire, 60 à 65 % des cas), médiane (pénis médian ; 20% à 30% des cas), ou proximale (pénis postérieur, scrotal ou périnéal,

10% à 15% des cas). Cependant, cette classification ne fournit pas de lignes directrices efficaces pour la sélection des traitements cliniques.

Les hypospadias sévères, dans la plupart des cas, s'accompagnent d'une courbure prononcée du pénis et de symptômes cliniques sévères, qui nécessitent une reconstruction chirurgicale plus complexe, tandis que les cas bénins ne nécessitent pas toujours une réparation chirurgicale (Li *et al.*, 2021 ; Figure 3).

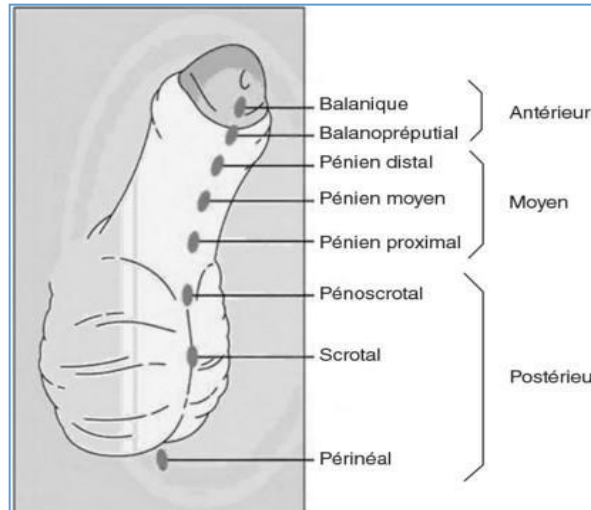


Figure 3 : Dénominations de l'hypospadias. Localisations possibles du méat urétral
<https://www.google.com/imgres>

3.2. Selon la classification de BARCAT

Une classification des hypospadias basée sur la position de la division du corps spongieux par rapport à la tige du pénis et les structures osseuses du bassin semblent fiables, cohérentes et plus orientées chirurgicalement (Orkiszewski *et al.*, 2012 ; Figure 4).

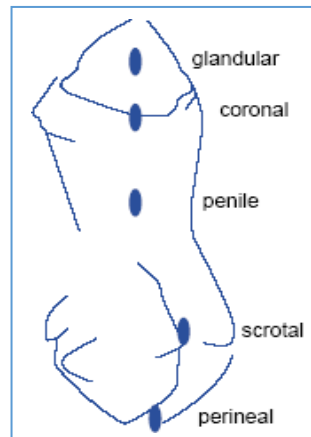


Figure 4 : Classification de l'hypospadias selon la localisation du méat (**Kraft et al., 2010**).

4. Anatomie pathologique

4.1. Description des lésions anatomiques au cours de l'hypospadias

L'hypospadias correspond à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge. Il résulte d'un défaut de développement des tissus situés en aval de la division du corps spongieux (**Boudaoud et al., 2016 ; Figure 5**).

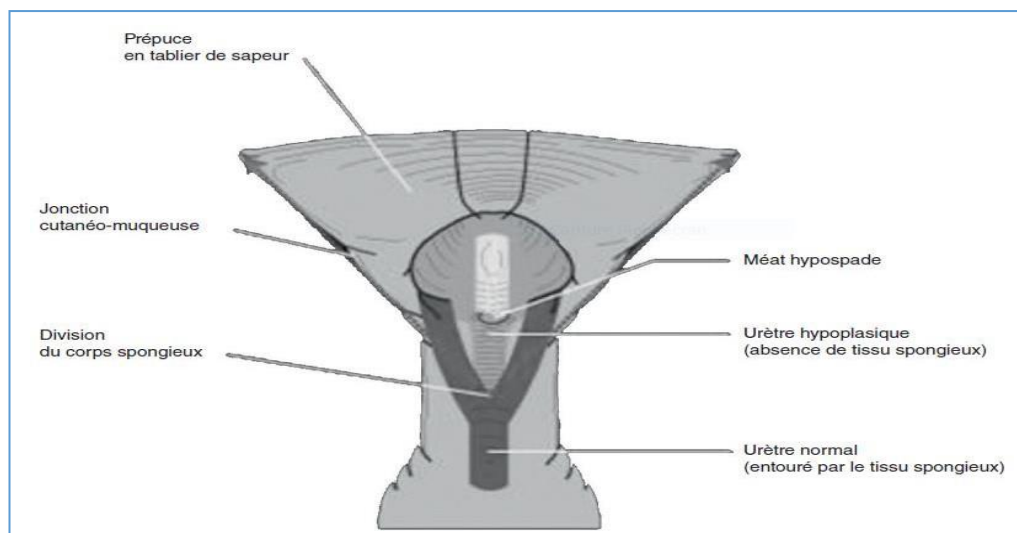


Figure 5 : Anatomie chirurgicale de l'hypospadias : hypoplasie triangulaire de la face ventrale de la verge (**Bouvattier, 2013**).

Trois anomalies sont classiquement associées aux hypospadias :

- un abouchement ectopique du méat urétral sur la face ventrale de la verge.
- une coudure ventrale de la verge ou chordé fait référence à l'existence d'une incurvation ventrale du pénis, surtout marquée lors d'une érection.
- un prépuce en « tablier de sapeur » caractérisé par un excès de peau à la face dorsale et une hypoplasie du tissu cutané à la face ventrale (**Boudaoud et al., 2016**).

Anatomiquement, cette anomalie présente, de l'extrémité à la racine de la verge, les malformations suivantes :

- un gland ouvert à sa face ventrale.
- une portion d'urètre manquante, de longueur variable, remplacée par une gouttière muqueuse adhérente à la face ventrale des corps caverneux.
- un urètre non entouré de corps spongieux, recouvert d'une peau très adhérente.
- une division du corps spongieux toujours située en arrière du méat ectopique, il marque le début proximal de la malformation : en arrière de celle-ci, toutes les structures participant à la formation de la face ventrale de la verge sont normales (**Demède et al., 2008**).
- la courbure causée par la présence de tissu fibreux en aval du méat empêche le redressement complet du pénis. La division du corps spongieux en deux piliers, l'adhésion du sillon urétral à la surface ventrale du corps caverneux sont deux autres facteurs de courbure.
- une bifidité scrotale, forme souvent associée à un problème d'ambiguïté sexuelle.
- une torsion du pénis avec rotation de 90°.
- une transposition scrotale, c'est-à-dire une insertion du scrotum autour de la verge et non sous la verge.
- une absence du frein du gland.
- des anomalies de la taille de la verge ont enfin été décrites. En effet, celle-ci varie en fonction de l'âge de l'enfant. On parle de micro-pénis lorsque la longueur est inférieure à moins 2 déviations standards ou lorsqu'elle est inférieure à moins 2,5cm à la naissance (**Debbah, 2009**).

Le point de division du corps spongieux marque le début proximal de la malformation : en arrière de celle-ci, toutes les structures participant à la formation de la face ventrale de la verge sont normales.

5. Anomalies associées

Dans la majorité des cas, l'hypospadias est un cas isolé, mais il peut se produire en association avec d'autres anomalies, en particulier dans le tractus urogénital.

Parmi les anomalies associées avec l'hypospadias on retrouve des anomalies urinaires, des anomalies chromosomiques (comme le syndrome de Klinefelter, qui est relativement fréquemment associée aux dysgénésies gonadiques), l'hernie inguinale, et la cryptorchidie (**Bouty *et al.*, 2015 ; Debbarh, 2009**).

La cryptorchidie uni ou bilatérale, est une condition où les deux testicules ne sont pas descendus correctement dans le scrotum, le micro-pénis, lorsque la longueur dorsale du pénis du nouveau-né est inférieure à 2,5 cm.

Par ailleurs, l'hypospadias a été décrit dans plus de 200 autres syndromes. On trouve le WAGR (tumeur de Wilms (WT), aniridia, génito-urinaires et retard mental), le syndrome de Denys-Drash (malformations génito-urinaires et susceptibilité à la tumeur WT) et le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (malformations cardiaques, pulmonaires, rénales, gastro-intestinales et génitales) (**Bouty *et al.*, 2015**).

6. Etiologie

Les étiologies de l'hypospadias sont des anomalies de la différenciation sexuelle survenant entre la 8^{ème} et la 12^{ème} semaine de la vie fœtale. Il s'agit soit d'une sécrétion insuffisante de testostérone (T) ; ou d'une conversion insuffisante en dihydrotestostérone (DHT) soit d'une insensibilité partielle aux androgènes (mutation des récepteurs).

L'étiologie des autres hypospades sévères reste inconnue et leurs implications sont basés sur des constatations épidémiologiques mais reste difficiles à démontrer : certains sont associés à des malformations ou à un retard de croissance intra utérin ; d'autres appelés idiopathiques sont isolés (**Debbarh *et al.*, 2009**).

6.1. Facteurs de risque génétique

Les premières recherches génétiques sur l'hypospadias se sont concentrées sur l'identification des mutations causales putatives. La plupart de ces mutations ont été identifiées chez des patients atteints des formes d'hypospadias postérieur ou proximal. Ceci a conduit à penser que l'hypospadias postérieur pourrait être plus probablement dû à une étiologie monogénique par rapport à l'hypospadias antérieur ou distal, qui peut être polygéniques ou multifactoriel.

Les gènes *WT1* et *SFI* jouent un rôle majeur dans le développement du système urogénital; des mutations dans ces gènes peuvent causer non seulement des hypospadias mais aussi autres défauts.

Le gène *SRY* sur le chromosome Y reste crucial pour la masculinisation de la gonade indifférente. L'expression du gène *SRY* induit une cascade d'interactions géniques impliquant la SRY-box 9 (SOX 9), entraînant une différenciation de la primitive gonade dans le testicule (George *et al.*, 2015).

6.2. Facteur de risque héréditaire

Une composante génétique d'hypospadias a été étayée par certaines études indiquant qu'il existe plusieurs sujets affectés au sein de la même famille. Selon l'étude de Power, si le père a des hypospadias dans la famille, la probabilité qu'un de ces fils soit porteur est environ 8% et qu'il y a 12% de chance qu'un de ces frères et sœurs soit atteint. De plus, le risque pour la génération suivante monte à environ 26% lorsque deux membres d'une même famille sont porteurs d'hypospadias (Aitbihi *et al.*, 2012).

6.3. Facteurs de risque maternel

6.3.1. Un régime de grossesse

Un régime sans viande ni poisson semble augmenter le risque d'hypospadias chez la descendance (Akre *et al.*, 2008).

6.3.2. Poids de naissance

Plusieurs études ont montré que la supplémentation alimentaire prénatale (énergie, protéines et micro-éléments tels que fer et vitamines) a amélioré les résultats fœtaux, en particulier le poids à la naissance (Piccoli *et al.*, 2015).

6.3.3. Age maternel

L'âge maternel plus avancé est associé à un AGD plus court chez les patients présentant un hypospadias et les témoins. L'âge maternel ≥ 34 ans est significativement corrélé avec les patients atteints d'hypospadias (Abdelhalim *et al.*, 2021).

6.3.4. Autres facteurs de risque

Des études récentes montrent un lien étroit entre le tabagisme maternel et la cryptorchidie chez les descendants mâles (Hutson *et al.*, 2018).

6.4. Facteurs de risque environnementaux

Les toxines environnementales qui perturbent l'équilibre hormonal du fœtus et perturbent ainsi la différenciation sexuelle soit par un effet oestrogénique soit par un effet anti androgène ont montré que l'augmentation des taux d'hypospadias décrite dans les années 1960-1980 est essoufflée vers 1985, après qu'il y avait plus une hausse ou une baisse réelle. Cependant, jusqu'à présent, la littérature épidémiologique n'est pas claire quant à savoir si les expositions prédisposent à l'hypospadias. Une étude menée en 2013, comprenant des dossiers de santé suédois et des données démographiques recueillies pour tous les garçons nés entre 1973 et 2009, a montré une augmentation des cas de garçons diagnostiqués avec un hypospadias de 1990 à 1999 qui n'étaient pas attribués à des facteurs de risque connue auparavant.

Quant aux facteurs environnementaux, l'exposition maternelle à des polluants chimiques ou perturbateurs endocriniens à de fortes concentrations liés à certaines professions ou zones géographiques peuvent être des facteurs de risque supplémentaires d'hypospadias. Un impact commun sur le risque d'hypospadias dans la plupart des sociétés causées par des polluants chimiques ou endocriniens perturbateurs n'a pas été démontré jusqu'à présent (**Thorup *et al.*, 2014**).

6.5. Facteurs de risque endocriniens

L'indépendance des androgènes, la dépendance aux androgènes et les effets endocriniens/environnementaux sont trois mécanismes principaux du développement génital externe. La signalisation androgène-AR est impliquée dans la formation et la masculinisation des organes mâles ; l'androgène induit généralement la masculinisation des embryons, et la signalisation androgène est médiée par le récepteur d'androgène nucléaire (**Kong *et al.*, 2020**).

Des mutations dans le gène de récepteur d'androgène ont été impliquées dans les hypospadias congénitaux créant l'intérêt dans les composés qui interagissent avec le récepteur d'androgène comme possible causes environnementales des hypospadias (**Raghavan *et al.*, 2018**).

Chapitre 3

Génétique de l'hypospadias

1. Génétique moléculaire des hypospades

Le patrimoine génétique est l'acteur principal dans la différenciation génitale, avec des contributions des gènes du développement du tubercule génital, la détermination gonadique, la synthèse des stéroïdes gonadiques (testostérone et dihydrotestostérone : DHT), et la sensibilité à ces hormones. Même avec le dépistage systématique, un défaut génétique est généralement constaté seulement chez un petit nombre de patients et un déséquilibre endocrinien est constaté chez 1 cas sur 5 (**Rey et al., 2018**).

L'hypospadias familial est observé dans environ 10 % des cas. L'héritabilité de l'hypospadias est élevée, l'estimation globale étant de 57,77 %. L'hypospadias sévère est plus souvent observé dans les cas sporadiques, tandis que les variantes plus légères sont plus souvent familiales. Le frère du cas index a plus de 10% de risque d'être affecté. Le risque de cas familiaux est également accru chez les parents plus éloignés, atteignant 11 % chez les parents au premier degré, 3% chez les parents au deuxième degré et plus de 1 % chez les parents au troisième degré (**Schnack et al., 2018**).

1.1. Gènes du développement des tubercules génitaux

Le développement phallique nécessite plusieurs gènes homéobox (*HOXA*, *HOXB*, *HOXD*). De façon constante, la mutation de ces gènes chez la souris induit un défaut du tubercule génital. Chez les humains, *HOXA4* et *HOXB6* sont plus fréquemment mutés que les témoins chez les sujets chinois. Le gène Homeobox A13 (*HOXA13*) est également pertinent pour le développement génital chez l'humain. Des variantes génétiques du *BMP4* et du *BMP7* ont également été signalées chez l'humain.

Enfin, plusieurs gènes *FGF* participent au développement génital tel que *FGF10* chez la souris ou *FGF8* et *FGFR2* chez l'homme (**Kalfa et al., 2018**).

2. Aspects moléculaires de l'hypovirilisation

2.1. Dysgénésie testiculaire

Les défauts des gènes conduisant à une dysgénésie testiculaire peuvent induire des hypospadias en raison d'une sécrétion insuffisante de testostérone pendant la période de masculinisation. L'expression du gène *SRY* est cruciale pour le développement du testicule à partir de la gonade indifférenciée. Bien que le *SRY* ne soit pas fréquemment muté, des anomalies chromosomiques sexuelles et une variation subséquente de la dose du *SRY* sont trouvées chez quatre patients sur 100 atteints d'hypospadias (**Moreno-Garcia et al., 2002**).

Les patients présentant des mutations hétérozygotes de Wilms Tumor 1 (*WT1*) peuvent présenter des hypospadias graves associés à d'autres anomalies génitales. Les mutations des gènes codant pour les facteurs de transcription impliqués dans la détermination testiculaire (tels que *SOX9*, *DMRT1* et *GATA4*) sont associées à un DSD 46, XY, y compris les hypospadias graves (**Huang *et al.*, 1999 ; Leipoldt *et al.*, 2007 ; Maciel-Guerra *et al.*, 2008**).

2.2. Défauts de la biosynthèse des androgènes

Le récepteur LH permet le développement de cellules de Leydig qui sécrètent la testostérone sous le contrôle d'HCG pendant le développement fœtal précoce et l'axe hypophysaire plus tard dans la vie. Les défauts génétiques du gène du récepteur LH entraînent une hypoplasie des cellules de Leydig, conduisent à un hypospadias sévère. La sécrétion insuffisante de testostérone induit également un cryptorchidisme et/ou un micropénis chez ces patients.

Les mutations du gène hydroxy-delta-5-stéroïde déshydrogénase (*HSD3B1*) ainsi que dans les gènes 3 bêta- et stéroïdes delta-isomérase 2 ont été rapportés chez ces patients (**Codner *et al.*, 2004**). Les mutations du gène 5-alpha réductase (*SRD5A2*) sont associées à une diminution de la synthèse de DHT et de phénotypes similaires. Les polymorphismes des gènes *SRD5A32* contribuent également à l'apparition de la malformation : SNP (p.Val89Leu) réduit l'activité enzymatique mais son implication directe reste débattue, alors qu'un autre SNP (p.Ala49Thr), augmente la fonction enzymatique.

MAMLD1 peut pareillement être impliqué dans la synthèse de testostérone. Les mutations *MAMLD1* ont été signalées chez les patients atteints de phénotypes graves. Dans les cellules de Leydig, *MAMLD1* augmente l'expression de *CYP17A1* et permet la production d'une testostérone nécessaire à la différenciation masculine (**Kalfa *et al.*, 2018**).

2.3. Résistance aux androgènes

Le gène du récepteur aux androgènes (RA) est situé sur le chromosome X. La RA est exprimé pendant le développement du pénis et de l'urètre. La capacité de liaison de DHT au RA est signalée comme diminuée dans les fibroblastes cutanés génitaux de certains garçons hypospadias, et plusieurs mutations de la RA ont été signalées chez ces patients. Outre ces mutations, la longueur de la répétition polyglutamine dans la partie terminale N de l'AR peut également réduire la transactivation du récepteur et une répétition CGN plus longue peut augmenter l'occurrence de malformation (**Adamovic *et al.*, 2012**).

3. Epigénétique de l'hypospadias

Les modifications épigénétiques comprennent la méthylation de l'ADN, la modification des histones et les interactions de l'ADN avec l'ARN non codant. La méthylation de l'ADN est la modification épigénétique la plus étudiée. Le groupe méthyle est lié de façon covalente à une base de cytosine dans le contexte des dinucléotides CpG. La méthylation des cytosines dans l'ADN a été impliquée dans le mécanisme de l'extinction de l'expression des gènes, de l'empreinte génomique, de la stabilité chromosomique et de la protection contre l'expression d'éléments répétitifs.

Pendant la grossesse, la synthèse des nucléotides dépendant des folâtes et la méthylation de l'ADN sont augmentées, et la méthylation modifiée de l'ADN peut être un mécanisme sous-jacent dans le développement des malformations congénitales.

En effet, des études ont montré que la méthylation modifiée de l'ADN est associée à la NTD (Anomalie du tube neural) et à la CHD (Congenital heart defects). Il a été démontré que divers facteurs maternels impliqués dans le développement anormal du fœtus influent sur les schémas de méthylation de l'ADN. Les effets combinés de la génétique et de l'épigénétique dans l'environnement intra-utérin et du développement foetal subséquent ne sont pas bien compris et justifient une étude plus approfondie (**Webber *et al.*, 2015**).

La méthylation du gène RA dans les tissus du prépuce des patients atteints d'hypospadias était plus élevée que chez les enfants normaux. L'expression de la RA dans le tissu du prépuce des patients hypospadias était plus faible que chez les contrôles. Dans les fibroblastes cultivés, la dihydrotestostérone et la testostérone ont réduit de façon significative la méthylation des gènes AR et l'expression du *DNMT3A* en fonction de la dose et augmenté l'expression AR.

Le gène de la RA dans les tissus cibles des patients atteints d'hypospadias est plus méthylé que chez les enfants témoins, ce qui entraîne une diminution de l'expression de la RA (**Vottero *et al.*, 2011 ; Figure 6**).

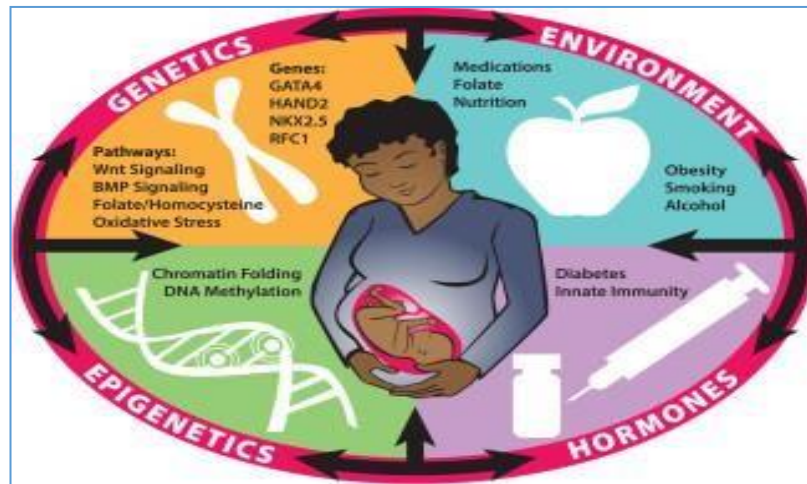


Figure 6 : Interactions entre la génétique, l'épi-génétique, les niveaux hormonaux maternels et les expositions environnementales pendant le développement embryonnaire.
<https://www.google.com/imgres>

4. Gène HLA-G

4.1. Structure et localisation de HLA-G

L'antigène leucocytaire humain-G (HLA-G) est cartographié en 6p21.3. Il est largement admis que l'épissage alternatif de la transcription primaire du gène conduit à la production de protéines membranaires ou solubles. Sept autres ARNm ont été décrits, qui codent quatre isoformes membranaires (HLA-G1, G2, G3, G4) et trois isoformes de protéines solubles (HLA-G5, G6, G7) (Carosella *et al.*, 2015 ; Figure 7).

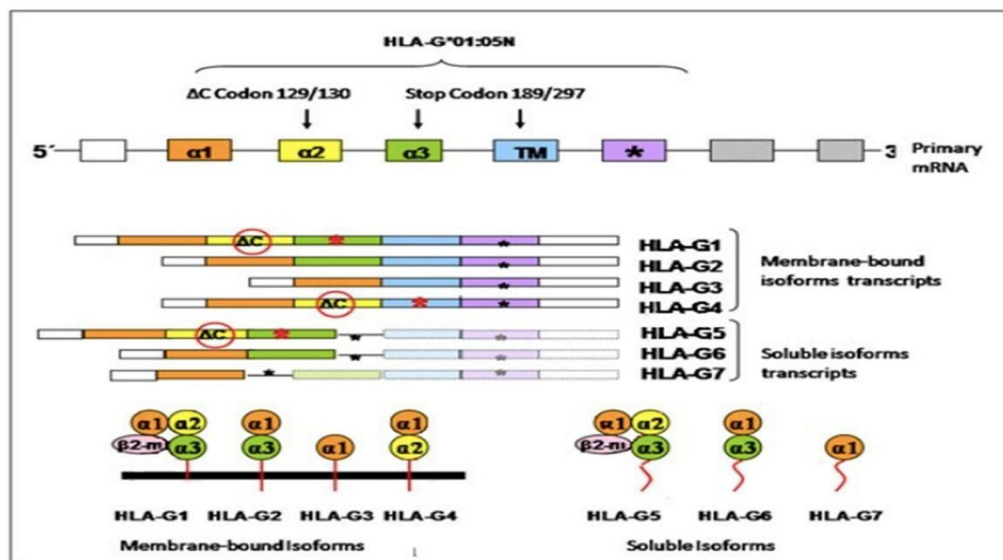


Figure 7 : Le locus HLA-G et les iso-formes protéiques exprimés Adapté de Carosella *et al.* (2002 et 2019).

Le gène HLA-G est une molécule non classique de classe I de l'antigène leucocytaire humain (HLA) du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC) qui possède des caractéristiques uniques, comme un faible polymorphisme et une expression tissulaire restreinte (**Kaminski *et al.*, 2017**).

4.2. Expression d'HLA-G

Dans des conditions physiologiques normales, l'expression HLA-G est observée dans les tissus embryonnaires directement impliqués dans la tolérance mère-fœtale, à savoir le cytotrophoblaste et le placenta ; chez les adultes, l'expression HLA-G était déjà décrite dans la cornée, les cellules thymiques épithéliales et dans certaines sous-populations spécifiques de monocytes, de cellules de moelle osseuse et de cellules T CD4+ et CD8+.

La régulation de l'expression de l'HLA-G est multifactorielle et peut être affectée par la variabilité génétique HLA-G, la régulation post-transcriptionnelle et les signaux micro environnementaux intracellulaires et extracellulaires. La signification prédictive, diagnostique et pronostique du génotype HLA-G et/ou de l'expression des protéines a été étudiée dans un large éventail de contextes cliniques (**Le Maoult *et al.*, 2021**).

4.3. Polymorphisme du gène HLA-G

4.3.1. Variations génétiques au locus HLA-G

Contrairement aux gènes HLA classiques de classe I hautement polymorphes, le polymorphisme du gène HLA-G est très limité. À ce jour, seulement 50 allèles sont répertoriés (base de données IMGT/HLA, version 3.19.0) codant 16 protéines pleine longueur. Néanmoins, certains de ces allèles ne sont pas entièrement caractérisés, ne présentant que quelques exons séquencés (**Carosella *et al.*, 2015**).

Il a été signalé que HLA-G est exprimé à la surface des embryons préimplantatoires et des EVT, tandis que sHLA-G a été détecté dans le milieu de culture des embryons fécondés in vitro (FIV), le sang maternel, le liquide amniotique et le sang du cordon. HLA-G joue des rôles critiques dans le remodelage des artères spiralées, le développement fœtal et la tolérance immunitaire (**Gregori *et al.*, 2020**).

4.4. Polymorphisme du gène *HLA-G* et maladies

Les niveaux de protéine HLA-G peuvent être associés à des génotypes spécifiques ; ainsi, un certain nombre d'études ont été réalisées pour tenter d'établir une corrélation entre les haplotypes HLA-G et la susceptibilité à la maladie et la morbidité, ou pour les utiliser comme facteur prédictif de la réponse au traitement ou du résultat d'une transplantation.

La variation HLA-G la plus étudiée est le polymorphisme 14-bp INS/DEL. Dans le domaine de la grossesse, il existe un assez bon consensus sur l'association du génotype 14-bp INS/INS avec la perte récurrente de grossesse (RPL) ; cependant, un certain nombre de réserves ont été identifiées dans ces corrélations, notamment l'hétérogénéité des études, les caractéristiques de l'échantillon et la mesure non comparable des génotypes. Une récente méta-analyse portant uniquement sur des femmes de pays européens a non seulement corroboré l'association entre le génotype INS/INS 14-bp et la RPL, mais a également souligné et confirmé que les divergences observées dans les études précédentes pouvaient être dues à la diversité ethnique de la cohorte analysée (**Monti *et al.*, 2019**).

Dans le domaine de l'auto-immunité et du cancer, les résultats sur l'association des génotypes 14-bp INS/DEL avec le développement de la maladie ou avec la réponse à la thérapie ont rapporté des résultats contradictoires et/ou non concluants. Dans le contexte du diabète de type 1 (T1D), l'analyse a révélé l'association du génotype 14-bp DEL/DEL avec le développement et le début précoce de la maladie (**Silva *et al.*, 2016**).

Concernant la relation entre ce polymorphisme et l'hypospadias, aucune étude n'a été établie.

Chapitre 4

Diagnostic et traitement

1. Diagnostic

Depuis peu de temps, le diagnostic par échographie prénatale est possible, l'exploration montre un défaut de peau préputiale au niveau de la face ventrale associé à un excès de la peau au niveau de la face dorsale.

A la naissance le diagnostic d'un hypospadias ne pose pas de réel problème ; il est habituellement porté au cours de l'examen physique initial du nouveau-né.

Les conséquences d'un hypospadias non opéré sont très différentes selon que celui-ci est antérieur ou postérieur.

On distingue les conséquences urinaires, génitales, et enfin psychologique et comportemental. L'enfant doit être examiné par un spécialiste le plus tôt possible dans le but de décrire le phénotype génital, la topographie de l'hypospadias, la position des gonades, les anomalies associées de la verge, l'aspect du scrotum, et enfin de rechercher les autres malformations associées (**Aitbihi, 2012**).

1.1. Exploration paraclinique

1.1.1. Exploration biologique

Les dosages hormonaux qui sont souvent réalisés sont : FSH, LH, les androgènes (Testostérone, DHT). Le taux de LH est sensiblement plus élevé chez les sujets hypospades que dans la population générale alors que la FSH et les androgènes ont un taux pratiquement normal. Il existe donc un dysfonctionnement de la cellule de Leydig quel que soit le type d'hypospadias. Pour certains auteurs, le bilan hormonal doit être systématique dès la découverte d'un hypospadias. En cas d'hypospadias postérieur, il faut faire en plus un caryotype et mesurer les réponses périphériques aux androgènes (**Ouedrhiri, 2019**).

Un examen cyto bactériologique des urines est demandé systématiquement chez tout hypospade avant la correction chirurgicale, afin de déterminer les germes responsables d'une éventuelle infection urinaire (**Bouhafs et al., 2002**).

1.1.2. Exploration cytogénétique

Le caryotype est systématique, il permet de dépister les mosaïques 45,X/ 46,XY, les anomalies seront confirmées par la recherche des séquences codants des gènes correspondent. En générale le gène *SRY* est le principal médiateur pour déterminer les gonades mâles, son étude est donc est très importante (**Bouvattier, 2009**).

1.1.3. Exploration morphologique

L'échographie pelvienne permet de visualiser les dérivés mullériens (vagin, quand il est de grande taille, utérus), de mesurer les reins et les surrénales. Elle n'est pas utile au repérage des gonades intra-abdominales, non palpées par le chirurgien. La génitographie ou l'IRM pelvienne, permet un bilan anatomique plus précis (position du vagin, taille, niveau d'implantation dans l'urètre) (**Bouvattier, 2009**).

2. Traitement de l'hypospadias

Le seul traitement de l'hypospadias est la réparation chirurgicale. Le traitement chirurgical vise à rétablir à l'origine uro-génital une fonctionnalité (miction, érection) et une anatomie se rapprochant le plus possible d'une verge « normale ». Les objectifs sont d'obtenir au final de l'intervention, diverses caractéristiques fonctionnelles et esthétiques :

Le choix de l'âge pour la chirurgie est souvent fait en tenant compte des paramètres de croissance, de la taille du pénis, des risques d'anesthésie, de la réponse de l'enfant à la chirurgie et du contrôle urinaire. Jusqu'à présent, il n'y a pas de consensus sur l'âge minimal d'intervention. Certains opèrent très tôt (3 à 6 mois) mais la plupart des auteurs prévoient l'intervention entre 12 mois et 18 mois, attendent la première phase de croissance du pénis soit terminée. Selon la courbe de Schoufeld. Par contre, il y a un consensus pour ne pas opérer entre 2 et 4 ans, ce pour deux raisons. D'une part, les suites opératoires sont souvent moins simples chez les enfants continents avec de possible épisode de rétention source de complication locales. D'autre part le retentissement peut être important, l'enfant se sentant agressé et ne comprenant pas les explications qui lui sont fournies (**Moscovici et al., 2009**).

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Type et lieu d'étude

Deux types d'étude ont été réalisées : une rétrospective descriptive entreprise au niveau de la clinique Nissia à Djebel El-Wahch, et l'autre transversale de type cas-témoins effectuée au niveau de l'hôpital Mohamed Boudiaf à El-khroub (EPH) sur une durée de 3 mois allant de février à mai 2022.

L'extraction d'ADN a été faite au niveau du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire Chaab Ersas alors que la PCR a été accomplie au niveau du laboratoire de biologie moléculaire de la faculté SNV de l'université des frères Mentouri Constantine 1.

2. Population d'étude

2.1. Population malade

Elle comprend 12 patients atteints d'un hypospadias. Tous les patients ont été interrogés pour remplir le questionnaire et ont accepté de réaliser le prélèvement sanguin pour faire l'étude moléculaire.

- **Critères d'inclusion** : tout patient présentant un hypospadias confirmé par un chirurgien pédiatre.

- **Critères d'exclusion** : patients refusant de faire le prélèvement sanguin, ou ayant une ambiguïté sexuelle.

2.2. Population témoin

- **Critères d'inclusion** : sujets en bonne santé apparente ne présentant pas l'anomalie étudiée (Hypospadias) de sexe masculin et acceptant de faire le prélèvement sanguin.

- **Critères d'exclusion** : sujets refusant de faire le prélèvement sanguin.

3. Méthodes employées

3.1. Questionnaire

Nous avons interrogés les malades/ leurs tuteurs légaux via un questionnaire comprenant toutes les données nécessaires. Malheureusement nous n'avons pas pu avoir toutes les réponses en raison de l'absence du dossier médical chez certains malades (**Annexe 1**).

3.2 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin conçu pour l'extraction de l'ADN dans des conditions stériles, est recueilli dans un tube EDTA (contenant l'acide éthylène diamine tétra-acétique comme anticoagulant et inhibiteur de l'action des enzymes ADNase). Une quantité de 6 à 8 ml a

été prélevée pour chaque patient, après avoir obtenu leur consentement, les tubes sont conservés à une température de 4C° jusqu'au moment de la manipulation (pas plus d'une semaine, sinon conservés au congélateur jusqu'à utilisation).

3.3. Etude moléculaire

L'étude moléculaire consiste en une recherche du polymorphisme ID du gène *HLA G*, pour cela nous avons procédé à :

- une extraction de l'ADN des patients et des témoins
- une polymérisation en chaîne (PCR) et électrophorèse

3.3.1. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN pure de chaque individu à partir des leucocytes sanguins. Les méthodes d'extraction d'ADN sont diverses, celle utilisée dans notre étude est basée sur l'utilisation d'un solvant inorganique : le NaCl.

- Etapes d'extraction d'ADN au NaCl

- Isolement des leucocytes à partir du sang total.
- Lyse des leucocytes et libération de l'ADN après digestion des protéines qui lui sont associées par la protéinase K.
- Extraction et purification de l'ADN.
- Précipitation et lavage par l'éthanol permettant la formation de la pelote d'ADN.
- Solubilisation de l'ADN pure.

Ces étapes sont clairement détaillées dans l'annexe 2.

3.3.2. Génotypage du gène HLA G

Pour la mise en évidence du génotype du polymorphisme ID du gène *HLA G*, nous avons utilisé la technique PCR (polymérase chaîne réaction) qui consiste en la réalisation des étapes suivantes :

- Amplification par PCR
- Une migration électro-phorétique sur gel d'agarose à 2% pour le contrôle du produit PCR
- Visualisation sous UV.

3.3.2.1. Amplification par PCR

La PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant d'amplifier des séquences d'ADN cible, définies en plusieurs millions d'exemplaires. C'est une réaction en chaîne de

n cycles successifs d'amplification, au cours desquels deux amorces dirigent l'amplification du fragment d'ADN double brin qu'elles encadrent. Un cycle d'amplification est composé de trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation.

- **Préparation du milieu réactionnel (mix)**

Avant d'initier la préparation du mix, les amorces ainsi que les dNTP sont diluées selon les conditions du protocole utilisé.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Sachant que :

C1 : concentration initiale du réactif citée sur le tube.

V1 : volume initial nécessaire à la dilution, destiné à être calculer ($V1 = C2 \times V2 / C1$).

C2 : concentration finale exigée par le protocole.

V2 : volume final à déterminer par nous mêmes.

Le volume de l'eau distillée que nous devons rajouter pour la dilution de chaque réactif est donc calculer comme suit :

$$V \text{ (eau distillée)} = V2 - V1$$

Nous avons préparé un mix de PCR comprenant des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), une enzyme d'amplification *in vitro* (Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampons, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligo-nucléotidiques (Sens et Antisens).

Tableau 1 : Préparation du milieu réactionnel de la PCR.

Mix de PCR	Volume en µl
dNTP	1,6 µl
Tampon	1 µl
MgCl ₂	0,3 µl
Taq polymérase	0,08 µl
Eau distillée stérile	4,02 µl
Amorce F	1 µl
Amorce R	1 µl
ADN	1µl
Total	10µl

Amorce :

Amorce Sens : 5'TCACCCCTCACTGTGACTGATA-3'

Amorce Antisens : 5'GCACAAAGAGGAGTCAGGGTT-3'

- **Déroulement des cycles de la PCR**

Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 9µl de ce mélange avec 1µl d'ADN pour chaque tube, nous avons déposé les tubes préparés dans un Thermocycleur (Eppendorf), que nous avons programmé pour 35 cycles. Chaque cycle de PCR se déroule en 3 étapes indispensables : dénaturation de l'ADN double brin, hybridation des amorces, élongation par la polymérase.

Tableau 2: Programmation des cycles de PCR.

Étapes	Température	Durée
Dénaturation initiale	95° C	6 min
Dénaturation	95° C	30 Sec
Hybridation	62° C	30 Sec
Elongation	72° C	30 Sec
Elongation finale	72° C	4 min

- **Contrôle de la PCR**

Le contrôle des produits PCR a été réalisé par électrophorèse sur un gel d'agarose 2% (2g d'agarose dans 100ml de TBE 1X) et mélangé à 10µl de BET, agent intercalant entre les bases d'ADN. Après dissolution dans un four à microonde, le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale et laisser pour refroidir.

Dans chaque puits du gel, nous avons déposé 10µl de produits PCR qui a été mélangés de 3 µl du bleu de bromophénol qui permettra de suivre le front de migration.

Parallèlement un échantillon sans ADN (témoin négatif ou blanc) est inclus dans la série à amplifier et permet de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la manipulation.

Le dépôt se fait du côté cathode et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 40 min. Après migration, le gel est soumis au rayons UV, les molécules de bromure d'Ethidium intercalées entre les bases nucléiques émettent une

lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille.

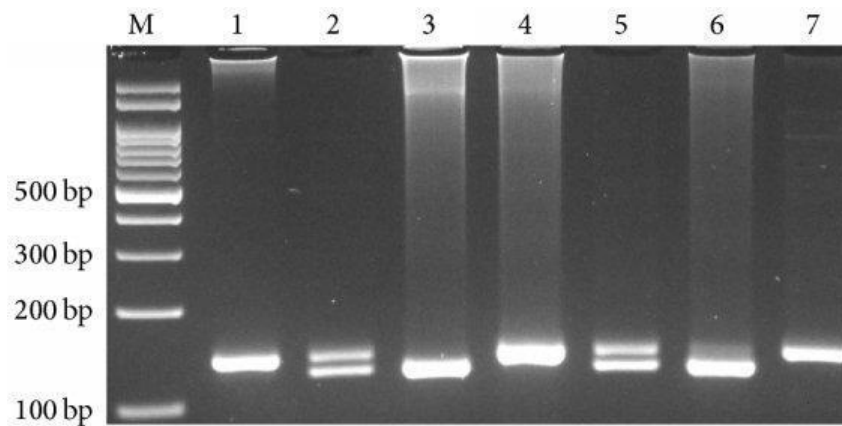


Figure 8: PCR du polymorphisme ID du gène *HLA G* (Hashemi *et al.*, 2016).

4. Etude statistique

Nous avons utilisé l'Excel et le logiciel Epi info version 6.0 pour le calcul des moyennes des paramètres quantitatifs étudiés et également pour le calcul des OR et des *p-value* afin de déterminer s'il existe une relation entre le polymorphisme Insertion / Délétion du gène *HLA G* et l'hypospadias.

L'étude moléculaire a concerné 28 cas (12 cas d'hypospadias et 16 cas témoins), et une étude rétrospective sur 283 dossiers de cas d'hypospadias pour les années 2019, 2020, 2021 jusqu'au 21 mai 2022.

En raison de l'indisponibilité des archives, nous avons malheureusement obtenu des informations insuffisantes, la saisie de toutes les informations sur les cas étudiés a été faite sous un fichier Excel.

Pour le calcul de l'OR, un tableau de contingence a été établi (**Tableau 3**). Il est présenté sous forme de tableau croisé 2×2. Le statut atteint/non atteint des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne. L'IC est de 95 % (ou 0,95).

Tableau 3: Tableau de contingence

	Atteint	Non atteint	Total
Exposé	a	b	a + b
Non exposé	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

L'OR est calculé comme suit: $OR = a*b / c*d$. Si :

$OR = 1$: pas d'association entre l'exposition et la maladie.

$OR < 1$: association négative.

$OR > 1$: association positive.

Pour la valeur p , le seuil critique *à priori* est de 0,05 (vu que l'IC pour l'OR est de 95 %). Si la valeur de p calculée *à posteriori* est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative.

Résultats et discussion

1. Etude rétrospective

Selon l'étude statistique basée sur le registre des opérations quotidiennes de l'hôpital Mouhamed Boudiaf El-khroub (EPH) et la clinique privé Nissia de Djbel El-wahch, nous a notifié 283 cas d'hypospadias durant les années : 2019, 2020, 2021 jusqu'au 21 mai 2022.

1.1. Répartition des patients par année

La répartition des patients par année est représentée dans le tableau 4.

Tableau 4: Répartition de patients par année.

Année	Nombre de patients	Fréquence%
2019	68	24,02
2020	74	26,14
2021	80	28,26
2022	61	21,55
Total	283	100

Nous avons noté une augmentation du nombre des cas d'hypospadias au fil des années, par exemple le nombre de patients opérés dans l'année 2019 était de 68 avec une fréquence de 24,02% est presque le même que celui enregistré pour l'année 2022 (jusqu'au 21 mai seulement) avec une fréquence de 21,55%.

Nos résultats sont similaires à ceux de **Mieusset, (2011)**, qui a déclaré une augmentation annuelle moyenne en France métropolitaine du taux d'interventions chirurgicales qui était de de 1,2% sur la période 1998–2008, ainsi, l'étude sur la période 2000–2008 rapporte une augmentation annuelle moyenne, faible mais significative, du taux d'interventions chirurgicales pour les hypospadias de 0,9 %.

1.2. Répartition des patients selon le type anatomique

La répartition des patients selon le type anatomique de l'hypospadias est représentée dans le tableau 5.

Tableau 5: Répartition de patients selon le type anatomique.

Type anatomique	Effectif	Pourcentage (%)
Hypospadias antérieur	103	36,4
Hypospadias moyen	73	25,8
Hypospadias postérieur	107	37,8

Nous avons noté que l'hypospadias postérieur était le plus fréquent (37,8%), la forme pénoscrotal constituait (29%), et la forme périnéal constituait (27,1%), alors que l'hypospadias moyen représente le pourcentage le plus faible (25,8%). Pour l'hypospadias

antérieur, il représente un pourcentage important (36,4%) qui est également très proche de l'hypospadias postérieur, la forme balanique constituait (37,9%) de ce type.

Les mêmes résultats ont été signalés dans l'étude menée par **Hmidchat *et al.* (2009)**, montrant que 11 patients avaient un hypospadias postérieur (37%) et 9 patients avaient un hypospadias antérieur avec une fréquence très proche à celle de l'hypospadias postérieur (30%). La fréquence la plus faible a été retrouvée chez 7 patients ayant un hypospadias moyen (23%).

1.3. Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge

Cette répartition a été enregistrée uniquement pour la période du 11 juin 2019 jusqu'au 03 octobre 2020 avec un nombre total de patients N=141 (figure 9).

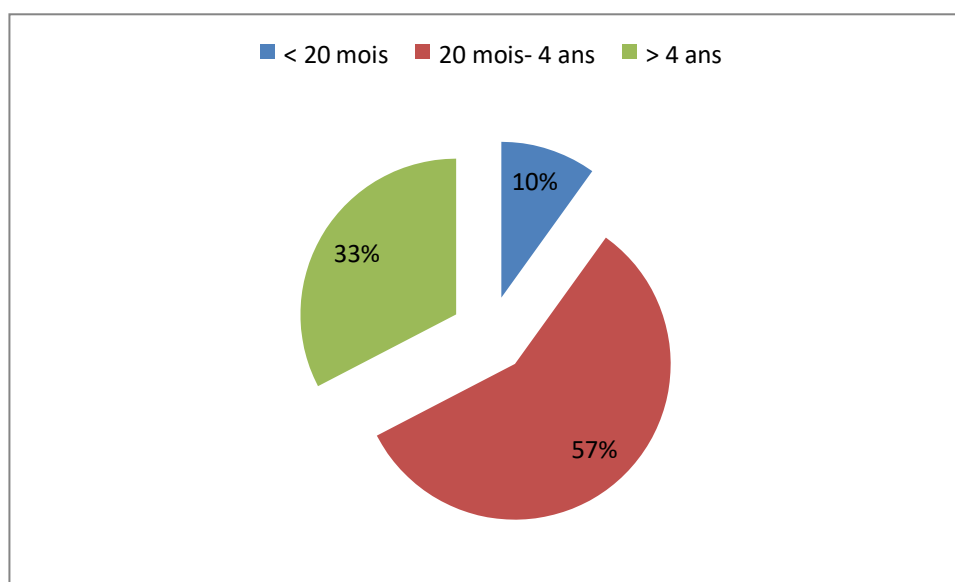


Figure 9 : Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge.

Nous avons observé que la plupart des patients (81 patients) ont subi une intervention chirurgicale de l'hypospadias entre l'âge de 20 mois et 4 ans avec une fréquence de 57,44%. 32,62% des patients ont subi une intervention chirurgicale à l'âge de 4 ans ou plus (46 patients), alors que le pourcentage le plus faible (9,92%) concernait les patients ayant subi une intervention chirurgicale à l'âge de moins de 20 mois (14 patients).

Les résultats obtenus sont légèrement proches de ceux rapportés par **Wilkinson *et al.* (2017)**, montrant que 90% des enfants identifiés nécessitant soit une première révision complète ou première correction d'une complication et opérés dans les 38 mois (à l'âge de 3 ans) suivant la réparation primaire.

En revanche, nos résultats sont en désaccord de ceux publiés par **Doumbia**, (2014) qui a déclaré que la prise en charge de la majorité des patients a été faite après 5 ans.

1.4. Répartition des patients selon les malformations associées

Cette répartition a été faite à l'aide d'une étude statistique du chirurgien pédiatre de la clinique Nissia (Tableau 6).

Tableau 6 : Répartition des patients selon les malformations associées

Malformations	Pourcentage (%)
Prépuce incomplet	36
La coudure de la verge	34 (100 postérieur, 50 moyen, 10 antérieur)
Le micro-pénis	10 (90 postérieur)
Absence congénital du prépuce	0
Sténose du méat	9 (tous les types)
DDS	7 ((47, XXY) ; (48, XXXY) ; (45, X0))
Des anomalies cardiaques	1 (Très rare)
Anomalies génétiques	3 (trisomies)

Le prépuce incomplet et la coudure de la verge ont été observés comme étant les deux malformations associées les plus courantes, de 36 % et 34 % respectivement, ces malformations étaient plus fréquentes dans l'hypospadias postérieur.

Les anomalies cardiaques (1%) et les anomalies génétiques (3%) sont très rares, alors que l'absence congénital du prépuce est inexistant (0%).

Les résultats obtenus sont très similaires aux résultats de **Debbbarh**, (2009), qui a signalé que la malformation la plus fréquente était le prépuce incomplet avec une fréquence de 26,6%, suivi de la coudure de la verge (24%) et le micro-pénis (20%).

La coudure de la verge, présente chez 26 patients, était la principale anomalie associée à l'ectopie du méat urétral (**Diallo et al.**, 2008).

2. Etude transversale de type cas-témoins

Au total, 28 cas ont été collectés, dont 12 cas d'hypospadias et 16 cas témoins. Les informations nécessaires pour chaque patient ont été recueillies à partir d'un questionnaire rempli par nous même, et ces informations ont été saisies dans un fichier Excel.

2.1. Répartition des hypospades selon le type anatomique

La répartition des patients hypospades selon le type anatomique est représentée dans la figure 10.

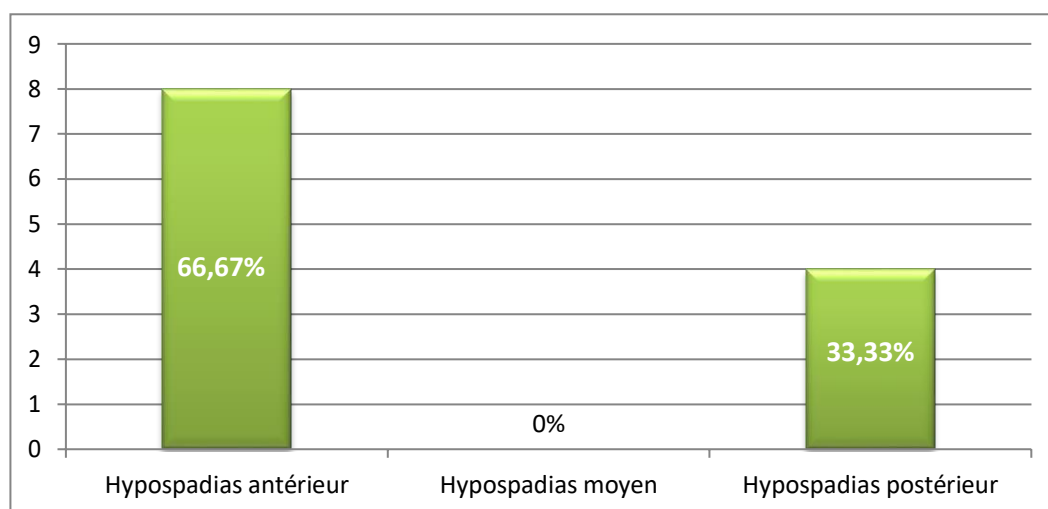


Figure 10 : Répartition des hypospades selon le type anatomique.

Dans notre population, l'hypospadias antérieur est le type le plus fréquent avec un pourcentage de 66,67%, suivi par l'hypospadias postérieur avec une fréquence de 33,33%, l'hypospadias moyen est inexistant dans notre série.

Selon la répartition anatomique de **Debarh, (2009)**, l'hypospadias antérieur était le plus fréquent (84%), identiquement à nos résultats, alors que l'hypospadias moyen constituait 9,7% contre 6% pour l'hypospadias postérieur.

Les résultats de **Diallo et al. (2008)** sont proches de ceux observés dans notre échantillon et ont évoqué que l'hypospadias était antérieur dans la moitié des cas, moyen dans 12 cas et postérieur dans 18 cas.

Cependant, les résultats de **Tlili et al. (2017)** ont montré qu'il s'agissait de 134 cas d'hypospadias antérieurs (43,8 %), 140 moyens (45,8 %) et 32 postérieurs (10,5 %).

2.2. Répartition de la population selon l'âge

Notre population est constituée de 12 cas qui sont répartis selon des tranches d'âge de 10 ans (Tableau 7).

Tableau 7 : Répartition de la population selon l'âge.

Tranches d'âge (ans)	Patients (N=12)	
	Nombre	Fréquence %
< 10	8	66,6
[10-20[0	0
[20-30[1	8,33
[30-40[1	8,33
[40-50[2	16,66

Nous avons noté que l'incidence de la maladie est particulièrement importante dans la tranche d'âge < 10 ans avec un taux de **66,66%**.

Nos résultats corroborent avec ceux déclarés par **Diallo *et al.* (2008)**. Selon cette étude, l'âge moyen des patients était de 8 ans avec des extrêmes d'un jour et 33 ans, 40% des patients avaient moins de 4 ans. Les patients de plus de 20 ans représentaient uniquement 16,7% de l'échantillon étudié.

2.3. Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge

La répartition selon l'âge de la prise en charge des patients hypospades est représentée dans le tableau 8.

Tableau 8 : Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge.

Age	Effectif (cas)	Pourcentage (%)
< 3 ans	1	8,3
Entre 3 à 5 ans	7	58,4
> 5 ans	4	33,3

La tranche d'âge entre 3 à 5 ans est la plus représentée avec un pourcentage de 58,4%, suivi par un pourcentage de 33,3% de patients qui sont âgés de plus de 5 ans.

Le plus jeune enfant qui a subi la chirurgie avait 2 ans, avec un hypospadias antérieur, et l'hypospade le plus âgé qui a subi la chirurgie avait 49 ans avec un hypospadias antérieur aussi.

Selon **Doumbia et Mieusset, (2014 ; 2011)**, la prise en charge de la majorité des patients a été faite après 5 ans.

L'étude de **Mieusset, (2011)** a signalé que l'âge moyen et l'âge médian d'intervention pour un hypospade sont respectivement de 1,7 an (20 mois) et un an pour l'ensemble de la période.

2.4. Répartition des patients en fonction de l'origine géographique

Les patients qui ont été inclus dans cette étude proviennent de 5 Wilaya différentes de l'Algérie (Tableau 9).

Tableau 9 : Répartition des hyospades en fonction de l'origine géographique.

Wilaya	Effectif	%
Constantine	8	66,66
Skikda	1	8,33
Tébessa	1	8,33
Souk-Ahras	1	8,33
Collo	1	8,33

Nous avons remarqué que la Wilaya de Constantine compte le plus grand nombre de patients avec un pourcentage de 66,66%, ceci peut être due au fait que Constantine est la wilaya où l'étude a été menée. Les autres Wilayas sont représentées avec des proportions égales.

Dans une étude faite au Québec, il a été retrouvé que des variations régionales significatives sont observables, ce qui se rapproche des résultats obtenus. D'autres études sont nécessaires afin d'évaluer l'hypothèse d'un lien avec les contaminants environnementaux en émergences (**Guertin et al., 2011**).

2.5. Répartition des patients selon le poids à la naissance

Nous avons pu faire une répartition des patients recrutés selon le poids de naissance uniquement pour 8 hyospades et 15 témoins (Tableau 10).

Tableau 10 : Répartition selon le poids à la naissance.

Le poids	Patients (N=8)		Témoins (N=15)	
	Nombre	%	Nombre	%
< 3kg	4	50	8	53,33%
> 3kg	4	50	7	46,66%

La moitié (50%) des malades pèsent moins de 3kg, et l'autre moitié pèse plus de 3kg. Ces résultats sont similaires aux résultats de **Dokter et al. (2020)**, qui ont remarqué que le poids médian à la naissance était de 3,33 kg (1,9 kg – 4,2 kg).

Chez les témoins, les résultats sont presque comparables 53,33% des sujets pèsent moins de 3kg et 46,66% pèsent plus de 3kg.

2.6. Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels (avortements)

La répartition selon les antécédents d'avortement de la mère est représentée dans la figure 11.

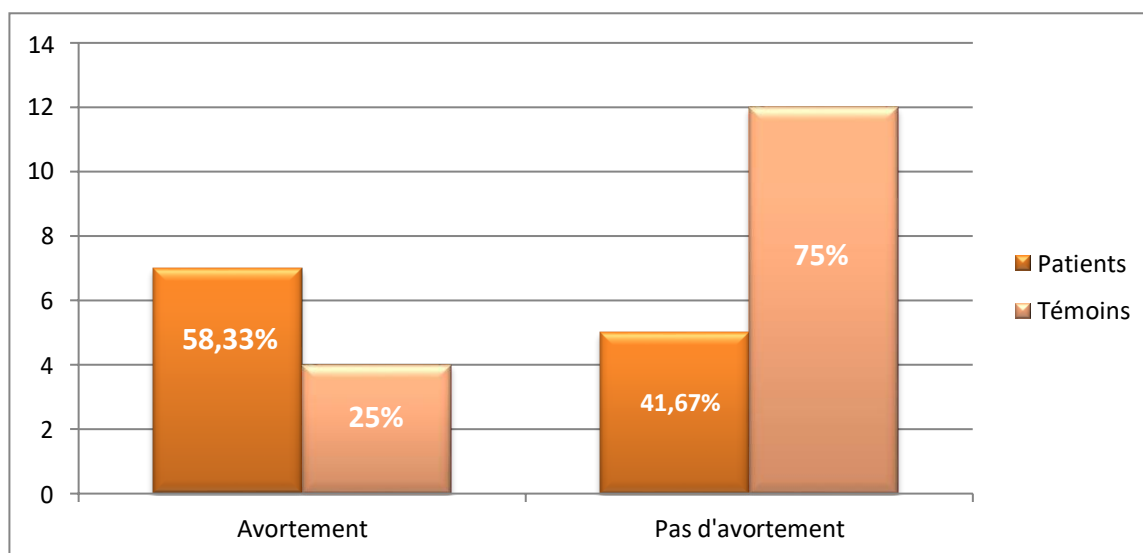


Figure 11 : Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels.

Le taux d'avortement chez les mères des hypospades est environ 60%, c'est un taux très élevé par rapport aux taux d'avortement chez les mères des témoins (25%).

Aucune étude antérieure n'a évoqué l'influence d'antécédent d'avortement et la naissance d'un bébé hypospade.

2.7. Répartition selon l'âge de la mère pendant de la grossesse

La répartition selon l'âge de la mère d'hypospade est évoquée dans le tableau 11.

Tableau 11 : Répartition selon l'âge de la mère pendant la grossesse.

L'âge de la mère (ans)	Nombre	La fréquence
< 25	3	25%
[25-30]	3	25%
> 30	6	50%

Nous avons observé que la moitié de la population sont des femmes âgées de plus de 30 ans, ce qui est similaire à l'étude de **Fisch et al. (2001)**, dans laquelle l'âge maternel avancé est significativement associé à l'hypospadias. Ainsi, une élévation de 50% des cas

graves a été démontrée chez les enfants de mère âgée de 35 ans comparativement aux mères de moins de 20 ans.

Dans une étude qui a été faite en 2017 par **Lamarche *et al.***, il a été démontré que le risque de certaines anomalies congénitales non chromosomiques connaissait une hausse avec l'âge maternel. L'âge maternel avancé de 35 à 40 ans a été associé à une hausse du risque d'hypospadias du deuxième degré ou de degré supérieur (RC 1,85 ; IC à 95%, 1,33 – 2,58).

2.8. Répartition selon la profession du père (N=12)

La répartition selon l'occupation du père est représentée dans le tableau 12.

Tableau 12 : Répartition selon l'occupation du père.

Profession	Nombre	Fréquence
Maçon	1	8,33
Ouvrier	1	8,33
Agriculteur	3	25
Forgeron	2	16,66
Agent de sécurité	1	8,33
Officier	2	16,66
Ingénieur (Génie civil)	1	8,33
Commerçant	1	8,33

Nous avons remarqué que la fréquence la plus élevée est celle de l'agriculteur (25%), suivi par une fréquence de 16,66% (de forgeron et officier), tous les autres métiers ont été représentés avec la même fréquence de 8,33%.

Béranger *et al.* (2014) ont noté que 30% des cas (8 sur 28) étaient des agriculteurs ou ouvriers agricoles, 22% (6) ont déclaré une exposition aux pesticides, et 22% (6) une exposition aux fumées de soudage.

Winston *et al.* (2014) ont également investigué le rôle potentiel joué par les facteurs environnementaux. Il est plausible que les perturbateurs endocriniens chimiques, y compris certains pesticides, pourraient interrompre la fermeture urétrale normale et entraîner un hypospadias. Une méta-analyse des études menées entre 1966 et 2008 ont avancé une association modeste entre l'hypospadias et l'exposition professionnelle paternelle aux pesticides.

2.9. Répartition selon le nombre de chirurgies pratiquées

La répartition selon le nombre de chirurgie qu'ayant subi les hypospades est indiquée dans le tableau 13.

Tableau 13 : Répartition selon le nombre de chirurgies pratiquées.

Nombre d'opérations	Nombre de patients	Fréquence %
pas de chirurgie	3	25
1 seule fois	7	58,33
3 fois	1	8,33
5 fois	1	8,33

Le nombre des patients qui ont subi une réparation en une seule étape était de 8/12 avec une fréquence importante de 58,33%. Ces résultats sont similaires aux résultats de **Diallo et al. (2008)** qui ont observé que 70% (n=42) des patients ont bénéficié d'une réparation en un seul temps et 30% (n = 18) des cas ont bénéficié d'une réparation en deux temps.

3. Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme I/D du gène *HLA-G*

Nous n'avons pu obtenir que 20 résultats de l'analyse génétique du polymorphisme du gène *HLA G*, 10 hypospades et 10 témoins.

Le profil de l'électrophorèse nous a permis de déceler 2 génotypes, l'homozygote (DD) avec une bande de 127pb pour l'allèle del, et l'homozygote (II) avec une bande de 141pb pour l'allèle ins, aucun génotype d'hétérozygote n'a été obtenu (figure11).

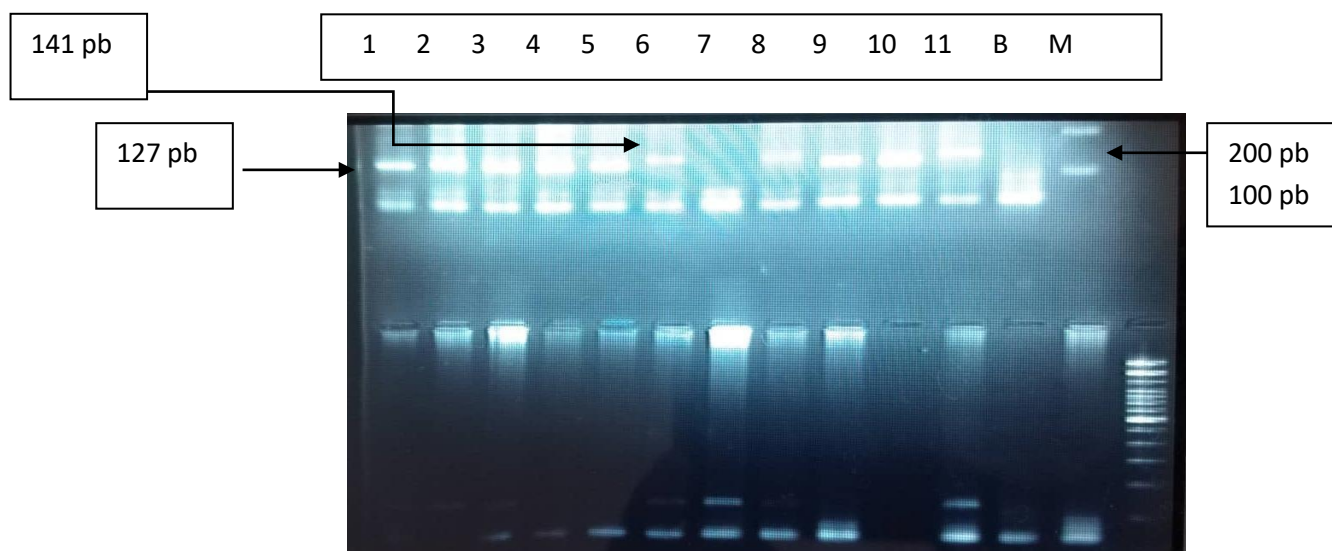


Figure 12: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des fragments amplifiés par PCR du polymorphisme ID gène *HLA G* (1-11 : témoins ; B : blanc ; M : marqueur de taille (100pb)).

Le génotype homozygote II présente une seule bande de 141pb ; le génotype homozygote DD présente une seule bande de 127pb. L'hétérozygote ID qui n'a pas été observé dans notre échantillon (patients et témoins) devait présenter les deux bandes de 141 et 127pb.

3.1 Répartition des patients et des témoins selon les fréquences génotypiques et alléliques

À partir des résultats obtenus, les fréquences génotypiques et alléliques ont été calculées (Tableau 14).

Tableau 14 : Répartition des fréquences génotypiques et alléliques parmi les patients et les témoins

<i>HLA G</i> 14pb	Patients		Témoins		OR (95%CI)	<i>P</i> value
	n	%	n	%		
Co-dominant						
del/del	5	50	7	70		
del/ins	0	0	0	0	/	/
ins/ins	5	50	3	30	2,33[0,27-22,25]	0,64
Allèles						
del	10	50	14	70		
ins	10	50	6	30	2,33[0,53-10,55]	0,33

Nos résultats ont montré que 50% des patients étaient homozygotes DD, et 50% homozygotes II, alors qu'aucun des patients ne représente le génotype hétérozygote DI.

De même, chez les témoins nous avons remarqué que le génotype homozygote DD est le plus représenté avec une fréquence de 70%, suivi par une fréquence génotypique de 30% pour l'homozygote II, aucun témoin n'était porteur du génotype hétérozygote DI.

Malgré que la fréquence du génotype DD est plus élevée chez les témoins par rapport aux patients mais les calculs des OR et de *P value* ($P > 0,05$), a affirmé que les résultats sont statistiquement non significatifs. Nous pouvons conclure qu'il n'existe pas d'association entre le polymorphisme D/I du gène *HLA G* et l'hypospadias dans notre population d'étude.

A notre connaissance, dans la littérature scientifique, aucune étude antérieure sur l'hypospadias et le polymorphisme D/I du gène *HLA G*, n'a été effectuée jusqu'au 2022.

Une étude a été publiée en 2015, a révélé qu'aucune association entre le polymorphisme 14 bp I/D du gène *HLA-G* et la susceptibilité à la PR (la polyarthrite rhumatoïde). Compte tenu des rôles importants de l'HLA-G dans le processus immunologique (**Lee et al., 2015**).

Dans une autre étude Grecque, portait sur 170 patients atteints de DT1 (Type I diabetes) juvénile, les résultats ont révélé qu'aucune association significative n'a été déterminée dans la distribution des allèles ou des génotypes entre les patients atteints de DT1 et les témoins (**Gerasimou et al., 2016**).

D'autres études sur le même variant génique on évoqué que le polymorphisme HLA-G 14-bp Ins/Del n'a pas pu influencer le risque de cancer (**Zhang et al., 2014**).

En 2006, une recherche a porté sur l'implication de ce variant allélique dans les avortements spontanés récurrents, mais aucune association n'a été déclarée (**Yan et al., 2006**).

Cependant, une étude récente a signalé son implication dans la susceptibilité au cancer colorectal (**Dhouioui et al., 2022**).

La présence de l'ins de 14 pb a affecté la stabilité de l'ARNm, la production de protéines et a été associée à des pathologies de la grossesse et à des maladies auto-immunes. L'allèle HLA-G contenant la séquence 14-bp a été associé à un niveau d'ARNm significativement plus faible que celui contenant la séquence 14-bp supprimée et lié à une production de protéine HLA-G plus faible. Par conséquent, le polymorphisme 14-bp de *HLA-G* peut jouer un rôle crucial dans la modulation de l'expression de HLA-G (**Fan et al., 2014**).

Conclusion et perspectives

L'hypospadias est une malformation congénitale masculine dont la fréquence est en croissance dans le monde qui doit être prise en charge dès le plus jeune âge.

Notre étude transversale de types cas-témoins (à propos de 28 cas), et l'étude rétrospective (283 cas d'hypospadias), avait pour but d'étudier l'hypospadias dans la population algérienne d'une part et de rechercher d'éventuelle association entre le polymorphisme I/D du gène *HLA-G* et l'hypospadias d'autre part. Cela nous a permis de tirer quelques conclusions :

- selon l'étude rétrospective, 57,45% des hypospades ont été opérés entre l'âge de 20 mois et 4 ans, alors que dans l'étude transversale, 58,4% des hypospades ont été opérés entre l'âge de 3 ans et 5 ans.
- une prédominance des formes antérieures avec 66,67% dans l'étude transversale, alors que dans l'étude rétrospective le type postérieur présente 37,8% suivi par une fréquence très proche de 36,4% pour le type antérieur.
- une augmentation de nombre des cas d'hypospadias au fil des années.
- le prépuce incomplet et la coudure de la verge ont été les deux malformations associées les plus courantes, à 36 % et 34 %, respectivement.
- 50% des mères sont âgées de plus de 30 ans.

Concernant l'exploration génotypique du polymorphisme I/D de l'*HLA-G*, nous avons remarqué des fréquences génotypiques et alléliques égales (50%/50%) chez les hypospades, et une prédominance du génotype DD et de l'allèle D (70%) chez les témoins. Les tests statistiques effectués ont montré une absence association entre le polymorphisme I/D de l'*HLA G* et la survenue de l'hypospadias.

À la lumière de ce travail de recherche et des résultats obtenus, laissent entrevoir de nombreuses perspectives afin d'approfondir et compléter ce travail :

- Etendre le nombre de patients ce qui permet un traitement statistique des données afin de dégager des conclusions plus précises.
- Etudier d'autres gènes impliqués dans l'hypospadias, comme : les gènes *WT1* et *SFI* qui jouent un rôle majeur dans le développement du système urogénital, en prenant en considération les facteurs environnementaux, géographiques et ethniques, seules des actions coordonnées entre endocrinologues pédiatres et adultes, chirurgiens urologues et biologistes aboutiront.

Références bibliographiques

- Abdelhalim KM, et El-Sakka A.** (2021). Relationship between maternal age and anogenital distance in patients with primary hypospadias: A case-control study. *Arab Journal of Urology*. 19, 166-172.
- Adamovic T, et Nordenskjöld A.** (2012). The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene modifies the risk for hypospadias in Caucasians. *BMC medical genetics*, 13, 1-4.
- Aitbihi B.** (2012). Technique de Snodgrass dans la prise en charge de l'hypospadias : A propos de 45 cas. Thèse de doctorat. Université Mohammed V.183p.
- Akre O, Boyd HA, Ahlgren M, et al.** (2008). Maternal and Gestational Risk Factors for Hypospadias. *Environmental Health Perspectives*. 116, 1071-1076.
- Béranger R, Blain J, Baudinet C, et al.** (2014). Tumeurs germinales du testicule et expositions précoces aux pesticides: étude pilote TESTEPERA. *Bulletin du cancer*. 101, 225-235.
- Bergman JE, Loene M, Vrifheid M, et al.** (2015). Epidemiology of hypospadias in Europe : a registry _base study. *World J Urol*. 33, 2159-2167.
- Boudaoud D, Pons M, Bouche Pillon Persyn MA, et al.** (2016). Hypospadias. *Annales de chirurgie plastique et esthétique*. 61, 439-449.
- Bouhafs A, Mege JL, Dubois R.** (2002). Technique de Duplay modifiée dans le traitement de l'hypospadias. A propos de 585 cas. *In Annales d'urologie*. 36, 196-203.
- Bouty A, Ayers KL, Pask A, et al.** (2015). The genetic and environmental factors underlying hypospadias. *Sexual Development*. 9, 239-259.
- Bouvattier C.** (2013). Hypospadias : quel bilan et quand ?. *Archives de Pédiatrie*. 20, S5-S10.
- Carosella ED, Rouas-Freiss N, Tronik-Le Roux D, et al.** (2015). HLA-G: an immune checkpoint molecule. *Advances in immunology*, 127, 33-144.
- Codner E, Okuma C, Iñiguez G, et al.** (2004). Molecular study of the 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene type II in patients with hypospadias. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89, 957-964.
- Cour F, Droupy S, Faix A, et al.** (2013). Anatomie et physiologie de la sexualité. *Progrès en urologie*, 23, 547-561.
- Debbarh FZ.** (2009). Hypospadias chez l'enfant (A propos de 82 cas). Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. 201p.
- Demède D, e Silva EDM, Gorduzza D, et al.** (2008). Actualités sur l'hypospade. *Archives de pédiatrie*. 15, 1366-1374.

- Dhouioui S, Laaribi AB, Boujelbene N, et al.** (2022). Association of HLA-G 3' UTR polymorphisms and haplotypes with colorectal cancer susceptibility and prognosis. *Human Immunology*, 83, 39-46.
- Diallo AB, Bah I, Toure BM, et al.** (2008). L'hypospadias: aspects anatomo-cliniques et thérapeutiques au CHU de Conakry Guinée. *Andrologie*. 18, 131-136.
- Dokter EM, van der Zanden LF, Laumer SJ, et al.** (2020). Development of a prediction model for postoperative complications after primary hypospadias correction. *Journal of Pediatric Surgery*. 55, 2209-2215.
- Doumbia YA.** (2014). Prise en charge de l'hypospadias dans le service d'urologie du CHU Gabriel Touré. Thèse de doctorat. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB). 100p.
- Elumalai G et Owobamiduro VO.** (2017). "Bladder duplication" embryological basis and its clinical importance. *Elixir Embryology*. 102, 44449-44452.
- Fan W, Li S, Huang Z, et al.** (2014). Relationship between HLA-G polymorphism and susceptibility to recurrent miscarriage: a meta-analysis of non-family-based studies. *J Assist Reprod Genet*. 31, 173-184.
- Fisch H, Golden RJ, Libersen G L, et al.** (2001). Maternal age as a risk factor for hypospadias. *The Journal of urology*. 165, 934-936.
- George M, Schneuer F. J, Jamieson S. E, et al.** (2015). Genetic and environmental factors in the aetiology of hypospadias. *Pediatric Surgery International*. 31, 519-527.
- Gerasimou P, Skordis N, Picolos M, et al.** (2016). HLA-G 14-bp polymorphism affects the age of onset in Type I Diabetes Mellitus. *International journal of immunogenetics*. 43, 135-142.
- Gregori S, Amodio G, Quattrone F, et al.** (2015). HLA-G orchestrates the early interaction of human trophoblasts with the maternal niche. *Frontiers in immunology*, 6, 128.
- Guertin S, Lemieux KS, Makhoulian N, et al.** (2011). Variation spatiotemporelle de la cryptorchidie et de l'hypospadias au Québec : Une étude exploratoire. *Canadian Urological Association journal = Journal de l'Association des urologues du Canada*. 5, 167-171.
- Hmidchat M, Moudouni S, et Sarf M.** (2008-2009). L'hypospadias de l'adulte. Thèse NX. Faculté de Médecine et de Pharmacie – Marrakech.
- Huang B, Wang S, Ning Y, et al.** (1999). Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. *Am J Med Genet*. 87, 349-53.
- Hutson JM.** (2018). Cryptorchidism and Hypospadias. [Updated 2018 Jul 10]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
- Kalfa N, Gaspari L, Ollivier M, et al.** (2019). Molecular genetics of hypospadias and

cryptorchidism recent developments. *Clin Genet.* 95, 122-131.

- Kalotra V, Lall M, Verma I C, et al. (2018).** The HLA-G 14 bp insertion/deletion polymorphism and its association with soluble HLA-G levels in women with recurrent miscarriages. *Immune Response Genetics*. 91, 151-252.
- Kaminski V, Ellwanger JH, et Chies JAB. (2017).** Down-regulation of HLA-G gene expression as an immunogenetic contraceptive therapy. *Medical Hypotheses*. 102, 146-149.
- Kong X, Luo J, Xiang H, et al. (2021).** Expression of Mafb is down-regulated in the foreskin of children with hypospadias. *Journal of Pediatric Urology*, 17, 70-e1.
- Kraft KH, Shukla AR, et Canning DA. (2010).** Hypospadias. *Urologic Clinics*, 37, 167-181.
- Lamarche LR. 2017.** Vivre une première grossesse au-delà de 35 ans, c'est comment?.
- Le Maoult J, et Yan WH. (2021).** The Biological and Clinical Aspects of HLA-G. *Frontiers in Immunology*. 12, 649344.
- Lee YH, Bae SC, et Song GG. (2015).** Meta-analysis of associations between functional HLA-G polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 35, 953-961.
- Leipoldt M, Erdel M, Bien-Willner GA, et al. (2007).** Two novel translocation breakpoints upstream of SOX9 define borders of the proximal and distal breakpoint cluster region in campomelic dysplasia. *Clin Genet*. 71, 67-75.
- Li K, Zhang X, Yan G, et al. (2021).** Prenatal Diagnosis and Classification of Fetal Hypospadias: The Role and Value of Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 53, 1862-1870.
- Maciel-Guerra AT, de Mello MP, Coeli FB, et al. (2008).** XX Maleness and XX true hermaphroditism in SRY-negative monozygotic twins: additional evidence for a common origin. *J Clin Endocrinol Metab*. 93, 339-43.
- Mieusset R. (2011).** Malformations urogénitales: rapport de l'Institut de veille sanitaire sur les cryptorchidies et hypospadias opérés en France chez les garçons de moins de sept ans. *Basic and Clinical Andrology*. 21, 167-170.
- Monti M, Lupoli R, Sosa Fernandez LM, et al. (2019).** Association of human leukocyte antigen-G 14 bp polymorphism with recurrent pregnancy loss in European countries: a meta-analysis of literature studies. *Fertil Steril*. 112, 577-585.
- Moreno-Garcia M et Miranda EB. (2002).** Chromosomal anomalies in cryptorchidism and hypospadias. *J Urol*. 168, 2170-2172.
- Moscovici J, Galinier P, et Le Mandat A. (2009).** Hypospadias. Prise en charge chirurgicale. *Archives de pédiatrie (Paris)*. 16, 954-955.

- Orkiszewski M. (2012).** A standardized classification of hypospadias. *Journal of Pediatric Urology*. 8(4), 410–414.
- Ouedrhiri Kh. (2019).** Hypospadias Antérieur. Thèse doctorat ; Université Mohammed V de Rabat, Faculté de médecine et de pharmacie.
- Piccoli G, Clari R, Vigotti F, et al. (2015).** Vegan-vegetariandiets in pregnancy: danger or panacea? A systematic narrative review. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 122, 623-633.
- Raghavan R, Romano ME, Karagas MR, et al. (2018).** Pharmacologic and Environmental Endocrine Disruptors in the Pathogenesis of Hypospadias: a Review. *Current Environmental Health Reports*. 5, 499-511.
- Raherison RA. (2008).** Prise en charge chirurgicale des amputations du pénis après circoncision vues au CHU/HJRA. Mémoire de Diplôme d'Etude de Formation Spécialisée (DEFS) en chirurgie générale. Université d'Antananarivo. 41p.
- Rey RA, Codner E, Iñiguez G, et al. (2005).** Low risk of impaired testicular Sertoli and Leydig cell functions in boys with isolated hypospadias. *J Clin Endocrinol Metab*. 90, 6035-6040.
- Rocher L, Glas L, Cluzel G, et al. (2012).** Imaging tumours of the penis. *Diagnostic and Interventional Imaging*. 93, 319-328.
- Sarkis P, Farran F, Khoury R, et al. (2009).** Gangrène de Fournier: revue de la littérature récente. *Progrès en urologie*. 19, 75-84.
- Schnack TH, Zdravkovic S, Myrup C, et al. (2008).** Familial aggregation of cryptorchidism--a nationwide cohort study. *Am J Epidemiol*. 167, 1453-1457.
- Silva HP, Ururahy MA, Souza KS, et al. (2016).** The association between the HLA-G 14-bp insertion/deletion polymorphism and type 1 diabetes. *Genes & Immunity*. 17, 13-8.
- Sipak-Szmigiel O, Cybulski C, Lubiński J, et al. (2008).** HLA-G polymorphism in a Polish population and reproductive failure. *Tissue Antigens*. 71, 67-71.
- Society for Mternal-Fetal Medcine (SMFM), Sparks TN (2021).** Hypospadias. *Amercian journal of obstetrics and gynecology*. 225, 18-20.
- Stein R. (2012).** Hypospadias. *Suppléments européens d'urologie*. 11 : 33-45.
- Thorup J, Nordenskjöld A, et Hutson JM. (2014).** Genetic and environmental origins of hypospadias. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*. 21, 227-232.
- Tlili G, Bouassida K, Acacha E, et al. (2017).** Cure de l'hypospadias: comparaison des différentes techniques chirurgicales sur une serie de 306 cas. *Progrès en Urologie*. 27, 762.

- Touabti S. (2014).** SFCP CO-32. L'utilisation de la technique Koff dans la correction des hypospadias multi opérés. *Archives de pédiatrie*. 21, 410.
- Tu LH, Spektor M, Ferrante M, et al. (2020).** MRI of the penis: indications, anatomy, and pathology. *Current problems in diagnostic radiology*. 49, 54-63.
- Turpin F, Hoa D, Faix A, et al. (2008).** IRM de la verge: intérêt dans le bilan post traumatique. *Journal de Radiologie*. 89, 303-310.
- Van der Horst HJ et Wall LL. (2017).** Hypospadias, all there is to know. *European Journal of pediatrics*. 176, 435-441.
- Van der Zanden LFM, Van Rooij IALM, Feitz WFJ, et al. (2012).** Aetiology of hypospadias: a systematic review of genes and environment. *Human reproduction update*. 18, 260-283.
- Vantomme M, Viard R, Aimard R, et al. (2019).** Apport du lambeau scrotal pour la couverture des escarres ischiatiques et périnéales. *In Annales de chirurgie plastique esthétique*. 64, 78-85.
- Vottero A, Minari R, Viani I, et al (2011).** Evidence for Epigenetic Abnormalities of the Androgen Receptor Gene in Foreskin from Children with Hypospadias. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 96, E1953–E1962.
- Webber DM, MacLeod SL, Bamshad MJ et al. (2015).** Developments in our understanding of the genetic basis of birthdefects. *Birth Defects Research Part A: Clinical and MolecularTeratology*. 103, 680-691.
- Wilkinson DJ, Green PA, Beglinger S, et al. (2017).** Hypospadias surgery in England: higher volume centres have lower complication rates. *Journal of Pediatric Urology*, 13, 481-e1.
- Yan WH, Fan LA, Yang JQ, et al. (2006).** HLA-G polymorphism in a Chinese Han population with recurrent spontaneous abortion. *International Journal of Immunogenetics*, 33, 55-58.
- Yiee J.H, et Baskin LS. (2010).** Penile embryology and anatomy. *The Scientific World Journal*. 10, 1174-1179.
- Zhang S, et Wang HT. (2014).** Association between HLA-G 14-bp insertion/deletion polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *J BUON*. 19(2), 567-572.

Sites web

<https://www.google.com/imgres> , (consulté le 6 mai 2022).

<https://doi.org/10.1093/humupd/dms002>

Annexes

Annexe 1 : Questionnaire (Malades)

Service..... Numéro d'entrée :.....Date : / /

Identité

Nom et Prénom :.....Age :

Tél :.....-.....-.....-.....Adresse :.....

Patient

Type d'hypospadias :

.....

Age de la prise en charge :

Taille et poids à la naissance : Taille Poids

Prématurité oui non

Retard de croissance intra utérin (RCIU) oui non

La mère

Age

Occupation pendant la grossesse

Malformations / maladies :.....

Mortinatalité : oui non

Habitat : a. Rural b. Urbain

.....

Le père

Age Occupation

Malformations / maladies.....

Fratrie non oui Nombre :

Antécédents familiaux d'hypospadias / ectopie testiculaire / hernie inguinale / micro-pénis ou autre anomalie urogénitale.....

Génétique

Consanguinité des parents : non oui Degré :

Cytogénétique : Caryotype non oui Résultat :

Apparition chez les jumeaux oui non

Bilan hormonal

FSH: LH: Testostérone:

AMH: ACTH:

Clinique

Anomalies associés :

.....

Examen :

.....

Annexe 2 : Extraction d'ADN au NaCl

1. Préparation des leucocytes

- Dans un type Falcon de 50 ml, mettre le sang total et compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 10 min à 3900g (3800rpm).
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
- Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une pipette stérile.
- Compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : obtention du culot leucocytaire.

2. Extraction de l'ADN

- Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 Mm. EDTA 2mM, Tris 10Mm, Ph 8,2) en dilacérant le culot avec une passette stérile.
- Ajouter 200 µl de SDS à 10% (100g SDS + H₂O 1000ml).
- Ajouter 100µl de protéinase K à 10mg/ml.
- Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain, refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en tournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
- Laisser éventuellement 30 min à -20 °C si la pelote ne se forme pas.
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
- Mettre la pelote dans un tube nunc.

3. Solubilisation

- Ajouter entre 300 et 1000 µl de TE 10 :1, selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur un agitateur rotateur à 37 °C puis à température ambiante jusqu'à la dissolution complété (1 à 2 jours).

Annexe 3 : Préparation des solutions

TE 20 : 5 : (tris 20mM, EDTA 5mM, pH 7.5) auto clavé.

Tris: 2,422g

EDTA: 1,86g qsp : 1L

TE 10 : 1 : (tris 10mM, EDTA 1Mm, pH 7.4) auto clavé.

Tris : 0,606g

EDTA: 0,1869g pour qsp : 500ml

Tampon de lyse :

NaCl 400Mm (23,36g)

Tris: 10mM (1,21g)

EDTA: 2mM (0,72g) pH8.2 qsp : 1L

Résumés

Résumé

L'hypospadias correspond à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge responsable d'un abouchement ectopique de l'urètre. C'est la deuxième malformation génitale chez le garçon avec 1 cas sur 250 naissances masculines. Son origine est souvent multifactorielle (génétique, endocrinienne et environnementale). Trois formes anatomiques existent : antérieure, moyenne et postérieure.

Objectif : notre travail est à double visée : réaliser une étude statistique (rétrospective et transversale) avec définition des caractéristiques cliniques et biologiques de la population d'étude d'une part, et d'autre part rechercher d'éventuelles associations entre le polymorphisme génétique I/D du gène *HLA-G* et l'hypospadias dans l'Est algérien.

Patients et méthodes : 12 hypospades ont participé à cette étude, comparés à 16 témoins. Après extraction de l'ADN leucocytaire par la méthode au NaCl, la séquence d'intérêt avait été amplifiée par PCR directe et analysée par électrophorèse.

Résultats : selon les résultats de l'étude statistique rétrospective, nous avons noté une augmentation de cette malformation avec le temps, la forme postérieure est la plus fréquente, ainsi le prépuce incomplet et la coudure de la verge ont été les deux malformations associées les plus courantes, 36 % et 34 %, respectivement. 50% des mères sont âgées de plus de 30 ans. Les statistiques obtenus de l'étude cas-témoins ont dévoilé que les deux génotypes DD et II sont représentés avec des fréquences génotypiques et alléliques égales (50% vs 50%), après le calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont montré une absence d'association significative entre les patients et les témoins ($p > 0,05$).

Conclusion : les tests statistiques effectués ont montré qu'il n'y a aucune association significative entre le polymorphisme I/D de l'*HLA-G* et la survenue de l'hypospadias dans la population de l'Est algérien, une étude avec un effectif plus important est nécessaire pour tirer des conclusions plus précises.

Mots clés : Hypospadias, malformation congénitale, paramètres cliniques et biologiques, polymorphisme I/D, gène *HLA-G*, PCR.

Abstract

Hypospadias is a hypoplasia of the tissues forming the ventral surface of the penis responsible for an ectopic abruption of the urethra. It is the second most common genital malformation in boys with 1 case in 250 male births. Its origin is often multifactorial (genetic, endocrine and environmental). Three anatomical forms exist: anterior, middle and posterior.

Objective: Our work has a double aim: to carry out a statistical study (retrospective and cross-sectional) with definition of the clinical and biological characteristics of the study population on the one hand, and on the other hand to search for possible associations between the I/D genetic polymorphism of the HLA-G gene and hypospadias in Eastern Algeria.

Patients and methods: 12 hypospadias participated in this study, compared to 16 controls. After extraction of leukocyte DNA by the NaCl method, the sequence of interest was amplified by direct PCR and analyzed by electrophoresis.

Results: According to the results of the retrospective statistical study, we noted an increase of this malformation with time, the posterior form is the most frequent, so the incomplete foreskin and the penis bend were the two most common associated malformations, 36% and 34%, respectively. 50% of the mothers were older than 30 years. The statistics obtained from the case-control study revealed that both DD and II genotypes are represented with equal genotypic and allelic frequencies (50% vs. 50%), after the calculation of the OR and *p-value*, the results showed no significant association between patients and controls ($p > 0.05$).

Conclusion: The statistical tests performed showed that there is no significant association between the *HLA-G* I/D polymorphism and the occurrence of hypospadias in the population of Eastern Algeria, a study with a larger number of patients is necessary to draw more precise conclusions.

Key words: Hypospadias, congenital malformation, clinical and biological parameters, I/D polymorphism, HLA-G gene, PCR.

ملخص

المبال او الاحليل التحتي هو نقص تنسج الأنسجة التي تشكل السطح الباطني للقضيب المسؤول عن تراكم مجري البول للاحليل. يعتبر ثاني تشوه في الأعضاء التناسلية لدى الأولاد مع حالة واحدة من أصل 250 ولادة ذكر. غالبًا ما يكون أصله متعدد العوامل (وراثي والغدد الصماء وعوامل بيئية) توجد ثلاثة أشكال تشريحية: الأمامي والمتوسط والخلفي.

الهدف: عملنا له هدف مزدوج، وهو إجراء دراسة إحصائية (بأثر رجعي ومقطع عرضي) مع تحديد الخصائص السريرية و البيولوجية لمجمع الدراسة، ومن ناحية أخرى للبحث عن ارتباطات محتملة بين تعدد الأشكال الجيني ID من جين HLA-G في شرق الجزائر.

المرضى و الطرق: شارك في هذه الدراسة 12 شخص مصاب بالمبال التحتاني، مقارنة بـ 16 مجموعة من الشواهد. بعد استخلاص الحمض النووي من الكريات البيضاء بطريقة NaCl، تم تضخيم السلسلة المهمة بواسطة PCR المباشر و تحليله بواسطة الرحلان الكهربائي (الهجرة الكهربائية).

النتائج: وفقا لنتائج الدراسة الإحصائية بأثر رجعي، لاحظنا زيادة في هذا التشوه بمرور الوقت، و الشكل الخلفي هو الأكثر شيوعا، و بالتالي فان القلفة غير المكتملة وانحناء القضيب هما أكثر التشوهين المرتبطين شيوعا بنسبة 36% و 34% على التوالي. 50% من الأمهات تزيد أعمارهن عن 30 سنة. أظهرت الإحصائيات التي تم الحصول عليها من دراسة الحالة و الشواهد أن النمط الوراثي DD و II يتم تمثيلها بترددات وراثية و أليلية متساوية (50% مقابل 50%)، بعد حساب OR و القيمة p، لم تظهر النتائج أي معنوية. الارتباط بين المرضى و الضوابط ($p > 0.05$).

الخلاصة: أظهرت الاختبارات الاحصائية التي تم اجراؤها أنه لا يوجد ارتباط معنوي بين تعدد الأشكال HLA-G ل I/D و حدوث المبال التحتاني عند سكان شرق الجزائر، هناك حاجة لدراسة عينة ذات حجم أكبر لنتائج أكثر دقة.

الكلمات المفتاحية: إحليل تحتى، تشوه خلقي، بارامترات كLINيكية و بيولوجية، تعدد الأشكال I/D، جين HLA-G، تفاعل البوليميراز المتسلسل.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : LATRECHE Chahinez – SLIMANI
Hawa- ZERTAL rabab.

Hypospadias et polymorphisme génique (implication du variant ID du gène *HLA G*)

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

L'hypospadias correspond à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge responsable d'un abouchement ectopique de l'urètre. C'est la deuxième malformation génitale chez le garçon avec 1 cas sur 250 naissances masculines. Son origine est souvent multifactorielle (génétique, endocrinienne et environnementale). Trois formes anatomiques existent : antérieure, moyenne et postérieure.

Objectif : notre travail est à double visée : réaliser une étude statistique (rétrospective et transversale) avec définition des caractéristiques cliniques et biologiques de la population d'étude d'une part, et d'autre part rechercher d'éventuelles associations entre le polymorphisme génétique I/D du gène HLA-G et l'hypospadias dans l'Est algérien.

Patients et méthodes : 12 hypospades ont participé à cette étude, comparés à 16 témoins. Après extraction de l'ADN leucocytaire par la méthode au NaCl, la séquence d'intérêt avait été amplifiée par PCR directe et analysée par électrophorèse.

Résultats : selon les résultats de l'étude statistique rétrospective, nous avons noté une augmentation de cette malformation avec le temps, la forme postérieure est la plus fréquente, ainsi le prépuce incomplet et la coudure de la verge ont été les deux malformations associées les plus courantes, 36 % et 34 %, respectivement. 50% des mères sont âgées de plus de 30 ans. Les statistiques obtenus de l'étude cas-témoins ont dévoilé que les deux génotypes DD et II sont représentés avec des fréquences génotypiques et alléliques égales (50% vs 50%), après le calcul de l'OR et de la p-value, les résultats ont montré une absence d'association significative entre les patients et les témoins ($p > 0,05$).

Conclusion : les tests statistiques effectués ont montré qu'il n'y a aucune association significative entre le polymorphisme I/D de l'HLA-G et la survenue de l'hypospadias dans la population de l'Est algérien, une étude avec un effectif plus important est nécessaire pour tirer des conclusions plus précises.

Mots-clefs : Hypospadias, malformation congénitale, paramètres cliniques et biologiques, polymorphisme I gène HLA-G, PCR.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Moléculaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Laboratoire de Biologie moléculaire et cellulaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadrant : CHELLAT Djalila (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : GHARZOULI Razika (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : DAOUI Zeineb (MCB - Université Batna 2).