



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale.. قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique

Intitulé :

Implication du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR dans l'Hypospadias

Présenté et soutenu par :

Le : 19/ 6/2023

BOUGUELLI Chaima

GHARFI Rahma

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHAOUI Naouel (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Rapporteur : CHELLAT Djalila (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Co-rapporteur : LAOUAR Rania (Doctorante - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur : REZGOUN Med Larbi (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2022-2023

Remerciements

**EN PREMIER LIEU, NOUS REMERCIONS « ALLAH » LE BON DIEU TOUT-
PUISSANT QUI NOUS A AMENES A CE JOUR ALHAMDULILLAH, QUI NOUS A
ECLAIRE TOUT LE LONG DE NOTRE PARCOURS ET NOUS A DONNE LA SANTE, LA
FORCE ET LA PATIENCE POUR MENER A BIEN NOTRE PROJET DE FIN D'ETUDE
COMME NOUS L'AVONS TOUJOURS ESPERE.**

NOTRE RECONNAISSANCE ET NOS REMERCIEMENTS VONT EN PREMIER LIEU A NOTRE ENCADREUR PROFESSEUR *REZGOUNE CHELLAT DJALILA*, QUI NOUS A FAIT L'HONNEUR DE DIRIGER CE PROJET DE FIN D'ETUDE AVEC UNE GRANDE GENTILLESSE ET BIENVEILLANCE. NOUS VOUS REMERCIONS POUR VOS CONSEILS AVISES, VOTRE AIDE, VOS ENCOURAGEMENTS QUI ONT CONSTITUES UN APPORT CONSIDERABLE SANS LEQUEL CE TRAVAIL N'AURAIT PAS PU ETRE MENE AU BON PORT.

NOUS EXPRIMONS NOS PLUS VIFS REMERCIEMENTS ET NOTRE PROFONDE GRATITUDE A *LAOUAR RANIA*, DOCTORANTE EN GENETIQUE . VOUS NOUS AVEZ GUIDEES ET CONSEILLEES TOUT AU LONG DE L'ELABORATION DE CE TRAVAIL AVEC LA COMPETENCE, LA DISPONIBILITE, L'ENCOURAGEMENT ET L'EXTREME GENTILLESSE QUI VOUS CARACTERISE.

AUX MEMBRES DU JURY

NOUS TENONS A REMERCIER SINCEREMENT NOTRE PRESIDENT DE JURY *MME CHAOUI NAOUAL*, MERCI INFINIMENT D'AVOIR ACCEPTE DE PRESIDER CE JURY ET POUR L'INTERET QUE VOUS AVEZ PORTE A CE TRAVAIL.

NOUS REMERCIONS *MONSIEUR REZGOUNE MOHAMED LARBI*, POUR AVOIR ACCEPTE D'EXAMINER NOTRE TRAVAIL ET AVOIR FAIT L'HONNEUR DE SIEGER AU JURY DE NOTRE SOUTENANCE.

AU PERSONNEL DU HOPITAL PEDIATRIQUE DU MANSOURAH TOUS NOS REMERCIEMENTS POUR LE BONDEROULEMENT DE NOTRE STAGE PRATIQUE ET EN PARTICULIER *PR. ATRIHE* ET LES CHIRURGIENS DU MANSOURAH ET MADEMOISELLE *BATOUL* ET *TAHANI* ET *MME WEDAD* .

NOS SINCERES REMERCIEMENTS A TOUT LES PROFESSEURS QUI NOUS ONT ENSEIGNE ET QUI PAR LEURS COMPETENCES NOUS ONT SOUTENU DANS LA POURSUITE DE NOS ETUDES. ENFIN, ON REMERCIE TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPES DE PRES OU DE LOIN A L'ELABORATION DE CE MEMOIRE DE MASTER.

MERCI

DEDICACES

POUR CHAQUE CREATEUR UNE REALISATION, POUR CHAQUE ACTION DE GRACE UN POEME, POUR CHAQUE ESSAI UN POSTE, ET POUR CHAQUE SUCCES MERCI ET APPRECIATION.

A L'OCCASION DE L'OBTENTION DE MON DIPLOME, JE TIENS A REMERCIER EN PREMIER LIEU MA MERE, **YASMIN**, QUI A PASSE SES JOURNEES A MON CONFORT, M'A ENCOURAGE ET M'A ACCOMPAGNE A CHAQUE INSTANT DE MES ETUDES. . PAR CONSEQUENT, J'ESPERE QUE VOUS ACCEPTEREZ CE CADEAU DE FIN D'ETUDES DE MA PART, AINSI QUE LE CERTIFICAT QUE J'AI REÇU EN GUISE DE CARTE DE REMERCIEMENT.

MON CHER PERE, **AZZEDINE**, MERCI ET APPRECIATION POUR TOUT CE QUE VOUS M'AVEZ DONNE ET VOS EFFORTS POUR ME RENDRE HEUREUX ET ME SOUTENIR MORALEMENT ET FINANCIEREMENT.

QUE DIEU TE PROTEGE ET TE PROTEGE ET TE GARDE UNE COURONNE SUR MA TETE

J'ADRESSE MES REMERCIEMENTS ET MA GRATITUDE A MES FRERES **CHAFIK**, **CHAÏMA**, **LOKMANET YOUSSEF AL-AMIN**, POUR VOTRE PRESENCE PRES DE MOI, CAR VOUS ETES MON SEUL SOUTIEN APRES MES PARENTS .

JE REMERCIE CHACUN DES MEMBRES DE LA FAMILLE "**BENTALB**" "**GHARFI**" "**BOAITTA**" "**DEROUICHE**" "**AISSAOUI**" "**BOULAZIB**" OLA POUR LE SOUTIEN QU'ILS M'ONT APORTE TOUT AU LONG DE MES CONSULTATIONS ACADEMIQUES

UN SALUT DE REMERCIEMENT ET D'APPRECIATION DU FOND DU CŒUR A MON AMI ET COMPAGNON SUR MON CHEMIN, «**CHAÏMA** », ET J'ESPERE QUE DIEU TOUT-PUISSANT PERPETUERA L'AMOUR ENTRE NOUS.

ENFIN, JE ME REMERCIE SINCEREMENT POUR LE SERIEUX, L'EFFORT, LA DILIGENCE ET LE SUCCES TOUT AU LONG DE MA CARRIERE UNIVERSITAIRE.

PREMIER DIPLOME PARENTALITE

DEDICACES

DU PROFOND DE MON CŒUR, JE DEDIE CE TRAVAIL A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS.

A MA CHERE MERE «**NORA BENTOUIL**» AUCUNE DEDICACE NE SAURAIT EXPRIMER MON RESPECT, MON AMOUR ETERNEL ET MA CONSIDERATION POUR LES SACRIFICES QUE VOUS AVEZ CONSENTI POUR MON INSTRUCTION ET MON BIEN ETRE.

A CELUI QUI M'A FAIT UNE FEMME, MA SOURCE DE VIE, D'AMOUR ET D'AFFECTION, A MON SUPPORT QUI ETAIT TOUJOURS A MES COTES POUR ME SOUTENIR ET M'ENCOURAGER, A MON CHERE PAPA.

JE VOUS REMERCIE POUR TOUT LE SOUTIEN ET L'AMOUR QUE VOUS ME PORTEZ DEPUIS MON ENFANCE ET J'ESPERE QUE VOTRE BENEDICTION M'ACCOMPAGNE TOUJOURS QUE CE MODESTE TRAVAIL SOIT L'EXAUCEMENT DE VOS VŒUX TANT FORMULES, LE FRUIT DE VOS INNOMBRABLES SACRIFICES. PUISSE DIEU, LE TRES HAUT, VOUS ACCORDER SANTE, BONHEUR ET LONGUE VIE.

ET A MES FRERES ET SŒUR, MON SOUTIEN APRES MON PERE DANS CETTE VIE. MON CHER FRERE **LAKHDER**, MA SŒUR BIEN-AIMEE **HADJER**, ET MES CHERS FRERES **OUSSAMA** ET **BOUBAKER**, MERCI POUR TON AMOUR SANS LIMITE ET POUR TON SOUTIEN CONTINU DE TOUTES SORTES A CHAQUE ETAPE DE MON PARCOURS. TU AS TOUJOURS ETE LA SOURCE DE MA FORCE ET DE MA REUSSITE, SANS TOI JE N'AURAI PAS ATTEINT CE JOUR SPECIAL. JE PRIE DIEU DE VOUS PROTEGER ET DE PROLONGER VOTRE VIE ET DE RENDRE VOTRE VIE PLEINE DE JOIES ET DE BONHEUR. ET SANS OUBLIER LES BIEN-AIMES DE LEUR TANTE, **RAMZI** ET **OUIAIS**, JE VOUS AIME.

A MON CHER FIANCE ET COMPAGNON DE ROUTE, **DJALALE**, QUI N'A CESSE DE ME DONNER DES CONSEILS, DES ENCOURAGEMENTS, ET DU SOUTIEN TOUT AU LONG DE MES ETUDES, ET MA SOURCE DE FORCE. MERCI INFINIMENT. JE T'AIME.

ET A MES CHERES TANTES. ET MA BIEN-AIMEE **LAILA** ET **HADA**, J'AI TOUJOURS ETE HEUREUSE DE VOUS AVOIR A MES COTES ET DE VOTRE AMOUR ET DE VOTRE SOUTIEN CONSTANTS POUR MOI. MERCI POUR TOUT CE QUE VOUS AVEZ FAIT POUR MOI. TU AS TOUJOURS ETE COMME UNE SECONDE MERE POUR MOI, JE T'AIME.

ET A MES CHERS ONCLES **YASSIN**, **SALIM**, **MORAD**. ET FEU **LAZHER**. CEUX QUI SONT HEUREUX DE NOTRE SUCCES ET ATTRISTES PAR NOTRE ECHEC. LEURS BONS SOUHAITS DE REUSSITE, LEUR SOUTIEN ET LEURS ENCOURAGEMENTS M'ONT PERMIS DE TRAVERSER UNE ETAPE DE MA VIE. MERCI BEAUCOUP ET BEAUCOUP DE RESPECT.

AUX AMIS FIDELES. **SAMIA**, **FALAH**, **ASSALA**, **KHADIJA**. ET MES CHERS COUSINES, **ASMA**, **MARIA**, **KHAWLA**, QUI N'ONT JAMAIS CESSE DE M'APPORTER AIDE, ASSISTANCE ET SOUTIEN DANS LES CIRCONSTANCES LES PLUS SOMBRES. MERCI MES BELLES.

SANS OUBLIER MON AMIE **RAHMA** POUR SON SOUTIEN MORAL, SA PATIENCE ET SA COMPREHENSION TOUT AU LONG DE CE PROJET. MERCI POUR CES BEAUX MOMENTS, TU AS ETE MON MEILLEUR AMI ET MON COMPAGNON D'ETUDE. J'AI ETE HONORE DE VOUS CONNAITRE ET HONORE DE TRAVAILLER AVEC VOUS. JE VOUS SOUHAITE UNE VIE HEUREUSE ET BELLE POUR VOUS ET VOTRE FAMILLE.

Liste des abréviations

ACTH :	Adreno Cortico Tropine Hormone.
ADN :	Acide désoxyribonucléique.
ADNase :	Désoxyribonucléase
AMH :	Anti-Mullerian Hormone.
AR :	Récepteur aux androgènes.
ARN :	Acide ribonucléique.
ARNm :	Acide ribonucléique messenger.
BET :	Bromod'Ethidium.
BMP :	Bone Morphogenic protein.
CpG :	Cytosine-guanine dinucleotides.
DDT :	Dichlorodiphényltrichloroéthane.
DHT :	Dihydrotestostérone.
DMRT1 :	Facteur de transcription lié à Doublesex et mab-3
DSD :	Trouble de la différenciation sexuelle.
EDC :	Endocrine disrupting chemicals.
EDTA :	Acide Ethylène Diamine Trétraçitique.
FAD :	Flavine adenine dinucleotide.
FGF :	Fibroblast growth factor
FGFR2 :	Fibroblast growth factor Receptor 2.
FSH :	Hormone de stimulation de follicule.
GATA4 :	Protéine de liaison GATA4.
HCG :	Hormone chorionique gonadotrope.
Hcy :	Homocystéine.
HOXA :	Homeobox A.
LH :	Hormone lutéinisante.
LHRH :	Luteinizing hormone releasing hormone
MAMLD1 :	Cerveau comme domaine contenant.
MTHFR :	Méthylène tétrahydrofolate réductase.
NADPH :	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.
PCR :	Polymérase Chaine Réaction.
SF1 :	Facteur Stéroïdogène 1.
SNA :	Système Nerveux Autonome.
SNAS :	Système Nerveux Autonome Sympathique.
SNP :	Polymorphisme d'un seul nucléotide.
SO2 :	Sulfur dioxide
SOX 9 :	SRY-Box Transcription Factor 9
SRD5 A2 :	Steroid5Alpha-Reductase2.
SRY :	Région déterminante du sexe du chromosome Y.
TE :	Tris EDTA.
THF :	Tétrahydrofurane.
WAGR Syndrome :	Wilms' tumor, aniridia, genitourinary.
WT1 :	Tumeur de Wilms.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Préparation du milieu réactionnel de la PCR.	31
2	Programmation des cycles de PCR.	31
3	Tableau de contingence.	33
4	Répartition des patients selon le type anatomique	35
5	Répartition des patients selon les malformations associées	36
6	Répartition des patients selon les facteurs de risque maternels	37
7	Répartition de la population selon l'âge de la prise en charge.	39
8	Répartition selon l'âge de la mère pendant la grossesse.	40
9	Répartition selon l'occupation du père.	41
10	Répartition selon le poids à la naissance.	42
11	Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les patients et les témoins.	44

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Développement des organes génitaux externes masculins et féminins	4
2	Coupe transversale du corps du pénis	7
3	Localisations possibles du méat urétral hypospadique	10
4	Classification de l'hypospadias	11
5	Anatomie chirurgicale de l'hypospadias	12
6	Interaction entre génétique et environnement dans la construction des phénotypes.	20
7	Localisation du gène MTHFR sur le chromosome 1	21
8	Les différents transcrits du gène MTHFR	21
9	Un modèle de la structure du MTHFR humain	22
10	Activité métaboliques de la MTHFR	23
11	Les structures des acides aminées : alanine et valine	24
12	Comparaison de la structure sauvage (normale) et mutée de la MTHFR	25
13	Site de restriction de l'enzyme HinfI.	32
14	Répartition des patients par année	38
15	Répartition des hypospades en fonction de l'origine géographique	40
16	Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels.	42
17	Contrôle PCR du polymorphisme C677T de la MTHFR	43
18	Profil électrophorétique du génotypage du variant C677T de la MTHFR.	43

Table des matières

Remerciements et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Embryologie et anatomie

1. Généralités.....	3
2. Appareil génital indifférencié.....	3
2.1. Gonade indifférenciée.....	3
2.2. Voies génitales indifférenciées.....	4
2.3. Organes génitaux externes indifférenciés	4
3. Appareil génital différencié.....	5
4. Anatomie de la verge.....	6
4.1. Constitution de la verge.....	6
5. Anatomie de l'urètre.....	7
6. Vascularisation et innervation du pénis.....	8
6.1. Vascularisation.....	8
6.2. Innervation.....	8

Chapitre 2 : épidémiologie, classification et étiologie

1. Définition.....	9
2. Épidémiologie.....	9
3. Classification.....	9
3.1. Selon la position du méat urétral.....	10
3.2. Selon la classification de BARCAT.....	11
4. Anatomie pathologique.....	11
4.1. Description des lésions anatomiques au cours de l'hypospadias.....	11
5. Anomalies associées.....	13
5.1. Anomalies génitales.....	13
5.2. Anomalies urinaires.....	13

5.3. Anomalies chromosomiques.....	14
5.4. Hypospadias syndromique.....	14
6. Etiologie.....	14
6.1. Facteurs de risque maternel.....	14
6.2. Facteurs de risque environnementaux.....	15
6.3.Facteurs de risque génétique.....	16
6.4.Facteur de risque héréditaire.....	16
6.5.Facteurs de risque endocriniens.....	17
7.Conséquences de l'hypospadias.....	17
7.1.Conséquences génitales.....	17
7.2.Conséquences psychologiques et comportementales.....	17
7.3.Conséquences urinaires.....	17

Chapitre 3 : Génétique de l'hypospadias

1. Gènes de développement des tubercules génitaux.....	18
2 .Aspects moléculaires de l'hypovirilisation.....	18
2.1. Dysgénésie testiculaire.....	18
2.2. Défauts de la biosynthèse des androgènes.....	19
2.3.Résistance aux androgènes.....	20
3. Epigénétique de l'hypospadias.....	20
4. MTHFR et Hypospadias.....	21
4.1. Gène MTHFR.....	21
4.2.Protéine MTHFR.....	23
4.3.Polymorphismes du gène MTHFR.....	24

Chapitre 4 : Diagnostic et traitement

1. Diagnostic.....	27
1.1.Exploration paraclinique.....	27
2. Traitement.....	28

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Type et lieu d'étude.....	29
2. Population d'étude.....	29
2.1. Population malade.....	29

2.2. Population témoin.....	29
3. Méthodes.....	29
3.1. Questionnaire.....	29
3.2. Prélèvement sanguin.....	30
3.3. Etude moléculaire.....	30
4. Etude statistique.....	34

Résultats et discussion

1. Etude rétrospective	36
1.1. Répartition des patients selon le type anatomique.....	36
1.2. Répartition des patients selon les anomalies associées.....	36
1.3. Répartition des patients selon les facteurs de risque maternels	37
1.4. Répartition selon les antécédents familiaux	39
1.5. Répartition des patients selon les années.....	39
2. Etude transversale	40
2.1. Répartition des patients selon l'âge de la prise en charge.....	40
2.2. Répartition des patients en fonction de l'origine géographique.....	41
2.3. Répartition selon l'âge de la mère pendant de la grossesse.....	41
2.4. Répartition selon la profession du père.....	42
2.5. Répartition des patients selon le poids à la naissance	42
2.6. Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels.....	43
3. Etude moléculaire du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i>	44
Conclusion et perspective.....	47
Références bibliographiques.....	48

Annexes

Résumés

Introduction

L'hypospadias est la deuxième anomalie congénitale la plus fréquente chez les nouveau-nés de sexe masculin (**Rübben, 2015**). Défini comme une ouverture urétrale atypique n'importe où le long de la tige du pénis, du scrotum ou du périnée, l'hypospadias est souvent associé à un prépuce et à une corde déficiente (**Stokowski, 2004**). Cette anomalie du système génito-urinaire masculin survient lorsque les plis embryologiques de l'urètre ne fusionnent pas complètement entre la 7^{ème} et la 14^{ème} semaine de gestation (**Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), 2021**).

Il existe différents types d'hypospadias en fonction de la localisation de l'orifice urétral. Plus l'orifice urétral est éloigné du gland du pénis, plus l'hypospadias est grave. C'est ainsi qu'ils se distinguent: postérieur, moyen et antérieur (**Van der Horst et al., 2017**).

Les causes suspectées de l'hypospadias sont les anomalies de la différenciation sexuelle, il peut s'agir d'une sécrétion insuffisante de testostérone, d'une conversion insuffisante en dihydrotestostérone (DHT) ou d'une insensibilité partielle aux androgènes. Les causes sont le plus souvent multifactorielles (des facteurs environnementaux et génétiques) (**ENG, 2017**). Dans la plupart des cas, la cause de chaque individu reste cependant inconnue. Il existe une hétérogénéité étiologique qui peut être le résultat de différents processus embryonnaires à différents moments du développement (**Örtqvist, 2016**).

Les facteurs génétiques jouent un rôle crucial dans l'apparition de ce défaut de développement précoce, tant dans les formes isolées (non syndromiques) que syndromiques. Des mutations dans les gènes affectant le développement du pénis et ceux impliqués dans la détermination de la gonade mâle et dans la biosynthèse ou l'action cellulaire des androgènes ont été identifiées dans diverses formes d'hypospadias (**Kalfa et al., 2009**).

La 5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) est l'une des principales enzymes régulatrices du métabolisme de l'homocystéine (Hcy) (**Klerk et al., 2002**). Cette enzyme catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylènetétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate qui agit comme donneur de méthyle pour la synthèse de méthionine à partir de l'homocystéine (reméthylation). Toute perturbation métabolique de l'une de ces deux voies entraîne une hyperhomocystéinémie (Hhcy) qui pourrait être un facteur de risque quantitatif et indépendant pour la survenue de plusieurs pathologies (**Djaara, 2019**).

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

- l'actualisation des données de littérature, notamment en ce qui concerne la génétique de l'hypospadias et son étiologie.
- l'exploration des facteurs de risque de cette anomalie congénitale à travers l'étude rétrospective des cas opérés et non opérés d'hypospadias dans l'Est algérien.
- la recherche d'une éventuelle association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et le risque de l'hypospadias chez les patients hypospades.

Bibliographie

Chapitre 1

Embryologie et anatomie

1. Généralités

L'appareil génital se met en place lors du développement embryonnaire, ce phénomène est sous le contrôle de plusieurs gènes et hormones, en relation avec les chromosomes sexuels présents (**Lasfer, 2022**).

Par ordre chronologique, apparaissent les gonades puis les voies génitales interne et externe. Pour chacune de ces structures, il existe un stade indifférencié dans lequel les structures sont identiques pour les deux sexes, suivi d'un stade de différenciation dans le sens féminin ou masculin. Ce n'est que lorsque la gonade est différenciée en testicule ou en ovaire, que débute la différenciation des voies génitales et du sinus uro-génital.

Le développement de l'appareil reproducteur masculin s'étend de la fin de la 3^{ème} semaine à la 14^{ème} semaine de la vie utérine (**Ouali, 2021**).

Ce développement est un phénomène fragile, dont l'altération est source de malformations, allant de l'hypospade le plus simple jusqu'à la malformation génitale complexe au sexe incertain à la naissance (**Kalfa et al., 2015**).

2. Appareil génital indifférencié

2.1. Gonade indifférenciée

Cette gonade est formée de deux populations de cellules d'origine embryonnaire différente:

- les cellules somatiques qui proviennent de l'épithélium cœlomique et qui vont entourer les cellules germinales.

- les cellules germinales qui apparaissent dans le mésenchyme extra-embryonnaire autour du diverticule allantoïde vers la 3^{ème} semaine du développement. A la 5^{ème} semaine, les cellules germinales migrent à l'intérieur de l'embryon le long du mésentère dorsal de l'intestin postérieur, leur arrivée dans le territoire des futures gonades (près de la 10^{ème} vertèbre thoracique) induit la prolifération des cellules du mésonéphros et de l'épithélium cœlomique adjacent formant une paire de crête génitale au côté médial du mésonéphros en formation. Au cours de 6^{ème} semaine, les cellules du mésonéphros et de l'épithélium cœlomique envahissent le mésenchyme de la région des gonades présomptives pour former les cordons sexuels primitifs qui entourent complètement les cellules germinales.

La crête génitale contenant les cordons sexuels primitifs est ainsi constituée d'une région corticale et d'une région médullaire (**Bouanani et al., 2018**).

2.2. Voies génitales indifférenciées

Jusqu'à la 7^{ème} semaine, les voies génitales sont représentées par deux canaux pairs, présents dans les deux sexes:

- **les canaux de Wolff** : les canaux mésonéphrotiques de Wolff sont des canaux qui drainent les vésicules mésonéphrotiques vers le sinus urogénital (**Bouanani et al., 2018**).
- **les canaux de Müller** aussi nommés canaux para-mésonéphrotiques sont issus d'une invagination de l'épithélium cœlomique. Ils se situent dans leur portion céphalique entre le mésonéphros et la paroi latérale de l'embryon. Dans la partie caudale de leur trajet, ils croisent les canaux de Wolff et se rejoignent sur la ligne médiane. Les extrémités accolées des deux canaux de Müller prennent contact ensemble avec la paroi postérieure du sinus uro-génital primitif sur la ligne médiane au niveau de l'abouchement des canaux de Wolff (**Cormier & Valeri, 2021**).

2.3. Organes génitaux externes indifférenciés

Au niveau des organes génitaux externes, prennent place les mêmes séquences évolutives de la différenciation sexuelle (**Figure 1**).

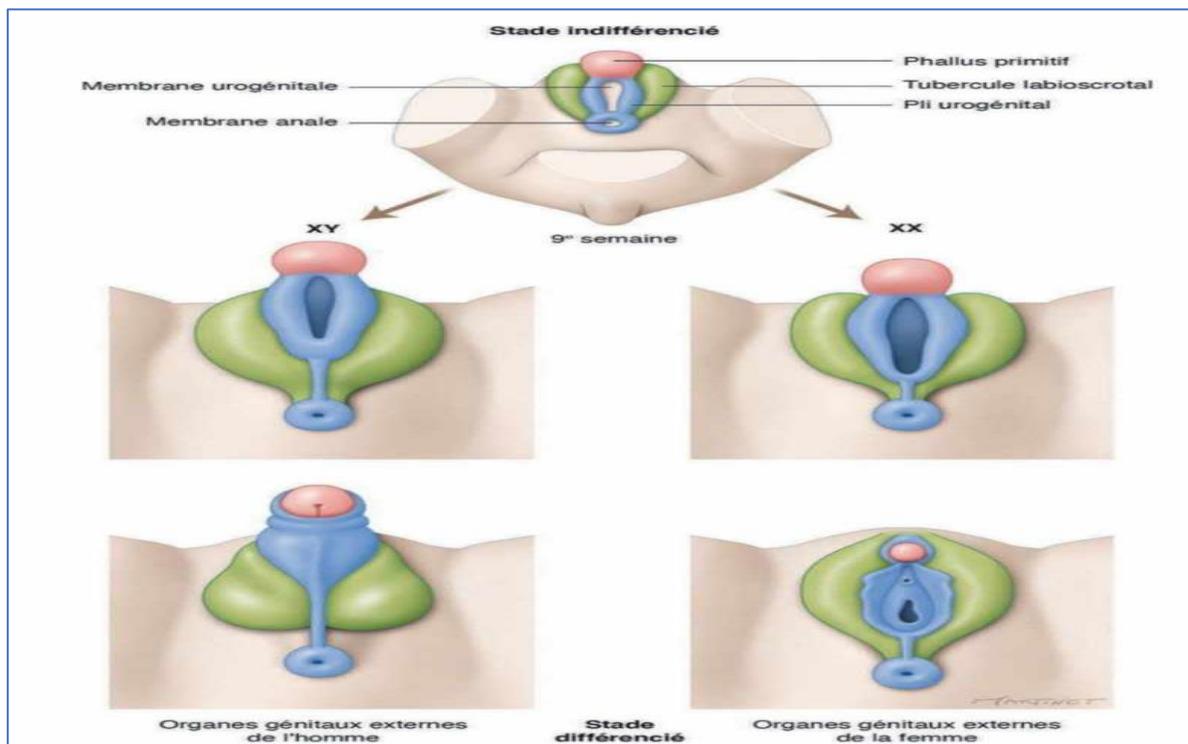


Figure 1: Développement des organes génitaux externes masculins et féminins (**Dauendorffer & Ly, 2021**).

Lors de la 5^{ème} semaine, l'embryon indifférencié présente sur la face ventrale inférieure de l'abdomen une éminence génitale qui comprend, en avant, un tubercule génital, futur gland ou clitoris et, latéralement, le gonflement labioscrotal qui entoure le sinus urogénital, invagination ectodermique qui deviendra l'urètre terminal. Dans la partie postérieure du sinus urogénital apparaît le septum urogénital ou périnée primitif séparant le compartiment anal, digestif, postérieur, du compartiment génital antérieur que représentera la verge ou le vagin.

Vers la 7^{ème} semaine, s'amorce la différenciation mâle ou femelle. Chez le mâle, le tubercule génital prend des allures de verge ou phallus, l'invagination urétrale se ferme sur le raphé périnéal médian, les plis labioscrotaux latéraux forment les bourses et s'intègrent dans les sillons génito-cruraux (**Idelman & Verdeti, 2020**).

- Le sinus uro-génital primitif se prolonge vers le haut avec l'allantoïde. Il est limité en bas par la membrane uro-génitale.

- La résorption de la membrane urogénitale à la 7^{ème} semaine met en communication le sinus uro-génital avec l'extérieur.

L'aspect morphologique des organes génitaux externes est similaire dans les deux sexes jusqu'à la 12^{ème} semaine (**Bouanani et al., 2018**).

3. Appareil génital différencié

Le stade différencié se déroule entre la huitième et la douzième semaine de développement. L'allongement du tubercule génital signe le début de la différenciation des organes masculins. Sous l'action de la DHT, le tubercule génital s'allonge pour devenir le gland et le corps du pénis et les bourrelets génitaux se soudent sur la ligne médiane pour former le scrotum. Durant la croissance du pénis, l'urètre pénien formant un tube s'établit par soudure sous le pénis de la gouttière urétrale. Au fond de celle-ci se trouve la lame urétrale constituée de tissu endoblastique formée à partir de la membrane urogénitale par étirement vers l'avant des replis génitaux. Cet urètre s'entoure du corps spongieux, tissu mésenchymateux érectile, lui-même recouvert par deux corps caverneux complétant le corps érectile. De plus, on a un prolongement de l'urètre qui se rapproche du gland qui sera l'urètre balanique. Il y aura une ouverture du gland à son apex en une fente verticale (**ENG, 2017**).

4. Anatomie de la verge

La verge ou le pénis est l'organe de copulation et de miction chez l'homme, il est situé au-dessus des bourses à la partie antérieure du périnée. Ces fonctions sont assurées grâce au tissu érectile et à l'urètre, il représente la partie terminale du tractus génital et urinaire.

4.1. Constitutions de la verge

Le pénis est constitué par trois corps érectiles : les deux corps caverneux (corpus cavernosum pénis) et le corps spongieux (corpus spongiosum pénis) pénétré par l'urètre, entourés par quatre enveloppes (Debbarh, 2009).

4.1.1. Organes érectiles

4.1.1.1. Corps caverneux : les corps caverneux restent unis par une lame fibreuse, le septum du pénis. Ils s'étendent des branches ischiopubiennes jusqu'au gland. Ils se réunissent au-dessous de la symphyse pubienne et cheminent « en canon à fusil » séparés par un septum du pénis incomplet. Ils délimitent deux gouttières par leur forme cylindrique :

- la gouttière inférieure ou urétrale occupée par le corps spongieux et l'urètre.
- la gouttière supérieure où cheminent la veine dorsale profonde de la verge, les artères dorsales et les nerfs dorsaux (ENG, 2017).

4.1.1.2. Corps spongieux: encastré dans la gouttière caverneuse inférieure, il engaine l'urètre antérieur sur toute sa longueur. Son épaisseur n'est pas uniforme, elle est plus importante sur la face inférieure de l'urètre particulièrement au niveau de son extrémité postérieure : le bulbe (N'djim, 2021). Son albuginée est moins résistante et ses aréoles contiennent moins de fibres musculaires lisses. Il est séparé des corps caverneux par le fascia de Buck (Figure 2) (Dembélé, 2023).

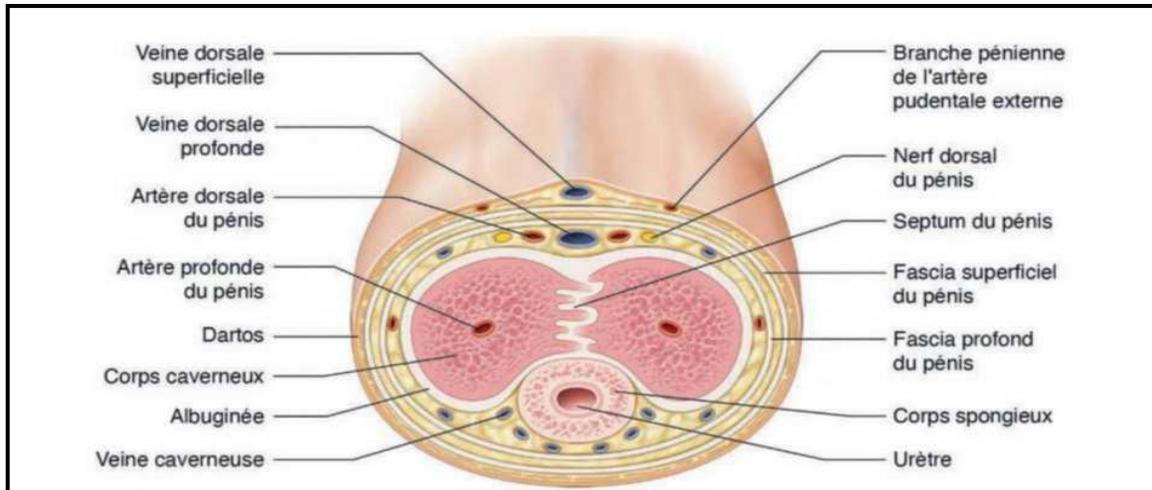


Figure 2 : Coupe transversale du corps du pénis (Dauendorffer & Ly, 2021).

4.1.1.3. Enveloppes

Hormis le gland, les organes érectiles sont entourés de quatre enveloppes : le fascia pénis ou fascia de Buck, le fascia de Colles, le dartos pénien et la peau. De la superficie à la profondeur il y a :

- **La peau** : ou fourreau pénien se replie sur elle-même à son extrémité antérieure pour former le prépuce. Elle recouvre le gland dans sa presque totalité
- **Le dartos pénien** : enveloppe musculaire, adhérent à la face profonde de la peau
- **Le fascia de Colles** : fait d'une couche cellulo-adipeuse pour le glissement.
- **Le fascia pénis** : ou fascia de Buck est une membrane fibro-élastique, très résistante ; elle engaine directement les corps caverneux et le corps spongieux auxquels elle adhère (N'djim, 2021).

5. Anatomie de l'urètre

Du col vésical, l'urètre descend d'abord dans la partie antérieure du petit bassin où il traverse la prostate, puis perfore le plancher uro-génital ; il arrive dans le périnée superficiel, pénètre dans le corps spongieux, puis se dirige en haut et en avant à travers la racine des bourses et s'incurve pour suivre la face inférieure de la verge. Dans son trajet, l'urètre est successivement intra et extra pubien, les deux segments étant délimités par l'aponévrose moyenne du périnée (Diarra, 2022). Deux parties peuvent être distinguées :

- **L'urètre postérieur**, situé au-dessus de l'aponévrose moyenne du périnée et comprenant l'urètre prostatique et l'urètre membraneux oblique en bas et en avant (**Diarra, 2023**).
- **L'urètre antérieur** situé au-dessous de l'aponévrose moyenne et comprenant l'urètre périméo-bulbaire oblique en haut et en avant et l'urètre pénien qui n'est oblique en bas et en avant lorsque la verge est en érection, vertical descendant lorsqu'elle est à l'état de flaccidité (**Camara, 2020**).

6. Vascularisation et innervation du pénis

6.1. Vascularisation

6.1.1. Artérielle

La vascularisation du pénis repose sur deux artères péniennes, branches terminales des artères pudendales internes (ou artères honteuses internes). Les artères superficielles du pénis, issues des artères pudendales externes, vascularisent la peau du pénis (**Dauendorffer & Ly, 2021**).

6.1.2. Veineuse

Le drainage veineux est relativement complexe et se fait grâce à 3 systèmes :

- le système veineux superficiel qui correspond au territoire de l'artère dorsale ;
- le système veineux profond qui s'intéresse seulement au drainage du sang des corps caverneux ;
- le système vasculaire postérieur qui est assuré par les veines caverneuses.

Le retour veineux est assuré par les veines superficielles provenant des enveloppes de la verge qui se jettent dans la veine dorsale superficielle, et les veines profondes provenant des organes érectiles qui se jettent dans la veine dorsale profonde (**Ouali, 2021**).

6.2. Innervation

Le pénis est innervé par le nerf dorsal du pénis, branche terminale du nerf pudendal, mais aussi par des branches du nerf scrotal postérieur (**Dauendorffer & Ly, 2021**).

Et une innervation par le système nerveux autonome sympathique (SNAS); L'état de flaccidité ou d'érection du pénis est déterminé par l'état de contraction ou de relâchement des fibres musculaires lisses (vasculaires et trabéculaires), véritable moteur de l'érection, sous le contrôle d'une part des neuromédiateurs du système nerveux autonome (SNA). L'innervation organo-végétative est donnée par les nerfs caverneux qui viennent du plexus hypogastrique (**Dembélé, 2023**).

Chapitre 2

Epidémiologie, classification et étiologie

1. Définition

Le terme hypospadias a ses origines dans les racines grecques : "hypo" qui se traduit par sous et "Spadon" qui se traduit par fissure ou cratère (Stein, 2012).

L'hypospadias est la deuxième malformation génitale chez le garçon après la cryptorchidie. Elle correspond à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge responsable d'un abouchement ectopique de l'urètre. Cette anomalie congénitale 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).

2. Epidémiologie

L'hypospadias représente la 2^{ème} malformation congénitale la plus fréquente chez les nouveaux nés de sexe masculin. L'incidence varie de 0,4 à 8,2 pour 1000 garçons vivants, soit un cas pour 125 à 300 naissances, et a doublé au cours des dix dernières années. Le taux atteint 1/80 en cas d'antécédent familial (Peycelon & Audry, 2012).

Il existe des variations de la prévalence des hypospadias en fonction de la localisation géographique et de l'origine ethnique, allant de 2 à 43,2 cas pour 10 000 naissances (Bergman *et al.*, 2015 ; Boudaoud *et al.*, 2016).

Les prévalences de cette malformation les plus élevées sont retrouvées en Amérique du Nord, (34,2 /10 000 naissances), Australie (34/10 000 naissances), Israël (29/10 000 naissances) et en Nouvelle-Zélande (24/10 000 naissances) et la plus faible en Asie, soit 6 pour 10 000 naissances (Boudaoud *et al.*, 2016 ; Van der Host *et al.*, 2017).

3. Classifications

Au cours du temps, beaucoup de classifications de l'hypospadias, prenant seulement en compte la position du méat urétral, ont été proposées. Cependant, beaucoup d'urologues pédiatres ont adopté une classification particulière mise au point, il y a une trentaine d'années, par un chirurgien du nom de Barcat. Cette classification, basée sur la prise en compte d'une éventuelle association de chordée, considère que la classification des hypospadias ne peut se réaliser qu'après un redressement chirurgical du pénis (Coulibaly, 2022).

3.1. Selon la position du méat urétral

3.1.1. Hypospadias antérieur (70 % des cas)

- Glandulaire (méat situé sur la face inférieure du gland).
- Coronal (méat situé dans le sillon balanopénien) .
- Pénis antérieur (méat situé dans le tiers distal de la verge) (Sheldon & Duckett, 1987).

3.1.2. Hypospadias moyen (10 % des cas)

- Pénis moyen (méat situé au tiers moyen de la verge) (Sheldon & Duckett, 1987).

3.1.3. Hypospadias postérieur (20 % des cas)

- Pénis postérieur (méat situé au tiers postérieur de la verge).
- Pénoscrotal (méat situé à la base de la verge en avant du scrotum).
- Scrotal (méat situé sur le scrotum ou entre les tuméfactions génitales).
- Périnéal (méat situé derrière le scrotum ou derrière les tuméfactions génitales) (Sheldon & Duckett, 1987) (Figure 3).

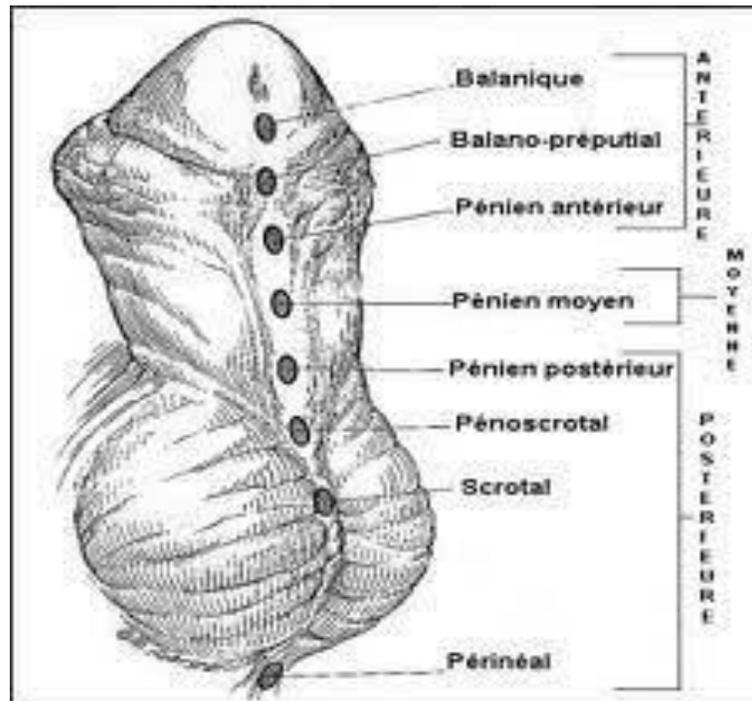


Figure 3 : Localisations possibles du méat urétral hypospadique (Doumbia, 2014).

3.2. Selon la classification de BARCAT

Cette classification tient compte de la position du méat urétral et de la courbure (coudure). Elle décrit d'une part les hypospadias antérieur sans courbure :

- méat balanique
- balanopréputial ou pénien.

Et d'autre part les hypospadias avec courbure:

- hypospadias avec la face inférieure de la verge de longueur normale.
- hypospadias avec la face inférieure du pénis courte.
- hypospadias ceux situés en arrière de la jonction pénoscrotal (**Debbarh, 2009**).

Kaufmann 1886	Schaefer 1950	Avellan 1975		Duckett 1996	Hadidi 2004	Hadidi 2018
Grade I	Glanular	Glanular		Glanular	Glanular	Glanular
Grade II	Penile	Penile		Sub-coronal	Distal	Penile
Grade III	Perineal	Penoperineal		Distal penile	Proximal	Proximal
Grade IV		Perineal w/o Bulb		Mid shaft		
				Proximal penile		
				Penoscrotal		
				Midscrotal		
			Perineal			

Figure 4: Classification de l'hypospadias (**Hadidi, 2022**).

4. Anatomie pathologique

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

L'hypospade peut se définir comme une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge (**Coulibaly, 2022**). Il résulte d'un défaut de développement des tissus situés en aval de la division du corps spongieux (**Figure 5**) (**Boudaoud et al., 2016**).

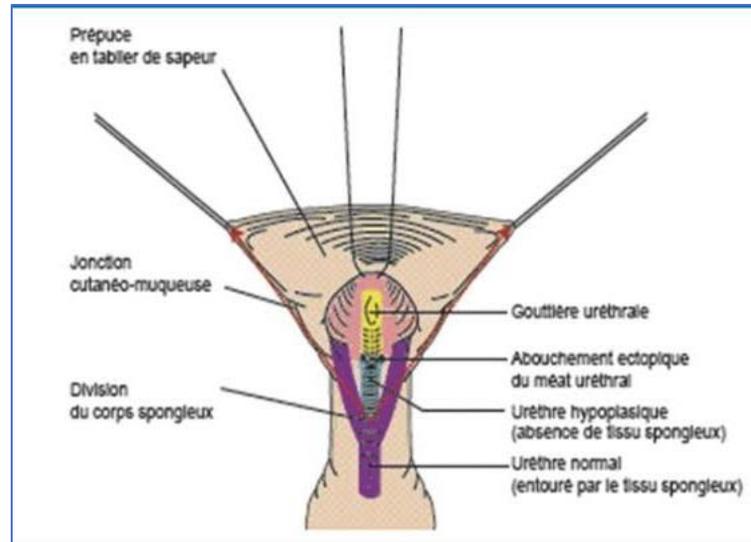


Figure 5: Anatomie chirurgicale de l'hypospadias (**Demède *et al.*, 2008**).

Trois anomalies sont classiquement associées aux hypospadias :

- une ouverture ectopique du méat urétral sur la face ventrale de la verge pouvant se situer sur toutes les zones de la verge, de la base à l'apex ;
- le coude ventral de la verge visible à l'état flaccide ou en érection qui peut être plus ou moins marquée, et ;
- une distribution anormale de la peau pénienne, avec une hypoplasie ventrale et un excès de peau sur la face dorsale de la verge (**Peycelon, 2019**).

Un pénis dit hypospade se caractérise par les malformations suivantes :

- une courbure qui relève de la présence du tissu fibreux en aval du méat gênant un redressement complet de la verge. La division du corps spongieux en deux piliers, et l'adhérence de la gouttière uréthrale à la face ventrale du corps caverneux représentent deux autres facteurs de la courbure.
- une bifidité scrotale, souvent associée à un problème d'ambiguïté sexuelle.
- une torsion dupénis 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 (courbe de Schönefeld). On parle de micro-pénis lorsque

la longueur est inférieure à moins de 2 déviations standards ou lorsqu'elle est inférieure à moins 2,5cm à la naissance (**Coulibaly, 2022**).

L'hypospadias multi opérés (hypospadias «cripple ») : ils se présentent sous des formes très variables. On peut observer de manière plus ou moins intriquée la présence de tissu cicatriciel d'une déhiscence plus ou moins importante de l'urètre, des fistules, des sténoses urétrales ou la persistance d'une coudure (**Doumbia, 2014**).

5. Anomalies associées

5.1. Anomalies génitales

5.1.1. Cryptorchidie :est une anomalie de la migration testiculaire. Elle se définit comme étant un testicule situé en dehors du scrotum en un point quelconque de son trajet normal de migration (**Bouya et al., 2012**) .

La cryptorchidie et l'hypospadias sont associées dans une portion de 9% (**Doumbia, 2014**), celle-ci impose un caryotype et un bilan endocrinien dès la période néonatale pour ne pas méconnaître une ambigüité sexuelle (**Bouanani et al., 2018**).

5.1.2. Hernie inguinale :est plus fréquente que dans une population normale, chez l'hypospade, se rencontre selon une fréquence entre 10 à 16% (**Bouanani et al.,2018**) .Chez l'adolescent, souvent une hernie inguinale est révélatrice de varicocèle ou la découverte d'une asymétrie de taille ou de volume des testicules (**Diarra, 2023**).

L'hernie inguinale non compliquée est le plus fréquente chez le garçon, parfois, il peut s'agir d'une hernie volumineuse inguino-scrotale descendant dans la bourse et extériorisée en permanence, Il faut toujours vérifier la position du testicule et rechercher une hernie controlatérale.

L'hernie étranglée peut également entraîner une souffrance testiculaire par compression du pédicule chez le garçon (**Goita, 2023**).

5.2. Anomalies urinaires

L'incidence d'anomalie significative du haut appareil urinaire est rare (méga uretère obstructif, hydronéphrose par maladie de jonction, reflux vésico-rénaux, duplication urétérale...) (**Debbarh, 2009**). Mais touche cependant 3 à 6% des patients présentant un hypospadias

contre 2% pour la population "générale". Cela va justifier l'échographie rénale dès la période néonatale.

5.3. Anomalies chromosomiques

Il semble avoir une corrélation positive entre la sévérité de l'hypospadias et les anomalies chromosomiques d'autant plus qu'il existe une cryptorchidie.

La fréquence des anomalies chromosomiques est de 5,6% sur l'ensemble des hypospadias, le chiffre s'élève à 22% en cas de cryptorchidie associé (**Bouanani et al., 2018**).

Ces anomalies peuvent être gonosomiques, incluant le syndrome de Klinefelter 47 XXY, 48 XXXY et diverses mosaïques : 45 X/46 XY (qui est relativement fréquent associée aux dysgénésies gonadiques), ou autosomiques souvent dans le cadre d'hypospadias syndromiques (**Coulibaly, 2022**).

5.4. Hypospadias syndromique

On dénombre environ 200 syndromes différents qui peuvent être liés à un hypospadias. C'est le cas par exemple du syndrome « Smith-Lemli-Opitz » dans lequel on retrouve un hypospadias associé dans 70% des cas à un retard mental, une microcéphalie, des malformations du visage et de deuxième et troisième orteils (syndactylie) (**ENG, 2017**).

6. Etiologie

Les causes suspectées de l'hypospadias sont le plus souvent multifactorielles (factures endocriniens, génétique, environnementaux...), et dans la plupart des cas, la cause de chaque individu reste cependant inconnue (**ENG, 2017**).

6.1. Facteurs de risque maternel

6.1.1. Âge maternelle

Le risque d'hypospadias augmente chez les mères en âge de procréer extrême, c'est-à-dire âgées de moins de 20 ans et de plus de 40 ans. Il est probable que les perturbations hormonales à ces âges jouent un rôle dans la mesure où les femmes en âge de procréer précoce et tardif sont plus susceptibles de subir de telles perturbations. On pense également qu'entre 20 et 40 ans, les contrôles naturels sont plus robustes et éliminent normalement les fœtus présentant des malformations congénitales ; les mères de ce groupe ont donc moins de risques d'avoir des garçons atteints d'hypospadias. L'augmentation de l'âge est également associée à d'autres

facteurs qui augmentent le risque d'hypospadias, tels que l'augmentation du nombre de naissances et les traitements de fertilité (**Bhat, 2022**).

6.1.2. Age de naissance

Naissance prématurée, nouveau-nés petits pour l'âge gestationnel qui sont inférieurs au 10^e percentile pour le poids, la longueur et/ou la circonférence de la tête, et le retard de croissance intra-utérin sont des facteurs de risque. Tous ces facteurs ont été associés à un risque accru d'avoir un bébé atteint d'hypospadias (**Halaseh et al., 2022**).

6.1.3. Déficience placentaire

L'insuffisance placentaire et le retard de croissance intra-utérin prédisposent également à l'hypospadias. La gonadotrophine chorionique humaine (hCG) produite par le placenta au début de la gestation est essentielle au maintien de la grossesse. La production d'hormones par l'hypophyse étant minimale au début de la grossesse, les hormones placentaires comme la hCG sont vitales pour le développement génital et l'insuffisance placentaire provoque de multiples aberrations de croissance, notamment l'hypospadias et le retard de croissance (**Bhat, 2022**).

6.1.4. Autres facteurs de risque

Si un diabète préexiste à la grossesse, un risque de malformations tel que l'hypospadias a été reconnu comme plus important (**ENG, 2017**).

Le tabagisme maternel, le diabète sucré, l'hypertension induite par la grossesse et la prééclampsie sont également associés à l'hypospadias en raison de leur effet sur la fonction placentaire et de divers autres effets sur le fœtus en développement.

Un état hypoandrogénique ainsi qu'un état hyperœstrogénique peuvent entraîner un hypospadias (**Bhat, 2022**).

L'infection virale au cours de la grossesse semble être un facteur de risque (**Bouanani et al., 2018**).

6.2. Facteurs de risque environnementaux

L'exposition maternelle à différents produits chimiques peut induire une malformation du pénis. Les produits chimiques les plus incriminés dans ce procédé sont le bisphénol, les solvants inorganiques, les composés alkylphénoliques, les phtalates, les benzophénones, les parabènes, les siloxanes, les pesticides ou herbicides, le diéthylstilbestrol, le cadmium, le DDT, vinclozoline (fongicide), solvants pétroliers et SO₂ (**Gozar et al., 2023**).

Les pilules contraceptives orales, les pesticides, les agents détergents, les composés utilisés dans la fabrication des plastiques et certains médicaments ont été impliqués dans la cause de l'hypospadias. La plupart de ces agents n'ont qu'une faible activité oestrogénique et sont généralement présents à de faibles concentrations; Cependant, même de faibles concentrations de ces agents peuvent interférer avec la biosynthèse des androgènes et bloquer l'expression des récepteurs aux androgènes. Ainsi, le rôle de ces agents environnementaux dans la causalité de l'hypospadias peut être médié par la perturbation des voies androgènes plutôt que par un effet hormonal œstrogénique direct sur le fœtus (**Ravikumar, 2020**).

6.3. Facteurs de risque génétique

Le plus souvent chez des patients atteints, avoir un parent proche souffrant d'hypospadias est le principal facteur de risque et le risque de récurrence augmente avec la sévérité de l'urètre prolapsus.

Des mutations dans les gènes candidats ont été trouvées dans la population atteinte d'hypospadias, même si la plupart des mutations n'ont été décrites qu'une seule fois et restent fonction des mutations inconnue dans la plupart des cas. La majorité des mutations identifiées se trouvent chez des individus avec plus d'hypospadias proximaux indiquant que l'hypospadias proximal est monogénique ou polygénique et l'hypospadias distal est plutôt multifactoriel.

Les gènes candidats évidents pour l'hypospadias sont ceux impliqués dans le développement des organes génitaux externes masculins, et des mutations ont été trouvées dans plus de 60 gènes impliqués dans le développement génital (**Örtqvist, 2016 ; Acimi, 2019**).

6.4. Facteur de risque héréditaire

L'agrégation familiale apparaît dans l'hypospadias dans 7% des cas parents affectés au premier, deuxième ou troisième degré.

La survenue familiale semble plus fréquente pour les formes antérieures et moyennes que pour les types postérieurs. La probabilité qu'un frère d'un garçon atteint ait un hypospadias est de 9 à 17 %.

Les hypospadias sont également transmis par les côtés maternel et paternel de la famille, avec une héritabilité estimée de 57 à 77%. Dans seulement 30% des hypospadias est une cause génétique claire trouvée. Les hypospadias ont été décrits dans plus de 200 syndromes. Les deux plus connus sont la tumeur de Wilms, aniridie, malformations génito-urinaires et retard

mental (WAGR) et le syndrome de Denys-Drash (malformations génito-urinaires et susceptibilité à la tumeur de Wilms) (Van der Horst *et al.*, 2017).

6.5. Facteurs de risque endocriniens

Il a été démontré que le développement des organes génitaux externes est fondamentalement influencé par l'équilibre hormonal. Les agents environnementaux susceptibles de perturber cet équilibre sont connus sous le nom de perturbateurs endocriniens (Botta *et al.*, 2014).

Les œstrogènes et les anti-androgènes exogènes peuvent avoir un impact négatif sur le développement génital externe chez l'homme, entraînant un hypospadias. Les œstrogènes exogènes et les perturbateurs endocriniens (EDC) œstrogéniques sont parmi les produits chimiques les plus répandus dans notre environnement, sont des agents potentiels responsables de l'hypospadias. Les produits chimiques œstrogéniques et ceux qui antagonisent le récepteur des androgènes ou inhibent la stéroïdogénèse des testicules fœtaux, réduisent la production de testostérone et/ou son action pour provoquer des malformations de l'appareil reproducteur masculin, y compris l'hypospadias. Cependant, des récepteurs d'œstrogènes sont également présents dans le pénis et des cultures de pénis isolées ont démontré que les œstrogènes et les perturbateurs endocriniens œstrogéniques peuvent les activer directement pour provoquer un hypospadias, indépendamment des sorties hormonales altérées des gonades. Ainsi, le pénis semble également être une cible directe des perturbateurs endocriniens (EDC) dans le développement de l'hypospadias (Mattiske & Pask, 2021).

7. Conséquences de l'hypospadias

7.1. Conséquences génitales : l'acte sexuel difficile dans les formes sévères en raison de l'importance de la coudure ou de la taille du pénis (micro pénis). La spermatogenèse peut être perturbée chez certains sujets à cause des désordres hormonaux ou génétiques qu'on retrouve dans l'hypospadias ; et l'infertilité car l'éjaculation se fait hors du vagin dans les formes postérieures sévères (Doumbia, 2014).

7.2. Conséquences psychologiques et comportementales : vers 3 ans, l'enfant prend par lui-même conscience de sa différence ; avant qu'elle devienne éventuellement sujet de moquerie de la part de ses camarades de classe notamment s'il doit uriner assis (Debbah, 2009).

7.3. Conséquences urinaires: dans l'hypospadias, l'urètre peut provoquer des éclaboussures, et l'enfant urine comme une fille en position assise (Bouanani *et al.*, 2018).

Chapitre 3

Génétique de l'hypospadias

La différenciation génitale est principalement influencée par le patrimoine génétique, avec des gènes contribuant au développement du tubercule génital, à la détermination gonadique, à la synthèse des stéroïdes gonadiques (testostérone et dihydrotestostérone:DHT) et à la sensibilité à ces hormones. Un défaut génétique est généralement détecté seulement chez un petit nombre de patients (**Kalfa et al., 2019**).

L'hypospadias familial, définie par l'atteinte d'un ou plusieurs membres des premiers, deuxièmes ou troisièmes degrés, est observée dans environ 10 % des cas.

Le risque de récurrence chez un jumeau masculin d'un patient atteint est d'environ 15 %, alors que l'incidence chez le père d'un malade est de 7%.

Le risque de récurrence dépend de la sévérité de l'hypospadias, les formes postérieures ayant le risque le plus élevé de récurrences.

Des analyses de ségrégations géniques ont suggéré que la survenue d'un hypospadias était monogénique dans un petit nombre de cas, et multifactorielle dans la majorité des familles (**Kalfa et al., 2009**).

1. Gènes de développement des tubercules génitaux

Les étapes du développement de l'appareil génital subissent une régulation génétique et hormonale. La formation du tubercule génital implique plusieurs gènes. Chez l'homme, les gènes *FGF8* ou encore *FGFR2*, *BMP4*, *BMP7*, *HOXA4* et *HOXB6*, qui sont impliqués dans la formation du tubercule génital, comportent des polymorphismes (SNPs) ayant été associés à des cas d'hypospadias (**Peycelon, 2019**).

La perte de fonction de *HOXA13* s'accompagne d'une agénésie du tubercule génital, par contre l'inactivation du gène *FGF10* est associée à un hypospadias. Chez l'homme, les polymorphismes de *FGF8*, *FGF10* et *FGFR2* semblent augmenter le risque de survenue de cette malformation (**Kalfa et al., 2009**).

2. Aspects moléculaires de l'hypovirilisation

2.1. Dysgénésie testiculaire

Des mutations dans les gènes impliqués dans la formation et le développement des testicules peuvent entraîner plusieurs anomalies sexuelles masculines, telles que l'hypospadias, en affectant la capacité des gonades à produire des hormones mâles telles que la testostérone pendant la période masculinisation (**Bouty et al., 2016**).

Le gène *SRY* situé sur le Y est l'un des facteurs testiculaires indispensables au développement de la gonade en testicule (**Habran et al., 2021**).

Bien que le *SRY* ne soit pas fréquemment muté, Garcia et Miranda (2002) ont remarqué des anomalies des chromosomes sexuels et une variation subséquente de la dose du *SRY* sont trouvées chez 4 des 100 patients atteints d'hypospadias, mais aucune mutation du gène *SRY* n'a été identifiée (**George et al., 2015**).

Des mutations hétérozygotes du gène *WT1* (tumeur de Wilms 1) seraient liées à un hypospadias sévère et à d'autres anomalies génitales. Des mutations dans le gène *SF1* sont signalées dans des cas d'hypospadias isolés. *SOX9*, *DMRT1* et *GATA4* semblent également être impliqués avant la différenciation de la gonade en testicule et les altérations génétiques pourraient être corrélées avec le DSD masculin, y compris l'hypospadias sévère (**Joodi et al., 2019**).

2.2. Défauts de la biosynthèse des androgènes

Le testicule fœtal a la capacité de produire la testostérone par les cellules de Leydig. Cette sécrétion est sous la dépendance dans les premiers stades du développement de hCG dont l'action est médiée par le récepteur à la LH, présent à la surface des cellules de Leydig (**Trémollières, 2013**).

Les mutations du récepteur de la LH (hypoplasie des cellules de Leydig) sont associées à l'hypospadias et au micropénis. La sécrétion de testostérone est dramatiquement faible et contraste avec les valeurs élevées de LH au début de la vie (**Kalfa et al., 2009**).

Le gène codant pour *SRD5A2* (5-Alpha réductase) est particulièrement intéressant car cette enzyme est exprimée pendant le développement des organes génitaux masculins, elle convertit la testostérone en un androgène plus puissant la DHT, qui induit la formation des organes génitaux externes. L'un de ces SNP (rs523349) provoque une substitution de valine en leucine (V89L), ce qui entraîne une diminution de l'activité enzymatique, tandis que l'autre SNP (rs9282858) provoque un remplacement d'alanine en thréonine (A49T), ce qui entraîne une augmentation de la fonction enzymatique (**Joodi et al., 2019**).

Le gène *MAMLD1* impliqué dans la sécrétion de testostérone à un moment critique du développement génital. Des mutations de ces gènes sont associées à des hypospadias isolés de gravité variable (**Peycelon, 2019**).

2.3. Résistance aux androgènes

Le gène *AR* (AndrogenReceptor) a fait l'objet d'études approfondies. L'AR semble s'exprimer dans le développement du pénis et de l'urètre. De rares mutations du gène codant pour l'AR ont été observées chez des patients atteints d'hypospadias. Des polymorphismes de l'AR ont été également constatés et augmentaient le risque d'hypospadias. Par exemple, l'expansion d'une répétition de polyglutamines (CAG) dans l'extrémité N de l'AR diminue la fonction de transactivation de l'AR, ce qui entraîne une masculinisation insuffisante (**George et al., 2015**).

3. Epigénétique de l'hypospadias

L'épigénétique est définie comme étant les facteurs et les processus moléculaires autour de l'ADN qui régulent l'activité du génome. Les plus connus sont la méthylation de l'ADN, les modifications des histones, de la structure de la chromatine et de l'ARN non codant ainsi que la méthylation de l'ARN (**Kaefer et al., 2023**). La méthylation de l'ADN est un mécanisme qui pourrait réguler la transcription des gènes du développement. Des groupes méthyle sont ajoutés aux di-nucléotides cytosine-guanine (CPG) dans les régions régulatrices du génome et peuvent affecter la transcription de l'ADN sans altérer sa variation de séquence. La méthylation génomique est un état dynamique qui peut être influencé par la variation de séquence sous-jacente et altéré par les expositions environnementales (**Richard et al., 2020**).

L'épigénétique est également impliquée dans la reproduction chez l'homme et la formation du pénis. Des altérations épigénétiques associées à l'étiologie de l'hypospadias ont été étudiées (**Kaefer et al., 2023**). Parmi eux se trouve la méthylation de l'ADN du gène *AR* qui est plus élevée dans les échantillons de prépuce de patients souffrant d'hypospadias que chez les enfants normaux.

Certaines expositions environnementales peuvent non seulement stimuler l'urètre hypospadias chez l'individu exposé, mais également induire des modifications génétiques à long terme qui continuent d'augmenter le risque d'urétrite hypospadias pour les prochaines générations (**Bouty et al., 2016**) (Figure 6).

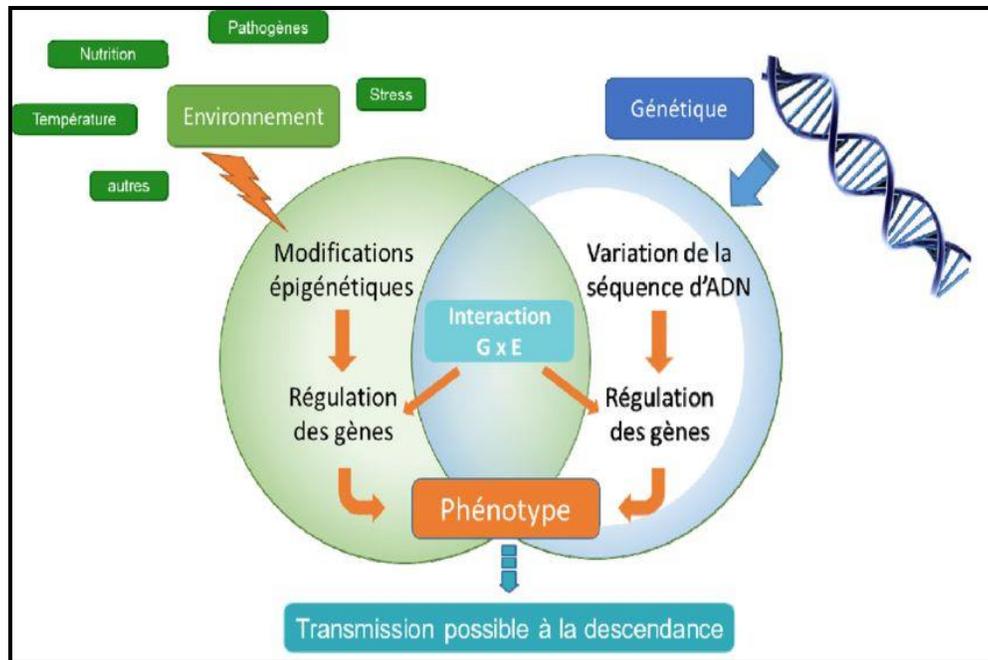


Figure 6: Interaction entre génétique et environnement dans la construction des phénotypes.
G : génétique ; E : environnement (Coustham *et al.*, 2022).

4. MTHFR et Hypospadias

La méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), une enzyme clé du cycle du folate, catalyse la réduction du 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthyl tétrahydrofolate, un co-substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, et qui joue un rôle important dans le processus de synthèse des protéines (Botto & Yang, 2000 ; Zhu *et al.*, 2014).

4.1. Gène MTHFR

4.1.1. Structure et localisation

Le gène de la MTHFR humain est localisé en 1p36.3 (Figure 7), et consiste environ en 17 kb, dont 11 exons, couvrant 2,2 kb allant de 102 pb à 432 pb et 10 introns et code pour une enzyme cytosolique ubiquitaire de 76,6 kDa. La taille des introns sont rangée de 250 à 1,5 kb, avec une exception de 4,2 kb (Goyette *et al.*, 1998). Néanmoins, des nouvelles études ont révélé plus de 11 exons (Aneji *et al.*, 2012).

Le promoteur du gène *MTHFR* ne possède pas de boîte (TATA), mais contient des îlots (CpG) et de multiples sites de liaison potentiels Sp1. En effet, il existe plusieurs séquences consensus pour les sites de liaison potentiels des facteurs de transcription, par exemple les SP1, AP1, AP2, CAAT ou GC-boîtes (Djaara, 2019).

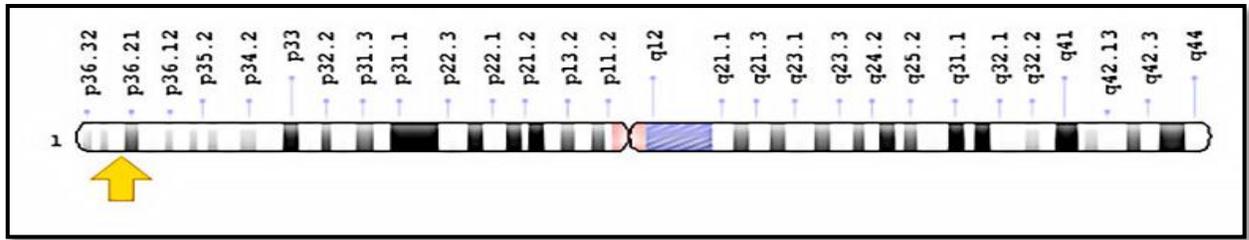


Figure 7 : Localisation du gène MTHFR sur le chromosome 1 (Genetics Home Reference, 2017).

4.1.2 Transcription du MTHFR

La transcription du gène *MTHFR* produit trois transcrits différents (MTHFR 1, MTHFR 2 et MTHFR 3), respectivement, de 2,8, 7,2 et 9,8 kb, qui diffèrent dans leurs premiers exons. En outre, le transcrit MTHFR 1 a été retrouvé dans deux variantes, qui ont été discriminées par l'absence ou la présence de trois nucléotides, en raison de l'implication alternative de deux signaux d'épissage consensus adjointes, sans affecter les séquences polypeptidiques déduites. Chacun des trois transcrits majeur MTHFR 1, 2 et 3 avait un premier codon ATG individuel codant éventuellement pour des polypeptides de 657, 698 et 680 résidus d'acides aminés, respectivement (Figure 8) (Mohammedi, 2015).

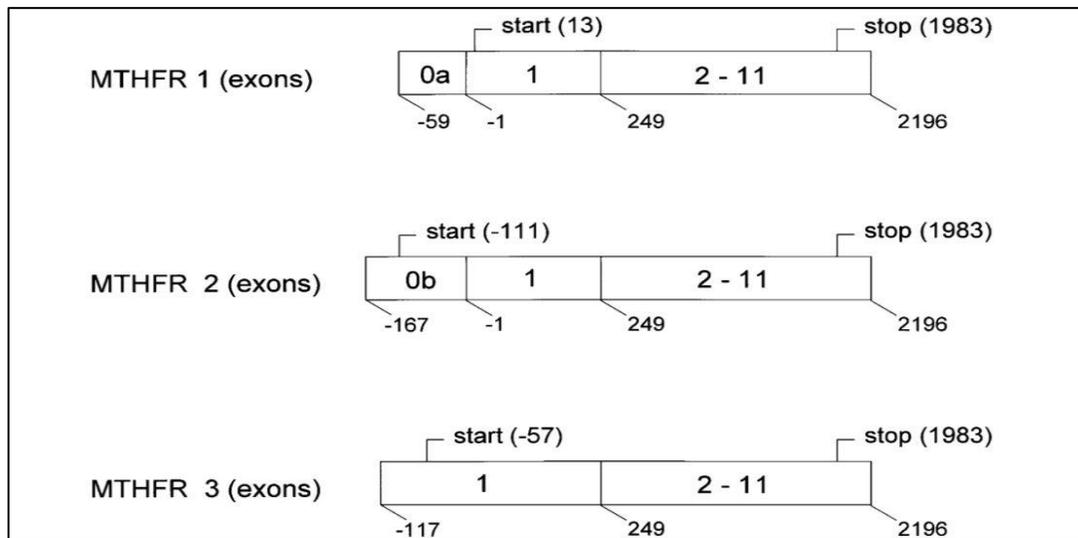


Figure 8 : Les différents transcrits du gène MTHFR (Homerger *et al.*, 2000).

4.2. Protéine MTHFR

4.2.1. Structure et fonction de MTHFR

Chez l'homme, le produit du gène *MTHFR* est une protéine catalytique qui possède deux isoformes (Leclerc & Rozen, 2007). L'un de poids moléculaire de 77 kDa et l'autre de 70 kDa dont la plus petite a été découverte uniquement dans le foie d'adulte ainsi que dans le foie et les reins fœtaux. Cette enzyme a fait l'objet de nombreux travaux et elle est actuellement démontrée qu'elle fonctionne sous forme d'un homodimère présent dans le cytoplasme. Cette protéine est composée de 656 acides aminés (Leclerc & Rozen, 2007) dont chacun des monomères possède deux domaines :

- **le domaine catalytique N-terminal** (acides aminés, aa ~1-356) - qui lie le méthylène THF, le NADPH (donneur d'électron), et le FAD (cofacteur) ;
- **le domaine de régulation C-terminal** (aa ~357-656), reliés par une courte région de liaison (linker) (aa 357-362) (Figure 9), le domaine catalytique semble être suffisant pour effectuer toute la réaction enzymatique (Froese *et al.*, 2016).

Entre ces deux domaines se trouve une forte région hydrophobe avec une séquence d'acides aminés LysArg-Arg-Glu-Glu constituant un site de clivage par la trypsine.

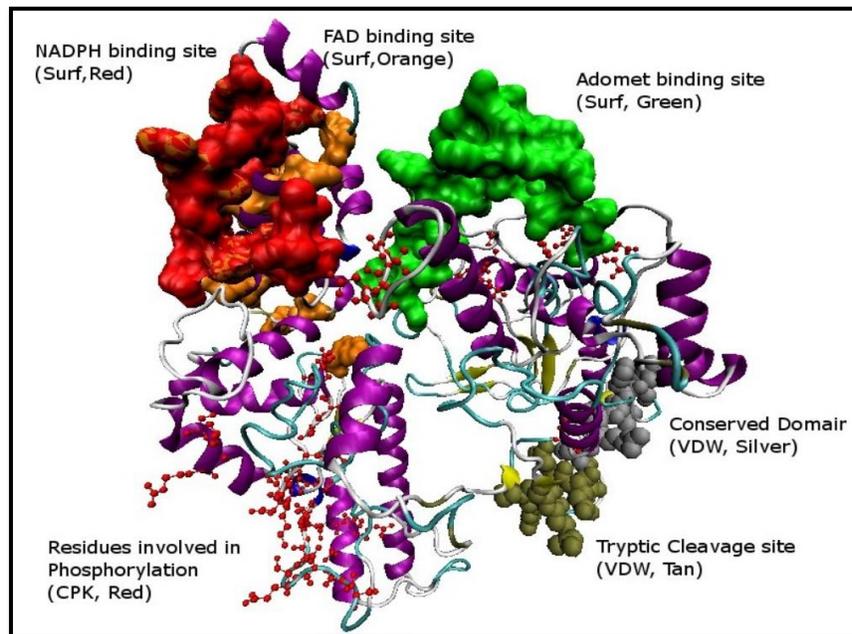


Figure 9 : Un modèle de la structure du MTHFR humain (Shahzad *et al.*, 2013).

La 5,10-MTHFR et comme cité précédemment catalyse la conversion du 5,10-CH₂-FH₄ en 5-CH₃-FH₄. Cette conversion est très importante pour labiosynthèse des nucléosides, la méthylation de l'ADN, et ainsi le métabolisme de l'homocystéine (Figure 10) (Laouar & Saada, 2016).

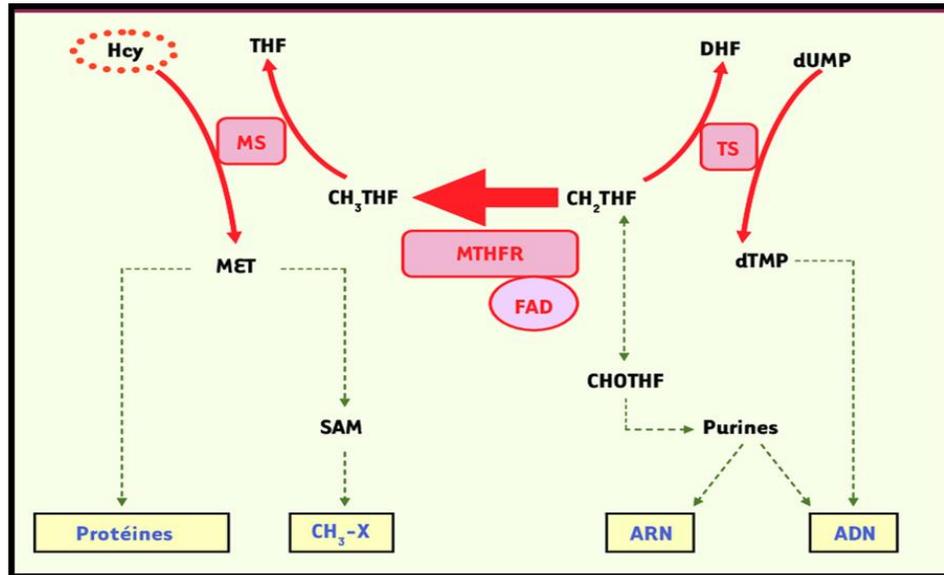


Figure 10: Activité métaboliques de la MTHFR (Leclerc et Rozen, 2007).

L'activité de la MTHFR affecte ainsi la disponibilité du CH₂THF, ce qui influence la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Le CH₃THF est requis pour la reméthylation de l'homocystéine (Hcy) en méthionine (MET), qui intervient elle-même dans la synthèse protéique et la méthylation de l'ADN et d'autres composés (CH₃-X) (Leclerc & Rozen, 2007)

La protéine s'exprime fortement dans les testicules, modérément dans le cerveau et les reins et faiblement dans les autres tissus (Pasternak, 2003).

4.3. Polymorphismes du gène MTHFR

Une soixantaine de polymorphismes de *MTHFR* ont été identifiés (Martin *et al.*, 2006). Cependant, il existe principalement deux polymorphismes, le 677C>T (rs1801133) et le 1298A>C (rs1801131) qui représentent les polymorphismes les plus communs et les mieux décrits du gène *MTHFR*. Par ailleurs, un autre SNP a été également rapporté, le G1793A (rs2274976), ce dernier est moins commun, et il n'existe aucune certitude concernant son impact fonctionnel sur la protéine (Robien & Ulrich, 2003).

4.3.1. Polymorphisme C677T

L'allèle C677T est caractérisé par une mutation ponctuelle en position 677 du gène *MTHFR* (Botto & Yang, 2000) correspond à une conversion d'une cytosine en une thymine au niveau de l'exon 4 du gène *MTHFR*, transmise de façon autosomique récessive et engendre une substitution d'une Alanine (GCA) par une Valine (GUA) à la position 222 qui accroît la tendance de l'enzyme à perdre son cofacteur FAD; de ce fait le génotype *MTHFR* 677TT en position 677 réduirait de 70% l'activité de la *MTHFR* comparée au génotype *MTHFR* 677CC et de 40% chez les individus hétérozygotes. La différence entre ces deux acides aminés est que la masse molaire du résidu muté (117,1 mol) est plus importante que celle du résidu sauvage (89,1 mol) ce qui peut modifier la conformation de la protéine. De plus, l'acide aminé muté est hydrophobe, possède un groupement isopropyle tandis que le sauvage qui est aussi hydrophobe et possède un groupement méthyle. Ceci pourrait expliquer la perte de liaison entre l'enzyme *MTHFR* et son cofacteur FAD (Figure 11) (Bougrara, 2015).

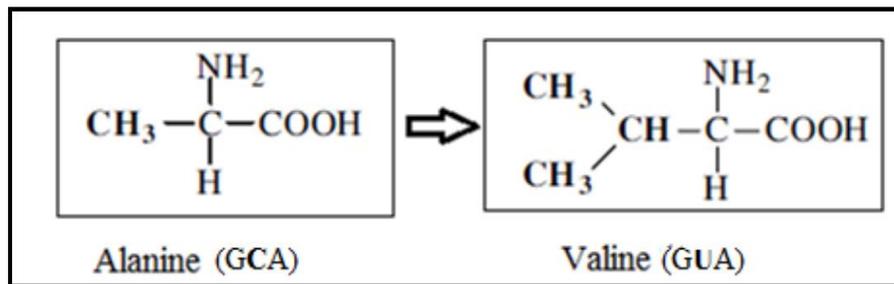


Figure 11 : Les structures des acides aminés : alanine et valine (Bougrara, 2015).

Les gens qui sont homozygote pour l'allèle C677T ont tendance à avoir légèrement augmentation des taux sanguins d'homocystéine si leur apport en folate est insuffisant mais des taux sanguins normaux si leur l'apport en folate est suffisant (Botto & Yang, 2000).

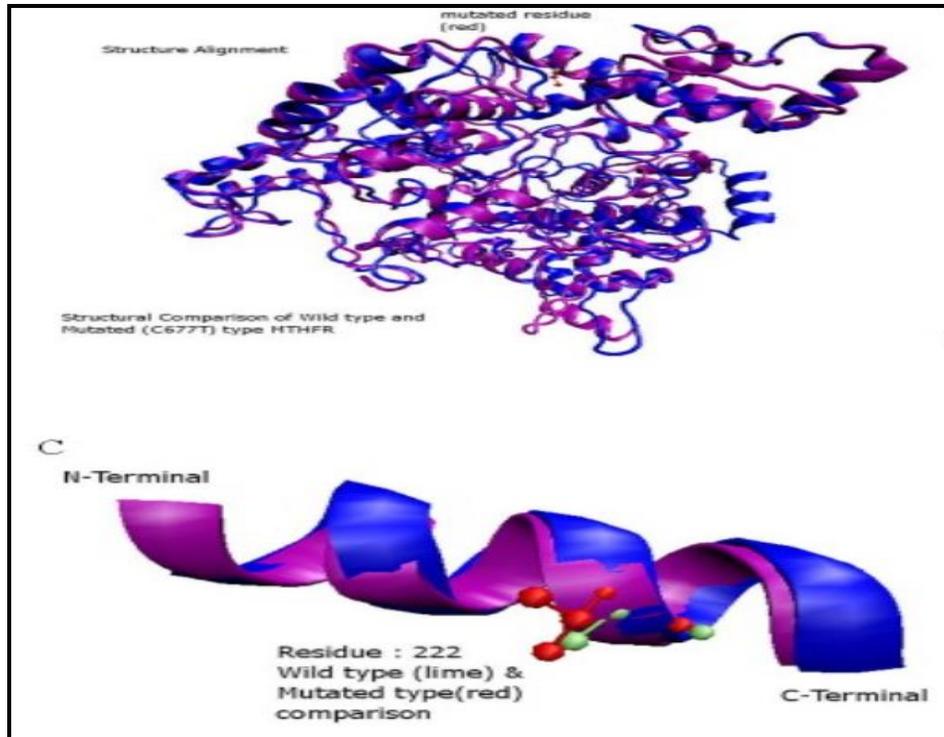


Figure 12 : Comparaison de la structure sauvage (normale) et mutée de la MTHFR (polymorphisme C677T). Alignement structurel des acides aminés normaux (Bleu) et mutés (Violet) de MTHFR (Shahzad *et al.*, 2013).

4.3.2. Polymorphisme C677T du gène MTHFR et hypospadias

Selon les études entreprises précédemment, l'hypospadias n'était associé ni à l'utilisation d'acide folique ni au polymorphisme C677T de la MTHFR, ni à leur interaction. Cependant, il a été trouvée une association avec l'hypospadias moyen lorsqu'aucun supplément n'était utilisé en particulier chez les nourrissons porteurs du génotype CT/TT (Dokter *et al.*, 2017).

Chapitre 4

Diagnostic et traitement

1. Diagnostic

L'hypospadias est diagnostiqué lorsque la position du méat urétral est anormalement située le long de la tige ventrale du pénis, du scrotum ou du périnée (**Sparks, 2021**).

Le diagnostic prénatal repose principalement sur l'échographie (**Li et al., 2019**), qui est fait au 3^{ème} trimestre qu' au 2eme par un operateur, ce diagnostic peut être difficile en raison de la position foetal (**Bouanani, 2018**).

A la naissance, au cours de l'examen physique initial du nouveau né ; l'enfant doit être examiné par un spécialiste le plutôt 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 (**Debbah, 2009**).

En pratique, les conséquences sont très différentes :

- Les hypospadias antérieurs ont des conséquences fonctionnelles minimales, en un jet urinaire un peu dévié
- Hypospadias postérieurs ont des conséquences sévères. La miction en position debout quasi-impossible, une couture importante rendant l'acte sexuel difficile (**Doumbia, 2014**).

1.1. Exploration paraclinique

1.1.1. Exploration morphologique

L'imagerie est constituée principalement par l'échographie abdomino-pelvienne (reins, recherche de résidus Mullérien). Des radiographies de squelettes sont réalisées en cas de retard statural, d'anomalies des membres (**Boudaoud et al., 2016**).

Urétérocystographie rétrograde : à la recherche d'anomalies des voies urinaires (**Doumbia, 2014**).

1.1.2. Exploration cytogénétique

Le caryotype permet de détecter les formes cytogénétiques en mosaïque qui définissent les dysgénésies gonadiques mixtes. La recherche du gène SRY est obligatoire car c'est le principal facteur qui médie la détermination gonadique masculine. Si une orientation féminine est envisagée, il est nécessaire de réaliser une étude du gène du récepteur aux androgènes avant de décider d'effectuer le test de sensibilisation aux androgènes (**Eng, 2017**).

1.1.3. Exploration biologique

Le dosage des hormones (testostérone, AMH ; LH ; FSH ; ACTH ; 170H ; Progesterone); permet d'avoir une orientation diagnostique. Un pic de testostérone et d'oestradiol à la naissance est un bon reflet du capital testiculaire. Un bilan dynamique doit être réalisé. Ce bilan permet de juger des taux de base et des pics de LH et FSH (test au LHRH) ; la capacité de synthèse des androgènes surrénaliens et testiculaires (test au Synacthène) ; la capacité de réponse leydigienne (test à la HCG) ; la réceptivité locale après administration d'androgènes (test de sensibilisation aux androgènes) (**Doumbia, 2014**).

2. Traitement

La reconstruction chirurgicale est la seule option de traitement possible pour les hypospadias (**Djakovic et al., 2008**).

L'objectif de la chirurgie est l'obtention de mictions et d'érections de bonne qualité. Dans les formes les plus distales, le problème est essentiellement esthétique et le retentissement fonctionnel moins important. L'intervention limite les conséquences psychologiques en redonnant à la verge une morphologie la plus proche possible de la normale.

Un traitement hormonal préopératoire peut être proposé (testostérone....) par voie intramusculaire ou percutanée. Il n'existe pas de consensus quant à son utilisation et ses effets à long terme sont inconnus. Il est utilisé de façon à obtenir une meilleure taille du pénis et une meilleure trophicité des tissus. Un délai entre sa prise et la chirurgie doit être respecté en raison de son effet inhibiteur sur la cicatrisation (**Boudaoud et al., 2016**).

L'âge idéal pour l'intervention se situe entre 1 et 2 ans. Certains praticiens opèrent plus précocement, entre 6 et 12 mois, pour diminuer le retentissement de la malformation sur l'image corporelle et le retentissement psychologique (**Rambourg et al., 2004**).

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Type et lieu d'étude

Deux types d'étude ont été effectuées: une étude rétrospective descriptive et l'autre transversale de type cas-témoins sur une durée de 2 mois allant de février à avril 2023.

Les données des malades ainsi que les prélèvements ont été entrepris au niveau de l'Hôpital Pédiatrique El Mansourah.

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 10 patients atteints d'un hypospadias. Tous les patients ont été interrogés par nous même et un questionnaire a été rempli, et ils 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, opéré ou non.
- **Critères d'exclusion** : patients refusant de faire le prélèvement sanguin, ou ayant une ambigüité sexuelle.

2.2. Population témoin

- **Critères d'inclusion** : sujets en bonne santé apparente ne présentant pas une anomalie sexuelle, et acceptant de faire le prélèvement sanguin.
- **Critères d'exclusion** : sujets refusant de faire le prélèvement sanguin.

3. Méthodes

3.1. Questionnaire

Nous avons interrogés les tuteurs légaux des malades via un questionnaire comprenant toutes les données nécessaires (**Annexe 1**).

3.2 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin en vue de l'extraction de l'ADN a été accompli dans des conditions stériles, et est recueilli dans des tubes contenant l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) comme anticoagulant et un inhibiteur de l'action des enzymes (ADNase). Une quantité de 5 à 10 ml a été prélevée pour chaque patient, les tubes ont été conservés au congélateur jusqu'à utilisation.

3.2. Etude moléculaire

L'étude moléculaire consiste en une recherche du polymorphisme C677T du gène *MTHFR*, pour cela nous avons procédé à :

- une extraction de l'ADN des patients et des témoins.
- une PCR-RFLP.

3.2.1. Extraction de l'ADN

L'ADN de chaque patient est extrait à partir de leucocytes du sang périphérique recueillis sur tube EDTA, suivant la technique au NaCl. Ainsi les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse par Tris EDTA (TE) 10:1.

3.2.1.1. 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**.

3.2.2. Génotypage du variant C677T du gène *MTHFR*

Pour la mise en évidence du génotype du polymorphisme C677T du gène *MTHFR*, nous avons utilisé la technique PCR-RFLP qui consiste en la réalisation des étapes suivantes :

- amplification par PCR suivie d'une électrophorèse des produits de PCR sur gel d'agarose à 2%.
- digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *Hinfl*.
- séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose à 3%.
- visualisation des produits de digestion par trans-illumination sous UV.

3.2.2.1. Amplification par Polymérase Chaîne Réaction (PCR)

La PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant d'amplifier des séquences d'ADN cibles et définies (l'Amplicon) en plusieurs millions d'exemplaires. Elle consiste à effectuer (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 (tampon, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligo-nucléotidiques (Sens et Antisens).

Le mix est préparé selon le tableau suivant :

Tableau 1 : Préparation du milieu réactionnel de la PCR.

Mix de PCR	Volume en μ l
dNTP 0,2mM final	3,2 μ l
Tampon 10x	2 μ l
MgCl ₂ 50mM	0,6 μ l
Taq polymérase 5U/ μ l	0,16 μ l
Eau distillée stérile	8,04 μ l
Amorce F 5'TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' (100ng/ μ l)	2 μ l
Amorce R 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3' (100ng/ μ l)	2 μ l
ADN 20ng/ μ L à 50ng/ μ L	2 μ l
Total	20 μ l

- Déroulement des cycles de la PCR

Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 18 μ l de ce mélange avec 2 μ l d'ADN pour chaque tube, nous avons déposé les tubes préparés dans un Thermocycleur (Eppendorf) qui est programmé pour 35 cycles selon les conditions présentées dans le tableau 2

Tableau 2: Programmation des cycles de PCR.

Etapes	Température	Durée
Dénaturation initiale	94° C	5 min
Dénaturation	94° C	30 Sec
Hybridation	71° C	30 Sec
Elongation	72° C	30 Sec
Elongation finale	72° C	10 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 avec 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 d'éventuelle contamination 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 30 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.

- Digestion des produits de PCR

L'ADN est soumis à une digestion enzymatique clivant la molécule à des endroits précis appelés sites de restriction. Dans notre étude, 10µl du produit PCR sont mélangés à 1µl d'enzyme de restriction *HinfI*. L'ensemble, est ensuite incubé toute une nuit à 37°C.

L'*HinfI* reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Alanine en position 222 (Figure 13).

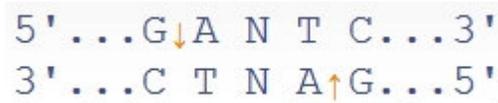


Figure 13: Site de restriction de l'enzyme *HinfI*.

- Electrophorèse des produits de la digestion

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction *HinfI* sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 3% (3g d'agarose + 100ml du TBE1X).

La migration des fragments d'ADN dépend de leurs tailles : plus le fragment a une grande taille, moins la migration électrophorétique par rapport au puits d'inclusion est importante. A l'inverse des fragments de petite taille ont une distance de migration plus élevée. Lorsqu'on

obtient une nette séparation des différents fragments du marqueur de taille, le gel est photographié après trans-illumination aux UV.

Les fragments d'ADN obtenu seront de :

- **198 pb** en cas d'absence de la mutation et les fragments d'ADN amplifiés et digérés apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote sauvage (CC).
- **175 pb** s'il y a mutation et les fragments d'ADN apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT).
- les deux bandes ensemble de 175 pb et 198 pb, correspondent au type hétérozygote (CT).

4. Etude statistique

Nous avons utilisé l'Excel et le logiciel Epi info version 7.2.3.1 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 C677T du gène *MTHFR* et l'hypospadias.

4.1. Calcul de l'OR

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence: Il est présenté sous forme de tableau croisé 2×2 (ci-dessous). Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne.

Tableau 3: Tableau de contingence.

	Malade	Non malade	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.

4.2. P value

Le seuil critique a priori est de 0,05 (risque α). 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

A partir des dossiers collectés de l'établissement hospitalier Mère et Enfant –El Mansoura-Constantine, nous avons notifié 83 cas d'hypospadias durant les années 2019 à 2022. L'âge moyen de la prise en charge était de 4,7 ans (1-15 ans).

La majorité des cas (56,62%) sont originaires de Constantine, 14,46% de Mila et 3,61% d'autres wilayas de l'Est algérien (12 wilayas).

1.1. Répartition des patients selon le type anatomique

La répartition des patients selon le type anatomique est représentée dans le tableau 4

Tableau 4 : Répartition des patients selon le type anatomique

Types d'hypospadias	n	Fréquences %
Antérieur	63	75,90
Moyen	6	7,23
Postérieur	14	16,87

Selon la répartition anatomique de **Mezzine et al. (2005)**, 55% des patients souffraient d'hypospadias antérieur, dont 25% balanique, par contre 6% des cas est postérieur suivi de l'hypospadias moyen avec une fréquence de 14%.

Cependant, les résultats de **Hilal, (2018)** par une étude faites sur 536 patients atteints d'hypospadias, ont évoqué que 71% de formes antérieure, 16% de forme moyenne et 13% de formes postérieure. 47% étaient balanopréputiales.

1.2. Répartition des patients selon les anomalies associées

Parmi les 83 cas, 66,27% représentent des cas d'hypospadias isolé, alors que 33,73% représentent des cas non isolés. Plusieurs anomalies urogénitales ont été observées, et d'autres sont non urogénitales (tableau 5).

Tableau 5 : Répartition des patients selon les malformations associées

Types d'anomalies associées	N	Fréquence
Anomalies urogénitale		
Coudure de la verge	16	32,65
Micropénis	3	6,12
Ectopie testiculaire uni/bilatérale	8	16,32
Hernie inguinale uni/bilatérale	3	6,12
Torsion de la verge	3	6,12
Bifidité scrotale	4	8,16
Transposition scrotale	4	8,16
Malformation rénale uni/bilatérale	2	4,08
Autres anomalies		
Asthme	2	4,08
Beta-thalassémie mineure	1	2,04
Insuffisance surrénaliennes	1	2,04
Syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS)	1	2,04
Malformation cardiaque	1	2,04

La coudure de la verge ainsi que l'ectopie testiculaire (uni/bilatérale) ont été observées comme étant les deux malformations associées les plus courantes, 32,65% et 16,32% respectivement, suivie par la transposition scrotale (4%) et le micropénis (3%) qui sont moins courantes alors que pour les autres anomalies (asthme, bêta-thalassémie mineure) elles sont très rares.

Dans l'étude entreprise par **Doumbia, (2014)**, tous ses patients présentaient la coudure de la verge et le prépuce incomplet, ainsi que l'absence d'artère du frein et la division du corps spongieux. Quelques patients (5,88%) ont présenté une hernie inguinale droite, cryptorchidie bilatérale et micropénis.

1.3. Répartition des patients selon les facteurs de risque maternels

La répartition selon les facteurs de risque maternels est évoquée dans le tableau 6. L'âge moyen maternel de la grossesse était de 31,6 ans.

Tableau 6 : Répartition des patients selon les facteurs de risque maternels

Facteur de risque maternel	n	Fréquences %
Naissance prématurée		
Oui :	5	6,02
Non	78	93,98
HTA durant la grossesse		
Oui	9	10,84
Non	74	89,16
Diabète durant la grossesse		
Oui	7	8,43
Non	76	91,57

1.3.1. Selon la naissance prématurée

Nous avons constaté que la plupart des patients (78) sont nés à temps, alors que 5 patients sont nés prématurés. Nous pensons qu'il existe une relation entre la prématurité et l'hypospadias.

La naissance prématurée, les petits nouveau-nés pour l'âge gestationnel qui sont inférieurs au 10^{ème} percentile pour le poids, la longueur et/ou la circonférence de la tête, ainsi que le retard de croissance intra-utérin ont été associés à un risque accru d'avoir un nouveau né atteint d'hypospadias (**Halaseh et al., 2022**).

1.3.2. Selon l'HTA durant la grossesse

Nous avons remarqué que l'apparition de la maladie chez les enfants dont les mères souffraient d'hypertension artérielle ne représentait que 10,84% des cas, ce qui signifie que l'HTA ne représente pas un facteur de risque de grande ampleur.

Les résultats obtenus sont contradictoires à ceux d'**Agopian et al. (2016)**, qui ont déclaré une association entre l'hypertension gestationnelle et l'hypospadias chez la progéniture.

1.3.3. Selon le diabète durant la grossesse

Seulement 8,43% des mères de nos patients souffraient de diabète pendant la grossesse. Le diabète pré-grossesse et, dans une moindre mesure, le DG étaient associés à plusieurs sous-types d'anomalies congénitales du nouveau-né comme l'hypospadias. Ces résultats suggèrent des avantages potentiels du conseil pré-conceptionnel chez les femmes atteintes de diabète préexistant ou à risque de DG pour la prévention des anomalies congénitales (**Wu et al., 2020**).

1.4. Répartition selon les antécédents familiaux

Nous avons constaté que 2,41% cas ont des antécédents familiaux (frères hypospades). La survenue familiale semble plus fréquente pour les formes antérieures et moyennes que pour les types postérieurs. La probabilité qu'un frère d'un garçon atteint ait un hypospadias est de 9 à 17 % (Van der Horst *et al.*, 2017).

1.5. Répartition des patients selon les années

La répartition des patients par année est indiquée dans la figure 14

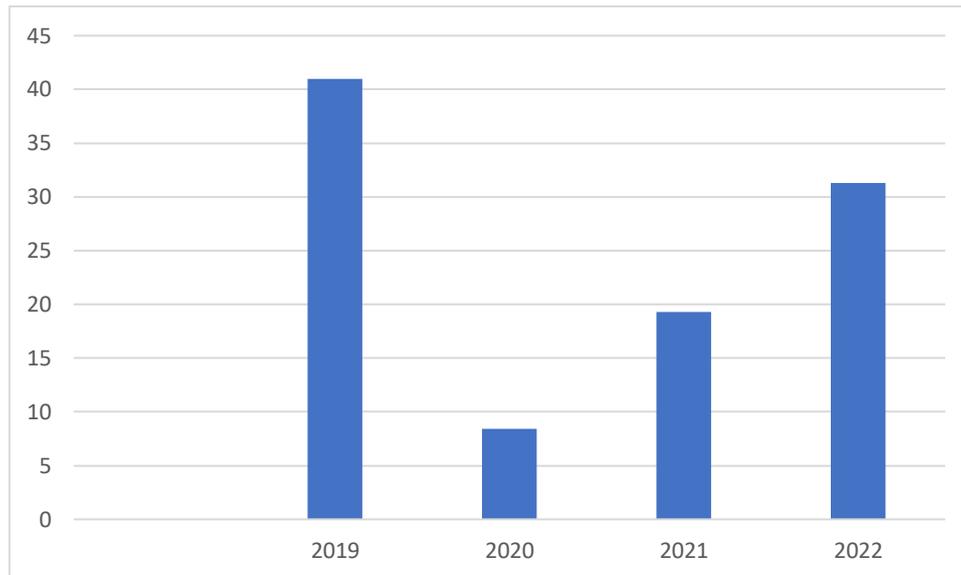


Figure 14 : Répartition des patients par année

Nous avons noté qu'en 2019, la fréquence d'hypospadias était élevée (40,96%), mais en 2020 nous avons constaté une diminution rapide (8,43%), puis progressivement la fréquence a augmenté à nouveau pour atteindre 19,27% en 2021 puis 31,32% en 2022. La baisse des cas atteints par l'hypospadias peut être expliquée par une absence de consultation pendant la période de COVID 19.

Similairement à nos résultats, en Chine, pendant la pandémie de COVID-19, 62,86 % de patients en moins se sont rendus à l'hôpital et ont subi des opérations pédiatriques par rapport à la période correspondante un an plus tôt. Après que les hôpitaux et les cliniques ont élaboré des protocoles et réorganisé les installations de soins de santé en réponse à la pandémie, le nombre d'opérations réalisées est resté stable et comparable à la période pré-pandémique. La pandémie de COVID-19 a également réduit les mouvements de population, ce qui rend les visites à l'hôpital plus difficiles pour les patients. Ces conditions

peuvent entraver la consultation et le traitement en temps voulu des enfants atteints d'hypospadias (Bai *et al.*, 2022).

2. Etude transversale

Au total, 10 cas ont été collectés. 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 patients selon l'âge de la prise en charge

Notre population est constituée de 10 cas qui sont répartis selon des tranches de 3 ans. La répartition selon l'âge de la prise en charge des patients hypospades est montrée dans le tableau 7

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

Tranches d'âge (ans)	Patients (N=10)	
	Nombre	Fréquence %
< 3	1	10
[3-6[5	50
[6-9[2	20
[9-12[2	20

Nous avons noté que l'incidence de la maladie est particulièrement importante dans la tranche d'âge [3-6[avec un taux de 50%, suivie par une fréquence de 20% de patients qui ont un âge entre [6-9[et de même pour la tranche d'âge de [9-12[.

Le plus jeune enfant qui a subi la chirurgie avait 18 mois, avec un hypospadias antérieur, et l'hypospade le plus âgé qui a subi la chirurgie avait 12 ans avec un hypospadias postérieur.

L'étude de **Rambourg et al. (2004)**, a annoncé que l'âge idéal pour faire l'intervention se situe entre 1 et 2 ans. Certains praticiens opèrent plus précocement entre 6 et 12 mois, pour diminuer le retentissement de la malformation sur l'image corporelle ainsi que le retentissement psychologique.

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

Les patients qui ont été inclus dans cette étude proviennent de 4 Wilayas différentes de l'Algérie.

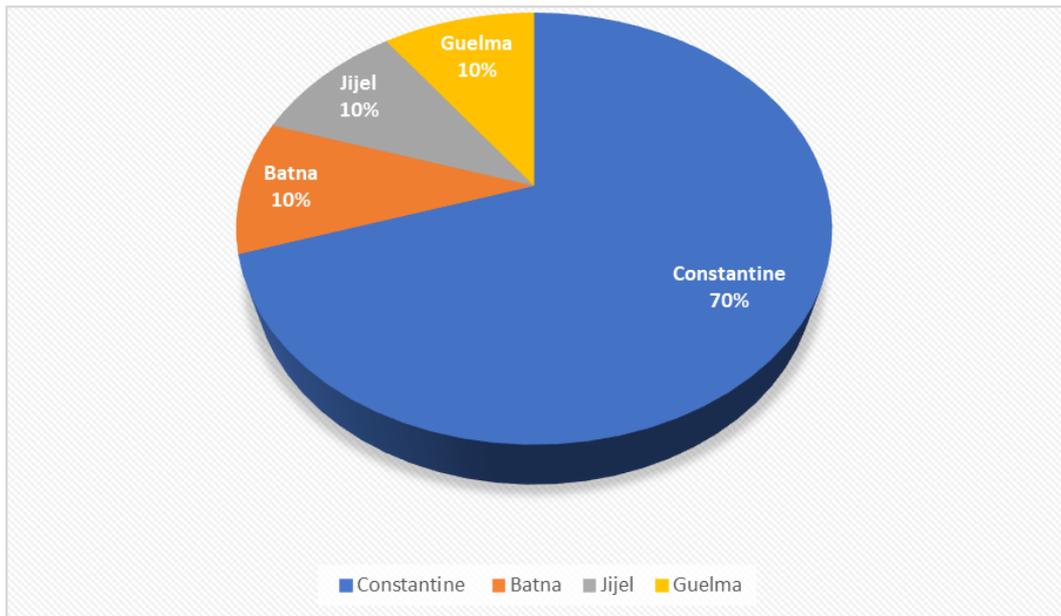


Figure 15: Répartition des hypospades en fonction de l’origine géographique.

Nous avons constaté que la wilaya de Constantine compte le plus grand nombre de patients avec un pourcentage de 70%, 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 menée par **Lauriot Dit Prevost et al. (2020)**, qui a duré 13 ans et a inclus 975 cas d'hypospadias, une large distribution spatiale hétérogène des cas hypospadias dans le nord de la France a été signalée. Les auteurs ont identifié deux groupes avec des modèles environnementaux et sociaux différents, le premier groupe était les zones rurales, qui contenaient le pourcentage le plus élevé d'hypospadias. Le deuxième groupe est constitué des zones urbaines qui contenaient un pourcentage plus faible de cette anomalie. Ces résultats soulignent ainsi la complexité de la relation entre exposition environnementale et hypospadias.

2.3. Répartition selon l’âge de la mère pendant de la grossesse

La répartition selon l’âge de la mère est évoquée dans le tableau 8

Tableau 8 : Répartition selon l’âge de la mère pendant la grossesse.

L’âge de la mère (ans)	Nombre	Fréquence %
< 25	2	20
[25-30]	3	30
> 30	5	50

Nous avons observé que la moitié de la population sont des femmes âgées de plus de 30 ans. **Abdelhalim et al. (2021)**, ont déclaré qu'un âge maternel ≥ 34 ans est significativement corrélé avec les patients atteints d'hypospadias. Par contre, dans l'étude de **Bhat, (2022)**, il a été démontré que le risque d'hypospadias augmente chez les mères âgées de moins de 20 ans et de plus de 40 ans.

2.4. Répartition selon la profession du père

La répartition selon l'occupation du père est indiquée dans le tableau 9

Tableau 9 : Répartition selon l'occupation du père.

Profession	Nombre	Fréquence
Employé entreprise de pétrochimie	1	10
chauffeur de taxi	1	10
Fonctionnaire	1	10
Gendarme	2	20
Maçon	1	10
Chômeur	1	10
Employé cimenterie	1	10
Agent de sécurité	2	20

Nous avons remarqué que les fréquences les plus élevées sont pour la profession agent de sécurité et gendarme (20%), par contre tous les autres métiers ont été représentés avec la même fréquence de 10%. Vu le nombre de patients très réduit nous ne pouvons pas tirer des conclusions en ce qui concerne ce paramètre.

Dans une étude qui a été faite en **2022** par **Coulibaly**, les commerçants étaient majoritaires avec une fréquence de 42,5% des cas (17 sur 40), suivi de cultivateurs (32,5%), et ensuite les ouvriers et les cadres moyens avec les fréquences respectives de 15% et 10%.

2.5. Répartition des patients selon le poids à la naissance

Nous avons pu faire une répartition des patients recrutés pour 10 hypospades et 20 témoins.

Tableau 10 : Répartition selon le poids à la naissance.

Poids	Patients (N=10)		Témoins (N=20)	
	Nombre	%	Nombre	%
< 3kg	3	30	0	0
> 3kg	7	70	20	100

Les patients qui ont plus de 3Kg sont représentés avec la fréquence la plus élevée 70% tandis que les patients qui ont moins de 3Kg sont représentés avec une fréquence de 30%. Cependant pour le groupe témoins tous les enfants avaient un poids à la naissance qui est supérieur à 3kg.

Dans l'étude de **Brouwers et al. (2007)**, il a été constaté que l'incidence la plus élevée d'hypospadias (114 cas) était chez les enfants de faible poids à la naissance (< 2500 grammes).

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 figure 16

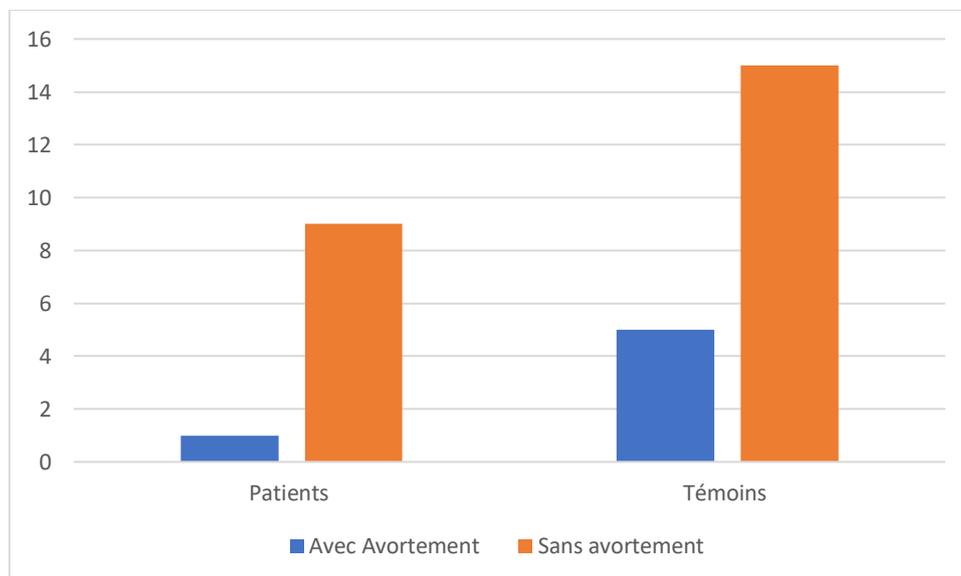


Figure16 : Répartition de la population selon les antécédents médicaux maternels.

Le taux d'avortement chez les mères des hypospades est environ de 10%, qui est un taux moins élevé par rapport aux taux d'avortement chez les mères des témoins (25%).

Contrairement à nos résultats, ceux obtenus dans l'étude de **Latreche et al. (2022)**, ont annoncé un taux d'avortement chez les mères des hypospades d'environ 60% et le taux d'avortement chez les mères des témoins de 25%.

3. Etude moléculaire du polymorphisme C677T du gène MTHFR

Nous n'avons pu obtenir que 30 résultats de l'analyse moléculaire du variant C677T du gène *MTHFR*. 10 hypospades et 20 témoins. Les résultats de l'amplification du gène sont mentionnés dans la figure 16.

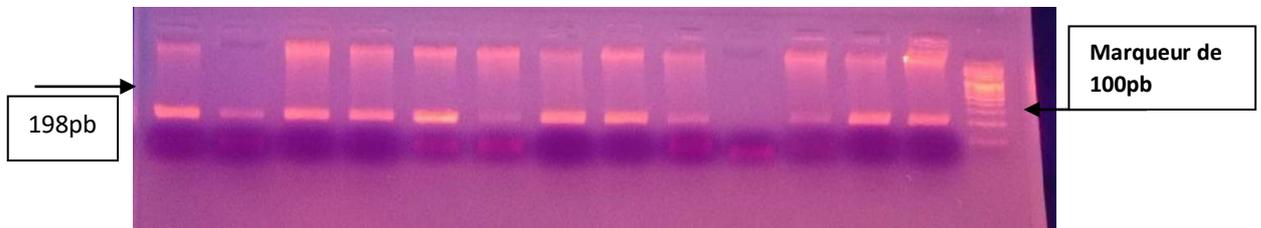


Figure17 : Contrôle PCR du polymorphisme C677T de la *MTHFR*

La digestion des produits d'amplification du variant étudié du gène *MTHFR* par l'enzyme de restriction *Hinf* I a reflété 2 fragments (Figure 17).

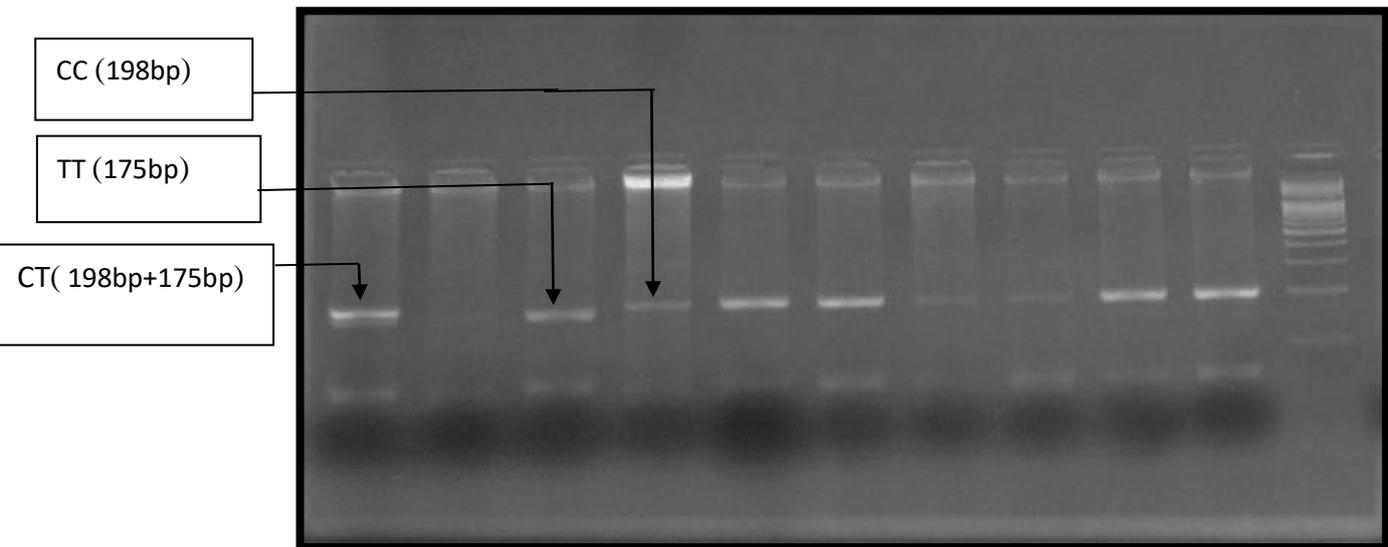


Figure 18 : Profil électrophorétique du génotypage du variant C677T de la *MTHFR*.

M : marqueur de taille d'ADN ; **CC** : type sauvage homozygote ; **CT** : hétérozygote ; **TT** : mutant homozygote

Le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande (**198pb**) correspondant au type homozygote normal CC, le deuxième qui est sous forme d'une seule bande (**175pb**), correspondant au type homozygote muté TT, le type hétérozygote CT apparaît sous forme de 2 bandes (198pb et 175pb).

La répartition des fréquences génotypiques et alléliques des patients et des témoins est indiquée dans le tableau 11

Tableau 11 : Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les patients et les témoins.

		Patients (10)		Témoins (20)		Odds ratio /	<i>p-value</i> /
		n	%	n	%		
Fréquences génotypiques	CC	8	80	15	75	-----	
	CT	1	10	2	10	0,94 (0,07-12)	0,96
	TT	1	10	3	15	0,63 (0,06-7,03)	0,70
Fréquences alléliques	Allèle C	17	85	31	77,5	/	/
	Allèle T	3	15	9	22,5	0,61 (0,14-2,55)	0,49

La distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR dans notre échantillon montre que le génotype homozygote normal (CC) est le génotype prédominant dans les deux populations (patients et témoins). Nous avons remarqué également que le génotype hétérozygote (CT) est représenté avec une fréquence égale chez les deux populations d'étude. Néanmoins, le génotype homozygote muté (TT), est prédominant dans la population témoin. Les calculs de l'OR et de la *p-value* suggèrent que le polymorphisme C677T du MTHFR ne semble pas être impliqué dans la survenue de l'hypospadias dans notre population d'étude.

La répartition des fréquences alléliques du variant C677T indique que l'allèle C est prédominant dans les deux populations (patients et témoins). Les calculs de l'OR et de la *p-value* a affirmé que les résultats sont statistiquement non significatifs. Nous pouvons

conclure qu'il n'existe pas d'association entre le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* et l'hypospadias dans la population étudiée.

Il y a très peu d'étude qui ont examiné l'interaction entre le variant C677T et l'hypospadias. **Dokter et al. (2017)**, ont mené une étude sur 855 cas d'hypospadias et 713 témoins. Les résultats obtenus ont suggéré que l'hypospadias n'était associé ni à l'utilisation d'acide folique ni au polymorphisme C677T *MTHFR*, ni à leur interaction. Cependant, les auteurs ont déclaré une association avec l'hypospadias moyen lorsqu'aucun supplément n'était utilisé en particulier chez les nourrissons porteurs du génotype CT/TT.

Zhang et al. (2018), ont analysé la structure secondaire de l'ARN et ont montré que les allèles 677T et 1298C mutés peuvent modifier la conformation spatiale de la structure secondaire de l'ARN du gène *MTHFR* et influencer sa stabilité qui pourrait expliquer la forme thermolabile de l'enzyme, causée par l'allèle 677T et les changements conformationnels de l'enzyme, induite par l'allèle 1298C.

Conclusion et perspectives

L'hypospadias est une malformation sexuelle congénitale courante chez les hommes, considérée comme l'une des maladies les plus controversées pour tous les spécialistes dans ce domaine en raison de sa fréquence croissante dans le monde au fil des années.

Notre travail de recherche avait pour but d'étudier les caractéristiques et les facteurs de risque de l'hypospadias dans la population algérienne d'une part et de rechercher d'éventuelle association entre le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* et l'hypospadias d'autre part. Cela nous a permis de tirer quelques conclusions :

- une prédominance des formes antérieures avec une fréquence de 75,90%.
- En raison de la pandémie de COVID-19 la fréquence des cas a diminué et a réaugmenté juste après.
- la coudure de la verge et l'ectopie testiculaire ont été les deux malformations associées les plus courantes, avec les fréquences respectives de 32,65 % et 16,32 %.
- 50% des mères sont âgées de plus de 30 ans.
- concernant l'exploration moléculaire du variant C677T de la *MTHFR*, nous avons remarqué une prédominance du génotype CC et de l'allèle C pour les deux populations, 80% et 85% chez les hyospades, et 75% et 77,5% chez les témoins. Les analyses statistiques effectuées ont dévoilé une absence d'association entre le variant étudié et la survenue de l'hypospadias dans la population étudiée.

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

- une coopération entre les parents et un suivi régulier du chirurgien seraient nécessaires.
- un examen minutieux des organes génitaux des nouveau-nés doit être fait par les sages-femmes afin de mieux orienter les parents pour une prise en charge précoce par une équipe pluridisciplinaire.
- étendre le nombre de patients ce qui permet un traitement statistique des données afin de dégager des conclusions plus précises.
- pour aboutir à de meilleurs résultats, une action coordonnée entre endocrinologue pédiatre, chirurgien pédiatre, urologue pédiatre et biologiste serait nécessaire.
- étudier d'autres gènes impliqués dans l'hypospadias, ainsi que les relations gène-environnement.

Références bibliographiques

- Acimi, S.**(2019). Anatomical explanations of the pathogenesis of proximal hypospadias. *Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons*. 24(2), 97.
- Aneji, C.U., Northrup, H., Sing, Au. K.**(2012). Deep Sequencing Study of the MTHFR Gene to Identify Variants Associated with Myelomeningocele. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*: 94(2), 84-90.
- Baskin, L. S.** (2004). Hypospadias. *Hypospadias and genital development*, 3-22.
- Bergman, J.E., Loene, M., Vrifheid, M., et al.** (2015). Epidemiology of hypospadias in Europe : a registry _base stady. *World J Urol*. 33, 2159-2167.
- Bhat, A.** (2022). *Hypospadiology: Principles and Practices*. London: Springer.295-313.
- Botta, S., Cunha, G.R., & Baskin, L.S.** (2014). Do endocrine disruptors cause hypospadias?. *Translational andrology and urology*. 3(4), 330.
- Botto, L.D, & Yang, Q.** (2000). 5, Variantes du gène de la 10 méthylènetétrahydrofolate réductase et anomalies congénitales : une revue HuGE. *Journal américain d'épidémiologie*. 151 (9), 862-877.
- Bouanani, I., Batouche, D.D., & Benouaz, S.** (2018). *Hypospadias*. Éditions universitaires européennes.
- Boudaoud, N., Pons, M., Persyn, M.A.B.P., Lefebvre, F., et al.** (2016). *Hypospadias*. In *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*. Elsevier Masson. 61 (5). 439-449.
- Boughrara, W.** (2015). *Etude pharmacogénétique du méthotrexate et d'association des polymorphismes des gènes MTHFR, ABCB1 et GGH avec la polyarthrite rhumatoïde*. Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf ».
- Bouty, A., Ayers, K. L, Pask, A., Heloury, Y., et al.** (2016). The genetic and environmental factors underlying hypospadias. *Sexual Development*. 9(5), 239-259.
- Bouya, P. A., Odzébé, A. W., Avala, P. P., Ondongo Atipo, M., et al.** (2012). *Prise en charge de la cryptorchidie au centre hospitalier et universitaire de Brazzaville*. *Andrologie*, 1-4.
- Camara, M.**(2020). *Sténose de l'urètre masculin dans le service de chirurgie générale du Centre de Sante de Référence de la commune VI du District de Bamako*. Thèse de Doctorat. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, USTTB.
- Cormier, L., & Valeri, A.**(2021). *Reins et voies urinaires-Appareil génital masculin: Enseignement intégré*. Elsevier Health Sciences.
- Coulibaly, M.**(2022). *Hypospadias chez l'enfant au service de chirurgie pédiatrique du CHU-GT à propos de 40 cas*. Thèse de doctorat en médecine, Université des sciences destechniques et des technologiesde Bamako, USTTB. <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5622>

- Coustham, V., Andrieux, C., Collin, A., David, I., et al.** (2022). Epigenetics at the interface between environment and DNA: what importance for breeding practices and selection methods?. In 14. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras. Elsevier. 13 (5), 628-629.
- Dauendorffer, J. N., & Ly, S.**(2021). Dermatologie génitale: masculines et féminines. Elsevier Masson. <https://www.elsevier-masson.fr/dermatologie-genitale-9782294768286.html>
- Debbarh, F.Z.**(2009). Hypospadias chez l'enfant (A propos de 82 cas). Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. 201p.
- Dembélé, M.**(2023). Dysfonction érectile dans le Service d'Urologie (CHU Point G) thèse de doctorat en médecine. Université des sciences destechniques et des technologiesde Bamako. <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5895>.
- Demède, D., e Silva, E. D. M., Gorduza, D., & Mouriquand, P.**(2008). Actualitéssur l'hypospade. What is new about hypospadias. Archives de pédiatrie, 15, 1366-1374.
- Diarra, A.** (2023). Les résultats fonctionnels et anatomiques de l'urétrotomie interne endoscopique dans le rétrécissement de l'urètre. Thèse de doctorat en médecine, Université des Sciences, des Techniqueset des Technologies de Bamako(USTTB). 93p.
- Diarra, M.**(2022). Étiologies et prise en charge du rétrécissement urétral dans le service d'urologie du CHU Pr BSS de Kati, thèse de doctorat en médecine, Université des Sciences, des Techniqueset des Technologies de Bamako(USTTB). <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5444>.
- Diarra, Y.**(2023). Aspect de l'échographie doppler dans le diagnostic de la varicocèle au CHU GABRIEL TOURE de BAMAKO–MALI: à propos d'un cas. Mémoire de diplôme d'état. Université des Sciences, des Techniqueset des Technologies de Bamako(USTTB). <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/6138>
- Djaara, H.** (2019). Étude du Polymorphisme Génétique C677T et A1298C du gène MTHFR chez les patients ayant une Athérosclérose Coronarienne, dans une partie de lapopulation des Aurès (Algérie). Thèse de doctorat. Université de Batna 2.<http://eprints.univ-batna2.dz/id/eprint/1758>.
- Djakovic N, Nyarangi-Dix J, Ozturk A, Hohenfellner M.** (2008). Hypospadias. Adv Urol.;2008:650135.
- Dokter, E.M., van Rooij, I.A., Wijers, C.H., Groothuismink, J.M., et al.** (2016). Interaction between MTHFR 677C>T and periconceptional folic acid supplementation in the risk of Hypospadias. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 106(4):275-84.
- Doumbia, Y. A.** (2014). Prise en charge de l'hypospadias dans le service d'urologie du CHU Gabriel Touré. Thèse de doctorat en médecine. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB).
- Eng, P.**(2017). L'hypospadias chez le nouveau-né: lien de causalité avec les perturbateurs endocriniens?. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Poitiers.75p.

Froese, D.S., Kopec, J., Rembeza, E., Bezerra, GA, et al.(2018). Base structurelle pour la régulation de la 5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase humaine par phosphorylation et inhibition de la S-adénosylméthionine. *Communications naturelles*. 9 (1), 2261.

Genetics Home Reference. 2017. MTHFR Gene.

George, M., Schneuer, F.J., Jamieson, S.E., Holland, A.J. (2015). Genetic and environmental factors in the aetiology of hypospadias. *Pediatric Surgery International*, 31, 519-527.

Goita, O.(2023). Aspects épidémiologiques cliniques et thérapeutiques des pathologies du canal péritonéo-vaginal chez l'enfant au Csfref de Koutiala. Thèse de doctorat en médecine. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB).79p. <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5939>.

Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, et al.1998. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) *Mammalian Genome*. 8 (9): 652-656.

Gozar, H., Bara, Z., Dicu, E., & Derzsi, Z.(2023). Current perspectives in hypospadias research: A scoping review of articles published in 2021. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 25(5), 1-26.

Habran, C., Laterre, M., Fudvoye, J., & Nisolle, M. (2021). Prise en charge anténatale d'un désordre du développement sexuel. *Louvain médical*. 140, 404.

Hadidi, A.T.(2022). Classification and assessment of hypospadias. In *Hypospadias Surgery: An illustrated Textbook*. Cham: Springer International Publishing. 237-248.

Halaseh, S. A., Halaseh, S., Ashour, M., & Ashour, M. E.(2022). Hypospadias: A Comprehensive Review Including Its Embryology, Etiology and Surgical Techniques. *Cureus*, 14(7).

Homberger, A., Linnebank, M., Winter, C., Willenbring, H., et al. (2000). Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *European Journal of Human Genetics*. 8(9), 725-729.

Idelman, S., & Verdetti, J.(2020). *Endocrinologie et communications cellulaires*. 571.

Joodi, M., Amerizadeh, F., Hassanian, S. M., Erfani, M., et al. (2019). The genetic factors contributing to hypospadias and their clinical utility in its diagnosis. *Journal of cellular physiology*, 234(5), 5519-5523.

Kaefer, M., Rink, R., Misseri, R., Winchester, P., et al. (2023). Role of epigenetics in the etiology of hypospadias through penile foreskin DNA methylation alterations. *Scientific Reports*. 13(1),555.

Kalfa, N., Gaspari, L., Ollivier, M., Philibert, P., et al.(2019). Molecular genetics of hypospadias and cryptorchidism recent developments. *Clinical Genetics*, 95(1), 122-131.

Kalfa, N., Mahamat-Nour, A. D., Philibert, P., Gaspari, L., et al.(2015). Le développement des organes génitaux. *Rev. med. perinat*, 7, 128-136.

Kalfa, N., Philibert, P., & Sultan, C.(2009). Is hypospadias a genetic, endocrine or environmental disease, or still an unexplained malformation?. *International journal of andrology*. 32(3), 187-197.

Klerk, M., Verhoef, P., Clarke, R., Blom H.J., et al.(2002). MTHFR 677CT polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA*. 288:2023 31.

Laouar, R., Saada, M., Bechkri, S., Rezgoune-Chellat, D., et al. (2016). Genetic and hematological profiles of β -thalassemias in Eastern Algeria. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*. 37-46

Lasfer, K. (2022). Etude bibliographiques sur les tumeurs de Krukenberg. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri. <https://www.ummo.dz/dspace/handle/ummo/19973>.

Leclerc, D., & Rozen, R.(2007). Génétique Moléculaire de MTHFR Les polymorphismes ne sont pas tous bénins. *Médecine Science*. 3 (23) : 297-302.

Li, X., Liu, A., Zhang, Z., An, X., & Wang, S. (2019). Prenatal diagnosis of hypospadias with 2-dimensional and 3-dimensional ultrasonography. *Scientific Reports*, 9(1), 8662.

Martin, Y.N., Salavaggione, O.E., Eckloff, B.W., Wieben, E.D., et al. (2006). Human methylenetetrahydrofolate reductase pharmacogenomics: gene resequencing and functional genomics. *Pharmacogenetics and genomics*, 16(4), 265-277.

Mattiske, D.M., & Pask, A.J.(2021). Endocrine disrupting chemicals in the pathogenesis of hypospadias; developmental and toxicological perspectives. *Current Research in Toxicology*. 2, 179-191.

Mohammedi, K. (2015). Etude de l'association entre les polymorphismes génétiques C677T du méthylentetrahydrofolate reductase (mthfr) et risque de leucémie myéloïde chronique: à propos de cas cliniques d'une population algérienne. Mémoire de magister. Université Mohamed Khider-Biskra.

N'djim, O.(2021). Etude prospective de la dysfonction érectile chez les personnes présentant un déficit androgénique lié à l'âge dans le Service d'Urologie du CHU Gabriel Touré. Thèse de doctorat. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, USTTB). <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/4799>

Örtqvist, L.(2016). Long-Term Perspectives on Hypospadias. Thèse de doctorat Karolinska Institutet (Suède). <https://core.ac.uk/download/75913223.pdf>

Ouali, K. (2021). Etude bibliographique sur l'infertilité masculine: cas d'infertilité induite par Chlamydia trachomatis. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri. <https://www.ummo.dz/dspace/handle/ummo/18815>

Pasternak, J. J.(2003). Génétique moléculaire humaine: une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires. De Boeck Supérieur.

Peycelon, M.(2019). Mécanismes physiopathologiques impliqués dans la différenciation du tractus génital masculin. Thèse de Doctorat de Génétique Humaine, Sorbonne université. Français. (NNT : 2019SORUS461). {tel-03153249}

Peycelon, M., & Audry, G. Hypospadias et Imagerie. https://www.sfip-radiopediatrie.org/wp-content/uploads/2018/07/peycelon_trousseau2012.pdf.

Rambourg, M., Pascal, L., & Lasalle, J.(2004). Les malformations congénitales du petit garçon en Languedoc-Roussillon. Etude des cryptorchidies et des hypospadias opérés à partir des données du PMSI de 1998 à 2001. Bulletin épidémiologique hebdomadaire.

Ravikumar, V. R.(2020). Hypospadias surgery: Science and art. Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons. 25(5), 335.

Richard, M. A., Sok, P., Canon, S., Nembhard, W. N., et al. (2020). Altered mechanisms of genital development identified through integration of DNA methylation and genomic measures in hypospadias. Scientific Reports, 10(1), 12715.

Robien K, Ulrich CM. (2003). 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. Am J Epidemiol. 1;157(7):571-82.

Rübben, I. (2015). Distal hypospadias: Current therapeutic approach and various aspects of follow-up. Der Urologe, 54, 628-633.

Shahzad, K., Hai, A., Ahmed, A., Kizilbash, N., et al.(2013). A structured-based model for the decreased activity of Ala222Val and Glu429Ala methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutants. Bioinformation. 9(18), 929.

Sheldon, C.A., & Duckett, J.W. (1987). Hypospadias. Pediatric Clinics of North America. 34(5), 1259-1272.

Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM); Sparks TN. (2021). Hypospadias. Am J Obstet Gynecol. 225(5):B18-B20

Stein R. (2012). Hypospadias. Suppléments européens d'urologie. 11 : 33-45.

Stokowski, L.A. (2004). Hypospadiasin the neonate. Adv Neonatal Care. 4(4):206-15.

Trémollières, F.(2013). Bases génétiques et anatomophysiologiques de la sexualité humaine. Manuel de Sexologie, 1.

Trémollières, F.(2021). Bases génétiques et anatomophysiologiques de la sexualité humaine. Manuel de Sexologie.1.

Van der Horst, H.J.R., & De Wall, L.L.(2017). Hypospadias, all there is to know. European journal of pediatrics. 176, 435-441.

Zhu, B., Xiahou, Z., Zhao, H., Peng, B., et al.(2014). MTHFR promotes heterochromatin maintenance. Biochemical and biophysical research communications, 447(4), 702-706.

Annexes

Questionnaire (Témoins)

Date : / /

Identité patient

Nom et Prénom :

Age : Tél :--.....-.....-.....

Adresse :

Taille et poids à la naissance : Taille Poids

Prématurité : **oui** **non**

Retard de croissance intra utérin (RCIU) : **oui** **non**

La mère

Age

Occupation

Malformations / maladies :

Mortinatalité : **oui** **non**

Habitat : a. Rural

Le père

Age

Occupation :

Malformations / maladies.....

Fratrie : **oui** **non**

Nombre :

Antécédents familiaux de n'importe qu'elle maladie.....

Consanguinité des parents : **oui** **non**

Degré :

Grossesse gémellaire : **oui** **non**

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 complétée (1 à 2 jours).

Annexe 3 : Préparation des solutions

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

Tris: 2,422g

EDTA: 1,86g qsp : 1L

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

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 est une anomalie congénitale fréquente chez les garçons qui est due à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge responsable d'un abouchement ectopique de l'urètre. Sa prévalence étant estimée entre 1 et 10 garçons pour 1000 naissances. Son origine est souvent multifactorielle (génétique, endocrinienne et environnementale). Anatomiquement, il existe trois formes différentes : 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 de rechercher d'éventuelles associations entre le variant génétique C677T du gène *MTHFR* et l'hypospadias dans l'Est algérien.

Patients et méthodes: 10 hypospades et 20 témoins ont participé à cette étude. Après extraction de l'ADN leucocytaire par la méthode au NaCl, la séquence d'intérêt a été amplifiée par PCR et les produits d'amplification ont été digérés par l'enzyme de restriction *Hinf* 1 et analysés par électrophorèse sur gel d'agarose.

Résultats : selon les résultats de l'étude statistique, la forme antérieure est la plus fréquente, la couture de la verge et l'ectopie testiculaire ont été les deux malformations associées les plus courantes avec les fréquences respectives de 32,65% et 16,32%. 50% des mères sont âgées de plus de 30 ans. L'étude moléculaire a révélé une prédominance du génotype CC et de l'allèle C pour les deux populations, (80% ; 85%) chez les hypospades, et (75% ; 77,5%) chez les témoins. Après le calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont évoqué une absence d'association entre l'hypospadias et le variant C677T du gène *MTHFR* ($p > 0,05$).

Conclusion : aucune association significative n'a été observée entre le variant C677T de la *MTHFR* et la survenue de l'hypospadias dans la population investiguée. Une étude avec un effectif plus important est nécessaire pour tirer des conclusions plus précises.

Mots clés : Hypospadias, malformation congénitale, paramètres cliniques et biologiques, variant génétique C677T, *MTHFR*, PCR/RFLP.

Abstract

Hypospadias is a frequent congenital anomaly in boys, caused by hypoplasia of the tissues forming the ventral surface of the penis, leading to ectopic interruption of the urethra. Its prevalence is estimated at between 1 and 10 boys per 1,000 births. Its origin is often multifactorial (genetic, endocrine and environmental). Anatomically, there are three different forms: anterior, middle and posterior.

Objective: The aim of our work is twofold: to carry out a statistical study (retrospective and cross-sectional) defining the clinical and biological characteristics of the study population, and to investigate possible associations between the C677T genetic variant of the *MTHFR* gene and hypospadias in eastern Algeria.

Patients and methods: 10 hypospades and 20 controls participated in this study. After extraction of leukocyte DNA by the NaCl method, the sequence of interest was amplified by PCR and the amplification products were digested with the restriction enzyme *Hinf* 1 (PCR/RFLP) and analyzed by agarose gel electrophoresis.

Results: According to the results of the statistical study, the anterior form is the most frequent, while bent penis and testicular ectopia were the two most common associated malformations, with frequencies of 32.65% and 16.32%, respectively. 50% of the mothers were over 30 years of age. The molecular study revealed a predominance of the CC genotype and the C allele for both populations, (80% ;85%) in hypospades, and (75% ;77.5%) in controls. After calculation of the OR and *p-value*, the results showed no association between hypospadias and the C677T variant of the *MTHFR* gene ($p > 0.05$).

Conclusion: No significant association was observed between *MTHFR* variant C677T and the occurrence of hypospadias in the population studied. A larger study is needed to draw more precise conclusions.

Key words: Hypospadias, congenital malformation, clinical and biological parameters, C677T variant, *MTHFR*, PCR/RFLP.

ملخص

إحليل تحتي هو شذوذ خلقي متكرر عند الأولاد ، ناجم عن نقص تنسج الأنسجة التي تشكل السطح البطني للقضيبي ، مما يؤدي إلى انقطاع مجرى البول خارج الإحليل .يُقدر انتشاره بين 1 و 10 أولاد لكل 1000 ولادة، وغالبًا ما يكون أصله متعدد العوامل (وراثي وغدد صماء وبيئية) من الناحية التشريحية، هناك ثلاثة أشكال مختلفة: الأمامي والمتوسط والخلفي.

الهدف

يتمثل الهدف من عملنا في شقين: إجراء دراسة إحصائية (بأثر رجعي ومقطع عرضي) لتحديد الخصائص السريرية والبيولوجية لمجتمع الدراسة ، والتحقق في الارتباطات المحتملة بين المتغير الجيني C677T لجين MTHFR والإحليل التحتي في المنطقة الشرقية .الجزائر.

المرضى و الطرق:

شارك في هذه الدراسة 10 مبال تحتي و 20 شاهد .بعد استخراج الحمض النووي للكريات البيض بطريقة NaCl ، تم تضخيم تسلسل الاهتمام بواسطة PCR وتم هضم منتجات التضخيم باستخدام إنزيم التقييد *Hinf 1* (PCR / RFLP) وتحليلها بواسطة الرحلان الكهربائي للهلام الاغاروز.

النتائج

وفقًا لنتائج الدراسة الإحصائية، فإن الشكل الأمامي هو الأكثر شيوعًا، في حين كان تقوس القضيب والخصية هما أكثر التشوهين المرتبطين شيوعًا، حيث بلغ التردد 32.65% و 16.32% على التوالي 50%. من الأمهات تجاوزن الثلاثين من العمر .كشفت الدراسة الجزئية غلبة التركيب الوراثي CC والأليل C لكلا المجموعتين (80% ، 85%) في hypospades ، و (75% ، 77.5%) في مجموعة الشواهد .بعد حساب قيمة OR والقيمة p ، أظهرت النتائج عدم وجود ارتباط بين hypospadias والمتغير C677T من جين MTHFR. ($p > 0.05$)

الخلاصة:

لم يلاحظ أي ارتباط معنوي بين متغير MTHFR C677T و حدوث المبال التحتاني في السكان المدروسين .هناك حاجة إلى دراسة أكبر لاستخلاص استنتاجات أكثر دقة.

الكلمات الأساسية: الإحليل التحتي ، التشوه الخلقي ، المعلمات السريرية والبيولوجية ، متغير C677T ، MTHFR ،

PCR / RFLP.

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : BOUGUELLI Chaima
GHARFI Rahma

Implication du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR dans l'Hypospadias

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

L'hypospadias est une anomalie congénitale fréquente chez les garçons qui est due à une hypoplasie des tissus formant la face ventrale de la verge responsable d'un abouchement ectopique de l'urètre. Sa prévalence étant estimée entre 1 et 10 garçons pour 1000 naissances. Son origine est souvent multifactorielle (génétique, endocrinienne et environnementale). Anatomiquement, il existe trois formes différentes : 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 de rechercher d'éventuelles associations entre le variant génétique C677T du gène *MTHFR* et l'hypospadias dans l'Est algérien.

Patients et méthodes: 10 hypospades et 20 témoins ont participé à cette étude. Après extraction de l'ADN leucocytaire par la méthode au NaCl, la séquence d'intérêt a été amplifiée par PCR et les produits d'amplification ont été digérés par l'enzyme de restriction *Hinf* 1 et analysés par électrophorèse sur gel d'agarose.

Résultats : selon les résultats de l'étude statistique, la forme antérieure est la plus fréquente, la coudure de la verge et l'ectopie testiculaire ont été les deux malformations associées les plus courantes avec les fréquences respectives de 32,65% et 16,32%. 50% des mères sont âgées de plus de 30 ans. L'étude moléculaire a révélé une prédominance du génotype CC et de l'allèle C pour les deux populations, (80% ; 85%) chez les hypospades, et (75% ; 77,5%) chez les témoins. Après le calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont évoqué une absence d'association entre l'hypospadias et le variant C677T du gène *MTHFR* ($p > 0,05$).

Conclusion : aucune association significative n'a été observée entre le variant C677T de la *MTHFR* et la survenue de l'hypospadias dans la population investiguée. Une étude avec un effectif plus important est nécessaire pour tirer des conclusions plus précises.

Mots-clés : Hypospadias, malformation congénitale, paramètres cliniques et biologiques, gène *MTHFR*, variant C677T, PCR/Digestion.

Laboratoires de recherche :

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

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

Président du jury : CHAOUI Naouel (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Encadrant : CHELLAT Djalila (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Co-encadrant : LAOUAR Rania (Doctorante - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinateur : REZGOUN Med Larbi (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).