



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث 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 و الحياة

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 Moléculaire*

Intitulé :

Insuffisance ovarienne prématurée : facteurs de risque et gènes de susceptibilité

Présenté et soutenu par : *HORCHI Meroua*

Le : 04/07/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme. SATTI Dalila*

Pr - UFM Constantine 1

Rapporteur : *Mme. REZGOUNE-CHELLAT Djalila*

MCA- UFM Constantine 1

Examinatrice : *Mme. BENHIZIA Hayet*

MCB- UFM Constantine 1

**Année universitaire
2016 - 2017**

Remerciements

*Je tiens à remercier, en premier lieu, **ALLAH** de me donner la force pour survivre ; ainsi que la volonté et la capacité de réaliser ce travail.*

*Je tiens tout d'abord à remercier infiniment Madame **REZGOUNE-CHELLAT. D**, Maître de conférences A à l'Université des frères Mentouri Constantine, de m'avoir encadré lors de ce travail. Avec une grande gentillesse, elle a su se rendre disponible pour me guider, m'orienter et me conseiller tout au long de la rédaction de cette thèse. Je vous remercie pour votre patience, votre délicatesse, votre efficacité et votre sens de la pédagogie. Vous m'avez beaucoup appris lors de ce travail.*

*J'adresse mes remerciements les plus respectueux à Madame **SATTA. D**, Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine, responsable de la filière de génétique, qui m'a fait l'honneur de présider mon jury, pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail et pour les connaissances que vous m'avez transmises, soyez assurés de mon profond respect.*

*Mes remerciements vont également à Madame **BENHAYZIYA. H**, Maître de conférences B à l'Université des frères Mentouri Constantine, d'avoir accepté d'examiner mon travail et de faire partie de mon jury de soutenance.*

J'adresse également mes sincères remerciements à tous mes professeurs, d'avoir partagé leur passion d'enseignement. J'ai apprécié énormément votre soutien et votre expérience tout au long de mon parcours universitaire.

*Je remercie chaleureusement Dr. **BENYAHYA. N** et Dr. **SAOUDI. A**, Gynécologues Obstétriciens. Je suis très reconnaissante pour l'aide que vous m'avez apportée et je ne pourrai jamais vous remercier assez.*

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ainsi l'expression de mon profond respect.

Dédicaces

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

A ma mère, *ma vie, mon bonheur, ma force et mon courage. Tu représentes pour moi le symbole de bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu as sacrifié toute ta vie pour moi et tu continu à le faire. C'est à toi que je dois cette réussite et je suis fière de te l'offrir.

Je t'aime très fort maman ! Que dieu le plus puissant te garde pour moi.

A mon fiancé, *qui compte beaucoup pour moi et qui est toujours à mes côtés pour me soutenir, m'encourager et me conseiller et qui n'a jamais cessé de croire en moi. Je t'exprime à travers ce travail tous mes sentiments d'amour.*

A mes chères, Tata Farida, Tata Nacira, Tata aicha, Ikram, Rahil, *un remerciement du cœur pour votre générosité, et aide précieuse. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma sincère reconnaissance.*

A mes deux sœurs, Marwa et Sana, *en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

Tendrement Marwa

Liste des abréviations

Ad4BP: Adrenal 4 Binding Protein

ADNase: DésoxyriboNuclease

ADN: AcideDésoxyriboNucléique

ADNmt: ADN mitochondrial

AIRE: Auto Immune Regular

AMH: Hormone Anti-Müllérienne

APECED: Autoimmune Poly-Endocrine Candidiasis Ectodermal Dystrophy

APS 1: Auto-immune Polyendocrinopathy Syndrome 1

AR: Androgen Receptor

ARN: Acide Ribo Nucléique

AVC: Accident Vasculaire Cérébral

BBP : Bleu de Bromo Phénol

BMP15: Bone Morphogenetic Protein 15

CYP1A1: Cytochrome P450 family 1 subfamily 1 member 1

CYP11A1: Cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1

CYP19A1: Cytochrome P450 family 19 subfamily A member 1

DACH2: Human Homologue of Drosophila Dachshund

DIAPH2: Diaphanous 2 Drosophila Homologue

DO : Densité Optique

dNTP: désoxyriboNucléotide Tri-Phosphate

EDTA: Ethylene Diamine Tatra-acetic Acide

ER α : Estrogen Receptor Alpha

ER β : Estrogen Receptor Beta

ESR I: Estrogen Receptor I

E1: Œstrone

E2: Estradiol

E3: Œstriol

FIGLA: Factor In Germline Alpha

FMR1: Fragile X Mental Retardation 1

FMR2: Fragile X Mental Retardation 2

FOXL2: Forkhead Box L2

FOXO3a: Forkhead box O3
FSH: Follicle-Stimulating Hormone
GnRH: Hormone de libération des Gonadotrophines
GALT: Galactose-1-Phosphate uridyLTransferase
HinfI: Haemophilus influenzae
HS6ST2: Heparan Sulfate 6-O-Sulfotransferase 2
INHA: Inhibin Alpha subunit
KD : Kilo Dalton
IOP: Insuffisance Ovarienne Prématuurée
LH: Luteinizing Hormone
MspI: Moraxella species I
MTHFR: Methylene tetrahydrofolate Reductase
NR5A1: Nuclear Receptor subfamily 5 group A member 1
PCR: Polymerase Chain Reaction
PGRMC1: Progesterone Receptor Membrane Component 1
POF1B: Premature Ovarian Failure 1 B
POF1: Premature Ovarian Failure 1
POF2: Premature Ovarian Failure 2
POLG: Polymerase Gamma catalytic subunit
PRL: Prolactine
Pv II : Proteus vulgaris II
RFSH: Receptor FSH
SDS: Sodium Dodecyl Sulfate
SF-1: Steroidogenic Factor 1
TGF β : Transforming Growth Factor Beta
TE: Tris EDTA
THS: Traitement Hormonal Substitutif
TSH: Thyroestimuline
TBE: Tris Borate EDTA
VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine
XbaI : bacterium Xanthomonas badrii
ZFX: Zinc Finger protein, X-linked
ZFY: Zinc Finger protein, Y-linked

XPNPEP2: X-Propyl amino Peptidase 2

Liste des figures

Figure 1 :	Anatomie fonctionnelle de l’ovaire chez la femme	2
Figure 2 :	Représentation des différentes étapes de l’ovogénèse (à droite) et la folliculogénèse (à gauche)..	4
Figure 3 :	Evolution du capital folliculaire au cours de la vie chez la femme	6
Figure 4 :	Phase folliculaire et maturation finale	8
Figure 5 :	Régulation hormonale de l’axe hypothalamo-hypophyso-ovarien	12
Figure 6 :	Structure du chromosome X avec les translocations des gènes candidats de l’IOP.....	21
Figure 7 :	Profil électrophorétique de la PCR du C677T du gène <i>MTHFR</i>	32
Figure 8 :	Site de restriction de l’enzyme <i>HinfI</i>	32
Figure 9 :	Profil électrophorétique de la PCR du T3801 du gène <i>CYP1A1</i>	33
Figure 10 :	Site de restriction de la <i>MspI</i>	34
Figure 11 :	Répartition des patientes selon l’âge de diagnostic.....	35
Figure 12 :	Répartition des patientes selon l’âge de la ménarche.....	36
Figure 13 :	Répartition des patientes selon le taux de FSH	37
Figure 14 :	Répartition des patientes selon le taux d’E2.....	38
Figure 15 :	Répartition des patientes selon le taux d’AMH.....	38
Figure 16 :	Profil électrophorétique des fragments obtenus après digestion par l’enzyme <i>HinfI</i>	40
Figure 17 :	Profil électrophorétique des fragments obtenus après digestion par l’enzyme <i>MspI</i>	42

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composant du mélange réactionnel de PCR pour le polymorphisme C677T du <i>MTHFR</i>	30
Tableau 2 : Programmation de la PCR du gène <i>MTHFR</i>	31
Tableau 3 : Préparation du gel d'agarose 2 %	31
Tableau 4 : Programmation de la PCR du gène <i>CYP11A1</i>	33
Tableau 5 : Répartition des patientes selon l'âge du diagnostic de l'IOP	35
Tableau 6 : Représentation des caractéristiques générales des témoins	40
Tableau 7 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i>	41
Tableau 8 : Fréquences génotypiques du polymorphisme T3801C du gène <i>CYP11A1</i> .	42

Table des matières

Remerciements et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Partie bibliographique

I. Ovogénèse et folliculogénèse

1. Ovogénèse.....	2
1.1 Structure et fonctions des ovaires.....	2
1.1.1 Structure.....	2
1.1.2 Fonctions.....	3
1.2 Etapes de l'ovogénèse.....	3
2. Cycle ovarien.....	4
2.1 Phase folliculaire ou pré-ovulatoire	5
2.1.1 Folliculogénèse	5
2.2 Phase ovulatoire	8
2.3 Phase lutéale ou post-ovulatoire	8
3. Cycle menstruel	9
3.1 Phase proliférative	9
3.2 Phase sécrétoire	9
3.3 Phase menstruelle	9
4. Axe hypothalamo-hypophyso-ovarien	9
4.1 Hormones hypothalamiques	9
4.2 Hormones hypophysaires « gonadotrophines »	10
4.3 Stéroïdes sexuelles chez la femme	10
4.4 Autres hormones	11
4.5 Contrôle hypothalamo-hypophysaire	11

II. Insuffisance ovarienne prématurée

1. Données épidémiologiques	13
2. Signes cliniques	13

3. Etiologies	14
4. Physiopathologie	15
5. Conséquences de l'IOP	15
5.1 Infertilité	15
5.2 Ostéoporose	16
5.3 Maladies cardiovasculaires	16
5.4 Facteur de risque de déclin cognitif, de maladie d'alzheimer et de maladie de parkinson.....	16
III. Génétique de l'insuffisance ovarienne prématurée	
1. Chromosome X et IOP	17
1.1 Altérations cytogénétiques du chromosome X	17
1.1.1 Monosomie du chromosome X ou syndrome de turner	17
1.1.2 Trisomie X	18
1.1.3 Délétions partielles sur le chromosome X et translocations X-autosome équilibrées.....	18
1.2 Altérations géniques du chromosome X	18
1.2.1 Gènes candidats des loci POF1 et POF2 (bras long)	18
1.2.2 Autres gènes	
1.2.3 Altérations géniques du bras court du chromosome X	20
2. Autosomes et IOP	21
2.1 Altérations géniques des autosomes	21
2.1.1 Gène <i>FOXL2</i>	21
2.1.2 Gène <i>GALT</i>	22
2.1.3 Gène <i>AIRE</i>	22
2.1.4 Gène <i>POLG</i>	22
2.1.5 Gène <i>NOBOX</i>	22
2.1.6 Gène <i>GDF 9</i>	22
2.1.7 Gène <i>RFSH</i>	23
2.1.8 Gène <i>INHA</i>	23
2.1.9 Gène <i>NR5A1</i>	23
3. Polymorphismes génétiques et IOP	24
3.1 Gène <i>MTHFR</i>	24
3.2 Gène <i>CYP11A1</i>	24

IV. Diagnostic et traitement

1. Diagnostic	25
1.1 Interrogatoire	25
1.2 Examen clinique	25
1.3 Examen biologique	25
1.4 Echographie pelvienne	25
1.5 Examen génétique	25
2. Traitement	26
2.1 Traitement hormonal substitutif (THS)	26
2.2 Traitement d'infertilité	26
3. Conseil génétique	26

Partie pratique

I. Patientes et méthodes

1. Type d'étude	27
2. Patientes et témoins.....	27
2.1 Recrutement des patientes	27
2.2 Recrutement des témoins	27
2.3 Critères d'inclusion et d'exclusion	27
2.3.1 Critères d'inclusion	27
2.3.2 Critères d'exclusion	27
3. Méthodes utilisées	28
3.1 Prélèvement sanguin	28
3.2 Extraction de l'ADN	28
3.2.1 Etapes d'extraction au NaCl.....	28
3.2.2 Détermination de la pureté et de la concentration de l'ADN	28
3.3 Génotypage du <i>MTHFR</i> et <i>CYP11A1</i>	29
3.3.1 PCR	29

II. Résultats et discussion

1. Patientes	35
1.1 Répartition des patientes selon l'âge du diagnostic	35
1.2 Répartition des patientes selon l'âge de ménarche	36
1.3 Répartition des patientes selon le taux d'hormones dosées	36
1.3.1 Selon le taux de FSH	37

1.3.2	Selon le taux d'E2	37
1.3.3	Selon le taux d'AMH	38
1.4	Répartition des patientes selon la survenue grossesse spontanée	39
1.5	Répartition des patientes selon la présence d'antécédents familiaux	39
2.	Témoins	40
2.1	Caractéristiques générales des témoins	40
2.2	Profil génotypique des témoins	40
2.2.1	Résultats du génotypage du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i> ...	40
2.2.2	Résultats du génotypage du polymorphisme T3801C du <i>CYP1A1</i>	41
	Conclusion et perspectives	43
	Références bibliographiques	44
	Annexes	
	Résumés	

Introduction

Chez les femmes, la ménopause est une condition physiologique qui signe la fin de la vie reproductive. Elle survient vers l'âge de 50 ans, lorsqu'un épuisement de la réserve ovarienne, l'arrêt des menstruations et de la production des hormones sexuelles a lieu. La survenue trop précoce de cette condition est pathologique et correspond à l'insuffisance ovarienne prématurée, qui représente une cause majeure de l'infertilité de la femme (El zaiat, 2015).

L'insuffisance ovarienne prématurée se définit par une aménorrhée hypo-oestrogénique hypergonadotrope survenant avant l'âge de 40 ans. Sa prévalence est de 1 à 2 % de la population féminine (Persani *et al.*, 2010).

Du point de vue étiologique, l'insuffisance ovarienne prématurée constitue un groupe très hétérogène (génétiques, auto-immunes, infectieuses, iatrogènes, environnementales). En revanche, l'étiologie reste inconnue dans la plupart des cas. Cependant, depuis plusieurs années ce groupe des insuffisances ovariennes prématurées dites « idiopathiques » tend à diminuer au fur et à mesure des progrès de la génétique moléculaire (Monnier-Barbarino et Forges, 2002; Persani *et al.*, 2010).

L'implication des facteurs génétiques dans cette pathologie a été évoquée initialement devant la fréquence des formes familiales de l'insuffisance ovarienne prématurée, estimée entre 4 et 31 %, mais également devant les nombreuses anomalies cytogénétiques retrouvées, avec, en particulier, des délétions et des translocations, touchant le chromosome X, ainsi que certains autosomes, voire plusieurs gènes candidats ont été identifiés, dont leurs altérations conduirait à des tableaux cliniques d'insuffisance ovarienne prématurée (Monnier-Barbarino et Forges, 2002 ; Goswami et Conway, 2005 ; Bricaire *et al.*, 2013).

Notre travail vise à :

- prospecter l'aspect génétique (altérations géniques rencontrés et gènes impliqués) de l'insuffisance ovarienne prématurée à travers une étude bibliographique.
- étudier l'aspect hormonal chez des patients atteints d'insuffisance ovarienne prématurée.
- explorer l'association entre les polymorphismes C677T du gène *MTHFR* et T3801C du gène *CYP11A1* et l'insuffisance ovarienne prématurée.

Partie bibliographique

I. Ovogénèse et folliculogénèse

1. Ovogénèse :

1.1. Structure et fonctions des ovaires :

1.1.1. Structure :

Les ovaires représentent les glandes génitales féminines, ces deux organes pairs ovoïdes sont localisés dans la cavité pelvienne, situés de part et d'autre de l'utérus.

L'ovaire comprend une zone corticale et une zone médullaire :

- **zone corticale (appelée aussi cortex)** : il s'agit de la partie périphérique renfermant les follicules ovariens gamétogènes.

- **zone médullaire (appelée aussi médulla)** : est la partie centrale contenant les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et les nerfs périphériques principaux (Figure 1).

La taille de l'ovaire varie avec l'âge, chez la nouvelle-née mesure 1,3 cm de long, 0,5 cm de large et 0,3 cm d'épaisseur, il prend la forme d'amande durant l'enfance jusqu'à la puberté mesurant en moyenne 3 cm de long, 1,8 cm de large et 1,2 cm d'épaisseur, cette taille diminue après la ménopause (Bazot *et al.*, 2016).

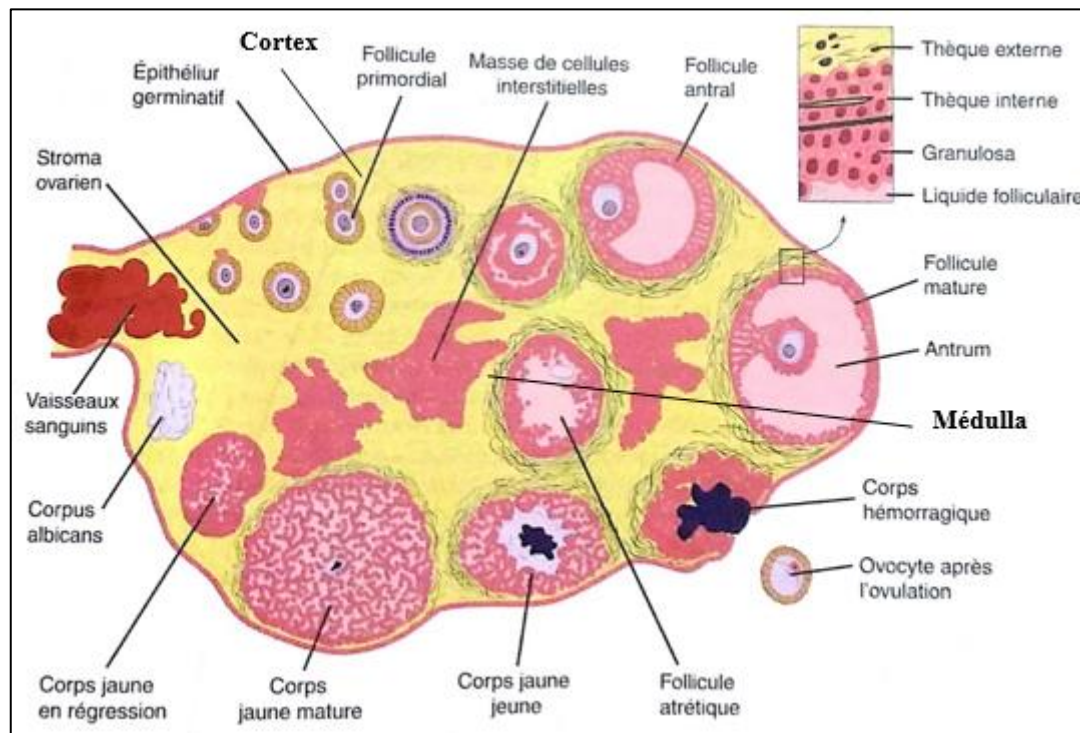


Figure 1 : Anatomie fonctionnelle de l'ovaire chez la femme (Ganong *et al.*, 2012).

1.1.2. Fonctions :

Les ovaires sont doués d'une double fonction à partir de la puberté jusqu'à la ménopause :

- **fonction exocrine** : en assurant la croissance, la maturation et la libération du gamète femelle mûr, l'ovocyte (ovogénèse).
- **fonction endocrine** : en synthétisant les stéroïdes sexuels essentiels dans la reproduction (estradiol et progestérone) (Bénard et Grynberg, 2015).

1.2. Etapes de l'ovogénèse :

La production des cellules sexuelles femelles « ovogénèse » se déroule dans la région corticale de l'ovaire, ce processus débute très tôt dès la vie fœtale où les cellules germinales diploïdes ovariennes « ovogonies » subissent plusieurs divisions mitotiques successives puis entrent en phase de croissance et emmagasinent des nutriments. Des follicules ovariens primordiaux commencent à se développer, à mesure que les ovogonies se transforment en ovocyte de premier ordre. Les ovocytes initient la première division de la méiose mais celle-ci est bloquée au stade diplotène de la prophase I. A la naissance la femme se retrouve avec un stock de 2 millions d'ovocytes puis à la puberté avec une réserve de 400 000 ovocytes seulement, cela est dû au phénomène d'atrésie folliculaire durant l'enfance. Dès la puberté, un petit nombre d'ovocytes est activé à chaque mois dont un seul pourra poursuivre la méiose I et donnera naissance à un globule polaire I et un ovocyte du deuxième ordre qui débute immédiatement la méiose équationnelle mais celle-ci se bloque en métaphase II, et ne pourra s'achever seulement si une fécondation a lieu, sinon l'ovocyte dégénère (Orsini et Pellet, 2005; Le Coz, 2014) (Figure 2).

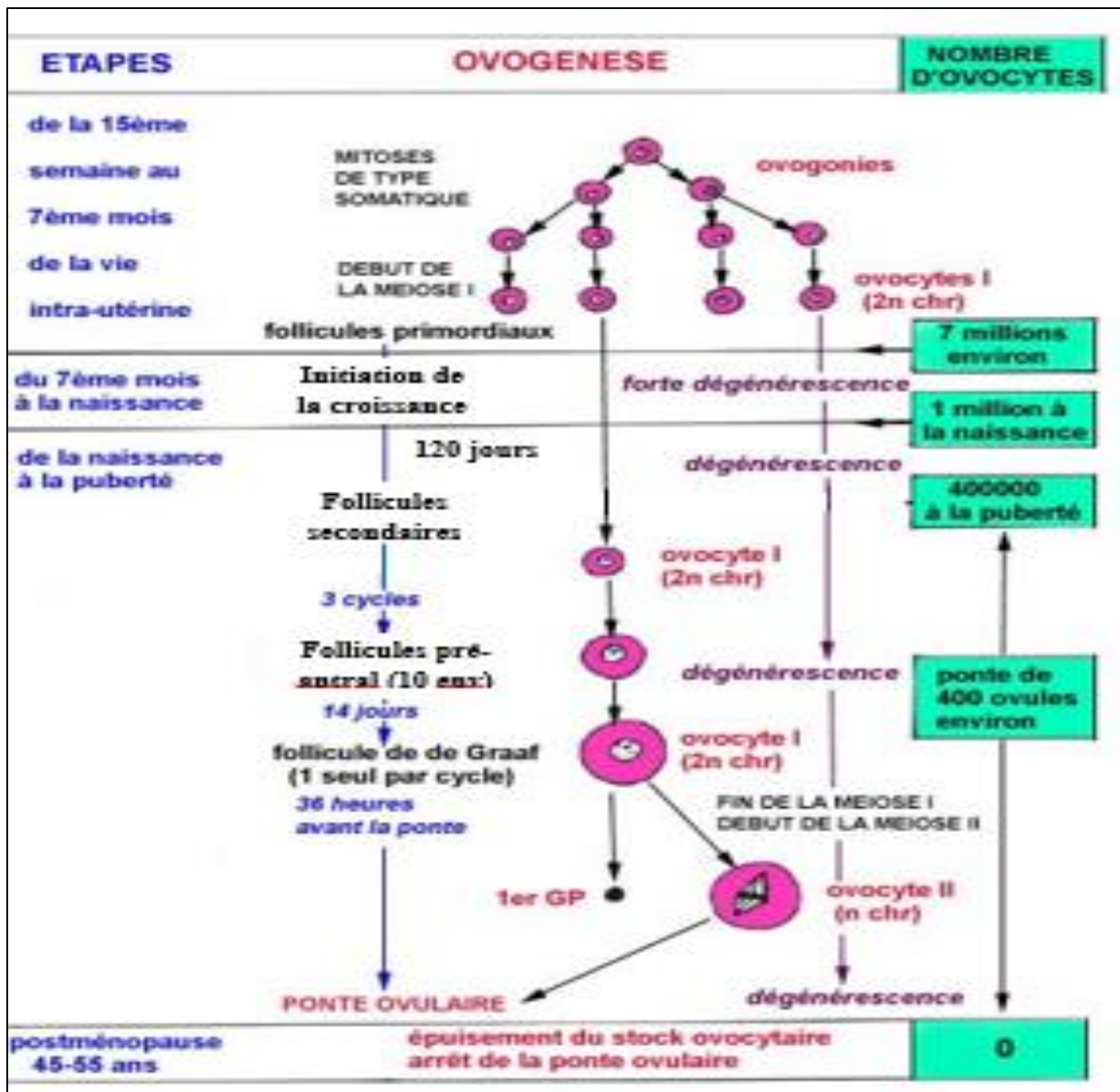


Figure 2 : Représentation des différentes étapes de l'ovogénèse (à droite) et la folliculogénèse (à gauche) (Barillier, 2007).

2. Cycle ovarien :

De la puberté à la ménopause le corps de la femme vit au rythme d'un cycle ovarien, qui dure en moyenne 28 jours, caractérisé par deux phases (phase pré et post ovulatoire) séparées par l'ovulation :

2.1. Phase folliculaire ou pré ovulatoire :

2.1.1. Folliculogénèse :

Elle se définit par l'ensemble des étapes successives du développement du follicule primordial depuis le moment où il sort de la réserve constituée durant la période fœtale lors de l'ovogénèse jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation ou à son involution. Contrairement à l'ovogénèse qui a un caractère cyclique, la folliculogénèse est un phénomène continu qui débute dès la vie embryonnaire et se poursuit jusqu'à la ménopause, n'étant interrompu ni par l'ovulation, ni par la grossesse, ni par d'éventuelles périodes d'anovulation (Marieb, 2005 ; Thibault et Levasseur, 2001).

2.1.1.1. Évolution du capital folliculaire :

Les ovaires acquièrent leur capital folliculaire avant la naissance : les 1000 à 2000 gonocytes primordiaux qui sont apparues à la 3^{ème} semaine de gestation initient leur multiplication et se transforment en ovogonies vers le 5^{ème} mois. Les ovogonies débutent leur multiplication méiotique, qui est aussi tôt bloquée au stade de prophase I. Elle ne reprendra que plusieurs années plus tard, au moment de l'ovulation. L'ovocyte I bloqué en prophase I s'entoure d'une très fine couche de cellules folliculaires formant ainsi le follicule primordial. La durée du passage du stade de follicule primordial en follicule primaire est extrêmement variable. Ces follicules primordiaux et primaires constituent le capital folliculaire ou « réserve ovarienne ». Au 7^e mois de la vie embryonnaire, le capital folliculaire est riche de 7 millions de follicules pour les deux ovaires. A la naissance, il n'en reste plus qu'un million. A la puberté, ce capital est d'environ 400.000, ce nombre diminue ensuite plus lentement pour atteindre 50.000 vers l'âge de 37 ans. Enfin, la disparition des follicules s'accélère à nouveau et leur nombre devient quasi nul à la ménopause vers l'âge de 50 ans (Figure 3).

Dans cette dégénérescence des follicules, les cycles menstruels n'interviennent que pour une part infime : ne sont concernés qu'une cinquantaine de follicules à chaque cycle, soit tout au plus 20.000 pendant les 400 cycles qui se dérouleront durant la vie génitale. La disparition de 99,8 % du capital folliculaire est liée à d'autres phénomènes. Le principal est l'atrésie folliculaire, qui affecte les follicules involutifs selon un mécanisme apoptotique. Le mécanisme de ce gaspillage énorme demeure mal connu. Cette atrésie folliculaire touche également les follicules gamétogènes (évolutifs), dont un seul par cycle atteindra la maturité (Zorn et Savale, 2005 ; Barillier, 2007).

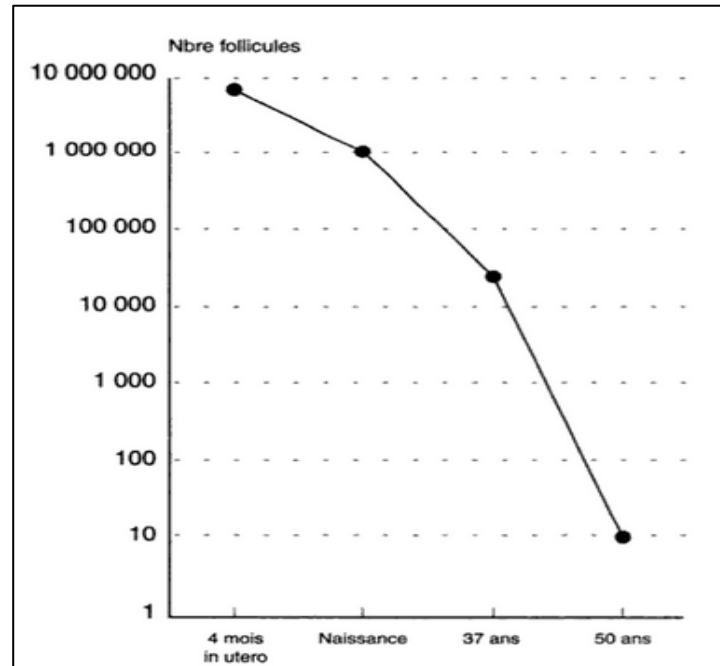


Figure 3 : Evolution du capital folliculaire au cours de la vie chez la femme (Zorn et Savale, 2005).

2.1.1.2. Différents stades des follicules gamétogènes :

- **Follicule primordial** : il est constitué d'ovocyte de l'ordre I (0,03 mm), entouré de quelques cellules folliculaires, celui-ci a un diamètre de 0,04 mm.

- **Follicule primaire** : il comporte un ovocyte I entouré d'une couronne complète de cellules folliculaires en forme cubique, son diamètre est 0,06 mm.

- **Follicule secondaire** : il est caractérisé par le développement de « la granulosa » à partir des cellules folliculaires, débutant par la différenciation des thèques autour de la granulosa ainsi que la formation d'une couche glycoprotéique appelée « la zone pellucide », à ce stade le diamètre du follicule est entre 0,06 et 0,2 mm.

Ces trois types de follicules forment la catégorie des follicules pré-antraux qui, pour la plupart, en dehors de l'influence hormonale des cycles ovariens, dégénéreront.

- **Follicule tertiaire**, appelé follicule cavitaire ou follicule antral. Il est caractérisé par l'apparition de cavités au sein de la granulosa, ainsi que par le développement des thèques internes et externes, ce qui aboutit à l'augmentation de son diamètre (0,06-16 mm).

- **Follicule de De Graff** : également appelé follicule mûr ou follicule pré ovulatoire ou follicule dominant. A ce stade, le follicule atteint son diamètre maximal (16-23 mm). Il est caractérisé par la formation de « l'antrum » (à partir des cavités de la granulosa) rempli de liquide folliculaire et la présence à l'un des pôles du follicule du cumulus oophorus, contenant

ainsi l'ovocyte I entouré de la zone pellucide et la corona radiata (Camelot *et al.*, 2008) (Figure 1).

2.1.1.3. Etapes de la folliculogénèse :

La folliculogénèse se déroule en plusieurs étapes :

- L'initiation :

Le phénomène qui permet aux follicules primordiaux de quitter le pool des follicules quiescents pour initier leur développement, sous l'influence d'un mécanisme mal connu et indépendamment des gonadotrophines. Il s'agit d'un phénomène qui débute pendant la vie fœtale jusqu'à la ménopause (Rihaoui *et al.*, 2007).

- La croissance basale :

Au cours de cette phase, les follicules primordiaux se transforment en follicules secondaires en un peu plus de 120 jours. Une période supplémentaire de 71 jours soit 3 cycles conduit les follicules secondaires jusqu'au stade antral précoce. Cette phase comme la précédente est indépendante des gonadotrophines (Rihaoui *et al.*, 2007) (Figure 2).

- La croissance terminale :

C'est l'étape qui correspond à la phase folliculaire du cycle ovarien, elle dure en moyenne 14 jours, dépendante des gonadotrophines. A la fin du 3^{ème} cycle, chaque ovaire contient une dizaine de follicules, ce nombre diminue avec l'âge (Ader et Carré, 2006).

Cette phase évolue en trois séquences :

- **recrutement (J1 à J5) :** les follicules sélectionnables, follicules à antrum qui possèdent un nombre suffisant de récepteurs à la FSH (Follicle-Stimulating Hormone) démarrent leur maturation finale. Plus le taux de FSH est élevé plus cette « cohorte » est grande (Zorn et Savale, 2005).
- **sélection (J6 à J10) :** durant cette étape, un seul follicule de la cohorte va se détacher progressivement et compléter sa maturation, les autres vont évoluer vers l'atrésie. Le facteur principal de ce mécanisme de sélection est la baisse du taux de FSH tout au long de la phase folliculaire, provoquée par le rétrocontrôle négatif exercé par les œstrogènes sécrétés par les follicules. A partir du jour 10, ce follicule acquiert des récepteurs à LH (Luteinizing Hormone) sur les cellules de la granulosa, dont l'apparition est induite par la FSH (Zorn et Savale, 2005).
- **dominance (J10 à J14) :** dans cette période, la taille du follicule dominant évolue rapidement atteignant son maximum au moment de l'ovulation. A ce

stade, le follicule de De Graaf sécrète à lui seul la presque totalité des œstrogènes (Zorn et Savale, 2005) (Figure 4).

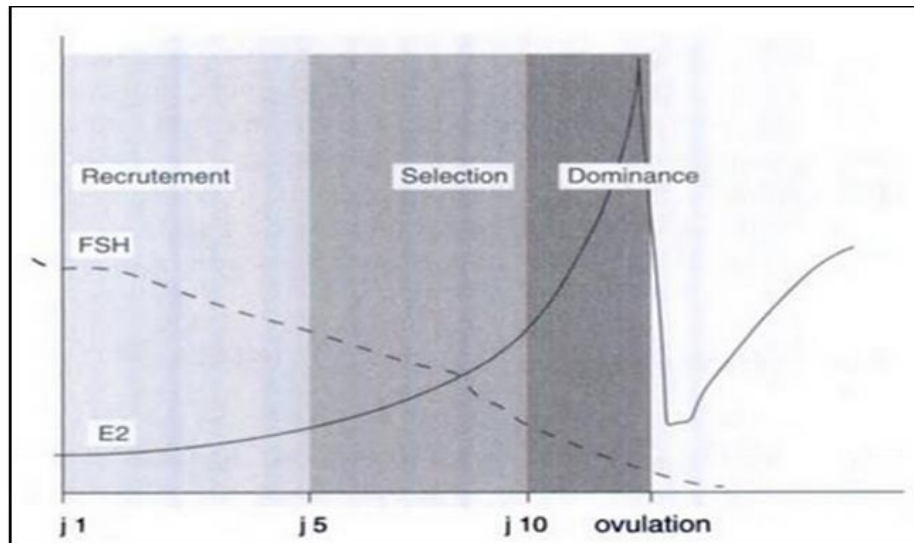


Figure 4 : Phase folliculaire et maturation finale (Zorn et Savale, 2005).

2.2. Phase ovulatoire :

En moyenne, elle a lieu vers le 14^e jour du cycle, se caractérise par l'expulsion de l'ovocyte II bloqué en métaphase II par le follicule de De Graaf et sa captation par l'ampoule de la trompe de fallope. Dès que le taux d'œstrogènes atteint un seuil (variable d'une femme à une autre), il stimule la sécrétion de LH par l'hypophyse. Le taux de cette hormone augmente alors rapidement (c'est le pic de LH) et déclenche l'ovulation qui survient en moyenne 36 à 48h après le début de ce pic (Young *et al.*, 1999; Marieb, 2005).

2.3. Phase lutéale ou post ovulatoire :

La phase lutéale est la période d'activité du corps jaune, s'étendant des jours 14 à 28. Au cours de cette phase, le follicule rompu s'affaisse et l'antrum se remplit de sang coagulé, qui finit par se résorber. Les cellules granuleuses augmentent de volume et constituent avec la thèque interne une nouvelle glande endocrine appelé « le corps jaune ». Dès lors, il se met à sécréter de la progestérone et peu d'œstrogènes. En absence de grossesse, le corps jaune commence à dégénérer, il n'en reste qu'une cicatrice appelé « corps albicans » (Figure 1). En cas de grossesse, le corps jaune persiste durant les trois premiers mois (Marieb et Hoehn, 2014).

3. Le cycle menstruel :

Le cycle menstruel regroupe l'ensemble des variations anatomiques de l'axe hypophyso-hypothalamo-ovarien et du tractus génital du début d'une menstruation à la suivante. Sa durée de référence est de 28 jours (extrêmes entre 21 et 35 jours) de la puberté jusqu'à la ménopause (Merviel *et al.*, 2010). Il peut être divisé en trois phases :

3.1. Phase proliférative :

Elle correspond à la phase folliculaire du cycle ovarien et débute au 5^{ème} jour à peu près à l'arrêt des règles. Durant cette période l'endomètre se reconstitue sous l'influence de la libération des œstrogènes et se retrouve avec une épaisseur de 2 mm au moment de l'ovulation (Brooker, 2000).

3.2. Phase sécrétoire :

Elle correspond à la phase lutéale du cycle ovarien, l'endomètre préparé par les œstrogènes est maintenant influencé par la progestérone, qui induit son épaissement et sa vascularisation à fin de permettre l'implantation du futur embryon. En l'absence de fécondation, la diminution de la progestérone conduit à la dégénérescence de la paroi endométriale. Cela conduit à l'apparition en 24 heures des menstruations (Brooker, 2000).

3.3. Phase menstruelle :

Elle représente la dernière partie du cycle, bien qu'elle soit considérée comme le jour 1. Le flux menstruel est composé de sang et de fragments de l'endomètre, il dure en moyenne 3 à 6 jours (Brooker, 2000).

4. Axe hypothalamo-hypophyso-ovarien :

Les hormones sexuelles féminines sont sécrétées par les ovaires, ce sont des stéroïdes. Leur sécrétion est régulée par le complexe hypothalamo-hypophysaire qui libère des stimulines qui sont des polypeptides.

4.1. Hormones hypothalamiques :

L'hypothalamus libère plusieurs hormones dont :

- **l'hormone de libération des gonadotrophines ou GnRH :** c'est un décapeptide produit dans les régions arquée et pré-optique de l'hypothalamus d'une manière pulsatile. La

GnRH encore appelée hormone de libération de l'hormone lutéinisante régule la sécrétion des gonadotrophines hypophysaires LH et FSH (Figure 3).

4.2. Hormones hypophysaires « gonadotrophines » :

- **FSH** : est une hormone glycoprotéique de poids moléculaire voisin de 43000, constitué par 56% d'acides aminés. Sécrétée par l'hypophyse, cette hormone stimule la croissance des follicules à partir du stade pré-antral en induisant ses propres récepteurs ainsi que la transformation de la testostérone en œstradiol par l'enzyme aromatasase (Figure3) (De tourris *et al.*, 1994).

- **LH** : il s'agit d'une glycoprotéine de poids moléculaire aux environs de 41000, constituée par 60% de protéines. Cette hormone hypophysaire, en conjonction avec la FSH, stimule la maturation folliculaire et permet le déclenchement de l'ovulation, elle active la formation des œstrogènes et de progestérone durant la phase lutéale (Figure3) (De tourris *et al.*, 1994 ; Rabe, 1997).

- **Prolactine ou PRL** : hormone protéique de l'antéhypophyse de poids moléculaire 22000, la PRL aussi appelé hormone lactostimuline agit sur la maturation ovulatoire et le fonctionnement du corps jaune, permet également la croissance des glandes mammaires (en conjonction avec les œstrogènes, la progestérone et le cortisol) (Lacombe, 2015).

4.3. Stéroïdes sexuels chez la femme :

- **Œstrogènes** : l'ovaire sécrète trois types d'œstrogènes : l'œstrone (E1), l'Estradiol (E2) et l'œstriol (E3) (De tourris *et al.*, 1994). L'œstradiol est le principal stéroïde ostrogénique, sécrété par les follicules en croissance ainsi que par le corps jaune. Il agit via ER α (Estrogen Receptor alpha) sur l'axe hypothalamo-hypophyso ovarien, en stimulant la sécrétion des gonadotrophines, pour réguler la folliculogénèse et via ER β (Estrogen Receptor beta) sur l'ovaire pour l'amélioration du développement folliculaire, ainsi que la régulation de l'ovulation. Cette hormone stimule également le développement des caractères sexuels secondaires féminins (Kolibianakis *et al.*, 2005).

- **Progestérone** : est une hormone sécrétée par le corps jaune au cours de la phase post-ovulatoire. Sa fonction fondamentale contribue à préparer l'utérus à une éventuelle implantation, régule en interagissant avec les œstrogènes le cycle menstruel (Marieb, 2008 ; Le Coz, 2014).

- **Androgènes** : la testostérone représente la principale hormone androgénique, produite en faible quantité par l'ovaire. Ces androgènes participent essentiellement dans la

synthèse des œstrogènes mais aussi dans le développement de certains caractères sexuels (Guechot et Fiet, 2009).

- **Hormone Anti-Müllérienne ou AMH** : c'est une glycoprotéine exclusivement produite par les cellules de la granulosa des follicules ovariens de la femme. Cette hormone est considérée comme un marqueur du statut folliculaire ovarien, du fait qu'elle est produite par un large éventail de follicules allant des follicules primordiaux jusqu'aux follicules à petit antrum (Grynberg, 2011). Elle joue le rôle d'un inhibiteur du développement précoce des follicules primordiaux (Carlsson *et al.*, 2006).

4.4. Autres hormones :

- **Activines** : elles font partie de la super famille des Transforming Growth Factor beta (TGF β) et sont synthétisées par l'hypophyse et l'ovaire. Leur rôle principal est de stimuler la sécrétion de la FSH (Kierszenbaum, 2006).

- **Inhibines (A et B)** : sont des hétérodimères protéiques, ils appartiennent à la superfamille des TGF β . Sécrétées par les cellules de la granulosa des follicules pré-antraux et antraux, ces hormones agissent comme répresseurs de la sécrétion de la FSH (Dubest et Pugeat, 2005).

- **Thyréostimuline ou TSH** : est une glycoprotéine sécrétée par l'anthéhypophyse et le placenta. Elle contrôle la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes (Herbomez, 2014).

4.5. Contrôle hypothalamo-hypophysaire :

L'hypothalamus produit l'hormone GnRH, qui agit directement sur l'hypophyse. Cette dernière libère dans les voies sanguines les gonadostimulines FSH et LH.

La FSH sécrétée le plus durant la phase folliculaire, agit sur l'ovaire en stimulant la croissance des follicules ovariens, qui secrètent de plus en plus d'œstrogènes et d'inhibine, ce qui provoque un rétrocontrôle négatif sur le complexe hypothalamo-hypophysaire afin de limiter la production de FSH. Vers le 13^{ème} jour de la phase pré ovulatoire, le follicule dominant secrète une quantité élevée d'œstrogènes, ceci exerce un rétrocontrôle positif sur le cerveau induisant la production d'une quantité importante de LH, afin de permettre le déclenchement de l'ovulation. Durant la phase post ovulatoire, le corps jaune secrète une quantité accrue de progestérone et peu d'œstradiol provoquant un rétrocontrôle négatif diminuant donc les sécrétions hypothalamo-hypophysaires. En absence de fécondation, le corps jaune se transforme en corps blancs, qui est incapable de sécréter les hormones

ovariennes, entraînant un rétrocontrôle positif, favorisant la sécrétion des hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Figure 5).

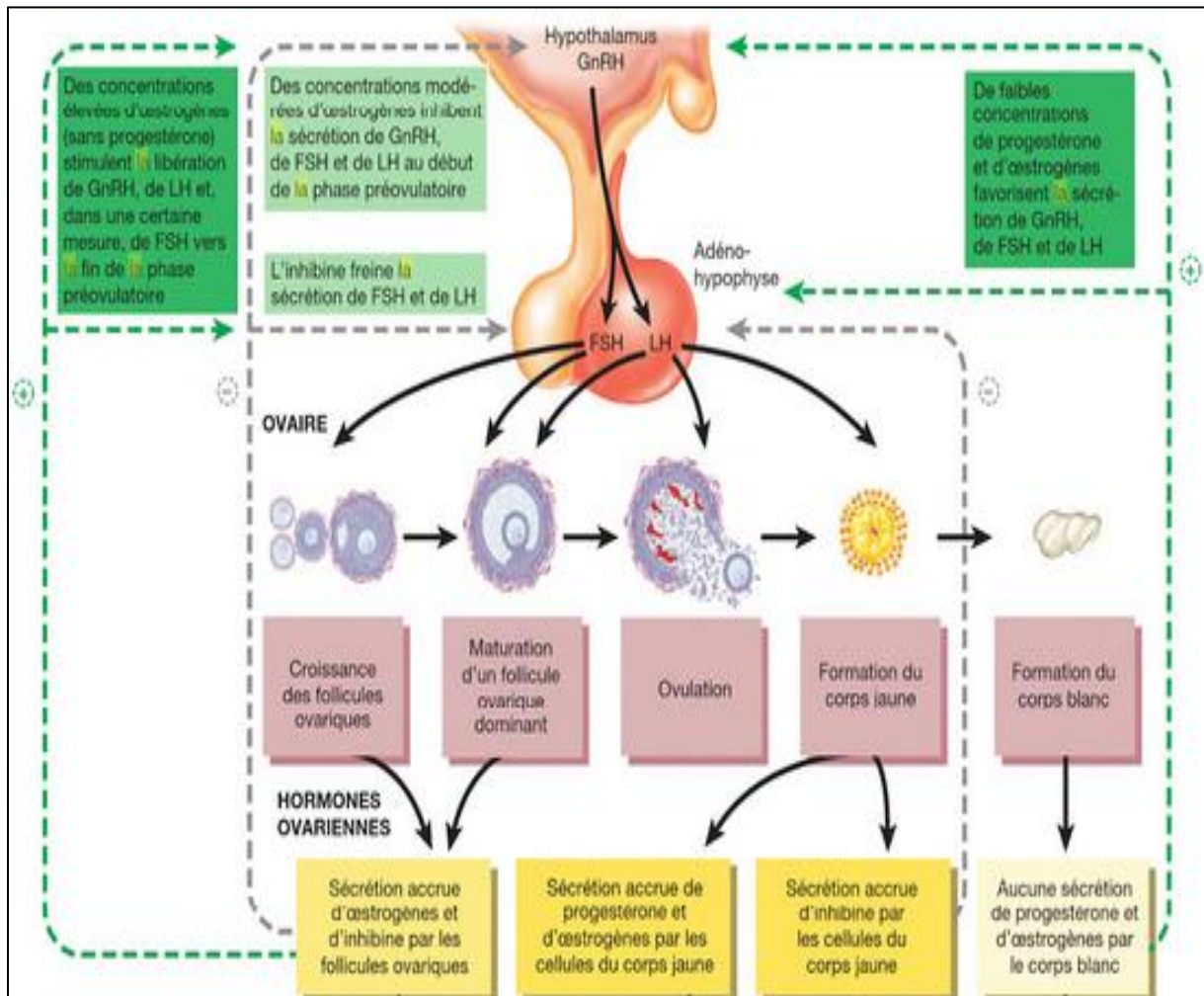


Figure 5 : Régulation hormonale de l'axe hypothalamo-hypophysaire-ovarien (Tortora et Derrickson, 2016).

II. Insuffisance ovarienne prématurée

La ménopause est un phénomène physiologique, qui survient chez la femme aux alentours de cinquante ans, mais chez certaines d'entre elles, elle survient beaucoup plus tôt. C'est ce que l'on appelle, l'insuffisance ovarienne prématurée ou ménopause précoce.

Elle est suspectée cliniquement devant une aménorrhée de plus de 4 mois et affirmée biologiquement chez une femme âgée de moins de 40 ans, par un taux de FSH supérieur à 40 UI/l sur aux moins deux prélèvements distincts, réalisés à un mois d'intervalle (Bricaire *et al.*, 2013).

1. Données épidémiologiques :

La prévalence de l'IOP est de l'ordre de 1 % à 2 % de la population féminine. Elle semble varier en fonction de l'âge ainsi que l'origine ethnique :

- **selon l'âge** : cette pathologie touche une femme sur 10.000 âgées de moins de 20 ans, une femme sur 1000 âgées de moins de 30 ans et une femme sur 100 âgées de moins de 40 ans (Coulam *et al.*, 1986).

- **selon l'origine ethnique** : l'étude SWAN (Study Women's Health Across the Nation) aux Etats Unis, portant sur 11 652 femmes, a mis en évidence une prévalence moindre de l'IOP chez les japonaises (0,1%) et les chinoises (0,5%) par rapport aux caucasiennes (1%) et aux africaines (1,4%) (Hugon-Rodin et Christin-Maitre, 2012).

2. Signes cliniques :

Les symptômes peuvent varier considérablement d'une patiente à l'autre, et le trouble peut survenir de façon spontanée ou progresser sur plusieurs années.

Pour la majorité des patientes, la pathologie s'installe après plusieurs années de cycles menstruels réguliers, voire même une fertilité normale (Beck-Peccoz et Persani, 2006 ;Christin-Maitre, *et al.*, 2006).

Les signes cliniques de cette IOP sont typiquement similaires à ceux d'une ménopause physiologique, présents sous forme de cycles menstruels désordonnés comme le montre l'oligoménorrhée, la polyménorrhée ou la métrorragie, de palpitations, de bouffés de chaleur, de sueurs nocturnes, d'une insomnie, d'anxiété, de troubles de l'humeur, de sécheresse vaginale, d'une dyspareunie, d'une asthénie, d'incontinence urinaire d'effort, d'infections urinaire récidivantes, de dysurie. Il a été constaté que, toutes ces manifestations sont essentiellement liées à une hypoestrogénie (Beck-Peccoz et Persani, 2006 ; Braham et Christin-Maitre, 2009).

3. Etiologies :

Plus de 90 % des cas d'IOP sont idiopathiques, sans étiologie identifiable même après une évaluation approfondie (Bricaire *et al.*, 2013).

D'une autre part diverses étiologies ont été associées à cette pathologie :

- **Causes génétiques** : l'observation des cas familiaux avec IOP indique le rôle d'aberrations génétiques dans la pathogénèse. Bien que les troubles génétiques concernent principalement le chromosome X, plusieurs études ont également démontré l'implication des chromosomes autosomiques (Ebrahimi et Asbagh, 2011).

- **Causes auto-immunes** : plusieurs arguments plaident en faveur du rôle de l'auto-immunité dans la pathogénie de l'IOP. Le lien de causalité entre auto-immunité et IOP a été suspecté dès la fin des années 1960, suite à l'observation des cas d'IOP chez des patientes atteintes d'insuffisance surrénalienne auto-immune. Plusieurs autres maladies endocrines auto-immunes sont souvent associées à une défaillance ovarienne : la maladie de Basedow, le diabète de type 1, l'APS (auto-immune polyendocrinopathy syndrome), le lupus, la myasthénie, la maladie de Crohn et la polyarthrite. Le cas le plus décrit en littérature concerne l'endocrinopathie auto-immune de type 1 (APS 1), pathologie qui associe une candidose (mycose) chronique de la peau et des muqueuses, une hypoparathyroïdie, une insuffisance surrénalienne ainsi qu'une IOP dans 60% des cas rhumatoïde (Ahonen *et al.*, 1990; Christin-Maitre *et al.*, 2006; Saint-Dizier et Chastant-Maillard, 2014).

- **Causes infectieuses** : 3,5 % des femmes atteintes d'IOP avaient une infection antérieure (varicelle, tuberculose, cytomégalovirus, paludisme) (Pellegrini *et al.*, 2016). Selon l'étude de Ohl *et al.* (2010), les femmes porteuses du virus VIH (Virus de l'immunodéficience humaine) développent fréquemment une IOP.

- **Causes iatrogènes** : une IOP à lieu suite à une ovariectomie unilatérale ou bilatérale, une radiothérapie ou une chimiothérapie. Dans les deux derniers cas, le risque de l'endommagement des ovocytes ovariens dépend du type thérapeutique, de la dose, de la durée du traitement, ainsi que de l'âge de la patiente. Certaines études ont rapporté le retour spontané de la fonction ovarienne, après plusieurs années chez les femmes ayant subi déjà une radiothérapie ou une chimiothérapie et des grossesses réussies ont été survenues chez ces dernières (Sklar, 2005; Ebrahimi et Asbagh, 2011; El Zaiat, 2015).

- **Toxines environnementales** : le tabagisme est la toxine la plus étudiée, qui altère la fonction de l'ovaire chez une femme en âge de procréer. En moyenne, les femmes fumeuses présentent une ménopause plus précoce que les femmes non fumeuses, ce qui suggère l'effet

nocif du tabac sur le fonctionnement ovarien physiologique (Di Prospero *et al.*, 2004).

- **Stress** : une relation entre les événements stressants de la vie et l'insuffisance ovarienne prématurée a été décrite. Le stress, avec une mauvaise alimentation, une consommation excessive d'alcool et un tabagisme, peuvent jouer un rôle dans la ménopause précoce, il n'y a pas assez de preuves pour dire que le stress seul entraîne une insuffisance ovarienne prématurée (Letur-Könirsch *et al.*, 1995).

4. Physiopathologie :

La physiopathologie des IOP demeure encore mal connue dans la majorité des cas. Plusieurs hypothèses ont été proposées expliquant cette pathologie :

- **une anomalie de la formation du pool folliculaire (nombre initial réduit de follicules)** : une perturbation dans toutes étapes de formation, de migration ou de prolifération des ovogonies au cours de la méiose entraîne un nombre de follicules déficient, ce qui aboutit à un épuisement prématuré de la réserve folliculaire (Pellegrini *et al.*, 2016).

- **Un blocage de la maturation folliculaire** : l'absence ou l'arrêt du développement des follicules conduit à une défaillance hormonale, caractérisée par une diminution des taux d'estradiol et d'inhibine circulants et à une élévation de la FSH et de la LH (Pellegrini *et al.*, 2016).

- **Une accélération de l'atrésie folliculaire** : en physiologie, ce phénomène d'atrésie contemporaine à la sélection du follicule dominant est la résultante d'un processus d'apoptose, qui intervient à toutes étapes du développement folliculaire et semble être finement réglée pour aboutir à la sélection d'un follicule dominant. La survenue d'une dysrégulation de l'apoptose folliculaire au bénéfice de l'expression des gènes proapoptotiques, conduit à l'augmentation de la destruction des follicules, ce qui réduit la vie reproductive chez la femme, en raison d'un appauvrissement en follicules (Vasseur *et al.*, 1999).

5. Conséquences de l'IOP :

L'IOP, manifestée par la carence ostrogénique est associée à plusieurs autres effets à long terme néfastes pour la santé y compris l'ostéoporose, la maladie cardiovasculaire, les troubles cognitifs, les troubles de l'humeur, le dysfonctionnement sexuel et la mortalité globale :

5.1. Infertilité : les femmes atteintes d'une IOP souffrent d'une infertilité due à l'arrêt ou la diminution de production des stéroïdes sexuels ovariens nécessaires dans la procréation. Pour la majorité des patientes, l'infertilité constitue l'aspect le plus dévastateur du diagnostic, surtout chez celles qui approuvent un désir d'enfant. Néanmoins, une grossesse spontanée peut se produire chez 5% à 10% des femmes ayant un caryotype normal 46, XX (Sullivan *et al.*, 2016).

5.2. Ostéoporose : l'ostéoporose est un trouble caractérisé par une faible densité osseuse et une diminution de la résistance des os, avec une augmentation du risque de fractures chez les personnes âgées (McClung, 2005). Des études ont démontré, que les femmes atteintes d'une IOP comparément aux femmes ménopausées naturellement présentent une densité osseuse faible, compatible avec une augmentation du taux de fractures ostéoporotiques en raison de l'arrêt du fonctionnement ovarien (Gallagher, 2007).

5.3. Maladies cardiovasculaires : une IOP est associée à un risque accru de maladies cardiovasculaires, en particulier l'accident vasculaire cérébral ischémique (AVC ischémique). De nombreuses études ont pu démontrer le rôle protecteur de l'hormone ostrogénique contre les maladies cardiovasculaires, dont les récepteurs de cette hormone ont été retrouvés dans tout le système cardiovasculaire (Grodstein *et al.*, 2000; Atsma *et al.*, 2006; Rocca *et al.*, 2012).

5.4. Facteur de risque de déclin cognitif, de maladie d'Alzheimer et de maladie de Parkinson : les femmes qui ont subi une ovariectomie unilatérale ou bilatérale avant le début de la ménopause naturelle (avant l'âge de 40 ans) sont exposées à un sur-risque de maladie de Parkinson et de démence, ce risque devient plus fort devant un âge plus jeune. L'arrêt prématuré de la fonction ovarienne est associé aussi au développement des déficiences cognitives, cette association dépend ainsi de l'âge de la patiente au moment de la chirurgie (Rocca *et al.*, 2007 ; Rocca *et al.*, 2009).

III. Génétique de l'insuffisance ovarienne prématurée

De nombreuses études ont démontré que le risque de développer une IOP est intimement lié à des facteurs génétiques.

A ce jour, plus de 40 gènes différents sont reconnus comme impliqués dans la survenue d'une IOP. Cependant, la majorité des anomalies génétiques décrites correspondent à des cas sporadiques.

Les femmes porteuses d'anomalies de structure ou de nombre du chromosome X ou encore de translocations entre le chromosome X et un autosome représentent les anomalies les plus fréquentes (10 à 15 %) (Ebrahimi et Akbari Asbagh, 2011; Bricaire *et al.*, 2013).

C'est une pathologie pouvant se présenter sous deux formes différentes :

- **Formes familiales de l'IOP** : l'incidence globale des cas familiaux de l'IOP est de 4 à 31 %. Les études d'ascendance sur les familles affectées montrent un mode d'héritage suggérant une transmission autosomique dominante ou liée à l'X avec une pénétrance incomplète. La forme familiale correspond à l'existence d'au moins deux cas apparentés au 1^{er} ou du 2^{ème} degré au sein de la famille (Goswami et Conway, 2005; Desai *et al.*, 2013).

- **Formes sporadiques de l'IOP** : les formes sporadiques sont les plus fréquentes dans les IOP, qualifiées par l'absence d'antécédents familiaux (Rege *et al.*, 2012).

1. Chromosome X et IOP :

1.1 Altérations cytogénétiques du chromosome X :

1.1.1 Monosomie du chromosome X ou syndrome de Turner :

L'IOP est une des principales manifestations du syndrome de Turner. Il se caractérise par une monosomie X (45, XO) pouvant être partielle ou complète. 50% des patientes présentent un caryotype 45, XO ; 5 à 10 % possèdent un isochromosome du bras long ou du bras court du chromosome X (caryotype 46, X , i(Xq) ou 46, X , i(Xp)), d'autres patientes présentent une mosaïque tel que : 45, XO/ 46, XX. Les patientes atteintes de ce syndrome présentent le plus souvent une IOP sous forme d'aménorrhée primaire mais dans 40% des cas ces femmes turnériennes porteuses d'une mosaïque présentent des menstruations avant de développer une IOP, voire même des grossesses spontanées ont été décrites représentant une fréquence de 2 à 5% (Pienkowski, 2009; Rege *et al.*, 2012).

1.1.2 Trisomie X :

Le premier cas d'une femme avec trisomie X associée à une IOP a été décrit par Jacobs en 1959. 3,8% des femmes atteintes d'une IOP ont le caryotype 47, XXX (Skalba *et al.*, 2010).

1.1.3 Délétions partielles sur le chromosome X et translocations X- autosome équilibrées :

Les délétions partielles sur le chromosome X et les translocations X-autosome équilibrées sont responsables de quelques cas d'IOP. Deux régions situées sur le bras long du chromosome X, appelées POF1 (Premature Ovarian Failure 1) et POF2 ont été identifiées comme nécessaires pour le fonctionnement ovarien, qui sont le siège des délétions et de translocations (Reyss *et al.*, 2005; Shelling, 2010).

1.2 Altérations géniques du chromosome X :

1.2.1 Gènes candidats des loci POF1 et POF2 (bras long) :

Ces régions sont localisées en Xq26-q28 et Xq13.3-q22 respectivement, les mutations touchant la région POF2 entraîne une IOP plus précoce (16-21ans) que POF1 (24-39ans). Les gènes contenus dans ces régions semblent être multiples, seuls 10% des mutations ont été identifiées (Robin *et al.*, 2012).

1.2.1.1 Gène *HS6ST2* :

Le gène *HS6ST2* (Heparan Sulfate 6-O-Sulfotransférase 2), localisé en Xq26.2 code pour une Heparane-Sulfate-6-Sulfotransférase, une enzyme qui intervient dans la sulfatation de certains protéoglycans à héparan-sulfate. Ces molécules interagissent avec de nombreux facteurs de croissance et des protéines régulatrices de la différenciation, de l'adhérence ou de la migration cellulaire. Son altération pourrait inhiber des facteurs de croissance folliculaires et troubler l'acquisition de la polarité de l'ovocyte et être par conséquent à l'origine de l'IOP (Davison *et al.*, 2000).

1.2.1.2 Gène *FMRI* :

En amont du gène *FMRI* (Fragile X Mental Retardation 1), localisé en Xq27.3, il existe une séquence sous forme de triplet CGG. Un sujet normal possède moins de 45 répétitions du triplet CGG. Lorsque le nombre de triplet est supérieur à 200, le gène n'est plus exprimé, il s'agit de la mutation complète responsable du Syndrome de l'X Fragile. La prémutation, quant à elle, se définit par la présence d'un nombre intermédiaire de triplet CGG (entre 55 et 200), asymptomatique mais à risque accrue de transmission d'une mutation complète dans la

descendance. Cette prémutation peut avoir un effet sur le déroulement de la folliculogénèse (Willemsen *et al.*, 2011; Hugon-Rodin et Christin-Maitre, 2012).

1.2.1.3 Gène *FMR2* :

Un gène homologue de *FMRI*, situé en Xq28, porte une séquence trinuécléotidique répétitive et code pour un facteur de transcription. Des microdélétions dans ce gène avec une fréquence accrue (1,5%) chez les patientes atteintes d'IOP ont été rapportées (Monnier-Barbarino et Forges, 2002).

1.2.1.4 Gène *POF1B* :

Le gène *POF1B* (Premature Ovarian Failure 1B), localisé dans la région critique POF2 (en Xq21.1), s'étend sur environ 100 Kb, comprend 17 exons. Il code pour une protéine de liaison d'actine non musculaire (Bione *et al.*, 2004; Strauss et Barbieri, 2013).

La fonction de la protéine POF1B est inconnue, mais des hypothèses suggèrent qu'elle joue un rôle important dans la cytokinèse (Lacombe *et al.*, 2006).

1.2.1.5 Gène *DACH2* :

Le gène *DACH2* (human homologue of Drosophila Dachshund), situé en Xq21.31, couvrant 700 Kb et constitué de 14 exons. Il code pour une protéine similaire à la protéine Dachshund de la drosophile, facteur de transcription, qui peut être impliqué dans l'échec ovarien prématuré. Un point d'arrêt d'une translocation équilibrée X-autosome a été identifié au niveau du gène *DACH2* chez des patientes atteintes d'une IOP idiopathique (Prueitt *et al.*, 2002).

1.2.1.6 Gène *DIAPH2 (DIA)* :

En 1998, Bione montrent qu'une translocation entre le chromosome X et le chromosome 12 dans une famille d'IOP introduit un point de cassure dans le gène *DIAPH2* (Diaphanous 2 Drosophila homologue). Ce gène localisé en Xq21.33 est l'homologue humain du gène Diaphanous de la drosophile, dont la mutation altère l'ovogénèse par anomalie de la formation des follicules ovariens (Bione *et al.*, 1998; Blanc *et al.*, 2004).

1.2.2 Autres gènes :

Il existe d'autres gènes localisés au niveau du bras long du chromosome X et qui semblent être impliqués dans l'IOP :

1.2.2.1 Gène *AR* :

Le gène *AR* (Androgen Receptor), situé en Xq12, code pour le récepteur aux androgènes, impliqués dans la différenciation sexuelle et la reproduction. Une association entre la

longueur de répétition du triplet CAG dans l'exon 1 du gène AR et l'IOP a été proposé, mais reste controversé (Panda *et al.*, 2011).

1.2.2.2 Gène *PGRMC1* :

Le gène *PGRMC1* (Progesterone Receptor Membrane Component 1), code pour une protéine transmembranaire, largement exprimée, qui fait partie du complexe de liaison à la progestérone et se trouve en Xq24 (Santoro et Cooper, 2016). La protéine PGRMC1 régule la biosynthèse des stéroïdes hormonaux (Santoro et Cooper, 2016).

1.2.2.3 Gène *XPNPEP2* :

Dans le cas d'une translocation entre le chromosome X et le chromosome 11, le point de cassure perturbe le gène *XPNPEP2* (X-Propylaminopeptidase 2) en Xq25. Ce gène code pour une aminopeptidase P qui intervient probablement dans la dégradation de certaines enzymes. Son rôle dans l'ovaire est encore inconnu (Prueitt *et al.*, 2000).

1.2.3 Altérations géniques du bras court du chromosome X :

1.2.3.1 Gène *BMP15* :

Le gène *BMP15* (Bone Morphogenetic Protein 15) localisé en Xp11.22, code pour un facteur de croissance (BMP15) spécifique à l'ovocyte, qui avec le GDF-9 (Growth Differentiation Factor-9), régule la folliculogénèse et le taux d'ovulation. Plusieurs mutations dans le gène *BMP15* ont été identifiées chez les femmes ayant une IOP (Patiño *et al.*, 2017).

1.2.3.2 Gène *ZFX* :

Le gène *ZFX* (Zinc Fingerprotein, X-linked), homologue du gène *ZFY* (Zinc Fingerprotein, Y-linked) sur le chromosome Y, est localisé en Xp22.11 et code pour une protéine à doigts de zinc, qui joue un rôle de facteur de transcription. Ce gène échappe à l'inactivation de l'X et présente une conservation remarquable entre les différentes espèces. Il se pourrait que des mutations du gène *ZFX* interviennent dans certains cas d'IOP (Blanc *et al.*, 2004).

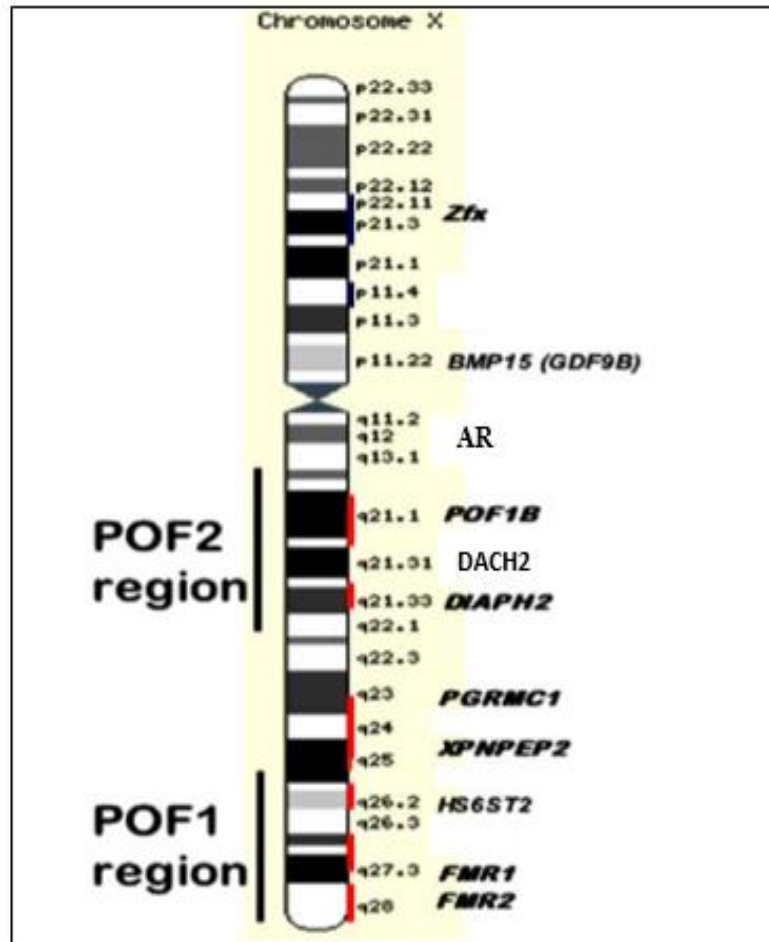


Figure 6 : Structure du chromosome X avec les translocations des gènes candidats de l'IOP (Fassnacht *et al.*, 2006).

2. Autosomes et IOP :

2.1. Altérations géniques des autosomes :

2.1.1 Gène *FOXL2* :

Le gène *FOXL2* (Forkhead Box L2) est localisé en 3q22.3, s'étend sur 2,7 Kb, ne contenant qu'un seul exon. Les altérations de ce gène induisent le syndrome BPES (Blepharophimosis, Ptosis, Epicanthus Inversus) de type I, une affection génétique qui associe l'IOP à des anomalies oculaires, transmise sur un mode autosomique dominant (Lakhali *et al.*, 2008). Le facteur FOXL2, exprimé dans les cellules de granulosa, joue un rôle dans la maturation de ces dernières, la régulation de l'expression de l'*AMH* à travers l'interaction avec le facteur SF-1 (Steroidogenic Factor 1), ainsi que le maintien de la fonction ovarienne (Jin *et al.*, 2016).

2.1.2 Gène *GALT* :

Le gène *GALT* (Galactose-1-Phosphate uridyL Transferase), situé en 9p13, exprime l'enzyme *GALT*, incluse dans la voie de Leloir, la voie principale du métabolisme du galactose. Une défaillance de ce gène induit une galactosémie, un trouble héréditaire de transmission autosomique récessive, dont la prévalence de l'IOP est de 1 sur 10 000 pour les femmes de 15 à 29 ans et de 7,6 sur 10 000 pour les femmes âgées de 30 à 39 ans (Kauffman et Castracane, 2003; Fridovich-Keil *et al.*, 2011).

2.1.3 Gène *AIRE* :

Le gène *AIRE* (Auto Immune Regular), situé en 21q22.3, code pour le facteur de transcription *AIRE*, qui contrôle les mécanismes empêchant le système immunitaire de s'attaquer au corps lui-même (Saint-Dizier et Chastant-Maillard, 2014). Les altérations de ce gène, conduisent à la survenue du syndrome APECED (Autoimmune Poly-Endocrine Candidiasis Ectodermal Dystrophy), aussi appelé syndrome APS 1 (Autoimmune Polyglandular Syndrome 1), qui représente une série de troubles caractérisée par une activité auto-immune contre plus d'un organe endocrinien, transmis sur un mode autosomique récessif.

L'IOP se développe chez 41% à 72% des patientes atteintes d'APS I, et chez 10% à 25% de celles atteintes d'APS II (Ebrahimi et Akbari, 2015).

2.1.4 Gène *POLG* :

Le gène *POLG* (Polymerase Gamma catalytic subunit), localisé en 15q26.1, code pour l'enzyme *POLG*, responsable de la synthèse de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Luoma *et al* (2004) ont signalé que les femmes présentant une mutation du gène *POLG*, souffrent d'une ophtalmoplégie externe progressive et d'une IOP avant l'âge de 35 ans.

Plusieurs autres gènes impliqués dans différents syndromes sont associés à l'IOP (Annexe1).

2.1.5. Gène *NOBOX* :

Le gène *NOBOX*, localisé en 7q35, code pour un facteur de transcription, spécifique à l'ovocyte. Ce facteur joue un rôle crucial dans la folliculogénèse précoce et dans la régulation de la transcription des gènes ovocytaires tel que le gène *GDF9* (Suzumori *et al.*, 2002; Bouilly *et al.*, 2011).

2.1.6 Gène *GDF9* :

Le gène *GDF9*, un homologue du gène *BMP15*, est également un membre de la superfamille TGF- β , et se situe en 5q23.2. Comme *BMP15*, *GDF9* est exprimé par l'ovocyte. Son rôle est capital dès les premiers stades du développement folliculaire (Persani *et al.*, 2011).

2.1.7 Gène *RFSH* :

Le gène *RFSH* (Receptor FSH), codant pour le récepteur de l'hormone FSH est situé en 2p21, s'étend sur 54 Kb et composé de 10 exons (Monnier-Barbarino, 2002).

2.1.8 Gène *INHA* :

Le gène *INHA* (Inhibin Alpha subunit), situé en 2p35, code pour la sous unité alpha des inhibines A et B et impliqué dans la susceptibilité à l'IOP. L'inhibine A et B régulent les taux de FSH et un défaut de sécrétion de ces hormones, provoque une augmentation de FSH, un accroissement du recrutement des follicules et donc un épuisement prématuré de la piscine folliculaire ovarienne (Zintzaras, 2009).

2.1.9 Gène *NR5A1* :

Le gène *NR5A1* (Nuclear Receptor subfamily 5 group A member 1), également appelé *SF-1* ou *Ad4BP* (Adrenal 4 Binding Protein), situé en 9q33.3, comprend 9 exons (www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2516). Il code pour le facteur stéroïde SF-1, un récepteur nucléaire, qui sert de régulateur transcriptionnel principal de plusieurs gènes, tel que *CYP11A1*, *CYP19A1*, *AMH*, *INHA*, impliqués dans la stéroïdogenèse, le développement et la fonction de l'ovaire (Jiao *et al.*, 2013).

L'expression de SF-1 est retrouvée dans les follicules au stade préantral chez la femme, ainsi que dans les cellules de la thèque interne, de la granulosa et du corps jaune et une altération de ce dernier peut provoquer une perturbation des protéines codées par les gènes régulés par ce facteur, ce qui peut affecter l'ovaire à plusieurs niveaux, y' compris le nombre de cellules germinales réduit, la folliculogénèse anormale, la stéroïdogenèse défectueuse, aboutissant à une IOP (Martinerie *et al.*, 2009; Ferraz-de-Souza *et al.*, 2011).

2.1.10 Gène *ER* :

Il existe deux sous types de récepteurs d'œstrogènes dans les tissus humains, ER α (Estrogen Receptor alpha) et ER β , codés respectivement par le gène *ESR I* (localisé en 6q25.1) et *ESR II* (localisé en 14q23). L'intron 1 du gène ESR I contient deux polymorphismes nucléotidiques à Pv II (*Proteus vulgaris* II) (T397C) et Xba I (*bacterium Xanthomonas badrii*) (A351G), sites d'enzymes de restriction (He *et al.*, 2014 ; Santoro et Cooper, 2016).

2.1.11 Gène *FIGLA* :

Le gène *FIGLA* (Factor In Germline Alpha), localisé en 2p13, code pour le facteur de transcription de structure hélice boucle hélice basique, spécifique à l'ovocyte, qui joue un rôle crucial dans la formation des follicules primordiaux, ainsi que dans la régulation de

l'expression des gènes de la zone pellucide. Des mutations du gène *FIGLA* ont été associées à l'IOP chez des femmes indiennes et chinoises (Bayne *et al.*, 2004).

2.1.12 Gène *FOXO3a* :

Le gène *FOXO3a* (Forkhead box O3), localisé en 6q21, exprime au niveau de l'ovaire, un facteur transcriptionnel, qui joue un rôle dans l'inhibition de l'activation du développement précoce des follicules primordiaux (Cordts *et al.*, 2011).

D'autres gènes autosomiques ont été associés à l'IOP (Annexe 2).

3. Polymorphismes génétiques et IOP :

De multiples polymorphismes peuvent être associés à l'IOP :

3.1 Gène *MTHFR* :

Le gène *MTHFR* (Méthylentetrahydrofolate Reductase) est localisé en 1p36.3, contient 13 exons disposés selon leur taille de 103 pb jusqu'à 432 pb. Il code pour une protéine de 77 KD, il s'agit de l'enzyme MTHFR, qui catalyse la conversion des 5,10 méthylènes tétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate, un co-substrat pour la re-méthylation d'homocystéine en méthionine dans le métabolisme de l'homocystéine (Goyette *et al.*, 1998).

L'étude de Rah *et al.* (2012), réalisée sur 136 femmes coréennes atteintes d'IOP a identifié une association entre le polymorphisme C677T et l'IOP. Le polymorphisme C677T, correspond à un remplacement d'une cytosine par une thymine au niveau de la 677^{ème} paire de base (677C > T), qui se traduit au niveau protéique par la substitution d'une alanine par une valine au niveau du 222^{ème} acide aminé, donnant naissance à une protéine d'activité enzymatique réduite. Les femmes porteuses de l'allèle 677T peuvent avoir un épuisement ovarien prématuré et donc un risque accru de développer une IOP. Cependant, le mécanisme du polymorphisme C677T dans l'occurrence de POF n'a pas encore été déterminé (Rah *et al.*, 2012).

3.2 Gène *CYP1A1* :

Le gène *CYP1A1* (Cytochrome P450 family 1 subfamily 1 member 1) est localisé en 15q22-q24, comprend 7 exons et 6 introns et s'étend sur 5987 paires de bases (Sowers *et al.*, 2006).

Il code pour l'enzyme CYP1A1, membre de la superfamille des enzymes du cytochrome P450, qui joue un rôle majeur dans l'activation des pro-carcinogènes, ainsi que dans l'oxydation des œstrogènes. 11 polymorphismes du gène *CYP1A1* ont été décrits tel que : le T3801C.

Le polymorphisme T3801C, correspond à une substitution d'une thymine par une cytosine au niveau de la 3801^{ème} paire de base (3801>C) au niveau de la région 3'UTR (non traduite), donc au niveau protéique, il ne provoque aucune substitution d'acides aminés mais peut générer une protéine fortement inductible par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) avec une activité enzymatique augmentée (Bag *et al.*, 2015).

Des études impliquant l'association des polymorphismes du gène *CYP1A1* avec l'IOP n'ont pas encore été établies.

IV. Diagnostic et traitement

1. Diagnostic :

1.1 Interrogatoire :

Il doit retracer l'histoire de la fonction ovarienne de la patiente et recherchera une cause évidente de l'installation de l'IOP. Cet examen permet aussi de rechercher une histoire familiale de l'IOP et un arbre généalogique est établi à la fin de l'interrogatoire (Christin-Maitre et Braham, 2008).

1.2 Examen clinique :

Il permet d'apprécier le degré d'imprégnation ostrogénique par l'examen gynécologique et recherche des éléments en faveur d'une étiologie (Christin-Maitre *et al.*, 2006).

1.3 Examen biologique :

Il s'agit d'un bilan hormonal (Annexe 3) nécessaire pour le diagnostic, réalisé sur deux prélèvements différents, en un intervalle de quelques semaines (Nicolas *et al.*, 2015).

1.4 Echographie pelvienne :

Elle permet d'apprécier la morphologie de l'ovaire, de l'utérus ainsi que la présence des follicules. Un développement folliculaire persistant est constaté chez des patientes, alors que le diagnostic d'IOP est confirmé (Kalantaridou et Nelson, 2000; Nicolas *et al.*, 2015).

1.5 Examen génétique :

Il s'agit de la réalisation d'un caryotype, qui permettra d'identifier des anomalies de nombre ou de structure. Une analyse moléculaire peut être aussi réalisée afin de rechercher si des mutations au niveau des gènes candidats sont à l'origine de la pathologie (Christin-Maitre et Braham, 2008).

2. Traitement :

2.1 Traitement Hormonal Substitutif (THS) :

Il s'agit d'un traitement de remplacement estroprogestatif à base d'hormones (estrogène et progestérone), visant à compenser l'hypoestrogénie et ses effets physiologiques ainsi que psychologiques sur la santé des femmes avec IOP (Vujović *et al.*, 2012). Un traitement supplémentaire avec la testostérone est conseillé afin de compenser le déficit androgénique dû à l'IOP (Kalantaridou *et al.*, 2005).

Le THS comporte des risques et des effets secondaires, qui doivent être expliqués à une patiente, qui souhaite bénéficier de celui-ci (Vujović *et al.*, 2012).

2.2 Traitement d'infertilité :

A l'heure actuelle, aucun traitement pour l'infertilité des femmes atteintes d'IOP n'a été démontré. Une grossesse spontanée peut survenir chez 5 à 10 % des patientes (Sullivan *et al.*, 2016). Ces cas ont été surtout rapportés sous THS ou dans le cycle suivant l'arrêt du traitement (Christin-Maitre et Braham, 2008).

3. Conseil génétique :

Un conseil génétique est souhaitable lorsqu'une forme génétique de l'IOP est suspectée ou identifiée. Ce conseil doit tenir compte du risque de récurrence de l'IOP dans la famille et surtout du risque d'un déséquilibre chromosomique plus grave, pouvant entraîner l'apparition de pathologies malformatives et/ou de retard mental au sein de la famille (Beck-Peccoz et Persani, 2006).

Il faut noter que le conseil génétique n'est pas encore formé dans notre pays.

Patientes et méthodes

1. Type d'étude

L'étude que nous avons menée est une étude transversale de type cas-témoins, qui s'est déroulée en une durée de 3 mois au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université Constantine 3 et au laboratoire de biologie moléculaire de la Faculté SNV – de l'université des frères Mentouri Constantine 1.

2. Patientes et témoins

2.1 Recrutement des patientes

L'étude effectuée a concerné dix patientes atteintes d'une IOP, recrutées à partir des cabinets privés de gynécologie de Constantine. Aucune patiente interrogée pour remplir le questionnaire n'a accepté de réaliser le prélèvement sanguin pour faire l'étude moléculaire.

2.2 Recrutement des témoins

Les témoins au nombre de neuf sont issus de la population générale.

2.3 Critères d'inclusion et d'exclusion

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été établis pour les deux populations :

2.3.1 Critères d'inclusion

- **Patientes** : femmes âgées de moins de 40 ans.
femmes atteintes d'IOP.
- **Témoins** : femmes non ménopausées âgées de moins de 40 ans.
femmes ménopausées et non ménopausées âgées de plus de 40 ans.

2.3.2 Critères d'exclusion :

- **Patientes** : femmes dont la ménopause a survenu après 40 ans
- **Témoins** : femmes atteintes d'une pathologie associée à l'IOP.

En plus des consultations des dossiers médicaux de chaque patiente, un questionnaire (Annexe 3) a été établi pour chacune d'elles accompagné d'un formulaire de consentement (Annexe 4) afin de pouvoir recueillir toutes les données nécessaires à notre étude.

3. Méthodes utilisées

3.1 Prélèvements sanguins

Le prélèvement de sang veineux (5ml) destiné à l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube vacutainer, en présence d'EDTA (Ethylene Diamine Tetra-acetic Acide) comme anticoagulant et inhibiteur de l'action des enzymes ADNase.

Les tubes sont conservés à une température de 4C° jusqu'au moment de la manipulation.

3.2 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN pur de chaque individu à partir des leucocytes sanguins (réalisée au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université de Constantine 3). Les méthodes d'extraction sont diverses, celle utilisée dans notre étude est basée sur l'utilisation d'un solvant inorganique : le NaCl.

3.2.1 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 par la protéinase K qui lui sont associées.
- Extraction et purification de l'ADN.
- Précipitation et lavage par éthanol permettant la formation de la pelote d'ADN.
- Solubilisation de l'ADN pur.

Ces étapes sont clairement détaillées dans l'annexe 5.

3.2.2 Détermination de la pureté et de la concentration de l'ADN

3.2.2.1 Pureté

La pureté de l'ADN extrait est déterminée par le calcul du rapport (R) de la DO à 260 nm (la longueur d'onde d'absorption de l'ADN) sur la DO à 280 nm (la longueur d'onde d'absorption des protéines) :

- L'ADN est pur si : $1,6 < R < 2$.
- L'ADN est contaminé par les protéines si : $R < 1,6$.
- L'ADN est contaminé par l'ARN si : $R > 2$.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction pour la digestion des produits de PCR. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne permet pas l'obtention de bons résultats lors de son analyse par PCR (absence d'amplification). Il est donc indispensable de procéder par réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté voulue.

3.2.2.2 Concentration

La concentration de l'ADN est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{ADN}] \mu\text{g/ ml} = \text{DO } 260 \times 50 \times \text{facteur de dilution}$$

Sachant que : 1 unité de DO à 260 nm = 50 $\mu\text{g/ ml}$ d'ADN double brin.

3.3 Génotypage du *MTHFR* et *CYP1A1*

Pour la mise en évidence du génotypage du polymorphisme C677T du *MTHFR*, ainsi que celui du polymorphisme T3801C du *CYP1A1*, nous avons réalisé ces différentes étapes :

- Amplification par PCR du gène d'intérêt.
- Contrôle de la PCR sur gel d'agarose à 2%.
- Digestion des produits de PCR par l'enzyme de restriction correspondante.
- Séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose à 3%.
- Visualisation après exposition sous UV.

3.3.1 PCR

La PCR est une technique de biologie moléculaire, qui permet l'amplification *in vitro* de séquences précises d'ADN en de très nombreux exemplaires. Elle s'est déroulée au niveau du laboratoire de biologie moléculaire – Faculté SNV – Université des frères Mentouri Constantine 1.

3.3.1.1 PCR du variant C677T du gène *MTHFR*

- Dilution de l'ADN

Les ADN fortement concentrés sont dilués

- Déposer 10 μl d'ADN concentré dans le tube Eppendorf de 1,5ml.
- Rajouter 30 μl d'eau distillée.
- **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 suivant la formule ci-dessous :

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

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 :

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

La quantité de chaque composant du milieu est par la suite multipliée par le nombre de tubes voulus, plus un tube témoin négatif (le mélange seulement sans ADN) et un tube témoin positif (ADN amplifié précédemment).

Tableau 1 : Composants du mélange réactionnel de PCR pour le polymorphisme C677T du gène *MTHFR*

Réactifs	volume (µl) pour un seul échantillon
H2O	12,06 µl
MgCl ₂ à 1,5 final (50mM)	0,9 µl
Amorce sens (100 ng/µl)	3µl
Amorce anti-sens (100 ng/µl)	3µl
Tampon 10X	3µl
Taq DNA 5U/µl	0,24µl
dNTP 0,2 final	4,8µl
DNA 20 à 50 ng/µl	3µl
Total	30µl

Après la préparation du mix de la PCR, nous avons pris 27 µl du mélange avec 3 µl d'ADN pour chaque tube.

Les séquences nucléotidiques des amorces du gène *MTHFR* sont :

- Sens : 5'CCAAAGGCCACCCCGAAG3'
- Anti-sens : 5'GAAAGATCCCGGGGACGAT3'.

- Programmation des cycles de PCR

Nous avons déposé les tubes préparés dans un thermocycleur (eppendorf), que nous avons programmé pour 40 cycles. Chaque cycle de PCR se déroule en 3 étapes indispensables : dénaturation de l'ADN double brin, hybridation des amorces, élongation par la polymérase.

Tableau 2 : Programmation de l'amplification du gène *MTHFR*

Étapes	Température (°C)	Durée	Cycles
Dénaturation initiale	94	4 min	1
Dénaturation	94	30 sec	40
Hybridation	69	30 sec	
Elongation	72	30 sec	

- Contrôle de la PCR :

Le contrôle de la qualité des produits de la PCR est effectué par électrophorèse sur gel d'agarose, une technique qui consiste en la migration des molécules chargées en fonction de leur taille sous l'effet d'un champ électrique.

Tableau 3 : Préparation du gel d'agarose à 2 %

Composition du gel d'agarose à 2 %	Quantité
Agarose	2g
TBE 1X (Tris Borate EDTA)	100 ml
BET (Bromure d'éthidium)	10 µl

Sachant que le BET représente un agent intercalant se fixant entre les bases nucléiques rendant l'ADN fluorescent par exposition aux UV.

- Dépôt des échantillons

Notre gel préparé est par la suite coulé délicatement sur une plaque d'une cuve horizontale. Dans chaque puits du gel nous déposons du côté cathode (-) 10 µl du produit d'amplification mélangé à 3 µl du Bleu de Bromo Phénol (BBP) ou de tampon de charge.

NB : *un puit est réservé pour le marqueur de taille, qui permet d'estimer la taille des fragments amplifiés et un autre puit pour le dépôt du témoin négatif, qui permet la détection d'une éventuelle contamination de l'ADN au cours de l'amplification.*

Le système est ensuite soumis à une migration à un courant de 100 volts pendant une trentaine de minutes. Après migration des fragments, le gel est soumis aux UV et ces derniers sont visualisés sous forme de bandes fluorescentes (Figure 7).

La taille du fragment d'amplification du polymorphisme C677T de la MTHFR est de 198pb.

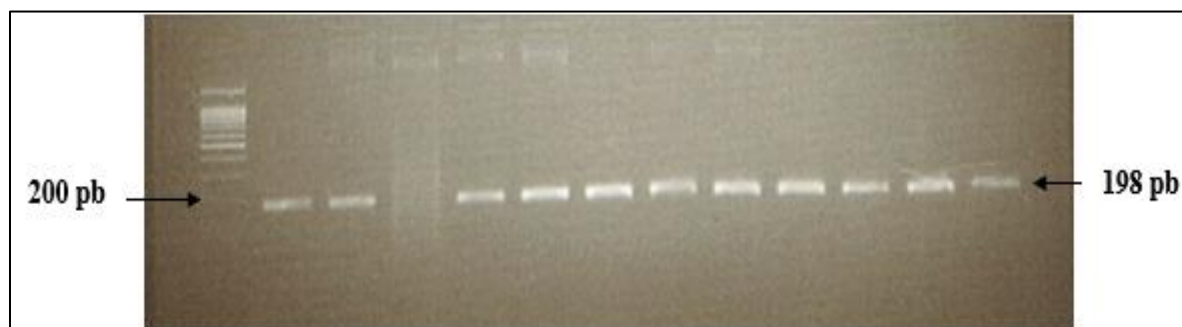


Figure 7 : Profil électrophorétique de la PCR du gène *MTHFR* et *CYP11A1*.

- Digestion des produits de PCR :

Les produits de PCR du polymorphisme C677T du gène MTHFR sont digérés par une endonucléase de restriction appelée *HinfI* (*Haemophilus influenzae*), qui coupe l'ADN à des sites spécifiques dits ; sites de restriction (Figure 8). 0,7 μ l de l'enzyme *HinfI* est ajoutée aux produits d'amplification (20 μ l) puis incubés à 37 C° dans l'étuve pendant une nuit.



Figure 8 : Site de restriction de l'enzyme *HinfI*.

Après incubation et avant le dépôt des échantillons dans chaque puits, les tubes sont soumis à une température de 56 C° dans la même étuve et pendant 20 min, afin de désactiver l'enzyme de restriction.

- Electrophorèse :

Dans chaque puits du gel d'agarose à 3 % (3g d'agarose avec 100ml de TBE à 1X), nous avons déposé 20 μ l du produit digéré mélangé avec 3 μ l de BBP puis le système est soumis à une migration de 100 volts pendant 50 minutes. Par la suite, les fragments de restriction peuvent être visualisés sous UV. Les fragments d'ADN obtenus sont de :

- 198 pb en cas d'absence de la mutation et les fragments digérés apparaissent sous forme d'une seule bande sur le profil électrophorétique, représentant le génotype homozygote sauvage CC.

- 175 pb en cas de présence de la mutation et une seule bande apparaît sur le profil électrophorétique, il s'agit du génotype homozygote muté TT.
- les deux bandes de 175 pb et de 198 pb apparaissent ensemble, correspondant au génotype hétérozygote CT.

3.3.1.2 PCR du variant T3801C du gène *CYP1A1* :

Elle se déroule exactement avec les mêmes étapes et dans les mêmes conditions que la PCR du gène *MTHFR* sauf pour les éléments ci-dessous :

- **Les amorces :** les séquences nucléotidiques des amorces du gène *CYP1A1* :
 - Sens : 5'-GGCTGAGCAATCTGACCCTA-3'
 - Anti-sens : 5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'
- **Programmation du thermocycleur :**

Tableau 4 : programmation de la PCR du gène *CYP1A1*

Etape	Température (°C)	Durée	Cycles
Dénaturation initiale	94	4 min	1
Dénaturation	94	30 sec	30
Hybridation	61	30 sec	
Elongation	72	30 sec	

Le gel utilisé pour la migration électrophorétique est également de 2%. Après visualisation du gel sous UV, nous avons obtenu le profil ci-dessous :



Figure 9 : Profil électrophorétique du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* (produit PCR) (une bande de 340pb).

- **Digestion des produits d'amplification :**

Les ADN amplifiés sont digérés par l'enzyme de restriction *MspI* (*Moraxella species I*), qui clive à des sites spécifiques. Un nouveau site de clivage (Figure 10) est créé par la mutation T3801C du *CYP1A1*.



Figure 10 : Site de restriction de la *MspI*.

- **Taille des fragments d'ADN obtenus après électrophorèse**

Sur le profil électrophorétique, les fragments d'ADN amplifiés et digérés sont de :

- 340 pb en absence de mutation et les fragments d'ADN apparaissent sous forme d'une seule bande, représentant le génotype homozygote sauvage TT.
- deux bandes de 200 pb et de 140 pb en cas de transition de T en C, présentant le génotype homozygote muté CC.
- trois bandes de 340 pb, 200 pb et 140 pb pour le génotype hétérozygote muté TC.

3.4 Etude statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne \pm l'écartype pour les variables quantitatives en utilisant l'Excel.

Résultats et discussion

1. Patientes

1.1. Répartition des patientes selon l'âge de diagnostic

Notre échantillon de patientes est subdivisé selon des tranches d'âge de 10 ans (Tableau 5).

Tableau 5 : Répartition des patientes selon l'âge de diagnostic de l'IOP

Tranche d'âge (ans)	Nombre de patientes	Pourcentage (%)
< 20	0	0
[20 - 30[4	40
[30 - 40[6	60
Total	10	100

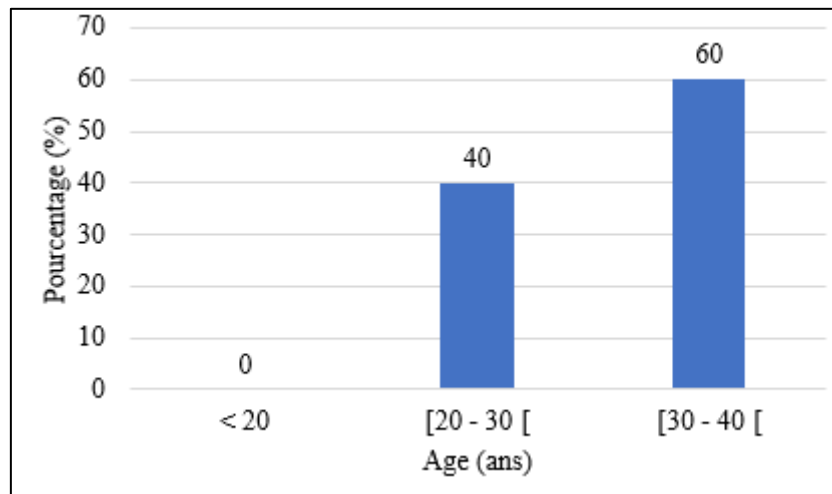


Figure 11 : Répartition des patientes selon l'âge de diagnostic.

Dans notre étude, l'âge moyen du diagnostic de l'IOP chez nos patientes est de $32,2 \pm 4,6$ avec des extrêmes de 22 – 38 ans. L'IOP a marqué la fréquence la plus élevée (60%) dans la tranche d'âge entre 30 et 40 ans suivie d'une fréquence importante de 40 % entre 20 et 30 ans. Aucune patiente n'a été signalée comme atteinte avant l'âge de 20 ans (0 %).

Cela démontre que l'IOP est une pathologie qui se développe fréquemment chez les femmes en trentaines, moyennement chez celles dans les vingtaines et rarement chez celles âgées de moins de 20 ans.

Nos résultats se rapprochent de ceux de Coulami et al. (1986) qui ont rapporté d'après leur étude établie sur 1850 patientes âgées entre 19 et 39 ans, une prédominance de l'IOP chez les femmes âgées entre 30 et 39 ans en comparaison avec les femmes âgées entre 20 et 29 ans où sa prévalence était diminuée, ainsi qu'entre 15 et 19 ans. De même pour l'étude de Talon (2013) qui a signalé que l'âge de 32 ans étant l'âge moyen du diagnostic avec des extrêmes entre 23 et 37 ans sur une population de 93 femmes françaises. En revanche nos résultats

divergent avec ceux de Djellali-Zemni et Rasmoun (2006) qui ont signalé un pourcentage élevé des patientes âgées de moins de 20 ans parmi une cohorte de 43 femmes tunisiennes atteintes d'une IOP.

1.2 Répartition des patientes selon l'âge de la ménarche

La fréquence des patientes dont l'âge de ménarche est entre 11 et 13 ans est la plus élevée (90 %), suivie d'une fréquence de 10 % (1 cas) entre 14 et 16 ans, et une fréquence de 0% à un âge précoce (<11 ans) et également une fréquence de 0 % à un âge trop tardif (> 16 ans) (Figure 12).

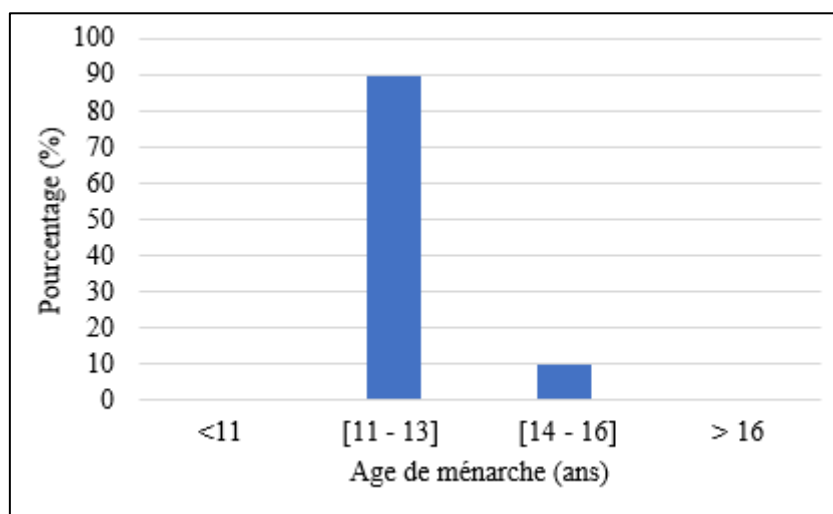


Figure 12 : Répartition des patientes selon l'âge de la ménarche.

L'âge moyen à la ménarche est de $12,2 \pm 1,36$ pour nos patientes avec des extrêmes de 11 – 15 ans. Cela démontre que les femmes atteintes d'une IOP subissent une ménarche à un âge normal (ni précoce, ni tardif), donc l'âge où la fille a eu ses premières menstruations n'est pas associé à la survenue ultérieure d'une IOP.

Talon (2013) a révélé un âge médian de ménarche de 12,8 ans dans sa population de patientes avec des extrêmes de 9 – 16 ans. En revanche Mishra et al. (2017) ont démontré que les femmes qui ont subi une ménarche précoce à un âge inférieur à 11 ans en comparaison avec celles qui ont subi leur ménarche entre 12 – 13 ans présentent un risque de développer une IOP.

1.3 Répartition des patientes selon le taux d'hormones dosées :

Chaque patiente a bénéficié d'une évaluation de sa fonction et de sa réserve ovarienne par un dosage de la FSH, E2 et AMH sériques.

Une répartition des patientes est établie selon chaque hormone dosée :

1.2.1 Selon le taux de FSH

Dans notre population étudiée 7 patientes (70 %) présentent une élévation très importante du taux de FSH (80 – 100 UI/l), 2 patientes (20 %) ont des taux de FSH qui varient entre 50 et 70 UI/l et une patiente (10 %) qui marque une augmentation accrue du taux de FSH supérieur à 100 UI/l, et aucune patiente ne présente un taux de FSH inférieur ou égal à 40 UI/l (Figure 13).

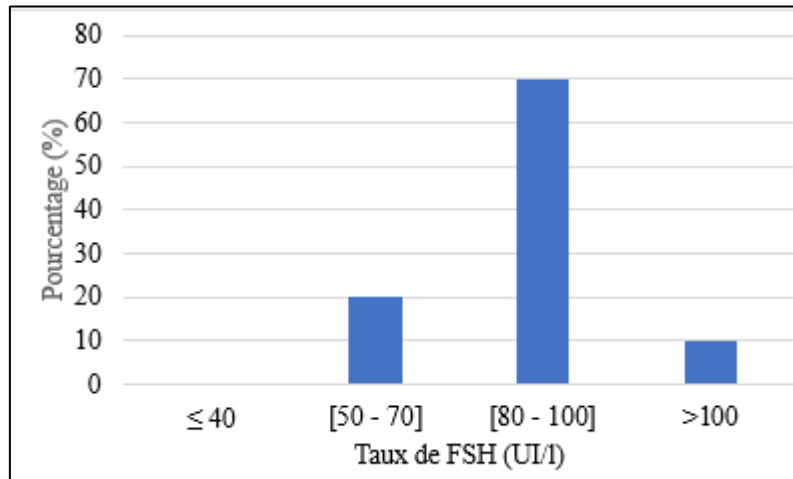


Figure 13 : Répartition des patientes selon le taux de FSH.

Cette répartition montre que la totalité de nos patientes présentent des taux de FSH élevés (> 40 UI/l). D'une part, nos résultats sont similaires à ceux de Méduri et al. (2007) et d'une autre part convergent avec ceux de Persani et al. (2010) et Cox et Liu (2014) qui ont signalé des taux supérieurs à 30 UI/l.

1.2.2 Selon le taux d'E2

50 % de nos patientes signalent une forte hypoestrogénie avec des taux d'E2 entre 5 et 8 pg/ml), suivie d'une fréquence de 20 % (2 patientes) présentant un taux qui varie entre 9 et 12 pg/ml, 10 % (une patiente) qui marque un taux entre 13 – 16 pg/ml, un taux entre 17 et 20 pg/ml est remarqué chez une seule patiente, suivis d'un taux supérieur à 20 pg/ml chez une autre (Figure 14).

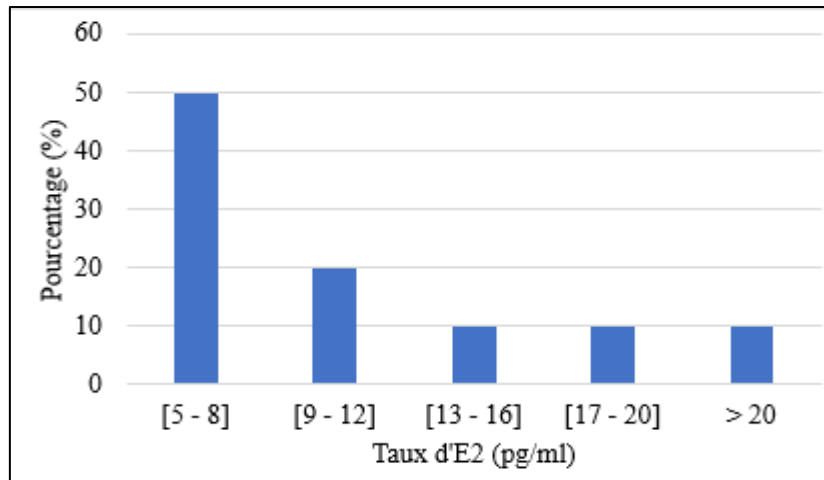


Figure 14 : Répartition des patientes selon le taux d'E2.

Des taux d'E2 inférieurs à 20 pg/ml sont remarqués chez toutes de nos patientes. Nos résultats sont en accord par Okeke et al. (2013). En revanche Nicolas et al. (2015) ont suggéré que le diagnostic est posé devant des taux d'E2 inférieurs à 50 pg/ml.

1.3.3. Selon le taux d'AMH :

Parmi nos patientes recrutées 50 % (5 cas) présentent des taux d'AMH indétectables qui varient entre 0,01 et 0,05 ng/ml. Une fréquence de 40 % (4 cas) a été observée avec des taux d'AMH faibles entre 0,02 et 0,06 ng/ml, une seule patiente avec un taux entre 0,06 et 0,1 ng/ml. Aucune patiente ne possède un taux d'AMH supérieur à 0,6 ng/ml (Figure 15).

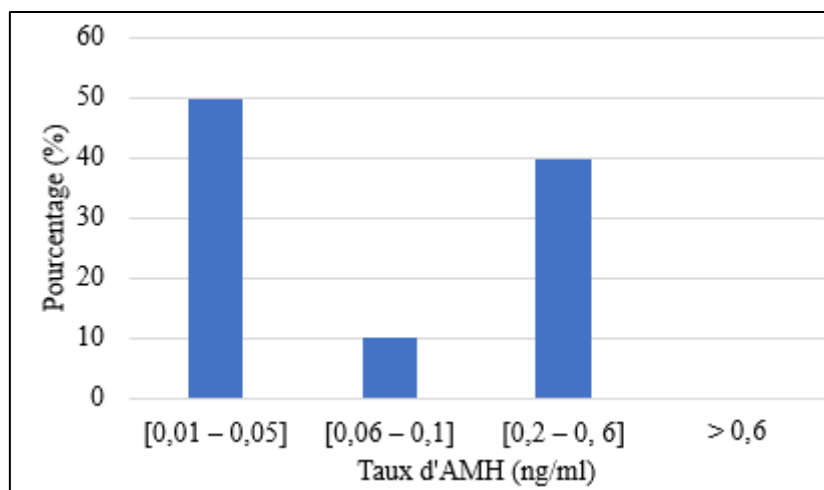


Figure 15 : Répartition des patientes selon le taux d'AMH.

Ces observations montrent que l'IOP est caractérisée dans la majorité des cas par des taux d'AMH très faibles voire indétectables (< 0,6 ng/ml).

Nos résultats se rapprochent de ceux de Massin et al. (2008) qui ont signalé des taux indétectables chez 70,6 % de la population des patientes étudiées. Mais convergent avec ceux de Talon (2013), qui a marqué des taux d'AMH entre 0,1 et 3,5 ng/ml.

D'après nos résultats obtenus, nous pouvons conclure que des taux très élevés de FSH, supérieurs à 40 UI/l (hypergonadotrope), des taux très bas d'E2, inférieurs à 20 pg/ml (hypogonadisme), des taux indétectables d'AMH, inférieurs à 0,6 ng/ml (réserve ovarienne épuisée) constituent les principaux caractéristiques d'une IOP.

1.4. Répartition des patientes selon la survenue de grossesse spontanée :

Une grossesse spontanée est survenue chez une seule de nos patientes (10 %) âgées de 34 ans après 6 mois de l'arrêt du traitement hormonal substitutif et 90 % des autres sujets n'ont pas montré une reprise de la fonction ovarienne ni de grossesse spontanée. Ces résultats montrent que l'arrêt du fonctionnement ovarien peut-être réversible et une grossesse spontanée peut avoir lieu mais cela avec une fréquence très faible.

Selon la littérature, 27 grossesses spontanées (5,2 %) ont été observées chez des femmes âgées en moyenne de 34 ans d'après Letur et al. (2004).

Nicolas et al. (2015) révèlent une reprise de l'activité ovarienne chez 24 % des insuffisantes ovariennes prématurées, le taux de grossesse spontanée était de 18 %.

1.5. Répartition des patientes selon la présence d'antécédents familiaux d'IOP :

Dans notre population de patientes aucune d'entre elles ne possède un antécédent familial d'une IOP, il s'agit donc d'une forme sporadique de la pathologie. La fréquence de l'IOP familiale est à 0% dans notre étude. Cela montre que la forme sporadique de l'IOP est la plus fréquente tandis que la forme familiale est moins fréquente. Mais ces résultats restent préliminaires vu la taille limitée de notre échantillon d'étude.

Nos observations sont en désaccord avec ceux de Van Kasteren et al. (1999), qui révèlent une incidence de 12,7 % des cas familiaux parmi une cohorte de 63 patientes, une incidence beaucoup plus élevée de 31% dans un groupe de 71 patients a été signalée par Conway et al. (1996) et par Vegetti et al. (1998), indiquent une prévalence assez faible (4%).

Remarque :

Nous n'avons pas pu réaliser une étude moléculaire pour les patientes recrutées parce qu'elles ont refusé de faire le prélèvement.

2. Témoins

2.1 Caractéristiques générales des témoins

Nous avons recruté 9 témoins volontaires dont cinq qui sont âgées de moins de 40 ans et quatre qui sont âgées de plus de 40 ans.

Tableau 6 : Représentation des caractéristiques générales des témoins

Témoins	Age (ans)	Age de ménarche (ans)	Age de ménopause
1	23	11	/
2	22	11	/
3	16	11	/
4	26	14	/
5	39	12	/
6	50	13	47 ans
7	45	12	/
8	46	11	43 ans (après ablation de l'utérus)
9	60	12	42 ans

2.2. Profil génotypique des témoins :

Notre étude moléculaire des gènes *MTHFR* et *CYP1A1* a concerné uniquement les témoins :

2.2.1. Résultats du génotypage du polymorphisme C677T du gène

MTHFR :

La digestion du produit d'amplification par l'enzyme de restriction *HinfI* a permis l'obtention du profil électrophorétique ci-dessous (Figure 16).

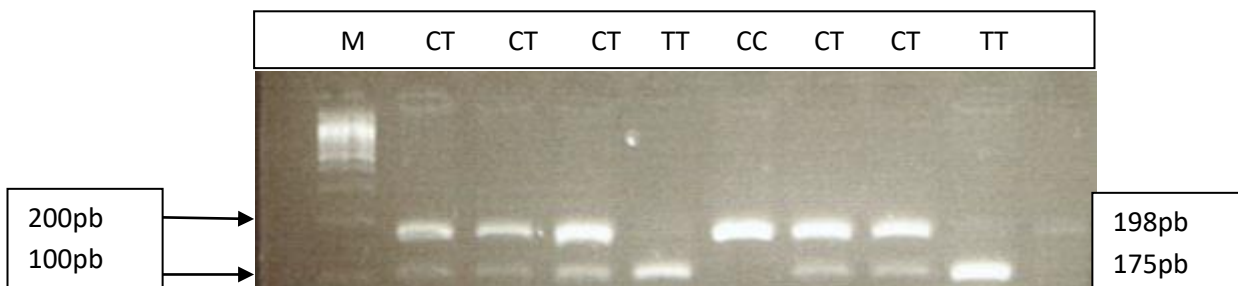


Figure 16 : Profil électrophorétique des fragments obtenus après digestion par l'enzyme *HinfI*.

La PCR et la digestion ont marché uniquement pour 8 témoins.

Tableau 7 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T du gène *MTHFR*

	Génotype	Effectif	Fréquence (%)
Fréquences génotypiques	CC	1	12,5
	CT	5	62,5
	TT	2	25
Fréquences alléliques	C	7	43,75
	T	9	56,25

Nos résultats démontrent que le génotype hétérozygote est le plus représenté dans notre échantillon avec une fréquence de 62,5%, suivie du génotype homozygote muté (25%), et de l'homozygote sauvage avec une fréquence de 12,5%. Ces résultats préliminaires ne peuvent pas être pris en considération vu la taille très réduite de notre échantillon.

Les allèles C et T sont retrouvées avec des fréquences respectives de 43,75 et 56,25 (Tableau 7).

Les fréquences du génotype CC rapportées dans la littérature étaient en Tunisie de 69,7% (Jerbi *et al.*, 2005), au Maroc de 59,3% (Bennouar *et al.*, 2007), et en Algérie de 69,5% (Hambaba *et al.*, 2008). Deux études réalisées en Europe, l'une en France et l'autre en Espagne ont rapporté des fréquences respectives de 40 % et 44 % (Wilcken *et al.*, 2003).

Nos résultats concernant les fréquences génotypique TT et allélique T étaient respectivement de 25 et 56,25. Cela n'a pas été le cas pour les études publiées précédemment réalisées en France (11,8%; 35,7%), en Espagne (11,8% ; 33,9%) (Wilcken *et al.*, 2003), en Tunisie (5,4% ; 17,8%) (Jerbi *et al.*, 2005), au Maroc (8,4% ; 24,5 %) (Bennouar *et al.*, 2007), et en Algérie (6% ; 30,5%) (Hambaba *et al.*, 2008).

Concernant la fréquence du génotype hétérozygote CT, nos résultats de 62,5% ne concordent pas avec les études précédentes effectuées en Algérie (30,5 %) (Hambaba *et al.*, 2008) et au Maroc (32,1%) (Bennouar *et al.*, 2007).

2.2.2. Résultats du génotypage du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* :

La digestion du produit de PCR en utilisant l'enzyme *MspI* a révélé sur le profil électrophorétique une seule bande de 340 pb, qui correspond au génotype homozygote

sauvage TT. Les deux autres génotypes hétérozygote TC et homozygote muté CC n'ont pas été identifiés dans notre échantillon d'étude (Figure 17).

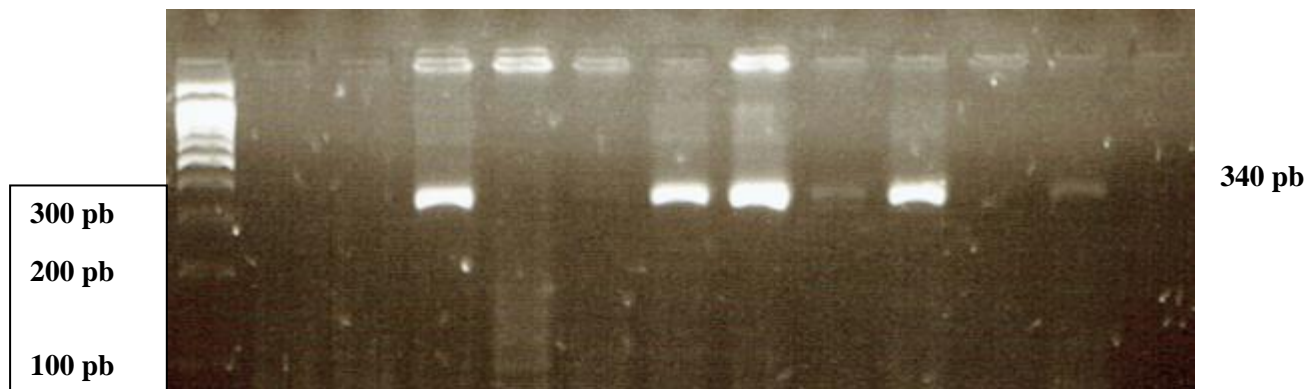


Figure 17 : Profil électrophorétique des fragments obtenus après digestion par l'enzyme *MspI*.

Pour le polymorphisme T3801C du CYP1A1, nous avons obtenu une amplification uniquement pour 6 témoins qui se sont révélées homozygotes normales TT (Tableau 8).

Tableau 8 : Fréquences génotypiques du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1*

	Génotype	Effectif	Fréquence (%)
Fréquences génotypiques	TT	6	100
	TC	0	0
	CC	0	0
Fréquences alléliques	T	12	100
	C	0	0

Remarque

Aucune étude n'a été menée dans le but de mettre en évidence les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du CYP1A1 dans la population générale.

Conclusion et perspectives

Le capital folliculaire d'une femme diminue par atrésie folliculaire dès la vie embryonnaire jusqu'à la ménopause où le nombre de follicules ovariens devient quasi nul. Un épuisement de la réserve ovarienne avant l'âge de 40 ans est défini par une insuffisance ovarienne prématurée ou ménopause précoce, caractérisée cliniquement par une aménorrhée de plus de 4 mois associée à un hypogonadisme hypergonadotrope. Les causes de cette pathologie sont multiples : les anomalies génétiques, les maladies auto-immunes, les atteintes ovariennes secondaires à la chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie, les toxines tel que : le tabac, ainsi que les agents infectieux tel que : les virus. Cependant dans la majorité des cas, l'étiologie de l'insuffisance ovarienne prématurée est idiopathique.

Le progrès en génétique a permis d'identifier plus de 40 gènes, dont seulement 10 % de leurs mutations ont été mises en évidence (localisés au niveau du chromosome X ainsi qu'au niveau des autosomes), impliqués dans l'insuffisance ovarienne prématurée tel que : ***FMRI, POF1B, PGRMC1, BMP15, NOBOX, NR5A1, RFSH, INHA, MTHFR,***).

La prise en charge des patientes a pour but d'éviter les complications cardiovasculaires et osseuses secondaires à l'hypoestrogénie. Elle fait appel au traitement hormonal substitutif. La possibilité d'une reprise de la fonction ovarienne existe chez les femmes présentant une insuffisance ovarienne prématurée, voire même des grossesses spontanées d'une prévalence de 5 à 10 % ont été identifiées.

En perspectives :

Il serait intéressant dans l'avenir de pouvoir établir l'étude de l'influence du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* et du polymorphisme T3801C du gène *CYP11A1* dans l'étiologie de l'insuffisance ovarienne prématurée par le recrutement d'une population plus large et d'intégrer l'étude d'autres gènes de susceptibilité.

Références bibliographiques

Liste des références

- Ader, J., and Carré, F. (2006). *Physiologie générale* (Elsevier Masson).
- Ahonen, P., Myllärniemi, S., Sipilä, I., and Perheentupa, J. (1990). Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N. Engl. J. Med.* *322*, 1829–1836.
- Atsma, F., Bartelink, M.-L.E.L., Grobbee, D.E., and van der Schouw, Y.T. (2006). Postmenopausal status and early menopause as independent risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis. *Menopause N. Y. N* *13*, 265–279.
- Bag, A., Jyala, N., and Bag, N. (2015). Cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms as cancer biomarkers. *Indian J. Cancer* *52*, 479–489.
- Barillier, H. (2007). *La stérilité féminine prise en charge actuelle en France*. Thèse de doctorat. Université de CAEN U.F.R des sciences pharmaceutiques. pp 180
- Bayne, R.A.L., Martins da Silva, S.J., and Anderson, R.A. (2004). Increased expression of the FIGLA transcription factor is associated with primordial follicle formation in the human fetal ovary. *Mol. Hum. Reprod.* *10*, 373–381.
- Bazot, M., Fédida, B., Dechoux-Vodovar, S., Beldjord, S., and Thomassin-Naggara, I. (2016). Ovaires : variations physiologiques et pathologies fonctionnelles. *Feuill. Radiol.* *56*, 65–84.
- Beck-Peccoz, P., and Persani, L. (2006). Premature ovarian failure. *Orphanet J. Rare Dis.* *1*, 9.
- Bénard, J., and Grynberg, M. (2015). *Physiologie ovarienne*. EMC - Gynécologie *11*, 1–9.
- Bennouar, N., Allami, A., Azeddoug, H., Bendris, A., Laraqui, A., El Jaffali, A., El Kadiri, N., Benzidia, R., Benomar, A., Fellat, S., et al. (2007). Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and homocysteine are risk factors for coronary artery disease in Moroccan population. *J. Biomed. Biotechnol.* *2007*, 9.
- Bione, S., Sala, C., Manzini, C., Arrigo, G., Zuffardi, O., Banfi, S., Borsani, G., Jonveaux, P., Philippe, C., Zuccotti, M., et al. (1998). A human homologue of the *Drosophila melanogaster* diaphanous gene is disrupted in a patient with premature ovarian failure: evidence for conserved function in oogenesis and implications for human sterility. *Am. J. Hum. Genet.* *62*, 533–541.

- Bione, S., Rizzolio, F., Sala, C., Ricotti, R., Goegan, M., Manzini, M.C., Battaglia, R., Marozzi, A., Vegetti, W., Dalprà, L., and al. (2004). Mutation analysis of two candidate genes for premature ovarian failure, DACH2 and POF1B. *Hum. Reprod.* *19*, 2759–2766.
- Blanc, B., Sultan, C., and Jamin, C. (2004). *Traité de gynécologie médicale* (Springer Science & Business Media).
- Bouilly, J., Bachelot, A., Broutin, I., Touraine, P., and Binart, N. (2011). Novel NOBOX loss-of-function mutations account for 6.2% of cases in a large primary ovarian insufficiency cohort. *Hum. Mutat.* *32*, 1108–1113.
- Bricaire, L., Laroche, E., Bourcigaux, N., Donadille, B., and Christin-Maitre, S. (2013). Insuffisances ovariennes prématurées. *Presse Médicale* *42*, 1500–1507.
- Brooker, C. (2000). *Le corps humain: Étude, structure et fonction* (De Boeck Supérieur).
- Camelot, S., Mesguich, L., and Vasina, B. (2008). *Concours d'entrée masseur kinésithérapeute* (Elsevier Masson).
- Carlsson, I.B., Scott, J.E., Visser, J.A., Ritvos, O., Themmen, A.P.N., and Hovatta, O. (2006). Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Hum. Reprod.* *21*, 2223–2227.
- Christin-Maitre, S., and Braham, R. (2008). Mécanismes généraux de l'insuffisance ovarienne prématurée et bilan clinique. *GynécologieObstétriqueFertil.* *36*, 857–861.
- Conway, G., Davies, M., Gregory, K., and Howard S, J. (1996). Characterization of idiopathic premature ovarian failure. *Fertil. Steril.* *65*, 337–341.
- Cordts, E.B., Christofolini, D.M., Dos Santos, A.A., Bianco, B., and Barbosa, C.P. (2011). Genetic aspects of premature ovarian failure: a literature review. *Arch. Gynecol. Obstet.* *283*, 635–643.
- Coulam, C.B., Adamson, S.C., and Annegers, J.F. (1986). Incidence of premature ovarian failure. *Obstet. Gynecol.* *67*, 604–606.
- Cox, L., and Liu, J.H. (2014). Primary ovarian insufficiency. *Int. J. Womens Health* *6*, 235–243.
- Davison, R.M., Fox, M., and Conway, G.S. (2000). Mapping of the POF1 locus and identification of putative genes for premature ovarian failure. *Mol. Hum. Reprod.* *6*, 314–318.

- De Tourris, H., Henrion, R., and Delecour, M. (1994). *Gynécologie et obstétrique* (Masson).
- Desai, N., Ludgin, J., Sharma, R., Anirudh, R.K., and Agarwal, A. (2013). Female and Male Gametogenesis. In *Clinical Reproductive Medicine and Surgery*, T. Falcone (Springer New York), pp. 43–62.
- Di Prospero, F., Luzi, S., and Iacopini, Z. (2004). Cigarette smoking damages women's reproductive life. *Reproductive Biomedicine Online*. 8, 246-247.
- Dubest, C., and Pugeat, M. (2005). *Gonadotrophines hypophysaires: physiologie et exploration fonctionnelle*. EMC - Endocrinol. 2, 231–240.
- Ebrahimi, M., and Akbari Asbagh, F. (2011). Pathogenesis and Causes of Premature Ovarian Failure: An Update. *Int. J. Fertil. Steril.* 5, 54–65.
- Ebrahimi, M., and Akbari, F. (2015). The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med* 13, 461–472.
- Ebrahimi, M., and Asbagh, F.A. (2011). Pathogenesis and Causes of Premature Ovarian Failure: An Update. *Int. J. Fertil. Steril.* 5, 54.
- El Zaiat, M. (2015). Cibles et voies de signalisation régulées par FOXL2 au cours de la morphogenèse ovarienne précoce. Thèse de doctorat à l'Université de Paris-Saclay. pp 180.
- Fassnacht, W., Mempel, A., Strowitzki, T., and Vogt, P.H. (2006). Premature ovarian failure (POF) syndrome: towards the molecular clinical analysis of its genetic complexity. *Curr. Med. Chem.* 13, 1397–1410.
- Ferraz-de-Souza, B., Lin, L., and Achermann, J.C. (2011). Steroidogenic factor-1 (SF-1, NR5A1) and human disease. *Mol. Cell. Endocrinol.* 336, 198.
- Fridovich-Keil, J.L., Gubbels, C.S., Spencer, J.B., Sanders, R.D., Land, J.A., and Rubio-Gozalbo, E. (2011). Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia. *J. Inherit. Metab. Dis.* 34, 357–366.
- Gallagher, J.C. (2007). Effect of early menopause on bone mineral density and fractures. *Menopause N. Y. N* 14, 567–571.
- Ganong, W., Barman, S., Boitano, S., and Brooks, H. (2012). *Anatomie fonctionnelle de l'ovaire chez la femme*.

- Goswami, D., and Conway, G.S. (2005). Premature ovarian failure. *Hum. Reprod. Update* 11, 391–410.
- Goyette, P., Pai, A., Milos, R., Frosst, P., Tran, P., Chen, Z., Chan, M., and Rozen, R. (1998). Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm. Genome* 9, 652–656.
- Grodstein, F., Manson, J., Colditz, G., Willett, W., Speise, F., and Stampfer, M. (2000). A prospective observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med.* 133, 933–941.
- Grynberg, M. (2011). Régulation de la croissance folliculaire et de la production d'hormone anti-Müllérienne chez la femme. Thèse de doctorat à l'Université Paris 11. pp 141.
- Guechot, J., and Fiet, J. (2009). Dosage de la testostérone plasmatique : difficultés méthodologiques et intérêt physiopathologique. *Rev. Francoph. Lab.* 51–56.
- Hambaba, L., Abdessemed, S., Yahia, M., Laroui, S., and Rouabah, F. (2008). Relation entre hyperhomocystéinémie et polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population algérienne saine. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 66, 637–641.
- He, M., Shu, J., Xing Huang, and Tang, H. (2014). Association between estrogen receptor gene (ESR1) PvuII (T/C) and XbaI (A/G) polymorphisms and premature ovarian failure risk: evidence from a meta-analysis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 32, 297–304.
- Herbomez, M. (2014). Hormone thyroïdienne (TSH). *Biol. Médicale.* 41, 1-6.
- Hugon-Rodin, J., and Christin-Maitre, S. (2012). Chapitre 7 - Insuffisance ovarienne prématurée. *Endocrinologie En Gynécologie et Obstétrique*, (Elsevier Masson).
- Jerbi, Z., Abdennebi, M., Douik, H., Ben Romdhane, H., Harzallah, L., Guemira, F., and Ghanem, A. (2005). Étude du polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne. *Ann Biol Clin* 63, 487–491.
- Jiao, X., Qin, Y., Li, G., Zhao, S., You, L., Ma, J., Simpson, J.L., and Chen, Z.-J. (2013). Novel NR5A1 Missense Mutation in Premature Ovarian Failure: Detection in Han Chinese Indicates Causation in Different Ethnic Groups. *PLoS ONE* 8, 1-6.

- Jin, H., Won, M., Park, S.E., Lee, S., Park, M., and Bae, J. (2016). FOXL2 Is an Essential Activator of SF-1-Induced Transcriptional Regulation of Anti-Müllerian Hormone in Human Granulosa Cells. *PLoS ONE* 11, 1-13.
- Kalantaridou, S.N., and Nelson, L.M. (2000). Premature ovarian failure is not premature menopause. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 900, 393–402.
- Kalantaridou, S.N., Calis, K.A., Mazer, N.A., Godoy, H., and Nelson, L.M. (2005). A pilot study of an investigational testosterone transdermal patch system in young women with spontaneous premature ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 6549–6552.
- Van Kasteren, Y.M., Hundscheid, R.D.L., Smits, A.P.T., Cremers, F.P.M., van Zonneveld, P., and Braat, D.D.M. (1999). Familial idiopathic premature ovarian failure: an overrated and underestimated genetic disease? *Hum. Reprod.* 14, 2455–2459.
- Kauffman, R.P., and Castracane, V.D. (2003). Premature ovarian failure associated with autoimmune polyglandular syndrome: pathophysiological mechanisms and future fertility. *J. WomensHealth* 2002 12, 513–520.
- Kierszenbaum, A.L. (2006). *Histologie et biologie cellulaire: Une introduction à l'anatomie pathologique* (De Boeck Supérieur).
- Kolibianakis, E.M., Papanikolaou, E.G., Fatemi, H.M., and Devroey, P. (2005). Estrogen and folliculogenesis: is one necessary for the other? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 17, 249–253.
- Lacombe, M. (2015). *L'abrégé d'anatomie et de physiologie humaine* (Lamarre).
- Lacombe, A., Lee, H., Zahed, L., Choucair, M., Muller, J.-M., Nelson, S.F., Salameh, W., and Vilain, E. (2006). Disruption of POF1B Binding to Nonmuscle Actin Filaments Is Associated with Premature Ovarian Failure. *Am. J. Hum. Genet.* 79, 113–119.
- Lakhal, B., Laissue, P., Elghèzal, H., and Fellous, M. (2008). Analyse génétique des insuffisances ovariennes prématurées : implication des gènes forkhead et TGF- β . *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 36, 862–871.
- Le Coz, S. (2014). *Traitements actuels de l'infertilité e vue d'une procréation médicalement assistée*. Thèse de doctorat à l'Université de Nantes UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. pp 144.

Letur, H., Martin-Pont, B., and Fénichel, P. (2004). Grossesses spontanées et ménopause précoce. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 32, 748–755.

Letur-Könirsch, H., Raoul-Duval, A., Cabau, A., Bomsel-Helmreich, O., al Mufti, W., and Homo-Delarche, F. (1995). Stress and premature menopause. *C. R. Acad. Sci. III* 318, 691–698.

Luoma, P., Melberg, A., Rinne, J.O., Kaukonen, J.A., Nupponen, N.N., Chalmers, R.M., Oldfors, A., Rautakorpi, I., Peltonen, L., Majamaa, K., et al. (2004). Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase gamma mutations: clinical and molecular genetic study. *Lancet Lond. Engl.* 364, 875–882.

Marieb, E.N. (2005). *Anatomie et physiologie humaines* (Pearson Education France).

Marieb, E.N. (2008). *Principes d’anatomie et de physiologie* (Pearson Education France).

Marieb, E., and Hoehn, K. (2014). *Anatomie et physiologie humaines* (Pearson Education France).

Martinerie, L., Bouvattier, C., and Lombes, M. (2009). SF-1, un acteur majeur de la différenciation surrénalienne et sexuelle : implications dans les dysgénésies gonadiques et l’insuffisance ovarienne prématurée. *Ann. Endocrinol.* 70, S26–S32.

Massin, N., Méduri, G., Bachelot, A., Misrahi, M., Kuttann, F., and Touraine, P. (2008). Evaluation of different markers of the ovarian reserve in patients presenting with premature ovarian failure. *Mol. Cell. Endocrinol.* 282, 95–100.

McClung, M.R. (2005). The relationship between bone mineral density and fracture risk. *Curr. Osteoporos. Rep.* 3, 57–63.

Méduri, G., Méduri, G., Bachelot, A., Misrahi, M., Kuttann, F., and Touraine, F. (2007). Evaluation of Different Markers of the Ovarian Reserve in Patients Presenting With Premature Ovarian Failure. *Mol Cell Endocrinol* 282, 95–100.

Merviel, P., Cabry, R., Brzakowski, M., Dupond, S., Boulard, V., Lourdel, E., and Sevestre, H. (2010). Cycle menstruel. *Gynécologie II*, 1–16.

Mishra, G., Pandeya, N., Dobson, A.J., Chung, H., Anderson, D., Kuh, D., Sandin, S., Giles, G., Bruinsma, F., Hayashi, K., et al. (2017). Early menarche, nulliparity and the risk for premature and early natural menopause. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 32, 679–686.

- Monnier-Barbarino, P., and Forges, T. (juin2002). Les bases génétiques de la défaillance ovarienne prématurée. *J. Gynecol. Obstet. Bio. Rep.* 31, 333–342.
- Nicolas, C., Bachelot, A., and Touraine, P. (2015). Dépistage, bilan et pronostic de l'insuffisance ovarienne prématurée.
- Ohl, J., Partisani, M., Demangeat, C., Binder-Foucard, F., Nisand, I., and Lang, J.-M. (2010). [Alterations of ovarian reserve tests in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-infected women]. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 38, 313–317.
- Okeke, T.C., Anyaehie, U.B., and Ezenyeaku, C.C. (2013). Premature Menopause. *Ann. Med. Health Sci. Res.* 3, 90.
- Orsini, J.-C., and Pellet, J. (2005). Introduction biologique à la psychologie (Bréal).
- Panda, B., Rao, L., Tosh, D., Dixit, H., Padmalatha, V., Kanakavalli, M., Raseswari, T., Deenadayal, M., Gupta, N., Chakrabarty, B., et al. (2011). Germline study of AR gene of Indian women with ovarian failure. *Gynecol. Endocrinol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Endocrinol.* 27, 572–578.
- Patiño, L.C., Walton, K.L., Mueller, T.D., Johnson, K.E., Stocker, W., Richani, D., Agapiou, D., Gilchrist, R.B., Laissue, P., and Harrison, C.A. (2017). BMP15 Mutations Associated With Primary Ovarian Insufficiency Reduce Expression, Activity, or Synergy With GDF9. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 102, 1009–1019.
- Pellegrini, V.A., Nelson, L.M., Calis, K.A., Talavera, F., and Barnes, A.D. (2016). Ovarian Insufficiency: Background, Pathophysiology, Spontaneous Primary Ovarian Insufficiency.
- Persani, L., Rossetti, R., and Cacciatore, C. (2010). Genes involved in human premature ovarian failure. *J. Mol. Endocrinol.* 45, 257–279.
- Persani, L., Rossetti, R., Cacciatore, C., and Fabre, S. (2011). Genetic defects of ovarian TGF- β -like factors and premature ovarian failure. *J. Endocrinol. Invest.* 34, 244–251.
- Pienkowski, C. (2009). Le syndrome de Turner (Springer Science & Business Media).
- Prueitt, R., Chen, H., Barnes, R., and Zinn, A. (2002). Most X;autosome translocations associated with premature ovarian failure do not interrupt X-linked genes. *Cytogenet. Genome Res.* 97, 32–38.

- Prueitt, R.L., Ross, J.L., and Zinn, A.R. (2000). Physical mapping of nine Xq translocation breakpoints and identification of XPNPEP2 as a premature ovarian failure candidate gene. *Cytogenet. Genome Res.* 89, 44–50.
- Rabe, T. (1997). *MémentoGynécologie* (Maloine).
- Ragmoun, H., et Djellali-Zemni, S. (2006). Particularités de l'insuffisance ovarienne prématurée en Tunisie.
- Rah, H., Jeon, Y.J., Choi, Y., Shim, S.H., Yoon, T.K., Choi, D.H., Cha, S.H., and Kim, N.K. (2012). Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677C>T) and thymidylate synthase (TSER and TS 1494del6) polymorphisms with premature ovarian failure in Korean women. *Menopause N. Y. N* 19, 1260–1266.
- Rege, G., Foidart, J.-M., Nisolle, M., Pintiaux, A., and Beliard, A. (2012). Insuffisance ovarienne prématurée : de la génétique à la clinique. *Rev Med Liège* 67, 413–419.
- Reyss, A.-C., Christin-Maitre, S., Fellous, M., De Baere, E., Dewailly, D., Pugeat, M., and Bouchard, P. (2005). P096 - Le blépharophimosis-ptosis-epicanthus inversus syndrome (BPES) : quatre mutations du gène FOXL2 responsables d'une insuffisance ovarienne prématurée progressive. *Ann. Endocrinol.* 66, 443.
- Rihaoui, S., Bessueille, E., Anahory, T., Reyftmann, L., Dechaud, H., and Hamamah, S. (2007). Menstruations normales. *Gynécologie* 7, 1–7.
- Robin, G., Ferte-Delbende, C., Proust-Richard, C., Karouz, W., Dewailly, D., and Catteau-Jonard, S. (2012). Infertilités féminines d'origine endocrinienne. *EMC - Gynécologie* 7, 1–26.
- Rocca, W., Bower, J., Maraganore, D., Ahlskog, J., Grossardt, B., De Andrade, M., and Melton, L. (2007). Risque accru d'atteinte cognitive ou de démence chez les femmes qui ont subi une ooforectomie avant la ménopause. *69*, 1074–1083.
- Rocca, W., Grossardt, B., Miller, V., Shuster, L., and Brown RD, J. (2012). Premature menopause or early menopause and risk of ischemic stroke. *Menopause.* 19, 272–277.
- S. Christin-Maitre, Pasquier, M., Donadille, B., and Bouchard, P. (2006). L'insuffisance ovarienne prématurée *Ann. Endocrinol* 67, 557-566.
- Saint-Dizier, M., and Chastant-Maillard, S. (2014). *La reproduction animale et humaine* (Editions Quae).

Santoro, N.F., and Cooper, A.R. (2016). Primary Ovarian Insufficiency: A Clinical Guide to Early Menopause (Springer).

Shelling, A.N. (2010). Premature ovarian failure. *Reproduction* 140, 633–641.

Skalba, P., Cyga, A., and Gierzyńska, Z. (2010). A case of premature ovarian failure (POF) in a 31-year-old woman with a 47,XXX karyotype. *Pol. J. Endocrinol.* 61, 217–219.

Sklar, C. (2005). Maintenance of ovarian function and risk of premature menopause related to cancer treatment. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 25–27.

Strauss, J.F., and Barbieri, R.L. (2013). Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology (Elsevier Health Sciences).

Sullivan, S.D., Sarrel, P.M., and Nelson, L.M. (2016). Hormone replacement therapy in young women with primary ovarian insufficiency and early menopause. *Fertil. Steril.* 106, 1588–1599.

Suzumori, N., Yan, C., Matzuk, M.M., and Rajkovic, A. (2002). Nobox is a homeobox-encoding gene preferentially expressed in primordial and growing oocytes. *Mech. Dev.* 111, 137–141.

Talon, C. (2013). Prise en charge optimale en assistance medicale a la procréation des patientes insuffisantes ovariennes prématurées débutantes au CHU d'Angers. Thèse de doctorat. Université d'Angers. pp 75.

Thibault, C., and Levasseur, M.-C. (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme (Editions Quae).

Tortora, G.J., and Derrickson, B. (2016). Manuel d'anatomie et de physiologie humaines (De Boeck Supérieur).

Vasseur, C., Christin-Maitre, S., and Bouchard, B. (1999). Physiopathologie de l'insuffisance ovarienne prématurée : faits et perspectives. *15*, 204–211.

Vegetti, W., Grazia Tibiletti, M., Testa, G., de Lauretis Yankowski, N., Alagna, F., Castoldi, E., Taborelli, M., Motta, T., Bolis, P.F., Dalprà, L., et al. (1998). Inheritance in idiopathic premature ovarian failure: analysis of 71 cases. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 13, 1796–1800.

Vujović, S., Ivović, M., Tančić-Gajić, M., Marina, L., Barać, M., Arizanović, Z., Nenezić, A., Ivanišević, M., Micić, J., Sajić, S., et al. (2012). Premature Ovarian Failure. *SrpArhCelokLek* 140, 806–811.

Willemsen, R., Levenga, J., and Oostra, B.A. (2011). CGG repeat in the FMR1 gene: size matters. *Clin. Genet.* 80, 214.

Young, J., Gougeon, A., and Schaison, G. (1999). Le cycle ovarien. *Med. Sciences* 15, 183-190.

Zintzaras, E. (2009). Inhibin alpha gene and susceptibility to premature ovarian failure: a data synthesis. *Mol. Hum. Reprod.* 15, 551–555.

Zorn, J.-R., and Savale, M. (2005). *Stérilité du couple* (Elsevier Masson).

Sites web :

www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2516.

Les annexes

Annexe 1: Syndromes associés à l'IOP

Syndrome	Gène candidat d'IOP (symbole)	Locus	Référence
Leucodystrophie ovarienne	Eukaryotic translation initiation factor 2B subunit beta (EIF2B2) , EIF3B4, EIF2B5	14q24.3, 2p23.3, 3q27	(Santoro et Cooper, 2016)
L'anémie de fanconi	Fanconi'sanemiacomplementation groups (FA)	Mutations plus répondues en 16q24.3, Xq22.31, 9q22.3	(Santoro et Cooper, 2016)
Pseudohypoparathyroïdism type 1A	GNAS	20q13.32	(Rossetti <i>et al.</i> , 2017)
Symphalangisme	Noggin (NOG)	17q22	(Goswami et Conway, 2005)
Retard de croissance, alopecie, pseudoanodontie et atrophie optique	Anthrax toxinreceptor 1 (ANTXR1)	2p13.3	(Benetti-Pinto <i>et al.</i> , 2016)
Werner's	Werner syndrome RecQ likehelicase (WRN)	8p12	(Santoro et Cooper, 2016)
Hyperplasie surrénale congenital lipoïde	steroidogenic acute regulatory protein (STAR)	8p11.2	(Santoro et Cooper, 2016)

Annexe 2 : Gènes pouvant être impliqués dans l'IOP

Gène (symbole)	Locus	Référence
Spermatogenesis and ovogenesis specific basic helix-loop-helix (SOHLH1)	9q34.3	(Zhao <i>et al.</i> , 2015)
Lim homebox 8 (LHX8)	1p13.1	(Qin <i>et al.</i> , 2008)
DNA repair associated (BRCA1)	17q21	(Santoro et Cooper, 2016)
Forkhead box O3a (FOXO1a)	13q14	(Watkins <i>et al.</i> , 2006)
C-X-C motif chemokine ligand 12 (CXCL12)	10q11.1	(Pouresmaeili et Fazeli, 2014)
Nanos C2HC-type zinc finger 3 (NANOS3)	19p13.12	(Qin <i>et al.</i> , 2007)

Annexe 3 : Questionnaire

Fiche de renseignements

Médecin traitant :.....

Données relatives aux patientes

Numéro de dossier :.....

Nom :.....

Prénom :.....

Age :.....ans

Situation familiale : Mariée Célibataire

Avec enfant (s) Nb d'enfants

Sans enfant

Poids :.....Kg

Taille :.....Cm

Adresse :.....

Origine :.....

N ° Tél :.....

Données sur le mode de vie et les facteurs de risque

Tabagisme : Oui Non Nb de cig/jr Nb de cig/se

Autre tabac : Oui Non ; Type :.....

Alcool : Oui Non

Drogue : Oui Non

Alimentation riche en : Graisse Protéine

Produits laitiers ; types :.....

Lieu d'habitat :

Examens cliniques

Age du diagnostic de la MP :ans.

Age de la ménarche :ans.

Nb de grossesses normales Nb de grossesses arrêtées

Nb de fausses couches spontanées Pas de grossesses

Ovariectomie : Oui Non

- Si oui : Unilatérale bilatérale

➤ Signes cliniques :

Cycles menstruels avant le diagnostic : réguliers irréguliers

- Si irréguliers : oligoménorrhé polyménorrhée Métorragie

Bouffées de chaleur

Pseudocycsis

Sueurs nocturnes

Atrophie vaginale

Insomnie

Dyspareunie

Anxiété

Sécheresse vaginale

Trouble de l'humeur

Asthénie

Palpitations

Dysurie

Manque de concentration

Douleurs articulaires

➤ Pathologies associées :

Cancer de l'ovaire : Oui Non

- Traitement par radiothérapie
- Traitement par chimiothérapie

Cancer du sein

L'hypothyroïdie

Cancer de l'utérus

L'hyperparathyroïdie

Maladie de Basedow

Le diabète ; Type :....

Lupus

Ostéoporose

Myasthénie

Maladie cardiovasculaire

Maladie de crohn

Maladie de parkinson

Polyarthrite rhumatoïde

Maladie d'Alzheimer

Insuffisance surrénalienne

La varicelle

La tuberculose pelvienne

VIH

L'APS (Auto-immune Polyendocrinopathy –Syndrome)

➤ **Traitements :**

Traitement hormonal substitutif (THS) : Oui Non

- Si Oui : Durée du traitement :
- Types de médicaments :

Traitement symptomatique : Oui Non ; Type de médicaments :

.....

Bilan biologique

FSH =UI /l.

LH =UI /l.

E2 =pg/ml.

Progesterone =ng/ml.

Prolactine =ng/ml.

Inhibin =pg/ml.

AMH = ng/ml.

Téstosterone =ng/ml.

TSH =µUI/l.

Rapport:

.....

.....

➤ **Maladies génétiques:**

- Syndrome de Turner
- Galactosémie
- Ataxie télangiectasie
- Syndrome de l’X fragile
- Syndrome de Perrault
- Syndrome de Blépharophimosis-Ptois-Epicanthus (BPES)
- D’autres syndromes :

➤ **Antécédents familiaux :** Oui Non

- si Oui : 1 degré
 Et/ou 2 degré

Annexe 4 : Formulaire de consentement de participation à une étude de recherche

Je soussignée :..... déclare avoir été clairement informée par le Dr :.....concernant l'étude qui sera réalisée à partir :

Du prélèvement qui m'a été effectué ; le :.....

Je donne mon consentement pour la participation à cette étude je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations, permettant la compréhension de cet acte biologique et sa finalité.

- Je souhaite que les résultats puissent m'être communiqués :

Oui Non

Signature du patient

.....

signature du chercheur

.....

signature du médecin

.....

Annexe 5 : Méthode d'extraction de l'ADN au NaCl

1. Isolement des leucocytes à partir du sang total :

- Dans un tube Flacon de 50 ml, mettre le sang (5 ml) et compléter à 25 ml avec du Tris EDTA (TE) 20 : 5,
- Laisser au congélateur pendant 10 min à -18 C°,
- Centrifuger pendant 10 min à 3900 tours/min,
- Déverser prudemment le surnageant afin de conserver le culot leucocytaire au fond de
- Ajouter au culot le TE20 : 5 jusqu'à 25 ml,
- Laisser au congélateur pendant 10 min à -18 C°,
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes,
- Déverser prudemment le surnageant et garder le culot leucocytaire obtenu.

NB : si on veut s'arrêter à ce niveau, on met le culot de leucocytes obtenu dans un tube nunc (eppendorf) de 15 ml avec du TE 10 :1 et le conserver à -20 C° pendant plus d'un an pour une extraction ultérieure.

2. Lyse des leucocytes, digestion des protéines associées à l'ADN et sa libération :

- Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml,
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH 8,2) en dilacérant le culot avec une pastille stérile,
- Ajouter 200 µl du détergent anionique SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) à 10%, permettant la lyse des leucocytes, l'inhibition des nucléases, la dénaturation des protéines et l'activation de la protéinase K,
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml, qui digérera les protéines associées à l'ADN, afin de permettre sa libération,
- Placer les tubes sous agitation pendant une nuit à 37 C°,
- Mettre, le lendemain, les tubes au congélateur pendant 10 min à -18 C° pour refroidir leurs contenus.

3. Extraction et purification de l'ADN :

- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main,
- Laisser au congélateur pendant 5 min à 18 C° afin d'accélérer la précipitation des protéines,
- Centrifuger pendant 15 min à 2500 tours/min,

4. Précipitation de l'ADN :

- Transvaser le surnageant dans un tube Flacon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme (laisser éventuellement pendant 30 min à -20 C° si la pelote ne se forme pas),
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70 % dans un tube nunc stérile.

5. Solubilisation de l'ADN pur :

- Ajouter entre 300 à 1000µl d'eau distillée selon la grosseur de la pelote d'ADN et la concentration souhaitée,
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à +4°C jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

Résumé

L'insuffisance ovarienne prématurée est une cessation de la fonction ovarienne avant l'âge de 40 ans. Elle se caractérise par l'apparition d'une aménorrhée secondaire de plus de 4 mois avec des taux de FSH élevés (supérieur à 40 UI/l) et des niveaux d'E2 faibles et d'AMH faibles voire indétectables. C'est une pathologie qui touche une femme sur 10.000 âgées de moins de 20 ans, une femme sur 1000 âgées de moins de 30 ans et une femme sur 100 âgées de moins de 40 ans.

Les causes génétiques de l'insuffisance ovarienne prématurée deviennent de plus en plus importantes. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à la présentation des gènes impliqués dans la survenue de l'insuffisance ovarienne prématurée, dont plus de 40 gènes ont été identifiés.

Notre travail de recherche a également pour objectif d'établir la relation entre le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* ainsi que du polymorphisme T3801C du gène *CYP11A1* et l'insuffisance ovarienne prématurée.

Néanmoins, les circonstances ne nous ont pas permis d'effectuer le prélèvement sanguin des 10 patientes recrutées du fait qu'il s'agit d'une maladie qui présente un impact significatif sur le psychique de la femme que sur son physique.

Mots clés : insuffisance ovarienne prématurée, ménopause précoce, hypogonadisme hypergonadotrope, gènes, polymorphisme, C677T, MTHFR, T3801C, CYP11A1.

Summary

Premature ovarian failure is a cessation of ovarian function before the age of 40. It is characterized by the occurrence of secondary amenorrhea of more than 4 months with high FSH levels (greater than 40 IU / l) and low E2 levels and weak or even undetectable AMH. It affects one in every 10,000 women under the age of 20, one in every 1,000 women under the age of 30 and one in every 100 women under the age of 40.

The genetic causes of premature ovarian failure are becoming increasingly important. In this context, we are interested in the presentation of the genes involved in the onset of premature ovarian failure, of which more than 40 genes have been identified.

Our research also aims to establish the relationship between the polymorphism C677T of the *MTHFR* gene as well as the polymorphism T3801C of the *CYP11A1* gene with the occurrence of premature ovarian failure. Nevertheless, circumstances prevented us from taking the blood of the 10 recruited patients because it is a disease that has a significant impact on the woman's psychic rather than on her physique.

Key words: premature ovarian failure, early menopause, hypergonadotropic hypogonadism, genes, polymorphism, C677T, *MTHFR*, T3801C, *CYP11A1*.

ملخص

الفشل المبيضي المبكر هو توقف وظيفة المبيض قبل سن 40 عاما. يتميز بظهور انقطاع الطمث الثانوي لأكثر من 4 أشهر مع ارتفاع مستويات FSH (أكبر من 40 وحدة دولية / لتر) وانخفاض مستويات E2 و AMH منخفض أو غير قابل للكشف. بل هو مرض يؤثر على امرأة واحدة في 10000 قبل أعمارهم عن 20 عاما، امرأة واحدة في 1000 دون سن 30 وامرأة واحدة في 100 من النساء الذين تقل أعمارهم عن 40 عاما. أصبحت الأسباب الوراثية لفشل المبيض المبكر أهمية متزايدة. وفي هذا السياق نحن مهتمون في عرض الجينات المسؤولة عن حدوث الفشل المبيضي المبكر، وقد تم تحديد أكثر من 40 مورثة. ويهدف بحثنا أيضا إلى إقامة علاقة بين تعدد الأشكال MTHFR du C677T بالإضافة الى تعدد الأشكال T3801C du CYP1A1 و حدوث الفشل المبيضي المبكر. ومع ذلك، فإن الظروف لم تسمح لنا بإجراء عينة دم 10 مرضى المسجلين وذلك بفعل أنه مرض ذو تأثير كبير على نفسية المرأة أكثر من لياقتها البدنية.

الكلمات المفتاحية: الفشل المبيضي المبكر، انقطاع الطمث المبكر، قصور الغدد التناسلية وارتفاع حاد في الجونادوتروبين، الجينات، وتعدد الأشكال، C677T، MTHFR، T3801C، CYP1A1

INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE : FACTEURS DE RISQUE ET GÈNES DE SUSCEPTIBILITÉ

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé

L'insuffisance ovarienne prématurée est une cessation de la fonction ovarienne avant l'âge de 40 ans. Elle se caractérise par l'apparition d'une aménorrhée secondaire de plus de 4 mois avec des taux de FSH élevés (supérieur à 40 UI/l) et des niveaux d'E2 faibles et d'AMH faibles voire indétectables. C'est une pathologie qui touche une femme sur 10.000 âgées de moins de 20 ans, une femme sur 1000 âgées de moins de 30 ans et une femme sur 100 âgées de moins de 40 ans. Les causes génétiques de l'insuffisance ovariennes prématurée deviennent de plus en plus importantes. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à la présentation des gènes impliqués dans la survenue de l'insuffisance ovarienne prématurée, dont plus de 40 gènes ont été identifiés.

Notre travail de recherche a également pour objectif d'établir la relation entre le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* ainsi que du polymorphisme T3801C du gène *CYP11A1* et la survenue l'insuffisance ovarienne prématurée. Néanmoins, les circonstances ne nous ont pas permis d'effectuer le prélèvement sanguin des 10 patientes recrutées du fait qu'il s'agit d'une maladie qui présente un impact significatif sur le psychique de la femme que sur son physique.

Mots clés : insuffisance ovarienne prématurée, ménopause précoce, hypogonadisme hypergonadotrope, gènes, polymorphisme, C677T, MTHFR, T3801C, CYP11A1.

Laboratoire de recherche : laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université Constantine 3 et laboratoire de biologie moléculaire – Faculté SNV – Constantine 1.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme. SATTI Dalila*

Pr - UFM Constantine 1

Rapporteur : *Mme. REZGOUNE-CHELLAT Djalila*

MCA - UFM Constantine 1

Examineur : *Mme. BENHIZIA Hayet*

MCB - UFM Constantine 1

Date de soutenance : 04/07/2017