

# 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  
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا الحيوان

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

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

## Intérêt de la recherche du gène SRY dans l'ambiguïté sexuelle

---

Présenté et soutenu par : DIOUANE NADA

Le 15/07/2021

ABBAZ RANIA

BENZARGUINE BATOUL

Jury d'évaluation :

**Présidente : Pr Chaoui Nawel** Professeur- Université des Frères Mentouri, Constantine1

**Encadreur : Pr Sifi Karima** Professeur - Université Salah Boubnider Constantine 3

**Co-encadreur : Dr Ziada Hadia** MCA-Université des Frères Mentouri Constantine1

**Examineur : Dr Sadrati Khadidja** MCA-Université des Frères Mentouri Constantine1

**Année universitaire  
2020 – 2021**



# Remerciements :

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier en premier lieu « **ALLAH** » le bon dieu, le miséricordieux de nous avoir données la force, volonté, et la patience d'avoir achevée cette modeste étude.

Nos remerciements les plus respectueux s'adressent à notre encadreur le Pr **SIFI KARIMA**, professeur en biochimie clinique qui nous a fait l'honneur d'avoir guidé et dirigé cette étude du début jusqu'à la mise en forme de ce document.

Vous nous avez guidées et conseillées tout au long de l'élaboration de ce travail avec la compétence, la disponibilité, l'encouragement et l'extrême gentillesse qui vous caractérise.

Nos remerciements sont également adressés aux membres du jury : Mme **SEDRATI KHADIDJA** et Mme **CHAOUI NAOUAL** d'avoir accepté d'évaluer et de juger notre travail.

Au personnel du laboratoire de biochimie et d'hormonologie du CHU Constantine

Tous nos remerciements pour le bon déroulement de notre stage pratique et en particulier  
Mme **Yassmina Dadsi**

Les maîtres de conférences et les maîtres assistants du département de biologie animale pour leur orientation et leurs conseils éclairés durant les trois années d'étude.

Enfin nous adressons nos plus sincères remerciements à toutes les personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Merci à toutes et à tous.

# DEDICACES



Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif.

C'est avec amour, respect et gratitude que je dédie cette thèse :

**TOUT D'ABORD à ALLAH** *le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail*

**A ma très chère maman : Tourache Ghaniya** : je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens envers une mère exceptionnelle dont j'ai la fierté d'être la fille.

En ce jour j'espère avoir réalisé chère mère et douce créature un de tes rêves, sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donnée.

**A mon très cher père : Diouane Massoud**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices consentis à mon instruction et mon bien être.

**A mes sœurs : HADJER et HALLA**

Ces quelques lignes ne sauraient suffire pour vous exprimer mon profond amour et l'immense reconnaissance pour tout le courage et le sacrifice dont vous avez fait preuve.

**A mon frère : DJABER**

Nulle dédicace ne saurait exprimer mon estime et mon profond amour, vos sacrifices inoubliables, vos encouragements tout au long de ma carrière m'ont permis de concrétiser mes objectifs.

**A mes nièces : RANIM et ELINE**

**A mes beau-frères : KHIRE EL DINE et SALAH**

**A ma belle-sœur : AMIRA**

**A ma cousine : RAYANE** je n'oublie pas ton aide et tes conseils et le courage que tu m'as donnée, je te remercie beaucoup.

**A mes amies : NOUSSAIBA** tu es pour moi une sœur et non pas une amie, **Rym et INESS**

**A mon binôme : RANIA et BATOUL**, le travaille avec vous est super.

**NADA DIOUANE**

# DEDICACES



*Je dédie ce mémoire*

*A mes parents, « **Noura et Ayache** » que mon Seigneur m'a commandé de leur obéir et d'être bon envers eux, pour la raison de mon succès et de mon bonheur dans ce monde et dans l'au-delà. Vous êtes mon cœur qui bat ; que dieu vous garde à nous.*

*Dans ma vie, les gens ont laissé une empreinte d'une grande importance, une bonne empreinte, une empreinte héroïque, malgré leur vie simple, et leur empreinte ne sera pas oubliée. Merci mes frères « **Khaled, Seif Eddine et Ishak** », je vous aime tellement.*

*A ma sœur, ma deuxième mère « **Lamia** », Une belle âme, une âme pure, un cœur blanc et une haute moralité, je l'appelle ma sœur.*

*A ma belle nièce, « **Bissane** » je t'aime, que Dieu te protège et prenne soin de toi.*

*Au mari de ma sœur, « **Med El Amine** » merci pour tout ce que vous avez fait, que Dieu vous protège.*

*Je remercie le cœur pur qui me guide toujours avec sécurité, je remercie celui dont le cœur m'embrasse encore et me guide dans le don, l'amour et le sacrifice, merci « **Salah Eddine** ».*

*A la meilleure école « **KAID SCHOOL** » Je vous adresse mes plus hautes expressions d'amour, d'appréciation et de gratitude pour tout ce que vous avez fourni pendant mon mandat dans cette institution. Merci pour votre soutien continu. Je suis honoré de vous exprimer mes sincères remerciements et je vous ai toujours confié avec sincérité, dévouement et diligence, merci « **Kaid Lamine, Sabrina et Nour El Houda** ».*

*A mon binôme : **NADA** et **BATOUL** le travaille avec vous est super.*

**ABBAZ RANIA**

# DEDICACES



*Grace à Dieu et avec Dieu, j'ai pu dépasser tous les obstacles vécus lors de mon projet. Voilà mes larmes qui descendent sans arrêt, elles témoignent de la joie d'avoir terminé mes études mais aussi de la tristesse d'avoir à quitter mes amies et mes enseignants.*

*En un clin d'œil, cinq ans se sont écoulés et aujourd'hui, je récolte le fruit de ma fatigue, mes angoisses et ma peur, et je dit à dieu et à tous ceux qui m'ont connues le bonheur de la réussite aide à oublier toutes nos douleurs.*

*Merci au bon dieu qui m'a aidé à compléter ce mémoire qui est le résultat et le fruit des efforts et des nuits et des veillées.*

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A ma chère maman et mon chère papa : CHAHRAZED BENMERADJI et SALEH BENZERGUINE, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect comme disait Allah : « وقل رب ارحمهما كما ربياني صغيرا ».*

*A mes chères frères AISSA et MOUSSA qui n'ont pas cessé de me conseiller, encouragé, et soutenu tout au long de mes études, que dieu les protège et leurs offre La chance et le bonheur.*

*A mon adorable sœur Sara et sa petite famille : 'AMAR et leurs enfants : ANES Et SIRINE'' qui sait toujours comment procurer la joie pour toute la famille.*

*A toute la famille BENZERGUINE et BENMERADJI et surtout ma tante KHADIDJA BENMERADJI et la femme de mon oncle ROFIA SALIHA BENKESOUL que J'aime énormément.*

*A mes cousins et mes cousines : 'KHAOULA et RAMY et TASNIM et IMEN'', et mon Amie CHAIMA, qui ont partagé avec moi les moments les plus difficiles.*

*A mon encadreur le professeur SIFI KARIMA que je remercie beaucoup, sans oublier Mon Binômes DIOUANE NADA et ABBAZ RANIA pour leur soutien moral et Leur compréhension tout au long du projet.*

*Je vous dédie mon projet de fin d'étude intitulé « intérêt de la recherche du gène SRY dans l'ambiguïté sexuelle » que dieu puisse nous donner santé, courage, bonheur, et surtout la réussite.*

*A la fin je souhaite que ce précieux travail soit bénéfique et utile aux étudiants  
stagiaires  
Qui vont venir après.  
Merci  
BENZERGUINE BATOUL*

## **Table de matières**

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux.....	iii
Introduction.....	1
I. Définition.....	3
II. Historique.....	3
III. Embryologie et physiologie de la différenciation sexuelle .....	5
III.1. Organogenèse génitale.....	5
III.1.1. Formation des gonades.....	5
III.1.2. Evolution des gonades.....	5
III.1.3. Evolution de l'appareil copulatoire.....	7
III.2. Physiologie de la différenciation sexuelle.....	8
III.2.1. Le sexe génétique ou chromosomique.....	8
III.2.2. Le sexe gonadique et évolution des gonades.....	9
III.3. Le sexe phénotypique ou somatique.....	10
III.3.1. Tractus génital .....	10
III.3.2. Organes génitaux externes.....	16
IV. Les différents gènes intervenant dans le déterminisme du sexe.....	18
IV. 1. Les gènes impliqués dans le déterminisme de l'ovaire.....	18
IV.2. Les gènes impliqués dans le déterminisme testiculaire et principalement le Gène	

SRY .....	19
IV.2.1. Le gène SRY.....	20
IV.2.1. La découverte du gène SRY .....	21
IV.2.2. Organisation du gène SRY.....	21
IV.2.3. Expression du SRY .....	21
IV.2.4. La protéine SRY.....	22
IVI.2.5. Régulation de l'expression du gène SRY.....	22
IVI.2.6. Mécanismes d'action du gène SRY.....	23
IV.2.7. Les mutations de SRY.....	23
IV.2.4. Les autres gènes du déterminisme du sexe .....	24
V. Les anomalies de la différenciation sexuelle.....	25
V.1.Dysgénésies gonadiques.....	25
V.1.1. Mise au point sur les dysgénésies gonadiques « pures » et « mixtes ».....	25
V.1.2. Dysgénésie gonadique pure XX.....	26
V.1.3. Dysgénésie gonadique XO ou syndrome de Turner.....	27
V.1.4. Dysgénésies gonadiques XY.....	27
V.1.5. Mâles XX.....	27
V.1.6. Hermaphrodismes vrais.....	27
V.1.7. Syndrome de Klinefelter.....	28
V.2. Pseudohermaphrodismes.....	28
V.2.1. Pseudohermaphrodismes masculins.....	28
V.2.2. Pseudohermaphrodismes féminins.....	29
VI. Exploration et démarche diagnostique devant une ambiguïté sexuelle.....	30
VI.1. Démarche diagnostique devant une ambiguïté sexuelle en post natal.....	30
VI.1.1. Interrogatoire.....	30
VI.1.1.1. Antécédents familiaux .....	30

VI.1.1.2. Antécédents obstétricaux .....	30
VI.1.2. Examen clinique à la naissance.....	31
VI.1.2.1. Le bourgeon génital .....	31
VI.1.2.2. Les bourrelets génitaux.....	32
VI.1 .2.3.Sinus uro-génital(UG).....	32

VI.1.3. Enquête multidisciplinaire spécialisée.....	34
VI.1.3.1. Etude de l'anatomie génitale interne .....	34
VI.1.3.2. Etude génétique .....	41
VI.1.3.3. Explorations endocriniennes .....	42
VI.1.3.3.1. Absence des gonades.....	42
VI.1.3.3.1.1. Hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) .....	42
VI.1.3.3.1.2. Déficit en Aromatase placentaire .....	44
VI.1.3.3.1.3. Excès d'androgènes maternels pouvant être d'origine endogène ou Exogène .....	46
VI.1.3.3.1.4. Autres PHF malformatifs.....	46
VI.1.3.3.2. Une ou deux gonades sont palpables.....	46
VI.1.3.3.2.1. Défaut de synthèse de la testostérone.....	47
VI.1.3.3.2.2. Défaut de la réceptivité de la testostérone .....	48
VI.1.3.3.2.3. Anomalie du récepteur de la LH.....	49
VI.1.3.3.2.4. Déficit en hormone antimüllérienne.....	50
VI.1.3.3.2.5. Dysgénésies testiculaires bilatérales.....	51
VI.1.3.3.2.6. PHM idiopathiques.....	51
VI.1.3.3.3. Hermaphrodisme vrai (HV) .....	51
V I.2. Diagnostic prénatal.....	52
VI.2.1. Les moyens diagnostiques.....	52
VI.2.1.1. Les prélèvements fœtaux.....	53
VI.2.2. La prise en charge durant la période prénatale.....	53
VII. Le choix du sexe.....	53
VIII. Législation et ambiguïté sexuel.....	55
IX. Traitement .....	55

IX.1. Traitement chirurgical.....	56
IX.2. Traitement hormonal.....	58
IX.1.1. Traitement des blocs surrénaliens .....	58
IX.2. Traitement androgénique.....	58
IX.3. Induction de la puberté chez les filles 46XY.....	59
Partie pratique.....	60
X. Patients et méthodes.....	61
X.1. Patients.....	61
X.1.1. Recrutement des patients : Critères de sélection.....	61
X. 2. Méthodes.....	62
X.2.1. Etude génétique.....	62
X.2.1.1. Extraction D'ADN.....	62
X.2.1.2. Quantification et dilution de l'ADN : Dosage des acides nucléiques.....	65
X.2.1.3. Les critères d'évaluation du procédé d'extraction.....	65
X.2.1.4. PCR du gène SRY.....	66
X.2.1.5. Contrôle par électrophorèse des produits de PCR du gène SRY.....	71
XI. Observation clinique.....	73
XII. Discussion.....	75
Conclusion.....	78
Références Bibliographiques.....	79
Annexes.....	89

---

## Liste des abréviations :

**ACTH** : Hormone AdrénoCorticoTrope

**AMH** : l'hormone AntiMüllérienne

**DAX1** : Dosage-sensitive sex reversal, Adrenal hypoplasia critical region, on chromosome X, gène 1

**DHT**: Dé-Hydro-Testosterone

**FISH** : Hybridation *In Situ* en Fluorescence

**HCS** : Hyperplasie Congénitale des Surrénales

**HCG** : Human Chorionic Gonadotropin

**HMG** : High-Mobility-Group

**HY** : L'antigène d'Histocompatibilité

**KTS** : unité de mesure en navigation maritime et aérienne (Nœud)

**OGE** : Organes Génitaux Externes

**OGI** : Organes Génitaux Internes

**PHF** : PseudoHermaphrodismes Féminins

**PHM** : PseudoHermaphrodisme Masculin

**SF1** : Stéroïdogène Factor 1

**SOX9** : Sry-Related HMG bOX 9

**SRY** : Sex-determining Region of Y chromosome

**T**: Testosterone

**TDF** : Testis Déterminant Factor

**THC**: Tétra-Hydro-Cannabinol

**Wnt4** : Wingless-type MMTV integration site family member-4

**WT1**: Wilms Tumor 1

**ZFY** : Zinc Finger Protein Y-Linked

---

---

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : développement du testicule et l’ovaire .....	6
<b>Figure 02</b> : développement du l’appareil copulatoire (féminin Etmasculin).....	8
<b>Figure 03</b> : l’appareil génital de l’homme .....	11
<b>Figure 04</b> : le testicule .....	11
<b>Figure 05</b> : l’appareil génital de femme .....	14
<b>Figure 06</b> : coupe de l’ovaire .....	14
<b>Figure 07</b> : méat urinaire .....	17
<b>Figure 08</b> : l’appareil génital externe de femme .....	18
<b>Figure 09</b> : mécanisme d’action des androgènes au niveau de leur cellule Cible .....	29
<b>Figure 10</b> : classification de prader .....	33
<b>Figure 11</b> : l’appareil génital féminin .....	34

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Les autres gènes du déterminisme du sexe.....	24
<b>Tableau 02</b> : les éléments en faveur d'un choix féminin ou masculin.....	54
<b>Tableau 03</b> : Les conditions de conservation de l'ADN.....	66
<b>Tableau 04</b> : Amorces utilisées.....	68
<b>Tableau05</b> : Concentration des réactifs de la PCR.....	70
<b>Tableau 06</b> : Composition du mix de la PCR.....	71

---

## *Partie théorique*

## **Introduction**

Depuis l'antiquité, les hommes s'interrogent sur les mécanismes impliqués dans le développement du sexe d'un enfant : mâle ou femelle. La question généralement posée est la suivante : qui détient la supériorité ? La terre qui reçoit la semence ou la semence qui fertilise la terre ? (Badinter E, 1986). Il a longtemps été pensé que la femme n'était qu'un récipient dans lequel l'homme insérait un enfant microscopique pour qu'il s'y développe.

Le sexe représente à l'évidence un déterminant essentiel de l'identité. L'existence de deux sexes est quasi universelle malgré cela ; le mécanisme de la détermination du sexe varie considérablement d'une espèce à un autre (Identité sexuelle et expression de l'identité sexuelle. Commission ontarienne des droits de l'homme).

L'expression de l'identité sexuelle fait référence à la manière dont une personne exprime ouvertement son genre. Cela peut inclure ses comportements et son apparence, comme ses choix vestimentaires, sa coiffure, le port de maquillage, son langage corporel et sa voix. De plus, l'expression de l'identité sexuelle inclut couramment le choix d'un nom et d'un prénom pour se définir (Marro, 1998). Il arrive parfois que le sexe d'une personne ne peut pas être défini. Ces individus ne sont ni homme, ni femme. Heureusement, la venue de la science médicale, de la génétique et de la biologie moléculaire nous a fait faire un bond incroyable dans la compréhension de ce mystère.

On parle d'anomalies de la détermination sexuelle (DSD) ,lorsqu'on est devant l'existence d'une discordance entre le sexe génétique et le sexe gonadique, le sexe biologique et le sexe morphologique. Il s'agit d'un groupe de pathologies complexes. Les anomalies du développement sexuel (disorder of sex developemnt :DSD) touchent environ une naissance sur 10000 (Woodward M, 2010).

Il est très important de dépister une pathologie de la détermination sexuelle dès le premier examen, d'une part, parce que certaines d'entre elles exposent à un risque vital, comme certains blocs de l'hormonogenèse cortico-surrénalienne, et à un syndrome de perte des sels urinaires, d'autre part, toute erreur dans le choix du sexe d'élevage peut avoir des conséquences dramatiques psychologiques et sociales pour le patient et sa famille.

Ainsi, toute suspicion d'une DSD est considérée comme une urgence qui doit conduire, à rechercher une étiologie menaçante sur le plan vital et, et à choisir le sexe

---

d'élevage. Un ensemble d'atteintes dont le degré de gravité et les conséquences sont variables (Kassis M, 2002).

La prise en charge précoce d'une DSD constitue l'un des plus grands challenges entrepris par une équipe multidisciplinaire spécialisée comportant endocrinologue, pédiatre, généticien et du psychologue, et du chirurgien.

La détermination du sexe obéit à une cascade d'évènements et est sous contrôle de plusieurs gènes dont le gène SRY et de nombreuses hormones. Toute faille ou erreur dans ces étapes engendrera une discordance entre les organes génitaux externes visible, internes, et les caractères sexuels secondaires constituant une DSD.

Le caryotype et la recherche du gène SRY sont d'une grande importance pour la précision du sexe d'un enfant présentant une ambiguïté sexuelle. Par conséquent, tout laboratoire possédant un thermocycler et un équipement d'électrophorèse sur gel peut effectuer une recherche moléculaire du gène SRY sur du sang périphérique chez ces patients et de préciser le sexe de l'enfant en 2 à 3 jours.

La rapidité de cette méthode garantit un temps de traitement de l'échantillon beaucoup plus court et plus attrayant pour les cliniciens référents pour éviter toute erreur d'attribution de sexe dans lequel l'enfant sera élevé, erreur dont les conséquences psychologiques et sociales sont très graves pour le patient et sa famille.

Dans ce contexte, nous avons réalisé ce travail dont les objectifs étaient de :

- Décrire les aspects anatomo-cliniques, paracliniques et thérapeutiques des ambiguïtés sexuelles,
- Rechercher le gène SRY chez une famille présentant plusieurs cas d'ambiguïté sexuelle.
- Déterminer le type d'ambiguïté sexuelle présente dans cette famille et sa prise en charge.

## **I. Définition**

L'existence d'une contradiction entre les organes génitaux externes (OGE) qui est la partie initialement visible, les organes génitaux internes (OGI) et les caractères sexuels secondaires constituant ce qu'on appelle : « une ambiguïté sexuelle » qui regroupe un ensemble d'états intersexués de nature et d'intensité variable. Elles correspondent aux atypies congénitales chromosomiques, gonadiques ou anatomiques du développement sexuel.

La contradiction totale entre le sexe génétique et le sexe phénotypique constituant une réversion sexuelle complète ou un hermaphrodisme vrai (M.Alaoui, 2001). Une contradiction entre les organes génitaux externes et les organes génitaux internes donne un pseudohermaphrodisme masculin ou féminin (Khezouz A, 2018).

## **II. Historique**

Le mythe d'hermaphrodite illustre à merveille l'idée d'être homme et femme à la fois. Fils d'hermès et d'Aphrodite, hermaphrodite rencontra la nymphe sal macis qui séduite par sa beauté se jeta dans ses bras priants les dieux de ne jamais les séparer.

Au 4ème siècle avant JC, Aristote suggéra que le sexe était déterminé par la température du male au moment de l'acte sexuel. Aristote a émis l'hypothèse que les femelles sont des males mutilés, dont le développement a été stoppé car la froideur de la matrice a prédominé sur la chaleur de la semence male .Il a défendu que la femme est un homme 'inachevé' justement à cause de sa froideur.

Cinq siècles plus tard. L'anatomiste et médecin Grec Galien mentionna « tout comme l'espèce humaine est la plus parfaite des espèces animales. L'homme est plus parfait que la femme. La raison de cette perfection résidant dans son excès de chaleur. Les organes de reproduction se forment dans le fœtus mais la formation des organes féminins ne se poursuit pas à cause d'un défaut de chaleur nécessaire pour qu'ils se projettent à l'extérieur ».

En 1543, l'anatomiste bruxellois André Vésale considéra que l'hypothèse de Galien concernant la formation des organes génitaux était exacte, mais il osa émettre l'idée que la femme avait le même nombre de côtes que l'homme.

---

Au 17<sup>ème</sup> siècle, grâce aux travaux de Graaf, l'idée que les femmes produisaient des œufs a pu être conçue. Cependant, on ne connaissait pas le rôle exact de ces œufs, ni même des spermatozoïdes dans la constitution du descendant. Il a fallu attendre les travaux du prêtre Spallanzani au 18<sup>ème</sup> siècle pour accepter l'idée de la participation des 2 types de gamètes dans la création d'un nouvel individu.

L'année 1890 amorça un nouveau virage lorsque le biologiste allemand

Herman Henking isola le chromosome X. En 1902, Mc Clung, qui travaillait sur les insectes (Orthoptères et Hémiptères surtout), essaya de montrer que l'environnement n'influe en réalité pas sur le déterminisme du sexe.

En 1905 Nettie M. Stevens et le professeur Edmund B. Wilson, tous deux américains, publièrent des observations similaires : chez certains insectes, le sexe est déterminé par la présence d'un petit chromosome chez le male et d'un grand en l'occurrence X, chez les femelles.

An 1912 Diffenbach, un généticien américain remarqua le caractère héréditaire des troubles. Puis Barr en 1949, définit la chromatine sexuelle.

En 1950, Jost fit d'importants travaux sur le mécanisme de déterminisme des sexes gonophoriques internes et externes.

En 1953, Morris fut le premier à utiliser le terme de féminisation testiculaire. Il rapporta une description détaillée de ce syndrome à propos de 81 cas.

En 1956, Tijo et Levan ont appliqué la méthode de détermination du caryotype.

En 1966, Mauvais et Jarvais réalisèrent d'importants travaux sur la pathogénie du testicule féminisant.

### **III. Embryologie et physiologie de la différenciation sexuelle**

#### **III.1. Organogenèse génitale**

##### **III.1.1. Formation des gonades**

A la fin de la 4<sup>ème</sup> semaine de la vie intra utérine apparaît sur la face antéro-interne du mésonéphros ou rein primitif , un épaissement de l'épithélium cœlomique représentant les crêtes génitales (M.Alaoui,2011). Ces ébauches gonadiques neutres se présentent sous la forme de 2 invaginations longitudinales. La gonade embryonnaire apparaît au cours de la 5<sup>ème</sup> semaine du développement. Elle est constituée d'un élément somatique mésodermique et d'un élément germinal (M. Alaoui, 2011).

A la fin de la 6<sup>ème</sup> semaine, les gonocytes primordiaux vont gagner les crêtes génitales. Leur migration est dirigée par la sécrétion de substances chimiotactiques par les crêtes. De plus, pendant la colonisation des crêtes génitales par les gonocytes, on assiste à la prolifération de l'épithélium cœlomique. Ce qui entraîne la formation des cordons sexuels primitifs en contact avec la surface épithéliale (Bargy F, 2008).

Sous l'influence de nombreux gènes et d'hormones, les tubes séminifères sont visibles à la septième semaine (9SA) et les ovocytes à la huitième (10 SA). Durant cette période, des lésions peuvent survenir soit par un accident de croissance, soit par un dysfonctionnement du processus de développement. À ce stade, la séreuse péritonéale descend jusqu'au niveau des bourrelets génitaux pour former le processus vaginal au long duquel migrera la gonade du fait de la croissance différentielle du pôle caudal (Hani Ghassan Abousalah 2011).

##### **III.1.2. Evolution des gonades**

Bien qu'il s'agisse d'organes distincts (El zaiat, 2015), les voies génitales internes indifférenciées sont identiques quel que soit le sexe et ont une origine embryonnaire commune. Elles sont constituées d'un double système de canaux pairs et symétriques : d'une part les canaux de Wolff et d'autre part les canaux de Muller (M.Alaoui, 2011).

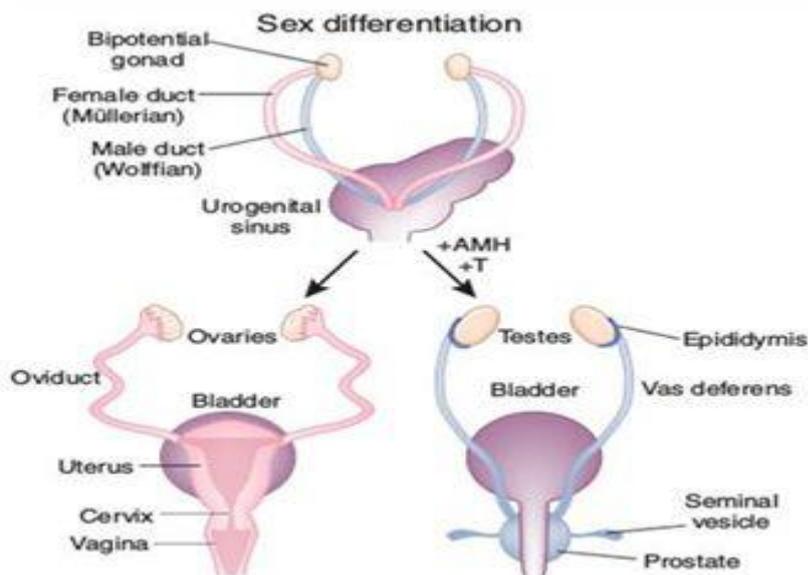
Ces canaux forment les gonoductes. Ils viennent se déverser au niveau du cloaque, formé de l'allantoïde ventralement et de l'intestin caudal dorsalement. Le cloisonnement du cloaque s'effectue progressivement entre la quatrième et la huitième

semaine. Ce qui rapproche les gonoductes de la ligne médiane (Hani Ghassan Abousalah ,2011).

Au 30<sup>ème</sup> jour, apparaissent les bourgeons urétéraux qui sont issus des canaux de Wolff. Ils induiront la formation du rein définitif et seront à l'origine du système excréteur de l'urine (M. Alaoui, 2011).

L'apparition du métanéphros (rein définitif) et la disparition du mésonephros (9-10 SA) laissent au canal mésonephrotique (Wolff) un caractère purement gonoductal chez le mâle. Ces deux systèmes canaux coexistent tant que la différenciation gonadique n'est pas achevée dans tous les embryons.

Entre la huitième et la douzième semaine (10-14 SA), sous une influence hormonale, il est observé la fusion des canaux para-méso-néphrotiques sur la ligne médiane et la régression des canaux méso-néphrotiques dans l'évolution féminine, et la disparition ou transformation des canaux de Müller dans l'évolution masculine. Les trompes, l'utérus et le vagin proviennent de la fusion müllérienne par contre l'appareil vésiculo-déférentiel est d'origine wolffienne (Hani Ghassan Abousalah 2011) (Capucine, 2016).



**Figure 01 : La différenciation sexuelle chez l'être humains (Boudechiche Khadidja, 2015)**

### II.1.3. Evolution de l'appareil copulatoire

Le bourgeon génital, les bourrelets génitaux et les replis génitaux encadrent et limitent un infundibulum génital qui se situe juste au-dessous du sinus urogénital lors du développement du pôle caudal. Au cours du stade indifférencié, la transformation de ces structures se fait en parallèle avec le cloisonnement du cloaque. L'appareil copulatoire effectue sa différenciation masculine ou féminine entre la huitième et la douzième semaine (10-14 SA) (Hani Ghassan Abousalah 2011).

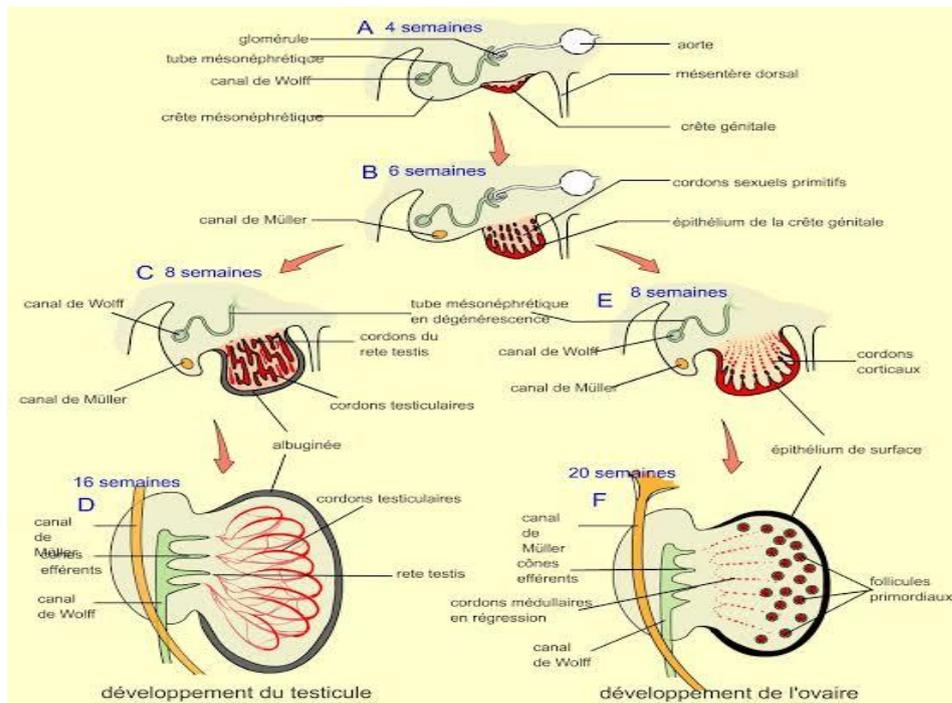
La différenciation des voies génitales externes débute au 3<sup>ème</sup> mois (M.Alaoui,2011). Chez un homme, la production de l'hormone testiculaire prénatale antimüllérienne (AMH) par les cellules de Sertoli induit la régression des structures Müllériennes « les trompes de Fallope, l'utérus et la partie supérieure du vagin » et induit la production de testostérone par les cellules de Leydig.

La formation des structures sexuelles mâles internes, comme l'épididyme, les canaux déférents, les vésicules séminales et le canal éjaculateur est induite par la testostérone (Boudechiche Khadidja, 2015). Sous l'effet de la testostérone transformée par la 5 alpha réductase en dihydrotestostérone, le tubercule génital s'allonge entre la 8<sup>ème</sup> et la 14<sup>ème</sup> semaine, pour former le pénis (Boudechiche Khadidja, 2015).

Parallèlement, les replis génitaux limitant la fente urogénitale fusionnent pour donner l'urètre pénien. Le raphé pénien témoigne à la face inférieure du pénis, d'une fusion normale des replis génitaux. Les bourrelets génitaux sont à l'origine du scrotum où les testicules, venus de la région lombaire mésonéphrotique sont mis en place à la 32<sup>ème</sup> semaine (M.Alaoui, 2011).

Chez la femme, en l'absence de dihydrotestostérone et de AMH, le tubercule génital devient le clitoris, les replis urogénitaux forment les petites lèvres et les bourrelets génitaux forment les grandes lèvres. Les canaux Müllériens ne régressent pas et se développent en tractus génital féminin : utérus, trompe et la partie supérieure du vagin (Françoise, 2003).

Leur extrémité caudale entre en contact avec le sinus urogénital qui se différencie et forme le tiers inférieur du vagin. Le mésonéphros régresse passivement en l'absence de testostérone (Françoise, 2003).



**Figure 02 : développement de l'appareil copulatoire** (Françoise, 2003).

## III.2. Physiologie de la différenciation sexuelle

### III.2.1. Le sexe génétique ou chromosomique

Le sexe génétique ou chromosomique (XX ou XY) est déterminé au moment de la fécondation. Il repose sur le chromosome sexuel X ou Y apporté par le spermatozoïde, et sélectionné pour la fécondation par l'ovocyte. Deux propositions sont possibles :

Les ovocytes comportent tous 23 chromosomes dont un chromosome X (on dit qu'ils sont [23, X]) alors que les spermatozoïdes sont soit [23, X] soit [23, Y].

\* lorsqu' il s'agit d'un chromosome X qui est sélectionné donc l'embryon sera une femelle.

\* lorsque il s'agit d'un chromosome Y qui est sélectionné, l'embryon sera un mâle (El zaiat,2015).

- Ovocyte [23, X] + Spermatozoïde [23, Y] → 46, XY = sexe masculin
- Ovocyte [23, X] + Spermatozoïde [23, X] → 46, XX = sexe féminin

Soit le spermatozoïde fécondant comporte un chromosome Y sur lequel figure le gène SRY (sex determining factor) qui a été identifié au testis determining factor (TDF)

qui est le signal déclenchant la formation des testicules et par l'activation d'une cascade d'autres gènes transformera l'être en mâle .

Le chromosome sexuel permet l'accès des récepteurs aux androgènes. Les autosomes assistent au développement sexuel harmonieux. Ils contrôlent particulièrement les enzymes de la biosynthèse de la testostérone et de la transformation de la testostérone (T) en dihydrotestostérone (DHT), par l'intermédiaire de la 5 alpha - réductase (Mamad , 2008).

Dans le cas contraire lorsque le spermatozoïde apporte un chromosome X qui ne contient donc pas le gène SRY et donc l'être en cours de développement sera une femelle.

Le chromosome Y n'a donc pas d'autre fonction que la détermination du sexe. Et quel que soit le nombre de chromosomes X présents, l'existence d'un seul chromosome Y entraîne toujours un phénotype mâle (Boudechiche K,2015).

### **III.2.2. Le sexe gonadique et évolution des gonades**

L'appareil génital est mis en place lors du développement embryonnaire. Les gonades génitales commencent à se former durant la 5ème semaine du développement embryonnaire sous forme de masses indifférenciées. Ce phénomène est sous le contrôle de plusieurs gènes et hormones, en relation avec les chromosomes sexuels présents. Le début de ce développement est commun aux deux sexes.

Les cellules germinales primordiales sont bipotentes et peuvent s'engager soit vers la spermatogenèse soit vers ovogenèse selon la nature de leur environnement.

Une cascade de gènes intervient dans un ordre chronologique précis et contribuera à la différenciation d'une gonade primitive vers la structuration anatomique d'un ovaire ou d'un testicule (Boudechiche K, 2015). Sur tout chromosome Y, est présent un gène responsable de la masculinité. Ce gène se nomme SRY (Sex determining Region on Y chromosome). Ce gène code pour la protéine TDF (Testis Determining Factor) dont le rôle est d'activer de nombreux gènes dont l'action combinée aboutit à la différenciation des gonades en testicules.

L'expression du gène SRY dans la gonade mâle entraîne toute une série d'événements : d'une part l'activation de gènes testicule-spécifiques mais également la migration et la

prolifération cellulaire engageant la gonade dans la voie de différenciation testiculaire. En présence d'un chromosome Y porteur du gène SRY, la gonade bipotente se différencie en testicule, produisant de l'hormone antimüllérienne (AMH) puis de la testostérone à l'origine du développement des canaux de Wolff qui se différencient en épидидyme, canaux déférents et vésicules séminales et son dérivé la 5 alpha-dihydrotestostérone entraîne la différenciation du tubercule urogénital en pénis et scrotum (Boudechiche K, 2015).

Une fois ces événements accomplis, les cellules de Leydig vont commencer à exprimer les gènes impliqués dans la stéroïdogénèse mais les cellules germinales primordiales restent bloquées au stade de pro-spermatogonies.

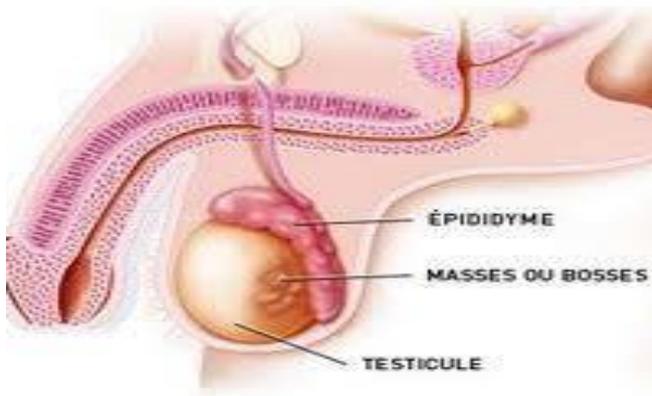
En l'absence du chromosome Y, il n'y aura pas de production de la protéine TDF car les chromosomes X ne portent pas le gène SRY. Ainsi donc, à la fin de la 8<sup>ème</sup> semaine de gestation, les gonades indifférenciées se transforment en ovaires. , les canaux de Müller persistent et se développent en constituant les trompes de Fallope, l'utérus et la partie supérieure du vagin. Les cellules germinales primordiales entament quant à elles leur méiose (Boudechiche K, 2015).

### **III.3. Le sexe phénotypique ou somatique**

#### **III.3.1. Tractus génital**

##### **III-3-1-1. Tractus génital masculin :**

L'appareil reproducteur masculin est composé de deux testicules (ou gonades mâles), des voies excrétrices (canaux efférents, épидидymes, canaux déférents) permettant la sécrétion des spermatozoïdes vers l'extérieur, des glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes de Cowper) sécrétrices du liquide qui permet de constituer avec les spermatozoïdes le sperme et du tractus uro-génital formé par l'urètre (prostatique, périnéal et pénien) qui s'ouvre à l'extérieur par le méat urinaire. L'appareil reproducteur a pour rôle la production du sperme et son dépôt dans les voies génitales femelles où se réalise la fonction de fertilisation (Barone, 1978).

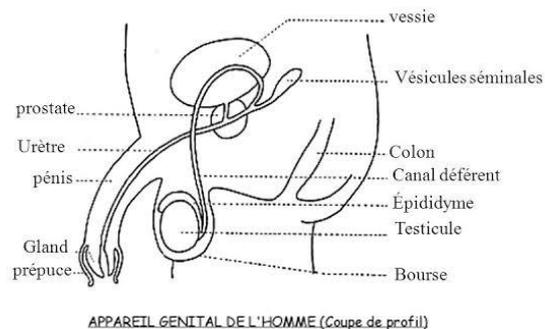


**Figure 03 : l'appareil génital de l'homme** (Barone, 1978)

### III-3-1-1-1 Le testicule :

Les testicules sont des glandes ovales paires qui mesurent 5 cm de long et 2,5 cm de diamètre. Chaque testicule pèse de 10 à 15 g (Tortora ,2007), leur surface est lisse de coloration blanchâtre avec une grande sensibilité (Michel, 2015). Les testicules sont situés en annexe de la verge, à l'extérieur de la cavité pelvienne dans une poche entourée d'une peau plissée appelée "scrotum" . Ils sont directement entourés d'un tissu conjonctif solide et protecteur appelée "albuginée" (Nedjma, 2013).

Le testicule joue un rôle de la puberté (13 ans-14 ans) à la vieillesse ils produisent :  
 -les spermatozoïdes (cellules sexuelles).  
 -la testostérone (hormone sexuelle mâle) (Françoise et al, 2002).



**Figure 04 : le testicule** (Nedjma, 2013).

### III-3-1-1-2 Les voies génitales

#### -L'épididyme

L'épididyme est un organe en forme virgule d'environ 4 cm de long (Tortora, 2007) plaqué sur l'arrière de testicule, reliant les canaux efférents (à la sortie du testicule) au canal déférent. Il est divisé en trois parties : la tête , le corps et la queue.

La paroi de ce tube est entourée d'une mince couche de fibres musculaires lisses dont la contraction permet le transit des spermatozoïdes (Kamli ,2016).

C'est dans l'épididyme que se produit la maturation des spermatozoïdes (Tortora, 2007).

#### **-Canal déférent :**

Le canal déférent a une mesure 45 cm de long et 2 mm diamètre de forme cylindrique (Michel,2015) ; il permet d'acheminer les spermatozoïdes de l'anse épидидymo-déférentielle jusqu'à la prostate en se terminant par l'ampoule différencielle participant ainsi à l'élaboration du sperme. Il est formé de 3 couches :

-la muqueuse mince

-la musculuse épaisse

-l'adventice (Hourri,2016).

Le canal déférent est sous-péritonéal et s'abouche dans l'urètre ou il se termine par l'ampoule différencielle. Cette ampoule sert de réservoir aux spermatozoïdes entre les éjaculations (Françoise,2002).

### **III-3-1-1-3 Les glandes annexes**

#### **-Les vésicules séminales**

La vésicule séminale c'est une structure paire contournée en forme de sac (Tortora et Derrickson ,2007) d'une dizaine de centimètres de long et de 2 à 4 centimètres de large. Elles pèsent environ 60 grammes. Les vésicules séminales sont logées dans le tissu conjonctif rétropéritonéal. Toutefois leur partie crâniale est libre et très légèrement mobilisable (Marzouk, 2017).

Elle délimite deux réservoirs musculo-membraneux dans lesquels s'accumulent leurs sécrétions entre les éjaculations (Everchoune R, 2017). Elle secrète un liquide alcaline visqueux renfermant du fructose (Tortora, 2007). Ce liquide appelé le liquide séminal entre dans la composition du sperme (François et al., 2003).

### **La prostate :**

La glande exocrine la plus volumineuse de l'appareil urogénital masculin est la prostate (Abderrahmane, 2017). Elle mesure environ 4 cm d'un côté à l'autre ,3 cm de haut en bas et 2 cm de l'avant vers l'arrière (Tortora, 2007). Elle est située au croisement des voies génitales et urinaires. Et est entourée par des pédicules vasculo-nerveux participant à la réponse sexuelle masculine (Abderrahmane, 2017). La prostate se compose de 3 parties :

la zone périphérique

la zone transitionnelle

la zone centrale (Edery, 2018).

La prostate joue un rôle dans la sécrétion du liquide prostatique qui ajouté à celui produit par les vésicules séminales sert au transport et à la nutrition des spermatozoïdes. Le sperme est l'ensemble de tous ces composants (Françoise et al ,2003).

### **-Les glandes de Cowper :**

Ce sont deux petites glandes de 3 à 4 mm (Françoise, 2003) situées à la jonction del'urètre membraneux et pénien (L'évêque, 2003). Elle sécrète un liquide albumineux transparent. L'érection comprime les glandes de Cowper, favorisant ainsi l'élimination de leur contenu lors de l'éjaculation (Alimant, 2010).

### **III-3-1-2: Tractus génital féminin :**

L'appareil génital féminin joue un rôle dans l'élaboration des gamètes et des hormones sexuelles. Il est le siège de la fécondation, de la gestation (Poissonnier, 2009).

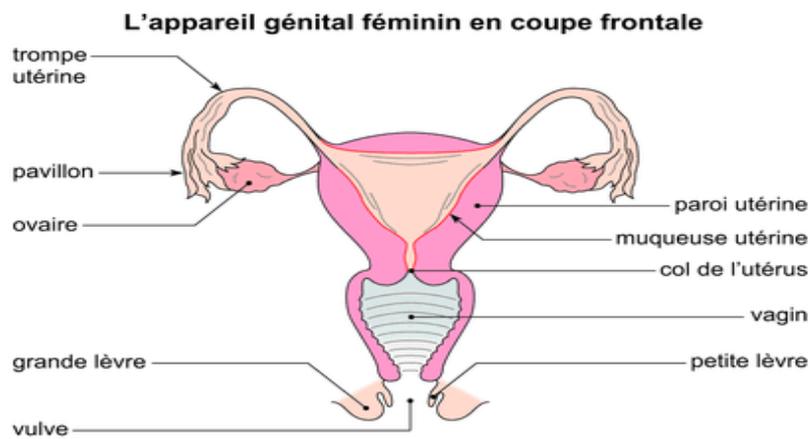
L'appareil génital féminin est composé :

-des ovaires

-des trompes

-de l'utérus

-du vagin (L'évêque, 2003).



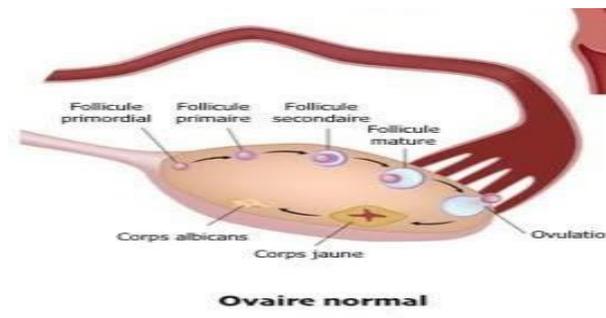
**Figure 05 : l'appareil génital de la femme (L'évêque, 2003).**

**-Les ovaires :**

L'ovaire est une glande sexuelle paire. C'est le lieu de production des ovocytes et de la sécrétion des hormones sexuelles. L'ovaire est un organe ovoïde, long de 35 mm, large de 15 à 20 mm, épais de 10 à 15 mm selon un diamètre antéropostérieur chez la femme en période génitale (Benser,2014). Il est constitué d'une zone centrale en liaison avec le hile, la médulla, et d'une zone périphérique, le cortex, qui peut représenter les deux tiers de l'organe chez la femme adulte (Diarra, 2019).

L'ovaire joue un rôle de la puberté (de l'âge 11 ans jusqu'à la ménopause de l'âge 48 à 52 ans) dans la production :

- des ovules qui sont considérées comme les cellules sexuelles
- des œstrogènes et la progestérone qui sont des hormones sexuelles (Françoise et al., 2002).



**Figure 06 : coupe d'un ovaire (Chaine C, 2019)**

### **-Les trompes :**

La trompe de Fallope située de part et d'autre de l'utérus (Tortora, 2007) est un conduit musculo-membraneux pair ; elle permet le passage des gamètes et leur chambre de fécondation. Il fait communiquer par le biais de son canal les cavités utérines et péritonéales (Fogang, 2013).

Chaque Trompe de Fallope contient les quatre parties suivantes : le pavillon l'ampoule, l'isthme et la partie interstitielle (Michal, 2015).

### **-L'utérus :**

L'utérus est un petit organe qui a la grosseur et la forme d'une poire inversée. Il est situé dans le bassin de la femme, entre la vessie et le rectum (Sextone, 2006) leur taille est variée selon les étapes de la vie sexuelle de la femme :

Chez une femme qui n'a jamais été enceinte, il mesure environ 7.5 cm de long, 5 cm de large et d'épaisseur

Chez une femme qui a déjà enfanté, il est plus gros.

Plus petit chez une femme dont la sécrétion des hormones sexuelle a diminuée (atrophie) (Tortora, 2007). L'utérus contient de 3 parties :

-Le corps

- L'isthme

- Le col (Michal, 2015).

Les rôles de l'utérus:

- Organe de la grossesse

- La nidation puis le développement

- La destruction de la muqueuse utérine constituera le sang des menstruations en

Absence de grossesse (Françoise, 2003).

### **-Le vagin :**

C'est un conduit musculo-membraneux, de 7 à 9 cm de long, qui s'étend de l'utérus au vestibule de la vulve, l'extension de sa paroi lors du coït et le passage du fœtus lors de l'accouchement grâce à la grande élasticité de sa paroi (L'évêque, 2003).

Le vagin se termine en bas en s'ouvrant dans la cavité vulvaire par un orifice partiellement obturé chez la fille vierge par un repli muqueux appelé l'hymen (Michal, 2015).

### **III.3.2. Organes génitaux externes**

#### **III-3-2-1 Organe masculin :**

Les organes génitaux externes situés entre les cuisses et l'arche du pubis (Fatagom, 2018) sont situés de :

- Pénis
- Scrotum (Elaine, 2008).

##### **III-3-2-1-1- Le pénis :**

Le pénis est aussi appelé la verge c'est un organe génito-urinaire, il permet à l'homme d'uriner et aussi il est considéré comme un organe copulateur (françoise, 2003). Le pénis est destiné à déposer les spermatozoïdes dans les voies génitales de la femme (Elaiian,2008). Il est constitué par des organe érectile entouré par des enveloppes les mesure de la verge sont variées selon les cas :

- À l'état de flaccidité, 9 cm de long et 9 cm de circonférence,
- À l'état d'érection : 13 cm de long et 12 cm de circonférence (khalide,2012) ; le pénis comprend un corps mobile qui se termine par une extrémité renflé le glande du pénis (Elaiiane,...). Ce dernier est recouvert par le prépuce qui est c'est une petite peau mobile. Le tissu qui le constitue est appelée : tissu érectile. Il a la particularité de pouvoir de gonfler de sang (françoise ,2002).

##### **III.3.2.1.2. Scrotum :**

Scrotum est la couche extérieure du testicule constituée d'une peau mince et particulièrement extensible (Aznague, 2011) divisée en deux moitiés et est accroché à l'extérieur de la cavité abdominale entre les jambes et au niveau de la racine de pénis, elle présente de nombreux plis transversaux dus à la contraction des fibres musculaires du dartos .Il est subdivisée par une cloison conjonctive qui s'appelle le septum du scrotum, la thermorégulation du testicule se fait par le dartos avec le scrotum (Maataoui ,2010).

### III.3.2.2 . Organes féminins :

Les organes génitaux féminins externes visibles représentés par : la vulve (Lejeune, 2011) qui comprend : le vestibule , L'hymen , les petites lèvres , le clitoris, le méat urinaire , les grandes lèvres, Le sillon génito-crural et le périnée (Corre,2012).

#### **-Le vestibule**

C'est le point central de la vulve et qui est considéré comme l'ouverture qui fait le lien avec les organes génitaux internes (Corre, 2012).

#### **-L'hymen**

L'hymen c'est le membrane qui existe juste chez la fille vierge (Françoise, 2002) et qui se trouve à l'extrémité inférieure du vagin. Il sépare la cavité vaginale de la vulve (Lejeune ,2011).

#### **- Les petites lèvres**

Les petites lèvres sont des replis cutanéomuqueux contenant des glandes sudoripares sébacées, elles sont dépourvues de poils (Françoise, 2003). D'après une étude la largeur moyenne des petites lèvres est de 2.5cm sachant qu'elle présente une grande variation qui peut aller de 7mm à 25 cm (Charalambos, 2013). Les petites lèvres dérivant des mêmes tissus embryonnaires donnant la partie spongieuse de l'urètre chez l'homme (Elaine, 2008).

#### **-Le clitoris**

C'est un organe très sensible situé au niveau de l'extrémités antérieures des deux petites lèvres (Lejeune,2011). Il est homologue du pénis chez l'homme et compose de tissus érectile qui se gonfle de sang lors de l'excitation sexuelle (Elaine,2008).

#### **-Le méat urinaire**

Le méat urinaire est s'ouvre au niveau de la fente de la vulve (Hoellinger, 2017)



**Figure 07 : Méat urinaire** (Bernad, I.2020).

### **-Les grandes lèvres**

C'est une peau rose et humide. Elle contient des poils de chaque côté de la vulve (El Houssi, 2011). Les grandes lèvres sont riches en tissus adipeux ,glandes sébacées et en glandes sudoripares aporines , et une structure homologue du scrotum chez l'homme (Tortora , 2007).

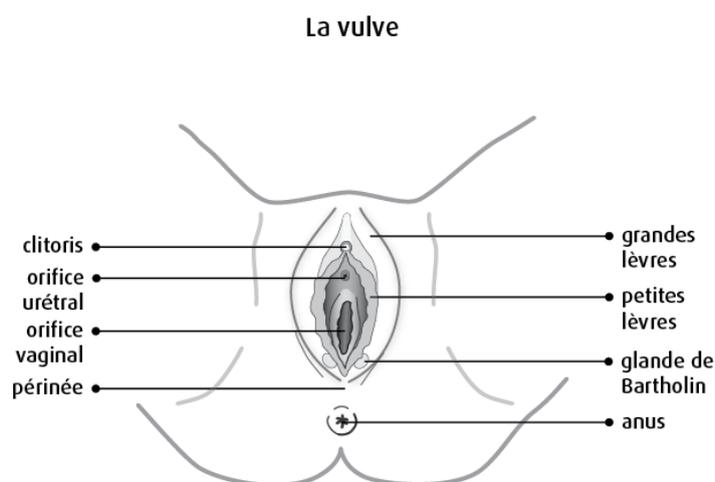
### **-Le Sillon génital-crural**

### **-Le périnée**

Le périnée est l'ensemble des parties molles qui ferment en bas l'excavation pelvienne (HUGOT, 2011), la disposition est comparable à celle du périnée de l'homme , Il est composé de deux parties:

Le périnée antérieur : est qui s'appelle aussi uro-génital,

Le périnée postérieur : anus avec l'orifice de l'anus (MICHEL, 2015).



**Figure 08 : l'appareil génital externe de femme (Fanny R, 2010)**

## **IV. Les différents gènes intervenant dans le déterminisme du sexe**

### **I. 1. Les gènes impliqués dans le déterminisme de l'ovaire**

La différenciation de l'ovaire a été considérée pendant plusieurs décennies comme un processus passif, se mettant en place par défaut puisqu'aucun gène-clé de la différenciation ovarienne, homologue à sex determining region Y (*SRY*) pour le testicule, n'ait été décrit chez la femme. Des études récentes ont cependant montré une cascade génétique comportant des gènes anti-testiculaires, ainsi que des gènes pro-ovariens conduisant à la différenciation de la gonade bipotentielle en ovaire

comme les gènes *WNT4*, *R Spondine1 (RsPO)*, *FOXL2* et *DAX1* (Adrienne Baillet, 2011). Et c'est ainsi que la détermination des cellules somatiques de l'ovaire est sous le contrôle de deux voies majeures, l'une régulée par le facteur de transcription *FOXL2* avec ou sans les œstrogènes selon les espèces, et celle de la voie  $\beta$ -caténine (*Rspo1*, *Wnt4*,  $\beta$ -caténine). Ces deux cascades géniques agissent simultanément sur l'activation de la voie femelle et l'inactivation de la voie mâle.

Une nouvelle étude vient de démontrer le rôle de *Sf1* dans la différenciation de l'ovaire en activant l'expression de *Wnt4* et *Foxl2* (Combes et al., 2010). *Sf1* ou NR5A1 (Steroidogenic factor 1), un récepteur nucléaire dont le ligand n'a pas encore été identifié. *Sf1*, en plus de son rôle dans la formation des gonades, contrôle la synthèse de nombreuses hormones stéroïdiennes au cours du développement embryonnaire, d'où sa localisation dans de nombreux tissus ayant une activité endocrine : les gonades, les glandes surrénales, l'hypophyse et l'hypothalamus (Ingraham, 1994 ; Ikeda, 1995 ; Luo, 1995).

## **2. Les gènes impliqués dans le déterminisme testiculaire et principalement le Gène *SRY***

Il existe des dizaines de gènes impliqués dans le développement précoce des gonades chez l'homme, y compris le principal déterminant du sexe masculin qui est le gène *SRY* (Valard F, 2002) porté par le chromosome Y. Le gène *SRY* est un initiateur des stades précoces du déterminisme testiculaire (Ravel C, 2004). Tous ces gènes codent pour des facteurs de transcription et tous les produits de ces gènes sont sensibles à la dose : une carence individuelle ou une duplication de ces gènes entraîne une inversion du sexe chez les hommes (Vialard F, 2002).

Le gène *SRY* est un gène dominant ; il code une protéine nécessaire à la détermination testiculaire c'est le Facteur du Déterminisme Testiculaire ou TDF. En l'absence du TDF, le développement ovarien se met en place et le phénotype femelle est obtenu. Trois gènes du chromosome Y codant pour des molécules aux expressions et fonctions très différentes se sont successivement vus attribuer ce rôle : *HY*, *ZFY* et *SRY*.

### **IV.2.1. Le gène *H-Y***

Le gène *HY* code pour un antigène du groupe sanguin HY. Il a été proposé comme TDF en 1970. En fait, on s'est vite aperçu que les mâles XX n'exprimaient pas *HY*.

L'antigène HY ou antigène d'histocompatibilité est une molécule glycoprotéique, découverte en 1955. Il a été déterminé lorsque les greffes de peau des donneurs mâles étaient rejetées par des receveuses femelles non histocompatibles.

D'autres données génétiques attribuèrent un rôle à H-Y dans l'expression du phénotype mâle.

Ces hypothèses furent remises en question pour les raisons suivantes :

- La séparation physique du locus H-Y (bras long du chromosome Y humain) et du locus TDF (bras court du même Y).
- L'antigène H-Y est détecté chez les femmes normales fertiles.
- Mc Laren et collaborateurs ont pu sélectionner une lignée de souris dont les mâles n'expriment pas cet antigène.

#### **IV.2.2. Le gène *ZFY***

Le gène *ZFY* (Zinc Finger Y), qui a été localisé par Page et coll. sur le bras court du chromosome Y en 1987, avait de nombreuses caractéristiques attendues du gène de la détermination sexuelle ; il s'exprime dans les gonades mâles des souris avant la détermination gonadique et est très conservé dans l'évolution. Par ailleurs, il code pour un facteur de transcription à doigt de zinc pouvant contrôler l'expression d'autres gènes impliqués dans la différenciation testiculaire (Leroux I, 1999). Divers arguments ont pu écarter *ZFY* dans cette fonction de détermination du sexe. On s'oriente plutôt pour un rôle au cours de la spermatogenèse de la protéine *ZFY*. Il a fallu attendre 1989, lorsqu'une nouvelle catégorie, d'hommes à caryotype 46, XX a pu être décrite. Certains d'entre eux ne sont en effet porteurs que d'une fraction minimale de chromosome Y sur leur chromosome X d'origine paternelle. Cette fraction limitée à 35 kb qui exclut le gène *ZFY*, suffit donc pour engendrer le développement testiculaire que nous qualifierons de somatique. TDF doit obligatoirement s'y trouver localisé.

#### **IV.2.1. Le gène *SRY***

Le gène *SRY* est localisé sur le chromosome Y. Il code pour la protéine TDF (Testis Determining Factor) qui détermine la formation des testicules au cours de l'embryogenèse des mammifères (Denny P, 1992).

C'est un gène à copie unique. Il a été localisé par hybridation in situ (FISH). (fernandez R, 2002).

#### **IV.2.1. La découverte du gène *SRY***

Les chromosomes sexuels ont été découverts en 1921, tandis que le rôle de ces chromosomes dans la détermination du sexe remonte aux années 1960 en observant des individus présentant des caryotypes anormaux « turner XO et Klinefelter XXY ». La différenciation des gonades en testicules dépend du chromosome Y indépendamment du nombre de chromosomes X. Cependant, le facteur du déterminisme testiculaire, codé par un gène sur le chromosome Y, c'est-à-dire le TDF (testis déterminant factor) a longtemps été insaisissable, ce n'est qu'en 1985 qu'il a été identifié par l'analyse de l'ADN d'une femme ayant un caryotype 46,XY et de trois hommes ayant un caryotype 46,XX (Barboux S, 1995).

Le séquençage et le clonage de l'ADN de ces individus ont permis d'isoler une partie du chromosome Y impliquée dans la détermination du sexe.

#### **IV.2.2. Organisation du gène *SRY***

*SRY* est un gène situé dans la partie terminale du bras court du chromosome Y, à proximité de la région pseudo-autosomique. Ce gène, constitué d'un unique exon, est composé d'une phase ouverte de lecture de 669 paires de bases. Il code pour une protéine longue de 223 acides aminés qui possède un domaine central conservé par rapport à son homologue murin et dans d'autres espèces.

Cette protéine appartient à la famille des protéines à domaine HMG, qui est un motif protéique de liaison à l'ADN. Ce domaine HMG occupe une position centrale sur le gène *SRY*. Il a un rôle crucial dans l'activité de *SRY*, comme en témoignent les différentes mutations retrouvées chez les femmes XY, qui se situent à son niveau (une seule mutation décrite en dehors de la boîte (I. Leroux, 1999).

#### **IV.2.3. Expression du gène *SRY***

L'expression du gène *SRY* correspond à la période de détermination du sexe et est exprimée dans les cellules somatiques des bords des organes génitaux masculins. Le facteur de transcription codé par le gène *SRY* (représenté par une protéine composée de 204 acides aminés) possède un domaine HMG « groupe à haute mobilité » (renfermant environ 80 acides aminés qui lui permet de se lier à l'ADN en lui traduisant une

courbure. Cette modification de la formation de la chromatine aura un rôle en permettant l'assemblage et l'interaction des facteurs de transcription en stimulant l'expression d'autres gènes qui stimulent la formation des testicules et d'autres structures reproductrices males. Cependant, les gènes cibles *SRY* restent à ce jour inconnus et leur mécanisme d'action exact n'a pas été élucidé (Brennan J et al .2004).

#### **IV.2.4. La protéine *SRY***

La liaison du domaine HMG à l'ADN se fait par l'intermédiaire d'une séquence d'oligonucléotides bien définie (AACCAATG). Elle est responsable d'une altération de la géométrie de l'ADN, avec torsion des doubles brins, qui pourrait être à l'origine de la régulation de la transcription d'autres gènes. Par cet effet de torsion, *SRY* rapprocherait des facteurs protéiques et des séquences d'ADN jusque-là séparés, permettant la réalisation d'un complexe multiprotéique transcriptionnel (Barboux S, 1995).

La protéine *SRY* humaine se lie à l'ADN double brin par l'intermédiaire de la séquence 5'A/TAACAAA/T3' via son domaine HMG. Cette boîte HMG se lie à l'ADN au niveau du sillon mineur.

Elle est responsable d'une altération de la géométrie de l'ADN, avec une torsion des doubles brins, qui pourraient être à l'origine de la régulation de la transcription d'autres gènes. Par cet effet de torsion, *SRY* rapprocherait des facteurs protéiques et des séquences d'ADN jusque-là séparés, permettant la réalisation d'un complexe multiprotéique transcriptionnel (Barboux S, 1995).

La fonction précise du repliement causé par l'action de la protéine n'est pas connue, mais il a été proposé que le repliement établirait une structure particulière dans l'ADN de la chromatine. En effet, une étude sur la chromatine a démontré que *SRY* était capable de déplacer un nucléosome sur le promoteur *fra-2* (Ng KW, 1997).

Etant donné que la protéine *SRY* est présente dans le noyau des cellules germinales, ce gène permet non seulement la différenciation gonadique male, mais possède également d'autres fonctions (Jauzien F, 2001).

#### **IVI.2.5. Régulation de l'expression du gène *SRY***

La spécificité spatiale et temporelle de l'expression de *SRY* implique des mécanismes précis de régulation. Ainsi, l'étude du promoteur du gène *SRY* a pour but d'identifier les facteurs assurant cette régulation. Les facteurs les plus impliqués sont :

SF1 « steroïdogene factor 1 » est un facteur de transcription faisant partie de la superfamille des récepteurs nucléaires possédant un domaine de liaison à l'ADN en doigt de zinc dans sa portion N-terminale ainsi qu'un domaine de liaison aux ligands en C-terminale. Il semble donc que SF1 soit requis pour l'expression de SRY humain.

Sp1, un facteur de transcription ubiquitaire impliqué dans la régulation de plusieurs gènes et qui reconnaît les séquences consensus riches en GC.

Il a été démontré que Sp1 pouvait se lier aux éléments consensus présents sur le promoteur *SRY* humain à -150 pb et -130 pb (Desclozeaux M 1998) et que SF1 pouvait se lier au site consensus à -315 pb (de Santa BP 2001)

*WT1* (Wilms Tumor 1) est exprimé dans les mêmes lignées cellulaires que le gène *SRY*. Une équipe a étudié l'effet de WT1 sur l'expression du gène *SRY* humain dans la lignée cellulaire NT2D1, une lignée humaine de tissus testiculaire. L'expression endogène de *SRY* est augmentée lors de la transfection stable d'un vecteur d'expression contenant la séquence codante pour l'isoforme WT1 (-KTS), mais reste au même niveau avec un vecteur codant pour l'isoforme WT1 (+KTS). L'activation du promoteur de *SRY* par WT1 (-KTS) requiert la présence d'un élément de liaison consensus se trouvant vers -78 à -87 pb par rapport du codon initiateur ATG (Brennan J, 2004).

#### **IV.2.6. Mécanismes d'action du gène *SRY***

Les gènes cibles de *SRY* restent néanmoins à ce jour encore inconnus et son mécanisme d'action précis n'est pas encore élucidé. Aussi est-il important de garder à l'esprit que la différenciation sexuelle est soumise à une « cascade d'activation génétique » et que de nombreux autres facteurs interviennent, aussi bien avant, qu'après l'expression du *SRY* (Brennan J, 2004).

#### **IV.2.7. Les mutations de *SRY***

Il a été rapporté que des mutations du gène *SRY* sont associées à une dysgénésie gonadique pure XY (Jauzien F, 2001). La majorité d'entre elles sont des mutations de novo affectant un seul individu dans une famille. Seul un petit sous-ensemble de mutations est partagé entre le père et un ou plusieurs de ses enfants.

Les mutations du gène *SRY* représentent environ 15 % des cas d'inversion du sexe masculin vers féminin. À ce jour, environ 46 mutations ont été identifiées dans le cadre

de lecture ouvert du gène *SRY*. La plupart de ces mutations familiales sont localisées dans la boîte HMG soulignant ainsi le rôle critique de ce domaine, et seulement 10 mutations en dehors de la boîte HMG ont été rapportées jusqu'à présent au meilleur de notre connaissance. Parmi ceux-ci, huit sont situés dans la région 5' en amont de la boîte HMG, et les deux autres se trouvent en aval de la boîte HMG (Stenson PD, 2003)(Shahid M,2005) Bien que certaines mutations faux-sens de *SRY* affectent les activités de liaison et de flexion de l'ADN, on ne sait pas comment d'autres mutations contribueraient à maladie. L'importance de la boîte HMG pour la fonction de *SRY* est soulignée par le fait que la plupart des patients atteints de dysgénésie gonadique pure présentaient des mutations de *SRY* regroupées dans ce motif. La majorité des variantes de *SRY* sont des mutations de novo, affectant un seul individu dans une famille . Cependant, un petit sous-ensemble de ces rapports décrit des mutations familiales, partagées entre le père et un ou plusieurs de ses enfants (Jordan BK , 2002).

#### IV.2.4. Les autres gènes du déterminisme du sexe :

Il existe de nombreux gènes déterministes sexuels qui ont d'autres fonctions, tels que *WT1* et *SOX* et *DAX1*, *SFI*, *AMH* tous sont présentés dans le tableau ci-dessous (Jauzien F, 2001).

**Tableau 1 :** Les autres gènes du déterminisme du sexe (Stéphanie B, 2019).

Gène	Localisation chromosomique	Tissu ou le gène s'exprime	Le rôle de sa protéine	Caractéristiques de sa protéine
WT1	Sur le bras long du chromosome 11	Cellules de sertoli Cellules de la granulosa	Essentiel à la morphogénèse de la crête génitale Régulation de la transcription du gène <i>SRY</i>	Les isoformes de protéines Ont la capacité de se lier à l'ADN
SOX9	Sur le bras long du chromosome 17	Crêtes génitales des deux sexes Cellule de sertoli	Activation de l'expression du gène de l'AMH	Contient 509 aa Un domaine de liaison à l'ADN

DAX1	Sur le bras long du chromosome 9	crêtes génitales	Inhibition de l'action de SF1	Contient 470 aa Région de liaison à l'ADN Région de liaison pour les ligands des récepteurs nucléaires
SF1	Sur le bras long du chromosome 9	Les vides des gonades des deux sexes	Activation de l'expression des gènes impliqués dans la stéroïdogénèse	C'est un récepteur nucléaire
AMH	Sur le bras court du chromosome 19	Cellules de sertoli Cellules de la granulosa	Provoque la régression des canaux de Muller  Inhibition les hormones	L'identité avec des facteurs de croissance spécifiques (tels que TGF-beta)

## V. Les anomalies de la différenciation sexuelle

### V.1. Dysgénésies gonadiques

Elles comportent des anomalies et des différences dans le développement sexuel et leurs conséquences sont variables. La découverte d'une anomalie des organes génitaux sur les échographies anténatales ou lors de l'examen postnatal est une situation rare mais nécessitant une prise en charge urgente et adaptée (Moata H, 2019).

#### V.1.1. Mise au point sur les dysgénésies gonadiques « pures » et « mixtes »

Il existe une différence entre les dysfonctionnements gonadiques purs et mixtes quant à savoir si les gonades consistent en une bande fibreuse et un stroma indifférencié dépourvu de cellules germinales et dépourvus d'activité endocrinienne ; ou qu'il persiste des îlots de cellules testiculaires.

Les tableaux phénotypiques sont multiples, avec un degré de masculinisation variable en fonction de la date à laquelle la fonction testiculaire a disparu lors de l'embryogenèse.

Le phénotype sera d'autant plus féminin et le diagnostic d'autant plus tardif que la dysgénésie est pure, et le phénotype d'autant plus ambigu et le diagnostic d'autant plus précoce que la dysgénésie gonadique est mixte. Ces dysgénésies gonadiques peuvent être unies ou bilatérales.

Il existe essentiellement deux présentations cliniques.

La Dysfonction gonadique mixte à la naissance causée par l'ambiguïté sexuelle où

lors de la stimulation ; dans ce cas, on peut trouver un hypospadias, une absence de soudure des bourrelets génitaux....

Les gonades sont généralement situées dans les cavités inguinales ou à l'intérieur de l'abdomen. Le frottis buccal à la recherche de chromatine sexuelle (corpuscule de Barr) est négatif, confirmant l'absence d'un deuxième chromosome X. Il sera confirmé par le caryotype, qui nécessite un délai plus long. L'imagerie reproductive montre la relation entre les ouvertures de l'urètre et du vagin, où l'on note que le niveau de l'hormone est inférieur à la normale et le niveau de l'hormone testostérone bas non stimuable par l'HCG (confirmant la défaillance testiculaire). La laparotomie permet une évaluation de la présence de dérivés Mullériens et Wolfiens, car elle identifie l'aspect macroscopique des gonades et permet ainsi un diagnostic clair. Le traitement est une gonadectomie préventive par sexe, des interventions chirurgicales de plastie pourront être proposées afin de corriger les anomalies du sinus urogénital. Un traitement hormonal substitutif sera débuté à la puberté.

Le diagnostic de dysfonctionnement gonadique pur est à la puberté ou à l'âge adulte, où le tableau clinique consiste en une forme féminine avec une ménopause primaire et une absence de puberté. (Hypoplasie des OGE, développement mammaire peu important, pilosité axillaire absente). A l'examen, on remarque la grande taille fréquemment causée par le manque de soudure du cartilage de l'accouplement avec la présence du vagin et de l'utérus, et il y a aussi un élargissement du clitoris. Biologiquement, on observe un hypogonadisme hypergonadotrope avec un estradiol éffondré (< 30 pg/ml) et une testostérone inférieure au taux normal chez la femme. Le caryotype est XY, avec possibilité de mosaïque. La cœlioscopie permet de faire un bilan précis des anomalies du tractus génital. Une fois le diagnostic établi, il est nécessaire de subir une gonadectomie bilatérale préventive car, il existe un risque de dégénérescence chez la patiente. Les tumeurs retrouvées sont des gonadoblastomes dans 53 % des cas, des dysgerminomes dans 19 % des cas, des gonadoblastomes associés à des dysgerminomes dans 17 % des cas et d'autres tumeurs dans 10 % des cas (choriocarcinomes, carcinome, tératome...). Ces cancers peuvent être uni- ou bilatéraux. (Leroux L.1999).

### **V.1.2. Dysgénésie gonadique pure XX**

Ce type de dysgénésie gonadique ovarienne est dû à une mutation du gène codant pour le récepteur de la FSH. Ce syndrome se transmet sur le mode autosomique récessif. Il peut parfois être associée à des cas de trisomie 13 ou 18. Les dysgénésies gonadiques 46XX se caractérisent par un phénotype féminin, une stature normale, un infantilisme

sexuel, des bandelettes fibreuses bilatérales, une aménorrhée et une élévation des taux FSH-LH (Périnat M .2015).

### **V.1.3. Dysgénésie gonadique XO ou syndrome de Turner**

Ce syndrome est caractérisé par l'absence d'un chromosome sexuel X chez la fille. Le phénotype est féminin puisqu'il n'y a pas de chromosome Y. Cependant il n'y a pas d'ovaire puisqu'il n'y a pas de deuxième chromosome X.

Le syndrome de Turner entraîne des anomalies des traits du visage et des membres, une petite taille et un déséquilibre dans le fonctionnement des ovaires, ainsi que des anomalies cardiaques et rénales. Il se manifeste également généralement en l'absence de croissance mammaire et de ménopause, les organes génitaux internes restant normaux mais infertiles (Chédel A, 2013).

### **V.1.4. Dysgénésies gonadiques XY**

Dans la plupart des cas, la maladie ne sera pas diagnostiquée. La présence ou non de dérivés Müllériens à l'échographie pelvienne et les concentrations d'AMH distinguent les anomalies de la production ou de la réceptivité à la testostérone (AMH normale, pas d'utérus), des dysgénésies testiculaires où les gonades ont sécrété et secrètent insuffisamment de testostérone et d'AMH (l'utérus n'a pas régressé).

Le phénotype est variable, d'un phénotype féminin complet à un hypospade périnéal ou scrotal. Où l'on trouve les gonades dans les sutures des organes génitaux en position élevée dans la région inguinale ou en position de l'abdomen (Périnat M ; 2015.)

### **V.1.5. Mâles XX**

Cette anomalie se caractérise par l'existence d'un caryotype XX et des organes génitaux externes ambigus. La cause est la présence du gène SRY, habituellement présent sur les gènes Y et codant le sexe masculin.

Cette fragilité se traduit par deux testicules, l'azoospermie, l'absence de structure de Muller et la gynécomastie. Souvent, le pénis a une taille normale mais les testicules restent petits (Chédel A, 2013).

### **V.1.6. Hermaphrodismes vrais**

Un changement dans le développement sexuel au cours des premières semaines de la grossesse provoque l'hermaphrodisme, où l'on retrouve des tissus ovariens et testiculaires chez la même personne.

Les structures qui vont donner naissance à un appareil génital mâle sont représentées par les canaux de Wolff, celles qui vont donner l'appareil génital femelle sont représentées par les canaux de Müller (Allodocteurs.fr .2015.)

### **V.1.7. Syndrome de Klinefelter**

La cause de cette condition est la présence d'un chromosome X supplémentaire et cela est dû au manque de séparation des chromosomes parentaux lors de la production de spermatozoïdes ou d'ovules, car il n'y a souvent aucun phénomène externe jusqu'à la puberté. A cette période, le volume des glandes mammaires peut augmenter, les testicules restent petits, le pénis est de taille normale et les bourses et la pilosité peuvent être peu développée. Il y a une infertilité due à une atozoomie. On peut aussi noter des retards d'apprentissage (Chédel A, 2013).

## **V.2. Pseudohermaphrodismes**

### **V.2.1. Pseudohermaphrodismes masculins**

Les pseudohermaphrodismes masculins sont définis par une ambiguïté des organes génitaux externes et internes associés à la présence exclusive de tissu gonadique masculin. Le pseudohermaphrodisme masculin (PHM) caractérisé par la présence des testicules et d'un caryotype 46, XY.

Les dysgénésies gonadiques représentent des formes particulières de pseudohermaphrodismes masculins.

Le diagnostic est souvent difficile car il dépend d'examens biologiques et d'explorations radiologiques et endoscopiques. Les PHM peuvent être répartis en deux catégories:

#### **-Déficits de la fonction testiculaire:**

Il peut s'agir de:

#### **-Blocs enzymatiques sur la biosynthèse de la testostérone :**

Pouvant intéresser n'importe quel niveau de la cascade enzymatique : de la chaîne de biosynthèse du cholestérol à la testostérone. Ils sont souvent surrénaliens en même temps que testiculaires. Les formes complètes peuvent être mortelles en raison des déficits en minéralocorticoïdes et/ou glucocorticoïdes qu'elles entraînent. Ils sont transmis sur un mode récessif autosomique ou lié à l'X. Le contraste entre le taux plasmatique élevé des stéroïdes en amont du bloc et le taux bas des stéroïdes au-delà du bloc sur la voie de biosynthèse, fait le diagnostic

#### **-Insensibilité des cellules de Leydig aux gonadotrophines :**

Il peut s'agir d'une LH bio-

inactive ou d'un récepteur anormal. Toute mutation intéressant le gène de ce récepteur (chromosome 2p21) peut en être responsable.

**-Rarement, par trouble de l'hormonogénèse testiculaire non stéroïdienne**

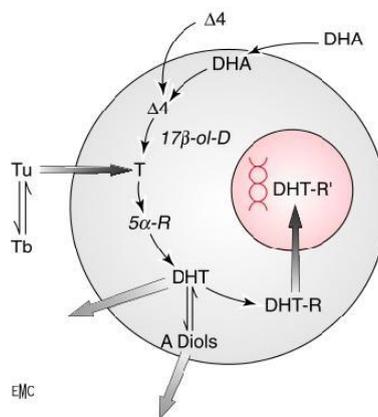
C'est une anomalie de transmission autosomique récessive, responsable de la persistance des dérivés Müllériens par absence ou inactivité de l'hormone antimüllérienne (AMH).

**-Insensibilité des organes cibles à des taux d'androgènes normaux:**

**Rôle des androgènes:**

La testostérone, principal androgène, traverse la membrane cellulaire et pénètre la cellule par diffusion passive sous sa forme libre. Elle y est réduite, par une enzyme spécifique, la 5 $\alpha$ -réductase, en dihydrotestostérone (DHT).

Cette dernière est responsable de la masculinisation in utéro des OGI et de la maturation sexuelle avant la puberté. Alors que la testostérone semble être plus importante pour la stimulation des canaux de Wolff pendant le développement sexuel, la formation des OGI, la régulation des gonadotrophines et la spermatogénèse (Amzerin M ; 2008).



**Figure 09** : Mécanisme d'action des androgènes au niveau de leurs cellules cibles. (AMZERIN M.2008)

T:Testostérone, Tb : Testostérone liée, Tu :Testostérone libre  
 $\Delta$ 4A: $\Delta$ 4-androstènedione, DHA: déhydroépiandrostérone  
 R : récepteur, R': récepteur activé.

**V.2.2. Pseudohermaphrodismes féminins**

Le PHF constitue une situation dans laquelle les sujets avec caryotype un 46, XX normal et des ovaires normaux présentent certains éléments du phénotype

masculin avec une virilisation des OGE. Cette dernière est due à une imprégnation androgénique anormale du fœtus de sexe féminin pendant la vie embryonnaire. Ces androgènes sont soit d'origine fœtale par hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) soit d'origine maternelle endogène (Tumeurs virilisantes ovariennes ou surrénaliennes) ou exogène (prise de drogues virilisantes pendant la grossesse).

L'HCS constitue la cause la plus fréquente des PHF, son incidence est estimée à 1 cas sur 10000 à 15000 naissances vivantes.

C'est une anomalie de transmission autosomique récessive caractérisée par la perte d'activité de l'une des enzymes nécessaires à la stéroïdogénèse surrénalienne. Le bloc enzymatique, quel que soit son niveau sur la voie de biosynthèse du cortisol entraîne un déficit en cortisol et une hypersécrétion d'ACTH responsable de l'hyperplasie surrénalienne.

Le sexe d'élevage est souvent féminin quand l'ambiguïté génitale est découverte à la naissance. Parfois, le nouveau-né est sévèrement virilisé et est donc déclaré de sexe masculin. La présentation clinique des HCS, dépend de l'âge de la manifestation du trouble, du type et du degré du déficit enzymatique (Amzerin M ; 2008).

## **VI. Exploration et démarche diagnostique devant une ambiguïté sexuelle**

### **VI.1. Démarche diagnostique devant une ambiguïté sexuelle en post natal**

#### **VI.1.1. Interrogatoire**

##### **VI.1.1.1. Antécédents familiaux**

On recherchera des antécédents familiaux, en faveur d'une maladie génétique à transmission autosomique récessive ou liée au chromosome X (tante stérile). Ils seront retrouvés surtout dans les pseudohermaphrodismes masculins (PHM), rarement dans les dysgénésies gonadiques.

L'étiologie des certains PHM reste inconnue : certains sont associés à des malformations, d'autres appelés idiopathiques (aucune anomalie endocrinienne n'est retrouvée) sont le plus souvent sporadiques mais peuvent être familiaux (Khezouz A, 2018).

##### **VI.1.1.2. Antécédents obstétricaux**

La recherche d'une virilisation et le dosage des androgènes et des œstrogènes chez la mère aideront à faire le diagnostic de causes rares.

Le déficit en aromatasase est dû à une diminution importante des capacités de l'unité fœto-placentaire d'aromatiser les androgènes en œstrogènes. Le diagnostic se fait par la mise en évidence de taux très élevés de  $\delta$ 4-androstenedione et de testostérone et des taux effondrés d'œstrogènes chez la mère pendant la grossesse.

L'hyperproduction d'androgènes est d'origine maternelle : rarement il s'agit d'une hyperplasie congénitale des surrénales maternelles mal traitées, mais le plus souvent d'une tumeur ovarienne ou d'un lutéome hCG-dépendant. Les causes iatrogènes dues à un traitement de la mère par des substances androgéniques, en particulier les 19-nortestostérone ont actuellement presque disparu (Khezouz A ,2018).

### **VI.1.2. Examen clinique à la naissance**

Les lésions malformatives touchent les organes génitaux externes (appareil copulatoire) et internes (tractus gonoductal) ainsi que les gonades, l'étude de ces trois composants génitaux permettra de classer l'ensemble malformatif et de progresser dans l'enquête étiologique pour proposer une thérapeutique adaptée.

L'examen clinique initial repose sur la recherche par la palpation la présence de gonades au niveau des bourrelets génitaux ou au niveau inguinal. On précisera l'aspect (taille, coudure, position) du bourgeon (pénis chez le garçon, clitoris chez la fille). L'examen des bourrelets génitaux (bourses et scrotum chez le garçon, grandes lèvres chez la fille) ; et de l'infundibulum urogénital (fermé chez le garçon, ouvert chez la fille) ces trois composantes des organes génitaux externes sont particulières et évoquent des organes génitaux indifférenciés comme entre la sixième et la douzième semaine de la vie fœtale (Khezouz A ,2018).

#### **VI.1.2.1. Le bourgeon génital**

Dans toute anomalie de différenciation sexuelle, le bourgeon génital présente une coudure qui siège sur les corps caverneux et un capuchon ou tablier prénuptial, dorsal, plus ou moins hypertrophique par rapport à la taille du bourgeon lui-même.

La taille du bourgeon génital et plus particulièrement des corps caverneux est un paramètre important qu'il faut noter. L'orifice urétral est implanté soit à la base du bourgeon soit en position franchement périnéale.

La taille normale du bourgeon génitale est de 3,5cm +/-0,5 à la naissance, et de 4

a 6 cm entre 1 et 10 ans (Khezouz A ,2018).

### **VI.1.2.2. Les bourrelets génitaux**

Les bourrelets génitaux peuvent prendre divers aspects. Ils peuvent être striés transversalement, d'aspect scrotal, ou au contraire, lisses évoquant plutôt des grandes lèvres. L'une et l'autre des apparences peuvent être combinées sur le même sujet de façon totalement asymétrique. Les bourrelets génitaux peuvent contenir une gonade. La présence d'une gonade de type testiculaire palpable dans l'un des bourrelets génitaux ne permet cependant pas de préjuger du sexe définitif de l'enfant (Khezouz A ,2018).

### **VI.1 .2.3.Sinus uro-génital(UG)**

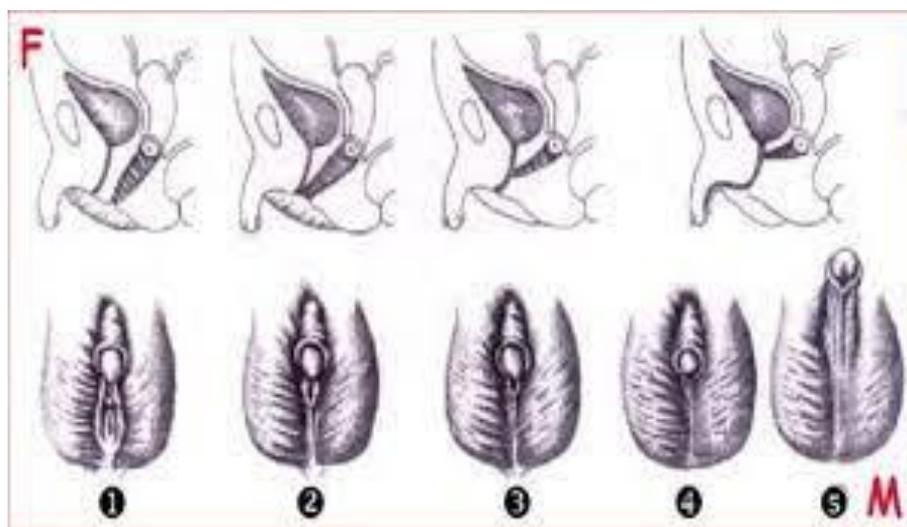
Le sinus uro-génital peut prendre différents aspects, l'aspect le plus fréquent reste la présence d'un orifice uro-génital ouvert dans un sillon muqueux, lorsque l'orifice est situé à la base du bourgeon génital, les deux bourrelets sont séparés par un sillon cutané, lorsque l'orifice est plus postérieur, le sillon est muqueux.

Il est séparé les bourrelets et se termine en arrière par un orifice unique. Cet examen clinique initial permet de reconnaître l'ambiguïté des OGE qui ont été classées selon la classification de PRADER en 5 stades :

- Stade 1 : hypertrophie clitoridienne, fente vulvaire normale.
- Stade 2 : hypertrophie clitoridienne, fusion postérieure des gonades lèvres, les orifices urétral et vaginal demeurent distincts.
- Stade 3 : hypertrophie importante du clitoris, fusion quasi complète des gonades lèvres entourant un orifice unique qui débouche sur un sinus urogénital.
- Stade 4 : verge plus ou moins développée, recouverte d'un prépuce incomplet, fusion complète des bourrelets génitaux, orifice urogénital unique et de petite taille à la base de la verge donc aspect d'hypospade périnéal avec sinus urogénital bas.
- Stade 5 : la verge est bien développée, le prépuce circonférentiel est complet, l'orifice urogénital est à l'extrémité du gland. Le scrotum est plat et vide.

Cet examen clinique initial permet aussi de définir le pseudohermaphrodisme féminin PHF ou il n'y a pas de gonade palpable, le PHM ou au moins une gonade palpable.

Les hermaphrodismes vrais ou les dysgénésies gonadiques asymétriques ne seront séparés du cadre des PHM qu'après l'enquête multidisciplinaire spécialisée (Khezouz A, 2018).



**Figure 10 : Classification de Prader (Smiti Y,2016)**

### VI.1.3. Enquête multidisciplinaire spécialisée

Cette enquête comprend l'étude de l'anatomie génitale interne l'étude génétique et les explorations endocriniennes.

#### VI.1.3.1. Etude de l'anatomie génitale interne

L'appareil génital féminin est l'appareil de la reproduction chez la femme. Il comprend des organes génitaux internes qui sont : les ovaires, trompes, utérus et vagin.

Les ovaires sont les gonades sexuelles de la femme Ils sont situés de chaque côté de l'utérus. Ils ont une double fonction

Endocrine : production hormonale (œstrogènes et progestérones)

Exocrine : production des ovules pour la fécondation

Les ovaires ont la forme d'amandes. Chez une femme en âge de procréer, ils mesurent 3 à 4 cm de long, 2 cm de large et 1 mm d'épaisseur. Sa couleur est rose nacré.

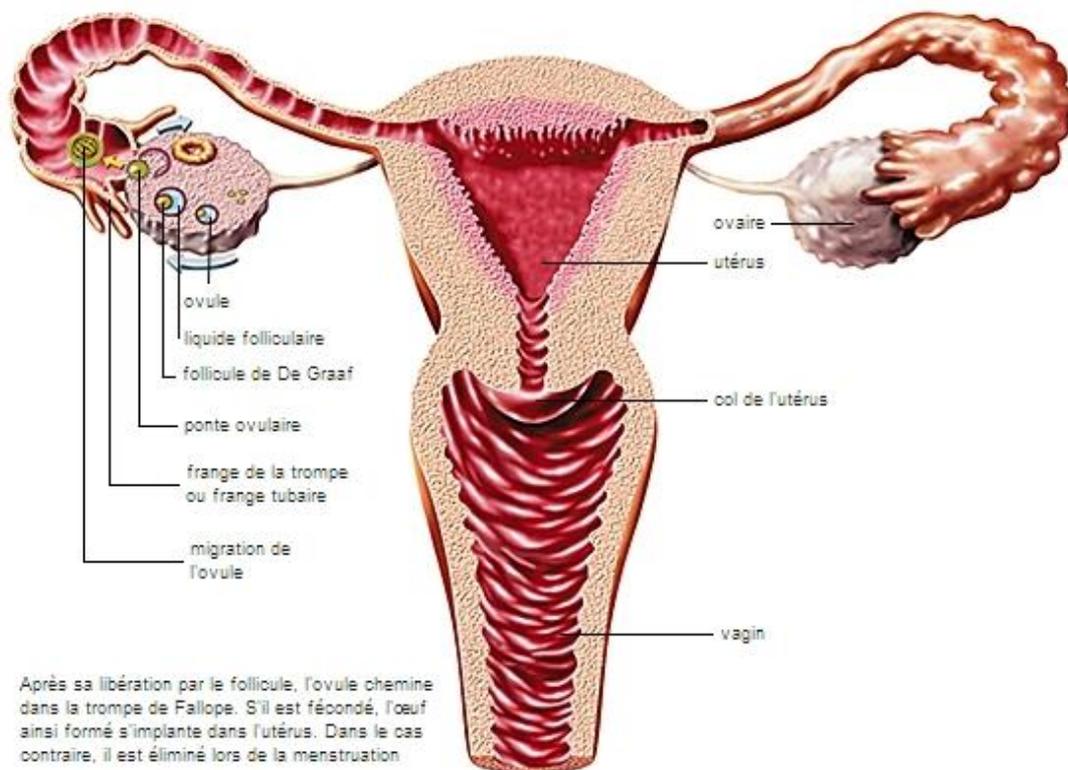


Figure 11 : structure des ovaires (papillon K, 2014)

L'ovaire se compose de deux zones :

Une zone centrale appelée la moelle, contient de nombreux vaisseaux et a un rôle nourricier ;

Région périphérique ou corticale composée de tissu conjonctif : le stroma dans lequel se trouvent les follicules.

Les follicules sont de petites formations rondes qui contiennent chacune une cellule sexuelle ou un œuf immature entouré d'une ou plusieurs couches de cellules.

Les trompes de Fallope sont deux tubes qui s'étendent de l'utérus aux ovaires. L'ovule expulsé par l'ovaire au moment de l'ovulation est ramassé par le pavillon de la trompe, puis transféré dans l'utérus à travers les cils qui forment la paroi des trompes. L'ovule est ensuite fécondé par le sperme dans le tube. L'embryon formé est poussé à travers les cils dans la cavité utérine. Elles mesurent de 10 à 14 cm de longueur. Leur diamètre va de 3 à 8 mm. Chaque trompe est composée de quatre parties (de l'utérus vers l'ovaire) : Partie interstitielle et Isthme, Ampoule, Pavillon.

L'utérus est l'organe destiné à contenir l'ovule fécondé, à assurer son développement (le fœtus puis le foetus) et à l'expulser lorsqu'il atteint la fin de son développement.

L'utérus est un organe creux aux parois musculaires (le myomètre), dont la lumière est reliée aux trompes de Fallope et à la lumière du vagin.

La cavité utérine est tapissée d'une muqueuse appelée « endomètre ». Le détartrage périodique de l'endomètre est la norme. Lorsqu'il y a fécondation, l'ovule fécondé est implanté dans la muqueuse utérine.

Les contractions utérines à la fin de la grossesse sont généralement une indication du début du travail.

- L'utérus est en forme de poire, situé dans le petit bassin, entre la vessie à l'avant et le rectum à l'arrière. L'utérus mesure 6,5 cm de long, 4 cm de large et 2 cm d'épaisseur dans le vide. Il mesure 8 cm de longueur, 5 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur en naissance multiple. La taille de l'utérus augmente jusqu'à 35 cm en fin de grossesse (utérus enceinte).

- L'utérus se compose de 3 parties (de haut en bas) :

Le corps de l'utérus, il pénètre dans la trompe de Fallope et où l'ovule fécondé est implanté.

L'isthme de l'utérus est un rétrécissement dans la partie inférieure du corps de l'utérus.

Col de l'utérus. Le col lui-même se compose de trois parties, dont la moindre se trouve dans la cavité vaginale. Un tube appelé canal endocervical traverse le col de l'utérus. L'ouverture supérieure qui relie ce canal à la cavité utérine est appelée ouverture interne. L'ouverture inférieure qui relie ce canal à la cavité vaginale est appelée orifice externe.

\*Le vagin est un canal qui s'étend du col de l'utérus à la vulve. L'influx foetal passe par le vagin lors de l'accouchement et de l'expulsion.

- Le vagin est situé dans le petit bassin, entre la vessie en avant et le rectum en arrière et l'utérus en haut. Sa direction est inclinée vers le haut et vers l'arrière à un angle de 70 degrés avec l'horizontale. Sa longueur moyenne est de 8 cm.

-L'extrémité supérieure du vagin est en forme de coupe, l'arrière est plus profond.

L'extrémité inférieure du vagin s'ouvre dans le vestibule. C'est l'ouverture inférieure du vagin. Chez les femmes vierges, cette ouverture se rétrécit à travers un pli de la membrane muqueuse du vagin appelé hymen.

\*L'urètre s'ouvre sur la paroi vaginale antérieure du vestibule à travers une ouverture appelée méat urétral.

\* La vulve est l'ensemble des organes génitaux externes de la femme. C'est un organe érectile qui participe aux rapports sexuels.

\* Les grandes lèvres définissant latéralement la vulve mesurent 8 cm de long. Le diamètre de l'ouverture de la vulve est d'environ 2 cm.

La vulve se compose de différentes parties :

- Grandes lèvres : deux grands plis cutanés s'étendant de l'avant (l'aîne) vers l'arrière (le périnée). Leur face externe est couverte de poils et leur face interne est lisse

- Mont Vénus : Une protubérance médiane située en avant de la vulve dans la partie inférieure de l'abdomen
- Petites lèvres : plis cutanés ressemblant à du mucus. Situé à l'intérieur des grandes lèvres
- Clitoris : un organe érectile puissant. Formé de corps caverneux et d'enveloppes
- Bulbes vestibulaires : deux organes dressés situés de part et d'autre de l'ouverture inférieure du vagin
- Glandes de Bartholin : Deux glandes situées de chaque côté de l'arrière de l'orifice vaginal inférieur. Il se termine par un petit canal dans la vulve.
- Vestibule : zone délimitée par les petites lèvres, le clitoris et la fourche postérieure. (Lemseffer A, 2004).

**Le système génital masculin** comprend le pénis, le scrotum, les testicules, l'épididyme, le canal déférent, la prostate et les vésicules séminales.

Le pénis et l'urètre font partie du système urinaire et reproducteur. Le scrotum, les testicules, l'épididyme, le canal déférent, les vésicules séminales et la prostate constituent le reste du système reproducteur.

Le pénis se compose de la racine (qui s'insère dans les structures ventrales inférieures et les os pelviens), la partie visible des corps caverneux et le gland (la pointe conique).

Le pénis et l'urètre font partie du système urinaire et reproducteur. Le scrotum, les testicules, l'épididyme, le canal déférent, les vésicules séminales et la prostate constituent le reste du système reproducteur.

Le pénis se compose de la racine (qui s'insère dans les structures ventrales inférieures et les os pelviens), la partie visible des corps caverneux et le gland (la pointe conique). L'ouverture de l'urètre (le conduit qui transporte le sperme et l'urine) est située à l'extrémité du gland, dont la base s'appelle la couronne. Chez les hommes non circoncis, il recouvre le pli cutané, le prépuce, le gland et la couronne. Le pénis est constitué de trois structures cylindriques (corps remplis de sang) qui sont elles-mêmes constituées de tissu érectile. Le plus grand des deux, les deux corps caverneux, se trouvent côte à côte. Le troisième, le corps spongieux, entoure une grande partie de l'urètre. Lorsque ces structures se remplissent de sang, le pénis devient plus gros et plus rigide (érections).

Le scrotum est un sac constitué d'une épaisse couche de peau qui entoure et protège les testicules. Le scrotum agit également comme un système de contrôle de la température des testicules, qui doivent rester légèrement en dessous de la température corporelle pour que les spermatozoïdes se développent normalement. Ainsi, les muscles de la paroi scrotale se détendent pour permettre aux testicules de s'éloigner du corps, et de se refroidir ou de se contracter pour qu'ils se rapprochent et ainsi se réchauffent ou se protègent (Irvin H, 2019).

Les testicules sont des structures de forme ovale, leur longueur moyenne varie entre 4 et 7 cm, et leur volume moyen est compris entre 20 et 25 ml. Le testicule gauche est généralement légèrement plus bas que le droit.

Ils ont deux fonctions principales :

Production de sperme (qui porte des gènes humains),

Sécrétion de testostérone (la principale hormone sexuelle masculine).

Le canal déférent est un tube dur (environ la taille d'un fil de spaghetti) qui transporte le sperme de l'épididyme. Le canal déférent part de chacun des épидидymes, atteint l'arrière de la prostate et rejoint l'une des vésicules séminales dans le scrotum.

L'épididyme est un conduit microscopique enroulé unique d'une longueur totale d'environ 6 m. L'épididyme recueille les spermatozoïdes du testicule et leur fournit les moyens de mûrir et d'acquérir la capacité de voyager à travers le système reproducteur féminin et de féconder un ovule. L'épididyme est situé en face de chaque testicule (Irvin H, 2019..

L'urètre a une double fonction chez l'homme. Ce conduit fait partie des voies urinaires qui transportent l'urine de la vessie, mais il fait également partie du système reproducteur qui permet l'éjaculation du sperme.

La prostate est située directement sous la vessie et entoure l'urètre. La prostate chez les jeunes adultes a environ la taille d'une noix, mais sa taille augmente avec l'âge. Lorsqu'il devient trop gros, il peut obstruer l'écoulement de l'urine à travers l'urètre en raison de son élargissement et provoquer des symptômes urinaires désagréables

Les vésicules séminales situées au-dessus de la prostate s'unissent au canal déférent pour former les canaux éjaculateurs qui s'étendent dans la prostate. La prostate et les vésicules séminales produisent un liquide qui nourrit le sperme. Ce fluide nutritif constitue la majeure partie du volume de sperme, le fluide dans lequel les spermatozoïdes sont présents lors de l'éjaculation (Irvin H, 2019).

●**Echographie :**

L'examen échographique permet de rechercher la présence d'un utérus avec une éventuelle ligne de vacuité ou d'un reliquat utérin, parfois la présence d'une cavité Mullérienne rétro vésicale si elle est distendue.

A haute résolution l'échographie permet de rechercher la présence d'un utérus avec une éventuelle ligne de vacuité ou d'un reliquat serin parfois la présence d'une cavité Mullérienne rétro-vésicale si elle est distendue..

A haute résolution l'échographique permet de repérer le siège exact d'une ou des gonades non palpables avec une sensibilité de 76% et une spécificité de 100% mais ne renseigne pas sur sa fonctionnalité (Khezouz A ,2018).

●**Génitographie :**

La génitographie est un examen fondamental dans l'étude des ambiguïtés sexuelles.

Elle réclame aussi un opérateur habitué pour sa réalisation. L'injection rétrogradé du produit de contraste à l'aide de deux sondes ou d'une canule permet d'opacifier lorsqu'elle existe la cavité Mullérienne postérieure .Le niveau de son implantation sur la face postérieure de l'urètre en fonction de la longueur totale de celui-ci peut être précisé autrement dit il permet de préciser le siège de la fistule urétéraux vaginale au niveau de l'urètre postérieur.

On classe le type de fistules en trois groupes :

Type A : au niveau du tiers inférieur de l'uretère postérieur.

Type B : au niveau du tiers moyen.

Type C ; au niveau des eaux du tiers supérieur dans la zone du sphincter externe de la vessie (Khezouz A ,2018).

●**Endoscopie ;**

L'endoscopie urogénitale faite sous anesthésie générale avec des conditions d'asepsie

Chirurgicale précise les données de la génitographie en particulier la hauteur d'implantation de la cavité Mullerienne lorsqu'elle existe. Quand la génitographie n'a pas mis en évidence de cavité postérieure l'endoscopie permet de confirmer ou d'infirmer ce fait (Khezouz A, 2018).

●**Cœlioscopie :**

Un examen cœlioscopie de la cavité abdomino-pelvienne peut dans certain cas peut se révéler précieux pour préciser l'anatomie génitale interne tant au plan des structures Mullérienne que des gonades. Elle est utile lorsque l'on recherche une dysgénésie gonadique asymétrique ou un hermaphrodisme vrai (Khezouz A ,2018).

●**L'axe génital est de type féminin :**

Dans la grande majorité des cas, l'examen clinique initial aura révélé une PHF, et la féminisation de la chirurgie génoplastique pourra être envisagée. Le degré de masculinité de l'enfant peut ensuite être évalué à l'aide de la notation de Prader (Khezouz A, 2018).

●**L'axe génital médian n'est pas de type féminin complet :**

Cette situation se rencontre dans le PHM, dans la dysgénésie gonadique asymétrique et l'hermaphrodisme vrai, dans ces cas toutes les formes anatomiques cliniques peuvent être retrouvées d'un axe féminin presque complet avec un petit utérus mince (ou moitiés – utérus) à un axe masculin presque complet avec un système Prostate séminale active. (Khezouz A, 2018).

### **VI.1.3.2. Etude génétique**

●**Le test de Barr :**

Il s'agit d'un test de dépistage simple et rapide qui consiste à prélever des cellules

superficielles de la bouche et à les regarder au microscope pour montrer le corps d'un Barr.

L'existence du corps de Barr dépend de l'existence du second X. Il n'existe ni chez le garçon XY ni dans le cas du caryotype XO. Selon la formule : nombre C-B = nombre de chromosomes X-1.

L'existence du corps de Barr dans plus de 20% de cellule caractérise les filles (46, XX) et sa présence dans moins de 5% de cellules caractérise les garçons (46, XY) et les formules chromosomiques comportant un seul X, ainsi que sa présence dans moins de 20% des cellules fait suspecter une mosaïque (Khezouz A, 2018).

#### ●Le caryotype :

Une étude systématique du caryotype des lymphocytes obtenus par prélèvement sanguin est réalisée. Le résultat est obtenu après 2 à 3 semaines, un caryotype standard des chromosomes est établi à la métaphase.

Cette étude nous renseigne sur le nombre de chromosomes mais ne permet pas de détecter des réarrangements structurels. Ce réarrangement ne peut être détecté qu'en utilisant plus de techniques ; vérifiez les gammes qui utilisent des couleurs changeantes. Techniques des bandes Q et C pour la détection des réarrangements du chromosome Y (Khezouz A, 2018).

#### ●La recherche du gène SRY :

#### Méthode d'hybridation in situ avec des sondes fluorescentes FISH :

Des séquences d'ADN complémentaires au séquençage des gènes sont préparées in vitro et couplées à des sondes fluor chromatiques. Cette sonde ainsi que les chromosomes sont chauffés, provoquant la séparation des brins complémentaires. Il est ensuite signalé et laissé refroidir. De cette façon, la sonde peut s'apparier avec sa séquence homologue sur le chromosome. Nous obtenons donc de l'ADN hybride. Cela permet de localiser le gène à l'aide d'un microscope à fluorescence (Khezouz A, 2018).

#### PCR (polymérase Chain réaction)

À partir d'un échantillon d'ADN (une goutte de sang), cette technique permet d'obtenir

rapidement une quantité importante et utilisable d'un fragment d'ADN spécifique (Khezouz A, 2018).

### **VI.1.3.3. Explorations endocriniennes**

Les explorations endocriniennes comptent sur ;

La présence ou non de gonades palpables, dans les bourrelets génitaux ou en position inguinale.

L'existence ou non de dérivés Mulleriens a l'échographie pelvienne (Khezouz A, 2018)

#### **VI.1.3.3.1. Absence des gonades**

Il s'agit d'une PHF et probablement d'une femelle nouveau-née 46, XX. La masculinisation fœtale est associée à une augmentation des androgènes au cours de la vie intra-utérine, qu'ils soient d'origine non active ou exogène. Le sexe choisi est féminin dans tous les cas (Khezouz A, 2018).

##### **VI.1.3.3.1.1. Hyperplasie congénitale des surrénales (HCS)**

L'hyperplasie congénitale des surrénales est une maladie associée à une mutation génétique responsable de la production excessive de testostérone au cours de la vie dans l'utérus. Une patiente de 15 ans atteinte de cette maladie a été observée, alors qu'elle observait un traitement hormonal substitutif, la présence d'une « prostate » a été détectée lors d'une IRM réalisée pour évaluer les douleurs pelviennes chroniques et les troubles des voies urinaires (Faradji A, 2020).

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) définit un groupe de maladies autosomiques récessives dont le déficit en 21-hydroxylase qui est la forme la plus courante. Cette maladie montre une bonne relation entre le phénotype et le génotype, il existe un dépistage néonatal. Deux formes sont décrites, la forme classique, avec ou sans perte de sel et la forme non classique avec détection ultérieure. La forme classique représente la première cause d'ambiguïté sexuelle chez les filles. Un traitement prénatal peut être proposé si le fœtus est à risque de HCS dans sa forme classique. Dans les deux sexes, le traitement est association de glucocorticoïdes associés à des minéralocorticoïdes dont le conditionnement doit permettre une croissance satisfaisante en taille et puberté, fertilité (Lebrethon, M, 2006.)

Maladies héréditaires de la synthèse hormonale de la corticosurrénale, elles sont la cause la plus fréquente des cas de PHF. La stimulation des organes reproducteurs se produit en raison de la production excessive d'androgènes convertis en testostérone.

Le point commun de tous les PDF par HCS est la présence d'organes génitaux internes qui sont toujours normaux, quel que soit le degré de masculinité des organes génitaux externes.

Le déficit en 21-hydroxylase est le plus fréquent (9/10 fois). Alors que le déficit en 11-bêta-hydroxylase est plus rare (Khezouz A, 2018).

- **Bloc en 21-hydroxylase :**

C'est le plus fréquent (90-95%) et concerne 1/14000 naissances. Son dépistage sur papier buvard est réalisé en France .Il se révèle en période néonatale par une ambiguïté des organes génitaux externe , accompagnée inconstamment d'une perte de sel avec hyponatrémie sévère par déficit en aldostérone. La 17-OH progestérone plasmique est très élevé , supérieure à 50ng/ml , et confirme le diagnostic. Les autres androgènes surrénaliens , delta-4-androstènedione sont élevé . Le cortisol est normale ou bas et l'adrenocorticotrophic hormone (ACTH) élevée. Le diagnostic prénatal est pratiqué dans les grossesses à risque et le traitement prénatal par la dexaméthasone semble efficace sur la réduction des anomalies génitales des filles atteintes ( Khezouz A,2018).

- **Bloc en 11-bêta-hydroxylase**

Il représente 5% des hyperplasies congénitales des surrénales. Sa présentation clinique est la même que celle d'un bloc de 21-hydroxylase. Il n'y a pas de perte de sel. Le diagnostic biologique porte sur l'élévation du complexe S (composé intermédiaire dans la voie de biosynthèse des glucocorticoïdes) et de la désoxycorticostérone (DOC), responsable de l'hypertension artérielle (HTA) à la puberté (Khezouz A, 2018).

### VI.1.3.3.1.2. Déficit en Aromatase placentaire

L'aromatase est l'enzyme qui stimule la conversion des androgènes en œstrogènes. Le déficit en aromatase placentaire peut conduire au PHF. Le diagnostic peut être suspecté en raison de l'ambiguïté sexuelle XX lorsque l'hyperplasie congénitale des surrénales due au bloc enzymatique a été exclue (Khezouz A, 2018).

Les cas rapportés de carence en œstrogènes sont rares. La biosynthèse des œstrogènes à partir des stéroïdes C19 est catalysée par un complexe enzymatique appelé aromatase, qui à son tour dénature le cycle A des androgènes pour former un noyau phénolique, ce qui entraîne une perte du groupe méthyle en C19, Œstrogène à 18 carbones. Ce composé est situé dans le tissu endothélial réticulaire et se compose de deux ingrédients : l'un est le cytochrome Aromase P450 est un produit le gène CYP19. Le eene a été localisé en 15q2 1 (Chen S, 1988) ; L'autre élément est la flavoprotéine ubiquitinée, la NADH-cytochrome P450 réductase, Ce qui assure l'équilibre redox du système. L'expression de P450 arom chez les rongeurs est limitée aux gonades et au cerveau, et est plus générale dans les tissus humains ; alors que chez le fœtus, le placenta est principalement responsable. Le gène s'étend sur au moins 75 kb, il compte 9 exons codants et au moins 4 exons non traduits dans la région 5'. Il existe plusieurs promoteurs et plusieurs types d'épissages alternatifs portant sur des exons non codants, et la protéine est la même dans tous les tissus ; elle contient 503 acides aminés (Harada N,1988).

Jusqu'à présent, très peu de cas de déficit en aromatase sont connus ; Le premier semble avoir été décrit par une équipe italienne (Mango D, et al ,1978) présente un taux d'œstrogène urinaire très bas et une activité aromatase indétectable dans le placenta. Depuis la première de la génétique moléculaire, deux cas ont été étudiés en détail, l'un au Japon. (Harada N,1992a ; Harada N,1992b), et l'autre en États-Unis.( Ito Y,1993) Dans le cas japonais, L'impuissance, se manifeste par une stimulation progressive de la mère, visant à la disparition après la fin de la grossesse, et par la naissance d'une fille présentant des symptômes pseudo-féminins. L'analyse du fragment codant P450arom a montré une insertion de 87 nucléotides, résultant en 29 acides aminés supplémentaires ajoutés sans changement de phase. Cet insert était dans la valine 248 par l'aromatase et ne contenait pas de codon stop.

L'anomalie était une mutation T unique dans l'ADN génomique G, à la jonction de l'exon 6 avec son intron. Le site d'épissage donneur GT normal est converti en GC, mitose

cela ne s'est pas produit et le lien a été reporté au site suivant.

Elle s'est avérée hétérozygote et confirme le caractère autosomique récessif de la maladie (Ito Y,1993) Le deuxième cas n'a pas été détecté pendant la grossesse ou à la naissance malgré une ambiguïté sexuelle C'était une petite fille de 18 ans, ayant présenté une aménorrhée primaire ; La biopsie ovarienne à 17 mois a montré la présence de kystes ovariens.

Analyse de séquence :

Les fragments codants ont d'abord montré la mutation C264R, qui s'est avérée rare mais pas un polymorphisme pathologique ; deux mutations pathologiques ont été trouvées : R435C et C437Y. Toutes les deux sont hétérozygotes, indiquant que le patient est un hétérozygote composite, ce qui a été partiellement confirmé par l'étude de la mère (le père était décédé et il n'y avait pas d'autre enfant). L'utilisation des vecteurs transfectés a montré très peu ou pas d'activité mutagène malgré la présence de la protéine en quantités normales. Ces deux mutations faux-sens se trouvent dans la région de la protéine de liaison à l'hème. L'un d'eux élimine la réaction en éliminant la cystéine qui se lie directement au fer ; L'autre élimine l'arginine hautement conservée.

Effets du déficit en aromatasase :

Facile à transporter : chez le fœtus, un manque de conversion des stéroïdes anabolisants en C19 l'amène à se convertir en testostérone à la périphérie. Il en résulte une masculinisation, qui peut affecter la mère, comme dans le cas japonais (mais pas dans le cas américain). La puberté ne se produit pas. Une FSH et une LH élevées conduisent au développement de kystes ovariens, qui peuvent régresser après un traitement aux œstrogènes.

### **VI.1.3.3.1.3. Excès d'androgènes maternels pouvant être d'origine endogène ou Exogène**

#### **•Tumeurs polies**

Rarement, la PHF est secondaire à une tumeur maternelle déclenchée par un virus. Ces tumeurs peuvent être soit dans l'ovaire, soit la glande surrénale (Khezouz A, 2018).

#### **•Thérapies androgéniques chez la mère pendant la grossesse**

Liés aux androgènes et aux progestatifs non-stéroïdes (progestatifs synthétiques dérivés du 19 et sans testostérone. Progestatifs synthétiques (lynestrérol, Noréthistérone) (Khezouz A, 2018).

### **VI.1.3.3.1.4. Autres PHF malformatifs**

Ils sont associés à des anomalies rectales. Voie urinaire ou vertébrale (Khezouz A, 2018).

Bien qu'elle soit sans doute la malformation génitale masculine la plus courante, la cryptorchidie reste une affection mystérieuse et le diagnostic est encore incertain, outre la cryptorchidie isolée ou cryptorchidie « pathologique », il existe toute une série de cryptorchidie « symptomatique », dont on fait appel à elles car elles sont associées à des complexes de déformation très divers. La plupart d'entre eux sont prononcés et dominent le tableau clinique, et beaucoup au contraire ne peuvent passer inaperçus et suspectés que par une migration testiculaire défectueuse. C'est le cas de certaines anomalies ou syndromes endocriniens ou génétiques, qu'il faut mettre en premier lieu, pour les conséquences qui peuvent résulter de cas d'ambiguïté sexuelle non diagnostiqués (Galifer RB , 2004).

### **VI.1.3.3.2. Une ou deux gonades sont palpables**

Il s'agit d'un nouveau-né insuffisant 46XY, ou PHM. La présence ou l'absence de dérivés müllériens à l'échographie du bassin (utérus et vagin) caractérise des anomalies de la production ou de la réceptivité de la testostérone, provenant d'une dysgénésie des testicules ou des gonades qui sécrètent insuffisamment la testostérone et l'hormone antimüllérienne. La génitographie permet de différencier ces deux possibilités :

- La présence du vagin et de la cavité utérine : dysgénésie testiculaire

- Vagin borgne sans cavité utérine : troubles de la synthèse des hormones testiculaires

Le phénotype va du type femelle complet à la présence sous le périnée ou le scrotum. Les gonades sont situées dans les plis génitaux, plus haut ou plus bas dans la région inguinale, ou en position abdominale. (Khezouz A, 2018)

#### **VI.1.3.3.2.1. Défaut de synthèse de la testostérone**

L'hypogonadisme masculin correspond à une diminution de la synthèse de la testostérone et/ou à une altération de la spermatogénèse ou, plus rarement, à une diminution de la sensibilité à la testostérone, induisant un retard pubertaire et/ou une hypofertilité. Le diagnostic repose sur la mesure des concentrations sérique de la testostérone, de la LH et de la FSH et sur les tests de stimulation à l'HCG ou par la gonadolibérine (calabria A, 2020).

Ils sont rares. Défaut de virilisation génital et variable selon la nature et le degré de l'anomalie enzymatique.

Les testicules sécrètent l'hormone antimüllérienne et il n'y a donc pas de dérivé Müllériens.

En fonction de l'anatomie du bourgeon génital et de l'étiologie du PHM, le médecin et le chirurgien aborderont la question du sexe reproducteur de l'enfant. Dans ces cas, la thérapie de remplacement du dépôt de testostérone permet une croissance satisfaisante des bourgeons reproducteurs et le sexe masculin peut être sélectionné.

Un diagnostic de fertilité est incertain. Ce défaut artificiel peut être limité dans le temps, lors de la formation des organes, et explique des cas où les données hormonales sont normales à la naissance.

#### **•Bloc en 3-bêta-hydroxystéroïde**

Il associe l'ambiguïté des organes génitaux externes qui résulte d'une excitation incomplète, avec hypospade et micropénis, avec un phénotype féminin et une perte de sel. Le diagnostic biologique est le même chez la fille (Khezouz A, 2018).

### ●Bloc en 17-alpha-hydroxylase

Il provoque une altération de la virilité (micropénis, hypospade ou phénotype féminin complet) en raison d'une exposition insuffisante à la testostérone in utero.

Il existe souvent un hypercorticisme dû à une surexpression du gène *DOC* avec, après la puberté, une hypertension et une alcalose hypokaliémie. Le cortisol est normal ou faible et l'ACTH est élevée. La testostérone et le delta-4 sont faibles et non stimulés par la gonadotrophine chorionique humaine (HCG).

La prégnénolone, la progestérone, le COD et la corticostérone sont élevés (Khezouz A, 2018).

### ●Bloc en 17-hydroxystéroïde réductase :

Il s'agit d'un bloc testiculaire rare, souvent méconnu à la naissance. Les personnes atteintes ont un phénotype féminin, exceptionnellement PHM. Biologiquement, le diagnostic est posé sur une augmentation du delta-4, bien supérieure à la testostérone, sous HCG. Deux gènes situés sur le chromosome 17 codent pour l'enzyme (Khezouz A, 2018).

#### VI.1.3.3.2.2. Défaut de la réceptivité de la testostérone

La testostérone est une hormone androgène et masculinisante : cela signifie qu'elle contribue à l'apparition et au développement des caractères sexuels masculins.

Les anomalies de sensibilité aux androgènes sont responsables de 70% des PHM dont l'étiologie est reconnue.

Par conséquent, on a des anomalies dans le récepteur aux androgènes et un déficit en 5-alpha réductase (Khezouz A ,2018).

### ●Anomalies du récepteur des androgènes :

Le diagnostic d'insensibilité totale au syndrome androgène, anciennement appelé « testicule féminin » est généralement posé à la puberté avant la ménopause primaire car les organes génitaux externes sont féminins.

L'expression clinique est hétérogène, avec des anomalies allant du micro-pénis avec

hypospade à un phénotype plutôt féminin avec des organes génitaux internes masculins et des testicules ectopiques.

A la puberté, il existe un micro-pénis, une gynécomastie fréquente et une infertilité quasi constante.

Au cours de la période néonatale à la puberté, chacun des hormones LH et AMH et la testostérone sont normale ou élevées.

Une mutation du gène du récepteur aux androgènes est retrouvée dans 25 % des cas où le diagnostic est évoqué cliniquement et biologiquement. Ce syndrome se transmet de manière récessive liée au chromosome X. Son incidence est de 1/100 000 naissances. (Khezouz A, 2018)

●**Déficit en 5-alpha-réductase :**

La di-hydro-testostérone 'DHT' est responsable de la masculinisation utérine des organes génitaux internes et de la maturation sexuelle à la puberté, tandis que la testostérone semble être plus importante pour stimuler les canaux du Wolff pendant le développement sexuel, la formation des organes génitaux internes et la régulation de la sécrétion de gonadotrophine et de la spermatogenèse.

Le déficit en PHM de la 5-alpha-réductase est dû à des mutations du gène de la 5-alpha-réductase. Il affecte le sexe masculin et provoque des anomalies stéréotypées à la naissance, allant d'une apparence entièrement féminine avec un hypospade un petit pénis.

Il y a virilisation à la puberté, ou la concentration de testostérone augmente alors que la DHT reste faible.

Le diagnostic biologique repose sur l'augmentation du rapport testostérone/DHT avant et après hCG (Khezouz A, 2018).

**VI.1.3.3.2.3. Anomalie du récepteur de la LH**

Des mutations inactivantes du récepteur de la LH produisent un modèle altéré chez l'homme qui va de la pseudo-hypertrophie male néonatale dans la forme complète à l'hypothermie modérée dans sa forme partielle .

Chez la femme, le phénotype comprend une oligoménorrhée avec une anovulation. L'activation des mutations du récepteur LH produit une puberté précoce indépendante des gonades chez l'homme et n'a aucune expression clinique chez la femme (Faugeron –Ruel I, 2005).

Le syndrome de résistance du testicule à la LH ou agénésie des cellules de Leydig de transmission autosomique récessive est rare.

Il entraîne chez les sujets 46 ,XY, un phénotype variable à la naissance : micro pénis isolé et PHM.

La testostérone et ses précurseurs sont effondrés et non stimulables par l'HCG, la LH est élevée et la FSH est normale (Khezouz A, 2018).

#### **VI.1.3.3.2.4. Déficit en hormone antimüllérienne**

L'hormone antimüllérienne, ou AMH, a été découverte dans les années 1950 par le chercheur Alfred Jost. Dans les premières semaines de grossesse, et jouent un rôle majeur dans la formation des organes génitaux fœtaux entre la huitième et la dixième semaines de grossesse, les cellules de sertoli sécrètent la substance Mullérienne inhibitrice (MIS) comme on l'appelle aussi dans les gonades (futurs testicules) de fœtus males.

Chez l'homme elle est sécrétée par l'utérus jusqu'à la puberté, pendant la puberté, l'AMH reste exprimée dans le sperme.

Chez les femmes, il apparaît chez elles après l'accouchement, sous l'influence des cellules de la granulosa des follicules. Elle est présente en très faible quantité, et joue un rôle important dans la formation des follicules car elle est un indicateur de la réserve folliculaire (ou réserve ovarienne).

Ce déficit conduit à la persistance des canaux de Muller et est une forme rare de PHM. Elle se caractérise par la présence de l'utérus et des trompes chez les hommes en général. Le diagnostic est généralement posé lors d'une chirurgie de hernie testiculaire ou inguinale (Khezouz A, 2018).

#### **VI.1.3.3.2.5. Dysgénésies testiculaires bilatérales**

Les patients atteints présentent divers degrés d'ambiguïté sexuelle. Leur caryotype est 46,XY, mosaïque XX/XY ou montre une anomalie du chromosome Y. Les testicules avec un manque combiné de fonction leydigienne et les cellules de Sertoli sont hypoplasiques et souvent cryptiques.

Il existe un syndrome de l'utérus, de Drach et de Fraser associé à des mutations dans le gène *WT1*. Le syndrome de la tumeur de Wilms, les malformations urinaires et le retard mental (WAGR) suggèrent que la tumeur de Wilms est associée à l'allergie, l'ambiguïté sexuelle et le retard mental (Khezouz A, 2018).

#### **VI.1.3.3.2.6. PHM idiopathiques**

Les pseudohermaphrodismes masculins (PHM) sont définis par une ambiguïté des organes génitaux externes et internes associée à la présence exclusive de tissu gonadique masculin. C'est une affection rare, héréditaire à transmission autosomique récessive, elle correspond à une altération de la biosynthèse testiculaire de la testostérone. La 17 bêta hydroxy-stéroïde des hydrogénasse permet de transformer l'andro-sténedione en DHT et le delta 4-androstenedione en testostérone (Hadjersi R , 2015).

Les anomalies de croissance des gonades peuvent revêtir plusieurs aspects.

Très rarement, l'hermaphrodisme vrai est le tableau le plus complet résultant de la symbiose du tissu ovarien et des testicules ou des gonades de chaque sexe.

Les organes génitaux sont un groupe de structures dérivées des canaux de Wolff et Muller, et les organes génitaux externes semblent non spécifiques (Khezouz A, 2018).

#### **VI.1.3.3.3. Hermaphrodisme vrai (HV)**

L'hermaphrodisme vrai est très rare et difficile à traiter. Il est dû à des anomalies de la différenciation sexuelle portant sur le gène *SRY* qui joue un rôle majeur dans l'initiation des stades précoces du déterminisme du sexe.

Un diagnostic précoce, même avant la naissance ou à la naissance, peut éviter de nombreuses difficultés avant de déterminer le sexe du fœtus. Ainsi, le développement sexuel peut être guidé par un traitement approprié pour chaque cas (F Mansouri , 2009).

Les éléments des gonades mâles et femelles coexistent bilatéralement et harmonieusement. Les organes génitaux internes sont différenciés selon la sécrétion de gonades homogènes, le sexe génital externe est ambigu, parfois il est dominant féminin mais avec un gros clitoris, parfois il est majoritairement masculin, et le sexe génétique de ce véritable hermaphrodite est majoritairement féminin (Mikol C ,).

Le véritable hermaphrodisme désigne un cas très rare d'hermaphrodisme : il représente environ 5 % des cas d'ambiguïté sexuelle. Une personne a des chromosomes sexuels variables, mais naît souvent avec une ambiguïté sexuelle et la présence de tissus testiculaires et ovariens simultanément. Il existe différentes formes de véritable hermaphrodisme, cela dépend de l'importance du travail du chromosome Y responsable de la masculinité (cardenas J, 2017).

## **VI.2. Diagnostic prénatal**

Au cours de la grossesse, le suivi médicale est double: il se penche sur la santé de la maman (la femme) et plus précisément sur celle du fœtus qu'elle porte (Marion, 2019) .Le diagnostic prénatal tel que nous le connaissons aujourd'hui est loin d'avoir émergé comme une évidence (Mirlesse, 2014).

La découverte prénatale d'une anomalie des organes génitaux externe implique la réalisation d'exploration spécialisée et une approche multidisciplinaire pour établir un diagnostic qui est plus précis et plus bientôt possible, les condition habituelle de découvert d'un désordre du développement sexuel sont la contradiction entre le caryotype fœtal et le phénotype sexuel échographique. La découverte fortuite d'une ambiguïté sexuelle au cours d'une échographie systématique.

Le diagnostic prénatal de l'hyperplasie congénitale des surrénales permet de prévenir le risque d'insuffisance surrénalienne aigu néonatale (Levy R , 2002).

### **VI.2.1. Les moyens diagnostiques**

Actuellement il y'a deux types d'examen pour l'approche prénatal des anomalies génitales : l'échographie et la cytogénétique, la génétique moléculaire et la biochimie (Mirlesse V et al ,2004).

### **VI.2.1.1. Les prélèvements fœtaux**

#### **Amniocentèse**

Elle est réalisée à partir de 11 SA sous une anesthésie locale (Aladlouni, 2007).

#### **Choriocentèse**

C'est une technique invasive de diagnostic prénatale sous échographie qui est utilisée entre la 11 à 13 SA (Dahoun et Sophie, 2013), pour un but de l'évaluation du caryotype fœtal et des anomalies biochimique et moléculaire (Aladlouni, 2007). On prélève plus de 15 à 20 mg pour obtenir un résultat de caryotype conventionnel en 6 à 8 j (Cherier, 2016).

#### **Cordocentèse**

Le prélèvement de sang fœtal du cordon peut également dans certains cas être indiquée (Madeuf, 2013) réalisé entre 18 à 40 SA ; c'est une technique qui prélève du sang fœtal par ponction de la veine ombilicale au niveau de l'insertion coronale (Cherier, 2016).

### **VI.2.2. La prise en charge durant la période prénatale**

La prise en charge d'un nouveau-né passant par l'indication rapide et dans le plus grand secret de la chirurgie (Franziska et al, 2016), La décision de la chirurgie doit être multidisciplinaire associant gynécologues, généticiens, cytogénéticiens, endocrinologues pédiatres et biologistes spécialisés. Une prise en charge psychologique du couple est nécessaire de même qu'une large concertation entre les différents acteurs afin d'avoir un langage unique vis-à-vis de ce couple (Morel Y et al, 2003).

La prise en charge est à but de :

Permettre le choix rapide du sexe et d'effectuer un diagnostic rapide du type ambiguïté sexuelle. Et d'écarter les pathologies pouvant mettre en danger la vie du nouveau-né (Franziska et al, 2016)

### **VI. Le choix du sexe**

C'est une étape essentielle qui détermine la vie de l'individu. Il doit donc être fait par une équipe médicochirurgicale habituée à prendre en charge les enfants qui ont une intersexualité. Il doit correspondre à la situation dans laquelle le développement pubertaire et la vie sexuelle adulte seront le plus proches possibles de la normale (Harmtalla S, 2018), alors en

pré-labilité une enquête médicochirurgicale doit être réalisée pour guider le choix du sexe avant de faire la génitoplastie. Il doit tenir compte en dehors du diagnostic étiologique d'un certain nombre de considération pour assure à l'enfant les meilleure possibilités d'évolution (Mialy,2005) (Bouvattier, 2016).

Lorsque le choix du sexe est difficile, la confirmation opératoire des données anatomiques et de l'examen biologique extemporané des gonades pouvant être nécessaires pour la décision. Les conditions anatomiques sont en effet l'élément du choix du sexe.

Dans ce tableau nous montrons les éléments en faveur d'un choix féminin ou masculin : (Harmatallah S, 2018).

**Tableau 02** : les éléments en faveur d'un choix féminin ou masculin.

Choix féminin	Choix masculin
<p>*La présence d'une cavité utérine ou d'une cavité vaginale permettant une plastie,</p> <p>*L'hypoplasie majeure du bourgeon génital et l'absence de réponse de ce bourgeon à l'administration de testostérone.</p>	<p>* La longueur du bourgeon génital supérieur à 20mm avec des corps caverneux corrects ,</p> <p>* La réponse nette du bourgeon génital à l'administration de testostérone ,</p> <p>*La cavité vaginale petite ,</p> <p>*La capacité à sécréter de la testostérone</p>

Un délai de quatre à six semaines après la naissance permet de faire les examens nécessaires au diagnostic étiologique et de tester la capacité du bourgeon génital à se développer sous testostérone lorsqu'on s'oriente vers un choix de sexe masculin. Ce délai peut être obtenu auprès des autorités légales (Harmatallah S, 2018).

Enfin , il faut va dire que le choix du sexe doit être fait avec une grande précaution et après une étude minutieuse des possibilités anatomiques et fonctionnelles des organes génitaux externes de nouveau- né ayant une anomalie de la différenciation sexuelle (Abdelkader,2003).

## **VII. Législation et ambiguïté sexuel**

Certains pays d'Europe prévoient l'hypothèse d'un sexe neutre ou indéterminé dans l'enregistrement des certificats de naissance comme le Royaume-Uni , la Lettonie ,les Pays-Bas, le Portugal ou encore l'Allemagne depuis la loi du 7 mai 2013 (khezouz A et al,2018).

Dans le « Dahir du 4 septembre 1915 » constituant l'état civil au Maroc, il est important de noter au chapitre II des actes de naissances.

Article 23 : « l'acte de naissance énoncera le jour, l'heure et le lieu de naissance, le sexe de l'enfant et le prénom qui lui sera donné ».

Article 21 : « les déclarations de naissance se font dans le premier mois. Ce délai dépassé, la déclaration ne peut être établie qu'en vertu du jugement rendu par le tribunal de première instance ».

Le chapitre V : concerne la rectification des actes de l'état civil qui est ordonnée par le président du tribunal de première instance. La lettre doit être appuyée par un certificat médical justifiant la nécessité du changement (Harmatallah S, 2018).

## **IX. Traitement**

Dans le cas de l'ambiguïté sexuel le traitement appelé à l'institution d'une stratégie thérapeutique complexe et multidisciplinaire la prise en charge tsera de :

\*caractère médicale

\*caractère chirurgicale

\* caractère psychothérapeutique

Le traitement sera institué après l'exploration d'une ambiguïté qui se fera en quatre temps:

\*exploration clinique

\*exploration hormonale

\*exploration génétique

\*exploration chirurgicale (Abdelkader, 2003.)

## **IX.1. Traitement chirurgical**

Le traitement chirurgical est a pour but la correction des anomalies anatomiques de l'indifférenciation sexuelle par un chirurgien spécialiste dans le premier mois de la vie jusqu'à la puberté (Abdelkader, 2003.)

Le traitement chirurgicale :

La quasi-totalité des anomalies génitales peut être chirurgicalement corrigée avec un très bon résultat esthétique.

Ablation des gonades normales et des structures conductrices qui sont contraire au genre car elle est susceptible de dégénérescence maligne (Kwame kossi, 2003).

Ablation du pénis, scrotum et les testicules avec la création d'un néo-vagin.

Ablation du vagin et les éléments féminins du sexe avec la création un néo-pénis.

A noter que l'intervention dans le sens masculin est la plus difficile (Abdlkader, 2003).

### **Conduite à tenir vis-à-vis des gonades**

-Dans les PHF, les ovaires sont normaux, en revanche dans les PHM, quand le choix de sexe est féminin, la gonadectomie est faite dans le même temps opératoire que la génitoplastie .le niveau de risque de néoplasie gonadique sur les gonades dysgénésiques contenant du matériel Y est discuté

-Dans les hermaphrodismes vrais et certaines dysgénésies gonadiques asymétriques, il est possible de différencier la zone testiculaire et la zone ovarienne pour réaliser une gonadectomie partielle, quitte à la compléter à la puberté si la gonade s'avère non fonctionnelle (Khezouz A et al, 2018).

### **Age de la chirurgie**

La correction chirurgicale est habituellement programmée entre l'âge de 2 et 6 mois, principalement pour des raisons psychologiques concernant à la fois les parents et l'enfant. Il est certainement assez traumatisant pour la mère de voir sa fille avec des organes génitaux externes anormaux à chaque change. Il est également admis qu'une apparence normale des organes génitaux est importante pour l'enfant afin de développer son identité sexuelle bien

que cette détermination soit multifactorielle et reste mal connue (Harmallah S ,2018).

### **Génitoplastie féminisante :**

Dans quatre types d'ambiguïtés sexuelles : 46, XX DSD (femelle pseudohermaphrodisme féminin) , ovotestis DSD (hermaphrodisme vrai), dysgénésie gonadique mixte et dysgénésie gonadique 46,XY (dysgénésie gonadique pure), le sexe féminin qui est proposé pour ces enfants et la féminisation des organes génitaux ou génitoplastie féminisante s'impose.

Après la naissance et qui doit comporter :

-Clitoroplastie

-Vagin-plastie (Acimi S, 2015).

### **Clitoroplastie**

En association avec le vagin-plastie, la reconstruction clitoridienne chez les patients présentant des anomalies de différenciation sexuelle était l'un des principaux sujets de recherche et de discussion scientifique d'autant plus qu'il est important d'avoir des résultats postopératoires satisfaisants aussi bien sur le plan esthétique que sur le plan de la fonction sexuelle chez ces patients (Harmatallah, 2018).

L'hypertrophie clitoridienne était traitée dans le passé tout simplement par une clitorectomie . Cependant, le gland est un organe important pour la sensibilité érotique de la femme, et son ablation est une pratique mutilante et illogique. Donc, le souci des spécialistes était de développer une technique qui permette de réduire la taille du phallus tout en préservant un gland sensible (Acimi S ,2015).

### **Vagin plastie**

L'anatomie lésionnelle joue un rôle fondamentale . En effet, selon l'anatomie de l'axe génital , on aura recours à une vagin plastie simple à une vagin plastie avec abord périnéal complet pour abaisser la cavité vers le périnée ou à une vagin plastie de remplacement par transfert de lambeau colique, le vagin plastie de remplacement utilisant un lambeau colique est effectué après la puberté essentiellement dans les PHM avec insensibilité aux androgènes (Khezouz A , 2018).

## **La génitaux-plastie masculinisant**

La génitaux-plastie masculinisante comprend plusieurs types d'interventions :

-Cure d'un hypospadias (le plus souvent postérieure).

-Abaissement testiculaire.

-Correction d'anomalies scrotales.

Elle concerne les garçons insuffisamment virilisés pour lesquels un bilan est toujours nécessaire un caryotype et un bilan hormonale, dans 50% des cas une étiologie précise est retrouvée : un caryotype normale (46, XY DSD) associé à une anomalie de production de métabolisme ou d'action des androgène ou au contraire anomalies des chromosomes sexuels ( Grapin-dagorno C ,2015).

### **IX.2. Traitement hormonal**

Le traitement consiste en la prescription d'androgènes ou d'œstrogènes. Après l'assignation du sexe au nouveau-né, le traitement hormonal entrepris aura pour visée essentielle le renforcement du sexe assigné et le blocage du développement des éléments constituant du sexe opposé (Abdelkader,2003). Le traitement prénatal des fœtus femelles déficients en 21-hydroxylase par la dexaméthosone est de plus en plus préconisé quand bien même il est possible d'avoir quelques effets non favorables mais rares (Kwami kossi, 2003).

### **IX.1. Traitement des blocs surrénaliens**

En cas d'hyperplasie congénitales des surrénales faites d'hydrocortisone per os qui associée à des minéralocorticoïde à des base de fludrocortisone (Mialy, 2005.)

### **IX.2. Traitement androgénique**

dans le cas de déficit ou de castration le traitement androgénique est nécessaire . Le déclenchement de la puberté se fait quand l'âge osseux est supérieur à 11 ou 12 ans ; il est basé sur l'administration régulière d'oestroprostatifs (Mialy, 2005) ,par des injections mensuelles de doses progressivement croissantes de testostérone retard. Le traitement androgénique est également utilisé en période néonatale pour augmenter la taille du bourgeon

génital et vérifier la réceptivité aux androgènes avant la chirurgie correctrice (Khezouz A et al ,2018).

### **IX.3. Induction de la puberté chez les filles 46XY**

L'absence de développement de la puberté est due à une anomalie de fonctionnement des ovaires (dysgénésie ovarienne). A partir de l'âge normal de la puberté, l'apport des hormones qui sont normalement fabriquées par l'ovaire, œstrogènes dans un premier temps puis œstrogènes et progestérone, est indispensable. La jeune fille reçoit un traitement dit substitutif, d'abord pour induire la puberté (traitement par œstrogènes). A l'âge adulte, le traitement substitutif, par œstrogènes et progestérone, doit être maintenu (sauf contre-indications). Il est actuellement conseillé de prolonger le traitement après l'âge normal de la ménopause car il protègerait de l'ostéoporose.

Dans un nombre minime de cas, lorsque du matériel du chromosome Y a été détecté au caryotype, une ablation des ovaires est nécessaire car il existe alors un risque de c (Carel JC .2011) cancérisation.

---

## *Partie pratique*

## **I. Patients et méthodes**

### **1.1. Patients**

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive ayant comme principale visée la recherche du gène SRY chez une famille présentant plusieurs membres présentant une ambiguïté sexuelle.

#### **1.1.1 Recrutement des patients : Critères de sélection**

Notre étude a porté sur 4 patientes sœurs issues d'une même famille présentant une ambiguïté sexuelle adressées par les services d'endocrinologie du CHU de Constantine.

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été établis :

##### **□ Critères d'inclusion :**

Ont été inclus dans l'étude les 4 sœurs dont deux ayant présenté une DSD.

Nous avons procédé :

- au prélèvement des patients.
- à l'établissement d'un arbre généalogique le plus complet possible pour famille sélectionnée.

Le consentement éclairé du patient (Annexe I) a été obtenu de tous les adultes ou de leurs tuteurs quand l'âge du patient est inférieur à 18 ans.

Les premières démarches de l'étude que nous avons réalisée ont débuté, lorsque le diagnostic d'ambiguïté a été posé.

##### **Le questionnaire :**

Le recueil systématique des informations cliniques et biologiques a été réalisé grâce à un questionnaire approprié (Annexe II) comportant :

Les données épidémiologiques (nom, prénom, âge, résidence, profession, sexe) ; le motif de consultation, les signes fonctionnels (aménorrhée, douleurs pelviennes ou abdominales, dysurie, brûlure mictionnelle) , les signes généraux (asthénie, anorexie) et les facteurs de risque (pathologie pendant la grossesse de la mère et médicaments utilisés, mariage consanguin des parents, notion familiale d'ambiguïté sexuelle. Les données de l'examen physique : la recherché une dysmorphie, une malformation congénitale des OGE, une anomalie des caractères sexuels secondaires).

Les résultats des examens complémentaires spécifiques : l'échographie abdomino-pelvienne

le caryotype, les dosages hormonaux plasmatiques (LH, FSH,  $\beta$ -HCG, testostérone, prolactine, œstradiol, 17-OH progestérone, 17-OH prégnénolone, prégnénolone, ACTH, Dihydroépiandrosterone), de La Cœlioscopie non faite dans notre étude. Histologie gonadique à la recherche d'anomalies histologiques.

❑ **Mode de prélèvement:**

Les prélèvements de sang total pour l'étude génétique ont été réalisés au niveau du pli du coude après pose d'un garrot.

Nous avons recueilli pour chaque patient :

- Un prélèvement sur deux tubes stériles de 5 ml contenant de l'EDTA comme anticoagulant, qui de plus est un inhibiteur des nucléase, pour l'analyse moléculaire.

❑ Conservation :

L'extraction d'ADN a été réalisée sur du sang frais. Dans certains cas d'impossibilité technique, l'extraction a été différée puis réalisée sur du sang stocké 1 à 2 jour à 25°C ou pendant 7 jours à + 4°C.

Nous n'avons pas été contraint à congeler nos échantillons. L'extraction d'ADN peut aussi se faire sur du sang congelé, mais dans ce cas la cristallisation lors de la congélation suivie de décongélation provoque des cassures dans la molécule d'ADN.

## **I. 2. Méthodes**

### **1.2.1. Etude génétique**

La recherche du gène SRY a été réalisée par PCR en appliquant l'algorithme de travail suivant :

1. Extraction de l'ADN à partir de sang total par la méthode au NaCl
2. Quantification et dilution de l'ADN
3. L'évaluation du procédé d'extraction
4. PCR ou amplification du gène SRY
5. Contrôle des produits de PCR par électrophorèse sur gel d'agarose
6. Analyse du gel d'électrophorèse

#### **I.2.1.1. Extraction D'ADN**

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler un gène ou un fragment de gène de cellules ou de tissus et de le multiplier rapidement.

Elle consiste à obtenir des acides nucléiques plus ou moins purs et plus ou moins concentrés adaptés aux différents tests génétiques pratiqués.

Les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Au cours de l'extraction certaines précautions doivent être prises.

- L'utilisation de gants
- L'utilisation de l'autoclave pour la stérilisation du matériel
- L'utilisation de pipettes spécialisées
- L'usage de produits consommables jetables, comme des pointes à filtre stériles.

❑ **Méthode d'extraction au NaCl :**

Tous les prélèvements des malades ont été extraits par la méthode au NaCl (Annexe III).

L'extraction d'ADN leucocytaire a comporté 4 étapes :

- *La lyse des globules rouges et préparation du culot de leucocytes :*

Quelle que soit la méthode d'extraction des acides nucléiques utilisée à partir de sang fraîchement recueilli ou décongelé, le sang est vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges.

La lyse est réalisée en général à + 4°C pendant 20 à 30 mn. Le lysat est centrifugé 10 mn à 3900 tr/mn. Après élimination du surnageant, on obtient le culot de leucocytes.

- Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du Tris EDTA (TE) 20:5
- laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger 10 mn à 3900 rpm
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide
- Ajouter quelques ml de TE: 20:5 au culot et remettre en suspension avec une pastette stérile.
- Compléter à 25 ml avec du TE: 20:5 et laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot de leucocytes (Si on s'arrête à ce niveau, il faut mettre le culot dans un tube nunc de 1.5ml contenant du TE : 10 :1 et les conserver à -20 °C dans le congélateur).

❑ *Lyse des leucocytes, dénaturation du complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN :*

- Le culot contenant les leucocytes est transvasé dans un tube falcon de 15 ml.

- Ajouter 3 ml de tampon de lyse des leucocytes en dilacérant le culot avec une pastette stérile.
- Ajouter 200 µl de SDS (sodium dodécyl sulfate) à 10% qui est un détergent anionique utilisé pour lyser les GB mais, c'est aussi un activateur de la protéinase K, il inhibe les nucléases et dénature les protéines.
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg /ml.

L'ADN nucléaire libéré dans le milieu est alors le plus souvent traité par une protéinase très active, la protéinase K qui a pour but de digérer les protéines qui lui étaient associées.

- Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.

Le traitement par la protéinase K (10 mg/ml) est effectué pendant 1 à 2 h à 65 °C ou 2 à 3h à 56°C ou 3 à 18 h ou over night à 37 °C.

- Le lendemain, refroidir dans la glace le contenu du tube Falcon.

#### ❑ *Extraction et purification de l'ADN: méthodes utilisant des solvants non organiques : le NaCl*

Le principe consiste à traiter uniquement le lysat cellulaire par une solution saline, dont l'objectif est d'éliminer par précipitation sélective les protéines.

- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main
- Remettre 5mn dans la glace (précipitation des protéines)
- Centrifuger 15 mn à 2500 tr/mn

#### ❑ *Précipitation de l'ADN*

La précipitation est le plus souvent réalisée par de l'éthanol absolu à froid et à haute concentration. L'éthanol se trouvait à -80°C et à concentration 2.5 volumes par rapport à l'échantillon. La pelote d'ADN se forme, puis précipite sous forme de filament visible à l'œil nu. Le précipité est ensuite lavé et redissolu dans l'eau ou du tampon TE : 10 :1.

- Transvaser le surnageant dans un Falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : Il y aura formation d'une « méduse » visible à l'œil nu, qui sera récupérée par enroulement sur une pipette Pasteur puis lavée dans l'éthanol à 70% 2 fois pour éliminer les sels ou les traces d'isopropanol, elle sera ensuite séchée.

Dans le cas où la concentration des acides nucléiques est faible (< 50 µg / ml) le temps de précipitation devra être plus long (>10h). Parfois la précipitation a lieu en présence de sels comme l'acétate de Na pour augmenter la force ionique.

Mettre la pelote dans un tube nunc et l'ADN sera réhydraté par une solution de TE (tris: EDTA) ou de l'eau bidistillée, puis conservé à 4°C ou à -20°C.

*Solubilisation :*

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

### **I.2.1.2. Quantification et dilution de l'ADN : Dosage des acides nucléiques**

La concentration de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à 260 nm. Les contaminations par les protéines et le phénol peuvent fausser la concentration de l'ADN. Les protéines absorbent à 260 nm et à 280 nm tandis que le phénol absorbe à 270 nm.

Pour cela on effectue une mesure de la densité optique ou DO de l'ADN dilué à 260 nm et à 280 nm (Annexe IV).

### **I.2.1.3. Les critères d'évaluation du procédé d'extraction**

La taille des fragments d'acides nucléiques.

La taille des fragments a été contrôlée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 0,8 %. 2 à 5 µl (selon le procédé) de la solution d'ADN ont été déposés dans chaque puits d'un gel d'agarose à 0,8 % et soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 2 h. Cette analyse permet, par ailleurs, d'observer une éventuelle dégradation de l'ADN survenue au cours de l'extraction.

Le rendement de l'extraction.

La concentration de l'ADN extrait a été déterminée en mesurant l'absorbance à 260 nm des solutions diluées au 1/100 ou 1/50 (selon le procédé), sachant que 1 U DO correspond à 50 mg/ml d'ADN. Le rendement a été calculé en réalisant le rapport entre la quantité d'ADN obtenue et le volume initial de sang total utilisé.

La pureté.

La contamination de l'ADN extrait par des protéines a été appréciée en mesurant la densité optique des extraits à 260 et 280 nm et en effectuant le rapport DO 260 nm/DO 280 nm.

La rapidité.

Le temps nécessaire pour réaliser une extraction a été déterminé : temps réel et temps de travail.

□ Conservation de l'ADN

**Le tableau suivant résume les différentes conditions de conservation de l'ADN.**

**Tableau 03 :** Les conditions de conservation de l'ADN

Température	Durée de la stabilité de la solution d'ADN
Ambiante	Quelques jours
+ 4°C	6 mois
-20 °C	1 an au minimum
- 80 °C	7 ans au minimum

#### I.2.1.4. PCR du gène SRY

La PCR est un outil fondamental de la biologie moléculaire. Elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, présent même en quantité infime dans un mélange puis de le multiplier rapidement.

La PCR a été décrite pour la première fois par Karry Mullis en 1983 et publiée en 1985, ce qui a valu à Karry Mullis le prix Nobel de chimie en 1993.

□ **Principe :**

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire, d'un ADN servant de matrice.

Pour initier le processus, un segment d'acides nucléiques doit s'y associer afin de servir d'amorce. Cette amorce ou primer est un oligonucléotide de synthèse de 17 à 30 bases de longueur, et dont la séquence est complémentaire à celle du brin à amplifier. L'amorce permet de délimiter les bornes de la séquence à amplifier. L'association à l'ADN cible est suivie de son élongation par la polymérase, aboutissant ainsi à la synthèse d'un ADN double brin.

La PCR consiste en une succession cyclique de 3 étapes :

Le milieu réactionnel tamponné comprend tous les éléments indispensables : les précurseurs nucléotidiques (dATP,dCTP,dTTP,dGTP), le cation Mg<sup>++</sup> indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme et à l'incorporation correcte des précurseurs, l'ADN polymérase et les amorces. A ce milieu est ajouté l'ADN extrait du milieu biologique à étudier.

➤ *Première étape : Dénaturation thermique*

Cette étape consiste à séparer par la chaleur les deux brins en rompant les liaisons hydrogènes. L'ADN double brin est chauffé à 94°C. Cette température est supérieure à la température de dénaturation (Temperature melting ou TM) de l'ADN qui passe alors sous forme simple brin. Ces brins servent de matrice au cours des cycles d'amplification.

➤ Deuxième étape : Hybridation des amorces ou annealing

Le milieu réactionnel est amené à une température inférieure au  $T_m$  des amorces. Ce  $T_m$  est fonction de la séquence et est en général de l'ordre de 45 à 70 °C. Les amorces en large excès, s'hybrident à tout l'ADN simple brin comportant la séquence complémentaire.

➤ Troisième étape : Elongation et extension d'amorces

Une ADN polymérase (la taq polymérase) allonge les amorces en y incorporant les désoxynucléotides complémentaires de la séquence de la matrice à laquelle est hybridée.

La synthèse s'effectue dans le sens 5'→3' à 72°C (température optimale).

A la fin du cycle, deux copies de la séquence d'ADN cible sont obtenues.

Un nouveau cycle commencera par l'étape de dénaturation, suivie successivement des étapes d'hybridation et d'extension.

A chaque cycle correspond le doublement du nombre de copies de la séquence cible. De manière générale 15 à 40 cycles sont effectués, générant un nombre considérable de copies de la séquence cible.

L'amplification est exponentielle selon la formule  $2^n$  à la puissance n, n représente le nombre de cycles, par exemple une PCR de 30 cycles génère théoriquement 2 à la puissance 30 copies de cibles initialement présentes.

Le rendement de la réaction n'atteint jamais 100%. Ce qui, en fin d'amplification, nous permet d'obtenir en pratique moins de copies que celles attendues par la théorie.

### ❑ Optimisation de la PCR

➤ Choix de l'enzyme :

La Taq ADN polymérase est une enzyme très largement utilisée pour effectuer les PCR. Cette enzyme obtenue à partir de *thermus aquaticus* possède une bonne thermolabilité, ce qui lui permet de résister dans certaines limites aux températures élevées nécessaires à la séparation des doubles brins.

La quantité de Taq ADN polymérase utilisée pour une réaction de PCR de 50 µl, varie de 0.2 et 0.5 UI, voire 1 UI. Une quantité trop importante d'enzyme est souvent à l'origine d'un bruit de fond important (bandes parasites) voire une inhibition de la réaction.

➤ Choix des amorces :

Les amorces sont des séquences exactement complémentaires du fragment à amplifier (absence de mésappariements).

Principes généraux relatifs aux choix des amorces :

- La taille des amorces doit être entre 20 et 30 nucléotides.

- Leur composition en G+C doit être de 50%

- L'hybridation des amorces sur elles-mêmes et entre elle doit être évitée car il ya un risque de formation de produits de PCR non spécifiques, notamment de dimères d'amorces qui sont des bandes parasites, résultant de l'hybridation des amorces sens et anti-sens entre elles. Ces appariements affectent l'efficacité et la spécificité de la réaction de PCR. Les amorces ne doivent pas faire de boucles (loops) sur elles-mêmes (absence de structure secondaires).

Les amorces utilisées dans l'amplification du gène SRY sont les suivantes :

**Tableau 04 :** Amorces utilisées

Exons	Amorce sens ou Forward F5' →3'	Amorce antisens ou Reverse R 5' →3'
	SRYF : 5' CAgTCCAgCTgTgCAAgAgA 3'	SRYR : 5' gCCATTTTTCggCTTCAgTA 3'

➤ *Température de fusion et d'hybridation*

- La température de fusion ou de dénaturation (melting température TM) des amorces doit être Suffisamment élevée (au minimum 55 °C) quand cela est possible.

Plus le Tm d'une amorce est élevé, moins le risque d'hybridation non spécifique est important ; il est donc important de dessiner des amorces à TM élevée.

La différence de TM entre les deux amorces (A ou sens et B ou anti sens) ne devra pas être trop importante :  $Tm A - Tm B < 5 \text{ } ^\circ\text{C}$

Pour calculer le Tm d'une amorce, on pourra s'aider de la formule suivante :

$$Tm = 2 (A+T) + 4 (G+C)$$

Cette formule, valable pour des amorces de taille inférieur à 25 nucléotides, est cependant approximative.

- La température d'hybridation est égale à la Tm moins 5 °C ( $T^\circ \text{ hybridation} = Tm - 5^\circ\text{C}$ ).

Une

Température d'hybridation trop basse risque de donner des hybridations non Spécifiques.

➤ *Concentration des chlorures de magnésium*

Le chlorure de magnésium est un cofacteur essentiel pour la Taq polymérase. Il existe une relation inverse entre la quantité de dNTP utilisée et la concentration de Mgcl2. Les dNTP chélatent une partie des ions Mg2+ et par conséquent, une augmentation des dNTPs diminue la concentration disponible d'ions Mg2+ libres.

Nous avons utilisé une solution de Mgcl2 à 25 mM et nous avons réalisé une gamme de Mgcl2.

### ❑ **Problèmes rencontrés au cours de la réaction de PCR :**

- Bandes parasites : Les bandes parasites sont le reflet d'un manque de spécificité et probablement de sensibilité.
- En front de migration: Ce sont des dimères d'amorce. Il faut revoir le choix des amorces et les conditions expérimentales de la PCR.
- Un aspect en frottis ou smears sur le gel : peut être lié à une mauvaise optimisation, mais il faut toutefois envisager, préalablement à toute remise en question du protocole expérimental, deux causes fréquentes : à savoir une quantité d'ADN trop importante dans le mélange réactionnel et / ou un programme comportant trop de cycles. Il faut à priori éviter de dépasser plus de 40 cycles.
- Des bandes parasites peuvent apparaître en raison de mauvaises conditions initiales d'hybridation à basse température.

### ❑ **Détection des contaminations :**

La PCR est une technique très sensible. La contamination est le risque majeur et permanent de la PCR. Pour réaliser une PCR, plusieurs précautions sont donc à prendre :

- + Il est nécessaires d'insérer des contrôles dans des séries d'analyse par PCR, pour vérifier la qualité et les performances du test et détecter certaines anomalies risquant d'invalidier le résultat.
- + Fractionner les réactifs en aliquotes de petit volume.
- + Ne pas hésiter à jeter tout réactif suspect.
- + Stériliser les tampons, les pointes de pipettes, les tubes.
- + Décontaminer les pipettes à l'eau de javel diluée.
- + Ne pas oublier d'irradier aux UV la zone de travail pendant environ 15 mn une fois le travail terminé.
- + Se servir de pipettes utilisant des pointes à filtre jetables.

### ❑ **Validation du test :**

Pour chaque série de réactions de PCR, il est indispensable d'effectuer un contrôle négatif et, éventuellement, un contrôle positif,

#### ➤ *Contrôle négatif :*

Il s'agit d'un tube contenant tous les réactifs et l'enzyme, mais sans ADN, il permet de s'assurer qu'aucun réactif ou enzyme n'est contaminé.

#### ➤ *Contrôle positif :*

Il s'agit d'un tube contenant tous les réactifs et l'enzyme avec un ADN connu et déjà étudié. Ce contrôle, qui permet de s'assurer que la réaction s'est bien effectuée, n'est utilisé que lorsque les réactions de PCR ne sont pas concluantes.

➤ *Marqueur de taille :*

Un marqueur de taille est une solution contenant différents fragments d'ADN de tailles variables et connues. Il est utilisé pour l'estimation de la taille d'un fragment d'ADN amplifié.

Il peut être remplacé par des fragments ou témoins de masse moléculaire connue qui migrent en parallèle au fragment d'ADN à estimer.

□ **Réalisation pratique de l'amplification par PCR :**

Préparation de l'échantillon d'ADN sous forme d'une solution de travail adéquate et vérification que tous les réactifs nécessaires sont disponibles, et en quantité suffisante pour amplifier le gène SRY.

Les différentes solutions doivent être préparées sous une hotte à ADN stérile.

Les amorces sont fournies sous forme lyophilisée, et les dNTP sous forme de flacons de solution mère contenant 100 µl de chaque dNTP. Ces réactifs sont préparés selon les concentrations suivantes.

**Tableau 05 :** Concentration des réactifs de la PCR

Solution de travail	Concentration
ADN	100 ng/µl
Amorces	10 pmol //µl
➤ dNTP	2mM

appelée de Pré PCR sous hotte stérile

.Dans des tubes eppendorff de 1.5 ml, on prépare les Mix ou mélange total des réactifs nécessaires à notre PCR pour chaque exon, en tenant compte du nombre d'échantillons à traiter, plus un témoin négatif.

La composition du Mix est la suivante :

**Tableau 06 :** Composition du mix de la PCR

Réactifs	Quantité Volume 20 µl
Tampon 10X	2 µl
MgCl <sub>2</sub> 25 mM	0.6 µl
dNTP 2.0 mM	3.2 µl
Amorce F 10pmol/µl	2 µl
Amorce R	2 µl
Taq DNA polymérase 5U/ µl	0.6 µl
H <sub>2</sub> O	8.4 µl
Ces ADN	1.2 µl

➤ *Programme du thermocycler*

Les microtubes sont placés dans un thermocycler qui sera programmé comme suit :

<p><b>Pour le gène SRY</b> - 95°C pendant 10 mn - 95°C pendant 1mn - 58 °C pendant 1 mn - 1mn à 72°C - 7mn à 72°C</p>	} 30 fois
---	-----------

Après amplification des exons par PCR, les produits de PCR sont contrôlés par électrophorèse.

**1.2.1.5. Contrôle par électrophorèse des produits de PCR du gène SRY**

➤ *Principe de la technique*

L'électrophorèse sur gel d'agarose permet de séparer les exons en fonction de leur taille. Elle est réalisée dans une cuve de migration horizontale.

➤ *Le gel d'agarose :*

Le contrôle de PCR est réalisé sur un gel d'agarose à 2 %.

➤ *Tampon d'électrophorèse :*

Le tampon Tris-Borate est le plus utilisé, sous forme de mélange Tris-Borate-EDTA (TBE) (Annexe V).

Le Tris et le borate ne portent quasiment pas de charges au PH désiré, ce qui réduit leur mobilité. Un avantage du tampon Tris est qu'il s'agit d'une molécule de taille suffisamment importante, ce qui freine sa migration électrophorétique.

La concentration d'un tampon est exprimé en X. La mention X indique la dilution à effectuer à partir d'une solution mère de concentration nX. Les tampons sont généralement dilués à 1 X.

➤ Traitement de l'échantillon pour le dépôt :

Les produits de PCR sont préparés pour être déposés, avec une pipette de précision, sur gel d'agarose. Le gel d'agarose est placé avec son support ou plateau dans une cuve d'électrophorèse. Le gel placé dans la cuve sera totalement immergé, en positionnant les puits du côté de la cathode pôle noir.

Il faut remplir délicatement et très lentement la cuve avec le tampon TBE jusqu'à recouvrir le gel. Ajouter le colorant de charge 2 µl de bleu de bromophénol à chaque 10 µl produit de PCR de chaque échantillon, pour pouvoir suivre visuellement la migration des dépôts. Ce mélange est déposé dans un puits du gel d'agarose.

Un marqueur de taille, déposé dans un puits est utilisée pour chaque série d'échantillons.

La migration :

La migration électrophorétique dure environ 45 mn à 100 volts. Elle peut être arrêtée lorsque le courant de charge arrive à proximité du bord opposé du gel.

Visualisation des produits de PCR :

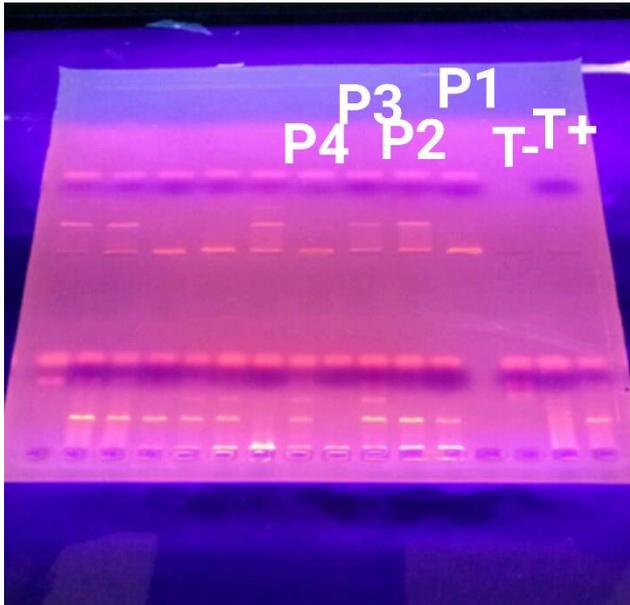
La visualisation des exons séparés en fonction de leur taille par transillumination du gel qui contient du Bromure d'ethidium ou BET, molécule qui a l'habitude de s'intercaler entre les bases des acides nucléiques.

Dans ces conditions, l'exposition du gel à un rayonnement UV de 312 nm permet la fluorescence du BET lié à l'ADN.

Cette technique permet de repérer et de situer les différents fragments ayant migrés par rapport au marqueur de taille moléculaire.

Le rapport vitesse / distance de migration d'un fragment d'ADN est inversement proportionnel au logarithme de sa taille. La taille des différents fragments amplifiés est estimée par rapport à des fragments du marqueur de taille.

.M, marqueur ; B, témoin négatif ; C, contrôle positif ; F, le Contrôle négatif d'ADN féminin ; 1-9, les patients



**T+** : Témoin positif ADN d'un: homme normal

**T-** :Témoin négatif : ADN d'une femme ayant enfanté

\***P1** : patient 1 : SRY +

\***P2** : patient 2 : SRY +

\***P3** : patient 3 : SRY-

\***P4** : patient 4 : SRY -

\*Blanc : Contrôle négatif de la PCR (Contenant le mix de la PCR mais sans ADN)

## II. Observation clinique

La première fille et la deuxième fille sont des sœurs originaires d'un village de la wilaya de Khenchla âgées de 18 et 22 ans respectivement première et deuxième enfants d'une fratrie de quatre enfants vivants et bien portants, issue d'un mariage non consanguin, sans ATCD personnels particuliers et sans ATCD familial d'aménorrhée primaire.

Ayant consulté au service d'endocrinologie du CHU BenBadis de Constantine pour une aménorrhée primaire.

Vers l'âge de 12 ans pour La première fille et 13 ans pour la deuxième fille , un développement normal des seins est apparu avec un morphotype féminin harmonieux.

L'examen clinique a retrouvé des patientes en bon état général qui pesaient 52 kg pour 1.68 m pour la première fille et 45 kg pour 1.50 pour la deuxième fille et le développement mammaire était au stade III de Tanner alors que la pilosité pubienne était au stade I et une pilosité axillaire absente A0.

Il n'y avait pas de masses palpables au niveau inguinal.

Par ailleurs, les organes génitaux externes étaient typiquement féminins avec présence des grandes et petites lèvres, sans clitoromégalie, ni fusion postérieure des grandes lèvres ni de gonades palpables au niveau des lèvres. Les orifices urétral et vaginal ont été bien identifiés. Au toucher rectal, l'utérus n'était pas palpable.

L'échographie pelvienne a montré l'absence de l'utérus et des ovaires et présence de masses iliaques faisant évoquer des testicules dont l'examen histologique a objectivé un testicule féminisant.

Sur le plan biologique : le taux de testostérone était élevé à 13,68 ng/ml selon les normes masculines, le taux de FSH bas à 1,0 UI/l, le taux de LH élevé à 28 UI/l et le taux de 17 bêta-œstradiol élevé à 60,2 pg/ml.

Concernant les marqueurs tumoraux : le taux de  $\beta$ HCG élevé à 114,5 mUI/ml, alors que le taux de l'AFP et de la LDH étaient normaux.

Le caryotype a révélé une formule chromosomique 46, XY et une présence du gène SRY à l'analyse moléculaire.

Devant ces constatations cliniques, biologiques et radiologiques, Le diagnostic de testicule féminisant ou de syndrome de résistance complète aux androgènes a été posé et le médecin traitant a expliqué à la famille la nécessité d'un suivi particulier.

Ces deux patientes ont été orientées vers le service de chirurgie pour une éventuelle ablation des testicules qui risquent la cancérisation.

Après discussion avec les parents compte tenu des conditions socio-familiales culturelles et des traditions et L'orientation psychosexuelle est féminine cad le désir des deux patientes et de leur parents le sexe retenu était féminin.

Un traitement à base d'œstro-progestatifs a été alors instauré en post opératoire pour un bon développement de leurs caractères sexuels secondaires.

Vue les deux cas familiaux de syndrome de résistance complète au androgène et vue l'absence du diagnostic génétique dans notre laboratoire, l'endocrinologue nous a demandé de lui faire la recherche du gène SRY chez les deux sœurs plus jeunes âgées de 4 et 10 ans respectivement au moins afin de voir si elles ont ce gène ou non.

La recherche du gène SRY chez les deux sœurs de même que les dosages hormonaux étaient en accord avec les âges respectif des deux sœurs ce qui rassure. Cependant le caryotype n'a pas été réalisé vue les conditions socioéconomiques défailantes de la famille.

### III. Discussion

Le syndrome d'insensibilité complète aux androgènes anciennement dénommé testiculaire Féminisant est un trouble du développement sexuel, une forme complète de pseudohermaphro-disme androgynoïde.

Ce syndrome est rare ; sa prévalence est estimée entre 1/20000 et 1/99000 naissances vivantes de sexe Masculin (Bakker J ,2016).

C'est une anomalie congénitale de transmission récessive liée au chromosome X caractérisée par une féminisation plus ou moins marquée des organes génitaux externes chez un sujet de sexe génétique et gonadique masculin.

Il est caractérisé, chez un sujet présentant un caryotype masculin 46, XY, par la présence d'organes génitaux externes féminins et de testicules normalement développés mais en position intra-abdominale (Birnbaum W, 2018).

Il s'agit d'un trouble rare de la différenciation sexuelle dû à une résistance complète ou partielle des tissus cibles aux androgènes en rapport avec un dysfonctionnement du récepteur aux androgènes , une absence complète, ou une anomalie de fonctionnement, du récepteur empêchant le développement physique et sexuel masculin normal des individus XY et un défaut de masculinisation des organes génitaux survenant durant la période de différenciation sexuelle embryonnaire.

Dans la plupart des cas, les sujets consultent à l'adolescence ou après la puberté pour une aménorrhée primaire, voire une stérilité à l'âge adulte ou un syndrome tumoral ou encore une discordance des caractères sexuels avec le sexe assigné.

Rarement, le diagnostic est établi à la naissance devant une ambiguïté sexuelle, ou en pré-pubertaire lors de l'exploration d'une tuméfaction ou hernie inguinale. Exceptionnellement suspecté ou décrit en anténatal.

Sur le plan clinique, on distingue la forme complète la plus fréquente et la forme incomplète, cette dernière présente une hétérogénéité phénotypique allant d'un phénotype féminin vers une virilisation intense avec des organes génitaux externes ambigus. L'imagerie joue un rôle important dans le diagnostic, elle confirme l'absence de toute structure utérine ou ovarienne et met en évidence les testicules en situation variable.

L'étude génétique met en évidence une formule chromosomique compatible avec un caryotype masculin 46XY, et recherche la mutation causale par séquençage du gène du récepteur aux androgènes.

En cas d'absence totale de ces récepteurs, la différenciation sexuelle est féminine. Le patient a donc un génotype 46, XY, mais il présente à la naissance un phénotype typiquement

féminin et donc considéré comme une femme. Lorsque le déficit est incomplet, il sera à l'origine d'une ambiguïté sexuelle.

Les progrès récents de la biologie moléculaire, ont permis une meilleure compréhension de sa physio-pathogénie. Le diagnostic est souvent posé tardivement après la puberté. Le diagnostic prénatal est possible par le biais de l'échographie, le caryotype et le dosage de la testostéronémie.

Le syndrome d'insensibilité aux androgènes est secondaire à des mutations des gènes du récepteur aux androgènes localisé sur le bras court du chromosome X en Xq11-q12 (Asl Zare M, 2014).

Il est caractérisé par une absence totale de l'action des androgènes au niveau des organes cibles lié à un dysfonctionnement du récepteur des androgènes en rapport avec son absence, ou un déficit, fonctionnel de ce récepteur cellulaire secondaire à un défaut qualitatif du récepteur, ou éventuellement, à un défaut touchant soit la transcription du gène, soit la liaison nucléaire du complexe stéroïde récepteur (Minto CL, 2003).

La maladie est donc transmise par des femmes conductrices à une partie de leur descendance mâle. Cependant dans presque la moitié des cas, il s'agit d'une mutation de novo vu l'absence d'antécédents familiaux (Bel Hadj Y et al, 2008).

L'analyse moléculaire des syndromes d'insensibilité aux androgènes est aujourd'hui facilitée par l'utilisation d'outils de génétique moléculaire de plus en plus performants.

La recherche de la mutation causale s'effectue par séquençage du gène du récepteur des androgènes (RA). Les mutations au niveau du gène du RA sont très nombreuses, la substitution est l'anomalie la plus fréquente.

Plus de 350 mutations responsables de syndrome de résistance aux androgènes ont été répertoriées. Dans la majorité des cas, il s'agit d'une simple substitution d'acides aminés (Bel Hadj Y et al, 2008). Au niveau de l'exon 1, Gottlieb et al. ont rapporté 65 mutations (Gottlieb B, 2004).

Concernant les mutations responsables d'un codon stop au niveau de l'exon 1, ont été retrouvées dans 18 cas de formes complètes, dont 17 à type de substitutions et un seul cas de délétion (Bel Hadj D et al, 2008). ont décrit une délétion de quatre bases de 1029 à 1032 de l'exon 1 du récepteur aux androgènes, occasionnant un codon stop en 476, et conduisant à une protéine tronquée non fonctionnelle (Bel Hadj Y et al, 2008).

L'étude de l'ARN messager a également montré une anomalie de l'épissage chez un patient porteur d'une insensibilité complète aux androgènes. Enfin, l'analyse des produits

d'expression des gènes mutés produits in vitro a permis d'établir dans certains cas un rapport structure-fonction (C Sultan, et al, 1992).

Les femmes adultes présentant le syndrome d'insensibilité totale aux androgènes sont généralement plus grandes que les femmes sans syndrome, mais plus petites que la population masculine (Danilovic DLS, 2007).

La taille adulte agrandie dans le syndrome est principalement due à l'effet de la région de contrôle de la croissance sur le bras long du chromosome Y, mais à l'échelle du génome des études d'association ont identifié plusieurs loci qui affectent la taille adulte (Lango Allen H, 2010).

Les femmes atteintes du syndrome d'insensibilité totale aux androgènes ont le profil endocrinien d'un état hormono-résistant.

Les concentrations sériques de testostérone se situent dans la zone masculine normale ou élevée et les concentrations de l'hormone lutéinisante (LH) sont augmentées de manière inappropriée (Melo KFS, 2003). Les concentrations de l'hormone folliculostimulante (FSH) et d'inhibine sont généralement normales. Un excès de testostérone est produit et aromatisé au niveau périphérique en œstrogènes qui, avec la sécrétion directe d'œstrogènes testiculaires induite par la LH, entraînent des concentrations sériques d'œstradiol supérieures à celles observées chez les hommes et les garçons mais inférieures à celles rapportées chez les femmes sans syndrome d'insensibilité androgène complet (Ughes IA, 2006).

Sa prise en charge thérapeutique doit être multidisciplinaire basée sur une gonadectomie, en raison du risque de dégénérescence maligne des testicules ectopiques, le traitement œstroprogestatif, une vagin plastie selon les cas, et une prise en charge psychologique de la patiente et de sa famille, de même qu'une prise en charge juridique et socio-culturelle (Ughes IA, 2006).

## **Conclusion**

Le Syndrome d'insensibilité aux androgènes pose plusieurs difficultés de diagnostic et de prise en charge seule l'analyse génétique permet de faire le diagnostic définitif.

L'aménorrhée primaire est un motif fréquent de consultation. L'expression clinique dépend du degré de l'insensibilité qui conditionne le phénotype, les circonstances et l'âge du diagnostic. Faire pratiquer un caryotype la recherche du gène SRY et imagerie abdominopelvienne à la recherche des testicules. La chirurgie de castration s'impose vue le risque de dégénérescence. La substitution hormonale permet d'entretenir les caractères sexuels féminins et de prévenir l'ostéoporose

La difficulté d'assigner le sexe ; surtout dans sa forme incomplète doit être prise en compte dans la prise en charge médico-chirurgicale.

L'orientation du sexe est particulièrement difficile et peut être révisée en fonction de l'évolution clinique. De ce fait, une évaluation stricte et un diagnostic précis sont nécessaires à la prévention des erreurs thérapeutiques.

## Références bibliographiques

- Abdelkader B. L'ambiguïté sexuelle. Thèse de doctorat en Sciences et en Psychologie clinique, Université Mentouri-Constantine ; p 27-28, 2003.
- Abderrahmane M. Hormonothérapie de 2<sup>ème</sup> ligne : le cancer de la prostate résistant à la castration chimio-Naïve. Thèse de doctorat. Université Mohamed V Rabat, Maroc P4, 2017.
- Abousalah H G. Ambigüités sexuelles, profil cytogénétique à propos de 127 cas. Université Mohammed V Souissi Morocco, 2011.
- Acimi S. Génitoplastie féminisante chez les enfants porteurs d'anomalies du développement sexuel. E-Mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie14 (3) : 026-029 , 2015.
- Aladlouni S . Prélèvements fœtaux dans le diagnostic prénatal. Thèse de doctorat en médecine, université Cadi Ayad, Faculté de médecine et de pharmacie Marrakech, 2007.
- Alaoui M, Belghit Youssef, 2011. Prise en charge des anomalies de différenciation sexuelle (Aproposde16 cas). Thèse de doctorat en sciences médicales. CHU Hassan II Maroc ,2011.
- Alimant M. Actualités sur les méthodes d'évaluations de la qualité de la semence de l'étalon. Thèse de doctorat à l'université Claude-Bernard, Lyon, France, 2010.
- Allodocteurs.fr .2015
- Amzerin M. Les désordres du développement sexuel : a propos de 09 cas en unité d'endocrinologie de rabat. Thèse de doctorat, Université Mohamed V–Souissi, 2008.
- Audrey D. L'intelligence artificielle en échographie. Thèse de master, université de Lille, France ,2019.
- Aznague Y. La prise en charge de l'ectopie testiculaire à l'hôpital provincial de Tétouan. Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine et de pharmacie -Rabat, Maroc, 2011.
- Badinter E, L'un est l'autre : des relations entre hommes et femmes. Collection Points. Paris : Odile Jacob, 1986.
- Baillet A, et al .La différenciation ovarienne précoce et son contrôle génétique. Biologie Aujourd'hui, 205 (4), 201-221, 2011.
- Barbaux S et al.,. organisation génique du gène SRY. Le point sur le déterminisme

D\$du sex chez les mammifères .Médecine/Science 11 ; 531, 1995.

- **Bargy F, et al.** Ambiguïtés sexuelles. EMC Elsevier Masson SAS, Paris, Gynécologie, 802-A-30, 2008.
- Barone, R. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Editions Vigot frères – Tome 3. Lyon, 851p, 1978.
- Benhamouda A. Gestaclic Création et évaluation d'un site Internet d'aide au suivi de grossesse en médecine générale. Thèse de doctorat en médecine, Université Paris Diderot, Paris, 2014.
- Benser S. Kyste dermoïde de l'ovaire chez la fille. Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine et de pharmacie-Rabat, 2014.
- Benslimane H. La prise en charge des anomalies congénitales du développement génito-sexuelles dans le service d'urologie pédiatrique de l'EHS Canastel d'Oran : DSD , Disorder of sex development .Thèse de doctorat en sciences médicales, Faculté de Médecine d'Oran, Algérie, 2018.
- Bernad I. Méat urinaire : femme, homme, schéma, inflammation, Fiches anatomie et examens, 2020.
- Boudechiche K, Rouibah A L. Génétique de l'infertilité masculine Recherche de Microdélétions du chromosome Y. université des frères Mentouri Constantine, 2015.
- Bouvattier C. Naitre avec un développement sexuel différent. Comment se relèvent des développements sexuels différent. Enfance et Psy N° 69 ,1(69).48-57.p49, 2016.
- Brennan J, Capel B. One tissue, two fates: molecular genetic events that underlie testis versus ovary development. Nat Rev Genet 5 : 509-21, 2004.
- Calabria A , .Hypogonadisme masculin chez l'enfant .Pathologies endocriniennes pédiatriques. Le manuel MSD , 2020.
- Capucine, H. Étude des gènes impliqués dans le déterminisme gonadique chez l'Homme. Thèse de doctorat en génétique humaine, Université Pierre et Marie Curie, 2016.
- Cardenas J. Hermaphrodisme vrai (ambiguïtés sexuelles). Encyclopédie médicale,2017.
- Charalambos G. (2013). Anatomie artérielle de la vulve et application à la nymphoplaste .[interne des hôpitaux aux Nice].p12, 2013.

- Chaine C. santé de la femme, kyste de l'ovaire : <https://www.docteurcliv.com>, 2019.
- Chédel A et al. Variations du développement. Haute école de santé Genève, 2013.
- Chen S et al. Human Arommatase : cDNA cloning, Southern blot analysis, and assignment of the gene to chromosome 15. DNA Cell Biol ;7: 27-39. P39, 1988.
- Cherier L. Interruption Médicale de Grossesse: Indications et analyse des pratiques obstétricales sur trois ans au CHU de Bordeaux. Thèse de doctorat en médecine, 2016.
- Colin R. Evolution of the copulatory apparatus, Italian journal zoology,51:1-2, p249,1984.
- Corre L . Connaissance et méconnaissance du corps des femmes par les femmes. Diplôme d'état de sage-femme, université d'Angers, 2012.
- Dahoun S. Evolution des indications des diagnostics prénatals de 1999 à 2011 suite à l'introduction du test combiné à Genève. Thèse de privat-docent : Université. Genève, 2013.
- Defraire, Alexia. Diagnostic prénatal : quel encadrement juridique pour éviter des dérives eugéniques ? Faculté de droit et de criminologie, 2019.
- Denny P et al , .A conserved family of gene related to the testis determining gene SRY. Nucleic acids research .20 (11), 2887, 1992.
- Desclozeaux M et al . Characterization of two Sp1 binding sites of the human sex determining SRY promoter. Biochim Biophys Acta 1397:247-252,1998.
- Diallo M, 2008. Etude de l'ambiguïté sexuelle dans le service d'urologie du CHU du point « G » A propos de 5 observations.(thèse de doctorat en médecine, université de Bamako ,mali).p10, 2008.
- Diarra, Z .Tumeurs de l'ovaire : aspects épidémiologiques et anatomopathologiques . .Thèse de doctorat en médecine ,université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, 2019.
- Edery ,M .Les traitements des cancers de la prostate métastatiques résistants a la castration et la place du dichlorure de radium-223.thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de la pharmacie Lille , France, 2018.
- El Houssi H. Actualité de prise en charge en matière de dysgénésie gonadique expérience du service de CHA de l'HER.Thèse de doctorat en médecine, université Mohammed V , faculté de médecine et de pharmacie ,Rabat, 2011.

- El Zaiat, M. Cibles et voies de signalisation régulées par FOXL2 au cours de la morphogenèse ovarienne précoce. Thèse de doctorat en science de la vie et de la santé, l'université paris-Saclay, France,2015.
- Elaine N.Le système génital, Biologie humaine principe d'anatomie et de physiologie ; p574/581,2008.
- Faradji A et al . Hyperplasie congénitale des surrénales et hypertrophie des glandes de skene : à propos d'une « prostate » chez une adolescente. Imagerie de la femme.30(2) ,101-103,2020.
- Fatagom D. Traumatisme des organes génitaux externes masculins : Etude épidémiologique et thérapeutique dans le service d'urologie du CHU-Gabriel Toure. Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine et d'odontostomatologie, Mali. p18, 2018.
- Faugeron I, Ruelsc M. Mutation des récepteurs des gonadotrophines. Médecine thérapeutique/ médecine de la reproduction ; 91-97,2005.
- Fernandez R, José Mbarragan,Bllejos M, Marchal JA , ,Maartinez S, Diaz de la Guardia R and antonio . Mapping the SRY gene in microtus cabreræ : a vole species with multiple SRY copies in males and female. Genome. 45(3),2002.
- Finaz C et Lefèvre A . Interaction des gamètes et protéines de reconnaissance. Médecine /sciences ; 14 : 175-82 . p175, 1998.
- Fogang, J. Infertilité tubaire : Apport diagnostique et thérapeutique de la coelio-chirurgie dans le service de chirurgie «A » du CHU du point G. Thèse de doctorat en médecine, université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Mali, 2013.
- Françoise L. L'appareil génital masculin et son hygiène, hygiène et biologie humaine ; p20-22,2002.
- Françoise P. Les appareils génitaux, Anatomie physiologie pharmacologie générale. p194/207,2003.
- Franzisko H . Patients avec variation du développement sexuel : un exemple de prise en charge interdisciplinaire gérontologie, 2016.
- Galifer RB , Kalfa N, Gibal MP . Que peut cacher un testicule caché ? ou les pièges cliniques de la cryptorchidie : What a hidden testicule can hide?or the clinical traps of cryptorchidism Archives de pédiatre .11(4),.350,359, 2004.

- Goussot m. Confronte à l'interruption sélective de grossesse, quelle est l'autonomie de la patiente face à l'argumentation médicale. Thèse de docteur en sciences de la vie et de la santé, université Paris Descartes,2009.
- Grapin-dagorno C, m Chabaud. Kystes et tumeurs de l'ovaire avant la puberté : aspects chirurgicaux ; EMC Consulte 2008 , Elsevier Masson SAS.
- Hadjersi R , Boudiaf R, Abdelali M. Pseudohermaphrodisme masculin en rapport avec un bloc 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase : à propos d'un cas avec revue de la littérature,2015.
- Hamel et Frédéric. Régulation transcriptionnelle du gène SRY humain et porcin par le facteur de transcription GATA-4, 2004.
- Haqq C, King CY, Donahoe PK, Weis MA. SRY recognizes conserved DNA sites in sex-specific promoters *proc natacad sci USA* . m/s 90 ; 1097-101.8.p.190,1993.
- Harada N, Ogawa H, Shizu M, Yamada K. Genetic studies to characterize the origin of the mutation in placenta! aromatase deficiency. *Am J Hum Genet* ,51, 666-672, 1992.
- Harada N, 1988.Cloning of a complete cDNA encoding human aromatase : immunochemical identification and sequence analysis. *Biochem Biophys Res Commun* ,1(56).,725-32.
- Harada N , Ogawa H, Shozu M, Yamada K, Suhara K, Nishida E, Takagi Y.Biochemical and molecular genetic analysis on placenta! Aromatase (P450 arom) deficiency. *Biol Chem*, 267,4781-5,1992.
- Harmatallah S. Mise au point technique sur la chirurgie des états intersexuels. Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine et pharmacie, Marrakech ,2018.
- Hilpert-Denis A. Etude du devenir des enfants issus de rupture prématurée des membranes au deuxième trimestre –mortalité et morbidités – A partir de la série de cas suivis à la maternité régionale et universitaire de Nancy entre 2002 Et 2009.Thèse de cadre du Troisième cycle de médecine spécialisée, université Henry Poincaré, Nancy 1, 2010.
- Hoellinger P . Prévention des infections urinaires par les plantes. Thèse de doctorat en Pharmacie, universitaire de Lorraine,2016.
- Hourie, M. Évaluation des pratiques et impact médico-économique de la bastille . Expérience monocentrique français.Thèse de doctorat en médecine, faculté mixte DDE médecin et de pharmacie de Rouen, France, 2016.

- Hugot S. Le vécu de la rééducation périnéale des femmes en post-partum une étude qualitative par 14 entretiens individuels. Thèse de doctorat en médecine, université paris 7, 2011.
- Hyon, C. Étude des gènes impliqués dans le déterminisme gonadique chez l'Homme. Thèse de doctorat de génétique humaine, Université Pierre et Marie Curie, 2016.
- Ingraham , Sociological Theory. Vol. 12, No. 2 (Jul., 1994), pp. 203-219 , 1994 .
- Ikeda . Gender Differences in Human Loss and Vulnerability in Natural Disasters: A Case Study from Bangladesh. 2/2. 1995.
- Luo X, Ikeda Y, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. Cell 77:481–490, 1994.
- Irvin H , Hirsch .Structure du système reproducteur masculin. Biologie du système reproducteur masculin. le manuel MSD version pour le grand public,2019.
- Issouli N et Kechemir S. Etude d'un système d'Echographie et application d'algorithmes pour la détection d'anomalies de la prostate. Thèse de master académique dans la spécialité électronique biomédicale ,Université Mouloud Mammeri Detizi-Ouzo, 2016.
- Ito Y, Fisher CR, Conte FA, Grumbach E, Simpson ER.Molecular basis of aromatase deficiency in an adult female with sexual infantilism and polycystic ovaries. Proc Natl Acad Sei USA, 90, 11673-7,1993.
- Jauzien F. Les gènes de la détermination sexuelle chez les mammifères .épidémiologie et santé. Plate forme de l' institut Français de l'éducation, 2001.
- Jordan BK, Manas J, Natarajan S, Frasier D, Vilain E. Familial mutation in the testis-determining gene SRY shared by an XY female and her normal father. J Clin Endocrinol Metab; 87: 3428–3432,2001.
- K Geise, Pagel J, Grosschedl R.DNA-binding properties of the high mobility group domaine of murine and human SRY sex-determining factors. Proc Natl Acad Sci USA.91 ; 3368-72,2014.
- Kamli, N et saidani,I . Caractérisation de l'activité reproductive du bélier de race blanche : mensurations morphométriques et suivi histologiques testiculaires .Mémoire Master , Université de Tlemcen, 2016.
- Kassis M , Z. Assaf, F. Keffer, J.F. Magny, M. Voyer . Les pathologies de la détermination et de la différenciation sexuelle ;

période néonatale .Prise en charge des ambiguïtés sexuelle. Journal de pédiatrie et de puériculture 15(2),121.126, 2002.

- Khalid Z. Traumatismes des organes génitaux externes : Etude épidémiologique, clinique, thérapeutique et évolutive Service D'urologie Chu Mohammed V De Marrakech. Thèse De Doctorat En Médecine, Université Cadi Ayyad ,Faculte De Medecine et de pharmacie ,Marrakech, Maroc. P 5, 2012.
- Khezouz A. Intérêt de la recherche du gène SRY dans l'ambiguïté sexuelle. Mémoire en vue de l'obtention du titre de docteur en pharmacie, université Salah Bounidar Constantine 3, 2018.
- Kwam kossi E. Les ambiguïtés sexuelles en service de médecine interne de l'Hôpital National du Point G A propos de douze cas. Thèse de doctorat en médecin, université de Bamako, Mali ,2003.
- L'évêque, S. Etude comparative des résultats de l'ICSI au CHU de Nantes selon l'origine des spermatozoïdes.[thèse de doctorat en pharmacie ,université de Nantes].p12/14,2003
- Leberton M. Impact de la vaginoplastie sur la sensibilité périnéale, la satisfaction sexuelle et la fonction sexuelle postopératoire des femmes transsexuelles.Thèse ,Université du Québec À Montréal, 2013.
- **Lebrethon MC, Strivay M, non JP,Bourguig.** Hyperplasie congénitale des surrénales forme classique .percentile.11 (6) ,173-177, 2006.
- **Lemseffer A.** Anatomie fonctionnelle de l'appareil génital féminin. Gynécologue et obstétricien,2004.
- **Leroux L.** Gènes de la détermination sexuelle :à propos de deux observations. La Lettre du Gynécologue - n° 244 :34-40,1999.
- **Leujeune J.** Caractéristiques médico-légales de l'examen gynécologique normal comparé à celui de victimes d'agression sexuelle. Thèse de doctorat en médecine, universite Henri Poincaré, 2011.
- Levy R , Mirlesse V, Gourand L. Prise en charge des ambiguïté sexuelles en médecine fœtal. Pédiatrie puériculture 15:105-9, 2002.
- Maataoui S. L'intérêt de la cœlioscopie dans le traitement de l'ectopie testiculaire chez l'enfant. Thèse de doctorat en médecine, Faculté de médecine et de pharmacie -Rabat, Maroc, 2010.

- Madeuf A. Poursuite de grossesse alors qu'une IMG était recevable: Etat des lieux en France .Thèse de doctorat en médecine, Faculté mixte de Médecine et de pharmacie de Rouen, 2013.
- Mamad D. Etude de l'ambiguïté sexuelle dans le service d'urologie du chu du point « g » à propos de 5 observations. Thèse de doctorat en médecine, université de Bamako, Mali, 2008.
- Mango D, Scirpa P, Bompiani A, Menini E. Four cases of pregnancy with low estrogen production due to Placenta! Enzymatic deficiency. Eur j Obstet Gynecol Reproduc Biol, 8, 65-71, 1978.
- Mansouri F, A. Zeghba, F. Zouaidia, L. Laraqui, A. Jahid, Z. Bernoussi, N. Mahassini, M. Gharbi, A. Kadiri. Hermaphrodisme vrai. Maroc médical, 2.009.
- Marion F. Le diagnostic prénatal et son accompagnement : approche phénoménologique interprétative de l'expérience vécue par les parents et les pédiatres de néonatalogie. Thèse de doctorat en physiologie, université du Québec à Montréal ,2019.
- Marrakchi A , Belhadj H, Boussouf A, Chraibia A. Dysgénésies gonadiques pures XX et XY : à propos de 15 cas. Annales d'Endocrinologie .Volume 66, Issue 6, Annales d'Endocrinologie. December 2005, Pages 553-556
- Marro C. La tolérance à la transgression des rôles de sexe chez l'adolescent(e). *Pratiques psychologiques*, 3, pp. 39-50, 1998.
- Marzouk, K. Les kystes de la vésicule séminales. Thèse de doctorat en médecine, université Mohamed v rabat, Maroc, 2017.
- Mialy R. Ambiguïté sexuelle chez un nourrisson de deux mois. Mémoire d'étude de formation spécialisées de pédiatrie, université d'Antananarivo, 2005.
- Michel L. L'appareil génital masculin, L'Abrégé d'anatomie et de physiologie humaine, 2015.
- Mikol C. Dysharmonies géno-gonadiques. Conférences de biologie .pp :40
- Mirlesse V . Pathologie génitale fœtale . EMC, pédiatrie, 4-003-b-30, 2004.
- Mirlesse V. Diagnostic prénatal et médecine fœtale Du cadre des pratiques à l'anticipation du handicap Comparaison ! France, Brésil. Thèse de doctorat, Université Paris Sud, France, 2014.

- Morel Y. Conduite à tenir devant la découverte d'un état intersexué lors d'une grossesse, La prise en charge durant la période prénatale. *64*, 4:316-322, 2003.
- Nedjma L. Programmation néonatale de l'infertilité mâle : rôle de la dérégulation de L'expression des microARNs dans l'apoptose des cellules germinale. Thèse de doctorat, université Paris Sud, France ,2013.
- N'Mili M. La qualité de la surveillance de la grossesse à Kenitra. Thèse de doctorat en médecine, université Mohammed V de Rabat , Maroc, 2019.
- Ng KW, Ridgway P, Cohen DR , Tremethick DJ. The binding of a Fos/Jun heterodimer can completely disrupt the structure of a nucleosome. *EMBO J* 16 :2072-2085, 1997.
- Paradis, V. Étude comparative de gènes impliqués lors de la détermination et de la différenciation du sexe chez les mammifères. Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures en vue de l'obtention du grade de Maître des science en Biologie Moléculaire, 2004.
- Papillon K. Vulve et vagin : révise ton anatomie, 2014.
- Périnat M . Le nouveau-né porteur d'une anomalie de la différenciation sexuelle. *Lavoisier SAS* : 7:156-160, 2015.
- Pivois L, , Nassouri S, Françoise Archambeau, Anne Drutel, Sophie Galinat, Stéphanie Lopez, Marie-Pierre Teissier. Dysgénésies gonadiques 46, XY et anomalies de la lignée turnérienne . *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie* 14 (2) : 156-60, 2012.
- Poissonnier D. Aide à l'apprentissage de l'examen transrectal de la jument : réalisation d'une Banque d'ovaires et d'utérus Artificiels. Thèse de doctorat vétérinaire , 2009.
- Ravel C, Chantot-Bastaraud S, Siffrol J-P. Aspects moléculaires du déterminisme sexuel : Régulation génique et pathologie. *Gynécologie obstétrique et fertilité* ; 32(7- 8), 584 -59, 2004.
- Renaudin C. Intérêt de l'échographie dans la prise en charge des patients au cours de la consultation de médecine générale. Thèse de doctorat en médecine générale, Université Joseph Fourie, 2015.
- Reverchoune V. Les versiculets chez le taureau reproducteur : mise au point d'une technique d'ablation des vésicules séminales et conséquences sur le spermogramme. Thèse de Doctorat Vétérinaire, de la faculté de médecine de Creteil, 2007.

- Sandrine B et al. Le point sur le déterminisme du sexe chez les mammifères. *Médecine/Sciences*; 11 : 529-36 .p529,1998.
- Santa BP, Méjean C, B Moniot, Malclès MH, Berta B, Boizet-Bonhoure B . Steroidogenic factor-1 contributes to the cyclic-adenosine monophosphate down-regulation of human SRY gene expression. *Biol Reprod* 64:775-783,2001.
- Sara A. Le syndrome d'insensibilité aux androgènes à propos de deux cas. Thèse De Doctorat En Médecine. Université Mohammed V-Rabat,2016
- Sexton É. Comme exigence partielle de la maîtrise en biophysique et biologie cellulaires .Thésée de Mémoire de recherche présenté à université du Québec à trois-rivières ,2006.
- Mohammed Shahid, Varinderpal S. Dhillon, Mohammed Aslam, and S. A. Husain . Three new novel point mutations localized within and downstream of high-mobility group-box region in SRY gene in three Indian females with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* ; 90: 2429–2435,2005.
- Sidibe AT, Cisse I, Diarra AS, Bocoum IA, Dembele M, Traore HA. Les ambiguïtes sexuelles en médecine interne de l'hôpital du Point G Bamako – Mali Médical TXX N° 1 et 2 ,2005.
- Smiti Y. Les anomalies de différenciation sexuelle chez l'enfant Etude descriptive et analytique (A propos de 79 cas) - Scientific Figure on Research Gate. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/Classification-de-Prader-35\\_fig10,2016](https://www.researchgate.net/figure/Classification-de-Prader-35_fig10,2016).
- Stéphanie B. Les gènes de détermination sexuelle. *Épidémiologie et santé*, 2019
- Stenson PD, Edward V ball, Matthew Mort, Andrew D phillips, Jacqueline AShiel , Nick ST Thomas , Shaun Abeysinghe, Michael Krawczak, David N Cooper. Human Gene Mutation Database (HGMD): 2003 update. *Hum Mutat* ; 21: 577–581,2003.
- Thomas P. L'échographie en médecine générale : ses freins et ses axes de développement . Thèse de doctorat en médecine, faculté mixte de médecine et de Pharmacie de Rouen, 2016.
- Torota J et Derrickson S. Le système génital humaine, principe d'anatomie et physiologie ; P. 1151/1173, 2007.
- Vialard F, Fellous M . La génétique du déterminisme du sexe. *Journal de la société de biologie* ;196(3) ,197 -205, 2002.
- Warne GL .La découverte du SIA. Le Syndrome d'insensibilité complète aux .Androgènes ; ouvrage : ISBN 0958741611.1997.
- Woodward M. Disorder of sex development. *Surgox* ; 28(8):396-401,2010.

# Annexes

## Annexe I :

### Questionnaire : « Ambiguïté sexuelle »

Nom :

Prénom :

Sexe :

Date et lieu de naissance :

#### 1. Déroulement de la grossesse :

Terme :

\* HTA gravidique :

\* Diabète gestationnel :

\* Prise médicamenteuse :

\* Notion d'infections au cours de la grossesse :

\* Surveillance de la grossesse :

\* Autres incidents survenus au cours de la grossesse :

\* Notion de prise de « drogues » par la mère au cours de la grossesse :

Tabac : alcool : autres :

#### 2. ATCDs chez la mère :

cannabis :

groupage :

Age :

parité :

ATCDS Personnels de la mère :

obstétricaux :

médicaux et chirurgicaux :

malformations :

ATCDS Familiaux de la mère :

médicaux et chirurgicaux :

Notion de consanguinité :

malformations : Ambiguïté sexuelle (stade) :

Micropénis :

Hypospadias :

Cryptorchidie :

Autres :

autres malformations :

**3. ATCDs chez le père :**

Notion de prise de drogues :

ATCDS Personnels du père :

médicaux et chirurgicaux :

malformations :

ATCDS Familiaux du père :

médicaux et chirurgicaux :

malformations :

**Ambigüité sexuelle (stade) :**

Micropénis :

Hypospadias :

Cryptorchidie :

Autres :

autres malformations :

**4. ATCDs chez la fratrie :**

malformations de l'appareil génital:

Ambigüité sexuelle (stade) :

Micropénis :

autres malformations :

**5. Examen clinique du patient:**

Hypospadias : Cryptorchidie : Autres :

Poids : taille : FC : FR :

Appareil neurologique :

succion : tonus général :

Autres notions : Appareil cardio-vasculaire :

Dyspnée (intensité) : pouls :  
Autres notions :  
Appareil uro-génital : Ambigüité sexuelle (stade) :  
ectopie testiculaire :  
Micropénis (taille) :  
Hypospadias :  
Cryptorchidie :  
imperforation anale :  
Autres malformations :  
unilatérale :  
bilatérale :

## **Annexe II : Préparation des réactifs**

### **-Tampon de lyse (Tampon TE)**

Tris Hcl 2M, PH 7.5=10ml  
EDTA 0.25M ,PH 8.0=20ml  
H2O QSP 1000 ml

### **-Tampon Nacl EDTA (tampon NE)**

NaCL 5M = 20ml  
EDTA 0.25 M ;PH 8.0=100ml  
H2O=QSP 1000ml

### **EDTA 0.25M , PH 8.0**

EDTA = 93.06g  
NaOH = pour ajuster le PH 8.0  
H2O=QSP 1000ml

### **Protéinase K**

Protéinase K =100ml  
Tampon Tris-Hcl 2M-PH 7.5=50µl  
H2O=10ml

### Tampon Tris-HCL 2M-PH 7.5

Tris= 242.2 g + acide chlorhydrique pur pour ajuster le PH à 7.5

H<sub>2</sub>O =QSP 1000 ml

### TBE 5 X:

Tris 54g

Acide borique 27.5g

EDTA 3.72g

Ajuster le PH 8.3 QSP 1000ml

### Annexe III : Dosage des acides nucléiques

A 260 nm une unité de densité optique correspond à :

-50 µg / ml pour une solution d'ADN double brin

-250 µg / ml pour une solution d'ADN simple brin

On mesure donc à 260 nm et 280 nm la DO d'une dilution au 1/50<sup>ième</sup> ou au 1/100<sup>ième</sup> de la solution d'ADN à doser.

On déduit la concentration grâce au calcul suivant :

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = \text{Facteur de dilution} \times \text{DO}_{260 \text{ nm}} \times 50\mu\text{g} / \text{ml}$$

$$[C] (\mu\text{g} / \mu\text{l}) = \frac{\text{DO}}{\text{Facteur de dilution}} \times \text{L vol total}$$

$$\text{Facteur de dilution} = \frac{\text{vol total}}{\text{vol d'ADN}}$$

Exemple de calcul de la concentration

Dilution d'ADN 1/100 ( 10 µl d'ADN et 990 µl H<sub>2</sub>O)

$$\text{DO}_{260} = 0.09 \quad \text{Dilution } 1/100 \quad \Sigma L = 20$$

$$\text{DO}_{280} = 0.053$$

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = 0.09 \times 100 \times 50\mu\text{g} / \text{ml} = 450\mu\text{g}/\text{ml} \Rightarrow 450/1000 = 0.45\mu\text{g}/\mu\text{l} = 450 \text{ ng} / \mu\text{l}$$

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = \frac{0.09}{0.1} \times \frac{1000}{1000} = 0.45 \mu\text{g} / \mu\text{l} = 450 \text{ ng} / \mu\text{l}$$

Recherche d'une éventuelle contamination par les protéines :

$$R = \frac{\text{DO}_{260\text{nm}}}{\text{DO}_{280\text{nm}}}$$

$$\text{DO } 280 \text{ nm}$$

---

R doit être compris entre 2 et 1,7 (  $1.7 > R < 2$  )

Si  $R < 1.7$  il existe une contamination par les protéines d'où la nécessité d'une deuxième extraction

Si  $R > 2$  il existe une contamination par les ARN

**Annexe III : Consentement éclairé du patient**

**Centre hospitalier universitaire BenBadis de Constantine**

**Laboratoire de biologie et génétique moléculaire**

**Laboratoire de biochimie**

Indentification du paient Nom :                      Prénom : Date de naissance	N du prélèvement : Adresse : Tel :
---	--

**CONSENTEMENT**

Je soussigné(e), sus nommé, reconnais avoir été informé(e) par le.....  
sur les examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisées, dans un but diagnostic  
et/ou de recherche, à partir :

- Du prélèvement qui m'a été effectué       A visée diagnostique  
 A visée de recherche

Pour :

..... ..... ..... .....
----------------------------------

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

Fait à....., le.....Signature

**ATTESTATION**

Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient(e)	Signature et cachet
--	---------------------

Un document de ce type doit accompagner la prescription – et les documents cliniques  
indispensables- pour chacune des analyses demandées.

Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et  
de l'attestation, et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés.

## Résumé

On parle d'anomalies de la détermination sexuelle (DSD), lorsqu'on est devant l'existence d'une discordance entre le sexe génétique et le sexe gonadique, le sexe biologique et le sexe morphologique. Il s'agit d'un groupe de pathologies complexes. La détermination du sexe obéit à une cascade d'événements et est sous le contrôle de plusieurs gènes dont le gène SRY, le gène du récepteur des androgènes et de nombreux autres ainsi que certaines hormones. Dans ce contexte, nous avons réalisé ce travail dont les objectifs étaient de :

Décrire les aspects anatomo-cliniques, paracliniques et thérapeutiques des ambiguïtés sexuelles, de rechercher le gène SRY chez une famille présentant plusieurs cas d'ambiguïté sexuelle et enfin de déterminer le type d'ambiguïté sexuelle présente dans cette famille et sa prise en charge.

## Résumé de l'observation

Maroua et Selsabil sont des sœurs âgées de 18 et 22 ans respectivement première et deuxième enfants d'une fratrie de quatre enfants, issue d'un mariage non consanguin, sans ATCD personnels particuliers et sans ATCD familial d'aménorrhée primaire. Ayant consulté au service d'endocrinologie du CHU BenBadis de Constantine pour une aménorrhée primaire. Vers l'âge de 12 ans pour Maroua et 13 ans pour Selsabil, un développement normal des seins est apparu avec un morphotype féminin harmonieux. L'examen clinique a retrouvé des patientes en bon état général qui pesaient 52 kg pour 1.68 m pour Maroua et 45 kg pour 1.50 pour Selsabil et le développement mammaire était au stade III de Tanner alors que la pilosité pubienne était au stade I et une pilosité axillaire absente A0. Il n'y avait pas de masses palpables au niveau inguinal. Au toucher rectal, l'utérus n'était pas palpable. L'échographie pelvienne a montré l'absence de l'utérus et des ovaires et présence de masses iliaques. Sur le plan biologique, le taux de testostérone était de 13,68 ng/ml, le taux de FSH bas à 1,0 UI/l, le taux de LH élevé à 28 UI/l et le taux de 17 bêta-œstradiol élevé à 60,2 pg/ml. Concernant les marqueurs tumoraux : le taux de  $\beta$ HCG élevé à 114,5 mUI/ml. Le caryotype a révélé une formule chromosomique 46, XY et une présence du gène SRY à l'analyse moléculaire. Devant ces constatations cliniques, biologiques et radiologiques, Le diagnostic de testicule féminisant ou de syndrome de résistance complète aux androgènes a été posé et le médecin traitant a expliqué à la famille la nécessité d'un suivi particulier.

Ces deux patientes ont été orientées vers le service de chirurgie pour une éventuelle ablation des testicules qui risquent la cancérisation. Après discussion avec les parents compte tenu des conditions socio-familiales culturelles et des traditions et L'orientation psychosexuelle est féminine cad le désir des deux patientes et de leur parents le sexe retenu était féminin. Un traitement à base d'œstro-progestatifs a été alors instauré en post opératoire pour un bon développement de leurs caractères sexuels secondaires. Vue les deux cas familiaux de syndrome de résistance complète au androgène et vue l'absence du diagnostic génétique dans notre laboratoire, l'endocrinologue nous a demandé de lui faire la recherche du gène SRY chez les deux sœurs plus jeunes Ranim et Ines âgées de 4 et 10 ans respectivement au moins afin de voir si elle ont ce gène ou non. La recherche du gène SRY chez les deux sœurs de même que les dosages hormonaux étaient en accord avec les âges respectif des deux sœurs ce qui rassure. Cependant le caryotype n'a pas été réalisé vue les conditions socioéconomiques défailantes de la famille.

Ainsi, toute suspicion d'une DSD est considérée comme une urgence qui doit conduire, à rechercher une étiologie menaçante sur le plan vital et, et à choisir le sexe d'élevage. Un ensemble d'atteintes dont le degré de gravité et les conséquences sont variables.

**Mots clés :** DSD, Caryotype, gène SRY, Syndrome d'insensibilité complète aux androgènes de Laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine UC3

## **Abstract :**

We speak of abnormalities of sexual determination (DSD), when we are faced with existence a mismatch between genetic sex and gonadic sex, biological sex and morphological sex. This is a group of complex pathologies. Sex determination follows a cascade of events and is under the control of several genes including the SRY gene, the androgen receptor gene and many others as well as certain hormones. In this context, we carried out this work whose objectives were to:

Describe the anatomo-clinical, paraclinical and therapeutic aspects of sexual ambiguities, to look for the SRY gene in a family with several cases of sexual ambiguity and finally to determine the type of sexual ambiguity present in this family and its management.

### **Summary of observation**

Maroua and Selsabil are sisters aged 18 and 22 respectively, the first and second children of a family of four children, from a non-consanguineous marriage, without any special personal ATCD and without a family ATCD of primary amenorrhea. Having consulted the endocrinology department of the BenBadis University Hospital of Constantine for primary amenorrhea. Around the age of 12 for Maroua and 13 for Selsabil, normal breast development appeared with a harmonious female morphotype. Clinical examination found patients in good general condition who weighed 52 kg for 1.68 m for Maroua and 45 kg for 1.50 for Selsabil and breast development was in tanner stage III while pubic hair was in stage I and axillary hairiness absent A0. There were no palpable masses at the inguinal level. On digital rectal examination, the uterus was not palpable. Pelvic ultrasound showed the absence of the uterus and ovaries and the presence of iliac masses. Biologically, testosterone levels were 13.68 ng/ml, FSH was low at 1.0 IU/l, LH was elevated at 28 IU/l and 17 beta-oestradiol was elevated to 60.2 pg/ml. Concerning tumor markers: the level of  $\beta$ HCG elevated to 114.5 mUI / ml. The karyotype revealed a chromosomal formula 46, XY and a presence of the SRY gene at molecular analysis. In the face of these clinical, biological and radiological findings, the diagnosis of feminizing testicle or syndrome of complete resistance to androgens was made and the attending physician explained to the family the need for special follow-up.

These two patients were referred to the surgery department for a possible removal of the testicles that are at risk of cancerization. After discussion with the parents taking into account the cultural socio-family conditions and traditions and Psychosexual orientation is feminine cad the desire of both patients and their parents the chosen sex was female. Treatment with estrogen progestogens was then instituted post-operatively for the proper development of their secondary sexual characteristics. In view of the two familial cases of complete androgen resistance syndrome and in view of the absence of genetic diagnosis in our laboratory, the endocrinologist asked us to do the research of the SRY gene in the two younger sisters Ranim and Ines aged at least 4 and 10 years respectively in order to see if they have this gene or not. The search for the SRY gene in the two sisters as well as the hormonal dosages were in accordance with the respective ages of the two sisters which reassures. However, the karyotype was not realized because of the poor socio-economic conditions of the family.

Thus, any suspicion of a DSD is considered an emergency that must lead, to seek a vitally threatening etiology and, and to choose the breeding sex. A set of breaches whose degree of severity and consequences

## ملخص

نحن نتحدث عن تشوهات في تحديد الجنس ، عندما نواجه الوجود عدم التطابق بين الجنس الوراثي والجنس النهم والجنس البيولوجي والجنس المورفولوجي. هذه مجموعة من الأمراض المعقدة. تحديد الجنس يتبع سلسلة من الأحداث وتحت سيطرة العديد من الجينات بما في ذلك الجين SRY, جين مستقبلات الاندروجين وغيرها الكثير فضلا عن بعض الهرمونات. وفي هذا السياق، قمنا بهذا العمل الذي كانت أهدافه هي:

وصف الجوانب التشريحية السريرية وشبه السريرية والعلاجية للغموض الجنسي، للبحث عن الجين SRY في عائلة مع عدة حالات من الغموض الجنسي وأخيرا لتحديد نوع من الغموض الجنسي موجودة في هذه الأسرة وإدارتها.

### ملخص الملاحظة

مروة وسلسبيل شقيقتان تبلغان من العمر 18 و 22 عاما على التوالي، وهما الطفلان الأول والثاني لأسرة مكونة من أربعة أطفال، من زواج غير أخوي، وبدون أي مكافحة مكافحة الدهون الشخصية الخاصة وبدون أية عائلة من انقطاع الطمث الأولي. بعد استشارة قسم الغدد الصماء في مستشفى جامعة بن بريدس في قسنطينة للطمث الأولي. في سن 12 عاما لمروة و 13 عاما لسلسبيل، ظهر نمو الثدي الطبيعي بنوع مورفوتيب نسائي متناغم. ووجد الفحص السريري أن المرضى في حالة عامة جيدة وزنوا 52 كجم مقابل 1.68 متر لمروة و 45 كجم مقابل 1.50 لسلسبيل وكان نمو الثدي في المرحلة الثالثة من تانر بينما كان شعر العانة في المرحلة الأولى وشعر الإبطن غائبا A0. لم تكن هناك جماهير واضحة على المستوى الأربي. في فحص المستقيم الرقمي، لم يكن الرحم واضحا. وأظهرت الموجات فوق الصوتية الحوض غياب الرحم والمبيضين ووجود الجماهير الحرقفية. بيولوجيا، كانت مستويات هرمون تستوستيرون 13.68 نانوغرام/مل، FSH منخفضة في 1.0 وحدة IU/l، تم رفع LH في 28 وحدة في اليوم و 17 بيئا-oestradiol تم رفعها إلى 60.2 pg/ml. فيما يتعلق بعلامات الورم: مستوى  $\beta$ HCG مرتفع إلى 114.5 mIU / مل. وكشف النمط الكاريوتيبي عن تركيبة كروموسومية 46 XY ووجود جين SRY في التحليل الجزيئي. في مواجهة هذه النتائج السريرية والبيولوجية والإشعاعية ، تم تشخيص تأنيث الخصية أو متلازمة المقاومة الكاملة للاندروجين وأوضح الطبيب المعالج للأسرة الحاجة إلى متابعة خاصة.

وقد أحيل هذان المريضان إلى قسم الجراحة لاحتمال استئصال الخصيتين المعرضتين لخطر الإصابة بالسرطان. بعد مناقشة مع الوالدين مع الأخذ في الاعتبار الظروف الثقافية الاجتماعية والأسرية والتقاليد والتوجه النفسي الجنسي هو كندي المؤنث رغبة كل من المرضى وأبائهم الجنس المختار كان أنثى. ثم تم وضع العلاج مع هرمون الاستروجين بروجستيروناتون بعد الجراحة من أجل التطور السليم لخصائصها الجنسية الثانوية. نظرا للحالتين العائليتين لمتلازمة مقاومة الاندروجين الكاملة ونظرا لعدم وجود تشخيص وراثي في مختبرنا ، طلب منا طبيب الغدد الصماء إجراء بحث عن جين SRY في الشقيقتين الأصغر سنا رانيم وإينس البالغتين من العمر 4 و 10 سنوات على الأقل من أجل معرفة ما إذا كان لديهما هذا الجين أم لا. البحث عن الجين SRY في الشقيقتين، فضلا عن الجرعات الهرمونية كانت وفقا لأعمار كل من الشقيقتين الذي يطمئن. غير أن النمط الكاريوي لم يتحقق بسبب سوء الأحوال الاجتماعية والاقتصادية للأسرة.

وهكذا، يعتبر أي اشتباه في DSD حالة طوارئ يجب أن تؤدي، للبحث عن مسببات تهدد بشكل حيوي، واختيار جنس التربية. مجموعة من الخروقات التي درجة من الشدة والعواقب متغيرة.

Année universitaire : 2020 - 2021

Présenté par : DIOUANE NADA

ABBAZ RANIA

BENZARGUINE BATOUL

## Intérêt de la recherche du gène SRY dans l'ambiguïté sexuelle

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Résumé :

On parle d'anomalies de la détermination sexuelle (DSD) , lorsqu'on est devant l'existence d'une discordance entre le sexe génétique et le sexe gonadique, le sexe biologique et le sexe morphologique. Il s'agit d'un groupe de pathologies complexes. La détermination du sexe obéit à une cascade d'évènements et est sous le contrôle de plusieurs gènes dont le gène SRY, le gène du récepteur des androgènes et nombreux autres ainsi que certaines hormones. Dans ce contexte, nous avons réalisé ce travail dont les objectifs étaient de Décrire les aspects anatomo-cliniques, paracliniques et thérapeutiques des ambiguïtés sexuelles, de rechercher le gène SRY chez une famille présentant plusieurs cas d'ambiguïté sexuelle et enfin de déterminer le type d'ambiguïté sexuelle présente dans cette famille et sa prise en charge.

summary

We speak of anomalies of sexual determination, when we are faced with the existence of a mismatch between genetic sex and gonadal sex, biological sex and morphological sex. This is a group of complex pathologies. The determination of sex follows a cascade of events and is under the control of several genes including the SRY gene, the androgen receptor gene and many others as well as certain hormones. . In this context, we carried out this work, the objectives of which were to: Describe the anatomo-clinical, paraclinical and therapeutic aspects of sexual ambiguities, to search for the SRY gene in a family presenting several cases of sexual ambiguity and finally to determine the type of sexual ambiguity present in this family and its management.

ملخص

نتحدث عن شذوذ في التحديد الجنسي ، عندما نواجه الوجود من عدم التوافق بين الجنس الجيني والجنس التناسلي والجنس البيولوجي و الجنس SRY المورفولوجي. هذه مجموعة من الأمراض المعقدة ، ويتبع تحديد الجنس سلسلة من الأحداث ويخضع لسيطرة العديد من الجينات بما في ذلك جين وصف الجوانب التشريحية - السريرية ، وجين مستقبل الأندروجين والعديد من الهرمونات الأخرى. في هذا السياق قمنا بهذا العمل الذي كانت أهدافه في عائلة تعرض عدة حالات من الغموض الجنسي وأخيراً تحديد نوع الغموض الجنسي SRY السريرية والعلاجية للغموض الجنسي ، للبحث عن جين الموجود في هذه العائلة وكيفية إدارته

**Mots-clefs :** DSD, Caryotype, gène SRY, Syndrome d'insensibilité compétente aux androgènes

**Laboratoires de recherche :**

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

**Président du jury :** Pr CHAOUI NAWEL (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine1).

**Rapporteur :** Pr SIFI Karima (PROF - Université Salah Boubnider, Constantine 3).

**Examineur :** SEDRATI KHADIDJA (MCA-Université des Frères Mentouri Constantine1).