



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الأخوة 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

Intitulé

Facteurs de risque et gène *SRY* dans les anomalies du développement gonadique (46,XY)

Présenté et soutenu par :
AZZAOUI Yousra
BENENEMISSI Cheima

Le : 21/06/2023

Jury d'évaluation

Président du jury:	CHAOUI Naouel	(Pr- UFM Constantine).
Rapporteur:	ZIDOUNE Housna	(MCB- UFM Constantine)
Examineur:	CHELLAT Djalila	(Pr- UFM Constantine).

Année universitaire
2022/2023

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I. Développement sexuel

1. Détermination du sexe chromosomique.....2

2. Détermination du sexe gonadique.....2

2.1 Gonade indifférenciée ou bipotentielle.....2

2.2 Détermination et différenciation des testicules3

2.3 Détermination et différenciation ovarienne4

3. Différenciation sexuelle5

3.1 Développement des vois génitales (stade indifférencié).....5

3.2 Développement du tractus masculin6

3.3 Développement du tractus féminin6

4. Différenciation des organes génitaux externes7

Chapitre II. Régulation génétique de la détermination sexuelle

1. Gonade bipotentielle8

1.1 *WT1 (Wilm's tumor 1)*8

1.2 *NR5A1 (nuclear receptor subfamily 5, group A, member1)*9

1.3 *LHX9 (LIM (LIN-11, ISL1 and MEC-3) homeobox 9)*9

1.4 *EMX2 (Empty spiracle homeobox gene 2)*.....9

1.5 *CBX2 (Chromobox homolog 2)*10

1.6 <i>GATA4 (GATA binding protein 4)</i>	10
2. Détermination testiculaire	10
2.1 Facteurs de transcription <i>SOX (SRY-related high-mobility group box)</i>	10
2.1.1 <i>SRY (sex-determining region of Y chromosome)</i>	10
2.1.2 <i>SOX9 (SRY-related HMG box 9)</i>	12
2.2 Autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire	12
3. Détermination ovarienne.....	12

Chapitre III. Troubles du développement testiculaire chez les 46,XY

1. Dysgénésies gonadiques 46,XY (DG 46,XY)	13
1.1 Définition de la dysgénésie gonadique complète (DGC)	13
1.2 Définition de la dysgénésie gonadique partielle (DGP)	14
1.3 Etiologie des DGC et DGP	14
2. Agénésie testiculaire	15
2.1 Définition	15
2.2 Étiologie.....	16
3. DSD ovotesticulaire 46,XY (DSD OT 46,XY)	16
3.1 Définition	16
3.2 Étiologie.....	17

Chapitre IV. Traitements et prise en charge

1. Assignation du sexe	18
2. Traitement hormonal.....	18
3. Traitement chirurgical.....	19
4. Prise en charge psychologique.....	19
5. Transition vers les soins aux adultes.....	19

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Patients.....	20
1.1 Recrutement des patients	20
1.2 Prélèvement sanguin	20
2. Méthodes.....	21
2.1 Extraction de l'ADN.....	21
2.1.1 Méthode d'extraction au NaCl	21
2.1.2 Dosage et dilution de l'ADN.....	22
2.1.3 Evaluation de la qualité d'ADN	22
2.1.3.1 Electrophorèse sur gel d'agarose	22
2.1.3.2 Pureté	22
2.2 PCR (polymerase chain reaction) du gène <i>SRY</i>	23
2.2.1 Préparation du mix	24
2.2.2 Déroulement des cycles de la PCR.....	25
2.2.3 Contrôle de la PCR.....	25
3. Etude statistique.....	26

Résultats et discussion

1. Etude descriptive et analytique des critères familiaux, cliniques et biologiques.....	27
1.1 Répartition des patients selon leur origine.....	27
1.2 Répartition des patients selon l'âge de la première consultation.....	28
1.3 Répartition des patients selon le motif de consultation	29
1.4 Répartition des patients selon le sexe d'assignation	30
1.5 Répartition des patients selon la consanguinité des parents.	31
1.6 Répartition selon la présence des cas familiaux similaires	31
1.7 Répartition des patients selon leur milieu de vie	33

1.8 Répartition des patients selon l'âge des parents lors de la conception	34
1.8.1 Age du père	34
1.8.2 Age de la mère	35
1.9 Répartition des patients selon la profession des parents	36
1.9.1 Profession du père	36
1.9.2 Profession de la mère	37
1.10 Répartition des patients selon le type d'anomalies du développement gonadique.....	38
1.11 Répartition des patients selon la présence d'un utérus ou des dérivés müllériens.....	39
2. Etude moléculaire	40
Conclusion et perspectives	42
Références bibliographiques	44
Annexes	
Résumés	

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions « **ALLAH** », le tout puissant de nous avoir accordé la santé, la force et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadrante **Dr. ZIDOUNE Housna** qui nous a fait l'honneur pour nous guider et diriger au cours de cette étude. Merci pour son engagement constant, son soutien et son évaluation tout au long de notre travail. Sa passion pour la connaissance et sa rigueur scientifique ont été une source d'inspiration pour nous, elle nous a guidées pendant toute cette période avec une compétence, disponibilité et extrême gentillesse. Merci Docteur.

Nous tenons à exprimer notre gratitude au **Professeur CHAOUI Naouel**, pour avoir accepté de juger ce travail et sa présidence du jury. Nous remercions également **Professeur CHELLAT Djalila**, d'avoir accepté d'examiner notre travail. Votre présence et votre expérience vont ajouter incontestablement une valeur scientifique à ce travail.

Nous remercions tous les enseignants du département de la biologie animale pour leurs orientations et leurs conseils qui ont éclairé ce parcours académique.

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

إهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

بعد مسيرة دراسية دامت سنوات حملت في طياتها الكثير من الصعوبات، المشقة والتعب ها نحن اليوم نقطف ثمارها بفضل الله، فالحمد لله على توفيقه وكرمه.

ولان نبينا الكريم صلى الله عليه وسلم قال: { تَهَادُوا تَحَابُّوا }

أهدي مذكرتي المتواضعة إلى أحبائي الأعزاء ومن بقلبي جميعا، الذين كانوا دائما مصدر الدعم والتشجيع لي طوال فترة دراستي. لا يمكنني وصف مدى الامتنان والشكر الذي أشعر به تجاهكم جميعا.

لأمي العزيزة فاطمة نعام، يا من اخص الله الجنة تحت قدميك. لا اعلم كيف اعير عن مدى حبي وتلقي بك. كنت الداعمة الأكبر والمربية الحنونة طوال هذه السنوات. لم تتوانى يوماً في تقديم المشورة والدعم المعنوي لي، ولكنك أيضاً علمتني قيم الصبر والإصرار. أنت أُمي العظيمة وأعظم صديقة لي، أحبك من كل قلبي.

لأبي الغالي النعمي عزاوي، يا أوسط ابواب الجنة. أنت رمز للقوة والإلهام بالنسبة لي. لقد واجهت الصعاب بثبات ولم تنردد في دعمي وتوجيهي في رحلتي الأكاديمية. بفضلك، استطعت تحقيق أحلامي وتخطي التحديات. شكراً لك على كل شيء، أنت الأب المثالي، أحبك من كل قلبي.

لأخوتي الأعزاء، أنتم شركاء الحياة الأبديين. كنتم دائماً موجودين لتقديم الدعم والمشاركة في الأوقات السعيدة والصعبة. لقد تشاركنا الضحكات والدموع والذكريات الثمينة، وأنا فخورة بأنكم أخواتي (أسماء، إيمان وسلمي) وشكراً لكونكم سنداً أشقائي (أحمد، عبد الرؤوف وعبد الله).

لكل خالاتي الحبيبات، أنتم أكثر من مجرد خالات بالنسبة لي، بل أصدقاء ومعلمات وملهمات. لقد قدمتن لي النصائح والدعم والاهتمام بلا حدود. أنا ممتنة لكم على الحب الذي تبدينه لي خاصة (سهيلة، أسماء وزينب) وأخوالي (الحسن، رشيد، عبد القادر ومحمد).

وبالطبع أعمامي، عماتي وكل عائلة عزاوي، الذين كانوا دائماً جزءاً لا يتجزأ من حياتي ومصدرًا للسعادة.

وأخيراً، لأصدقائي الأعزاء، أنتم العائلة التي اخترتها. كنتم الأصدقاء المخلصين الذين تشاركونني رحلة التعلم والنمو. تشاركنا اللحظات الرائعة والتجارب الممتعة، ولن أنسى أبداً الدعم الذي قدمتموه لي خاصة آثار وشيماء شريكتي في هذا العمل.

ولا أنسى كل معلم ومعلمة، الذين لعبوا دوراً حاسماً في تشكيل مستقبلي وإرشادي خلال رحلتي خاصة مؤخرمش معمر.

شكراً لكم جميعاً على الحب والدعم الذي قدمتموه لي. بدونكم، لما استطعت تحقيق هذا الإنجاز. أتمنى أن أتمكن من إعادة جميع اللطف والحب الذي غمرتموني به. أنا ممتنة لكم، وأتطلع إلى مشاركة المستقبل المشرق معكم.

مع كل الحب

♥ يسرى عزاوي ♥

Dédicaces

Je dédie ce travail à **mes très chers parents**, qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenue tout au long de ces années d'études. Merci à vous pour votre amour et soutien dans tous les moments, pour m'avoir encouragée et pour toutes les choses que je ne pourrais jamais énumérer. Je ne pense pas que les mots suffiront à exprimer ma gratitude envers vous deux, vous êtes la raison de mon succès et de mon bonheur, que Dieu vous garde pour nous.

A **mes chers frères, ma source d'espoir et de motivation, Mohamed Lotfi, Zakaria, Ismail et Nouredine** merci à vous de m'avoir soutenue et encouragée à être la meilleure, à **mon adorable frère Abdelhadi**, merci à toi d'être là, tu es la source de mon bonheur et joie. Que Dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur.

A **mon oncle Amar Larbi**, merci de m'avoir soutenu à tout moment. Je n'oublierai jamais ta bienveillance.

A **mes cousins et cousines**

A **mes neveux et nièces, Afnan, Khalil, Yahya, Maysam, Hanin et Joude**, qui ont ajouté une touche spéciale à ce travail.

A **tous les membres de la famille BENENEMISSI.**

A **mes meilleurs amies, Chaima, Khawla, Ibtihal, Zahra, Malak, Hadjer, Meissa, Doria et Rayen.**

Sans oublier **mon binôme Yousra**, merci pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de ce travail.

♥ BENENEMISSI Cheima ♥

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
ADS	anomalies du développement sexuel
AMH	hormone anti-müllérienne
BBP	bleu de bromophénol
BET	bromure d'éthidium
CBX2	chromobox homolog 2
CGP	cellules germinales primordiales
DAX1	dosage sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenital-critical region of the X chromosome, gene 1
DG	dysgénésies gonadiques
DGC	dysgénésie gonadique complète
DGP	dysgénésie gonadique partielle
DHH	deserthedgehog
DHT	dihydrotestostérone
DHX37	DEAH-box helicase 37
DMRT1	dsx and Mab-3-related transcription factor 1
dNTP	désoxynucléosides triphosphates
DSD	disorders of sexual development
DSD OT	DSD ovotesticulaire
EDTA	ethylene diamine tetra-acetic acid
EMX2	empty spiracle homeobox gene 2
FGF9	fibroblastgrowth factor 9
FGFR2	fibroblast growth factor receptor 2
FOXL2	forkhead box L2
FSH	follicle stimulating hormone
GATA4	GATA Binding protéin 4
GD2	prostaglandine D2

HCG	gonadotrophine chorionique humaine
HMG	high-mobility group
HY	antigène d'histocompatibilité
KTS	lysine, thréonine, serine
LH	hormone lutéinisant fœtale
LHX9	LIM homeobox 9
LIM	LIN-11,ISL1 and MEC-3
MAP3K1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1
NGS	next generation sequencing
NR5A1	nuclear receptor subfamily 5, group A, member1
NR0B1	nuclear receptor subfamily 0 group B member1
OGE	organes génitaux externes
OGI	organes génitaux internes
PCR	polymerase chain reaction
PGD2	prostaglandine D2
SF1	stroidogenic factor 1
SOX	SRY-related high-mobility group (HMG) box
SOX 3	SRY-box transcription factor 3
SOX 4	SRY-box transcription factor 4
SOX 8	SRY-box transcription factor 8
SOX9	SRY-related HMG box 9
SOX 10	SRY-box transcription factor 10
SRT	syndrome de régression testiculaire
SRY	sex-determining region of the Y chromosome
TBE	tris borate EDTA
TDF	testis determining factor
TESCO	testis-specific enhancer core element
Tm	melting temperature
VTS	vanishing testis syndrome

WES	séquençage de l'exome entier
WT1	wilm's tumor 1
WNT	wingless-type MMTV integration site
WNT4	wnt family member 4
ZFY	zinc finger protein Y-linked

Liste des figures

Figure 1 . Migration des CGP et interprétation de la formation d'une gonade indifférenciée	3
Figure 2 . Développement de la crête génitale.....	4
Figure 3. Développement du système génital interne à partir du stade indifférencié en fonction du sexe..	6
Figure 4. Chronologie des gènes impliqués dans le développement gonadique.....	8
Figure 5. Répartition des patients selon leur origine.	27
Figure 6. Répartition des patients selon l'âge de la première consultation.....	28
Figure 7. Répartition des patients selon le sexe d'assignation.....	30
Figure 8. Répartition des patients selon la présence des cas familiaux similaires.....	31
Figure 9. Répartition des patients selon leur milieu de vie.....	33
Figure 10. Répartition des patients selon l'âge du père pendant la grossesse.	34
Figure 11. Répartition des patients selon l'âge de la mère pendant la grossesse.....	35
Figure 12. Répartition des patients selon le type de DSD 46 ,XY.....	38
Figure 13. Répartition des patients selon la présence d'un utérus ou des dérivés müllériens.	39

Liste des tableaux

Tableau 1. Amorces utilisées pour la PCR d'un amplicon de 272 pb du gène <i>SRY</i>	23
Tableau 2. Constituants du milieu réactionnel pour la PCR du gène <i>SRY</i> pour un patient.	24
Tableau 3. Programmation des cycles de PCR.....	25
Tableau 4. Répartition des patients selon le motif de consultation.	29
Tableau 5. Répartition des patients selon la consanguinité des parents.	31
Tableau 6. Répartition des patients selon la profession du père.	36
Tableau 7. Répartition des patients selon la profession de la mère.	37

Introduction

Les anomalies du développement gonadique sont dues à des altérations d'une ou de plusieurs étapes de la détermination/différenciation testiculaire ou ovarienne au cours la vie intra-utérine, entraînant ainsi un développement anormal de la gonade fœtale (Hughes *et al.*, 2006 ; Abdelmoula *et al.*, 2022)

Chez les individus 46,XY, les anomalies du développement testiculaire peuvent entraîner des défauts de différenciation sexuelle qui se traduisent par une présence d'OGE (organes génitaux externes) féminins ou atypiques avec un degré de féminisation variable d'une personne à une autre, une présence ou une absence de structures müllériennes et des problèmes de fertilité (Mendonca *et al.*, 2009 ; Garcia-Acero *et al.*, 2020).

Les données épidémiologiques sur les anomalies du développement gonadique sont limitées. Cependant, il a été estimé que ces conditions sont relativement rares et affectent environ 1 sur 20 000 nouveau-nés (Garcia-Acero *et al.*, 2020).

L'étiologie exacte de ces troubles n'est pas bien connue. Cependant, sur le plan moléculaire, ces anomalies résultent de variants impliquant un ou plusieurs gènes responsables du développement de la gonade bipotentielle ou du testicule. Parmi ces gènes, le gène *SRY* (*sex determining region Y*) qui est situé sur le chromosome Y et joue un rôle essentiel dans la détermination du sexe masculin. De ce fait, l'analyse du gène *SRY* dans les anomalies du développement du testicule est un sujet d'intérêt majeur dans le domaine de la génétique et de la biologie du développement humain (Berglund *et al.*, 2017 ; Lopès et Poudat, 2022).

L'objectif général de ce travail est de mettre en évidence l'étiologie des troubles du développement gonadique chez les patients 46,XY de l'Est algérien.

Les objectifs spécifiques de cette étude sont :

- la confirmation de la présence ou l'absence du gène *SRY* dans les cas 46,XY avec des anomalies du développement testiculaire ;
- l'exploration des facteurs de risque associés à cette anomalie congénitale.

Bibliographie

Chapitre I

Développement sexuel

Chez l'homme, le développement sexuel est un phénomène dimorphique complexe. À partir d'une ébauche embryonnaire indifférenciée et bipotentielle s'effectue la détermination gonadique en un testicule ou en un ovaire, faisant appel à diverses voies de signalisation cellulaire, hormonale et moléculaire (Kalfa *et al.*, 2015 ; Bull, 2016).

Quel que soit le sexe génétique de l'embryon (46,XY ou 46,XX) les gonades, les OGI (organes génitaux internes) et les OGE sont indifférenciés dans les phases primaires du développement embryonnaire. Dès le 30^{ème} jour, les gonades indifférenciées comprenant les cellules germinales primordiales (CGP) et les cellules somatiques, apparaissent sous forme de crêtes génitales et les deux type d'OGI coexistent : les canaux de Wolff à l'origine des voies génitales mâles et les canaux de Müller à l'origine des voies génitales femelles. À ce stade les OGE, tubercule et bourrelets génitaux sont les même pour les deux sexes (Bull, 2016 ; Manouvrier-Hanu, 2019).

1. Détermination du sexe chromosomique

Le sexe génétique de l'embryon est déterminé dès la fécondation d'un ovocyte II « 23,X » par un spermatozoïde «23,X» ou «23,Y» donnant ainsi, un embryon de sexe féminin 46,XX ou de sexe masculin 46,XY, respectivement (Benslimane, 2018).

2. Détermination du sexe gonadique

Selon le sexe chromosomique, les gonades bi-potentielles se différencient en un ovaire ou en un testicule. Les crêtes génitales, le blastème gonadique et les CGP sont les trois principaux constituants des gonades (Le Moigne et Foucrier, 2010 ; Coutant, 2012).

2.1 Gonade indifférenciée ou bipotentielle

Dès la 4^{ème} semaine de la vie intra utérine, les gonades primitives apparaissent sous forme de crêtes génitales, formés par l'épaississement et creusement de la somatopleure des lames latérales sur les deux côtes du mésentère dorsal. Ensuite les blastèmes mésenchymateux gonadique placés entre les crêtes génitales et les ébauches mésonéphrotiques (Le Moigne et Foucrier, 2010 ; Rajo, 2015 ; Siffroi, 2019).

Les CGP apparaissent au niveau de l'épiblaste près de sa jonction avec l'ectoderme extra-embryonnaire, par la suite elles pénètrent dans l'ectoderme près du pédicule allantoïdien et du sac vitellin (Le Moigne et Foucrier, 2010 ; Rajo, 2015).

A partir de la 6^{ème} semaine de gestation les CGP migrent le long du mésentère dorsal de l'intestin postérieur, où elles colonisent une seule région restreinte des crêtes génitales (Le Moigne et Foucrier, 2010 ; Devos, 2014 ; Mandon-Pépin, 2019).

Les gonades indifférenciées forment de deux populations cellulaires : des cellules somatiques d'origine mésodermique et les CGP d'origine extra-embryonnaire. La prolifération des cellules somatiques et l'épaississement de l'épithélium germinatif conduit à la formation de deux régions distinctes : le cortex et la médulla (Le Moigne et Foucrier, 2010).

En parallèle de la formation des gonades bipotentielle, deux canaux apparaissent : le canal de Wolff (canal néphrique) et le canal de Müller (canal paramésonephrique) le long du canal néphrique (Figure 1) (Slack, 2004).

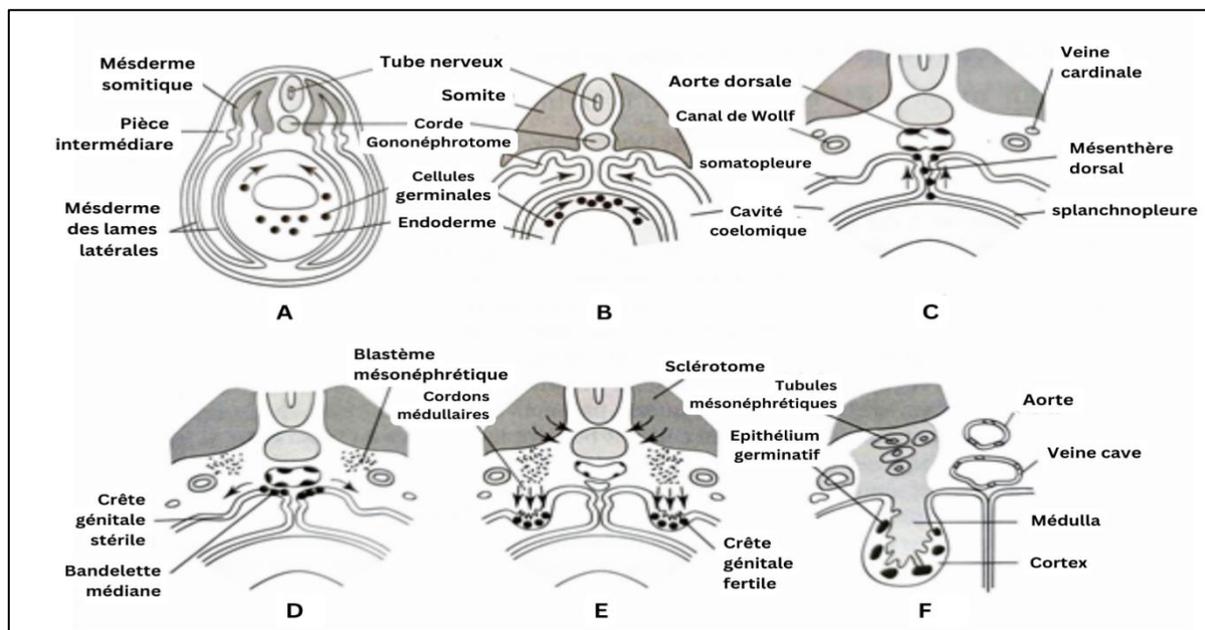


Figure 1 . Migration des CGP et interprétation de la formation d'une gonade indifférenciée (Le Moigne et Foucrier, 2010).

2.2 Détermination et différenciation des testicules

Chez l'embryon de sexe génétique masculin, la différenciation des gonades bipotentielle en un testicule s'effectue à partir de la 6^{ème} semaine du développement embryonnaire et s'achève entre le 3^{ème} et le 4^{ème} mois de gestation. Au cours de ce processus, les CGP se détachent de la région corticale et passent dans le cordon médullaire. Par la suite, le cortex se réduit et la médulla se développe, le mésenchyme se condense et se fractionne pour former l'albuginée des testicules. Le cordon médullaire à son tour croît dans les crêtes germinales et forme les tubes séminifères qui constituent les précurseurs des cellules de Sertoli. Ces dernières

deviennent spécialisées, entourent les cellules germinatives et sécrètent l'hormone anti-müllérienne (AMH) (Abdelmaksoud-Zghal, 2003 ; Slack, 2004).

Dès la 8^{ème} semaine de gestation, les cellules de Leydig se différencient entre les tubes séminifères, à partir du mésenchyme et sécrètent la testostérone responsable de la stabilisation des canaux de Wolff (Figure 2.C,D) (Abdelmaksoud-Zghal, 2003 ; Slack, 2004 ; Coutant, 2012).

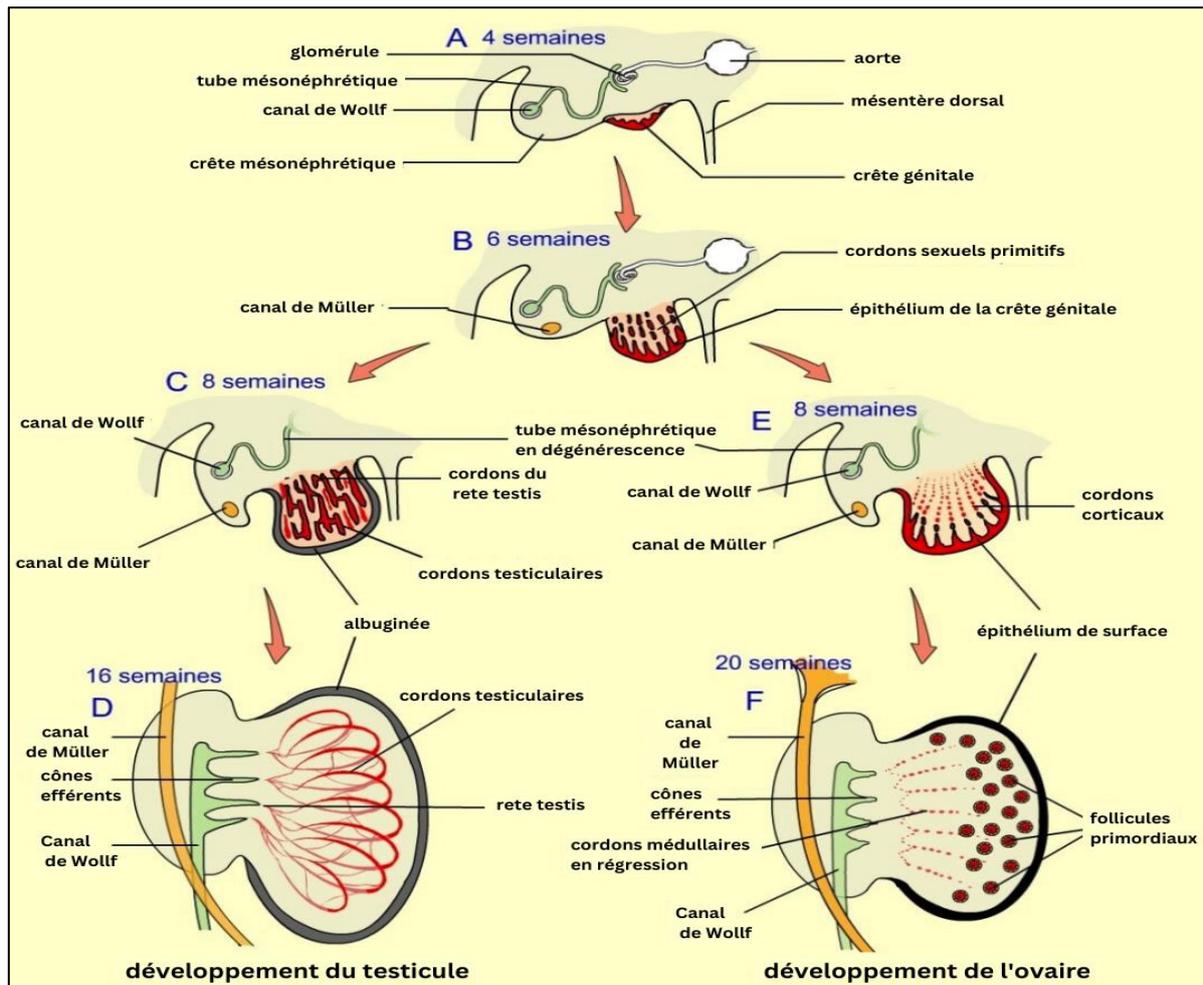


Figure 2 . Développement de la crête génitale (Devos, 2014).

2.3 Détermination et différenciation ovarienne

Chez l'embryon de sexe génétique féminin, la détermination ovarienne est plus tardive par rapport à la détermination testiculaire, elle ne débute qu'à partir de la 8^{ème} semaine du développement par deux effets successifs : les cordons sexuels primaires dégèrent avec la médulla puis l'épithélium de la gonade donne naissance à une seconde génération de cordons corticaux (Le Moigne et Foucrier, 2010 ; Kalfa *et al.*, 2015).

Les CGP se multiplient par mitoses et se différencient en ovogonies dont le nombre atteint plusieurs millions à la 20^{ème} semaine de gestation, ces ovogonies entrent spontanément en méiose et s'appellent ovocytes I. A ce stade, les cordons se fragmentent pour former les follicules primordiaux entourant les ovocytes (Figure 2.E, F) (Abdelmaksoud-Zghal, 2003 ; Pugeat, 2020).

3. Différenciation sexuelle

Après la différenciation des gonades, la différenciation des voies génitales commence selon la présence ou l'absence des hormones sécrétées par les testicules. Au début de l'embryogenèse, l'appareil urogénital dérive du mésoderme intermédiaire, ensuite le tractus génital, les uretères et les canaux collecteurs rénaux proviennent de l'épithélium canalaire et les néphrons rénaux mésonéphriques (embryonnaires) et métanéphrétiques (définitifs) proviennent du mésenchyme néphrogénique (Torres *et al.*, 1995 ; Balen *et al.*, 2004).

3.1 Développement des voies génitales (stade indifférencié)

A l'inverse des gonades qui sont issues d'un seul tissu bipotentiel, les canaux génitaux indifférenciés proviennent des conduits mésonéphriques (wolffiens) et des conduits paramésonéphriques (müllériens). Jusqu'à la 7^{ème} semaine de développement, les embryons mâles et femelles sont dotés des deux paires de voies génitales (wolffiennes et müllériennes), qui, en fonction de l'état hormonal du fœtus, peuvent se différencier en des organes reproducteurs masculins ou féminins (Hongling et Hugh, 2015).

Chez l'embryon mammalien mâle, la gonade bipotentielle devient un testicule qui sécrète plusieurs hormones, dont l'AMH qui élimine les canaux müllériens. Chez la femelle, la gonade bipotentielle se développe en un ovaire et les canaux de Wolff dégèrent suite à l'absence des hormones mâles. En revanche, les canaux de Müller persistent et se différencient pour former l'appareil génital interne féminin : les trompes de Fallope, l'utérus et la partie supérieure du vagin (Figure3) (Matzuk et Lamb, 2002 ; Hongling et Hugh, 2015).

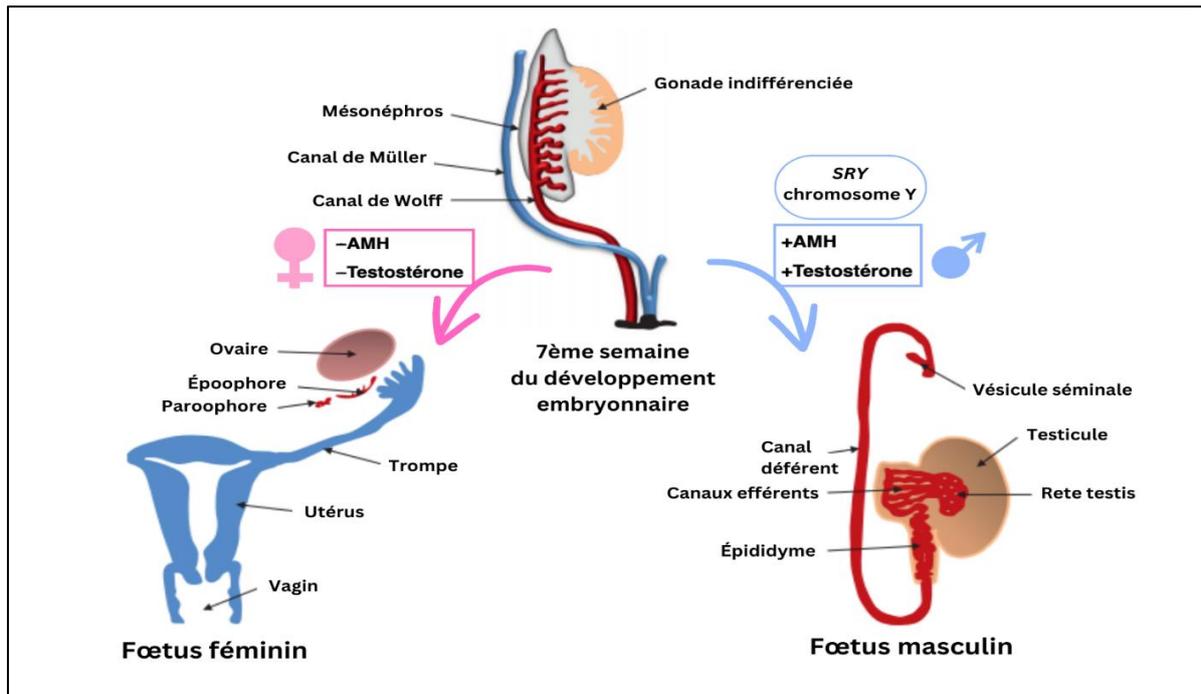


Figure 3. Développement du système génital interne à partir du stade indifférencié en fonction du sexe (Tachdjian, 2016, modifié).

3.2 Développement du tractus masculin

L'un des premiers signes de masculinisation fœtale est la régression active des canaux de Müller suite à la sécrétion de l'AMH par les cellules de Sertoli. Cette étape s'achève vers la 10^{ème} semaine de développement. La sécrétion de la testostérone par les cellules de Leydig commence à la 8^{ème} semaine, ensuite elle est régulée par la gonadotrophine chorionique humaine (HCG) placentaire puis l'hormone lutéinisant fœtale (LH). La testostérone stimule le développement des canaux de Wolff en épидидyme, canaux déférents, vésicules séminales et canal éjaculateur, ce phénomène s'achève vers la 12^{ème} semaine de gestation (Benslimane, 2018).

3.3 Développement du tractus féminin

Au cours de la 6^{ème} semaine du développement, l'invagination de l'épithélium au niveau du pronéphros (région antérieure du mésonephros) permet le développement des canaux de Müller en parallèle des canaux de Wolff. En absence de l'AMH chez la femelle, les canaux de Müller deviennent des oviductes qui se débouchent dans l'utérus (Figure 3) (Sabouret *et al.*, 2004).

4. Différenciation des organes génitaux externes

Les OGE du fœtus mâle ou femelle se développent également à partir d'un tissu bipotentiel. Ces organes sont les tubercules génitaux, les plis et les renflements urogénitaux. Jusqu'à la 9^{ème} semaine de la vie embryonnaire, les OGE sont similaires chez les deux sexes. Par la suite, à la fin du premier trimestre, des caractères sexuels distinctifs commencent à apparaître, rendant ainsi les OGE complètement différenciés (Sajjad, 2010).

Chez le fœtus mâle, peu après la différenciation des canaux de Wolff, la virilisation des OGE commence. L'ensemble du processus de différenciation sexuelle externe est achevé à la 14^{ème} semaine de gestation : le tubercule urogénital se développe en gland du pénis, les plis urogénitaux deviennent la tige du pénis et les tuméfactions urogénitales se différencient en scrotum. La prostate se développe à partir de bourgeons endodermiques dans la paroi de l'urètre et à 10^{ème} semaines de gestation. Par ailleurs, la descente des testicules et la croissance des organes génitaux se produisent au cours des deux derniers trimestres de la grossesse (Wilson, 1978 ; Zhu et Imperato-McGinley, 2017).

Chez le fœtus femelle, le clitoris dérive du tubercule urogénital, les grandes lèvres se développent à partir des renflements urogénitaux et les petites lèvres proviennent des plis urogénitaux à environ 10,5 semaines de gestation (Zhu et Imperato-McGinley, 2017).

Chapitre II

Régulation génétique de la détermination sexuelle

Le développement sexuel dépend de plusieurs gènes, et depuis la découverte du gène clé du dimorphisme sexuel « *SRY* » en 1990, l'étude du déterminisme/différenciation sexuels ont été largement évolués. En effet, de nombreuses voies de communication intercellulaire participent à la différenciation cellulaire ; celles-ci dépendent de plusieurs cascades de signalisation et de facteurs de transcription contrôlant le profil d'expression des gènes cibles (Figure 5) (Hyon et Rouen, 2013 ; Hyon, 2016).

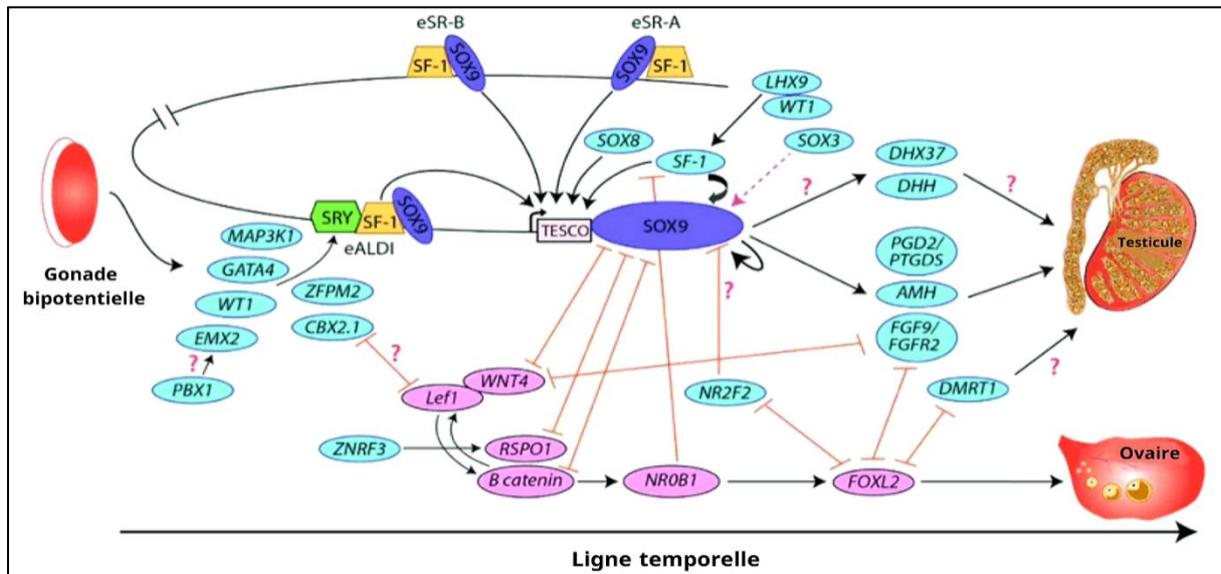


Figure 4. Chronologie des gènes impliqués dans le développement gonadique (Gomes *et al.*, 2020).

1. Gonade bipotentielle

Chez les mammifères, certains facteurs génétiques jouent un rôle important dans la formation de la gonade indifférenciée à partir de la crête génitale (Hu *et al.*, 2013).

1.1 *WT1* (*Wilm's tumor 1*)

Le gène *WT1* code pour un facteur de transcription à domaines de liaison à l'ADN en doigt de zinc, exprimé en premier lieu au niveau du mésonéphros et des crêtes génitales, ensuite dans la gonade bipotentielle lors de la différenciation testiculaire (Hyon et Rouen, 2013).

Le *WT1* possède de nombreux isoformes dont deux sont les plus importants -KTS et +KTS (lysine, thréonine, sérine), caractérisés par la présence ou l'absence de trois acides aminés KTS entre le 3^{ème} et le 4^{ème} doigt de zinc de la protéine. L'isoforme (-KTS), un transactivateur de *SRY* et ainsi impliqué dans l'expression de *NR5A1* (*nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1*). En revanche, l'isoforme (+KTS) est impliqué dans la

régulation de transcription de *SRY* et joue un rôle important dans l'augmentation de l'expression de l'AMH en association avec le *NR5A1* (Hyon et Rouen, 2013).

Les mutations de ce gène, situé sur le chromosome 11 (11p13), sont associées à des pathologies humaines dont la tumeur de Wilms type 1 touchant les reins, le syndrome Denys-Drash où le phénotype est féminin avec une dysgénésie gonadique, et le syndrome de Frasier défini par une dysgénésie gonadique associée à une glomérulonéphrite ainsi que d'autres malformations (Renneville et Preudhomme, 2011 ; Hyon et Rouen, 2013 ; N'tumba-Byn, 2013).

1.2 *NR5A1* (nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1)

Le gène *NR5A1*, en position 9q33, code pour un facteur de transcription SF1 (*stroidogenic factor 1*) ayant un rôle clé dans les fonctions stéroïdogéniques dans le cortex surrénalien et gonadique. En 2001, l'équipe de de Santa Barbaraa a montré que l'inactivation de ce gène conduit à l'absence de la gonade car son expression commence dans les crêtes génitales, puis dans les cellules somatiques de la gonade bipotentielle, jusqu'à la régulation de la transcription du gène *SRY* et l'augmentation de l'expression de l'AMH dans le testicule (Vialard et Fellous, 2002 ; Wallacides, 2011 ; Hyon, 2016).

1.3 *LHX9* (*LIM* (*LIN-11*, *ISL1* and *MEC-3*) *homeobox 9*)

Le gène *LHX9*, localisée sur le chromosome 1 (1q31.3), code pour un facteur de transcription contenant deux domaines fonctionnels : un domaine de liaison à l'ADN et un domaine d'interaction protéine-protéine. Des expériences ont montré que le *LHX9* est un activateur de *NR5A1* en présence ou en absence de *WT1*, ceci suggère que l'action de *LHX9* précède celle de *NR5A1*. En outre, l'inactivation du gène *LHX9* est associée à un défaut de prolifération de l'épithélium cœlomique impliquant ainsi l'absence de la gonadogenèse (Boyer, 2005 ; Baillet *et al.*, 2011 ; Hyon, 2016).

1.4 *EMX2* (*Empty spiracle homeobox gene 2*)

Le gène *EMX2*, situé en 10q26.11, est un homeobox codant pour un facteur de transcription exprimé au niveau des cellules épithéliales de l'appareil urogénital en développement. A ce jour, il s'agit du seul gène participant à la formation des gonades sans être relié à *NR5A1*. Chez la souris, les mutations de ce gène sont associées à une absence complète du développement urogénital. Par ailleurs, les mutations au niveau de ce gène n'ont pas encore été identifiées chez l'homme (Baillet *et al.*, 2011 ; N'tumba-Byn, 2013 ; Hyon, 2016).

1.5 *CBX2 (Chromobox homolog 2)*

Le gène *CBX2*, situé sur le chromosome 17 (17q25), code pour une protéine de type Polycomb impliquée dans le remodelage de la chromatine et régulatrice de nombreux gènes tels que *NR5A1*. La mutation au niveau de ce gène induit une réversion de sexe chez les patients 46,XY (Gecz *et al.*, 1994 ; Katoh-Fukui *et al.*, 2005 ; N'tumba-Byn, 2013).

1.6 *GATA4 (GATA binding protein 4)*

Le gène *GATA4*, localisé sur le chromosome 8p23, code pour un facteur de transcription GATA en doigt de zinc contenant 2 domaines de liaison à l'ADN pour réguler l'expression de certains gènes par interaction avec leur site consensus « (A/T) GATA (A/G) ». Une mutation au niveau du gène *GATA4* de type substitution a été associée à un défaut de la formation gonadique chez la souris (Prud'homme, 2013 ; Richard *et al.*, 2018).

2. Détermination testiculaire

En 1985, l'équipe des chercheurs britanniques Peter Goodfellow et Robin Howard Lovell-Badge ont découvert un gène appelé *SRY* codant le principal facteur du déterminisme testiculaire qui a été par la suite séquencé et cloné en 1990. Par la suite plusieurs autres gènes ont été mis en évidence comme étant impliqués dans le déterminisme testiculaire (Sabouret *et al.*, 2004 ; Cox, 2014 ; Pugeat, 2021 ; Lopès et Poudat, 2022).

2.1 Facteurs de transcription *SOX (SRY-related high-mobility group (HMG) box)*

Les protéines *SOX* présentent un domaine HMG similaire d'au moins 50 % à celui de *SRY*. Grâce à des séquences régulatrices spécifiques (promoteurs et enhanceurs), ces protéines peuvent se comporter soit comme des activateurs transcriptionnels soit comme des répresseurs. Au minimum 20 gènes *SOX* regroupés en 8 classes, ont été décrits chez la souris et l'homme. En plus de *SRY*, trois autres membres *SOX9*, *SOX8* et *SOX10* formant ensemble le sous-groupe E, sont exprimés dans la gonade XY (Gonen et Lovell-Badge, 2019 ; Peycelon, 2019 ; Sreenivasan *et al.*, 2022).

2.1.1 *SRY (sex-determining region of Y chromosome)*

Au 20^{ème} siècle, la découverte des aneuploïdies des chromosomes sexuels chez des patients présentant le syndrome de Turner (45,X0) et le syndrome de Klinefelter (47,XXY) a montré que la présence d'un chromosome Y définit systématiquement un phénotype masculin (Jacobs et Strong, 1959 ; Barbaux *et al.*, 1995).

Par la suite, il a été suggéré que le chromosome Y porte un facteur déterminant le testicule connu sous le vocable de TDF (*testis determining factor*). En revanche, cette hypothèse n'a pas été concluante et plusieurs candidats tels que la présence de l'*HY* (*L'antigène d'histocompatibilité*) et le *ZFY* (*zinc finger protein Y-linked*) ont été discutés (Sinclair *et al.*, 1990 ; Rey *et al.*, 2020).

En 1990, l'équipe de Lovell-Badge s'est intéressée à des patients XX avec une réversion sexuelle et présentant une portion du chromosome Y sur l'un des chromosomes X. Cela a montré qu'une partie minimum du chromosome Y, proche de la région pseudo-autosomale de son bras court (Yp11.2) est responsable de la différenciation masculine (Gubbay *et al.*, 1990 ; Sinclair *et al.*, 1990 ; Souali-Crespo, 2021).

Cette partie correspond au gène *SRY* (3,8 kb) qui est mono-exonique et code pour la protéine TDF de 204 acides aminés parmi lesquels 79 constituent le domaine HMG. Ce dernier est un motif de liaison extrêmement conservé chez les mammifères permettant la liaison de *SRY* à l'ADN induisant ainsi sa courbure. Cette modification permet l'assemblage et l'interaction des facteurs de transcription en stimulant l'expression d'autres gènes impliqués dans la formation des testicules et d'autres structure reproductrices mâles (Sinclair *et al.*, 1990 ; Arboleda *et al.*, 2016).

Des facteurs impliqués dans le développement de la gonade bipotentielle ont été rapportés comme étant indispensables dans la régulation de l'expression de *SRY* tels que *NR5A1*, *WT1*, *CBX2*, *GATA4* et son cofacteur *ZFPM2*. Cependant, des études ont montré que le gène *SRY* représente également le principe irréductible permettant à lui seul de provoquer la transformation de la gonade indifférenciée en un testicule (Bashamboo *et al.*, 2017 ; Zidoune *et al.*, 2021 ; Ridnik *et al.*, 2021).

De manière intéressante, dans la cascade génétique testiculaire, *SRY* régule en synergie avec *NR5A1* à la hausse l'expression de *SOX9* pendant une fenêtre temporelle très étroite et critique, en se fixant sur différentes régions en amont du site d'initiation à la transcription du gène *SOX9*, nommée *TESCO* (*testis-specific enhancer corelement*) (Sekido et Lovell-Badge, 2008 ; Knowler *et al.*, 2011)

En outre, des études sur des modèles murins ont décrit que *SRY* et *SOX9* possèdent environ 900 cibles communes, ce qui prouve l'existence d'un chevauchement fonctionnel entre ces deux gènes dans les premiers stades de la différenciation testiculaire (Li *et al.*, 2014 ; Rey *et al.*, 2020)

2.1.2 *SOX9* (*SRY-related HMG box 9*)

Le gène *SOX9*, situé sur le chromosome 17 (17q24.3) et la cible principale de *SRY*, joue un rôle essentiel dans l'établissement de l'identité des cellules de Sertoli dans un testicule en développement (Foster *et al.*, 1994 ; Gonen et Lovell-Badge, 2019 ; Ridnik *et al.*, 2021).

L'expression de ce gène est activée par *SRY* et *NR5A1*, dont les niveaux sont élevés et maintenus tout au long de la vie grâce à différentes boucles de rétroaction positive, y compris l'interaction de *NR5A1* avec *SOX9* lui-même et la régulation par d'autres voies de signalisation *PGD2* (*prostaglandine D2*) et *FGF9* (*fibroblastgrowth factor 9*) /*FGFR2* (*fibroblastgrowth factor receptor 2*). Par ailleurs, la perte de fonction de *SOX9* induit un développement féminin chez l'homme et la souris XY (Wilhelm *et al.*, 2005 ; Kim *et al.*, 2006 ; Ridnik *et al.*, 2021).

2.2 Autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire

Une panoplie de gènes participe à la différenciation testiculaire est décrite en Annexe 1.

3. Détermination ovarienne

Pendant plusieurs décennies, le développement ovarien est considéré comme un processus par défaut, survenant chez les embryons dépourvus du gène *SRY*. Un certain nombre de gènes pro-ovariens ont été identifiés tels que *WNT4* (*wnt (Wingless-type MMTV integration site) family member 4*) situé sur le chromosome 1p36.12. Ce gène, ayant une activité pro-ovarienne et une activité anti-testiculaire, est nécessaire à l'initiation de la formation des conduits Müllériens dans les deux sexes, après la différenciation gonadique. Par ailleurs, le gène *DAX1* (*dosage sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenital-critical region of the X chromosome, gene 1*), en position Xp21.2 possédant une activité anti-testiculaire, est considéré comme étant un antagoniste de *SRY* et un inhibiteur de *SOX9* (Larsen *et al.*, 2011 ; Salder, 2018).

De plus, le gène *FOXL2* (*forkhead box L2*) localisé en 3q22.3 est nécessaire pour le maintien des cellules de la granulosa et l'inhibition de la différenciation des précurseurs des cellules de Sertoli (Bull, 2016).

Chapitre III

Troubles du

développement

testiculaire chez les 46,XY

Durant plusieurs années, les termes « ambiguïté sexuelle », « hermaphrodisme », « pseudohermaphrodisme » et « intersexe » ont été utilisés pour décrire toute anomalie congénitale caractérisée par une discordance entre les sexes génétique, gonadique et phénotypique. Ce n'est qu'en 2006 que des experts ont privilégié la notion « anomalies du développement sexuel » (ADS) ou « *disorders of sexual development* » (DSD) selon l'acronyme anglo-saxons pour décrire ces anomalies dont il en résulte un large spectre phénotypique liés aux variants géniques, à la régulation du développement gonadique/génital et à l'expression/action hormonales (Hughes *et al.*, 2006 ; Bull, 2022).

Les troubles du développement testiculaire, une des catégories des DSD, affectent les différentes étapes de la détermination testiculaire, entraînant un développement anormal de la gonade fœtale. L'étiologie génétique de ces troubles résulte de variants impliquant un ou plusieurs gènes responsables du développement de la gonade bipotentielle ou du testicule (Bouvattier, 2009 ; Berglund *et al.*, 2017 ; Zidoune *et al.*, 2021).

1. Dysgénésies gonadiques 46,XY (DG 46,XY)

Chez les individus 46,XY, les dysgénésies gonadiques (DG) sont des anomalies très rares définies par une formation incomplète ou anormale du testicule, ou par l'absence totale du tissu testiculaire. Les DG résultant soit d'un défaut de migration et/ou organisation des cellules germinales dans les crêtes génitales, soit d'un défaut d'action des androgènes. Ces anomalies sont associées à un degré de féminisation phénotypique variable d'un individu à un autre selon le stade de développement de la gonade et peuvent être décrites comme des DG complète (DGC) ou partielle (DGP) avec une prévalence estimée à 1 : 20 000 naissances (Devos, 2014 ; Houari *et al.*, 2017 ; Benslimane, 2018).

1.1 Définition de la dysgénésie gonadique complète (DGC)

Malgré la présence du chromosome Y, la DGC se définit par une absence totale du développement des testicules et une présence d'OGI/OGE féminins (Gorchane *et al.*, 2020).

De façon bilatérale et symétrique, la gonade paraît sous forme d'une bandelette fibreuse constituée d'un stroma indifférencié dépourvu de cellules germinales et sans activité endocrinienne (absence de l'AMH et de la testostérone) engendrant ainsi, une persistance des canaux müllériens et une absence du développement des OGI masculins (Leroux, 1999 ; Roucher *et al.*, 2015 ; Gorchane *et al.*, 2020).

Le diagnostic de la DGC est établi à la puberté, suite à un retard staturo-pondéral ou à une aménorrhée primaire. Les signes cliniques englobent un morphotype féminin avec un vagin et un utérus impubère, associé à une absence des caractères sexuelles secondaires (Leroux, 1999 ; Kossi, 2003 ; Gorchane *et al.*, 2020).

Sur le plan biologique, ces patients présentent un hypogonadisme c.-à-d. un niveau de testostérone inférieur au taux normal chez le sexe féminin, et un hypergonadotropisme montrant essentiellement un taux élevé de FSH (*follicle stimulating hormone*) durant la mini puberté et à la puberté (Leroux, 1999 ; Kossi, 2003 ; Gorchane *et al.*, 2020).

Les gonades dysgénésiques peuvent conduire plus tard à une dégénérescence maligne : les gonadoblastomes chez 53% des cas, les dysgerminomes dans 19% des cas ainsi que d'autres tumeurs (Leroux, 1999 ; Kossi, 2003).

1.2 Définition de la dysgénésie gonadique partielle (DGP)

La DGP, également appelée dysgénésie gonadique incomplète, est une affection rare caractérisée par des degrés variables du développement et de la fonction du tissu testiculaire, engendrant des OGE ambigus, allant d'un phénotype féminin avec une clitoromégalie à un phénotype masculin ambigu associé à un hypospadias. Ces phénotypes sont parfois associés à une cryptorchidie et à une persistance des structures müllériennes (Moshiri *et al.*, 2012 ; Oueslati *et al.*, 2016 ; Mikaela *et al.*, 2021).

Selon l'origine génétique de l'anomalie et l'emplacement de la gonade, les patients 46,XY DGP peuvent développer des tumeurs, principalement les gonadoblastomes. Bien que bénin, avec un potentiel accru de transformation maligne dans environ 50-60% des cas, le risque de néoplasie des cellules germinales dans les gonades en stries de ces individus est élevé et peut atteindre 35% (Lipay *et al.*, 2005 ; Ribeiro *et al.*, 2014 ; Mikaela *et al.*, 2021).

1.3 Etiologie des DGC et DGP

Anciennement, la DGP était considérée comme une variante de la DGC avec un tableau hormonal similaire défini par un hypogonadisme hypergonadotrope. Cependant, le séquençage de certains gènes impliqués dans le développement gonadique a mis en évidence des mutations responsables des deux types de DG (Roucher, 2015 ; Moshiri *et al.*, 2012 ; Mikaela *et al.*, 2021).

En effet, il a été démontré que les mutations du gène *SRY* ponctuelles, de type délétion ou perte de fonction sont à l'origine de la DGC chez 10-15% des cas et sont rarement observées

dans les cas de DGP. A l'inverse, les mutations du gène *NR5A1* à l'état hétérozygote et homozygote sont plus importantes dans les cas de DGP, soit chez environ 15% des patients décrits dans la littérature qui présentent parfois des anomalies rénales (Roucher, 2015 ; Bessiène *et al.*, 2018).

En outre, les variants du gène *WT1* causent la DGC ainsi que la DGP, associées à une atteinte rénale décrite dans divers tableaux cliniques : la tumeur de Wilms, le syndrome de Denys Drash et le syndrome Frasier (Roucher, 2015).

Par ailleurs, plusieurs autres étiologies rares et très hétérogènes ont été signalées dans la littérature telles que la duplication partielle du chromosome X (Xp21.2) comprenant le gène *DAX1*, la délétion au niveau de chromosome 9 impliquant le gène *DMRT1* (9p24.3), les mutations au niveau de gène *CBX2*, les mutations des gènes *SOX9* et *MAP3K1* (*mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1*) qui code pour une protéine fonctionnant comme une kinase sérine/thréonine dans de multiples cascades de signalisation cellulaire (Roucher, 2015 ; Bessiène *et al.*, 2018 ; Zidoune *et al.*, 2021).

2. Agénésie testiculaire

Faisant partie de la DGP, l'agénésie testiculaire est également appelée dans la littérature syndrome de régression testiculaire (SRT), syndrome du testicule évanescent ou *vanishing testis syndrome* (VTS). La prévalence exacte du SRT est inconnue mais elle est estimée à 1 : 20 000 naissances et survient chez environ 5% des enfants présentant une cryptorchidie (Pirgon et DüNDAR, 2012 ; Latrech *et al.*, 2014 ; McElreavey *et al.*, 2019).

2.1 Définition

L'agénésie testiculaire est une affection rare, définie chez les individus 46,XY par la disparition complète du tissu testiculaire de façon unilatérale ou plus rarement bilatérale après un développement du testicule normal-. Rarement avec des OGE normaux, le SRT est souvent associé à des malformations des canaux sexuels et/ou des OGE atypiques. Le degré de masculinisation des OGE et des OGI, dépend de la durée du fonctionnement testiculaire avant sa dégénérescence soit au cours de la vie intra-utérine englobant les événements embryonnaires et fœtaux, soit en période néonatale (Latrech *et al.*, 2014 ; Kathar, 2022).

Selon le bilan hormonal, le SRT est caractérisé par un hypogonadisme hypergonadotrope associé à une absence de réponse au test à l'hCG, qui normalement stimule la production de testostérone (Bessaid *et al.*, 2014).

Les caractéristiques pathologiques du SRT comprennent généralement la présence d'un cordon spermatique de plusieurs centimètres composé de tissu fibrovasculaire dense, sans tubules séminifères ou d'éléments testiculaires normaux. Dans de rares cas, la présence de cellules germinales peut entraîner le développement de néoplasies (Law *et al.*, 2006 ; Heksch *et al.*, 2019 ; Kathar, 2022).

2.2 Étiologie

L'étiologie exacte de l'agénésie gonadique n'est pas bien mise en évidence, cependant il a été décrit dans la littérature que cette anomalie est probablement due à une thrombose vasculaire ou une torsion testiculaire anténatales (Pirgon et Dündar, 2012).

Bien que le SRT est sporadique dans la plupart des cas, sa survenue familiale chez certains patients partageant le tableau clinique de la DGP et/ou du SRT suggère que les deux anomalies partagent une étiologie génétique commune (Philibert *et al.*, 2007 ; McElreavey *et al.*, 2019).

Sur le plan moléculaire, des mutations faux-sens hétérozygotes du gène *DHX37* (*DEAH-box helicase 37*) ont récemment été détectées chez des patients atteints d'un SRT. Par ailleurs, des microdélétions du chromosome Y ont été évoquées comme une cause possible de la régression testiculaire mais cela n'est pas encore confirmé (Pirgon et Dündar, 2012 ; McElreavey *et al.*, 2019 ; Zidoune *et al.*, 2021).

3. DSD ovotesticulaire 46,XY (DSD OT 46,XY)

Précédemment connus sous le nom de vrai hermaphrodisme, ensemble, les DSD OT 46,XY et les DSD OT 46,XX sont une forme rare de trouble de différenciation sexuelle et représentent 3-10% de l'ensemble des DSD (Hu *et al.*, 2017 ; Scarpa *et al.*, 2017).

Avec une prévalence d'environ 1 : 100 000 naissances, 65% des DSD OT présentent un caryotype 46,XX, 10% ont un caryotype 46,XY, et les autres cas présentent des mosaïsmes des chromosomes sexuels (Van Niekerk et Retief, 1981 ; Knarston *et al.*, 2016 ; Zidoune, 2021).

3.1 Définition

Les DSD OT sont définis par la présence simultanée du tissu testiculaire et du tissu ovarien chez le même individu. Histologiquement, ces anomalies sont classées en 3 catégories: soit les gonades sont constituées de façon latérale d'un tissu testiculaire d'un côté et d'un tissu ovarien de l'autre côté, soit les gonades appelées « ovotestis » comportent de façon unilatéral les tissus testiculaire et ovarien dans un côté et le tissu testiculaire de l'autre côté, soit les

gonades ayant d'une façon bilatérale les tissus testiculaire et ovarien simultanément sur les deux côtés (Chaffaux, 1990 ; Ravel *et al.*, 2004 ; Hu *et al.* , 2017).

Dans le cadre des DSD OT, les OGE sont généralement ambigus, la gonade peut présenter soit un tissu testiculaire lié à un épididyme et un canal déférent plus ou moins développés, soit elle présente un tissu ovarien ou un tissu ovotestis avec une faible composante testiculaire. Dans ces deux derniers cas, la gonade présente une trompe et un héli-utérus (Kossi, 2003).

3.2 Étiologie

L'étiologie exacte des DSD OT 46,XY n'est pas bien connue mais plusieurs facteurs ont été mis en cause dont les anomalies chromosomiques car seulement 7% des patients présentent un caryotype 46,XY (Guerrero *et al.*, 2018 ; Li *et al.*, 2020).

Chapitre IV

Traitements et prise en charge

En raison de la variabilité des DSD et les conséquences psychosociales qui en découlent, la prise en charge des patients DSD est complexe, pluridisciplinaire et implique une équipe de professionnels de la santé (obstétricien, endocrino-pédiatre, généticien clinicien, urologue pédiatrique, néonatalogue, psychologue et pédopsychiatre) afin de traiter ces patients et d'améliorer leur qualité de vie (Bouvattier *et al.*, 2020 ; Habran *et al.*, 2021).

Le traitement doit inclure une détermination du sexe, une gestion éventuelle d'un traitement hormonal substitutif, des interventions chirurgicales concernant les structures génitales et/ou les gonades, un soutien psychosocial adéquat ainsi qu'une transition vers les soins médicaux pour les adultes (Guerrero-Fernández *et al.*, 2018 ; Hughes *et al.*, 2019).

1. Assignment du sexe

L'assignation du sexe est une étape cruciale, complexe, guidée par une équipe multidisciplinaire de cliniciens et dont la décision finale revient aux parents ou au patient adulte, tout en prenant en compte les facteurs culturels et religieux ainsi que l'impact du sexe choisi à long terme sur la vie de ces patients (Jurgensen *et al.*, 2010 ; Lee PA *et al.*, 2010 ; Guerrero-Fernández *et al.*, 2018).

La question du choix du sexe concerne principalement les enfants, dont la chirurgie définitive n'est établie que lorsque l'enfant puisse participer à la décision sur les actes invasifs pratiqués sur son corps et ce, en cas d'une dysphorie de genre, une gonadectomie ou une insatisfaction quant à l'apparence des OGE. De ce fait, il est important d'établir un plan de soins bien approprié pour aider les parents et les patients à faire face à la pression sociale associée aux phénotypes atypiques (Guerrero-Fernández *et al.*, 2018 ; Bouvattier *et al.*, 2020).

2. Traitement hormonal

Le traitement hormonal des DSD débute tôt et peut continuer au cours de la puberté et à l'âge adulte. Bien que l'âge auquel est attribué le traitement est un sujet de débat, la plupart des chercheurs recommandent d'initier ce traitement à des doses faibles qui sont augmentées progressivement par la suite (Rodríguez *et al.*, 2017 ; Guerrero-Fernández *et al.*, 2018).

Les hormones administrées incluent l'hCG recombinée pour l'évaluation de la fonction leydigienne et la chirurgie de l'hypospadias, la DHT (dihydrotestostérone) en cas de déficit en 5- α -réductase et dans la chirurgie de l'hypospadias, et la testostérone pour les cas de micropénis (Phan-Hug *et al.*, 2016 ; Xu *et al.*, 2017 ; Hughes *et al.*, 2019).

3. Traitement chirurgical

Dans la plupart des situations, la chirurgie masculinisante ou féminisante est réalisée pour confirmer le genre assigné en fonction des caractéristiques génitales visibles à la naissance. Les nouveaux nés et les enfants atteints de DSD requièrent une intervention chirurgicale pour trois principales raisons médicales : une meilleure cicatrisation, un minimum de complication et un meilleur résultat fonctionnel à l'âge adulte. Cependant, la chirurgie génitale définitive peut encore demander des années après avoir compilé les données suffisantes sur le fonctionnement sexuel des patients (Diallo, 2008 ; Forgues *et al.*, 2017 ; Murielle, 2020).

4. Prise en charge psychologique

La naissance d'un enfant avec des organes génitaux atypiques peut causer un profond traumatisme aux parents ainsi qu'à l'enfant. Le soutien psychologique des parents et de leur enfant tout au long de sa croissance et de sa vie adulte optimise son bien-être et joue un rôle important dans la prise de décision concernant l'assignation ou la réassignation du sexe. De ce fait, les psychologues utilisent certains outils pour aider à détecter les troubles spécifiques liés aux DSD, tels que les questionnaires et les échelles d'évolution (Meyer-Bahlburg, 2008 ; Perrin, 2012 ; Bull, 2020 ; Murielle, 2020).

5. Transition vers les soins aux adultes

Le passage d'une prise en charge pédiatrique à une prise en charge adulte, pour le bien-être à long terme des patients atteints de DSD, nécessite un suivi multidisciplinaire nécessitant des lignes directrices spécifiques pour faciliter une transition avec des considérations spécifiques telles que l'examen génital, la gestion du risque de malignité gonadique, la prise en compte des problèmes psychologiques persistants et l'information sur le diagnostic et la procréation assistée (Kleinemeier *et al.*, 2010 ; Amies Oelschlager *et al.*, 2015 ; Guerrero-Fernández *et al.*, 2018).

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Patients

1.1 Recrutement des patients

L'étude clinique entreprise est de type descriptif et analytique et englobe 9 patients recrutés au niveau des différents services de pédiatrie et d'endocrinologie des centres hospitaliers de l'Est algérien : le CHU Ibn Badis - Constantine et l'EHS mère et enfant Omar BOUKHRIS - Ouargla.

Les sujets recrutés sur une période de 3 mois répondent à nos critères d'inclusion et d'exclusion.

Critères d'inclusion :

- tout patient diagnostiqué avec un trouble de développement testiculaire, ayant un caryotype 46,XY et d'étiologie inconnue ;
- tout patient n'ayant pas bénéficié de l'analyse de la présence du gène *SRY*.

Critères d'exclusion :

- tout patient présentant d'autres types de DSD.

Chaque sujet ou parent/tuteur (patient de moins de 18 ans) est soumis à un questionnaire (Annexe 2) accompagné d'un consentement éclairé (Annexe 3).

Pour avoir tous les renseignements cliniques de chaque individu, une analyse de dossiers est également effectuée au niveau des différents services. Cela comporte principalement le motif de consultation, les signes fonctionnels (ex : aménorrhée) et les dosages des hormones plasmatiques tels que : la LH, la FSH, la testostérone et l'AMH.

1.2 Prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang veineux de 7 patients, au pli du coude, est réalisé sous des conditions rigoureuses d'asepsie. Le sang est recueilli dans des tubes vacutainer contenant l'anticoagulant EDTA (*ethylene diamine tetra-acetic acid*) qui inhibe l'action des enzymes ADNases ou nucléases, préservant ainsi l'intégrité moléculaire.

Pour extraire une bonne quantité d'ADN, le prélèvement sanguin de chaque patient est établi dans deux tubes de 4 ml, conservés à +4°C pendant 10 jours au maximum.

2. Méthodes

L'étude moléculaire, concernant 7 patients, est réalisée en deux principales étapes :

- **l'extraction d'ADN** : entreprise au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire - CHU Ibn Badis Constantine.
- **la PCR du gène *SRY*** : établie au laboratoire de biologie moléculaire - Faculté SNV- Université Frères MENTOURI Constantine1.

2.1 Extraction de l'ADN

L'extraction des échantillons d'ADN consiste en l'isolation de l'ADN pur des leucocytes sanguins de chaque sujet.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction et de purification de l'ADN utilisant :

- des solvants organiques comme le phénol-chloroforme et le chlorure de guanidium ;
- des solvants non organiques comme le NaCl ;
- des microcolonnes de résines échangeuses d'ions.

Au cours de cette investigation, la méthode d'extraction au NaCl a été entreprise.

2.1.1 Méthode d'extraction au NaCl

Les étapes d'extraction de l'ADN leucocytaire se récapitulent en cinq principales étapes :

- hémolyse du sang et préparation du culot leucocytaire ;
- lyse des leucocytes, digestion du complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN ;
- extraction et purification de l'ADN ;
- précipitation de l'ADN ;
- solubilisation de l'ADN purifié.

Le protocole est fourni en détails en annexe 4.

2.1.2 Dosage et dilution de l'ADN

Au spectrophotomètre, la concentration de l'ADN est estimée à 260 nm. Dans le cas contraire, cela signifie que l'ADN extrait est contaminé par des protéines ou par des ARN.

2.1.3 Evaluation de la qualité d'ADN

2.1.3.1 Electrophorèse sur gel d'agarose

La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de la taille des molécules d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 % (0,8 g d'agarose pour 100 ml d'eau distillée).

Dans le cas où l'ADN n'est pas dégradé, il sera visible sous UV sous forme d'une seule bande qui migre lentement sur le gel. Si l'ADN est dégradé, il apparaît sous forme d'une trainée.

Dans ce travail, 5 µl de la solution d'ADN et 3 µl tampon de charge sont déposés dans chaque puits du gel d'agarose et sont par la suite soumis à une migration sous tension d'un courant électrique de 100 volts pendant 45 min.

Remarque : l'ADN génomique doit être manipulé en évitant toute action mécanique violente.

2.1.3.2 Pureté

La pureté de l'ADN est essentielle et elle est mise en évidence par le rapport **R=260 nm /280 nm** si :

- **1,6 < R < 2** : l'ADN est pur ;
- **R < 1,6** : l'ADN est contaminé par les protéines (il est recommandé de rajouter la protéinase k) ;
- **2 < R** : l'ADN est contaminé par les ARN (il est recommandé de rajouter l'ARNase).

Dans le cas où l'ADN est contaminé, les résultats de PCR ne seront pas correctement interprétés.

Remarque : la conservation des ADN purs se réalise à -20°C pour une durée de 7 ans et à -80°C jusqu'à 30 ans.

2.2 PCR (polymerase chain reaction) du gène SRY

La technique PCR est un outil fondamental de la biologie moléculaire qui permet une amplification exponentielle (2^n) d'un segment d'ADN, sachant que n = le nombre de cycles d'amplification.

Afin d'obtenir une quantité suffisante de la séquence de l'ADN d'intérêt, soit la séquence de 272 pb du gène *SRY*, un mélange réactionnel (mix) est utilisé. Celui-ci, contenant tous les réactifs nécessaires à l'amplification, est soumis à une série de cycle de température. Chaque cycle représente une succession de trois principales étapes :

- **dénaturation de l'ADN** : à une température de 94°C, l'ADN sous forme de double brin est séparé suite à la rupture des liaisons hydrogènes et passe à une forme de 2 simples brins. Ces derniers servent de matrices au cours des cycles d'amplification.
- **hybridation des amorces** : le milieu réactionnel est amené à une température inférieure aux T_m (*melting temperature*) des amorces (Tableau 1), calculée par la formule suivante $T_m = 2(nA+nT) + 4(nG+nC)$. Les amorces, en large excès, s'hybrident à la séquence d'ADN complémentaire.
- **élongation et extension des amorces** : dans le sens 5' vers 3' à 72°C, la Taq (*Thermus aquaticus*) polymérase allonge les amorces en incorporant les dNTPs complémentaire à la séquence matrice.

Tableau 1. Amorces utilisées pour la PCR d'un amplicon de 272 pb du gène *SRY*.

Amorces	Longueurs (pb)	Températures °C	% en GC	Séquences (5'-3')
F	21	60,9	47,6	GGCTCACTTCTGGATGTCTTA
R	21	60,0	28,5	AAAATTGGCGATTAAGTCAA

F : forward, **R** : reverse

A la fin de chaque cycle 2 copies sont obtenues de la séquence d'ADN cible, et un nouveau cycle commencera.

Remarque : à la fin de l'amplification, le nombre des copies obtenues en pratique est moins que celui attendu en théorie.

2.2.1 Préparation du mix

A cette étape, toutes les composantes du mix doivent être diluées suivant la formule ci-dessous :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

C_1 : concentration initiale de chaque réactif (mentionné sur le tube) ;

V_1 : volume initial nécessaire à la dilution (inconnu) ;

C_2 : concentration finale (mentionné dans le protocole) ;

V_2 : volume final (selon le nombre des tubes).

Donc :

$$V_1 = C_2 \times V_2 / C_1$$

Une fois que le volume initial V_1 est déterminé, le volume de l'eau distillée nécessaire pour la dilution de chaque réactif est calculé comme suite : $V_{\text{eau distillé}} = V_2 - V_1$

Le volume final de chaque réactif est ensuite multiplié par le nombre de tubes, plus le tube de témoin négatif et le tube de témoin positif.

Remarque : l'analyse moléculaire de notre étude est appliquée sur 7 ADN.

L'amplification du gène *SRY* nécessite les réactifs mentionnés dans le tableau ci-dessous (Tableau 2).

Tableau 2. Constituants du milieu réactionnel pour la PCR du gène *SRY* pour un patient.

Réactif	Volume
dNTP (0.2mM)	1, 6µl
Tampon (x10)	1µl
Oligo (F) (100ng/µl)	1µl
Oligo (R) (100ng/µl)	1µl
MgCl ₂ (1,5mM)	0, 3µl
Taq (5u/µl)	0, 1µl
Bétaine (0,6mM)	1, 2µl
Eau distillée	2, 8µl
Total	9 µl

Dans un microtube de 0,2 ml, 1 µl d'ADN est ajouté à 9 µl du mix.

Remarque : pour le tube utilisé comme un témoin négatif, le volume de l'ADN est remplacé par l'eau distillée. Le témoin négatif est nécessaire pour savoir s'il y a eu une contamination du mix, alors que le témoin positif est un tube contenant le mix et un ADN préalablement analysé pour s'assurer du bon déroulement de la réaction.

2.2.2 Déroulement des cycles de la PCR

Les tubes préparés sont placés dans un thermocycleur et sont soumis à 35 cycles de températures (Tableau 3).

Tableau 3. Programmation des cycles de PCR.

Etape	Température (C°)	Durée
Dénaturation initiale	95°	5 min
Dénaturation	95°	30 sec
Hybridation	57°	30 sec
Elongation	72°	30 sec
Elongation finale	72°	5 min

2.2.3 Contrôle de la PCR

Afin de vérifier la taille des amplicons, 7 μ l de chaque produit de PCR mélangés à 3 μ l du marqueur de mobilité BBP (bleu de bromophénol) sont déposés dans un puits du gel d'agarose à 2% (2 g d'agarose+ 100 ml de TBE (tris borate EDTA) à 0,5X). Ce dernier contient 10 μ l de l'intercalant BET (bromure d'éthidium) qui se fixe entre les bases nucléiques, rendant l'ADN fluorescent sous UV.

La réservation de 3 puits pour le marqueur de taille à 100 pb, le témoin positif et le témoin négatif est essentielle pour chaque étude moléculaire.

Les échantillons sont déposés du côté cathode du gel, et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 45 minutes. Après la migration, le gel est exposé aux rayons UV, ce qui provoque l'émission d'une lumière visible par les molécules de BET intercalées entre les bases nucléiques, permettant ainsi la visualisation des fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de taille identique.

3. Etude statistique

Les données enregistrées des 9 sujets recrutés sont traités par les logiciels Excel et Epi Info version 7.2.5.0 et ce, dans le but de calculer les moyennes et les fréquences des paramètres quantitatifs étudiés afin de déterminer leur corrélation avec l'apparition des troubles du développement testiculaire.

La moyenne est un indicateur statistique de la valeur centrale d'un ensemble de données. La formule de cette moyenne est calculée comme suit :

$$\text{Moyenne} = \text{Somme des valeurs} / \text{Effectif total.}$$

La fréquence est une mesure statistique qui indique le nombre de fois qu'un événement se produit dans un ensemble de données. La formule de cette fréquence est la suivante :

$$\text{Fréquence} = \text{Effectif} / \text{Effectif total.}$$

Résultats et discussion

Dans le but d'approfondir nos connaissances sur l'étiologie des troubles du développement testiculaire chez les individus 46,XY dans l'Est algérien, nous avons réalisé d'une part une étude descriptive et analytique des critères familiaux, cliniques et biologiques des 9 patients recrutés dans ce travail. D'autre part, nous avons entrepris une étude moléculaire concernant la présence du gène *SRY* chez 7 patients.

1. Etude descriptive et analytique des critères familiaux, cliniques et biologiques

1.1 Répartition des patients selon leur origine

A partir des données recueillies dans cette étude, les patients sont répartis sur 7 wilayas différentes en Algérie, selon leur origine (Figure 5).

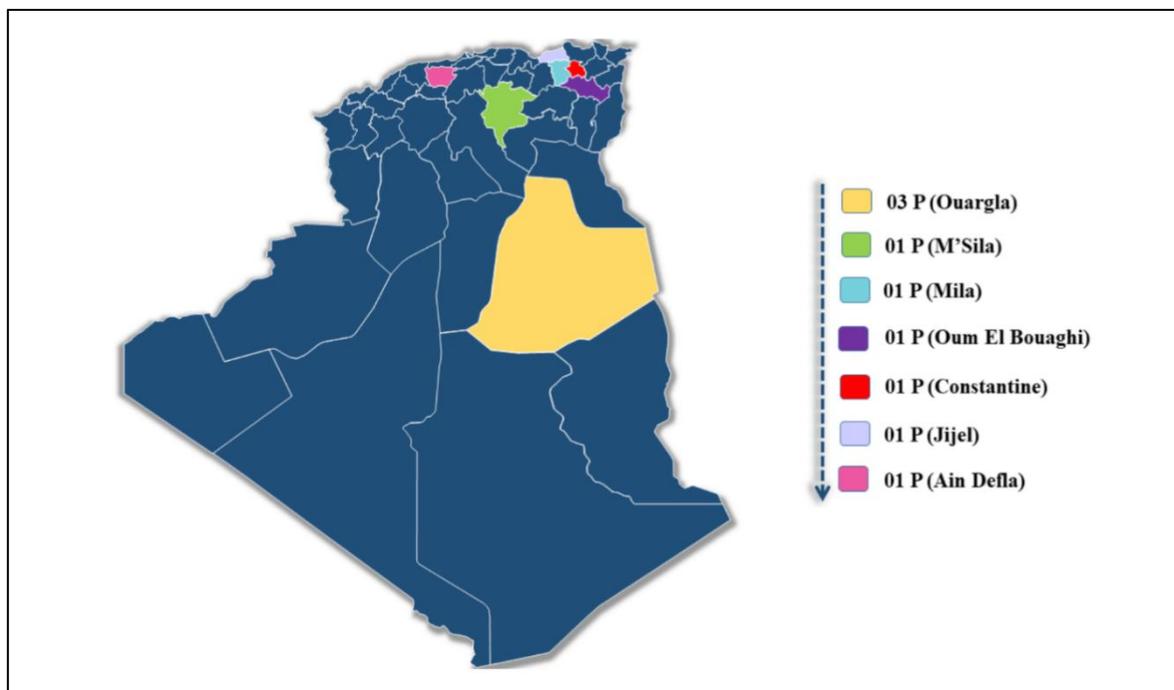


Figure 5. Répartition des patients selon leur origine.

A partir des données obtenues, nous constatons que les wilayas de Constantine, Mila, Jijel, Oum El Bouaghi, Ain Defla et M'Sila présentent la même fréquence de patients atteints de troubles du développement testiculaire (11,1%). En revanche, cette fréquence est un peu plus remarquable à la wilaya d'Ouargla (33,3%).

Jusqu'à ce jour aucune étude n'a été réalisée en Algérie sur l'origine des patients 46,XY présentant des troubles du développement testiculaire. Or, nos constatations sont différentes de celles d'une étude réalisée sur une large cohorte algérienne de DSD incluant 125 patients originaires de 24 wilayas différentes, et dont 15 patients sont diagnostiqués avec un trouble

du développement gonadique. Cette étude a montré que la fréquence de DSD la plus élevée est contribué aux patients originaires de la wilaya de Constantine (Zidoune, 2021).

1.2 Répartition des patients selon l'âge de la première consultation

La répartition des patients selon l'âge à la première consultation est établie dans la figure ci-après (Figure 6).

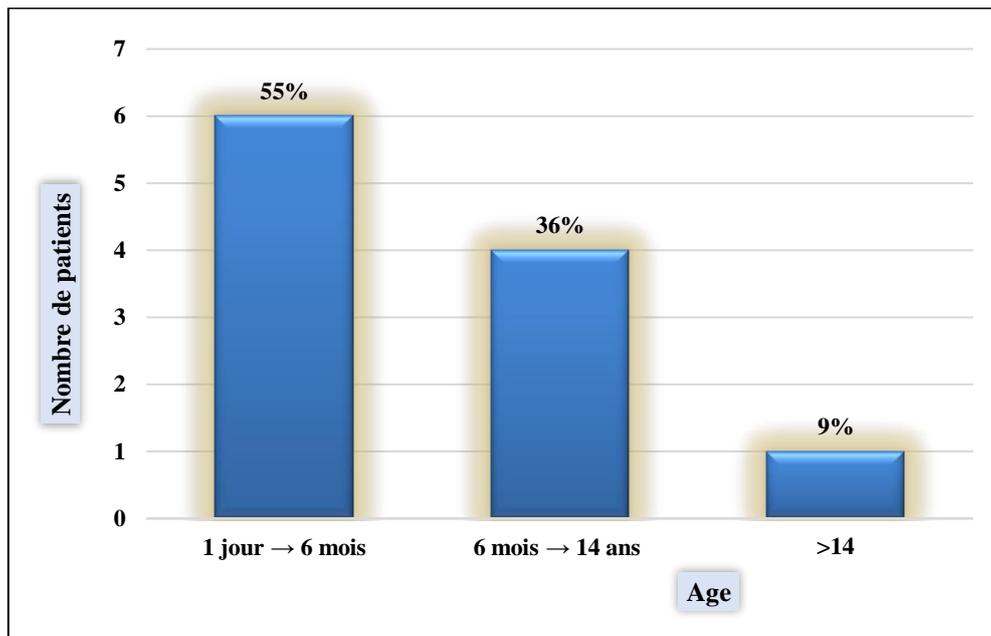


Figure 6. Répartition des patients selon l'âge de la première consultation.

Nos résultats montrent que les patients de cette étude sont recrutés aux divers services d'endocrinologie et de pédiatrie à tout âge confondu, allons du jour de naissance jusqu'à l'âge de 15 ans, avec des fréquences variables et un âge moyen de 2,03 ans.

La fréquence la plus élevée est de 55% (6 patients) dont la plupart des patients se sont présentés entre l'âge de 1 jour et 6 mois, suivie d'une fréquence de 36% de patients (2 patients) qui se sont présentés entre l'âge de 7 mois et 14 ans et d'une fréquence de 9% des patients (1 patient) qui se sont présentés après l'âge de 14 ans.

Les résultats obtenus convergent avec ceux rapportés par Latrech et al. (2014), montrant que les patients avec des troubles du développement gonadique se présentent en consultation pédiatrique et endocrinologique à l'âge de 16 mois jusqu'à l'âge de 11 ans avec un âge moyen de 4,6 ans.

Cependant, nos résultats divergent avec ceux de Jakovleva et Kovalova, (2022) montrant que l'âge moyen des patients au moment du diagnostic était de $15,4 \pm 8$ ans. En outre, Laan et al.

(2021) ont indiqué dans leur publication que l'âge de consultation des DG est entre 2 ans et 30 ans.

1.3 Répartition des patients selon le motif de consultation

Le diagnostic du trouble de développement testiculaire a été établi suite à la présentation des patients de divers motifs mentionnés dans le tableau ci-dessous (Tableau 4).

Tableau 4. Répartition des patients selon le motif de consultation.

Motif de consultation	Nombre
Aménorrhée primaire	1
OGE ambigu	4
Hypertrophie clitoridienne	1
Hernie inguinale	1
Cryptorchidie	1
Ectopie testiculaire	1
Total	9

Nous avons noté que la présence des OGE ambigus, signalée soit par les parents, soit par le pédiatre à la naissance, est le motif de consultation le plus répandu dans notre échantillon, avec une fréquence de 44,4% (4 patients). D'autres motifs peuvent être à l'origine de la découverte des troubles du développement gonadique tels que : l'aménorrhée primaire, l'hypertrophie clitoridienne, l'hernie inguinale, la cryptorchidie ou l'ectopie testiculaire.

Ces résultats convergent avec ceux de Latrech et al. (2014) et Mikaela et al. (2021) soulignant que les anomalies des OGE est le motif principal de consultation chez les patients inclus dans leurs études.

Cependant, nos constatations sont différentes de celles de Devos (2014) et Mallari et Navarro (2022) indiquant que le motif principal de consultation était l'aménorrhée primaire pour les DG.

1.4 Répartition des patients selon le sexe d'assignation

La répartition selon le sexe d'assignation de notre échantillon est décrite dans la figure (7).

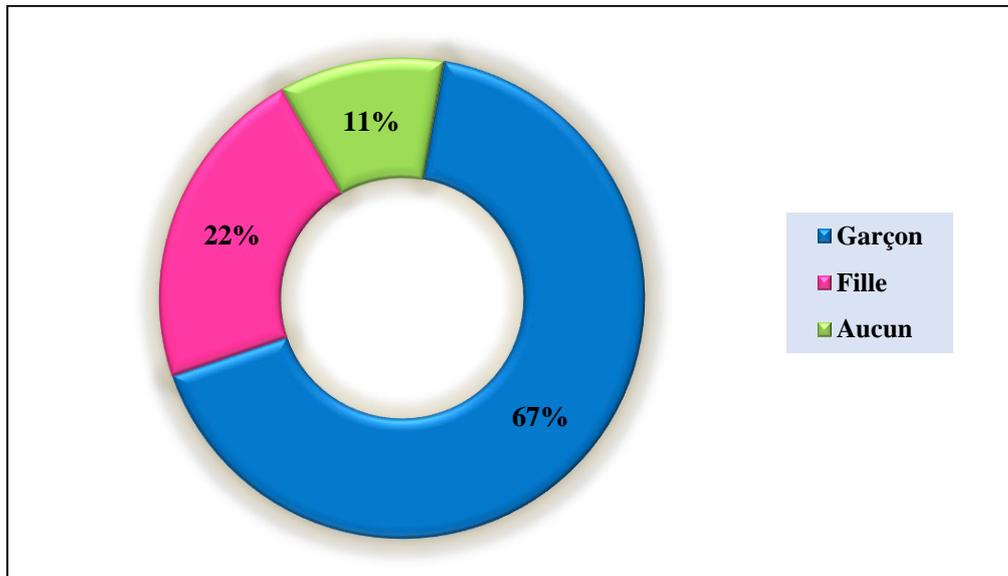


Figure 7. Répartition des patients selon le sexe d'assignation.

Le sexe d'assignation masculin est le plus fréquent dans notre étude (6 patients), suivi par le sexe féminin (2 patients). En revanche, la déclaration du sexe n'a pas encore été établie pour un nouveau-né.

Des résultats similaires ont été soulignés dans l'étude menée par Gomes et al., (2017) indiquant que l'assignation du sexe masculin est fortement favorisée que le sexe féminin pour les DG 46, XY (20 patients assignés garçons et 13 patients assignés filles). Oliveira et al., (2023) ont montré également que l'assignation du sexe masculin pour les DGP est favorisée.

En revanche, nos résultats divergent avec ceux de Grinson et al. (2020) favorisant l'assignation du sexe féminin pour les patients diagnostiqués avec un DSD OT, notamment si le tissu ovarien contient des ovocytes.

Aliyev et Aliyev (2020) et Mallari et Navaro (2022), déclarent aussi que le sexe d'assignation féminin pour les patients présentant DGC est le plus favorisé.

1.5 Répartition des patients selon la consanguinité des parents.

La répartition des patients selon le degré de consanguinité de leurs parents est indiquée dans le tableau 5.

Tableau 5. Répartition des patients selon la consanguinité des parents.

Consanguinité des parents	Nombre
1 ^{er} degré	2
3 ^{ème} degré	1
Aucun	6
Total	9

Parmi les 9 patients recrutés, 67% (6 patients) sont issus de mariage non-consanguin, cependant 22% (2 patients) sont issus de mariage consanguin du 1^{er} degré et seulement 11% (1 patient) sont issus de mariage consanguin du 3^{ème} degré.

Nos résultats sont cohérents avec une étude menée par Kherouatou-Chaoui et al. (2021), sur 30 patients algériens avec DSD, dont 2 présentaient une DGP et 1 présentait un DSD OT. Parmi ces patients, 2 seulement sont issus de mariage consanguin.

Cependant, nos résultats discordent avec ceux de De Vaal (1955) suggérant que la consanguinité pourrait être responsable des DG pour les 3 patients inclus dans leur étude.

1.6 Répartition selon la présence des cas familiaux similaires

La répartition selon la présence des cas familiaux similaires est illustrée dans la figure 8.

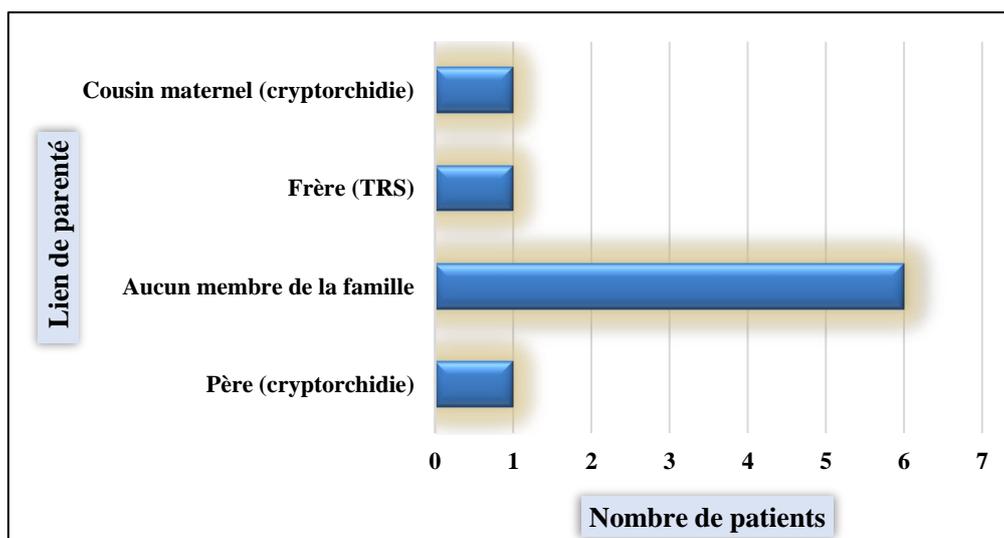


Figure 8. Répartition des patients selon la présence des cas familiaux similaires.

Dans cette étude, nous déduisons que 6 patients n'ont aucun cas familial similaire, que ça soit une cryptorchidie, une ectopie testiculaire, un hypospadias, un micropénis ou n'importe quel autre type de DSD. Par ailleurs, nous avons constaté que des cas familiaux similaires existent chez 3 patients dont le père d'un patient qui présentait une cryptorchidie, le cousin maternel d'un patient qui présentait également une cryptorchidie et le frère d'une patiente a été diagnostiqué avec le SRT.

Il a été stipulé dans la littérature que généralement, les DG 46,XY sont sporadiques, ce qui signifie qu'ils surviennent de manière aléatoire sans antécédents familiaux. Cependant, il existe de rares cas où les DG 46,XY peuvent se manifester chez les membres de la même famille.

En effet, nos constatations sont cohérentes avec l'étude menée par Bashamboo et McElreavey (2014), soulignant que la majorité des cas des DG semble être sporadique, la forme familiale des DSD est moins fréquente et semble être généralement transmise selon un mode autosomique récessif.

Par ailleurs, Zheng et al. (2023), ont recruté dans leur étude 20 personnes non apparentées présentant une DG 46,XY, issus de familles avec des antécédents familiaux de DSD. En utilisant diverses approches du séquençage de nouvelle génération (NGS ; *next generation sequencing*), cette équipe a pu mettre en évidence la pénétrance de certains variants pathogènes qui expliquent la variabilité phénotypique décrite dans les familles de ces patients. Au total, six patients présentaient des mutations du gène *NR5A1*, deux patients présentaient des mutations du gène *NROB1*, six patients présentaient des mutations du gène *SRD5A2* et six patients présentaient des mutations du gène *AR*.

Par conséquent, il est nécessaire de mener des recherches sur les cas de DG 46,XY au sein des familles afin d'élargir notre compréhension des variations phénotypiques et d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans le développement sexuel, et ce, en utilisant des approches NGS, notamment le séquençage entier de l'exome (WES).

1.7 Répartition des patients selon leur milieu de vie

La répartition des patients selon leur milieu de vie est représentée dans la figure 9.

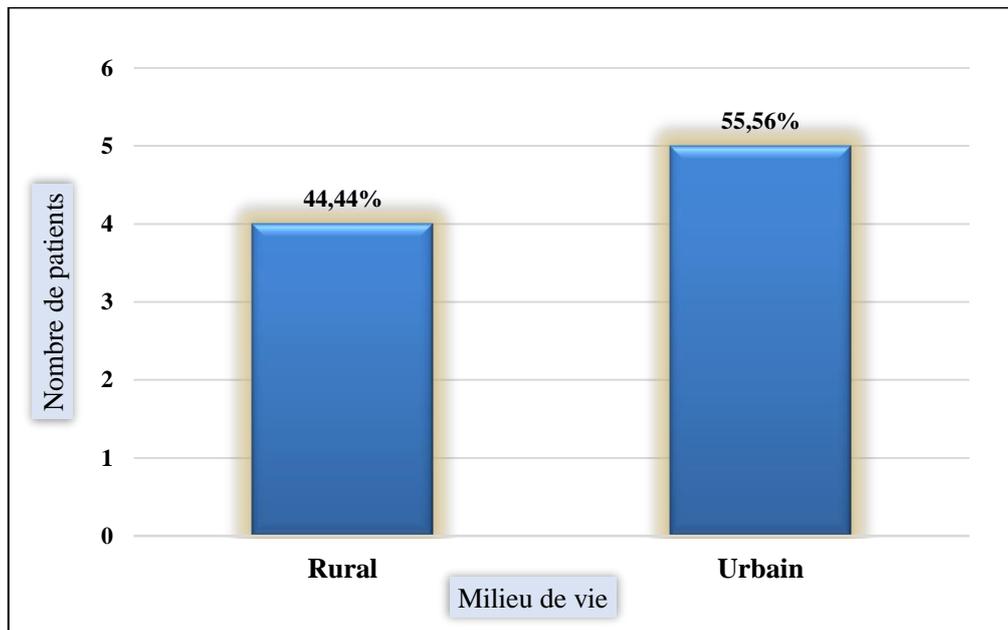


Figure 9. Répartition des patients selon leur milieu de vie.

Nous avons noté une proportion presque équivalente dans les milieux de résidence rural et urbain, soit 44% et 56% respectivement, pour la population d'étude. Or, ces données ne sont pas suffisantes pour déterminer l'impact du milieu de vie sur la survenue des anomalies du développement testiculaire.

Nos résultats sont largement différents de ceux de Skakkebaek et al. (2001), soulignant que l'étiologie environnementale, mise en évidence par des découvertes épidémiologique de synchronie géographique et temporelle, peut avoir un effet important sur l'émergence des troubles du développement testiculaire chez les nouveau-nés.

Des études en Espagne et au Danemark ont montré une association entre le fait de vivre à proximité d'exploitation agricole intensive, où des pesticides sont utilisés, notamment chez les mères travaillant dans les champs agricoles et le risque de développer des DG et de cryptorchidie chez leur fils. De même, aux Pays-Bas, une vaste étude de cohorte a mis en évidence une association entre l'exposition paternelle aux pesticides et un risque accru de manifestation des troubles de développement testiculaire et de cryptorchidie chez leurs enfants (Bay *et al.*, 2006 ; Mullor *et al.*, 2021).

De plus, Stukenborg et al. (2021) ont également souligné dans leur investigation une exposition prénatale aux pesticides est associée à un risque accru de cryptorchidie et de cancer des testicules.

1.8 Répartition des patients selon l'âge des parents lors de la conception

La majorité des travaux scientifiques se sont principalement intéressés à l'âge de la mère pendant la grossesse et à son association avec les problèmes de santé chez l'enfant. Néanmoins, dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'âge de la mère ainsi qu'à l'âge du père et leur relation avec la naissance d'un enfant présentant des troubles du développement gonadique.

1.8.1 Age du père

La répartition selon l'âge du père lors de la conception est représentée dans la figure ci-dessous (Figure 10).

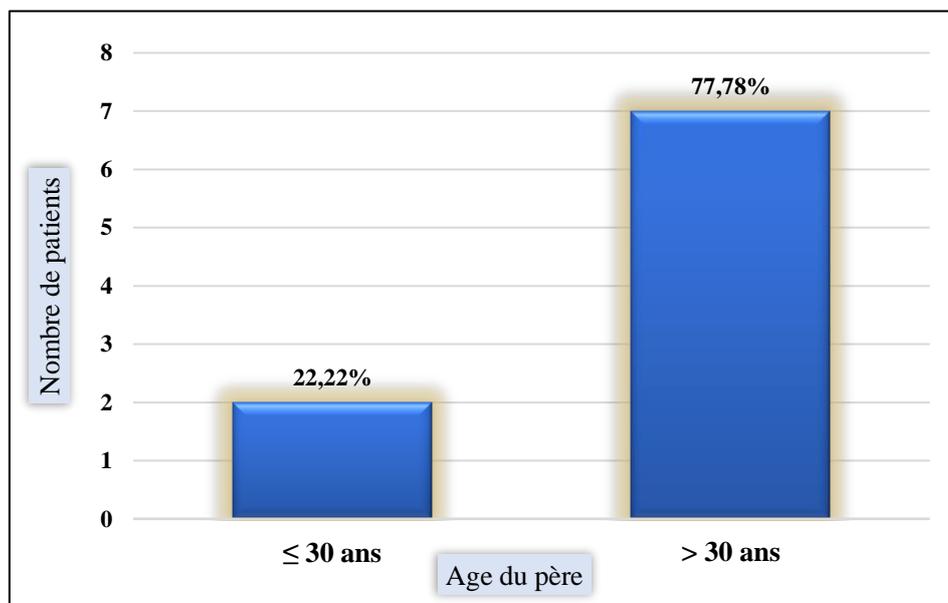


Figure 10. Répartition des patients selon l'âge du père pendant la grossesse.

Notre analyse montre que la majorité des pères (77%) ont un âge supérieur à 30 ans et seulement 22,22% des pères ont un âge inférieur ou égal à 30 ans.

Bien que notre étude se soit intéressée à un échantillon limité de patients avec des anomalies du développement testiculaire, plusieurs autres travaux scientifiques ont indiqué que l'âge paternel a un impact sur la santé et le développement de l'enfant, aussi bien crucial que l'âge maternel.

En effet, d'après les résultats de certaines études menées en 2020 par Janeczko et al ; Fang et al., il existe une association entre l'âge paternel avancé et un risque légèrement accru de l'apparition des DG chez leurs enfants 46,XY.

A ce jour, le mécanisme exact par lequel l'âge paternel, augmente les risques de malformations congénitales dans la descendance n'est pas encore clair. Cependant, plusieurs études ont montré que la qualité du sperme diminue avec l'âge, en termes de mutations génétiques, de longueur des télomères et d'épigénétique. De plus, une diminution du volume du sperme peut également causer des problèmes de conception. Avec l'âge, les pères sont exposés à divers facteurs de risque environnementaux responsables des modifications épigénétiques avec de graves conséquences pour la progéniture (Vekemans, 2002 ; Bouazzaoui *et al.*, 2022).

D'autre part, et plus récemment, Pinti et al. (2022) et Gueye et al. (2023) ont confirmé que l'âge avancé des pères est impliqué dans la survenue des anomalies congénitales. Ces dernières sont dues aux mutations qui se produisent pendant la spermatogenèse.

1.8.2 Age de la mère

La répartition selon l'âge de la mère lors de la conception est mentionnée dans la figure 11.

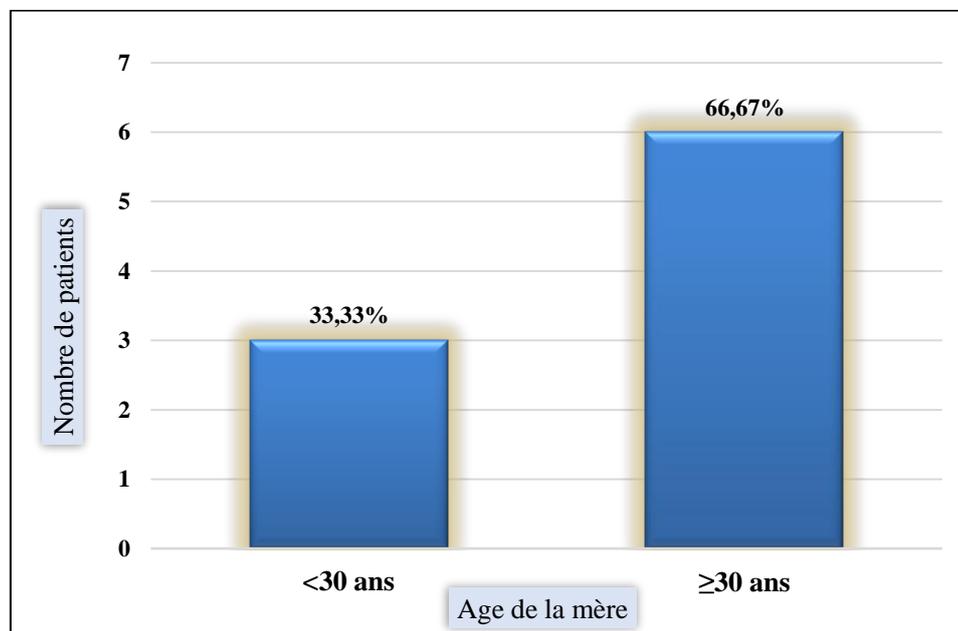


Figure 11. Répartition des patients selon l'âge de la mère pendant la grossesse.

Pour les mères des patients recrutés dans notre étude, il a été constaté que 66,67% des mères ont un âge ≥ 30 ans et que 33,33% d'entre elles ont moins de 30 ans.

Des résultats similaires ont été publiés en 2023 par Gueye et al. Indiquant l'existence d'une corrélation entre l'âge maternel avancé et la naissance d'enfants 46,XY avec des DG. Les mécanismes sous-jacents à cette association ne sont pas entièrement compris, mais il a été suggéré que l'âge maternel avancé puisse influencer les processus de développement embryonnaire et fœtal, y compris la différenciation sexuelle.

Il est important de noter que la relation entre l'âge maternel avancé et les troubles de développement testiculaire n'est pas complètement mise en évidence et que les résultats des publications scientifiques sont parfois divergents avec un risque absolu de DSD relativement faible chez les femmes ayant un âge avancé.

1.9 Répartition des patients selon la profession des parents

Dans la littérature, les anomalies du développement sexuel sont principalement causées par des altérations du matériel génétique ou des variations hormonales pendant le développement embryonnaire et fœtal. Ces anomalies se produisent généralement de manière aléatoire et sont rarement liées à la profession des parents.

1.9.1 Profession du père

La répartition des patients selon la profession du père est illustrée dans le tableau 6.

Tableau 6. Répartition des patients selon la profession du père.

Profession	Nombre
Agriculteur	2
Commerçant	2
Chauffeur	2
Maçon	1
Mécanicien	1
Technicien	1

Nous avons remarqué que la fréquence la plus élevée (22,22%) est la même pour chacune des professions agriculteur, commerçant et chauffeur. En ce qui concerne les autres professions (maçon, mécanicien et technicien) la fréquence est de 11,11%.

De nombreuses études ont confirmé que certaines professions peuvent avoir des effets indirects sur la fertilité et la qualité du sperme. Récemment, les travaux d'Halidou et al. (2022) ayant indiqué qu'il existe des professions comme l'agriculteur et chauffeur qui

exposent les individus à des facteurs environnementaux (produits chimiques toxiques, radiations, températures élevées, stress physique ou psychologique, horaires de travail irréguliers) potentiellement impliqués dans l'augmentation du taux de mutations, qui affectent la santé reproductive.

1.9.2 Profession de la mère

Il est important de souligner que la relation directe entre la profession exercée par la mère et le risque potentiel d'avoir un enfant avec une anomalie du développement testiculaire 46,XY n'est pas clairement établie dans la littérature.

La répartition des patients de notre échantillon selon la profession de la mère est représentée dans le tableau 7.

Tableau 7. Répartition des patients selon la profession de la mère.

Profession	Nombre
Femme au foyer	7
Enseignant	1
Gestionnaire dans une société	1

Nous avons constaté que les femmes au foyer présentent une fréquence importante de 77,78%, soit 7/9 mères, et que seulement 2/9 mères occupent un poste de travail dont une est enseignante, et l'autre est gestionnaire dans une société.

Diverses études ont fait état de résultats contradictoires concernant les effets des tâches professionnelles de la mère, telles que la station debout, les flexions répétitives, la montée d'escaliers et le soulèvement d'objets lourds pendant la grossesse sur la croissance du fœtus ainsi que d'autres complications obstétricales (Torres-Arreola ,2007 ; Suzumori *et al.*,2019 ; Roupnel-Fuentes, 2021).

Les résultats de Khojasteh et al. (2016) suggèrent que les femmes au foyer soulèvent plus fréquemment des objets lourds que les mères employées, ce qui entraîne une augmentation des complications obstétricales telles que la réduction du liquide amniotique.

De plus, Torres-Arreola avait précédemment rapporté en 2007 que l'effet du travail intradomiciliaire ne doit pas être ignoré lorsqu'il s'agit de la santé des femmes pendant la grossesse. Ses résultats ont montré que les femmes mexicaines qui travaillaient

exclusivement à la maison avaient une charge de travail domestique plus importante que celles qui travaillaient à l'extérieur. Ces résultats suggèrent qu'il convient d'accorder une plus grande attention aux conditions de travail intra-domestique et extra-domestique des femmes.

Par contre, une revue récente, incluant 38 études et éditée par Corchero-Falcón en 2023, s'est intéressée aux conséquences du travail sur les femmes enceintes et le développement fœtal. Les principaux facteurs de risque observés dans l'environnement de travail de ces femmes sont des facteurs chimiques, psychosociaux, physiques, ergonomiques et mécaniques, ainsi que d'autres facteurs liés au travail.

1.10 Répartition des patients selon le type d'anomalies du développement gonadique

La répartition selon le type de DSD 46,XY est représentée dans la figure 12.

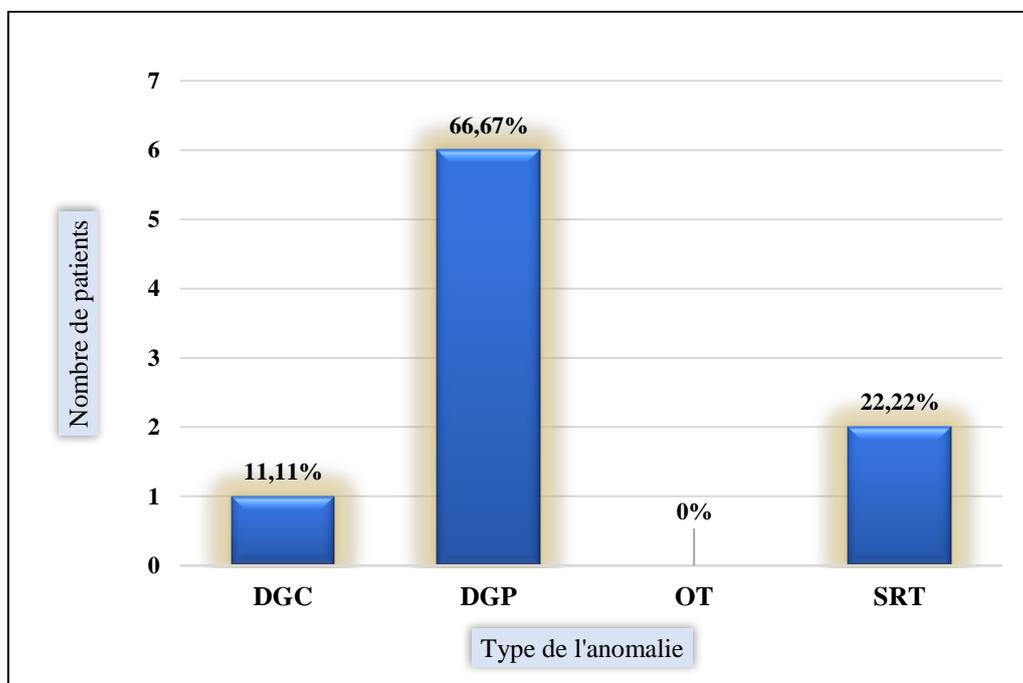


Figure 12. Répartition des patients selon le type de DSD 46 ,XY.

La DGP est le type le plus fréquent dans notre population d'étude avec un pourcentage de 66,67%, suivi par le SRT avec une fréquence de 22,22%, puis par la DGC avec 11,11%. En revanche, le type OT est inexistant dans notre série.

Des résultats assez proches des nôtres ont été publiés par Gomes et al (2022). Cette équipe a réalisé une étude qui s'est intéressée à la classification clinique, biochimique et génétique afin d'établir un diagnostic pour un grand nombre de patients atteints de DSD 46,XY. Ils ont signalé que 30,62% de la cohorte présentent une dysgénésie gonadique (64/209), dont 35,4%

ont été diagnostiqués avec la forme complète (23/64), 40,63% avec la forme partielle (26/64) et 23,44% avec le SRT (15/64), et une absence de la forme OT.

1.11 Répartition des patients selon la présence d'un utérus ou des dérivés müllériens

La répartition selon la présence d'un utérus ou des dérivés müllériens est représentée dans la figure 13.

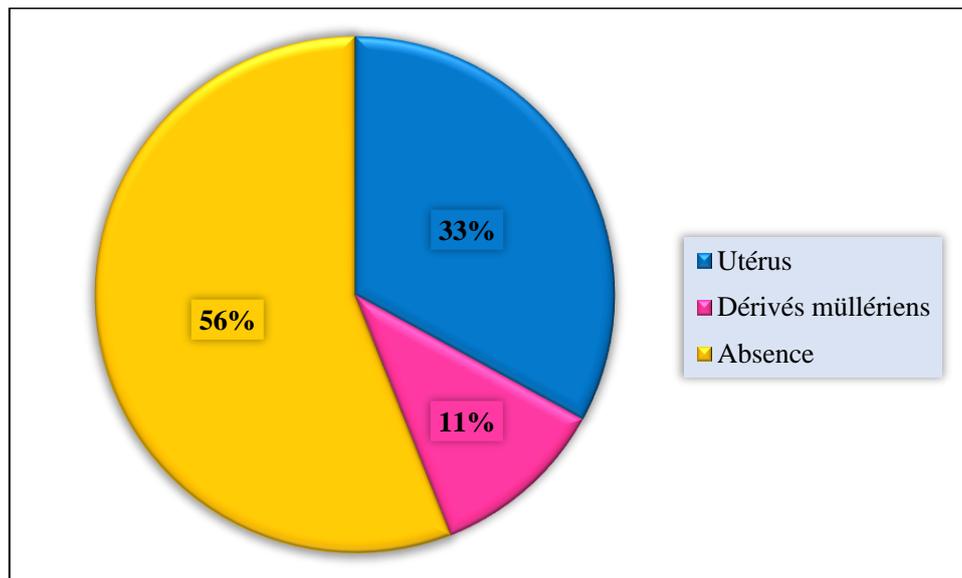


Figure 13. Répartition des patients selon la présence d'un utérus ou des dérivés müllériens.

Nous avons constaté que chez la majorité des cas (56%), l'utérus et les dérivés müllériens sont absents. Par ailleurs, l'utérus est présent chez 3 patients (33%) dont une fille avec un utérus normal, une fille avec un utérus hypoplasique et un garçon avec un utérus latéro-dévié à gauche. Les dérivés müllériens sont identifiés chez un patient (11%).

En 2019, Wisniewski et ses collègues ont souligné que les DSD OT et les DGC chez les individus 46,XY sont généralement associés à la persistance des dérivés müllériens. Par contre, ces derniers peuvent être absents ou présents pour les cas de DGP 46,XY.

Par ailleurs, les résultats publiés par Gomez et al. (2022) sont proches des nôtres, soit 26,56% (17/64) des patients présentaient un utérus, dont un patient avec un utérus hypoplasique, 40,63% (26/64) des patients n'avaient pas un utérus et 32,81% (21/64) n'ayant pas bénéficié d'une exploration des OGI.

2. Etude moléculaire

Notre analyse moléculaire vise à rechercher une éventuelle association entre la présence ou l'absence du gène *SRY* et les anomalies du développement gonadique chez les patients 46,XY.

Le profil de migration des produits de PCR (amplicons de 272 pb) par électrophorèse sur gel d'agarose (2%), concernant 7 patients, est montré dans la figure 14.

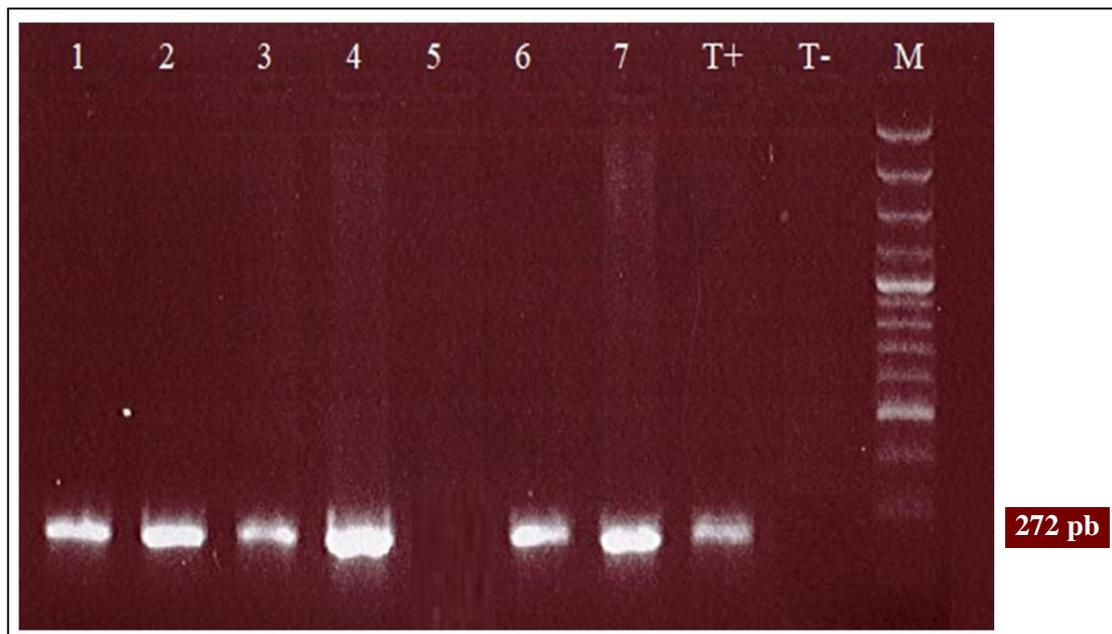


Figure 14. Profil électrophorétique de la PCR d'une séquence de 272 pb du gène *SRY*.
(1-7) : patients, (T+) : témoin positif, (T-) : témoin négatif, (M) : marqueur de taille de 100 pb.

Après avoir visualisé le profil électrophorétique sous UV, les produits d'amplification apparaissent sous forme d'une bande de 272 pb pour chacun des 6 patients : 1, 2, 3, 4, 6 et 7. De ce fait, deux hypothèses sont suggérées, soit le gène *SRY* porte des mutations non détectables par la PCR conventionnelle, soit les anomalies du développement testiculaire chez ces patients sont dues à des altérations d'autres gènes impliqués dans les cascades du déterminisme gonadique et/ou testiculaire.

En revanche, la séquence du gène *SRY* à amplifier est absente chez le 5^{ème} patient présentant une DGP. Cette dernière est probablement due à l'absence du gène *SRY*, cependant d'autres PCR sont nécessaires pour confirmer ce résultat.

Nos résultats convergent avec ceux de Behzadian et al. (1991) confirmant la présence du gène *SRY* chez les patients avec une DGC et qu'aucune mutation n'a été mise en évidence au niveau de ce gène.

L'étude menée par Ahmed et al. (2019) a révélé que chez la plupart des patients, soit 80-90% de la population d'étude, avec des DG 46,XY sont positifs pour le *SRY*. Les individus négatifs pour ce gène se présentent généralement avec un hypospadias pénoscrotal associé à une cryptorchidie ou à une ectopie testiculaire. Cette étude a indiqué que chez la majorité des patients, les DG résultent d'une translocation d'un petit fragment du chromosome Y contenant le gène *SRY*, vers le chromosome X ou vers un autre chromosome.

Les travaux de Nan Wang et al. (2020) et Ambulkar et al. (2021) ont confirmé que les troubles de la détermination gonadique sont causés par des mutations de *SRY* chez 10-15% des cas de DG, et que la plupart de ces mutations touchent la région HMG, ce qui suggère que cette région joue un rôle clé dans la fonction de *SRY*.

De même, en 2022, El-Zaiat et al. ont souligné que les mutations du gène *SRY* sont à l'origine d'environ 10-20% des cas de DGC et qu'une grande partie des cas de DG 46,XY (environ 40%) est causée par des variants de certains facteurs de transcription clés nécessaires au développement testiculaire: *SRY*, *NR5A1*, *MAP3K1* et *SOX9*.

L'investigation de Buonocore et al. (2019) concernant une cohorte de 400 personnes avec DSD, dont 27 d'entre elles ont été diagnostiquées avec une DGC, a mis en évidence des variants pathogènes dans le gène *SRY* chez 6 patients. Parmi ces derniers, 3 étaient porteurs de variants pathogènes hémizygotés dont deux changements nucléotidiques ont affecté les codons de l'HMG (p.R62P et p.N65D) et un nouveau variant complexe (type insertion-délétion) a été signalé dans le codon stop de la région *SRY*.

Dans une autre étude publiée en 2020 par McElreavey et al., les résultats ont révélé qu'aucun gène spécifique n'a été associé au SRT, tandis que des variants pathogènes des gènes *SRY*, *NR5A1* et *MAP3K1* sont les causes les plus fréquentes d'environ 40% des cas de DG 46,XY.

Par conséquent, l'implication des mutations ponctuelles ou de type insertion-délétion du gène *SRY* dans les anomalies du développement des testicules est bien établie. Ces mutations perturbent le développement des gonades masculines pendant la période embryonnaire. Cependant, certains cas de troubles du développement testiculaire ne sont pas directement liés au gène *SRY* et sont plutôt dus à d'autres facteurs génétiques et environnementaux. De ce fait, une analyse génétique complète est nécessaire afin de déterminer les causes spécifiques de ces troubles et établir un diagnostic précis pour l'intérêt des personnes atteintes.

Conclusion et perspectives

Notre étude, de nature descriptive et analytique, a été entreprise sur neuf patients 46,XY dans le but d'explorer les troubles du développement testiculaire et d'identifier les facteurs de risque ayant une corrélation avec l'apparition de ces anomalies. L'analyse de certains paramètres tels que le milieu de vie, l'exposition à des agents toxiques, la consanguinité, les antécédents familiaux, l'âge des parents et leurs professions, nous a permis de mettre en évidence que :

- l'âge moyen au moment du diagnostic est de 2,03 ans ;
- le sexe d'assignation masculin est le plus fréquent dans notre étude ;
- la présence d'OGE ambigus est le motif de consultation le plus répandu dans notre échantillon ;
- la forme sporadique des troubles du développement gonadique est la plus courante dans notre série, l'histoire de la consanguinité a été notée chez seulement 33% des patients ;
- l'âge avancé des parents et leurs professions peuvent avoir des effets indirects sur l'apparition de ces anomalies ;
- les milieux de vie, urbain et rural, sont équivalents dans cette étude ;
- la DGP est la forme la plus fréquente dans notre série, en revanche la forme de DSD OT est inexistante ;
- l'absence d'un utérus et des dérivés müllériens a été mise en évidence chez plus que la moitié des patients.

Par ailleurs, l'étude moléculaire concernant 7 sujets et entreprise par une PCR conventionnelle, a pour objectif de déterminer une éventuelle association entre le gène *SRY* et les anomalies du développement testiculaire. La présence du gène *SRY* a été confirmée chez 6 sujets, cela signifie que soit le gène *SRY* présente des mutations non détectables par PCR conventionnelle, soit les anomalies du développement testiculaire chez ces patients sont dues à des altérations d'autres gènes impliqués dans les voies du déterminisme gonadique. En revanche, l'absence du gène *SRY* chez un patient peut expliquer son phénotype.

Toutefois, il convient de souligner que toutes les formes des anomalies du développement testiculaire ne sont pas directement liées aux mutations du gène *SRY*. D'autres facteurs, qu'ils soient génétiques ou environnementaux, peuvent également contribuer à cette condition.

Or, l'effectif de notre population d'étude est faible et les résultats obtenus ne sont pas concluants.

En perspectives

A la lumière des résultats obtenus, de nombreuses perspectives se dessinent pour approfondir cette investigation :

- élargir la cohorte des patients présentant des troubles du développement testiculaire en entreprenant une étude globale de l'ensemble du territoire algérien afin d'obtenir des conclusions plus précises sur le lien entre ces anomalies et l'absence du gène *SRY* ;
- séquencer le gène *SRY* afin de déterminer d'éventuelles mutations associées à ces anomalies ;
- utiliser les approches NGS telles que le WES et le WGS (*whole genome sequencing*), ou l'aCGH (*array comparative genomic hybridization*) pour mettre en évidence d'une part, les mutations des gènes impliqués dans la détermination / différenciation testiculaire tels que le gène *NR5A1*, *WNT4* et *SOX9*. De l'autre part, d'identifier de nouveaux gènes pouvant être impliqués dans ces anomalies chez les individus 46,XY. Cela permettra d'acquérir une meilleure connaissance de la pathogenèse des troubles du développement gonadique et pourrait conduire à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

Références bibliographiques

- ▶ Abdelmaksoud-Zghal F. Biologie du développement. Centre de publication universitaire. 2003. 1ère Edition. 74-80
- ▶ Abdelmoula Bouayed N, Samet A, Mejdoub L, et al. Les troubles du développement sexuel diagnostiqués au cours du bilan d'infertilité. Prog Urol-FMC. 2022; 32(3): 89-90.
- ▶ Ahmed F, McElreavey K, McGowan R, et al. Anomalie testiculaire du développement sexuel 46,XX. ORPHA :393. 2019.
- ▶ Aliyev NA et Aliyev ZN. Case about eswyer syndrome (complete or “pure” gonadal dysgenesis). Journal of clinical Research and reports. 2020; 5(5): 1-2.
- ▶ Ambulkar PS, Waghmare J E, Verma Shivkumar P, et al. A missense mutation (c.226C>A) in HMG box SRY gene affects nNLS function in 46,XY sex reversal female. Andrologia. 2021; 53(5): 14011.
- ▶ Amies Oelschlager AM, Muscarella M, Gomez-Lobo V. Transition to adult care in persons with disorders of sexual development: the role of the gynecologist. Obstet Gynecol. 2015; 126: 845-849.
- ▶ Arboleda VA, Quigley CA, Vilain E. Genetic Basis of Gonadal and Genital Development: shaded in green indicate chapters dedicated predominantly to pediatric endocrinology content. Endocrinology: Adult and Pediatric. 2016; 7: 2051-2085.
- ▶ Baillet A, Béatrice M, Reiner V et el., La différenciation ovarienne précoce et son contrôle génétique. Biologie aujourd'hui. 2011 ; 205(4): 201-221.
- ▶ Balen AH, Creighton SM, Davies MC, et al. Paediatric and Adolescent Gynaecology: A Multidisciplinary Approach. J R Soc Med. 2004; 97(12): 605.
- ▶ Barbaux S, Vilain E, McElreavey K, et al. Le point sur le déterminisme du sexe chez les mammifères. medecine Sciences. 1995; 11: 529-536.
- ▶ Bashamboo A et McElreavey K. Consanguinity and disorders of sex development. Human Heredity.2014; 77: 108-117.
- ▶ Bashamboo A, Eozenou C, Rojo S, et al. Anomalies in human sex determination provide unique insights into the complex genetic interactions of early gonad development. Clin Genet. 2017; 91(2): 143-156.
- ▶ Bay K, Asklund G, Skakkebak N, et al., Testicular dysgenesis syndrome possible role of endocrine disrupters. Best practice & research clinical endocrinology & metabolism.2006; 20(1): 77-90.
- ▶ Behzadian AM, Sandra PT, McDonough P G. The presence of the testicular determining sequence, SRY, in 46,XY females with gonadal dysgenesis (swyer syndrome). Am J obstet gynecol. 1991; 165: 1887-1890.

- ▶ Benslimane H. La prise en charge des anomalies congénitales du développement génito-sexuel dans le service d'urologie de l'EHS Canastel. Thèse de doctorat en sciences médicales - université d'Oran Ahmed Ben Bella. 2018 :1-218.
- ▶ Berglund A, Johannsen TH, Stochholm K, et al. Incidence, prevalence, diagnostic delay, morbidity, mortality and socioeconomic status in males with 46,XX disorders of sex development: a nationwide study. *Hum. Reprod.* 2017; 32: 1751-1760.
- ▶ Bessaid K, Haddam ME, Meskine D. Syndrome de régression testiculaire, à propos d'un cas. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2014; 75(5-6): 419-420.
- ▶ Bilharinho MB, Sorahia D, Arnhold, et al. 46,XY Disorders of sex development (DSD). *Clinical Endocrinology*. 2009; 70: 173-187.
- ▶ Bouazzaoui A, Launay E, Lokchine A, et al. Aide médicale à la procréation, malformations congénitales et santé postnatale. *Périnatalité*. 2022; 14(2): 77-85.
- ▶ Bouvattier C, Duranteau L, Brunet L, et al. Les évolutions de la médecine face aux nouveau-nés intersexes. *J Droit Santé Assur Maladie (JDSAM)*. 2020; 25: 61-63.
- ▶ Bouvattier C. Anomalies du développement sexuel 46,XY (anciennement pseudohermaphrodisme masculins). Elsevier Masson SAS. 2009 ; 10 : 1-8.
- ▶ Boyer A. Etudes comparatives, évolutives et recherche des gènes importants pour la détermination du sexe chez les mammifères (thèse de doctorat-université de Montréal).2005 :1-177.
- ▶ Bull. Le Facteur de transcription FOXL2 : un acteur clé de la différenciation de l'ovaire, de son maintien et de la fertilité. *Acad. Natle Méd.* 2016 ; 200 (6) :1115-1127.
- ▶ Bull. Les enfants présentent une variation du développement génital. Elsevier Masson France. 2022 ; 206: 424-426.
- ▶ Buonocore F, Clifford-Mobley O, King TFJ, et al. Next-Generation Sequencing Reveals Novel Genetic Variants (SRY, DMRT1, NR5A1, DHH, DHX37) in Adults With 46,XY DSD. *J Endocr Soc.* 2019; 3(12): 2341-2360.
- ▶ Chaffaux S. intersexualité chez les mammifères domestique. Elsevier INRA. 1999 ; 1: 51-61.
- ▶ Corchero-Falcón MdR, Gómez-Salgado J, García-Iglesias JJ, et al. Risk Factors for Working Pregnant Women and Potential Adverse Consequences of Exposure: A Systematic Review. *Int J Public Health*.2023; 68: 1605655.
- ▶ Coutant R. La différenciation sexuelle ce qui important pour clinicien. *Médecine Clinique endocrinology & diabète*. 2012; 56(1-2): 44-52.

- ▶ Cox T. Genetic Evidence Equating SRY and the Testis-Determining Factor 1990 by Phillippe Berta et al. Embryo Project Encyclopedia. 2014: 1940-5030.
- ▶ De Vaal OM. Genital intersexuality in three brothers connected with consanguineous marriages in three previous generations. *Acta paediatrica*.1955; 44: 35-39.
- ▶ Devos C. Deux cas de dysgénésies gonadiques 46,XY à propos d'une famille atteinte d'une duplication du locus DAX1(NROB1) : quelle orientation sexuelle choisir ? *Médecine Humaine et Pathologique (thèse de docteur- Université de Nice Sophia Anyipolis)* .2014 ; 1-62.
- ▶ Diallo Mamad. Etude de l'ambiguïté sexuelle dans le service d'urologie de CHU du point « G » à propos de 5 observations (thèse de doctorat- université de Bamako). 2008;1-67.
- ▶ Elzaiat M, McElreavey K, Bashamboo A. Genetics of 46,XY gonadal dysgenesis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2022; 36(1): 101633.
- ▶ Fang Y, Wang Y, Peng M, et al. Effect of paternal age on offspring birth defects: a systematic review and meta-analysis. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12(24): 25373-25394.
- ▶ Forgues D, Borrego P, Blard H. Malformation de l'appareil génital externe (DSD). *Naitre*. 2017. (1):1- 7.
- ▶ Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, et al. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature*. 1994; 372(6506): 525-530.
- ▶ Gabriel Ribeiro de Andrade J, Marques-de-Faria AP, Fabbri HC, et al. Long-Term Follow-Up of Patients with 46,XY Partial Gonadal Dysgenesis Reared as Males. *Int J Endocrinol*. 2014; 480724: 1-8.
- ▶ Garcia-Acero M, Olga M, Fernando S, et al. Disorders of sexual development: current status and progress in the diagnostic approach. *Current urology*.2020. 13: 169-178
- ▶ Garcia-Acero M, Olga MN, Fernando S, et al. Disorders of sex development: Genetic characterization of a patient cohort. *Molecular medicine reports*.2020; 21: 97-106.
- ▶ Gecz J Stephen J, Edith Passage, et al. Assignment of a poly comb-like chromobox gene (CBX2) to human chromosome. *Academic press, inc*. 1994;26: 130-133.
- ▶ Gomes N, Ierário AM, Machado AZ, et al. Long-term outcomes and molecular analysis of a large cohort of patients with 46,XY disorder of sex development due to partial gonadal dysgenesis. *Clin Endocrinol*.2017;89 (2):164-177.
- ▶ Gomes N, Tarini C, Jorgensen A, et al. Disorders of Sex Development—Novel Regulators, Impacts on Fertility, and Options for Fertility Preservation. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(7): 2282.

- ▶ Gomes NL, Batista RL, Nishi MY, et al. Contribution of Clinical and Genetic Approaches for Diagnosing 209 Index Cases With 46,XY Differences of Sex Development. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022; 107(5): 1797-1806.
- ▶ Gonen N, Lovell-Badge R. The regulation of Sox9 expression in the gonad. *Curr Top Dev Biol.* 2019; 134: 223-252.
- ▶ Gorchane A, G-saad, R. Ajili, et al. Dysgénésie gonadique pure à caryotype 46,XY : à propose d'un cas. *Annales D'endocrinologie.* 2020 ; 81: 384-390.
- ▶ Grinspon RP, Ignacio B, Rey RA. Male hypogonadism and disorders of sex development. *Frontiers in endocrinology.* 2020;11(211): 1-14.
- ▶ Gubbay J, Collignon J, Koopman P, et al. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. *Nature.* 1990; 346(6281): 245-250.
- ▶ Guerrero-Fernández J, Azcona San Julián C, Barreiro Conde J, et al. Guía de actuación en las anomalías de la diferenciación sexual (ADS) / desarrollo sexual diferente (DSD) [Management guidelines for disorders / different sex development (DSD)]. *An Pediatr.* 2018; 89(5): 1-19.
- ▶ Gueye FD, Fatimatou D I A, Ndiaye A, et al. Contribution of cytogenetic and molecular biology in disorders of sex development diagnosis: About 55 cases. *International Journal of Genetics and Molecular Biology.* 2023; 15(1): 1-12.
- ▶ Habran C, Laterre M, Fudvoye J, et al. Prise en charge anténatale d'un désordre du développement sexuel. *Louvain médical.* 2021; 140: 404.
- ▶ Halidou M, Amadou Magagi I, Zakou A, et al. Infertilité Masculine à l'Hôpital National de Zinder: Aspects Épidémiologiques et Cliniques: Male infertility at the National Hospital of Zinder: Epidemiology and clinical features. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE.* 2022; 23(3).
- ▶ Heksch RA, Matheson MA, Tishelman AC, et al. TESTICULAR REGRESSION SYNDROME: PRACTICE VARIATION IN DIAGNOSIS AND MANAGEMENT. *Endocr Pract.* 2019; 25(8): 779–786.
- ▶ Hongling D, Hugh TS. Development of the Genital System. *Principles of Developmental Genetics.* 2015: 487-504.
- ▶ Houari H, Larwanou MM, El Ouahabi H. Une anomalie de la différenciation sexuelle 46,XY pure (ADS 46,XY) : à propose de deux cas. *Elsevier Masson SAS.* 2017 ;78: 383.
- ▶ Hu A, Rajaonarison NY, onynarindra LH, et al. Un cas de trouble du développement sexuel Ovotesticulaire. *Uro'Andro.* 2017; 1: 391-394.

- ▶ Hu YC, Leah MO, Page D. Gata4 required for formation of the genital ridge in Mice. *Plos Genet.* 2013;9(7): e1003629.
- ▶ Hughes LA, McKay-Bounford K, Webb EA, et al. Next generation sequencing (NGS) to improve the diagnosis and management of patients with disorders of sex development (DSD). *Endocr Connect.* 2019; 8(2): 100-110.
- ▶ Hughes, Houk.C, S F Ahmed, et al. Consensus statement on management of intersex disorders. *Archives of disease in childhood.*2006; 91: 554-563.
- ▶ Hyon C, Rouen A. Entre déterminisme génétique et théorie du genre. *Mt Médecine de la reproduction, Cynécologie endocrinologie.* 2013 ; 15(1): 96-105.
- ▶ Hyon C. Etude des gènes impliqués dans le déterminisme gonadique chez l'homme (thèse de doctorat- université pierre et marie curie). 2016;1-161.
- ▶ Jacobs PA, Strong JA. A Case of Human Intersexuality Having a Possible XXY Sex-Determining Mechanism. *Nature.* 1959; 183(4657): 302-303.
- ▶ Jakovleva A, Kovalova Z. Complet gonadal dysgenesis analysis in the population of lativia : malignant outcomes and a review of literature. *Med pharm Rep.*2022; 95(1): 47-53.
- ▶ Janeczko D, Hołowczuk M, Orzeł A, et al. Paternal age is affected by genetic abnormalities, perinatal complications and mental health of the offspring. *Biomed Rep.* 2020; 12(3): 83-88.
- ▶ Jurgensen M, Kleinemeier E, Lux A, et al. Psychosexual development in children with disorder of sex development (DSD) - results from the German Clinical Evaluation Study. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010; 23: 565-578.
- ▶ Kalfa N, Mahamat-Nour AD, P. Philibert, et al. Le développement des organes génitaux. *Rev. Méd. Périnat.* 2015 ;7:128-136.
- ▶ Kathar HMR. A case report of vanishing testicle: radiological diagnosis and short review. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2022; 53: 37.
- ▶ Katoh-Fukui Y, Owaki A, Toyama Y, et al. Mouse Polycomb M33 is required for splenic vascular and adrenal gland formation through regulating Ad4BP/SF1 expression. *Blood.* 2005; 106(5): 1612-1620.
- ▶ Kherouatou-Chaoui N, Chellat- Rezgoune D, Regoune ML, et al., SRY and NR5A1 gene mutation in Algerian children and adolescents with DSD and testicular dysgenesis. *African health sciences.*2021;21(3): 1491-1497.
- ▶ Khojasteh F, Arbabisarjou A, Boryri T, et al. The Relationship between Maternal Employment Status and Pregnancy Outcomes. *Glob J Health Sci.* 2016; 8(9): 53533.

- ▶ Kim Y, Kobayashi A, Sekido R, et al. Fgf9 and Wnt4 act as antagonistic signals to regulate mammalian sex determination. *PLoS Biol.* 2006; 4(6): 1000-1009.
- ▶ Kleinemeier E, Jurgensen M, Lux A, et al. Disorders of Sex Development Network Working Group. Psychological adjustment and sexual development of adolescents with disorders of sex development. *J Adolesc Health.* 2010; 47: 463-471.
- ▶ Knowler KC, Kelly S, Ludbrook LM, et al. Failure of SOX9 Regulation in 46XY Disorders of Sex Development with SRY, SOX9 and SF1 Mutations. *PLoS ONE.* 2011; 6(3): e17751.
- ▶ kwame KE. Les ambiguïtés sexuelles en service de médecine interne de l'hôpital national du point G à-propos de douze cas (thèse de doctorat- université de Bamako). 2003; 1-69.
- ▶ Laan M, Kasak L, Timinskas K, et al. NR5A1 c.991-1G>C splice-site variant causes familial 46,XY partial gonadal dysgenesis with incomplete penetrance. *Clinical endocrinology.* 2021;94 (4): 656-666.
- ▶ Lamothe S, Valérie B, Christin-Maitre S. La différenciation gonadique vers l'ovaire . *Cliniques d'endocrinologie.* 2019 ;(2-3):83-88.
- ▶ Larsen, Schoenwolf, et al. Embryologie humaine 3ème édition. édition de Boeck université. 2011 ;pages : 459.
- ▶ Latrech H, Hassan ME, Chraïbi A, et al. Syndrome de régression embryonnaire des testicules: à propos de 6 cas. *Pan Afr Med J.* 2014; 18: 1-6.
- ▶ Laure B, Lombés M et Claire Bauvattier. Controverses et challenges sur le développement sexuel différent (DSD). Elseviers Masson SAS. 2018; 79: 22-30.
- ▶ Law H, Mushtaq I, Wingrove K, et al. Histopathological features of testicular regression syndrome: relation to patient age and implications for management. *Fetal Pediatr Pathol.* 2006; 25(2): 119-129.
- ▶ Le Moigne A, Foucrier J. *Biologie du Développement (7ème édition).* Dunod. 2010; 343-348.
- ▶ Lee PA, Houk CP, Husmann DA. Should male gender assignment be considered in the markedly virilized patient with 46 XX and congenital adrenal hyperplasia?. *J Urol.* 2010; 184(4): 1786-1790.
- ▶ Leroux L. Gènes de la détermination sexuelle : à propose de deux observation. *La lettre du gynécologue.* 1999;244: 34-40.
- ▶ Li Y, Zheng M, Lau Y. The Sex-Determining Factors SRY and SOX9 Regulate Similar Target Genes and Promote Testis Cord Formation during Testicular Differentiation. *Cell Reports.* 2014; 8(3): 723-733.

- ▶ Li Z, Liu J, Peng Y, et al. 46, XX Ovotesticular disorder of sex development (true hermaphroditism) with seminoma: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99(40): e22530.
- ▶ Lipay MVN, Bianco B, Verreschi ITN. Disgenesias gonadais e tumores: aspectos genéticos e clínicos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2005; 49(1): 60-70.
- ▶ Lopès P, Poudat FX. Bases génétiques et anatomophysiologiques de la sexualité humaine Manuel de sexologie. Elsevier Masson. 2022; 4.
- ▶ Mallari Pamela MP, L-Carlos NC. Swyer syndrome (46,XY complet gonadal dysgenesis) a rare case of primary amenorrhea. *Philipp J Obstet Gynecol*. 2022 ; 46: 258-264.
- ▶ Mandon-Pépin, Clara Gobe. Des souris et des femmes : une ovogenèse fœtale similaire ?. *Médecine de la reproduction*. 2019 ;21(2): 111-126.
- ▶ Manouvrier-Hanu S. Faire un garçon ou une fille Gènes impliqués dans le développement de la gonade, sa différenciation et celles des organes génitaux et leurs anomalies.Elsevier masson.2019 ;1.
- ▶ Martinez-Bucu NMEG, Domingo MVC. 46, XY Partial Gonadal Dysgenesis Diagnosed In Adulthood INTERESTING CASES. *Philipp J Reprod Endocrinol Infertil*. 2021; 2(7-12).
- ▶ Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. *Nat Med*. 2002; 8 (10): 41-49.
- ▶ McElreavey K, Jorgensen A , Eozenou C, et al. Pathogenic variants in the DEAH-box RNA helicase DHX37 are a frequent cause of 46,XY gonadal dysgenesis and 46,XY testicular regression syndrome. *Genet Med*. 2020; 22: 150-159.
- ▶ McElreavey K, Jorgensen A, Eozenou C, et al. Pathogenic variants in the DEAH-box RNA helicase DHX37 are a frequent cause of 46,XY gonadal dysgenesis and 46,XY testicular regression syndrome. *Genet Med*. 2019; 21(1): 1-8.
- ▶ Meyer-Bahlburg. Lignes de conduite pour le traitement des enfants ayant des troubles du développement du sexe. Elsevier Masson SAS.2008;56: 339-344.
- ▶ Mikaela Erlinda G, Martinez-Bucu, Fpogs, et al. 46XY partial gonadal dysgenesis diagnosed in Adulthood. *Aspiro*.2021; 1:55-62.
- ▶ Moshiri M, Chapman A, Fechner PY, et al. Evaluation and Management of Disorders of Sex Development: Multidisciplinary Approach to a Complex Diagnosis. *Radiographics*. 2012; 32(6): 1599-1618.
- ▶ Mullor Mar Requena, Angles Navarro-Mena, Ruqiong wei, et al. Evaluation of gonadal alterations in a population environmentally exposed to a mixture of endocrine active

- pesticides. International journal of environmental research and public health.2021 ;18(5):23-55.
- ▶ Murielle François. Évolution législatives et enjeux éthiques liés à la prise en charge des enfants ayant un trouble de la différenciation sexuelle (DSD).Elsevier Masson SAS. 2020 ; 2020(162) : 47-57.
 - ▶ N'tumba-BYN T. Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens bisphénol et phtalates sur le développement du testicule fœtal (thèse de doctorat –université paris). 2013;1-185.
 - ▶ Nan Wang, Wenjiao Zhu, et al. Inherited missense mutation occurring in arginine 76 of the SRY gene does not account for familial 46,XY sex reversal. Clinical research article.2020;105(5): 1355-1365.
 - ▶ Norling A. Molecular mechanisms in disorders of gonadal development. Karolinska Institutet Sweden. 2014: 1-83.
 - ▶ Oueslati I, Bchir N, Khiari K, et al. Dysgénésie gonadique partielle 46,XY: à propos d'un cas. Ann Endocrinol (Paris). 2016; 77(4): 453-454.
 - ▶ Perrin A. Des variations du développement sexuel : la différence au grand jour. UNIL.2012 ;1 : 1-31.
 - ▶ Peycelon M. Mécanismes physiopathologiques impliqués dans la différenciation du tractus génital masculin doctoral dissertation. Génétique humaine Sorbonne Université. 2019 : 1-253.
 - ▶ Phan-Hug F, Kraus C, Paoloni-Giacobino A, et al. Patients avec variation du développement sexuel: un exemple de prise en charge interdisciplinaire. Rev Med Suisse. 2016; 12: 1923-1929.
 - ▶ Philibert P, Zenaty D, Lin L, et al. Mutational analysis of steroidogenic factor 1 (NR5a1) in 24 boys with bilateral anorchia: a French collaborative study. Hum Reprod. 2007; 22(12): 3255-3261.
 - ▶ Pinti E, Lengyel A, Nemethi Z, et al. Pre- and perinatal aspects of sex chromosome abnormalities and other gonadal dysgeneses. PREPRINT (Version 1).2022:1-22.
 - ▶ Pirgon Ö, DüNDAR BN. Vanishing Testes: A Literature Review. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2012; 4(3): 116-120.
 - ▶ Prud'homme B. Autorégulation du gène GATA4 via son promoteur distal 1B dans les cellules gonadiques (université Laval). 2013 ;1-77.
 - ▶ Pugeat M. Déterminisme sexuel, différenciation gonadique et identité du genre. In Analysis. 2021; 5(1): 54-61.

- ▶ Rajo S. Deciphering the molecular mechanisms of gonadal development (thèse doctorat-University Pierre et Marie Curie).2015;1-226.
- ▶ Ravel C, Chantot-Bastaraud S, Siffroi JP. Aspects moléculaire du déterminisme sexuel : régulation génique et pathologie. Elsevier SAS. 2004 ; 32: 584-594.
- ▶ Renneville A, Preudhomme C. Wilms tumor 1(WT1) et leucémies aiguës. Hématologie. 2011 ;17(1): 40-60.
- ▶ Rey R, Josso N, Racine C, et al. Sexual Differentiation in: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al. Endotext Internet. 2020.
- ▶ Richard. P, Fader , P- charron. Génétique des cardiomyopathies héréditaires. EMC – cardiologie. 2018.;13(3): 1-20.
- ▶ Ridnik M, Schoenfelder S, Gonen N. Cis-Regulatory Control of Mammalian Sex Determination. Sex Dev. 2021; 15(5-6): 317-334.
- ▶ Rodrigues OF, Tais NM, et al. DHX37 and NR5A1 variants identified in patients with 46,XY partial gonadal dysgenesis.Life.2023; 13(1093): 1-11.
- ▶ Rodríguez A, Ezquieta B, Labarta JI, et al. Grupo de Hiperplasia Suprarrenal Congénita de la Sociedad Española de Endocrinología. [Recommendations for the diagnosis and treatment of classic forms of 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia]. An Pediatr (Barc). 2017; 87(2): 1-10.
- ▶ Roucher-RY. Morel, Mallet.D, et al. Physiopathologie et classification des anomalies du développement génito sexuel. La voisier. 2015;7: 137-146.
- ▶ Roupnel-Fuentes M. Quels chemins pour retrouver un emploi quand on a perdu sa santé au travail? Revue française des affaires sociales. 2021; (1): 125-143.
- ▶ Sabouret A, Furelaud G, Devos N, et al. La mise en place de l'appareil génital chez l'être humain. Planet-Vie. 2004.
- ▶ Sajjad Y. Development of the genital ducts and external genitalia in the early human embryo. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research. 2010; 36(5): 929-937.
- ▶ Salder Thomas w. Embryologie médicale 9ème édition française. John libbeyEurotext. 2018;Pages :506.
- ▶ Scarpa MG, Massimo DG, Gianluca T. 46,XY Ovotesticulaire Disorder of sex development : A therapeutic challenge. Pediatric reports.2017; 9(4): 70-85.
- ▶ Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. Nature. 2008; 453(7197): 930-934.
- ▶ Siffroi JP. Mécanisme physiopathologiques impliqués dans la différenciation du tractus génital masculine (thèse doctorat-Sorbonne Université).2019 ;1-253.

- ▶ Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*. 1990; 346(6281): 240-244.
- ▶ Skakkebaek N.E, E-Rajpert-De Meyts et K.M.Main. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Humane reproduction*.2001;16(5): 972-978.
- ▶ Slack Jonathan. *Biologie du développement*. 1er édition. Edition de Boeck Université .2004.
- ▶ Souali-Crespo S. Rôle de NR5A1 dans le destin des cellules de Sertoli fœtales chez la souris. *Médecine humaine et pathologie Strasbourg Université*. 2021.
- ▶ Sreenivasan R, Gonen N, Sinclair A. SOX Genes and Their Role in Disorders of Sex Development. *Sex Dev*. 2022; 16(2-3): 80-91.
- ▶ Stukenborg Jan-Bernd, Rodt-Mitchell et OlleSöder. Endocrine disruptors and the male reproductive system. *Best practice & research clinical endocrinology & metabolism*.2021; 35(101567): 1-13.
- ▶ Suzumori N, Ebara T, Matsuki T, et al. Effects of long working hours and shift work during pregnancy on obstetric and perinatal outcomes: A large prospective cohort study- Japan Environment and Children's Study. *Birth*. 2020; 47(1): 67-79.
- ▶ Tachdjian G, Brisset S, Courtot AM, et al. *Embryologie et Histologie Humaines: Appareil reproducteur*. Elsevier Masson. 2016: 195-221.
- ▶ Torres M, Gomez-Pardo E, Dressler GR, et al. Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. *Development*. 1995; 121(12): 4057-4065.
- ▶ Torres-Arreola LdP, Constantino-Casas P, Villa-Barragán JP, et al. Health and working conditions of pregnant women working inside and outside the home in Mexico City. *BMC Public Health*. 2007; 7: 25.
- ▶ Vekemans M. Âge parental et risques génétiques pour la descendance. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 2002; 30(10): 831–833.
- ▶ Vialard François et Fellous Marc. La génétique de déterminisme du sexe. *Journal de la société de biologie*. 2002 ; 196(3) : 197-205.
- ▶ Wallacides A. Influence de l'acide rétinoïde et des stéroïdes sexuels sur l'entrée en méiose des cellules germinales et la prolifération des cellules germinales et la prolifération des cellules des tumeurs testiculaires d'origine germinale (thèse de doctorat-université Henri Poincaré).2011 ;1-107.

- ▶ Wang N, Zhu W, Han B, et al. Inherited Missense Mutation Occurring in Arginine76 of the SRY Gene Does Not Account for Familial 46, XY Sex Reversal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020; 105(5): 1355-1365.
- ▶ Wilhelm D, Martinson F, Bradford S, et al. Sertoli cell differentiation is induced both cell-autonomously and through prostaglandin signaling during mammalian sex determination. *Dev Biol.* 2005; 287(1): 111-124.
- ▶ Wilson JD. Sexual differentiation. *Annu Rev Physiol.* 1978; 40:279-306.
- ▶ Wisniewski AB, Batista RL, Costa EMF, et al. Management of 46,XY Differences/Disorders of Sex Development (DSD) Throughout Life. *Endocr Rev.* 2019; 40(6): 1547-1572.
- ▶ Xu D, Lu L, Xi L, et al. Efficacy and safety of percutaneous administration of dihydrotestosterone in children of different genetic backgrounds with micropenis. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2017; 30(12): 1285-1291.
- ▶ Zheng GY, Chu GM, Li PP, et al. Phenotype and genetic characteristics in 20 Chinese patients with 46,XY disorders of sex development. *J Endocrinol Invest.* 2023; 10.1007/s40618-023-02020-8.
- ▶ Zhu YS, Imperato-McGinley JL. Disorders of Sex Development in Males: Molecular Genetics, Epigenetics, Gender Identity, and Cognition. *Hormones, Brain and Behavior.* 2017; 3(4): 59-103.
- ▶ Zidoune H, Chellat D, Mcelreavey K. Etude cytogénétique et moléculaire des désordres du développement sexuel Doctoral dissertation. Université Frères Mentouri-Constantine1. 2021 : 1- 158.
- ▶ Zidoune H, Martinerie L, Tan DS, et al. Expanding DSD Phenotypes Associated with Variants in the DEAH-Box RNA Helicase DHX37. *Sex Dev.* 2021; 15(4): 244–252.
- ▶ Zidoune H. Etude cytogénétique et moléculaire des désordres du développement sexuel (thèse de doctorat- Université des frères Mentouri 1). 2021;1- 158

Annexes

Annexe 1

Gènes participants à la différenciation testiculaire (Arboleda *et al.*, 2016 ; Souali-Crespo, 2021).

	Nom du gène	Localisation	Nom de la protéine	Fonction dans le testicule	OMIM
Autres gènes SOX	<i>SOX 8</i> (<i>SRY</i> -Box Transcription Factor 8)	16p13.3	SOX 8	Bon déroulement de la spermatogenèse, maintien de l'architecture testiculaire, compensation de l'action de <i>Sox9</i> pour activer l' <i>Amh</i>	605923
	<i>SOX 10</i> (<i>SRY</i> -Box Transcription Factor 10)	22q13.1	SOX 10	Induction de l'expression de <i>Sox9</i> via <i>TESCO</i> , compensation de l'action de <i>Sox9</i> pour activer l' <i>Amh</i>	602229
	<i>SOX 3</i> (<i>SRY</i> -Box Transcription Factor 3)	Xq27.1	SOX 3	Bon déroulement de la spermatogenèse, induction de l'expression de <i>Sox9</i> via <i>TESCO</i> , compensation de l'action de <i>Sox9</i> pour activer l' <i>Amh</i>	313430
	<i>SOX 4</i> (<i>SRY</i> -Box Transcription Factor 4)	6p22.3	SOX 4	Implication dans la différenciation des cellules germinales et dans l'organisation des cordons séminifères, induction de l'expression de <i>Sox9</i> via <i>TESCO</i>	184430
	<i>DMRT1</i> (Dsx and Mab-3-related Transcription factor 1)	9p24.3	DMRT1	Maintien de l'identité masculine	602424
	<i>NR5A1</i> (Nuclear Receptor subfamily 5, group A, member 1)	9q33.3	NR5A1	Différenciation des cellules somatiques de soutien et stéroïdogènes, régulation de l'expression de <i>Sox9</i> et de l' <i>Amh</i>	184757
	<i>WT1</i> (Wilma's tumor suppressor1)	11p13	WT1	Activation de <i>Sry</i> , régulation de l'expression de <i>Nr5a1</i> , différenciation des cellules somatiques de soutien et stéroïdogènes	607102
	<i>AMH</i> (Anti-Müllerian Hormone)	19p13.3	AMH	Dégénérescence des canaux de Müller chez le mâle	600957
	<i>DHH</i> (Desert hedgehog)	12q13.1	DHH	Differentiation des cellules interstitielles	605423

Annexe 2
Questionnaire

Service

N°dossier

Date

1. Identification

Nom et prénom

Ville

Date et lieu de naissance

Motif de consultation

Sexe d'assignation

Garçon Fille Aucun

2. ATCD familiaux

2.1 ATCD mère

Date de naissance

Origine

Déroulement de la grossesse

Profession de la mère

Depuis

Jusqu'à

Milieu de vie

Rural Urbain

Niveau scolaire

Primaire Secondaire
 Moyen Universitaire

2.2 ATCD père

Date de naissance

Milieu de vie

- Rural Urbain

Origine

Niveau scolaire

- Primaire Secondaire
 Moyen Universitaire

Profession de la père

Depuis

Jusqu'à

2.3 Consanguinité

Consanguinité des parents

- Oui Non

Degré de consanguinité

Lien de parenté

Description de l'anomalie

Cas similaire(s) dans la famille

- Oui Non

Nombre

3. Description des OGE

Bourgeon génital

- Pénis Clitoris

Taille du bourgeon génital

Position de l'orifice

- Normal Pénien postérieur
 Antérieur Pénoscrotal
 Moyen Périnéal

Nombre d'orifices

Gonade palpée

- Droite Les deux
 Gauche Aucune

Les gonades

- Symétrique
 Asymétrique

Aspect

- Normal Coudé
 Micropénis Enfui

Forme des bourrelets génitaux

- Normale Hypoplasique

Aspect des bourrelets génitaux

- Striés Lisses

3. Description des OGI

Présence d'un utérus Oui Non

Présence des dérivés müllériens Oui Non

Présence de l'épididyme Oui Non

Présence d'une cavité vaginale Oui Non

Testicule(s) visualisé(s)

00 01 02

Position du testicule droit

Taille du testicule droit

Position du testicule gauche

Taille du testicule gauche

Ovaire(s) visualisé(s)

00 01 02

Taille de l'ovaire droit

Taille de l'ovaire gauche

5. Bilan hormonal

FSH Normes Date de prélèvement

LH Normes Date de prélèvement

Testostérone Normes Date de prélèvement

Testostérone après injection de HCG

AMH Normes Date de prélèvement

6. Classification des DSD

DGC

DGP

Agénésie

Ovotestis

Annexe 3

Consentement à la participation à un projet de recherche

Je soussigné, Monsieur/ Madame (patient(e) / père / mère) certifie avoir reçu la note d'informations concernant l'étude intitulé « Le gène SRY et les troubles du développement testiculaire ».

Je confirme que l'étudiante m'a bien expliqué la nature de son étude qui sera réalisé sur mon sang et m'a clairement précisé que je suis entièrement libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche.

Je certifie avoir compris l'objectif et les modalités de cette investigation et je donne mon accord pour la participation à cette étude à caractéristiques génétiques.

Enfin, j'ai compris que je ne recevrai aucune indemnité pour ma participation à cette étude.

Numéro de la pièce d'identité :

Signature de l'intéressé(e):

Date : / /

Annexe 4

Méthode d'extraction de l'ADN au NaCl

L'extraction de l'ADN est réalisée sur le sang frais, le prélèvement sanguin est recueilli stérilement dans un tube de type vacutainer a EDTA, puis le sang est mélangé avec une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges.

La lyse est réalisée à +4°C durant 10 à 20 min. ensuite, le lysat est centrifugé pendant 10 min à 3500 tours/ min. Après la centrifugation le surnageant est éliminé, après deux lavages nous obtenons un culot blanc, essentiellement riche en leucocytes.

Les étapes détaillées se sont déroulées comme ci-dessous.

1. Préparation des leucocytes

1.1 1^{ère} lavage :

- dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang total (8ml) et compléter le volume à 50 ml avec le tris EDTA (TE) 20:5 ;
- laisser 10 min au congélateur à -18°C ;
- déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.

1.2 2^{ème} lavage :

- ajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25 ml, agiter pour le remettre en suspension ;
- laisser 10 min au congélateur à -18°C ;
- déverser le surnageant délicatement et garder le culot leucocytaire formé.

Remarque : si nous nous arrêtons à ce stade, nous pouvons mettre le culot dans un tube conique de 15ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C pendant plus d'un an pour une extraction ultérieure.

2. Extraction de l'ADN

2.1 Lyse des leucocytes, digestion de complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN

Les étapes de libération d'ADN, la dissolution des membranes leucocytaire, et la digestion des protéines associées à l'ADN se sont déroulées comme suit:

- transverser le culot leucocytaire dans un tube Falcon 15 ml ;
- ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2 mM, tris 10mM, pH 8.2) ;
- ajouter 200 µl de SDS (sodium Dodecyl sulfate) à 10 % (28,84 g SDS +1000ml H₂O).
- Pour la lyse des leucocytes, l'inhibition des nucléases et la dénaturation des protéines :
- ajouter 100 µl de protéinase-k à 10 mg/ml pour digérer les protéines notamment les nucléoprotéines pour libérer l'ADN nucléaire ;
- dans l'étuve, agiter le tube sur une roue rotative à 37°C (la température idéale au l'activité de protéinase k est optimale) pendant 18h ;
- le lendemain, mettre les tube dans le congélateur à 18°C afin de refroidir leurs contenus pendant 10 min.

Remarque : le traitement par la protéinase-k peut se faire pendant 1-2h à 65°C ou 2-3h à 56°C.

2.2 Extraction et purification de l'ADN : méthode utilisant le NaCl

Dans le but d'éliminer les protéines par précipitation sélective, le lysat cellulaire doit être traité par une solution saline comme suit :

- ajouter 1000µl de NaCl 4M.
- agiter vigoureusement à la main .
- laisser pendant 5 min ou congélateur à -8°C (pour la précipitation des protéines);
- centrifuger pendant 15 min à 2500 tours/min.
- la précipitation est réalisée par l'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi à -80°C et a haute concentration (2 fois le volume du surnageant).
- après une agitation en tournant le tube plusieurs fois une méduse (filament) visible à l'œil nu se forme.
- récupérer la pelote d'ADN par une pipette Pasteur.

- rincer la pelote d'ADN 2 fois par l'éthanol à 70% pour éliminer les sels dans un tube eppendorf sterile.
- aspirer l'éthanol par une pipette, après avoir collé l'ADN à la paroi du tube eppendorf pour ne pas le perdre.
- laisser les tubes ouverts pour l'évaporation de l'éthanol.
- réhydrater l'ADN en ajoutant entre 300 et 1000 µl de TE 10:1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- mettre l'ADN à 37°C, sur agitateur rotateur, durant 5-8 jours jusqu'à sa solubilisation puis le conserver à -20°C.

Résumés

Résumé

Les anomalies du développement testiculaire, un sous-groupe des DSD, sont dues à la perturbation d'une ou de plusieurs étapes clés du déterminisme/différenciation testiculaire, ce qui entraîne un développement anormal des testicules chez le fœtus. La cause génétique de ces troubles est liée à des altérations des gènes responsables du développement de la gonade bipotentielle et/ou du testicule. Cependant il a été décrit dans la littérature que le gène *SRY* est à l'origine de 10-15% des anomalies du développement gonadique chez les individus 46,XY.

L'objectif de notre étude, de type descriptive et analytique, menée sur des patients présentant des troubles du développement testiculaire (46,XY), est d'identifier les facteurs de risque impliqués dans l'apparition de ces anomalies d'une part, et d'autre part à rechercher une éventuelle association entre le gène *SRY* et les troubles du développement testiculaire.

Patients et méthode : au total 9 patients ont été recrutés au niveau des différents services de pédiatrie et d'endocrinologie des centres hospitaliers de l'Est algérien pour mener une étude descriptive et analytique de certains facteurs de risque. L'étude moléculaire a concerné 7 patients dont leurs ADNs ont été extraits par la méthode au NaCl afin de déterminer la présence ou l'absence d'une séquence du gène *SRY* par PCR conventionnelle.

Résultats et discussion : l'âge moyen du diagnostic dans notre échantillon est de 2,03 ans, la découverte d'OGÉ atypique est le motif de consultation le plus répandu dans notre série. Le sexe d'assignation masculin est le plus fréquent. L'histoire de la consanguinité est notée chez seulement 33% des patients. Par ailleurs, l'âge avancé des parents et leur exposition professionnelle sont considérés comme étant des facteurs de risque liés à l'apparition de ces anomalies, en revanche les milieux de vie, urbain et rural, sont insignifiants dans cette étude. La forme sporadique de ces anomalies est fréquente. Sur le plan clinique, la DGP est le type le plus courant chez ces patients. L'utérus et les dérivés müllériens sont absents chez 56% des patients. L'analyse moléculaire indique que le gène *SRY* est présent chez 6 patients, cela fait appel à d'autres études pour décrire les causes des différents phénotypes. Cependant, l'absence du gène *SRY* chez un patient peut expliquer son phénotype (DGP).

Conclusion : cette investigation a révélé certains facteurs de risque liés aux anomalies du développement testiculaire. En revanche, l'étude moléculaire, nous a permis de déterminer une association probable entre l'absence du gène *SRY* et l'apparition de ces anomalies chez seulement un patient. D'autres technologies sont nécessaires pour détecter les causes génétiques chez les autres patients.

Mot clés : troubles du développement testiculaire, facteurs de risque, gène *SRY*, PCR conventionnelle.

Abstract

Testicular developmental anomalies, a subgroup of disorders of sex development (DSD), are caused by disruptions in one or more key steps of testicular determination/differentiation, resulting in abnormal testicular development in the fetus. The genetic cause of these disorders is associated with alterations in genes responsible for the development of the bipotential gonad and/or the testicle. However, it has been described in the literature that the *SRY* gene accounts for 10-15% of gonadal developmental anomalies in individuals with 46,XY chromosomes.

The objective of our descriptive and analytical study, conducted on patients with testicular development disorders (46,XY), is to identify the risk factors involved in the occurrence of these anomalies on one hand, and on the other hand to investigate a possible association between the *SRY* gene and testicular development disorders.

Patients and methods: a total of 9 patients were recruited from various pediatric and endocrinology departments of hospitals in Eastern Algeria to conduct a descriptive and analytical study of certain risk factors. Molecular analysis was performed on 7 patients, and their DNA was extracted using the NaCl method to determine the presence or absence of a sequence of the *SRY* gene using conventional PCR.

Results and discussion: the average age of diagnosis in our sample is 2,03 years, with the discovery of atypical external genitalia being the most common reason for consultation in our series. Male assigned gender is the most frequent. Consanguinity history is noted in only 33% of patients. Additionally, advanced parental age and occupational exposure are considered risk factors associated with the occurrence of these anomalies, whereas urban and rural environments are insignificant in this study. The sporadic form of these anomalies is common. Clinically, DGP is the most common type among these patients. The uterus and mülleriens derivatives are absent in 56% of patients. Molecular analysis indicates that the *SRY* gene is present in 6 patients, which calls for further studies to describe the cause of different phenotypes. However, the absence of the *SRY* gene in a patient can explain their phenotype (DGP).

Conclusion: this investigation has revealed certain risk factors associated with testicular developmental anomalies. However, the molecular study has allowed us to determine a likely association between the absence of the *SRY* gene and the occurrence of these anomalies in only one patient. Other technologies are needed to detect the genetic causes in the remaining patients.

Keywords: testicular developmental disorders, risk factors, *SRY* gene, conventional PCR.

المخلص

التشوهات في تطور الخصيتين هي مجموعة فرعية من اضطرابات النمو الجنسي. تنجم عن اضطراب في خطوة او عدة خطوات "التحديد/ التمايز" الرئيسية للخصية مما يؤدي الى التطور الغير طبيعي للخصيتين عند الجنين. ويرتبط السبب الوراثي لهذه الاضطرابات بتغيرات في الجينات المسؤولة عن تطور الغدة المزوجة و/او الخصية. ومع ذلك تم الوصف في الادب العلمي ان الجين *SRY* هو السبب في التشوهات الجنسية عند الافراد ذوي الصيغة الصبغية XY, 46.

هدف دراستنا التي هي من نوع وصفي تحليلي و التي اجريت على المرضى الذين يعانون من اضطرابات نمو الخصية XY, 46 هو تحديد عوامل الخطر التي ينطوي عليها ظهور هذه الحالات الشاذة من ناحية ومن ناحية اخرى البحث عن احتمال ممكن للإرتباط بين الجين *SRY* و اضطرابات نمو الخصية.

المرضى و الطريقة: تم تجنيد مجموعة 9 مرضى من مختلف اقسام طب الاطفال و الغدد الصماء في مستشفيات شرق الجزائر لإجراء دراسة وصفية و تحليلية لبعض عوامل الخطر. تناولت الدراسة الجزيئية 7 مرضى تم استخراج حمضهم النووي باستعمال طريقة كلوريد الصوديوم من أجل تحديد وجود او عدم وجود تسلسل جيني *SRY* بواسطة PCR التقليدي.

النتائج والمناقشة: متوسط عمر التشخيص في عينتنا هو 2,03 سنة، واكتشاف الاعضاء التناسلية غير نمطية هو السبب الاكثر شيوعا للاستشارة في سلسلتنا. تربة الاطفال على انهم ذكور هو الاكثر شيوعا . لوحظ زواج الاقارب لدى 33% فقط من المرضى . بالإضافة الى ذلك يعتبر العمر المتقدم للوالدين وتعرضهم المهني من عوامل الخطر المرتبطة بظهور هذه الحالات الشاذة ومن ناحية اخرى فان البيئات المعيشية الحضرية والريفية ليست ذات اهمية في هذه الدراسة. يكون النمط العفوي لهذه التشوهات هو الاكثر شيوعا. من الناحية السريرية DGP هو النوع الاكثر شيوعا من بين هؤلاء المرضى. الرحم و الاجزاء المشتقة من مجرى مولر غائبة عند من المرضى. يشير التحليل الجيني الى وجد الجين *SRY* عند 6 مرضى . مما يستدعي الى اجراء دراسات اخرى لوصف اسباب الظواهر المختلفة ومع ذلك يمكن ان يفسر غياب جين *SRY* في مريض واحد نمطه الظاهري (DGP).

الخاتمة : اظهرت هذه الدراسة بعض عوامل الخطر المرتبطة بتشوهات تطور الخصية. و مع ذاك سمح لنا التحليل الجيني بتحديد ارتباط محتمل بين غياب الجين *SRY* لدى مريض واحد فقط وظهور هذه التشوهات. هنالك حاجة الى تقنيات اخرى لكشف الاسباب الوراثية لدى المرضى الاخرين.

الكلمات المفتاحية : تشوهات تطور الخصية، عوامل الخطر، الجين *SRY* ، PCR التقليدي.

Année universitaire : 2022/2023	Présenté par : AZZAOUY Yousra BENENEMISSI Cheima										
Intitulé Facteurs de risque et gène <i>SRY</i> dans les anomalies du développement gonadique (46,XY)											
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique											
<p>RESUME</p> <p>Les anomalies du développement testiculaire, un sous-groupe des DSD, sont dues à la perturbation d'une ou de plusieurs étapes clés de la détermination/différenciation testiculaire, ce qui entraîne un développement anormal des testicules chez le fœtus. La cause génétique de ces troubles est liée à des altérations des gènes responsables du développement de la gonade bipotentielle et/ou du testicule. Cependant il a été décrit dans la littérature que le gène <i>SRY</i> est à l'origine de 10-15% des anomalies du développement gonadique chez les individus 46,XY.</p> <p>L'objectif de notre étude, de type descriptive et analytique, menée sur des patients présentant des troubles du développement testiculaire (46,XY), est d'identifier les facteurs de risque impliqués dans l'apparition de ces anomalies d'une part, et d'autre part à rechercher une éventuelle association entre le gène <i>SRY</i> et les troubles du développement testiculaire.</p> <p>Patients et méthode : au total 9 patients ont été recrutés au niveau des différents services de pédiatrie et d'endocrinologie des centres hospitaliers de l'Est algérien pour mener une étude descriptive et analytique de certains facteurs de risque. L'étude moléculaire a concerné 7 patients dont leurs ADN ont été extraits par la méthode au NaCl afin de déterminer la présence ou l'absence d'une séquence du gène <i>SRY</i> par PCR conventionnelle.</p> <p>Résultats et discussion : l'âge moyen du diagnostic dans notre échantillon est de 2,03 ans, la découverte d'OGE atypique est le motif de consultation le plus répandu dans notre série. Le sexe d'assignation masculin est le plus fréquent. L'histoire de la consanguinité est notée chez seulement 33% des patients. Par ailleurs, l'âge avancé des parents et leur exposition professionnelle sont considérés comme étant des facteurs de risque liés à l'apparition de ces anomalies, en revanche les milieux de vie, urbain et rural, sont insignifiants dans cette étude. La forme sporadique de ces anomalies est fréquente. Sur le plan clinique, la DGP est le type le plus courant chez ces patients. L'utérus et les dérivés müllériens sont absents chez 56% des patients. L'analyse moléculaire indique que le gène <i>SRY</i> est présent chez 6 patients, cela fait appel à d'autres études pour décrire les causes des différents phénotypes. Cependant, l'absence du gène <i>SRY</i> chez un patient peut expliquer son phénotype (DGP).</p> <p>Conclusion : cette investigation a révélé certains facteurs de risque liés aux anomalies du développement testiculaire. En revanche, l'étude moléculaire, nous a permis de déterminer une association probable entre l'absence du gène <i>SRY</i> et l'apparition de ces anomalies chez seulement un patient. D'autres technologies sont nécessaires pour détecter les causes génétiques chez les autres patients.</p>											
Mot clés : troubles du développement testiculaire, facteurs de risque, gène <i>SRY</i> , PCR conventionnelle.											
<p>Laboratoires de recherche</p> <p>Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire - Services de Biochimie et d'Hormonologie du CHU IBN BADIS, Constantine 3.</p> <p>Laboratoire de Biologie Moléculaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1.</p> <p>Laboratoire de Biologie moléculaire et cellulaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1</p>											
<p>Jury d'évaluation</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">Président du jury:</td> <td style="width: 30%;">CHAOUY Naouel</td> <td style="width: 40%;">(Pr- UFM Constantine).</td> </tr> <tr> <td>Rapporteur:</td> <td>ZIDOUNE Housna</td> <td>(MCB- UFM Constantine)</td> </tr> <tr> <td>Examineur:</td> <td>CHELLAT Djalila</td> <td>(Pr- UFM Constantine).</td> </tr> </table>			Président du jury:	CHAOUY Naouel	(Pr- UFM Constantine).	Rapporteur:	ZIDOUNE Housna	(MCB- UFM Constantine)	Examineur:	CHELLAT Djalila	(Pr- UFM Constantine).
Président du jury:	CHAOUY Naouel	(Pr- UFM Constantine).									
Rapporteur:	ZIDOUNE Housna	(MCB- UFM Constantine)									
Examineur:	CHELLAT Djalila	(Pr- UFM Constantine).									