



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



Année 2015

Thèse N° 145/15

APPORT DE LA CYTOGÉNÉTIQUE ET DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
DANS LES TROUBLES DE LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE
(A propos de 62 cas)

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 14/07/2015

PAR

M. FARAJ JAOUAD

Né le 16 Octobre 1987 à Taounate

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS - CLES :

Cytogénétique - Biologie moléculaire - Trouble de la différenciation sexuelle

JURY

M. HIDA MOUSTAPHA.....	PRESIDENT
Professeur de Pédiatrie	
M. OULDIM KARIM.....	RAPPORTEUR
Professeur agrégé de Génétique	
Mme. LAKHDAR IDRISI MOUNIA.....	JUGES
Professeur agrégé de Pédiatrie	
Mme. ABOURAZZAK SANA.....	
Professeur agrégé de Pédiatrie	
M. EL AMMARI JALAL EDDINE.....	
Professeur agrégé de Urologie	

Table des matières

Table des matières	1
Liste des tableaux	7
Liste des figures	8
Liste des graphiques.....	10
Liste des annexes	11
Liste des abréviations	12
INTRODUCTION	16
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	20
I. Généralité	21
1. Historique	21
2. Caractères sexuels.....	23
a) Caractères sexuels primaires	24
b) Caractère sexuels secondaire	29
3. Rappel génétique.....	31
4. Rappel embryologique	33
a) Formations des gonades	33
b) Evolution des gonoductes :	34
c) Les organes génitaux externes :.....	34
II. Différenciation sexuelle.....	37
1- Définition	37
2- Processus physiologique.....	38
a) Sexe génétique	38
b) Le stade indifférencié.....	38
c) Sexe gonadique	41
d) Sexe phénotypique	43
3- Facteurs gonosomiques	46
4- Facteurs génétiques.....	48
a) Stade indifférencié.....	48
b) Différenciation des testicules	50

c)	La différenciation des ovaires.....	56
d)	Interaction entre les différents gènes	58
5-	Facteurs hormonaux.....	59
III.	Troubles de différenciation sexuelle, mécanisme et aspect	61
1.	Nomenclature et classification	61
2.	Troubles de différenciation chromosomique	63
a)	47,XXY - syndrome de Klinefelter	64
b)	45,X - syndrome de Turner.....	65
c)	45,X/46,XY - dysgénésie gonadique mixte (MGD)	67
d)	46,XX/46,XY - Chimérisme	67
3.	Troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD	68
a)	Troubles du développement gonadique (testiculaire).....	68
b)	Troubles de synthèse ou d'action des androgènes.....	70
c)	Anomalies de l'AMH et de son récepteur	74
d)	Anomalies du récepteur de LH	75
4.	Troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD	75
a)	Troubles du développement gonadique (ovarien)	75
b)	Troubles de synthèse des androgènes.....	77
5.	Diagnostic des troubles de différenciation sexuelles	80
A.	Diagnostic positif.....	80
a.	Circonstances de découverte.	80
b.	Examen clinique.....	80
c.	Bilan biologique.	88
d.	Exploration morphologique.....	91
e.	Autres éléments du bilan.....	95
f.	Exploration cytogénétique.	96
B.	Diagnostic étiologique.	96
C.	Diagnostic anténatal	97
6.	Prise en charge.....	102
A-	CHOIX DU SEXE ET LEGISLATION :	102
A-1-	Choix du sexe :	102
A-2-	Législation	103
B-	TRAITEMENT	103

B-1- Traitement hormonal	104
B-2- Conduite vis à vis des gonades	105
B-3- La chirurgie de féminisation.....	106
B-4- La chirurgie de masculinisation :.....	109
B-5- L'âge de l'intervention	110
B-6- Prise en charge psychologique :	111
7. Conseil génétique.....	112
8. Gestion de l'information :	113
9. Les groupes de soutien :	116
MATERIELS ET METHODES	117
I. But de l'étude :	118
II. Matériels :	118
III. Tableaux des observations :	119
A- Patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique	119
1- Identité, motif d'hospitalisation	119
2- Renseignement cliniques, Exploration radiologique	120
3- Bilans biologiques et Diagnostic	122
B- Troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD	124
1- Identité, motif d'hospitalisation	124
2- Renseignement cliniques, Exploration radiologique	124
3- Bilans biologiques et Diagnostic	125
C- Troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD :	125
1- Identité, motif d'hospitalisation	125
2- Renseignement cliniques, Exploration radiologique	126
3- Bilans biologiques et Diagnostic	127
IV. Méthodes	128
A. Prélèvement sanguin et Conservation.....	178
B. Caryotype par marquage aux bandes R	128
1. Principe	128
2. Réactifs nécessaires.....	129
3. Protocole.....	129
a) Mise en culture des cellules sanguines	129
b) Blocage des cellules en métaphase.....	129

c) Choc hypotonique	129
d) Fixation	129
e) Etalement	131
f) Dénaturation et coloration	131
C. Hybridation in situ fluorescente (FISH) via la sonde LSI SRY/CEPX	132
1. Principe	132
2. Réactifs nécessaires.....	132
3. Protocole expérimental.....	132
a) Prétraitement.....	133
b) Traitement à la pepsine	133
c) Hybridation des échantillons.....	134
d) Lavage Post-Hybridation.....	135
e) Contre-Coloration des noyaux au DAPI	135
D. Extraction d'ADN par sel sur suspension cellulaire	135
1. Principe	135
2. Réactifs nécessaires.....	135
3. Protocole expérimental.....	136
a) Lyse des globules rouges.....	136
b) Lyse des globules blancs.....	136
c) Dénaturation et précipitation des protéines et impuretés.....	136
d) Précipitation et lavage de l'ADN.....	136
E. Extraction d'ADN par Kit sur suspension cellulaire	137
1. Principe	137
2. Réactifs nécessaires.....	137
3. Protocole expérimental.....	138
a) Extraction de l'ADN.....	138
b) Purification de l'ADN	139
c) Lavage de l'ADN.....	140
d) Elution de l'ADN.....	140
F. Amplification du gène SRY par réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	140
1. Principe	141
2. Réactifs nécessaires et programme PCR	141
3. Protocole.....	141

G. Visualisation du produit PCR par électrophorèse sur gel d'agarose	142
1. Principe	142
2. Réactifs nécessaires.....	142
3. Protocole expérimental	142
RESULTATS	144
1. Introduction :.....	145
2. Répartition générale des patients :	146
a- répartition en fonction de l'âge de diagnostic :	146
b- La répartition en fonction du sexe :	147
c- La répartition en fonction de l'état matrimonial :	148
d- La répartition en fonction du statut d'assurance :	149
e- Répartition des patients de l'étude en fonction des antécédents :	150
f- Répartition en fonction du motif de consultation :	151
3. Groupe 1 : les troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.....	152
a- répartition en fonction de l'âge de diagnostic	152
b- La répartition en fonction du sexe :	153
c- Répartition en fonction de la consanguinité.	153
d- Répartition en fonction du motif de consultation :	154
e- Répartition en fonction du signe d'appel dans le sexe féminin :	155
f- Répartition en fonction du signe d'appel dans le sexe masculin : ...	155
g- Répartition en fonction du diagnostic retenu :	156
h- Répartition en fonction du caryotype :	157
i- Répartition selon l'hybridation in situ fluorescente (FISH)	158
j- Répartition en fonction du MULTIPLEX-PCR SRY :	159
4. Groupe 2 : les troubles de différenciation sexuelle 46,XY.....	159
a. Répartition en fonction de l'âge de diagnostic :	159
b. La répartition en fonction du sexe :	161
c. Répartition en fonction de la consanguinité.	161
d. Répartition en fonction du motif de consultation :	162
e. Répartition en fonction du caryotype :	162
f. Répartition en fonction du MULTIPLEX-PCR SRY :	163
g. Répartition en fonction du diagnostic retenu :	163
5. Groupe 3 : les troubles de différenciation sexuelle 46,XX.....	164

a.	répartition en fonction de l'âge de diagnostic :	164
b.	La répartition en fonction du sexe :.....	165
c.	Répartition en fonction de la consanguinité.	165
d.	Répartition en fonction du motif de consultation :.....	166
e.	Répartition en fonction du caryotype :.....	166
f.	Répartition selon l'hybridation in situ fluorescente (FISH)	166
g.	Répartition en fonction du MULTIPLEX-PCR SRY :	167
h.	Répartition en fonction du diagnostic retenu :.....	168
DISCUSSION.....		169
1.	Introduction :.....	170
2.	Etude comparative :	171
a-	Etude comparative en fonction du sexe civil :.....	171
b-	Etude comparative en fonction de l'âge :.....	171
c-	Etude comparative en fonction de la consanguinité :	172
d-	Etude comparative en fonction du signe d'appel :	172
e-	Etude comparative en fonction du type pathologique :	172
3.	Etude analytique :	173
a-	Groupe 1 : troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique :	173
b-	Groupe 2 : troubles de différenciation sexuelle 46,XY:	179
c-	Groupe 3 : troubles de différenciation sexuelle 46,XX :.....	181
CONCLUSION.....		184
RESUME		187
SUMMARY.....		189
مطابق		191
ANNEXES		192
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		210

Liste des tableaux

Tableau 1 : Relation génotype phénotype.....	48
Tableau 2 : Nomenclature traditionnelle et nouvelle des troubles de différenciation sexuelle	62
Tableau 3 : Classification des troubles de différenciation sexuelle selon Hughes	63
Tableau 4 : Tableau récapitulatif des différents aspects cliniques et paracliniques des TDS.....	102
Tableau 5 : Les cas nécessitant une gonadectomie.....	106
Tableau 6 : Identité, motif d'hospitalisation des patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.....	119
Tableau 7: Renseignement cliniques, Exploration radiologique des patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.....	121
Tableau 8 : Bilans biologiques et Diagnostic patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.....	123
Tableau 9: Identité, motif d'hospitalisation des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD.....	124
Tableau10 : Renseignement cliniques, Exploration radiologique des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD.....	124
Tableau 11: Bilans biologiques et Diagnostic patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD.....	125
Tableau 12 : Identité, motif d'hospitalisation des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD.....	125
Tableau 13: Renseignement cliniques, Exploration radiologique des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD.....	126
Tableau 14 : Bilans biologiques et Diagnostic patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD.....	127
Tableau 15 : Volumes de billes magnétiques et du tampon de lysis correspondant au volume du sang	138
Tableau 16 : Volumes de protéase et du tampon de protéase correspondant au volume du sang	139
Tableau 17 : MULTIPLEX-PCR SRY/DXS1684	141
Tableau 18 : Tableau comparatif des 3 groupes de l'étude.....	171
Tableau 19: Tableau comparatif entre le groupe 1 et les autres séries concernant les différentes formes de Turner.....	175
Tableau 20: Tableau comparatif entre le groupe 1 et les autres séries concernant les différentes formes du syndrome de klinefelter.....	176

Liste des figures

Figure 1 : Hermaphrodites	21
Figure 2 : Tractus génital masculin	26
Figure 3 : Tractus génital féminin	29
Figure 4 : Cycle menstruel.....	26
Figure 5 : Caractères sexuels secondaires	31
Figure 6 : Le système XY	32
Figure 7 : Spermatogenèse	33
Figure 8 : Ovogenèse	33
Figure 9 : formation des gonades à partir de la 5ème semaine.....	35
Figure 10 : développement des gonoductes et de la membrane cloacale au cours du développement très précoce du pôle caudal.....	36
Figure 11 : différenciation sexuelle entre 10-14 semaines d'aménorrhée.....	36
Figure 12 : Résultat de fécondation d'un ovule X par un spermatozoïde X ou Y.....	38
Figure 13 : A. Schéma d'un embryon de trois semaines montrant la migration extraembryonnaire des gonocytes ; B. dessin représentant la migration des gonocytes le long de la paroi de l'intestin postérieur vers la crête génitale.....	39
Figure 14 : Coupe transversale schématisée de la région lombaire d'un embryon de six semaines, montrant la gonade indifférenciée et les organes sexuels primitifs.....	40
Figure 15 : Schémas de l'appareil génital au stade indifférencié montrant les gonades indifférenciées, les canaux de Wolff et les canaux de Muller.....	41
Figure 16 : A. Coupe transversale de testicule à la 8ème semaine du développement, B. Représentation schématisée du testicule et des canaux génitaux au cours du 4ème mois.....	42
Figure 17 : A. Coupe transversale d'ovaire à la 7ème semaine du développement, B. Schéma de l'ovaire et des canaux génitaux au 5ème mois du développement montrant l'ovogenèse entourée de cellules folliculaires	43
Figure 18 : A. Diagramme des voies génitales masculines au 4ème mois du développement, B. Voies génitales après la migration du testicule, le schéma à droite montre l'appareil génital masculin évolué.....	44
Figure 19 : A. Schéma des voies génitales féminines à la fin du deuxième mois du développement avec le canal de Wolff encore présent, B. Les voies génitales après la descente de l'ovaire, le schéma à droite représente les organes génitaux féminins évolués	45
Figure 20 : Chromosome X avec les différents gènes	47
Figure 21 : Structure du chromosome Y	49
Figure 22 : Organisation du gène et de la protéine de <i>WT1</i>	49

Figure 23 : Boîte <i>HMG</i> du gène <i>SRY</i>	51
Figure 24 : Model du facteur <i>Z</i>	53
Figure 25 : Représentation schématique de <i>SF1</i> (à droite les doigts de zinc de <i>SF1</i>)	53
Figure 26 : Représentation schématique de <i>SOX9</i> d'après Ralf Kist. <i>Sox9 Mus musculus SRY-box containing gene 9.A worldwide collaboration of transcription factor experts</i>	55
Figure 27 : Structure de <i>WNT4</i>	57
Figure 28 : Les différents gènes impliqués dans le processus de différenciation sexuelle	58
Figure 29 : Chronologie simplifiée de l'interaction entre les gènes impliqués dans la différenciation sexuelle	59
Figure 30 : Schéma représentant la régulation de l'AMH	60
Figure 31 : Cascade moléculaire de biosynthèse des androgènes.....	71
Figure 32 : Mécanisme de l'action des androgènes.....	73
Figure 33 : Schéma représentant les différents aspects possibles de l'axe génital externe pouvant aller d'un axe féminin complet à un axe masculin complet.	82
Figure 34 : Différents aspects de bourgeons génitaux.....	82
Figure 35 : Croissance du pénis, selon SCHONFELD W.A.....	83
Figure 36 : Différents aspects de bourrelets génitaux	84
Figure 37 : Le sinus uro-génital sépare les bourrelets et se termine en arrière par un orifice unique.....	85
Figure 38 : Classification de Prader.....	86
Figure 39 : Echographie en période néonatale montrant (1.vessie, 2.utérus, 3.ligne de vacuité)	92
Figure 40 : Aspect de l'axe génital interne lors de la génitographie.....	94
Figure 41 : Anatomie des sinus uro-génitaux comparée à l'anatomie féminine normale et à l'anatomie de l'hypospade féminin	108
Figure 42 : Traitement à la pepsine et lavages	133
Figure 43 : Dépôt de la sonde.....	134
Figure 44 : Création de la chambre d'hybridation.....	134
Figure 45 : Séparateur magnétique.....	138
Figure 46 : Résultat de FISH du P18 montrant un spot vert et un spot orange	178
Figure 47 : Résultat de FISH du P18 montrant un seul spot vert	178

Liste des graphiques

Graphique n°1 : Répartition des patients de l'étude en fonction de l'âge de diagnostic	146
Graphique n°2 : Répartition des patients de l'étude en fonction du sexe	147
Graphique n°3 : Répartition géographique des patients de l'étude.	148
Graphique n°4 : Répartition des patients de l'étude en fonction de l'état matrimonial.	149
Graphique n°5 : Répartition des patients de l'étude en fonction du statut d'assurance	149
Graphique n°6 : Répartition des patients de l'étude en fonction de la consanguinité.....	150
Graphique n°7 : Répartition des patients de l'étude en fonction du motif de consultation	151
Graphique n°8 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction de l'âge de diagnostic.....	152
Graphique n°9 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du sexe.....	153
Graphique n°10 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction de la consanguinité.....	154
Graphique n°11 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du motif de consultation.....	154
Graphique n°12 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du signe d'appel dans le sexe féminin.....	155
Graphique n°13 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du signe d'appel dans le sexe masculin.....	156
Graphique n°14 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du diagnostic retenu.....	156
Graphique n°15 : Répartition des patients du groupe 1 selon le caryotype.....	157
Graphique n°16 : Répartition des patients turnériens du groupe 1 en fonction du caryotype.....	158
Graphique n°17 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction de la FISH.....	158
Graphique n°18 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du MULTIPLEX- PCR SRY.....	159
Graphique n°19 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction de l'âge de diagnostic.....	160
Graphique n°20 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction du sexe	161
Graphique n°21 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction de la consanguinité.....	161
Graphique n°22 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction du motif de consultation.....	162
Graphique n°23 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction du MULTIPLEX-PCR SRY.....	163
Graphique n°24 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction diagnostic retenu.....	163
Graphique n°25 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction de l'âge de diagnostic.....	164
Graphique n°26 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du sexe.....	165
Graphique n°27 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction de la consanguinité.....	165
Graphique n°28 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du motif de consultation.....	166
Graphique n°29 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du MULTIPLEX –PCR SRY.....	167
Graphique n°30 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du diagnostic retenu.....	168

Liste des annexes

ANNEXE I : Fiche d'Exploitation.....	193
ANNEXE II : Classification selon Ian A. Aaronson et coll.	196
ANNEXE III : Constitution des réactifs.....	197
ANNEXE IV : Prise en charge multidisciplinaire.....	200
Annexe V : Exemple des résultats de la Cytogénétique et biologie moléculaire des patients de notre étude.	201

Liste des abréviations

μl	Microlitre
11β OH	11 B Hydroxylase
17OHprogéstérone	17 Hydroxy Progestérone
17 β HSD	17 B Hydroxystéroïde Déshydrogénase
17-OHP	17 Hydroxy Progestérone
17β-HSD	17β-Hydroxystéroïde Deshydrogénase
A	Adénine
ACTH	Adrenocorticotrophic Hormone
ADN	Acide Désoxyrubonucléotide
ADS	Anomalie de différenciation sexuelle
AMH	Anti-Mullarian Hormon
AR	Androgen Receptor
ARN	Acide Ribonucléotide
AS	Ambiguïté sexuelle
ATRX	Alpha Thalassemia Mental Retardation Syndrome X-Linked
AZF	Azoospermia Factor
BET	Bromure D'ethidium
BMP15	Bonemorphogenicprotein15
C	Cytosine
CBX2	Chromoboxhomolog2
CIAS	Complete Androgen Insensitivity Syndrome
CYP21B	Gène De 21 Hydroxylase
DAX1	DSS-AHC Critical Region On Human X Chromosome Gene 1
ddNTP	Didésoxyribonucléotides Triphosphate
Delta 4	Delta 4 androstenedione
DGM	Dysgénésie gonadique mixte
DGP	Dysgénésie gonadique pure
DHA	Déhydroépiandrostérone
DHH	Desert hedgehog
DHT	Dihydrotestostérone
DMRT1	Doublesexandmab3-Relatedtranscriptionfactor1
dNTP	Désoxyrubonucléotide Triphosphate
DOC	Désoxycorticostérone
DPM	Development psychomoteur
DSD	Disorders Of Sex Development

DSS	Dosage Sensitive Sex Reversal
EDTA	Ethylène Diamine Tétra-Acétique Acide
<i>EMX 2</i>	Empty Spiracle Homolog 2
ESPE	European Society For Pediatric Endocrinology
F	Forward
F	Femelle
FGF9	Fibroblast Growth Factor 9
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization
FOX L2	Forkhead Transcription Factor
FSH	Follicule Stimulating Hormone
FSHR	Follicule-Stimulating Hormone Receptor
G	Guanosine
<i>GATA 4</i>	<i>GATA</i> -Binding Protein 4
GBY	Région Critique De Y De Développement De Gonadoblastome
GDF9	Growth Differentiation Factor9
H	Heure
hCG	Human Chorionic Gonadotropin
HCS	Hyperplasie Congénitale Des Surrénales
HLA	Human Leucocyte Antigen
<i>HMG</i>	High Mobility Group
HTA	Hypertension artérielle
HV	Hermaphrodisme vrai
0InsL3	Insuline-Like Hormone 3
IPA	Isopropyl De l'Alcool
JPC	Jour Post-Conception
Kb	Kilo Base
KCl	Chlorure De Potassium
Kd	Kilo Dalton
<i>KTS</i>	Lysine Thréonine Sérine
L	Litre
LH	Luteinizing Hormone
LHX9	Lim Homeobox Protein 9
LWPES	Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society
M	Mâle
MAMLD1	Master Mind-Like Domain-Containing Protein1
MGD	Mixed Gonadal Dysgenesis
MI	Millilitre
Mn	Minute
NaCl	Chlorure De Sodium
Ng	Nanogramme
NOBOX	Newborn Ovary Homeobox
NR5A1	Gène De <i>SF1</i>

OG	Organes Génitaux
OGE	Organes Génitaux Externes
OGI	Organes génitaux Internes
PAR 1	Pseudo-Autosomal Region 1
PAR2	Pseudo-Autosomal Region 2
PAX 2	Paired Homeobox 2
Pb	Paire De Base
PCG	Primordial Germ Cells
PCR	Polymerisation Chaîne Reaction
PGD2S	Prostaglandin D2 Synthase
pH	Potentiel Hydrogène
PHA	Phytohémagglutinine
PHF	Pseudo hermaphrodisme féminin
PHM	Pseudo hermaphrodisme masculin
PIAS	Partial Androgen Insensitivity Syndrome
PMDS	Persistent Müllerian Duct Syndrome
POF	Premature Ovarian Failure
POR	P450 Oxydoréductase
Pr. PCR	Produit PCR
R	Revers
RPM	Retard Psychomoteur
RS	Retard Statural
RSP	Retard Staturopondéral
RSPO1	Root-Plate Specific Spondin1
SA	Semaine d'aménorrhée
SCC	Side Chain Clivage
Sd	Syndrome
SDHA	Sulfate De Déhydroépiandrosterone
SF1	Steroidogenic Factor 1
SHOX	Short Stature Homeobox
SLB	Solution De Lyse Des Globules Blancs
SOX 9	SRY-Related Box9
SRY	Sex Determining Region Of The Y Chromosome
ST	Syndrome De Turner
STAR	Steroidogenic Acute Regulatory Protein
T	Thymine
T	Témoin
TAE	Tris-Acétate-EDTA
TDF	Testis Determining Factor
TE	Tris-EDTA
Th	Température D'hybridation
Tm	Température De Fusion

Tr	Tour
TSPYL1	Testis-Specific Proteiny-Like- 1
UG	Urogenital
UV	Ultraviolet
V	Volume
<i>WNT4</i>	Wingless type MMTV Integration Site Family, Member4
<i>WT1</i>	Wilms Tumor 1
$\Delta 4$	Delta 4-Androstènedione
$\Delta 5$	Delta 5-Androstènedione

INTRODUCTION

La détermination du sexe du bébé, une étape clé à la naissance, est un enjeu crucial qui accompagne l'identité d'un nouveau-né jusqu'à l'âge adulte en conditionnant sa fonction sociale, familiale, et ses possibilités de reproduction. Elle constitue en quelque sorte le point de rencontre entre l'enfant imaginaire et l'enfant réel pour les parents, cet enfant qui sera déclaré en tant que fille ou garçon et pour qui, l'état civil va attribuer un genre fondé sur une identité Sexuelle déterminée par la différence anatomique des sexes.

Le déterminisme du sexe a lieu dès la fécondation lors de la mise en commun du patrimoine génétique des gamètes mâle ou femelle, constituant le Sexe génétique de l'embryon. Le sexe phénotypique est alors le résultat d'une cascade d'événements contrôlés par des facteurs génétiques et hormonaux lors d'un processus anatomophysiologique garantissant le développement du tractus génital et des organes génitaux externes.

Cependant, plusieurs anomalies peuvent siéger à chacune des étapes de ce processus, et entraîner ainsi, une discordance entre les organes génitaux externes, qui est la partie initialement visible, internes, et les caractères sexuels secondaires constituant ainsi ce qu'on appelle les troubles de différenciation sexuelle ou DSD (disorders of sex development) qui regroupent un ensemble d'états intersexués de nature et d'intensité variable.

Les troubles de différenciation sexuelle peuvent être détectés en stade prénatal lors de consultation systématique de gynéco-obstétricien (via l'échographie) ou souvent constatés clairement à la naissance, tels que les ambiguïtés sexuelles. D'autres troubles passent inaperçus pendant l'enfance et n'apparaissent qu'en stade adulte, c'est le cas des patients qui se présentent pour aménorrhée primaire ou pour retard pubertaire ou pour une stérilité, ou encore pour l'apparition de caractères sexuels discordants avec le sexe civil assigné. Dès que le trouble est reconnu, il faut

déterminer le plus rapidement possible le sexe définitif afin d'éliminer tout traumatisme psychologique et social.

La survenue de ces troubles de différenciation sexuelle concerne un à deux individus sur 10.000 nouveaux nés [1], et constitue toujours un véritable drame aussi bien pour les familles que pour les patients qui se précipitent de réaliser tous les analyses et testes nécessaires pour comprendre leur maladie. Mais finalement dans la plupart des cas, les examens classiques que ce soient cliniques, biologiques ou radiologiques, n'aboutissent toujours qu'à la détection de l'anomalie sans pouvoir décider de l'étiologie ni du diagnostic définitif, chose que seul la génétique médicale peut déceler grâce au progrès de la biologie moléculaire qui a offert des examens plus explicites.

Le travail présent va permettre de vérifier la pertinence des techniques de cytogénétique constitutionnelle et de biologie moléculaire dans le diagnostic et la prise en charge des troubles de différenciation sexuelle. Le but étant de permettre à l'équipe multidisciplinaire, chargée de suivi du patient, de prendre la bonne décision et de mettre en place la meilleur stratégie thérapeutique qui permettra au patient et à sa famille de subir le minimum des dégâts et de vivre une vie très naturelle.

Pour y arriver, on va dans une première partie, illustrer le processus de différenciation sexuelle en stade embryonnaire et les facteurs impliqués ainsi que les différents troubles pouvant survenir au cours de ce processus, tout en essayant le maximum possible d'éclaircir les mécanismes moléculaires qui permettraient à un tel ou tel phénotype de s'installer, y compris les conséquences et les solutions possibles.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude concrète d'une série diversifiée de patients souffrant de troubles de différenciation sexuelle divers qui se sont présentés au laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU Hassan II de Fès. L'étude va se focaliser, d'une part, sur le côté diagnostic cytogénétique par établissement du caryotype et d'hybridation in situ fluorescente (FISH) afin de préciser

la constitution du matériel chromosomique du patient et de déceler la présence de toute anomalie de nombre ou de structure. D'une autre part, on va explorer par la technique d'amplification par polymérisation en chaîne le gène de déterminisme sexuel *SRY* en présence d'indication.

L'objectif global étant de prouver l'intérêt de la biologie moléculaire et de la cytogénétique dans la prise en charge des troubles de différenciation sexuelle et recommander une conduite à tenir pratique.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité

1. Historique



Figure 1 : Hermaphroditos

Hermaphrodite ou en grec « Hermaphroditos » est un être mythique connu depuis longtemps par les peuples les plus anciens (Figure1).

Hermaphrodite est composé de deux noms « hermès » et « Aphrodite » qui sont deux divinités de l'olymp.

Hermès : messagers des dieux et dieu du commerce ainsi que le conducteur des âmes en enfer. [2]

Aphrodite : Déesse de la germination, de l'amour et du plaisir, connue pour sa beauté indescriptible elle séduisit hermès et de leur union naquit un fils qui eut le nom d'hermaphrodite. Aphrodite le confia aux nymphes lorsque l'une d'elle ; Salascis ; succomba à son charme et pria les dieux de ne jamais les séparer, exauçant sa prière, les dieux transformèrent le couple en un être hybride mi mâle mi femelle.

De façon moins poétique l'hermaphrodisme vrai est défini comme la coexistence chez le même individu de tissus testiculaire et folliculaire ovariens.

Au fil des siècles savants et médecins se sont intéressés à ces anomalies, mais il a fallu attendre le début du siècle dernier pour voir s'amorcer la phase scientifique grâce aux travaux de MEKECEL (1815), J.MULLER (1830), GEOFFEROY SAINT HILAIRE (1833), et KLEBS (1870).

Les premiers raisonnements génétiques ont débuté avec la théorie chromosomique de l'hérédité, qui est fondée sur l'hypothèse des lois de Mendel. C'est à la même époque que l'on commença à mettre en évidence des différences chromosomiques entre l'homme et la femme.

Depuis, des efforts ont été fournis pour expliquer ces différentes anomalies. On cite :

- DIEFFENBACH (1912) : un généticien américain a remarqué le caractère héréditaire des troubles.
- BARR (1949) : définit la chromatine sexuelle. ML BARR a aussi caractérisé un corpuscule présent dans les cellules femelles, déjà décrit par Ramon y. Cajal.
- JOST (1950) : a travaillé sur le mécanisme du déterminisme des sexes gonophoriques externes et internes.
- MORRIS (1953) : a été le premier à utiliser le terme de féminisation testiculaire.
- TIJO et LEVAN (1956) : ont développé des méthodes diagnostic (caryotype) et ont montré que la garniture chromosomique humaine comporte 46 chromosomes. Ensuite c'est l'étude des patients présentant des discordances entre leur formule chromosomique et leur sexe phénotypique qui a permis finalement l'identification des principaux déterminants génétiques.
- MAUVAIS et JARVIS (1966) : ont réalisé d'important travaux sur la pathogénie du testicule féminisant et le rôle de l'absence de la 5 alpha-réductase.

Depuis 1970, la biologie de la reproduction a fait des progrès en avant par la découverte de l'antigène H-Y et l'isolement de l'hormone antimüllérienne permettant d'éclaircir le mécanisme des anomalies de la différenciation sexuelle ainsi que l'étude du caryotype des cellules fœtales

- WRIGHT et DIXON (1988) : découvrent la protéine codante pour le déterminisme du sexe.
- SINCLAR et collaborateurs (1990) : une région nommée *SRY* a été identifiée comme appartenant au *TDF*.
- Les travaux de TSAN YU et collaborateurs (1995) montrent l'importance de la laparoscopie dans le diagnostic et le traitement de ces ambiguïtés sexuelles.

Actuellement, grâce aux progrès de la biologie moléculaire, de nombreux gènes ont été prouvés impliqués dans la cascade moléculaire du déterminisme sexuel et dont la déficience entraîne les discordances et les ambiguïtés initialement observées sur le plan phénotypique [3].

2. Caractères sexuels

Les caractères sexuels sont l'ensemble des caractères physiques ou psychologiques dépendant de l'imprégnation en hormones sexuelles, du sexe génétique (XY ou XX), on distingue les caractères sexuels primaires, qui correspondent à la différenciation sexuelle des organes génitaux au cours de la vie embryonnaire déterminant l'aspect (le phénotype) féminin ou masculin d'un individu et les caractères sexuels secondaires qui apparaissent à la puberté parallèlement à l'augmentation des hormones.

a) Caractères sexuels primaires

Les caractères sexuels primaires désignent l'ensemble des organes génitaux qui permettent de différencier l'homme de la femme, ils déterminent ainsi le sexe

biologique dès la naissance grâce aux organes génitaux externes : verge et testicules situés dans les bourses pour le garçon ; lèvres et vagin chez la fille. Certains considèrent également que les organes non visibles, mais différenciant l'homme de la femme, font partie des caractères sexuels primaires comme la prostate, les vésicules séminales chez l'homme, les ovaires, les trompes et l'utérus chez la femme.

i. Appareil reproducteur masculin

Ensemble des organes génitaux permettant la reproduction. Chez l'homme, l'appareil génital est étroitement lié à l'appareil urinaire. Il comprend les testicules, les épидидymes, les canaux déférents, les vésicules séminales, la prostate ainsi que le pénis. L'appareil génital masculin se compose d'organes externes et internes. :

Organes génitaux externes :

* Les testicules sont situés dans les bourses où ils semblent suspendus au cordon spermatique. De forme ovoïde, les testicules mesurent environ 4 centimètres de long sur 2,5 cm de large chez l'adulte. Chaque glande est entourée par une membrane, la tunique vaginale, dérivée du péritoine abdominal et dont les prolongements divisent le testicule en 250 à 300 lobules qui contiennent chacun 3 ou 4 tubes séminifères. Les tubes séminifères rejoignent ensuite un réseau de canaux, le rete testis. Les testicules sécrètent des hormones mâles ou androgènes, notamment la testostérone qui agit sur le développement des organes génitaux et des caractères sexuels secondaires), et ils élaborent les spermatozoïdes.

*L'épididyme est un conduit situé en arrière du testicule. Il reçoit les spermatozoïdes de celui-ci, qu'il dirige vers le canal déférent. L'épididyme déroulé mesurerait près de 6 mètres : il faut trois semaines aux spermatozoïdes pour le parcourir et y terminer leur maturation.

*Le canal déférent est un fin conduit long d'environ 45 cm. Sa partie extra-abdominale est incluse dans le cordon spermatique (pédicule contenant les artères et veines spermatiques, les nerfs, les ligaments qui relient le testicule et l'abdomen). Le

canal déférent pénètre dans l'abdomen à travers l'orifice inguinal jusqu'au canal éjaculateur, à l'entrée de la prostate. Il y transporte les spermatozoïdes.

*Le pénis, ou verge mesure en moyenne 10 à 12 cm au repos et 15 à 16 cm en érection. Il est constitué de l'urètre, conduit véhiculant l'urine lors de la miction et le sperme lors de l'éjaculation, d'un corps spongieux qui entoure l'urètre et de deux organes érectiles, les corps caverneux, flaccides à l'état de repos, et qui deviennent rigides à l'érection grâce à l'afflux de sang. Le pénis se termine par une partie renflée, le gland, recouvert par un fourreau de peau, le prépuce (que l'on supprime lors d'une circoncision).

Organes génitaux internes :

*Les vésicules séminales sont deux poches situées en arrière de la prostate et de la vessie, qui mesurent 5 à 7 cm de long ; elles fabriquent un plasma séminal visqueux et alcalin, qui va constituer le sperme avec les sécrétions prostatiques et les spermatozoïdes.

*Les canaux éjaculateurs, qui font suite aux vésicules séminales, expulsent le sperme dans l'urètre au moment de l'éjaculation.

*La prostate est une glande pesant de 15 à 20 grammes chez l'adulte, située sous le col vésical et entourant l'urètre.

*Les glandes de Cowper, situées sous la prostate, produisent une sécrétion épaisse qui nettoie l'urètre juste avant l'éjaculation. (Figure2)

En plus de la spermatogenèse, l'appareil reproducteur masculin possède une fonction endocrine en sécrétant la testostérone.

Les cellules interstitielles du testicule ou cellules de Leydig produisent la principale hormone mâle, la testostérone. Cette production existe très tôt chez l'embryon chez qui elle détermine l'évolution de l'appareil génital vers le type masculin. La sécrétion de testostérone disparaît pratiquement pendant l'enfance et réapparaît au tout début de la puberté, sous la stimulation de deux hormones

hypophysaires communes aux deux sexes, la LH et la FSH. Elle atteint un maximum autour de l'âge de 20 ans, se stabilise quelques années puis décroît ensuite très lentement. [4]

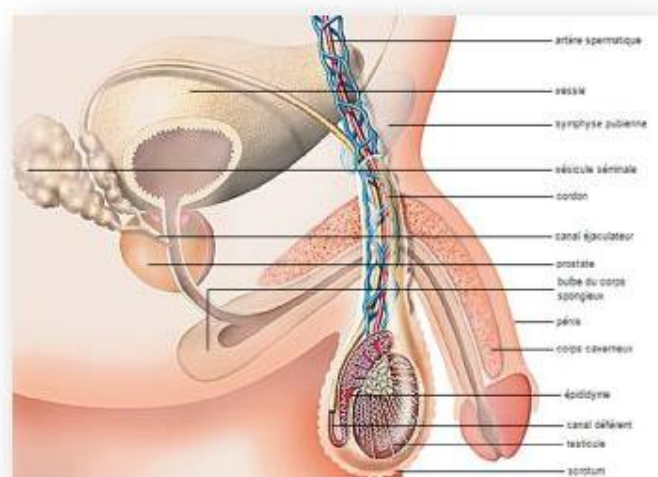


Figure 2 : Tractus génital masculin

ii. Appareil reproducteur féminin

Ensemble des organes de la femme assurant la fonction de reproduction.

L'appareil génital féminin se compose d'organes externes et internes :

Organes génitaux externes : ils portent également le nom de vulve. Celle-ci est formée par deux replis cutanés, les grandes lèvres, qui recouvrent deux replis de muqueuse, les petites lèvres (lèvres), et protègent un vestibule dans lequel s'ouvrent l'urètre en avant et en haut, et le vagin, en arrière et en bas. De part et d'autre du vestibule débouchent les glandes vulvo-vaginales ou glandes de Bartholin. À la jonction antérieure des petites lèvres se trouve un organe érectile, le clitoris, riche en terminaisons nerveuses qui lui confèrent sa sensibilité.

Organes génitaux internes : ils comprennent deux glandes sexuelles « les ovaires », et les voies génitales, formées des trompes utérines, de l'utérus et du vagin.

***Les ovaires** sont des glandes en forme d'amande de 3 ou 4 centimètres de long. Ils sont situés de part et d'autre de l'utérus, auquel ils sont reliés par des ligaments.

Leur surface appelée albuginée est blanc nacré. Ils contiennent les follicules ovariens, qui produisent les ovules, cellules féminines de la reproduction. À la naissance, chaque ovaire contient environ 1 million de cellules germinales (gonocyte) dont quelques centaines seulement donneront un ovule au cours de la vie.

*Les trompes utérines : ou trompes de Fallope, sont des conduits de 8 ou 9 centimètres de longueur (trompes de Fallope). Leur extrémité libre, en forme de pavillon et bordée de franges, s'ouvre en face d'un ovaire. Leur paroi contient une importante musculature lisse, et des cils tapissent leur face interne. L'autre extrémité des trompes débouche dans les coins supérieurs de l'utérus, les cornes utérines.

*L'utérus est un organe creux en forme de poire renversée, de 7 centimètres de haut et 5 centimètres de large, situé entre la vessie et le rectum. Son corps se rétrécit en bas, vers l'isthme, et se termine par le col utérin, qui fait saillie dans le vagin. Sa paroi épaisse contient une couche de musculature lisse, elle est tapissée à l'intérieur par une muqueuse, l'endomètre, riche en glandes et en vaisseaux sanguins. À l'extérieur, l'utérus est recouvert par le péritoine et soutenu par des ligaments résistants. Normalement, il est incliné vers l'avant (antéflexion) et forme avec le vagin un angle d'environ 90°.

*Le vagin est un conduit musculo-membraneux d'environ 8 centimètres de long, dont la paroi est constituée de replis longitudinaux et transversaux. Elle est tapissée par une muqueuse épithéliale, humidifiée et lubrifiée par le mucus issu du col de l'utérus, les sécrétions des glandes vulvo-vaginales et un transsudat aqueux qui suinte à travers la couche d'épithélium. Enrichi de cellules provenant de la desquamation naturelle de la paroi, ce mucus forme les pertes vaginales naturelles. Le fond du vagin, occupé par la saillie cylindrique du col utérin, forme autour de celui-ci un bourrelet, le cul-de-sac vaginal. À la naissance, l'orifice inférieur du vagin est en partie fermé par un repli, l'hymen, déchiré au cours du premier rapport sexuel. (Figure 3)

La fonction reproductrice féminine commence à la puberté et prend fin à la ménopause, mais les ovaires sécrètent leurs hormones en quantité variable tout au long de la vie. Cette fonction est rythmée par les cycles ovariens et les règles (cycle menstruel), qui, lorsque la femme n'est pas enceinte, se produisent tous les 28 jours en moyenne sous la forme d'un écoulement de sang provenant de la paroi vascularisée de l'utérus, mêlé à de fins débris de muqueuse utérine.

À chaque cycle, l'un des follicules ovariens parvient à maturité dans l'un des deux ovaires et libère un ovule : c'est l'ovulation. Capté par les franges et le pavillon de la trompe utérine, l'ovule s'achemine lentement vers l'utérus. Si, pendant ce trajet, qui dure 3 jours, il est fécondé par un spermatozoïde, l'ovule va s'implanter dans la muqueuse utérine pour y devenir embryon. S'il n'est pas fécondé, les règles se déclenchent. Ces phénomènes obéissent à une régulation hormonale hypophysaire par l'hormone folliculostimulante, ou FSH, et l'hormone lutéinisante, ou LH. De leur côté, les ovaires sécrètent leurs propres hormones (œstrogènes et progestérone essentiellement), qui stimulent les organes sexuels et préparent l'utérus à une éventuelle grossesse. (Figure 4)

En cas de grossesse, le col utérin se ferme, l'utérus se distend peu à peu jusqu'à atteindre 30 centimètres de hauteur et 20 centimètres de diamètre en fin de grossesse. À l'approche du terme, les parois du vagin s'assouplissent pour permettre l'accouchement. Après la naissance, l'utérus se contracte fortement et reprend peu à peu son volume normal. Il faut 6 semaines à l'ovaire pour retrouver son fonctionnement cyclique, marqué par la réapparition des règles (retour de couches), plus tardive si la femme allaite. [5]

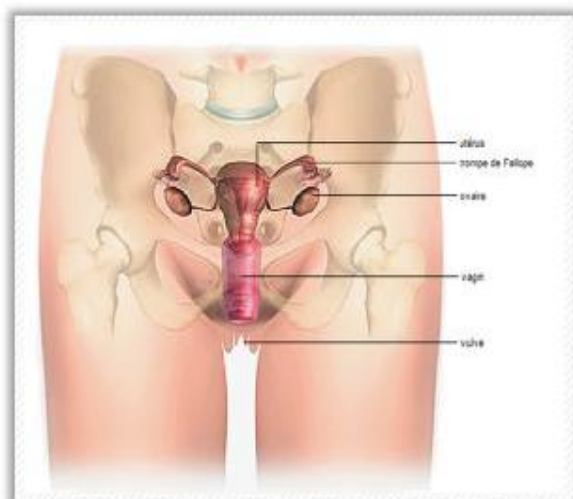


Figure 3 : Tractus génital féminin

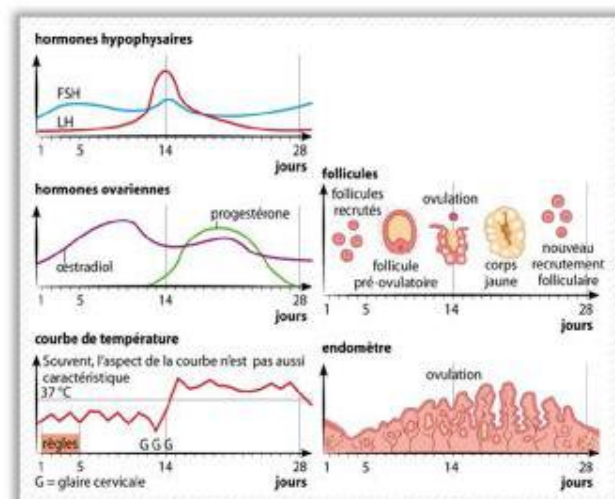


Figure 4 : Cycle menstruel

b) Caractère sexuels secondaire

Les caractères sexuels secondaires sont les traits qui distinguent les individus des deux sexes mais, à la différence des caractères sexuels primaires qui sont les organes génitaux, ils ne participent pas directement au système reproducteur, ils sont l'expression de l'imprégnation hormonale.

Les caractéristiques de la pilosité, des cheveux, de la voix, de la silhouette, de l'odeur et de la personnalité forment l'apparence féminine ou masculine d'une personne. La présence de seins et l'aspect des organes génitaux externes précisent plus spécifiquement l'identité sexuelle.

Les variations de la taille et de la silhouette, résultat de la répartition de la graisse sous-cutanée, de la musculature et de la croissance osseuse, sont dues aux hormones et aux gènes.

La pilosité pubienne et axillaire (des aisselles) est due aux hormones sexuelles dans les deux sexes. Elle s'installe progressivement pendant deux ans à partir du début de la puberté. La pilosité faciale masculine est plus tardive ainsi que la pilosité corporelle. De même que l'implantation des cheveux, leur aspect témoigne de l'imprégnation hormonale.

On retrouve des traits de personnalité plus communs aux hommes (agressivité, abstraction) ou aux femmes (organisation, intuition) qui évoquent une « sexualisation » psychique. La part des hormones et celle de l'environnement, de l'éducation pendant l'enfance, restent cependant difficiles à dissocier.

Chez la fille, les seins sont le premier caractère sexuel. Ils apparaissent vers l'âge de 11 ans, au début sous la forme d'une surélévation du mamelon. Le développement se poursuit pour atteindre une taille définitive en 3 à 4 ans. La pilosité sexuelle pubienne prend son aspect adulte en forme de triangle à base supérieure horizontale. Sous l'effet des hormones, la vulve se modifie, avec une augmentation du volume des petites lèvres, une accentuation des grandes lèvres et du clitoris. La vulve devient sécrétante et humide, produisant des leucorrhées (sécrétions blanches) plus ou moins abondantes. Les règles apparaissent en moyenne 2 ans après l'apparition des seins. Un hirsutisme peut s'installer progressivement, constituant une pilosité corporelle estimée trop importante.

Chez le garçon, le premier signe de puberté est l'augmentation du volume testiculaire vers l'âge de 11 ans et demi. Ce volume atteint au moins 4 ml, ce qui correspond à environ 2,5 cm si on mesure la plus grande longueur. Puis le volume évolue progressivement vers la taille adulte (10 à 16 ml). Parallèlement, la peau du scrotum s'amincit, la pilosité pubienne apparaît en moyenne 6 mois après, suivie de l'augmentation de la taille de la verge au-delà de 5-6 cm. La modification de la voix se produit en fin de puberté. Une gynécomastie uni- ou bilatérale (volume trop important d'un ou des deux seins) apparaît transitoirement chez la moitié des garçons au cours de la puberté. Souvent discrète, l'embonpoint peut la majorer et la rendre gênante. (Figure 5)

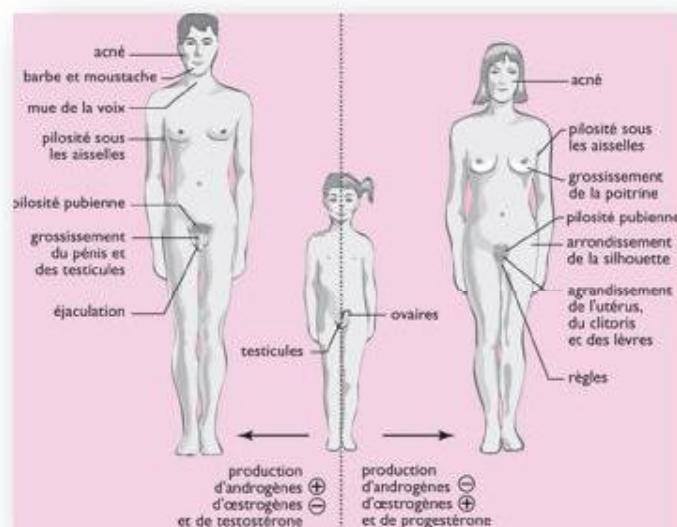


Figure 5 : Caractères sexuels secondaires

3. Rappel génétique

Chaque cellule somatique humaine possède 22 paires de chromosomes homologues (également appelés autosomes), numérotés de 1 à 22, et une paire de chromosomes sexuels (également appelés hétérochromosomes ou gonosomes), soit un total de 23 paires.

Le sexe d'un individu est déterminé par le système XY : les femmes possèdent deux chromosomes X (XX) tandis que les hommes possèdent un chromosome X et un chromosome Y (XY). Les deux chromosomes X de la femme sont homologues, mais le chromosome Y n'est homologue au chromosome X que pour une petite partie (région pseudo-autosomique). (Figure 6)

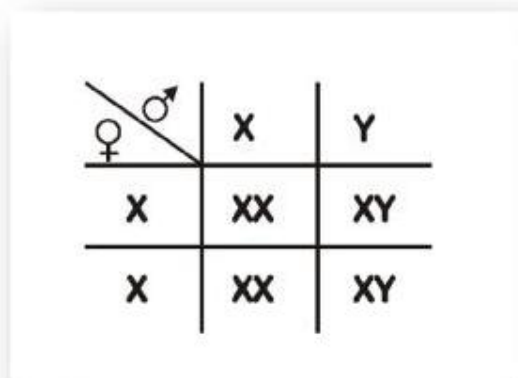


Figure 6 : Le système XY

Le chromosome X est long de 153 millions de paires de base, il représente 5 % de l'ADN nucléaire, le nombre total de gènes du chromosome X est de 1 098. Tandis que Le chromosome Y est long de 50 millions de paires de base, il représente entre 1,5 % et 2 % de l'ADN nucléaire, le nombre total des gènes du chromosome Y est compris entre 70 et 300, il comprend 2 régions : une région male spécifique représentant 95% de la longueur totale et une autre pseudo-autosomique représentant 5% du total mais contient 1/3 des gènes.

La spermatogenèse se fait suite à deux divisions méiotiques (M1 et M2). Un spermatocyte de 1er ordre donne ainsi naissance à 4 spermatozoïdes haploïdes, deux avec un chromosome X et deux avec un chromosome Y. Les spermatozoïdes sont donc déterminants quant au sexe des descendants (figure 7).

L'ovogenèse se fait comme la spermatogenèse, suite à deux divisions méiotiques (M1 et M2). Il n'en résulte qu'un ovule fécondable et trois globules polaires tous haploïdes. Il faut ajouter que la méiose n'est achevée qu'au moment de la fécondation, sinon elle reste bloquée en métaphase de la deuxième division méiotique [6] (figure 8).

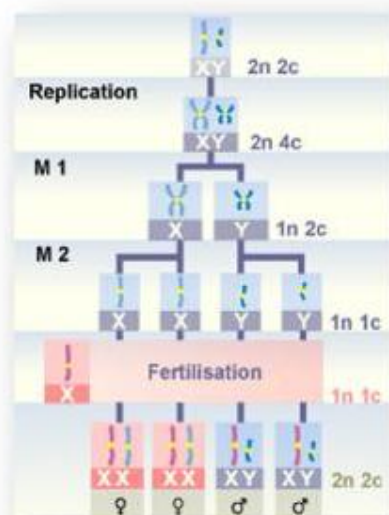


Figure 7 : Spermatogenèse [164]

M1: méiose I, M2: méiose II

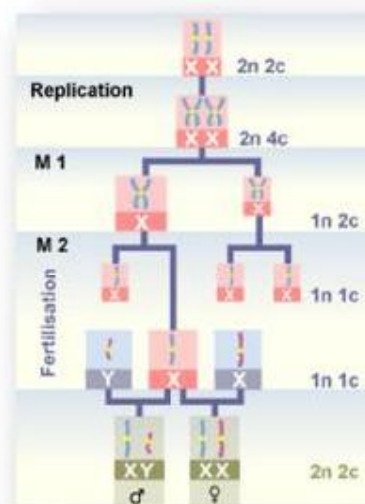


Figure 8 : Ovogenèse [164]

M1: méiose I, M2: méiose II

4. Rappel embryologique

a) Formations des gonades

Dès la troisième semaine du développement – soit 5 semaines d'aménorrhée (SA) – la plicature de l'embryon et la croissance de la cavité amniotique favorisent la réintégration du mésenchyme extra embryonnaire (Figure9) et la migration des gonocytes primordiaux situés autour de l'allantoïde.

Ces cellules germinales contribuent toutes à l'élaboration de la gonade. Dès la cinquième semaine (7SA), elles colonisent les crêtes génitales autour du rein primitif qui est le mésonéphros.

L'ensemble gonadique reste indifférencié au regard de nos moyens actuels d'observation pendant 2 semaines. Sous influence génétique et hormonale, les cellules séminifères sont visibles à la septième semaine (9SA) et les ovocytes à la huitième (10 SA) [7].

b) Evolution des gonoductes :

Le mésonéphros est présent dès la quatrième semaine (6SA). Il est accompagné de canaux mésonéphrotiques (Wolff) et paramésonéphrotiques(Müller). Ces canaux sont gonoductes et viennent s'aboucher au niveau du cloaque, formé de l'allantoïde ventralement et de l'intestin caudal dorsalement. Le cloisonnement du cloaque s'effectue progressivement entre la quatrième et la huitième semaine (10SA), ce qui rapproche les gonoductes de la ligne médiane (Figure 10)

L'apparition du métanéphros (rein définitif) et la disparition du mésonéphros (9-10 SA) laissent au canal mesonéphrotique (Wolff) un caractère purement gonoductal chez le mâle.

Entre la huitième et la douzième semaine (10 – 14 SA), sous influence hormonale, on observe la fusion des canaux paramésonéphrotiques sur la ligne médiane et la régression des canaux mésonéphrotiques dans l'évolution féminine, et la disparition des canaux de Müller dans l'évolution masculine. [8]

c) Les organes génitaux externes :

C'est entre la huitième et la douzième semaine (10 – 14 SA) que s'effectue la différenciation masculine ou féminine (Figure 11 [6]).

Dans le sexe masculin, les cellules de Leydig des testicules secrètent des androgènes qui maintiennent les canaux de Wolff et assurent la croissance du bourgeon génital, et les cellules de Sertoli de l'hormone antimüllérienne ou AMH qui induit la transformation mésenchymateuse des canaux de Müller et leur disparition. Les bourrelets génitaux fusionnent et donneront le scrotum, les replis génitaux fourniront le fourreau prénuptial. Les corps spongieux fusionnent en suivant la migration de l'urètre qui se fait depuis la vessie.

Dans le sexe féminin, l'infundibulum reste ouvert à la croissance du pôle caudal de l'embryon en laissant une trace hyménale. La croissance des replis se fait vers

l'extérieur et donnera les petites lèvres et le capuchon du clitoris. Le bourgeon se coude en direction de l'infundibulum vulvaire en l'absence de la testostérone(2).

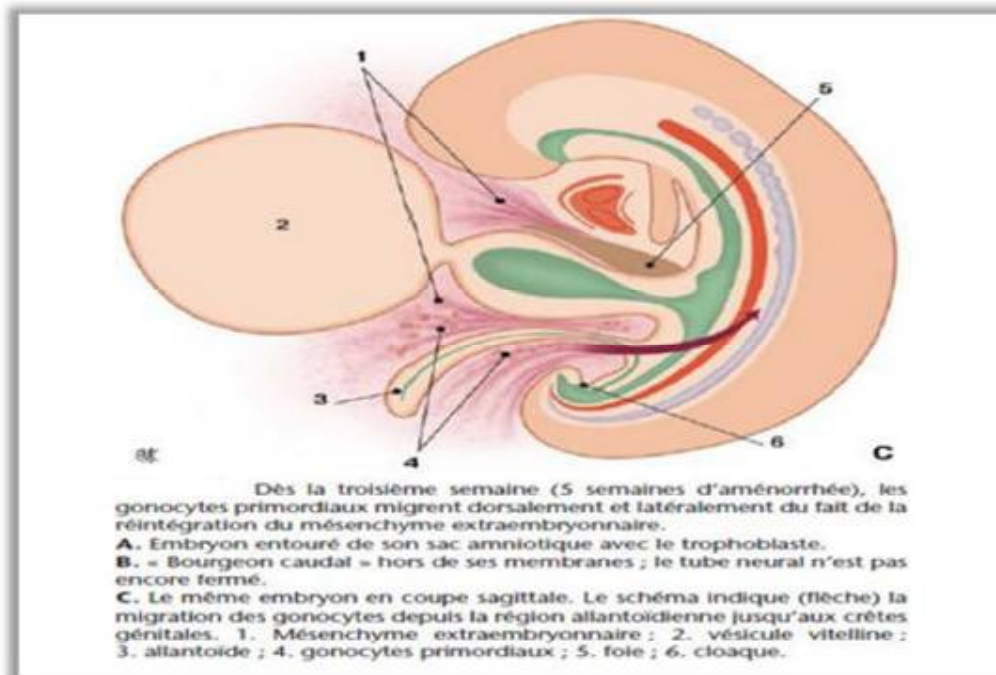


Figure 9 : formation des gonades à partir de la 5ème semaine.

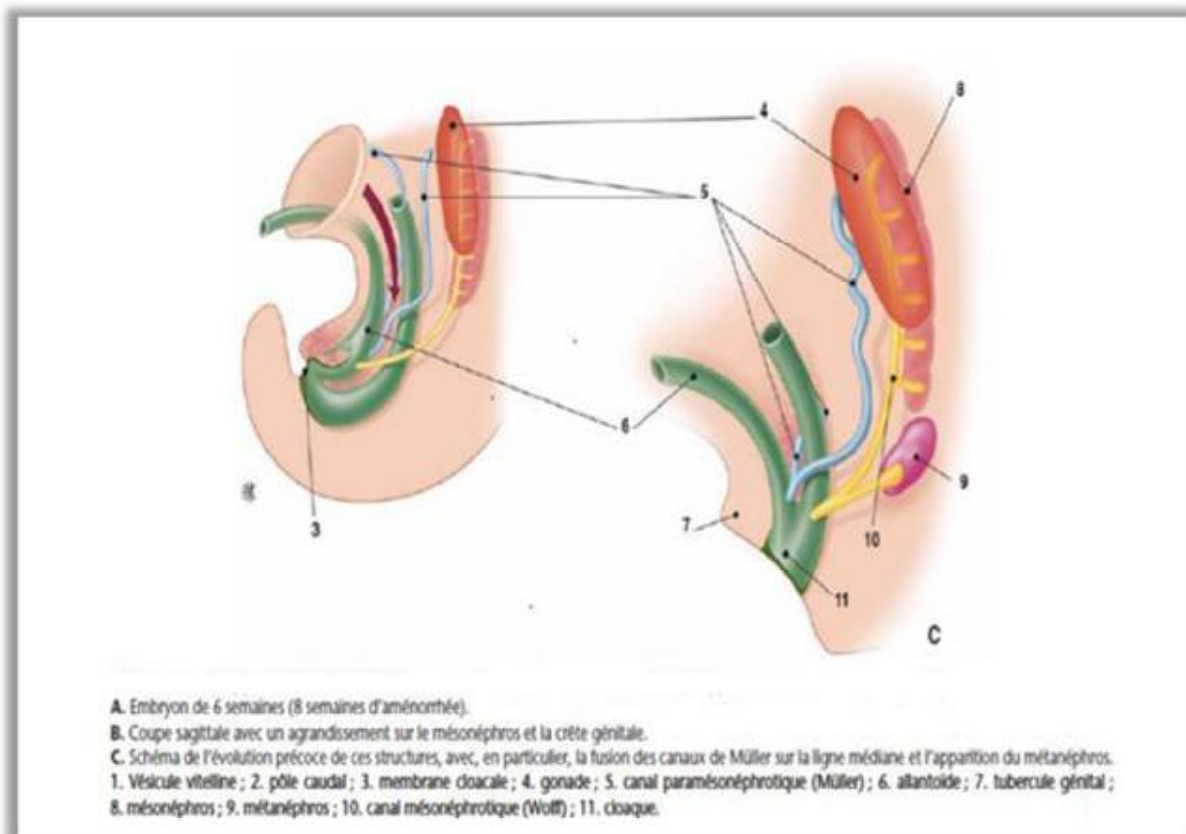


Figure 10 : développement des gonoductes et de la membrane cloacale au cours du développement très précoce du pôle caudal.

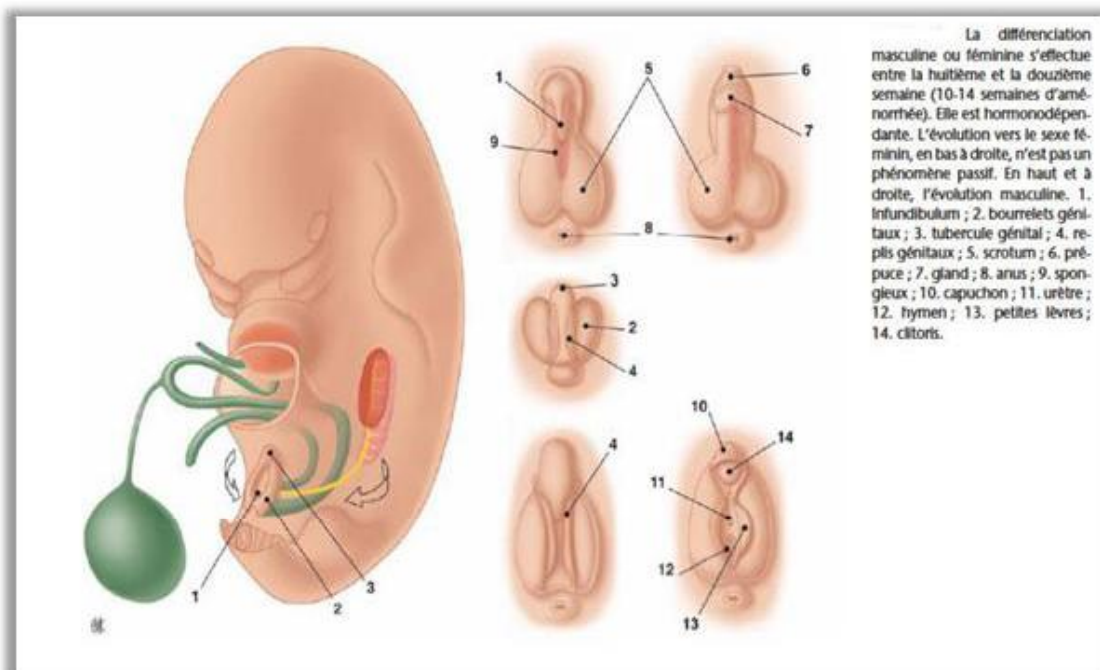


Figure 11 : différenciation sexuelle entre 10-14 semaines d'aménorrhée.

II. Différenciation sexuelle

1 – Définition

La différenciation sexuelle fœtale est un processus qui dépend d'un ensemble de signaux cellulaires et hormonaux qui interagissent entre eux, dans un ordre précis pour contribuer à la mise en place de l'appareil génital et à l'établissement d'un phénotype masculin ou féminin [9]. On distingue deux notions majeures :

- La détermination sexuelle qui permet l'engagement de l'ébauche gonadique (ou crête génitale) dans une voie de développement conduisant à la formation d'un testicule ou d'un ovaire, constituant ainsi le sexe gonadique.
- La différenciation sexuelle proprement dite qui est le processus permettant le développement du tractus génital et organes génitaux externes appropriés, en réponse à des signaux hormonaux constituant alors le sexe phénotypique [10].

Ainsi, on distingue, chronologiquement, 4 étapes séquentielles majeures :

- ◆ Établissement, par fécondation, du **sexe génétique** féminin 46,XX ou masculin 46,XY.
- ◆ La mise en place du **sexe gonadique** par développement des gonades fœtales bipotentielles en testicule ou ovaire.
- ◆ La production d'hormones capitales pour le développement du phénotype.
- ◆ Le développement du **sexe phénotypique** correspondant à la différenciation des organes génitaux externes et du sinus urogénital [9].

2– Processus physiologique

a) Sexe génétique

Au cours de la spermatogénèse, la méiose assure la ségrégation des chromosomes X et Y dans deux populations de spermatozoïdes porteurs pour 50 % de chromosome X et pour 50 % de chromosome Y. L'assortiment XX ou XY au moment de la fécondation détermine le sexe génétique avec une sex-ratio de 1 (figure 12). Le chromosome Y a un effet "dominant" dans le déterminisme sexuel quel que soit le nombre de X présents [11].

Ainsi, au début de la gestation (1^{ère} et 2^{ème} semaine), les embryons des deux sexes ne diffèrent que par leurs génotypes.

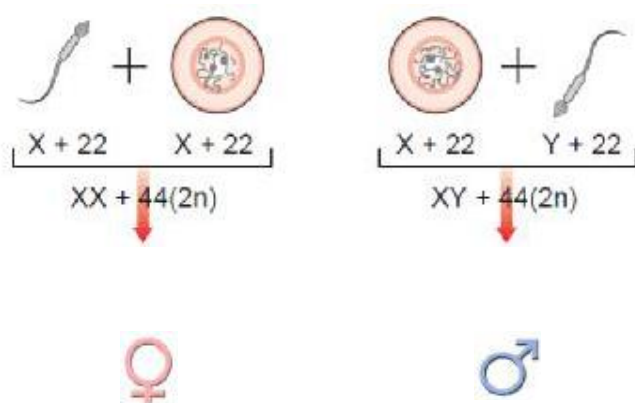


Figure 12 : Résultat de fécondation d'un ovule X par un spermatozoïde X ou Y.

À la suite de la détermination génétique du sexe, les ébauches neutres vont se développer et se différencier en un des deux types de gonades [6].

b) Le stade indifférencié

i. La morphogénèse des gonades

Malgré le dimorphisme chromosomique, aucune différence morphologique n'est décelable entre les gonades, les voies génitales et les organes génitaux externes des embryons de sexe féminin et masculin entre la 3^e et la 6^e semaine (stade indifférencié) [11].

Les gonades apparaissent chez l'embryon de quatre semaines sous forme d'une crête longitudinale bilatérale dite crête génitale (ou crête gonadique), située de part et d'autre de la ligne médiane [12].

Les gonades sont formées par deux populations cellulaires d'origine embryologique totalement différentes.

- les cellules germinales primordiales (PGC = primordial germ cells) destinées à former les gamètes (spermatozoïdes et ovocytes).
- les cellules somatiques ou nourricières qui vont entourer les cellules germinales.

Les **cellules germinales primordiales** (PGC) apparaissent dans l'épiblaste dès la gastrulation [13,14], et subissent une première **migration extraembryonnaire** (figure 13 A) et une deuxième **migration intraembryonnaire** (figure 13 B) pour finalement coloniser les crêtes génitales. Durant leur migration, qui s'effectue entre la 4^e et la 6^e semaine, ces cellules continuent à se multiplier par mitoses [6].

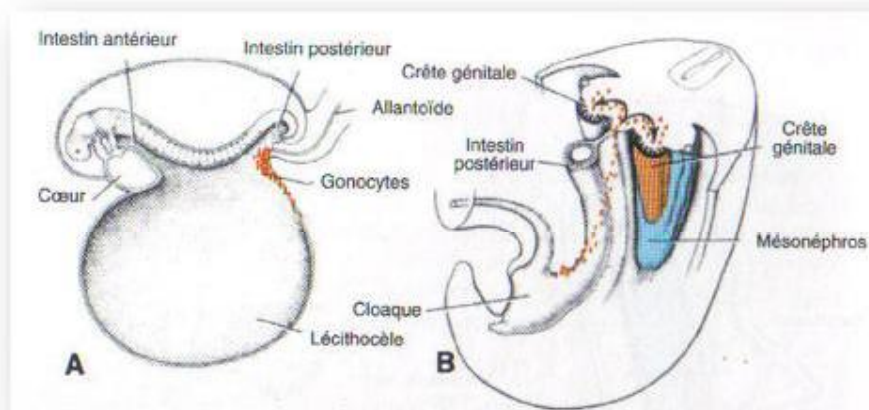


Figure 13 : A. Schéma d'un embryon de trois semaines montrant la migration extraembryonnaire des gonocytes ; B. dessin représentant la migration des gonocytes le long de la paroi de l'intestin postérieur vers la crête génitale.[165]

A la sixième semaine, les PGC pénètrent dans les crêtes génitales.

Peu avant et pendant l'arrivée des PGC dans la crête génitale, l'épithélium Cœlomique prolifère activement et envahit le mésenchyme sous-jacent. Les cellules épithéliales se multiplient pour former un certain nombre de cordons de formes irrégulières : les cordons sexuels primitifs (figure 14) [12].

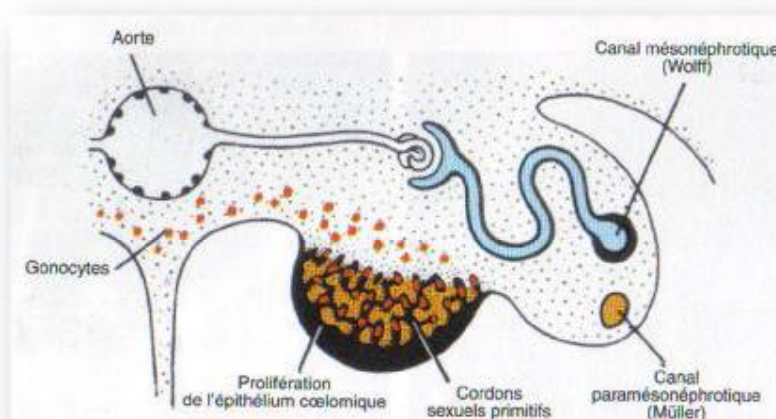


Figure 14 : Coupe transversale schématisée de la région lombaire d'un embryon de six semaines, montrant la gonade indifférenciée et les organes sexuels primitifs (quelques gonocytes entourés de cellules des cordons sexuels primitives).[165]

À ce stade, cette ébauche gonadique est indifférenciée. Les cellules germinales primordiales sont également bipotentielles et peuvent entrer soit en spermatogenèse soit en ovogenèse selon la nature de leur environnement [15,16].

ii. Les voies génitales

Parallèlement au développement des gonades, Le mésonéphros et l'épithélium cœlomique vont donner lieu, entre la 4^e et la 7^e semaine, à deux paires de conduits génitaux, de manière identique dans les deux sexes [17, 18]. Il s'agit d'une part, des **canaux de Wolff** ou canaux mésonéphrotiques qui sont connectés par leur partie supérieure aux structures mésonéphros–gonades et débouchant par leur partie inférieure dans le cloaque. D'autres parts, des **canaux de Müller** ou canaux paramésonéphrotiques qui sont formés par une invagination de l'épithélium

cœlomique, ainsi ils sont ouverts à leur extrémité crâniale sur la cavité cœlomique (sans être connecté à aucune structure), alors qu'à leur extrémité caudale, ils fusionnent (les deux canaux homologues controlatéraux) pour donner le canal utérovaginal [11]. (Figure 15).

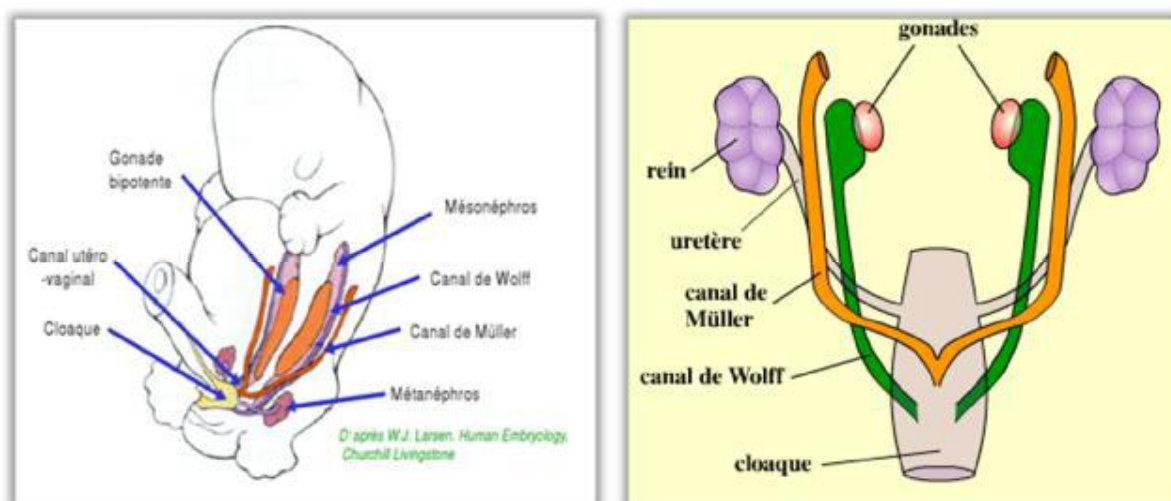


Figure 15 : Schémas de l'appareil génital au stade indifférencié montrant les gonades indifférenciées, les canaux de Wolff et les canaux de Muller.

c) Sexe gonadique

À partir de la 7^{ème} semaine les gonades vont se différencier soit en testicules, soit en ovaires selon le génotype, et le destin des canaux de Müller et de Wolff dépendront du résultat de cette différenciation.

A ce stade, différents facteurs génétiques vont intervenir selon les gonosomes présents [19].

i. Testicule

Si l'embryon est génétiquement masculin (avec formule chromosomique XY), l'effet testiculo-déterminant du chromosome Y dû à l'expression du gène *SRY* (qu'on va détailler plus loin), entraîne la différenciation testiculaire en provoquant l'apparition autour des cellules germinales de cordons épithéliaux (ébauches des futurs tubes

séminifères). Les cellules germinales se retrouvent ainsi à l'intérieur des cordons séminifères, enchâssées dans **les cellules de Sertoli** qui les isolent du milieu extérieur (barrière sang-spermatozoïdes). A ce stade, les cellules germinales se divisent activement, mais n'entrent pas en méiose. Entre les cordons séminifères, des cellules mésenchymateuses se différencient en **cellules interstitielles de Leydig** qui assurent la sécrétion endocrine du testicule [11] (Figure 16).

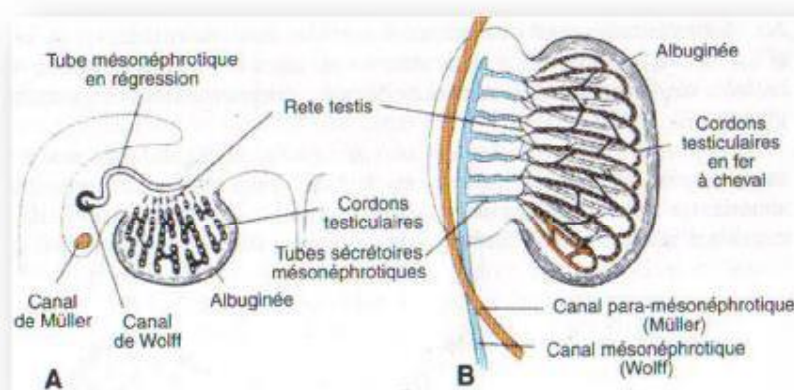


Figure 16 : A. Coupe transversale de testicule à la 8e semaine du développement, B. Représentation schématique du testicule et des canaux génitaux au cours du 4e mois [165]

ii. Ovaire

En absence du chromosome Y et donc du gène *SRY* responsable du déterminisme testiculaire, les cordons sexuels primitifs se dissocient en amas cellulaires irréguliers dans lesquels sont incluses les cellules germinales primaires. Contrairement à la gonade masculine, l'épithélium de surface prolifère sous forme de cordons corticaux qui envahissent le mésenchyme sous-jacent. Au quatrième mois, ces cordons se dissocient en amas cellulaires qui entourent une ou quelques cellules germinales primitives. Ensuite, les cellules germinales se différencient en ovogonies et les cellules d'origine épithéliale qui les entourent forment les cellules folliculaires [20] (Figure 17).

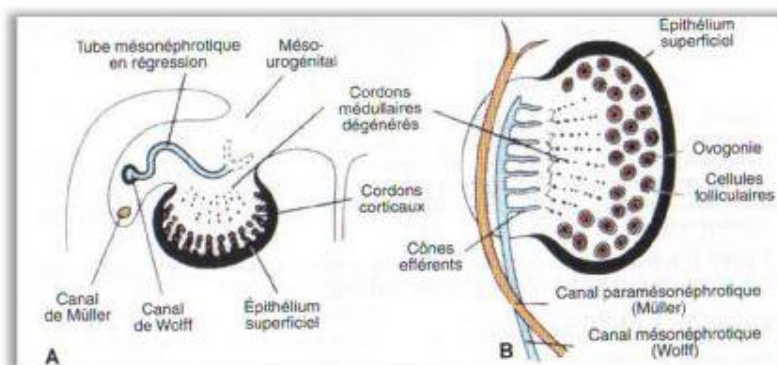


Figure 17 : A. Coupe transversale d'ovaire à la 7e semaine du développement, B. Schéma de l'ovaire et des canaux génitaux au 5e mois du développement montrant l'ovogonie entourée de cellules folliculaires [165]

d) Sexe phénotypique

Après la détermination gonadique (50^e-60^e jour de gestation) peut commencer la différenciation sexuelle du tractus génital. Les conduits génitaux s'édifient à partir des canaux de Wolff et de Müller, alors que les organes génitaux externes dérivent du sinus urogénital, du tubercule génital, des plis et bourrelets génitaux. Les travaux de Jost ont suggéré le rôle fondamental du testicule fœtal dans l'établissement des structures mâles alors que durant la même période, l'ovaire lui, n'est pas nécessaire à la différenciation du tractus génital dans le sens féminin [21].

i- La voie masculine

Chez l'embryon au sexe gonadique masculin, le testicule va produire l'AMH (l'hormone anti-müllérienne qui entraîne la régression des canaux de Müller [22], et de la testostérone, qui stimule le développement des organes génitaux internes à partir du canal de Wolff dont la partie supérieure forme l'épididyme, la partie moyenne devient le canal déférent et la partie terminale se transforme en vésicules séminales.

Le sinus urogénital, quant à lui fournit la partie antérieure de l'urètre et les glandes de Cooper [23, 24]. La conversion de la testostérone en DHT (dihydroxytestostérone) dans les tissus androgéno-dépendants via la 5 α -réductase,

masculinise les organes génitaux externes, dès la neuvième semaine, ainsi, le tubercule génital se différencie pour donner le pénis et les corps caverneux. Les bourrelets génitaux fusionnent sur la ligne médiane pour constituer le scrotum et le raphé [22, 24,25] (Figure 18).

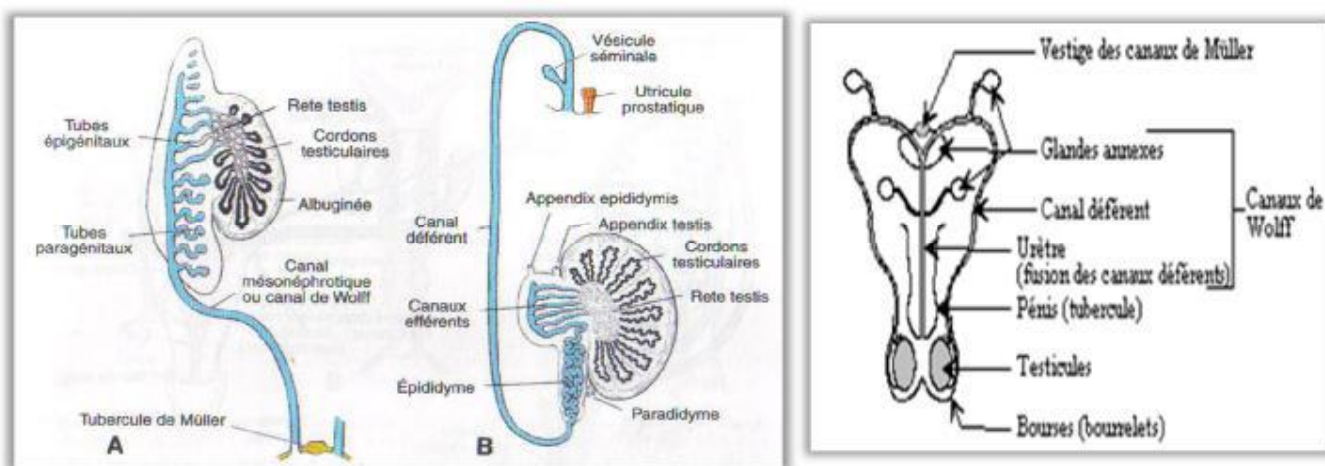


Figure 18 : A. Diagramme des voies génitales masculines au 4e mois du développement, B. Voies génitales après la migration du testicule, le schéma à droite montre l'appareil génital masculin évolué [165]

ii- La voie féminine

Chez l'embryon féminin, l'absence de sécrétion d'AMH et de testostérone induit la régression spontanée des canaux de Wolff vers la 11^e semaine de gestation alors que les canaux de Müller vont se différencier en trompes, utérus et partie supérieure du vagin. Les portions inférieures fusionnées des deux canaux de Muller vont former un organe utérovaginal plein qui va petit à petit se creuser jusqu'à la 18^e semaine [26].

De même pour les organes génitaux externes, le développement se déroule spontanément en absence des androgènes testiculaires, ainsi, le sinus urogénital devient le vestibule avec les glandes de Bartholin ; le tubercule génital devient le

clitoris, les plis génitaux restent séparés en petites lèvres, les bourrelets forment les grandes lèvres [27] (Figure 19).

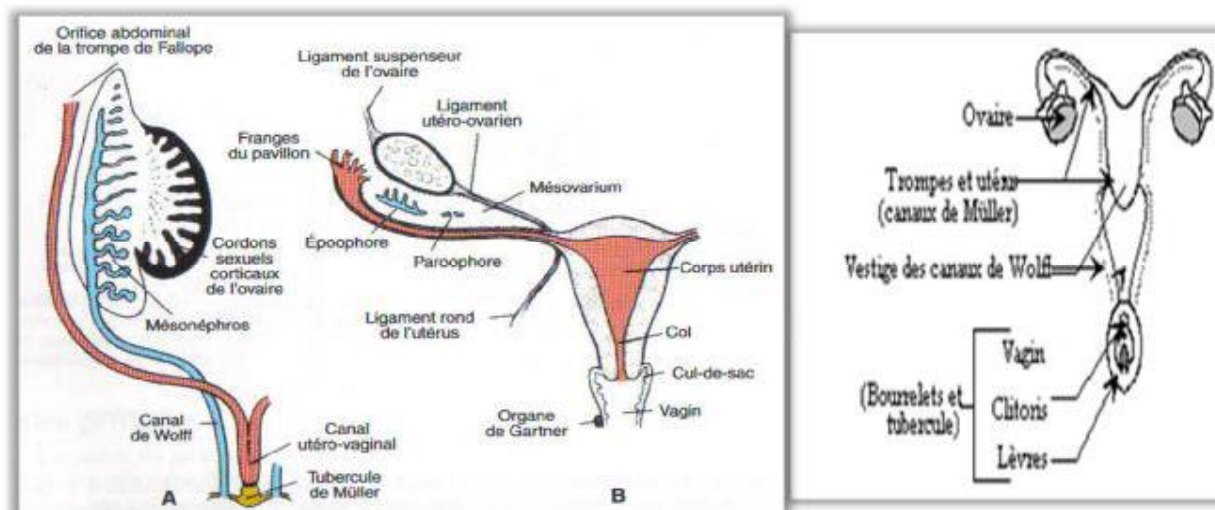


Figure 19 : A. Schéma des voies génitales féminines à la fin du deuxième mois du développement avec le canal de Wolff encore présent, B. Les voies génitales après la descente de l'ovaire, le schéma à droite représente les organes génitaux féminins évolués [165]

Le déroulement du processus physiologique de la différenciation sexuelle est déclenché, contrôlé et régulé par plusieurs facteurs, à savoir, les facteurs chromosomiques, les facteurs génétiques, et les facteurs hormonaux, au niveau desquelles l'anomalie engendre automatiquement un trouble de la différenciation sexuelle qui, souvent, se manifeste au niveau du phénotype.

3– Facteurs gonosomiques

On désigne par les facteurs gonosomiques, les chromosomes sexuels ou gonosomes, dont l'absence ou la présence en une ou plusieurs copies affecte fortement le phénotype (tableau I), il s'agit des chromosomes X et Y :

Le chromosome X (figure 20) est le grand chromosome métacentrique, ayant une taille de 154 Mb, renfermant environ 931 gènes. Il est présent dans les cellules masculines en un seul exemplaire et dans les cellules féminines en deux exemplaires (excepté bien évidemment les gamètes). Pourtant, le deuxième chromosome X féminin n'aboutit pas à une « surproduction » des protéines du fait du mécanisme de l'inactivation que subit aléatoirement l'un des deux gonosomes féminins (paternel ou maternel) qui va se transformer en un amas d'hétérochromatine dite **corpuscule de Barr**, sauf dans certain cas d'anomalies où l'inactivation cible le X porteur d'anomalie au profit du deuxième X normal [28].

Cependant, 15% des gènes échappent à l'inactivation, notamment, les gènes de la région pseudo-autosomique PAR 1 et 2 commune à l'X et à l'Y, ainsi que les gènes situés principalement sur le bras court de l'X. Certains de ces gènes ont un équivalent fonctionnel sur l'Y, ce qui prouve la théorie de compensation du dosage entre le matériel génétique féminin et masculin [29].

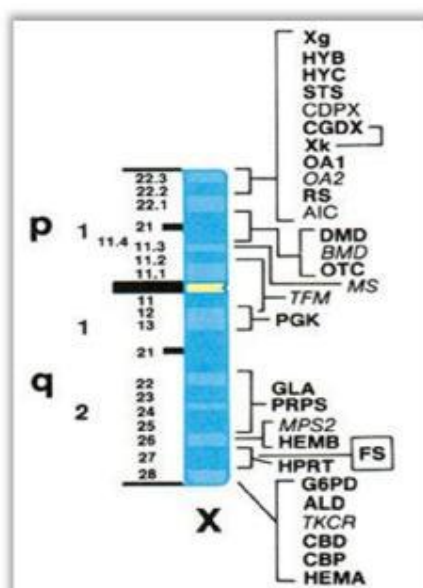


Figure 20 : Chromosome X avec les différents gènes

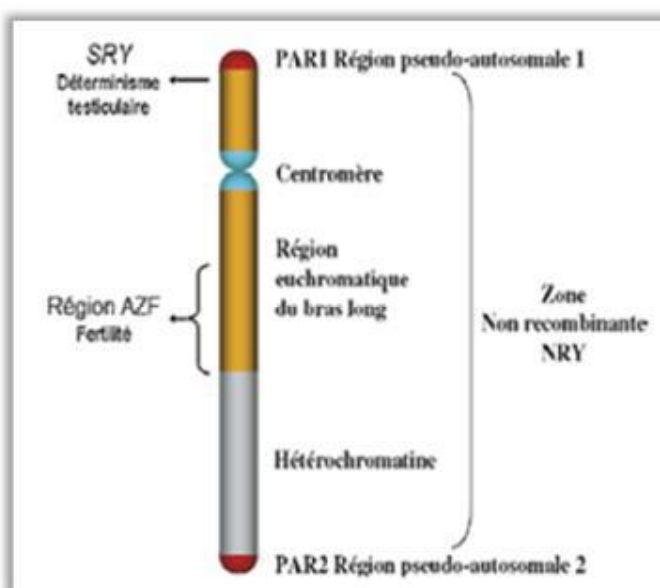


Figure 21 : Structure du chromosome Y

Le chromosome Y (figure 21) est le petit chromosome présent exclusivement et en une seule copie chez l'homme et représente 1,5% à 2% de l'ADN total, il s'étend sur environ 57Mb renfermant 104 gènes [29] dont les deux fameux gènes mâle-spécifiques, le gène responsable de la spermatogénèse *AZF*, et le gène du déterminisme testiculaire *SRY* qui déclenche une cascade moléculaire d'activation/répression aboutissant à la différenciation des gonades en testicules pendant la vie embryonnaire (voir plus loin)[10].

Les études ont montré que, grâce à ce gène, quel que soit le nombre de chromosomes X, la différenciation se fait vers le sexe masculin lorsqu'un seul chromosome Y normal est présent [10], comme le montre le tableau 1 :

Tableau 1 : Relation génotype phénotype [10]

Formule chromosomique	Différenciation sexuelle	Phénotype
46,XX	Féminin	Femme
47,XXX	Féminin	Femme
45,X	Féminin	Syndrome de Turner (létalité embryonnaire fréquente)
46,XY	Masculin	Homme
47,XXY	Masculin	Syndrome de Klinefelter
47,XYY	Masculin	Disomie Y
46,XY q- ou 46,Xi(Yp)	Masculin	Infertilité masculine
46,XY p- ou 46,Xi(Yq)	Dysgénésie gonadique	Féminin
45,Y		létal

Il faut noter que seul 5% du chromosome Y (à proximité des télomères) peut se recombiner avec le chromosome X, et que la zone autour des gènes déterminant le sexe est inhibée, de telle sorte qu'aucun crossing-over avec le chromosome X ne soit possible à cet endroit, sans cela, des incohérences sexuelles apparaîtraient trop fréquemment [29].

4- Facteurs génétiques

Outre les facteurs gonosomiques, le processus de la différenciation sexuelle est contrôlé par plusieurs gènes étalés aussi bien sur les autosomes que sur les gonosomes.

a) Stade indifférencié

Les principaux gènes impliqués dans le développement des gonades bipotentielles sont *WT1*, *LHX9*, *GATA4*.

 **WT1** (pour Wilms Tumor 1), le gène associé à la tumeur de Wilms, est localisé sur le bras court du chromosome 11 [27], il code pour des protéines à doigts de zinc, qui agissent comme des régulateurs transcriptionnels, notamment, *WT1* +*KTS* et -*KTS* [22], l'isoforme +*KTS* paraît un régulateur important de *SRY* dans la

détermination gonadique[30, 31], alors que l'isoforme *-KTS* peut activer le promoteur *SF1* in vitro et in vivo, comme l'avait démontré Wilhelm et Englert [32].

Au cours du développement, les deux isoformes de *WT1* s'expriment dans la gonade bipotentielle puis dans les cellules de Sertoli du testicule et dans les cellules de la granulosa de l'ovaire [10]. des études ont montré que *WT1* est impliqué dans le développement précoce de la gonade [27], il a été suggéré, aussi, que *WT1* serait responsable de la migration des cellules germinales primordiales de l'épithélium coelomique vers la crête génitale pour donner les cellules de Sertoli [33], des mutations hétérozygotes de *WT1* ont été retrouvées chez des sujets associant des dysgénésies gonadiques XY avec des anomalies ou des tumeurs rénales (syndrome de Denys-Drash ou syndrome de Frasier) [34, 35].

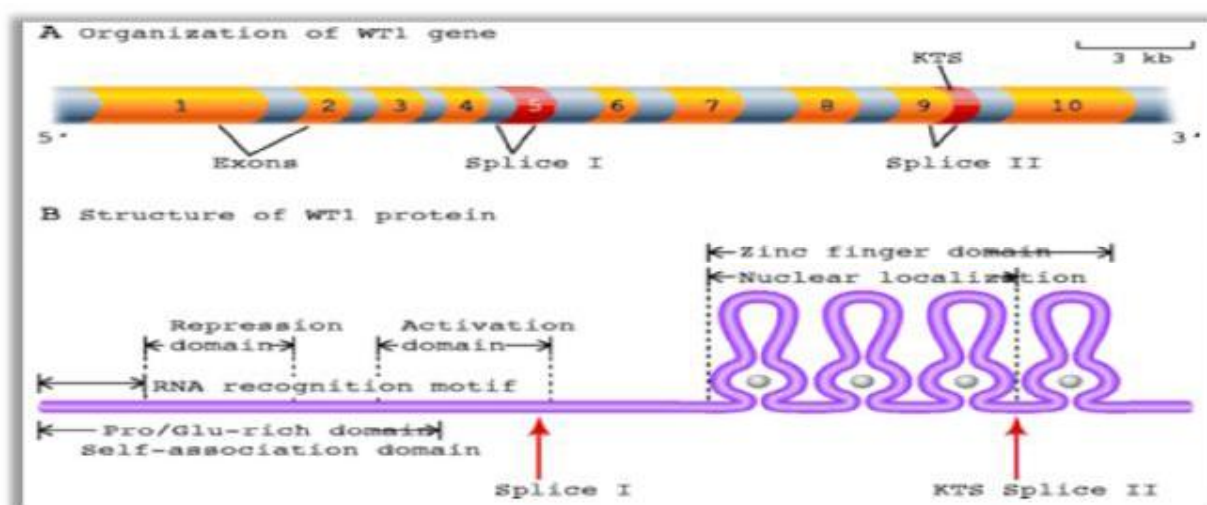


Figure 22 : Organisation du gène et de la protéine de *WT1*. [166]

✚ ***LHX9*** est un gène homéotique qui s'exprime très tôt dans les crêtes urogénitales et, en son absence, ces cellules ne prolifèrent pas et il n'y aura pas formation de gonades [27]. Chez les sujets à crêtes génitales déficientes en *LHX9*, l'expression du facteur stéroïdogénique 1 (*SF1*), un récepteur nucléaire essentiel pour la gonadogénèse, est réduite à des niveaux minimaux, ce qui indique que *LHX9* peut se situer en amont de *SF1* dans la cascade de développement. Les mutants en *LHX9* ne présentent pas d'autres grands défauts de développement [36].

✚ Le gène ***GATA4*** code pour un facteur de transcription et s'exprime dès 11,5 jours post-conceptionnels dans les cellules somatiques des crêtes génitales. Il régulerait l'expression de différents gènes exprimés dans les gonades codant pour des enzymes de la stéroïdogénèse, l'inhibine alpha et l'AMH [37]. Il est impliqué également dans la détermination sexuelle [38]. des mutations dans *GATA-4* ont été associées à des malformations auriculaires, septales du cœur ainsi qu'à des ambiguïtés génitales de certains individus 46,XY [39].

✚ Les gènes ***EMX2* et *PAX2*** sont également impliqués dans la formation précoce de la gonade bipotentielle [39].

b) Différenciation des testicules

La différenciation des testicules est régie principalement par le fameux gène *SRY* ainsi que par *SF1* et *SOX9*.

✚ Le gène du déterminisme testiculaire ***SRY*** (sex-determining region of the Y), initialement appelé *TDF* (testis determining factor), a tiré sa nomenclature de son rôle crucial dans la détermination du sexe masculin qui était recherché dès 1966 par Jacobs et Ross [40], et finalement prouvé en 1990 par la mise en évidence d'une mutation ponctuelle chez une femme XY [41,

42]. le gène *SRY* est localisé sur le chromosome Y p11.32 au niveau du bras court près de la région pseudo autosomique, il code pour un facteur de transcription de 204 acides aminés, renfermant un motif de 79 acides aminés qui présente une homologie avec les protéines de la famille *HMG* (High Mobility Group) (figure 23). Cette boîte *HMG* correspond à un domaine de liaison à l'ADN [10]. Les premières études ont révélé que *SRY* est exprimées peu de temps après l'émergence des crêtes génitales par l'action de *WT1* et *SF1*, les précurseurs des cellules de Sertoli sont les premiers types cellulaires où *SRY* s'exprime [22, 43], en effet, *SRY* jette clairement une commande moléculaire pour engager une cascade d'événements moléculaires « mâle-spécifique », mais la continuité de l'expression de *SRY* n'est pas requise pour le déroulement de ces événements.

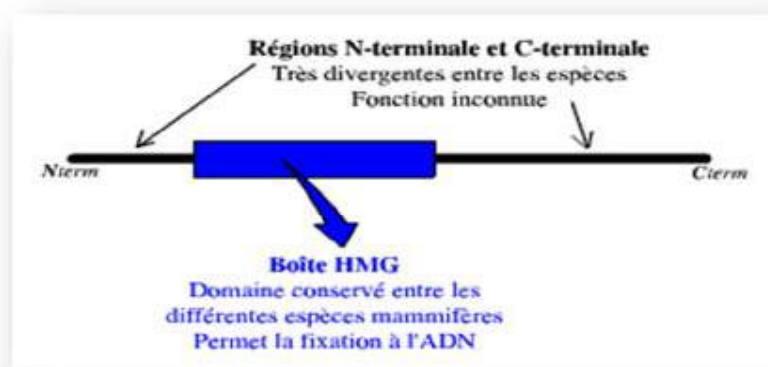


Figure 23 : Boîte *HMG* du gène *SRY*

Le domaine *HMG*, joue un rôle central, étant la seule région conservée entre les espèces et le site de presque toutes les mutations cliniques causant des dysgénésies gonadiques XY [39]. En effet, Des analyses structurales fines ont montré qu'après liaison via la boîte *HMG*, l'ADN cible subit un changement profond de conformation et il y'aura une courbure de 70-80° qui va permettre le rapprochement et l'interaction

entre des facteurs de transcription présents sur le gène cible de *SRY* et qui sont, à l'état normale, éloignés les uns des autres [43].

En ce qui concerne sa cible, Il semble que *SRY* agit sur un seul gène, *SOX9*, dont l'expression est alors rapidement renforcée par des boucles de régulation positive, *SOX9* entraîne alors la formation des cellules de Sertoli et, par conséquent, la différenciation des testicules. Si *SRY* est absent ou muté, *SOX9* est réduit au silence, ce qui cède au développement des cellules folliculaires et à la formation de l'ovaire. [39]

Certaines mutations de *SRY* causent des **femmes 46,XY** avec dysgénésie gonadique pur [44], pourtant, les troubles de différenciation sexuelle en relation avec le gène *SRY* ne sont pas toujours dus à des mutations. En fait, l'existence du gène *SRY* dans un endroit très proche à la région pseudo-autosomique PAR1 (qui subit obligatoirement des recombinaisons avec son homologue sur l'X) le rend capable de se transloquer sur l'X dans une recombinaison aberrante ce qui explique 90 % des **males 46,XX** [41, 45, 46].

Cependant, pour expliquer le cas des hommes XX à *SRY* négative et celui des femmes XY à *SRY* positive, McElreavey et al. ont proposé une hypothèse de double répression dans la voie du déterminisme testiculaire selon laquelle, *SRY* antagoniserait un facteur Z, non encore identifié, lui-même responsable de blocage des gènes mâle-spécifique. Ainsi **les hommes XX à *SRY* négatif** pourraient présenter une mutation récessive de ce gène Z qui l'empêcherait alors d'inhiber la voie de différenciation testiculaire, et **les femmes XY à *SRY* positif** (non muté) pourraient, quant à elles, présenter une mutation de ce gène Z le rendant insensible à l'action de *SRY*, ce qui entraînerait le maintien de la répression des gènes testiculaires (figure 24)[47]. Mais, à ce jour, aucune véritable expérience n'a encore permis de vérifier cette théorie.

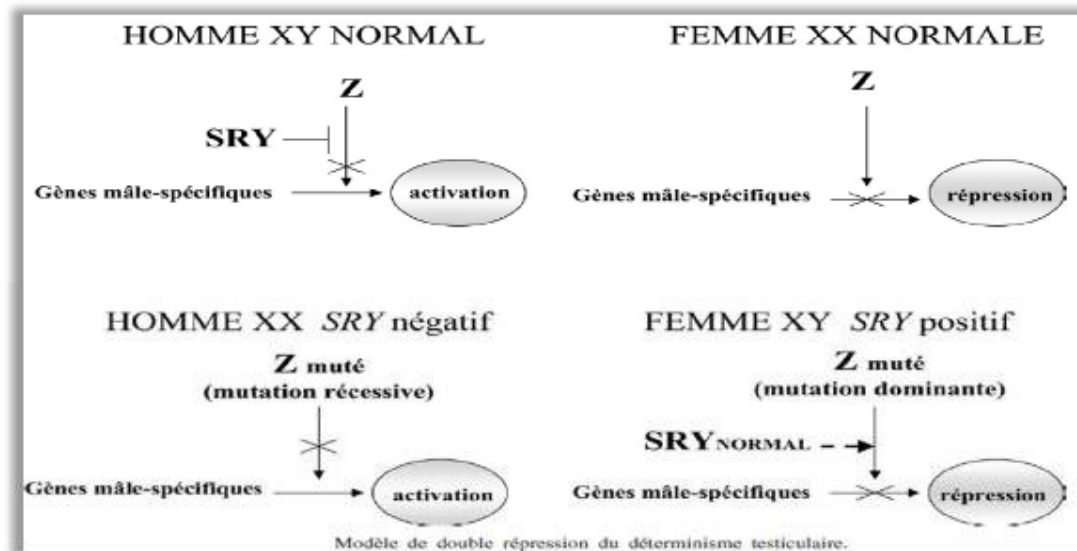


Figure 24 : Model du facteur Z [10]

Le facteur *SF1* (Steroidogenic Factor 1) dont le gène est localisé en 9q33, est un membre de la famille des récepteurs nucléaires orphelins, C'est un facteur de transcription, dont le domaine de liaison à l'ADN est formé de deux doigts de zinc et dont l'extrémité C-terminale contient un domaine riche en proline, souvent retrouvé dans les domaines d'activation de la transcription [48].



Figure 25 : Représentation schématique de *SF1* (à droite les doigts de zinc de *SF1*) [167]

Le profil d'expression de *SF-1* est compatible avec son rôle central dans la régulation de la détermination et de la différenciation des gonades [39]. En effet, l'expression de *SF-1* a été démontrée dans les gonades bipotentielles dès le 32-33 jour post-conceptionnel [49, 50]. Ensuite, chez le mâle au début de la formation des testicules (dès approximativement 42 jour) l'expression de *SF-1* est systématiquement maintenue dans les cellules somatiques, où il peut jouer un rôle crucial avec *SRY* dans le soutien de l'expression de *SOX9* [51]. Dans les cellules de Sertoli, *SF-1* active l'expression de l'AMH à 7 semaines de gestation, ce qui conduit à la régression des structures de Müller chez le fœtus male en développement. Alors que dans les cellules Leydig, *SF-1* active l'expression du système enzymatique stéroïdogène à 8 semaines de gestation, ce qui engendre l'androgénisation des organes génitaux externes [39]. Chez les femelles, l'expression persistante de *SF-1* a été signalée dans le début du développement de l'ovaire chez l'humain [50]. Toutefois, le rôle exact que *joue SF-1* dans l'ovaire n'est pas clair.

Les mutations dans le gène codant pour *SF1* aboutissent à un spectre phénotypique assez large allant d'une dysgénésie testiculaire avec des structures de Müller, jusqu'aux ambiguïtés génitales [52]. Bien qu'il soit non essentiel pour la détermination de l'ovaire [53], les mutations hétérozygotes de *SF1* ont récemment été liées à une insuffisance ovarienne chez la femme [54].

✚ Le gène *SOX9* (*SRY*- related *box9*), localisé sur le chromosome 17q24, appartient à la famille de gènes *SOX* (*SRY*-related *box*) ayant un rôle de facteur de transcription durant l'embryogenèse. Ce gène code pour une protéine de 509 acides aminés contenant une boîte *HMG* et présentant 71 % d'homologie avec *SRY* et un domaine de transactivation en C-terminal.

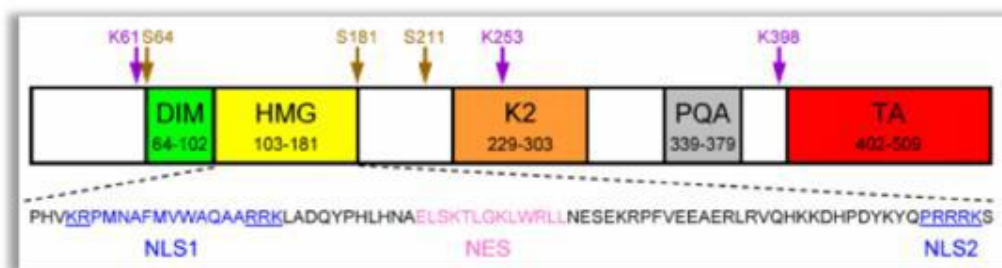


Figure 26 : Représentation schématique de *SOX9* d'après Ralf Kist. *Sox9 Mus musculus* SRY-box containing gene 9. A worldwide collaboration of transcription factor experts

SOX9 s'exprime tout au long du développement des cellules de Sertoli. Il serait impliqué dans l'initiation et le maintien de l'expression des gènes spécifiques de ces cellules [10]. *SF1* est un bon candidat pour l'initiation ou la sensibilisation de l'expression de *SOX9* au niveau des crêtes génitales des deux sexes car cette expression est annulée dans des gonades dont le *SF1* est muté [55, 56]. Ensuite, *SOX9* est régulée à la hausse chez le mâle par l'action de *SRY* avec *SF1*, alors qu'il est régulé à la baisse chez la femelle en raison de l'absence de *SRY*. Après l'arrêt de l'expression transitoire de *SRY*, des niveaux élevés de *SOX9* ont été maintenus par son autorégulation directe et via la signalisation de *FGF9* [39]. Un homme XX qui présentait une large duplication du chromosome 17 incluant *SOX9* a été le premier exemple d'une réversion sexuelle non causée par *SRY* chez l'homme [57]. Cela confirme d'une part, que *SOX9*, comme *SRY*, est capable d'induire le développement mâle chez un individu XX [10], et montre, d'autre part, l'importance du dosage d'expression génique [27].

✚ Le gène *CBX2* a été identifié comme agent essentiel pour le développement normal des gonades masculines humaines, et l'on a suggéré qu'il se trouve en amont de *SRY* dans la cascade du développement sexuel. Des études fonctionnelles ont démontré que *CBX2* muté ne se lie pas correctement au gène

cible et ne régule pas suffisamment l'expression de ces gènes cibles tels que *SF1*, qui sont essentiels pour le développement du sexe [58].

✚ Les gènes *DMRT1*, *DHH*, *ATRX*, *TSPYL1*, *MAMLD1* et *PGD2S* sont également impliqués dans la différenciation testiculaire [39].

c) La différenciation des ovaires

On pensait traditionnellement que la détermination gonadique dans le sens ovarien se produisait simplement en l'absence de déterminant testiculaire (par défaut), pourtant certains gènes se sont avérés primordiaux pour la différenciation normale des ovaires, notamment, *DAX1*, *WNT4*, *RSPO1*, *FOX L2*.

▼ **Le gène *DAX1*** (*DSS-AHC* critical region on human X chromosome gene 1) localisé à l'intérieur du locus *DSS* au niveau de l'Xp21, code pour un récepteur nucléaire orphelin, ce gène régulé par *WT1* est exprimé précocement dans la gonade bipotentielle, Son expression disparaît ensuite dans la gonade mâle, mais reste maintenue dans la gonade féminine [10, 27]. Des études ont montré que *DAX1* se lie à *SF1* pour le réprimer dans les gonades indifférenciées et dans les tissus stéroïdiens [39]. *DAX1* est également un inhibiteur de l'expression de *SRY* qui entraîne l'inversion du sexe, toutefois, cette inhibition ne s'exerce que si l'expression de *SRY* est faible (ce qui est démontré chez la souris) ou en cas de surexpression de *DAX1* (comme le cas de duplication), ceci suggère une dépendance de dosage d'expression génique. Les mutations de ce gène sont responsables de l'hypoplasie congénitale des surrénales [59, 60].

▼ **Le gène *WNT4*** (Wingless-Type *MMTV* integration site family, member 4) Localisé en 1p35, code pour une molécule de signalisation extracellulaire, cette protéine est produite dans les cellules somatiques de l'ovaire (cellules pré-granulosa).

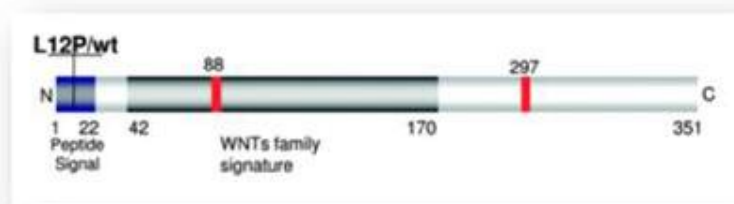


Figure 27 : Structure de *WNT4* [168]

Jordan et al. ont montré que dans les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig, *WNT4* régule positivement *DAX1*. Ils ont ainsi proposé une explication possible à une réversion sexuelle XY associée à une duplication de la région 1p35-p31 incluant *WNT4*. La surexpression de *WNT4*, conduisant à une sur-régulation de *DAX1*, entraînerait un phénotype féminin XY, c'est une inversion sexuelle masculin-féminin [61]. Les deux gènes *DAX1* et *WNT4* seraient donc partenaires dans le contrôle du développement féminin et dans la prévention de la formation testiculaire. Ils pourraient donc être des constituants du répresseur Z précédemment décrit ou agir en synergie avec lui [10] lorsque les deux copies du gène sont inactives, comme dans le cas de mutations homozygotes, il en résulte le syndrome Serkal caractérisé par une inversion sexuelle femelle-mâle avec des organes génitaux ambigus, une morphologie des gonades allant de ovo-testicules aux testicules normales, agénésie rénale et une hypoplasie des surrénales [61].

V *FOXL2* est un gène à unique exon codant pour un facteur de transcription [62]. Chez les vertébrés, *FOXL2* est l'un des premiers marqueurs connus de la différenciation de l'ovaire [63]. Ainsi, elle peut jouer un rôle dans la phase précoce de développement du compartiment somatique ovarien. Malgré l'importance de *FOXL2* dans le développement et le maintien de l'ovaire, seuls quelques-unes des cibles internationales de transcription ont été décrites à ce jour [64, 65].

V D'autres gènes et protéines sont impliqués dans la différenciation des ovaires mais moins connus, notamment, *β -caténine*, *bRSPO1*, *BMP15*, *GDF9* et *NOBOX*, dont les mutations entraînent une insuffisance ovarienne prématurée [39].

N.B : les différents facteurs génétiques sont résumés sur la figure 28.

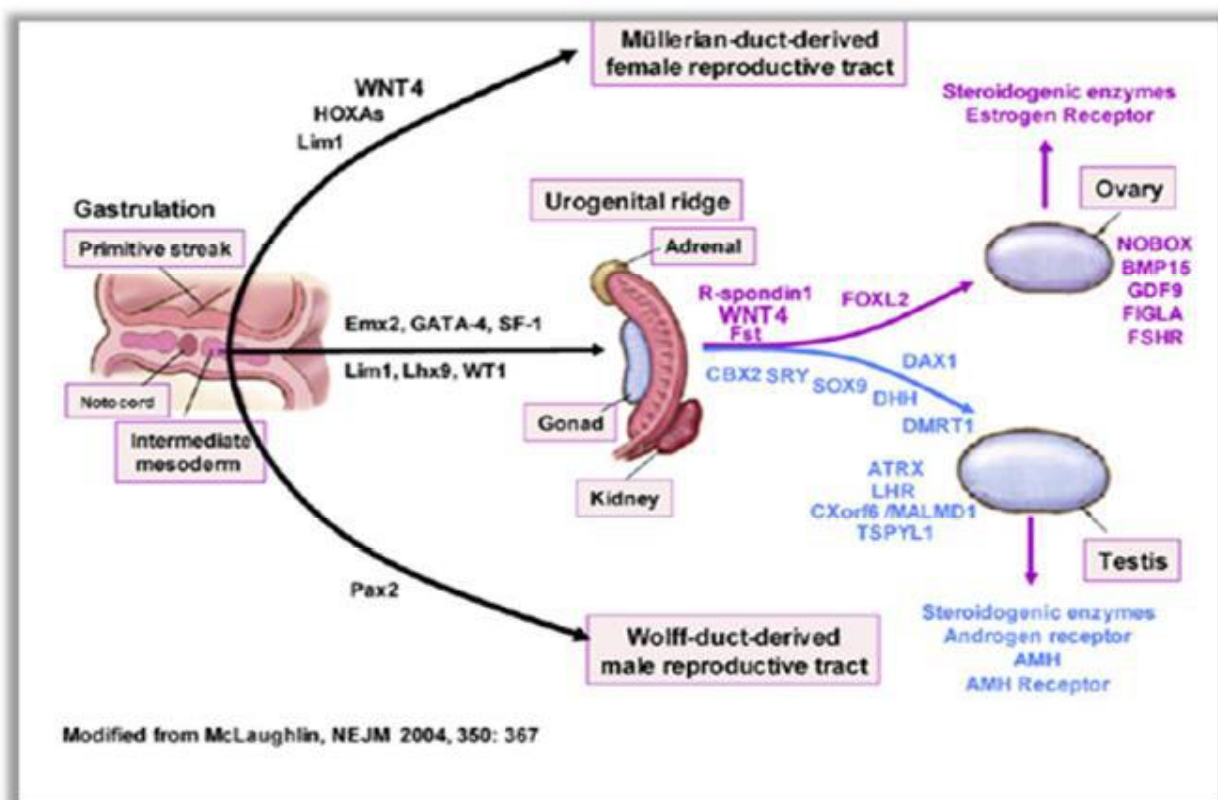


Figure 28 : Les différents gènes impliqués dans le processus de différenciation sexuelle [169]

d) Interaction entre les différents gènes

Après la mise en place de la crête génitale bipotentielle par plusieurs gènes, l'expression précoce de *SF1* et *WT1* initie aussi celle de *SOX9* dans les deux sexes.

La *β -caténine* commence également à s'accumuler en tant que réponse à *RSPO1* et *Wnt4*. Dans les cellules XX, les niveaux de *β -caténine* s'accumulent pour réprimer l'activité *SOX9*. Dans les cellules XY, la contribution de *CBX2*, qui augmente le niveau de *SF1* active l'expression de *SRY*, cette dernière avec *SF1*, augmente l'expression de

SOX9. *CBX2* influence directement l'expression de *SF1* et peut le faire indirectement en supprimant la répression *DAX1* sur *SF1*. Une fois les niveaux de *SOX9* atteignent un seuil critique, plusieurs boucles de régulation positive sont lancées, y compris l'autorégulation de son propre expression. *SOX9* favorise la voie des testicules, y compris l'activation d'AMH, et probablement il réprime également les gènes de l'ovaire *WNT4* et *FOXL2*. Si l'activité *SRY* est faible, lente ou tardive, elle ne parvient pas à stimuler l'expression de *SOX9* avant que la β -caténine ne s'accumule à des niveaux suffisants pour le réprimer. A des stades plus tardifs, dans les gonades XX, *FOXL2* augmente et peut maintenir la différenciation des cellules de granulosa (follicule) en réprimant l'expression de *SOX9* [39] (Figure 29).

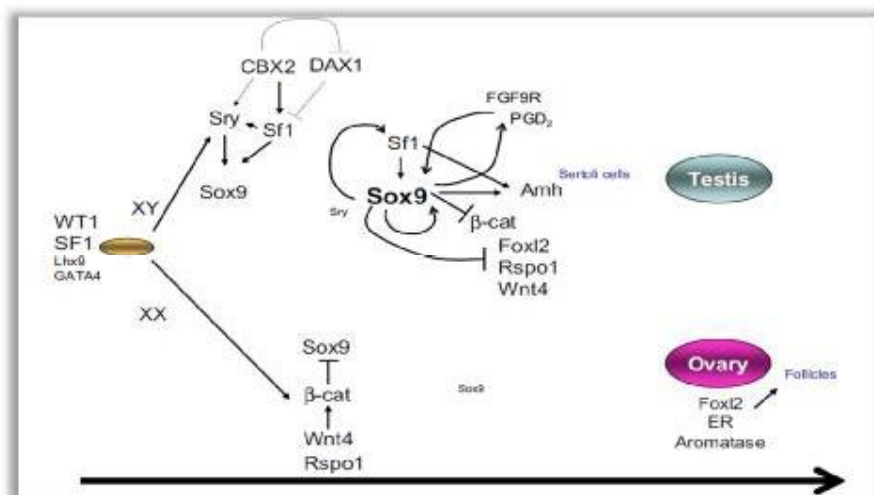


Figure 29 : Chronologie simplifiée de l'interaction entre les gènes impliqués dans la différenciation sexuelle

5- Facteurs hormonaux

Les facteurs hormonaux, quant à eux, interviennent principalement dans la différenciation des canaux de Müller et de Wolff et du tractus urogénitale. Les hormones impliquées sont secrétées essentiellement par les testicules. Il s'agit de l'AMH, de la Testostérone et de son dérivé la DHT, ainsi que le récepteur aux androgènes.

La fonction endocrine de l'ovaire est certainement moins essentielle au développement du phénotype féminin, qui apparaît surtout comme la conséquence d'une absence de sécrétion testiculaire [27].

Le gène de l'AMH (*hormone antimüllérienne*) est situé sur le chromosome 19 et code pour une protéine de 140 Kd. Sa production au niveau des cellules de Sertoli est sous le contrôle de plusieurs facteurs qui se fixent sur son promoteur : *SOX9*, *SF1*.... (figure 30).

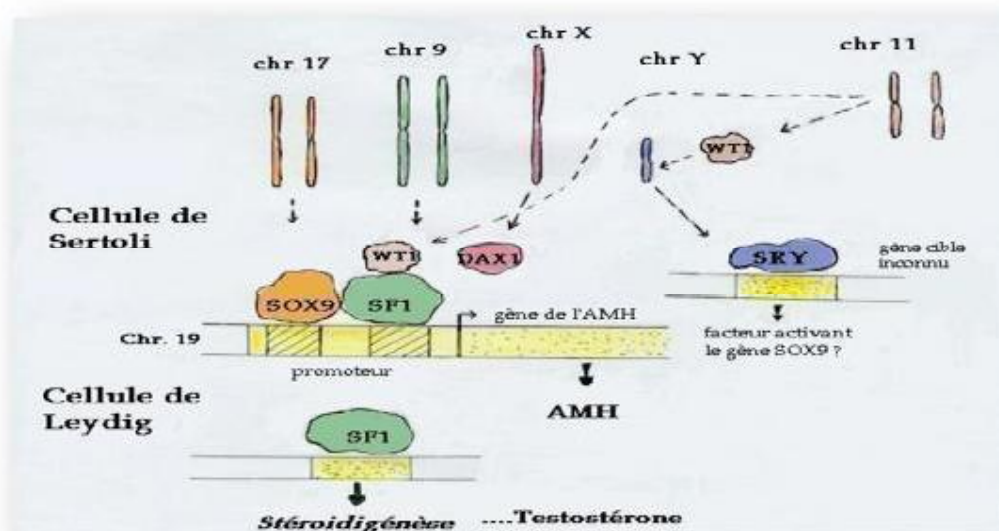


Figure 30 : Schéma représentant la régulation de l'AMH

Cette hormone déclenche une réponse biologique de ses cellules cibles par l'intermédiaire de deux récepteurs transmembranaires (types I et II). Cette hormone provoque une régression rapide des canaux de Müller. Les mutations inactivatrices du gène de l'AMH ou de son récepteur de type II ont été décrites et sont responsables du syndrome de persistance des canaux de Müller. Les hommes atteints ont un phénotype masculin normal mais présentent une cryptorchidie, un utérus et des trompes [10].

La testostérone est une hormone synthétisée par les cellules interstitielles de Leydig du testicule fœtal soit à partir de la progestérone circulante qui est formée dans le placenta, soit à partir du cholestérol, via une cascade moléculaire impliquant plusieurs enzymes (voir figure 31). La testostérone permet le développement des canaux de Wolff et

des organes génitaux externes mâles. Elle traverse la membrane cellulaire de la cellule-cible sous sa forme libre pour y être réduite en dihydrotestostérone (DHT) par une enzyme spécifique, la 5 α -réductase [66]. La DHT se lie ensuite au récepteur des androgènes (AR), protéine soluble, pour activer la transcription des gènes-cibles. Un défaut de synthèse des androgènes entraîne un défaut de masculinisation du fœtus. Une situation proche est représentée par le déficit en 5 alpha-réductase qui empêche la transformation de la testostérone en dihydrotestostérone nécessaire à la masculinisation des organes génitaux externes chez le fœtus. Ces enfants 46,XY ont donc un phénotype féminin à la naissance et sont élevées en tant que filles mais vont se masculiniser à la puberté quand elles deviendront directement sensibles à la testostérone [10].

 Le gène AR du récepteur aux androgènes est porté par le chromosome X, il s'étend sur plus de 90 kb, il code pour un facteur de régulation de la transcription de 919 acides aminés appartenant à la famille des récepteurs nucléaires. Des mutations de ce gène sont responsables du syndrome d'insensibilité totale ou partielle aux androgènes entraînant soit un phénotype externe féminin normal soit des ambiguïtés sexuelles chez les individus XY [10].

 D'autres hormones sont également impliquées, il s'agit de l'*INSL3* responsable de la descente des testicules et la *Prostaglandine D2* qui agit de façon paracrine sur la différenciation des cellules de Sertoli.

III. Troubles de différenciation sexuelle, mécanisme et aspect

1. Nomenclature et classification

Après avoir illustré le déroulement du processus physiologique de la différenciation sexuelle ainsi que le système complexe qui le contrôle, on peut facilement comprendre l'étiologie et le mécanisme et donc, le phénotype des différents troubles pouvant survenir à chacune des étapes du développement sexuel.

Dans un premier temps, toute apparence génitale ambiguë désignée, pendant des années, par le vocable "inter sexe" est classée par l'équipe médicale sous l'un des

termes "hermaphrodisme", "pseudohermaphrodisme masculin" ou "pseudohermaphrodisme féminin". Ceci constituait une source de malaise aux patients et à leur famille. En 2005, Derger et ses collègues ont proposé le remplacement du mot "intersexe" par le terme "troubles de différenciation sexuelle" résumé par l'abréviation "DSD" provenant du mot anglais "disorders of sex development" [67]. Cette proposition a été prise en considération en Novembre 2005 lors de la réunion du consensus de Chicago (*LWPES-ESPE*) [68, 69], qui a remplacé les anciens termes par une nouvelle terminologie constituée de l'abréviation DSD avec un préfixe basé sur le caryotype (tableau 2). Ainsi, la problématique de nomenclature a été résolue, ce qui a permis une large acceptation par le public.

Tableau 2 : Nomenclature traditionnelle et nouvelle des troubles de différenciation sexuelle

Previous	Proposed
Intersex	Disorders of sex development (DSDs)
Male pseudohermaphrodite	46,XY DSD
Undervirilization of an XY male	
Undermasculinization of an XY male	
Female pseudohermaphrodite	46,XX DSD
Overvirilization of an XX female	
Masculinization of an XX female	
True hermaphrodite	Ovotesticular DSD
XX male or XX sex reversal	46,XX testicular DSD
XY sex reversal	46,XY complete gonadal dysgenesis

Cependant, le groupe consensus n'a pas spécifié les conditions qui définissent précisément l'appartenance à chacune de ces catégories [70], ainsi plusieurs classifications ont été proposées par la suite, notamment, celle suggérée par Hughes et coll. [71] (tableau 3), celle d'Ian A. Aaronson et coll. [70] (voir annexe 2) et celle de M. Barbaro et coll. qui répartit les troubles de différenciation sexuelle en DSD gonadique et DSD post-gonadique [72].

Chaque classification se base sur une certaine logique, aucune d'entre elles n'est parfaite tant que la génétique moléculaire apporte continuellement du nouveau.

De notre côté, on va adopter le model de classification suggérée par Hughes et coll. [71](tableau3) Qui, d'une part, prend en considération la nouvelle nomenclature, et d'autre part, classe les troubles de différenciation sexuelle selon le caryotype en classe de 46,XY DSD ou troubles de différenciation sexuelle 46,XY, classe de 46,XX DSD ou troubles de différenciation sexuelle 46,XX, alors que les troubles du sexe chromosomique regroupant les 45,X; 47,XXY et différents mosaïsmes sont classés à part.

Tableau 3 : Classification des troubles de différenciation sexuelle selon Hughes

Table	An example of a DSD classification	
Sex chromosome DSD	46,XY DSD	46,XX DSD
A: 45,X (Turner Syndrome and variants)	A: Disorders of gonadal (testicular) development 1. Complete gonadal dysgenesis (Swyer syndrome) 2. Partial gonadal dysgenesis 3. Gonadal regression 4. Ovotesticular DSD	A: Disorders of gonadal (ovarian) development 1. Ovotesticular DSD 2. Testicular DSD (e.g. SRY+, dup SOX9) 3. Gonadal dysgenesis
B: 47,XXY (Klinefelter Syndrome and variants)	B: Disorders in androgen synthesis or action 1. Androgen biosynthesis defect (e.g. 17-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency, 5 α reductase deficiency, StAR mutations) 2. Defect in androgen action (e.g. CAIS, PAIS) 3. LH receptor defects (e.g. Leydig cell hypoplasia, aplasia) 4. Disorders of AMH and AMH receptor (Persistent Mullerian Duct Syndrome)	B: Androgen excess 1. Fetal (e.g. 21 hydroxylase deficiency, 11 hydroxylase deficiency) 2. Fetoplacental (aromatase deficiency, POR) 3. Maternal (luteoma, exogenous, etc.)
C: 45,X/46,XY (mixed gonadal dysgenesis, ovotesticular DSD)	C: Other (e.g. severe hypospadias, cloacal extrophy)	C: Other (e.g. cloacal extrophy, vaginal atresia, MURCS, other syndromes)
D: 46,XX/46,XY (chimeric, ovotesticular DSD)		

2. Troubles de différenciation chromosomique

Ce volet regroupe les différentes anomalies gonosomiques, à savoir, la monosomie, les mosaïsmes...

a) **47.XXY – syndrome de Klinefelter**

En 1942, Klinefelter décrit pour la première fois le syndrome qui porte aujourd'hui son nom [73]. Alors qu'en 1959, Jacob et Strong rattachaient la symptomatologie clinique du syndrome de Klinefelter à la présence d'un chromosome X supplémentaire réalisant la formule caryotypique 47,XXY.

Le *syndrome de Klinefelter* touche environ 1 homme sur 600, il est lié à la présence d'un chromosome X supplémentaire chez des sujets masculin. L'anomalie peut résulter d'une non-disjonction méiotique aussi bien maternelle (53 %) que paternelle (47 %)[74]. Ainsi, la fécondation d'un ovule XX par un spermatozoïde Y aussi bien que celle d'un ovule X par un spermatozoïde XY aboutit à la constitution d'un zygote 47,XXY. Plus rarement, ce caryotype est la conséquence d'une anomalie de mitose au cours des premières divisions du zygote, aboutissant à deux types de cellules filles : XXY et Y. Cette dernière n'étant pas viable, seule persiste la lignée XXY. Le caractère plus ou moins tardif de la survenue de cette anomalie explique l'origine des mosaïques 46,XY/47,XXY puisque seule une partie de la population cellulaire est concernée par la polygonosomie [75].

Les sujets atteints viennent généralement consulter à l'âge adulte pour impuissance, voire libido insuffisante et/ou gynécomastie, stérilité.

L'examen permet d'emblée de constater la grande taille, le morphogramme macroskèle et gynoïde (diamètre bitrochantérien > diamètre bideltaïdien), la pilosité peu fournie, souvent à limite horizontale au niveau pubien et, surtout, les testicules petits et scléreux.

Le taux de testostérone plasmatique est normal, plutôt à la limite inférieure de la zone normale. Le rapport des taux plasmatiques d'estradiol et de testostérone est supérieur de deux à quatre fois au rapport normal. Le taux plasmatique de FSH est considérablement augmenté et signe l'insuffisance gonadique au niveau de la lignée

germinale. L'examen du spermogramme montre une azoospermie ou une oligoasthénospermie sévère.

La biopsie testiculaire doit être évitée. L'aspect histologique serait normal jusqu'à la puberté avec des spermatogonies présentes mais en nombre limité. À l'adolescence, la lignée spermatique s'arrête au stade des spermatocytes, puis finalement disparaît. La vitrée des tubes séminifères s'épaissit, l'atrophie des éléments sertoliens aboutit à une dégénérescence hyaline des tubes avec fibrose interstitielle. Les cellules de Leydig sont nombreuses et groupées en amas.

Le traitement doit être envisagé aussi précocement que possible entre 11 et 13 ans lorsque le taux des gonadotrophines commence à s'élever. L'androgénothérapie substitutive doit être mise en œuvre dès l'amorce pubertaire, d'autres thérapies peuvent être envisagées selon la demande, à savoir, la mastectomie chirurgicale en cas de gynécomastie gênante, traitement androgénique de soutien en cas d'impuissance sexuelle [75,27].

b) 45,X – syndrome de Turner

La description du syndrome de Turner (ST) a été faite en 1938 par Henry Turner, mais, ce n'est qu'en 1957 que C.-E. Ford a découvert la monosomie de l'X. Par la suite, d'autres anomalies ont été décrites (délétion, isochromosome, chromosome dicentrique et mosaïques de l'X) ainsi le tableau clinique s'est diversifié [76].

Le syndrome de Turner est une maladie génétique rare qui atteint un sur 2500 nouveau-nés féminins. 50 % des cas ont une monosomie (45,X), les autres formes étant constituées essentiellement par des mosaïques (45,X/46,XX, etc.) et plus rarement par d'autres anomalies de structure du chromosome X [77]. L'absence partielle ou totale du deuxième chromosome X, et donc, l'haplo-insuffisance des gènes "femelles-spécifiques" situés sur l'X fait que les cellules germinales disparaissent, les follicules s'atrophient, les gonades deviennent de simples bandelettes fibreuses sans ovocytes ni follicules, et endocrinologiquement inertes «

gonade dysgénésique » [78]. La coélioscopie permet de vérifier la présence d'un utérus et de trompes, hypoplasiques en l'absence de stimulation androgénique. Les principales caractéristiques du syndrome de Turner associent une petite taille, un pterygion colli, un visage triangulaire, un hypertélorisme, un ptosis des paupières, des oreilles bas implantées, des cheveux bas implantés, des mamelons hypoplasiques et écartés, une insuffisance ovarienne et un raccourcissement du 4^e métacarpien, un cubitus valgus, une anomalie du plateau tibial, des nombreux nævus, des malformations cardiaques. Cette insuffisance ovarienne s'exprime plus ou moins tôt selon le stock résiduel de follicules ovariens. Elle se traduit dans trois quarts des cas par un impubérisme du fait de l'absence complète de la folliculogénèse ovarienne. Un début de développement pubertaire spontané sera observé plus fréquent dans le cas de mosaïques que dans les monosomies (40 % versus 9 %) [79, 80]. Seulement 10 % des filles auront des menstruations, les grossesses spontanées, quant à elles, représentent 2 à 5 % [81]. Pour l'insuffisance ovarienne, le traitement par estrogènes est indispensable, le but étant d'induire le développement des caractères sexuels secondaires, prévenir l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires [76].

La présence de matériel Y chez les filles Turner expose au risque du développement d'un **gonadoblastome**. Il s'agit d'une tumeur bénigne à potentiel malin dont la pathogénie est obscure. La région critique du développement du gonadoblastome (*GBY*) est proche du centromère de l'Y et peut être détectée par biologie moléculaire. Son incidence, initialement surévaluée, a fait l'objet d'une étude en 2000 par une équipe danoise. En effet, chez 114 femmes Turner, Gravolt et al. ont noté 12 % de matériel Y, alors que cet Y n'était pas décelé sur le caryotype standard chez la moitié d'entre elles. Chez les patientes porteuses de matériel Y, l'incidence du gonadoblastome est de 7-10% [82]. Les recommandations actuelles préconisent l'indication de la gonadectomie précoce chez ces patients positifs et une surveillance gonadique par échographie biannuelle en cas de refus [83].

c) **45.X/46.XY – dysgénésie gonadique mixte (MGD)**

La dysgénésie gonadique 45,X/46,XY dites mixtes ou asymétriques est une anomalie gonosomiques résultant de mosaïsme du chromosome Y conduisant au développement anormale des gonades. La prévalence est inconnue. Les manifestations cliniques sont très variables, allant de virilisation partielle des organes génitaux ambigus à la naissance, jusqu'à des patients avec un phénotype complètement mâle ou femelle. Ceci dépend de la proportion des cellules monosomiques par rapport aux cellules 46,XY, mais la caractéristique la plus commune des MGD est un développement asymétrique des testicules, souvent avec un testicule dysgénésique d'un côté et une rayure de gonades de l'autre. L'asymétrie des organes génitaux externes et internes peuvent également être présentes.

A la naissance, une prise en charge multidisciplinaire est recommandée dans les cas d'organes génitaux ambigus, afin de prendre la bonne décision en ce qui concerne l'attribution du sexe et la planification des procédures, notamment, la reconstruction chirurgicale de l'état des organes génitaux selon le sexe choisi. D'autre coté, la gonadectomie peut être favorisée chez les patients avec un phénotype féminin en raison du risque accru de gonadoblastome [84].

d) **46.XX/46.XY – Chimérisme**

C'est la forme la plus rare des troubles de différenciation sexuelle chez les humains, caractérisée par le développement à la fois des tissus ovariens et testiculaires. En fait, ces individus disposent simultanément d'une lignée de cellules 46,XX et une deuxième lignée 46,XY, ces deux populations sont génétiquement distinctes et sont originaires de zygotes différents. Ce phénomène de chimérisme peut se produire in vitro ou naturellement pendant la grossesse, lorsque deux zygotes non-identiques combinent, à un stade très précoce de leur développement, pour former un seul fœtus [85].

D'autres formes sont aussi impliquées dans les troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique, à savoir, 47,XXX, 47,XYY et autres..., ainsi que divers anomalies de structure (délétion, translocation, isochromosome...).

3. Troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD

Ce volet regroupe les individus génotypiquement masculins 46,XY ayant des troubles de la détermination, du développement ou de la fonction endocrinienne des gonades.

a) Troubles du développement gonadique (testiculaire)

Ces troubles surviennent lors de la morphogénèse ou de la détermination des gonades, ils comprennent les dysgénésies gonadiques complètes (pures) ou partielles, ainsi que les troubles ovo-testiculaires.

i. Dysgénésie gonadique

Elle est dite complète ou partielle selon que la gonade est réduite à une simple bandelette de stroma fibreux indifférencié, vide de cellules germinales et dépourvue d'activité endocrinienne, ou bien qu'il persiste quelques îlots de tissu testiculaire [27].

La dysgénésie gonadique complète, ou syndrome de Swyer, a été décrite pour la première fois par Swyer en 1955 et était identifié comme une nouvelle forme DSD dont les principaux traits communs sont la présence chez l'individu XY d'un utérus et vagin avec des gonades réduites à des bandelettes fibreuses qui ne secrètent aucune hormone et par conséquent, n'engendrent aucune virilisation des organes génitaux qui seront, féminins à la naissance sans ambiguïté [86].

Les patients affectés se présentent à l'âge adulte pour aménorrhée primaire associée à l'absence pubertaire [86]. L'examen biologique chez ces individus montre des niveaux de gonadotrophine élevés et une absence complète de l'AMH, de l'inhibine B et de la testostérone [17].

La dysgénésie gonadique complète résulte soit d'une aberration chromosomique soit d'une mutation des gènes qui contrôle le processus de développement gonadique, en effet, 15% des patients souffrant de ce syndrome présentent des mutations ou délétions au niveau du gène *SRY* [87].

Des mutations au niveau de *SF1* [52], *WT1* [88], *CBX2* [39] et *MAMLD1* [89], et des duplications au niveau du locus *DSS* (où figure le gène *DAX1*) [90] et de *WNT4* [39] entraînent également des dysgénésies gonadiques comme il a été montré dans le chapitre des facteurs génétiques.

Le traitement consiste d'une part, à induire la puberté par administration d'œstrogène, et d'autre part à effectuer une gonadectomie pour éliminer le risque de tumeurs malignes [86].

La dysgénésie gonadique partielle se présente sous divers degrés de défaut de virilisation des organes génitaux [17]. Il s'agit de cas où la gonade est dysgénésique mais la détermination vers la voie testiculaire a relativement eu lieu, ainsi, le tissu testiculaire peut y être identifié, et par conséquent, ces patients vont avoir des organes génitaux ambigus et un mélange de structures Wolffiennes et Müllarienes intra-abdominales dus à une insuffisance des hormones secrétées. Il faut impérativement enlever les gonades qui présentent, dans ce cas, un risque potentiel de malignité [86].

ii. DSD ovo-testiculaires

C'est le cas où les tissus ovariens et testiculaires sont tous les deux présents chez l'individu, soit qu'ils coexistent dans les deux gonades ou que chaque tissu colonise une gonade différente, dans tous les cas le phénotype dépend du degré de présence des hormones testiculaires résultant des proportions des deux tissus [91, 92].

iii. Régression testiculaire

La régression testiculaire est un cas rare où les gonades ne sont pas détectées soit par non formation, ou par régression ultérieure ainsi selon le moment de cette régression le phénotype va se diversifier allant d'un phénotype complètement féminin à une ambiguïté sexuelle jusqu'au phénotype masculin avec absence de testicules [93].

b) Troubles de synthèse ou d'action des androgènes

Ces troubles surviennent au cours de la différenciation du sexe phénotypique, lorsqu'il y a un déficit au niveau de la synthèse ou de la fonction des androgènes et de leur récepteur, notamment en présence d'anomalie de biosynthèse des hormones telles que la testostérone, la DHT, l'AMH ou en cas d'insensibilité du récepteur aux androgènes.

i. Anomalies de la biosynthèse de la testostérone

La synthèse de testostérone passe par une cascade moléculaire impliquant plusieurs enzymes clés (Figure 31).

Les blocs enzymatiques peuvent siéger à plusieurs niveaux de cette cascade entraînant des anomalies aussi bien surrénaliennes que testiculaires, et dont les formes complètes peuvent être mortelles en raison des déficits en minéralocorticoïdes et/ou glucocorticoïdes.

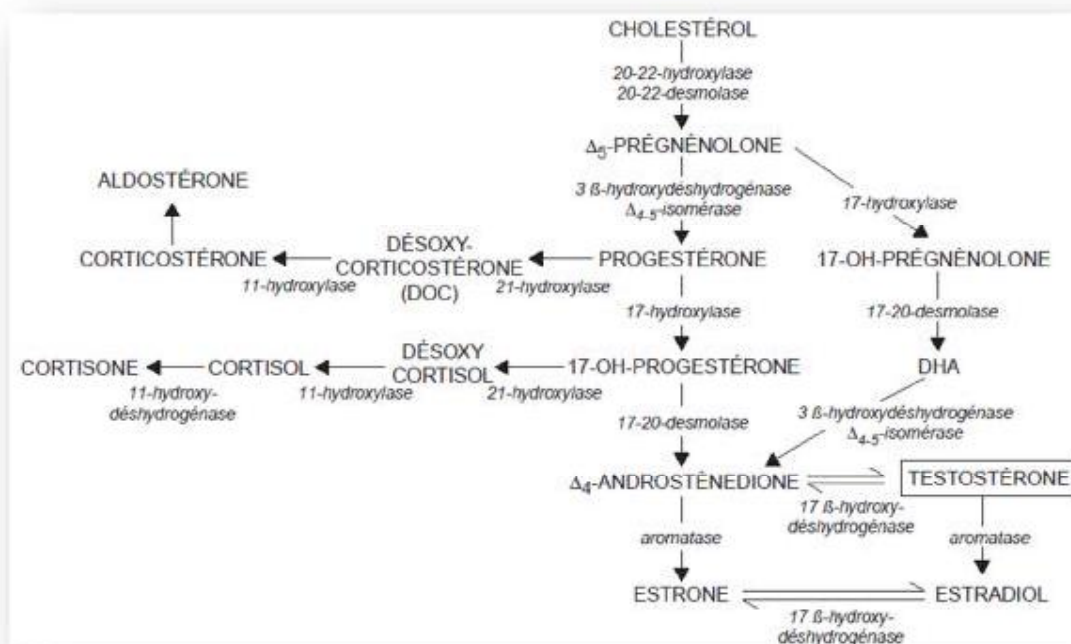


Figure 31 : Cascade moléculaire de biosynthèse des androgènes

Ces blocs, bien que rares, sont nombreux mais les plus évoqués dans la littérature sont :

▼ Le déficit par mutation du facteur *STAR* qui est responsable du transfert du cholestérol dans la mitochondrie. Ce qui entraîne l'absence totale des hormones stéroïdes, et donc, le développement d'un phénotype féminin et une perte de sel sévère avec acidose hypérkaliémique et déshydratation létale en l'absence de traitement [94]. Ce déficit cause l'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales par accumulation d'esters de cholestérol dans le cytoplasme et la destruction retardée des cellules [95].

▼ Le déficit rare en 3β -hydroxystéroïde deshydrogénase / $\Delta 4$ - $\Delta 5$ -isomérase [96] qui bloque la biosynthèse surrénalienne et testiculaire d'une part entre la $\Delta 5$ -prégnénolone et la progestérone, et d'autre part, entre la DHA et l'androstènedione. Le déficit porte essentiellement sur les glucocorticoïdes surrénaliens, et la testostérone gonadique. Lorsqu'il est complet, ce bloc entraîne un syndrome de perte

de sel à la naissance encore fréquemment mortel avec une virilisation légère des organes génitaux externes chez les femelles [97]. La forme incomplète ou encore le traitement substitutif surrénalien, permet parfois la survie. L'élévation des rapports des taux plasmatiques de 17OH-prégnénolone/progestérone et de DHA/ Δ 4-androstènedione est typique de ce bloc enzymatique [27].

▼ Déficit en 17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (17 β -HSD) : [98, 99] Parmi les nombreuses isoformes de la 17 β -hydroxystéroïde deshydrogénase, l'isoforme de type III dont le gène est situé sur le chromosome 9q22 est spécifique des gonades [100]. C'est elle qui, en cas de mutation, entraîne un déficit de la biosynthèse de la testostérone, responsable chez le sujet XY d'un défaut de virilisation. Le déficit ici est uniquement testiculaire, empêchant la transformation d'androstènedione en testostérone tandis que la fonction surrénalienne est normale. Ce déficit ne met donc pas en jeu le pronostic vital. Cette forme est caractérisée par un morphotype féminin à la naissance, puis l'apparition d'une virilisation à la puberté [20].

Plusieurs hypothèses [101, 102, 103] ont été proposées pour expliquer, d'une part, le caractère féminin des organes génitaux externes avec développement masculin des organes génitaux internes à la naissance, et d'autre part, la virilisation nette survenant à la puberté. Notamment, que les organes génitaux internes, qui sont plus proches du testicule, pourraient bénéficier par contiguïté du peu de testostérone qui y est produite pendant la vie embryonnaire, et qu'à la puberté, la transformation de la Δ 4-androstènedione en testostérone par les autres isoformes 17 β -HSD qui s'expriment dans le foie et les tissus périphériques permettrait l'apparition d'une virilisation, d'autant plus marquée que le déficit est seulement partiel [27].

▼ Le déficit de l'enzyme p450scc, anciennement « 20-22 desmolase » [104] et de La 17 α -hydroxylase [105] sont aussi responsables de défaut de testostérone.

ii. Anomalies de production de la DHT

La 5 α -réductase de type II est l'enzyme clé pour la conversion de la testostérone en DHT, hormone responsable de la masculinisation normale du sinus urogénital et des organes génitaux externes. Une carence de la DHT aboutit à un manque ou une absence totale de virilisation des OGE. Par contre, les dérivés Wolffiennes sont normaux, parce que les concentrations élevées de la testostérone locales sont suffisantes [17]. 50% des carences sont dues à des mutations hétérozygotes au sein des familles consanguines.

iii. Anomalies de l'action des androgènes

Le récepteur des androgènes est nécessaire pour l'action de la testostérone et de la DHT. Toutefois, la DHT possède une affinité environ 10 fois plus élevée, ce récepteur est nécessaire au développement normal des organes génitaux externes masculins. (Figure 32)

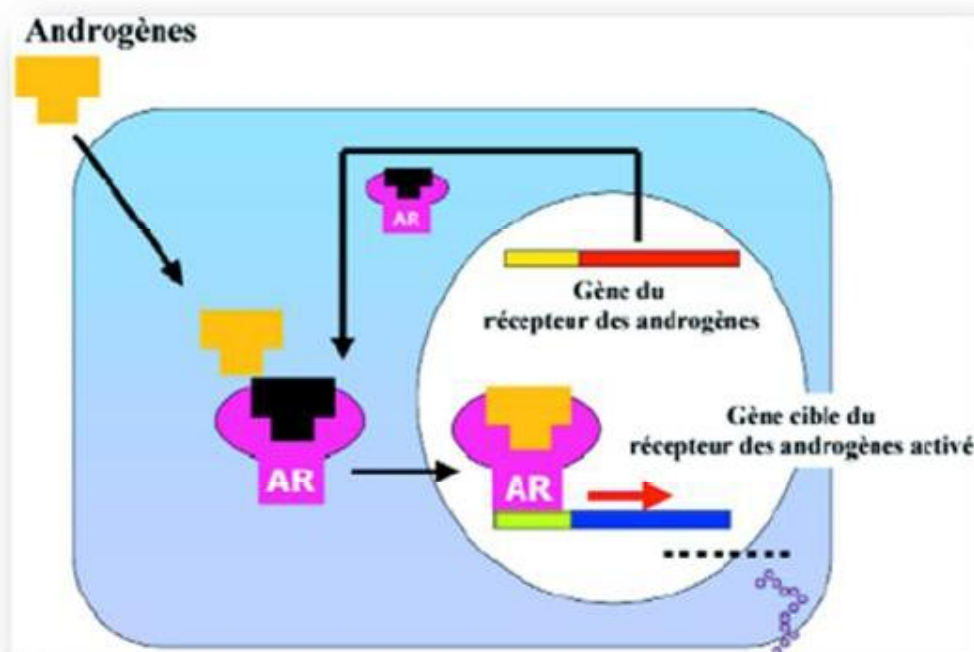


Figure 32 : Mécanisme de l'action des androgènes

L'insensibilité aux androgènes est l'une des formes les plus fréquentes des DSD avec une incidence estimée de l'ordre de 1 / 60000. 20% des cas sont familiaux avec un mode de transmission récessif lié à l'X, la cause principale de ce syndrome est la mutation du gène AR [94]. Selon le phénotype on peut distinguer deux formes:

L'insensibilité complète aux androgènes(CAIS) qui est le plus souvent, diagnostiqué à la puberté en raison de l'aménorrhée primaire avec développement normal des seins. Un certain nombre de patients sont diagnostiqués pendant l'enfance lors de chirurgie pour une hernie inguinale (uni-ou bilatérale). Plus de 80% des personnes ayant des signes cliniques de la CAIS ont une mutation détectable dans le gène AR [72]. Les individus souffrant de CAIS développent des gonades masculines normales et secrètent de l'AMH, ce qui entraîne la régression de leurs structures müllérienne avec l'existence d'un vagin court, et ont un phénotype féminin par absence de masculinisation des organes génitaux externes suite à l'insensibilité complète aux androgènes.

L'insensibilité partielle aux androgènes (PAIS) qui se présente sous divers degrés de virilisation des organes génitaux externes (masculinisation imparfaite) suite à une réponse partielle de l'AR [10]. Un grand nombre de mutations a été rapporté et la relation génotype/phénotype est faible pour un grand nombre d'entre eux. Dans une grande proportion de patients présentant des signes cliniques de la PAIS, il n'y a pas de mutation détectable dans la région codante du gène de l'AR [106]. Il est possible que la régulation du récepteur des androgènes puisse être touchée dans tels cas, comme il est montré dans un sujet avec CAIS [107].

c) Anomalies de l'AMH et de son récepteur

L'anomalie de la production de l'AMH ainsi que l'insensibilité à l'AMH en raison du défaut du récepteur entraîne le syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS). Les patients sont tout à fait normaux (virilisés), ce qui indique le fonctionnement normal des cellules de Leydig. L'AMH, à l'examen biologique, est

indétectable [108], mais l'inhibine B et les androgènes sont dans la norme [109]. Le dosage de l'AMH, bien que peu utilisé dans les laboratoires hospitaliers, il s'est avérée utile dans le diagnostic non seulement de PMDS mais aussi de la plupart des DSD [17].

d) Anomalies du récepteur de LH

Un défaut au niveau du récepteur de la LH entraîne une incapacité à activer les cellules de Leydig par la stimulation hCG. Il en résulte des 46,XY DSD à divers degrés, allant de l'hypospadias léger jusqu'au phénotype génital externe complètement féminin [110].

4. Troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD

Ce volet regroupe les individus à sexe génétique 46,XX présentant des troubles au niveau du sexe gonadique ou phénotypique, ces troubles sont dus soit à des anomalies de développement ovarien ou bien à un excès d'androgène aboutissant à une virilisation anormale des OG.

a) Troubles du développement gonadique (ovarien)

Ces troubles surviennent au cours de la morphogénèse ou de la détermination des gonades, on distingue principalement la dysgénésie gonadique 46,XX, les troubles de type testiculaire ainsi que ceux de type ovo-testiculaires.

i. Dysgénésie gonadique [85].

La dysgénésie gonadique 46,XX est une anomalie ovarienne aboutissant, chez des femmes 46,XX, à une insuffisance ovarienne précoce POF (anomalie caractérisée par une aménorrhée primaire ou une déplétion prématurée des follicules ovariens avant l'âge de 40 ans entraînant une « ménopause précoce », ce trouble résulte soit de l'échec du développement des gonades par certaines mutations ou à une résistance à la stimulation des gonadotrophines. La prévalence est inconnue mais on pense qu'elle est inférieure à 1 / 10000. A la naissance, le phénotype est féminin sans

ambiguïté. Toutefois, les personnes atteintes se présentent à l'âge adulte suite à un retard ou absence de puberté avec aménorrhée primaire ou parfois secondaire.

Bien que l'étiologie est peu claire, plusieurs gènes s'avèrent impliqués, notamment, les mutations inactivant le gène du récepteur de l'hormone folliculostimulante (FSHR ; 2p21-p16) qui est transmis selon un mode autosomique récessif, des mutations dans le gène *BMP15* (Xp11.2) qui est lié à l'X et des mutations dans le gène *NR5A1* (*SF1*) (9q33) qui est transmis de manière autosomique dominante dans la grande majorité des cas. La thérapie comprend un traitement hormonal substitutif.

ii. Troubles de différenciation de type testiculaire – testicular DSD

Les individus 46,XX atteints de troubles de type testiculaire (anciennement dits mâle XX) présentent généralement un phénotype masculin presque parfait avec divers degrés de féminisation : gynécomastie, faible développement de la pilosité, ainsi qu'une stérilité en rapport généralement avec des testicules hypoplasiques, scléreux avec absence de spermatogonies [27].

Les études ont montré que 90% de ces individus disposaient de fragments comprenant le gène *SRY* sur leur chromosome X comme conséquence d'un échange terminal entre les bras courts des chromosomes X et Y au cours de la méiose mâle, ce qui explique le phénotype masculin à la naissance, alors que les 10% des mâles XX à *SRY* négatives ont été expliqués par la théorie du facteur Z (évoquée précédemment dans le paragraphe du gène *SRY*), mais également par l'existence d'autres gènes impliqués [111, 72].

Effectivement, un mâle XX avec une duplication *SOX9* a été rapporté par Huang et al. [112], Parma et al. ont montré que la mutation du gène *RSPO1* mène au développement de sexe masculin chez les sujets XX en l'absence de *SRY* avec des symptômes cutanés et autres manifestations [113]. R-spondine étant un ligand qui

active la voie de signalisation de la β -caténine qui favorise le développement de l'ovaire et bloque le développement des testicules.

iii. Troubles ovo-testiculaires – ovotesticular DSD

Il s'agit de présence simultanée de tissu ovarien et testiculaire chez l'individu 46,XX. Les patients sont souvent nés avec des organes génitaux externes ambigus, mais le mécanisme reste inconnu. Pour expliquer ce phénomène, il a été suggéré que certaines lignées de cellules peuvent disposer d'un fragment contenant *SRY* qui a été transloqué à l'un des X, mais la présence de *SRY* n'a pas toujours été démontrée dans les cellules testiculaires des cas étudiés [114].

b) Troubles de synthèse des androgènes

Dans ce cas, la morphogénèse et la détermination des gonades est normale mais les androgènes responsables de la différenciation du tractus génital sont, cette fois-ci, en excès entraînant la virilisation des organes génitaux externes. La cause peut être d'origine fœtale, fœto-placentaire ou encore maternelle.

i. L'excès d'androgènes d'origine fœtal

Il s'agit de l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) qui résulte d'un bloque enzymatique sur la voie de biosynthèse du cortisol (voir figure 31), c'est la cause la plus fréquente des Troubles 46,XX de synthèse des androgènes (75 % des cas). Elle entraîne une virilisation du fœtus féminin à divers degrés classés selon Prader en 5 stades de virilisation.

Cette virilisation est provoquée précisément par la surproduction d'androgènes en amont du bloc enzymatique. Les bloques enzymatiques les plus évoqués sont :

v *Bloc en 21-hydroxylase*

C'est le cas le plus fréquent (90 à 95 %) et concerne 1 naissance sur 14 000. Il se révèle en période néonatale par une ambiguïté des organes génitaux externes, accompagnée inconstamment d'une perte de sel avec hyponatrémie sévère par déficit

en aldostérone. La 17-hydroxyprogestérone (17-OHP) plasmatique très élevée confirme le diagnostic. Les autres androgènes surrénaliens, $\Delta 4$ -androstènedione ($\Delta 4$) et sulfate de déhydroépiandrostérone (SDHA), sont élevés. Le cortisol est normal ou bas et l'ACTH (*adrenocorticotrophic hormone*) est élevée [115].

Le gène *CYP21B* codant pour cette enzyme est situé sur le bras court du chromosome 6. La majorité des anomalies connues du gène sont des délétions [116]. Le diagnostic prénatal est pratiqué dans les grossesses à risque et le traitement prénatal par la dexaméthasone semble efficace sur la réduction des anomalies génitales des filles atteintes [115].

v **Bloc en 11-hydroxylase**

Il représente 5 % des hyperplasies congénitales des surrénales. Sa présentation clinique est la même que celle du bloc en 21-hydroxylase. La perte de sel est en général peu sévère. Le diagnostic biologique montre l'élévation de la désoxycorticostérone (DOC), responsable d'une hypertension artérielle à la puberté. La $\Delta 4$ et le SDHA sont élevés. Le cortisol est normal ou bas et l'ACTH est élevée.

Des mutations ponctuelles et délétions du gène codant pour l'enzyme, situé sur le chromosome 8, ont été caractérisées [117].

v **Bloc en 3 β -hydroxystéroïde-deshydrogénase**

Ce type de bloc est rare. La virilisation est en général modérée et il existe une perte de sel. Biologiquement, la 17-OHP est souvent un peu élevée, probablement sous l'effet de la 3 β -hydroxystéroïde-deshydrogénase hépatique.

Le gène codant pour l'enzyme est situé sur le chromosome 1 et des mutations ponctuelles ont été décrites [118].

ii. L'excès d'androgènes d'origine fœto-placentaire

Il s'agit principalement de déficit au niveau de l'aromatase placentaire qui assure la conversion de testostérone en estradiol et de la $\Delta 4$ -androstènedione en estrone [119].

Pendant la gestation, de grandes quantités de SDHA sont sécrétées par la glande surrénale fœtale, puis converties par les enzymes placentaires (sulfatase, 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, 17 β hydroxystéroïde déshydrogénase...) en Δ 4-androstènedione et en testostérone. En l'absence d'activité aromatase placentaire, ces androgènes ne peuvent être convertis en estrogènes, et entraînent la virilisation de fœtus féminin et même de la mère.

Pendant l'enfance, les ovaires sont normaux, mais à la puberté, sous l'action de FSH et l'impossibilité ovarienne de sécréter des estrogènes, de multiples kystes folliculaires se développent, les caractères sexuels féminins ne se développent pas, et une virilisation progressive s'installe. Les taux plasmatiques de testostérone, Δ 4-androstènedione et des gonadotrophines sont hauts, tandis que les taux d'estradiol et estrone sont bas ou non mesurables.

Plusieurs mutations, généralement ponctuelles ont été décrites [120, 121, 122].

Le diagnostic de déficit en aromatase peut être suspecté devant une ambiguïté sexuelle XX, quand une HCS due à un bloc enzymatique a été exclue.

Un diagnostic prénatal est possible [123], notamment devant une virilisation de la mère pendant la grossesse associée à des taux maternels hauts de testostérone, Δ 4-androstènedione et des taux bas d'estriol plasmatique et urinaire [27].

▼ Une autre situation où le déficit d'un cofacteur entraîne la carence en hormones stéroïdogènes, il s'agit du déficit en P450 oxydoréductase (POR) [72].

iii. L'excès d'androgènes d'origine maternel

L'excès d'androgènes maternel peut être endogène, lors de tumeurs virilisantes (ovariennes ou surrénaliennes), ou exogène lors d'administration au cours de la grossesse et à une période critique de la différenciation sexuelle de drogues potentiellement virilisantes. Cet excès entraîne la masculinisation du fœtus [115] pourtant, de tels cas sont peu observés dans la littérature car la fertilité est rarement normale chez les femmes présentant une hypersécrétion d'androgènes [27].

5. Diagnostic des troubles de différenciation sexuelles

A. Diagnostic positif.

a. Circonstances de découverte.

Une anomalie de la différenciation sexuelle doit être évoquée chez un nouveau-né devant :

- une cryptorchidie bilatérale avec testicules non palpés.
- un hypospadias postérieur chez un enfant ayant l'aspect d'un garçon.
- un hypospadias, même peu sévère, avec une verge petite (< 2 cm) et/ou une cryptorchidie, et/ou une anomalie d'implantation du scrotum.
- un aspect clairement « indéterminé » des organes génitaux.
- un orifice vaginal non visible ou fusion postérieure des bourrelets génitaux (grandes lèvres).
- une hypertrophie isolée du clitoris.
- des organes génitaux externes féminins avec présence d'une masse uni ou bilatérale dans les grandes lèvres ou les canaux inguinaux, pouvant faire suspecter la présence de testicules.

b. Examen clinique.

i. Chez le nouveau-né et dans l'enfance :

L'examen clinique initial repose sur l'examen :

- Du **bourgeon génital** (pénis chez le garçon, clitoris chez la fille),
- des **bourrelets génitaux** (bourses et scrotum chez le garçon, grandes lèvres chez la fille),
- et du **sinus uro-génital** (fermé chez le garçon, ouvert chez la fille).

Ces trois composants des OGE sont particuliers et évoquent des organes génitaux indifférenciés.

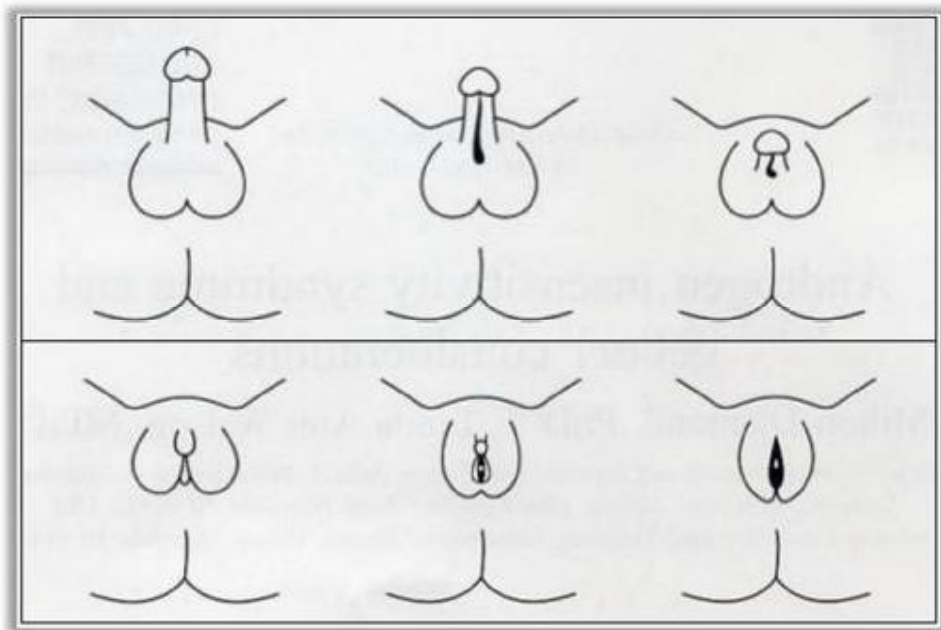


Figure 33 : Schéma représentant les différents aspects possibles de l'axe génital externe pouvant aller d'un axe féminin complet à un axe masculin complet.

V Bourgeon génital :

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



Figure 34 : Différents aspects de bourgeons génitaux.[124,125]

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

La taille normale du bourgeon génitale est de 3,5cm $\pm$ 0,5 à la naissance, et de 4 à 6 cm entre 1et 10 ans.

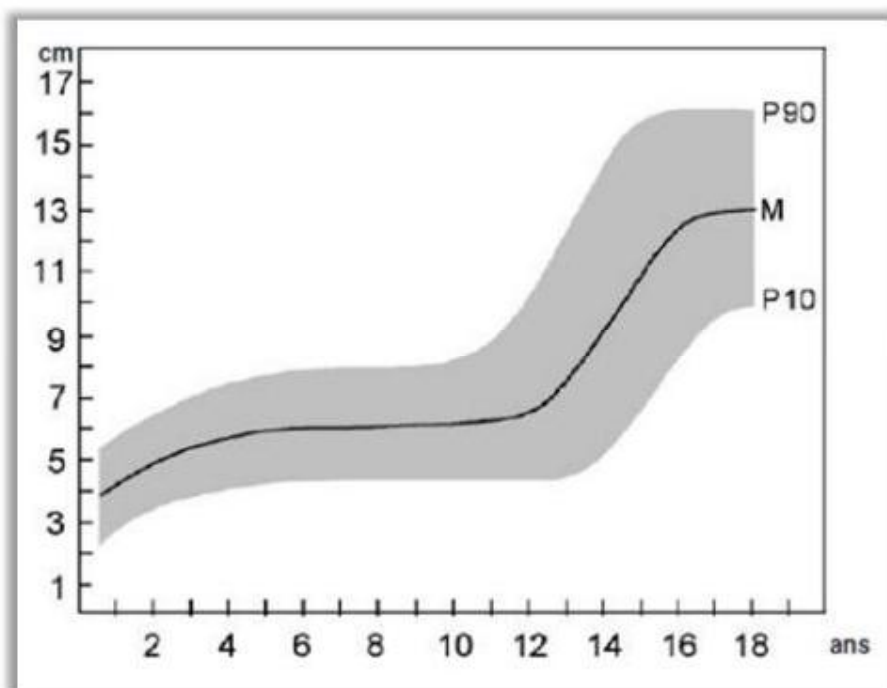


Figure 35 : Croissance du pénis, selon SCHONFELD W.A [126]

V Bourrelets génitaux :

Les bourrelets génitaux peuvent prendre des aspects différents :

- striés transversalement, d'aspect scrotal,
- ou au contraire lisses évoquant plutôt des grandes lèvres.

Ces différentes apparences peuvent être combinées sur le même sujet de façon totalement asymétrique.

Les bourrelets génitaux peuvent contenir une gonade. La présence d'une gonade de type testiculaire palpable dans l'un des bourrelets génitaux ne permet cependant pas de préjuger du sexe définitif de l'enfant.



Figure 36 : Différents aspects de bourrelets génitaux [124]

- A. Aspect strié transversalement de type scrotal.
- B. Aspect lisse évoquant des grandes lèvres.
- C. Aspect asymétrique, la gonade est palpable d'un seul côté.
- D. La gonade est palpable des deux côtés.

V Sinus uro-génital :

Le sinus uro-génital peut lui aussi prendre des aspects différents. L'aspect le plus fréquent reste la présence d'un orifice unique uro-génital ouvert dans un sillon muqueux. Ainsi, lorsque l'orifice est situé à la base du bourgeon génital, les deux bourrelets sont séparés par un sillon cutané ; lorsque l'orifice est plus postérieur, le sillon est muqueux. Le sillon urogénital ne s'ouvre, dans tous les cas, que sur un seul orifice.



Figure 37 : Le sinus uro-génital sépare les bourrelets et se termine en arrière par un orifice unique (flèche) [124]

Cet examen clinique initial permet de reconnaître l'ambiguïté des OGE selon la classification de Prader qui se compose de cinq stades (figure 38) :

- Stade I : appareil féminin avec hypertrophie clitoridienne.
- Stade II : fusion postérieure des grandes lèvres, orifices urétral et vaginal distincts.

- Stade III : la fusion des grandes lèvres se complète et entoure un orifice unique débouchant sur un sinus urogénital.
- Stade IV : organe péno-clitoridien recouvert d'un capuchon préputial incomplet, fusion complète des formations labio-scrotales, orifice urogénital unique situé à la base de la verge en hypospadias scrotal ou pénien postérieur.
- Stade V : verge bien développée avec un orifice uro-génital situé à l'extrémité du gland recouvert par prépuce circonférentiel complet.

Ainsi tous les intermédiaires se rencontrent-ils entre les conformations féminines et masculines presque parfaites.

L'exploration des organes génitaux internes est, à cet âge, plus délicate. Grâce à un spéculum fin on peut apercevoir, si la morphologie est féminine, le vagin et le col utérin. La présence de gonade doit être soigneusement recherchée dans le scrotum et le canal inguinal. Bien individualisée en position extra abdominal, la gonade est presque sûrement un testicule.

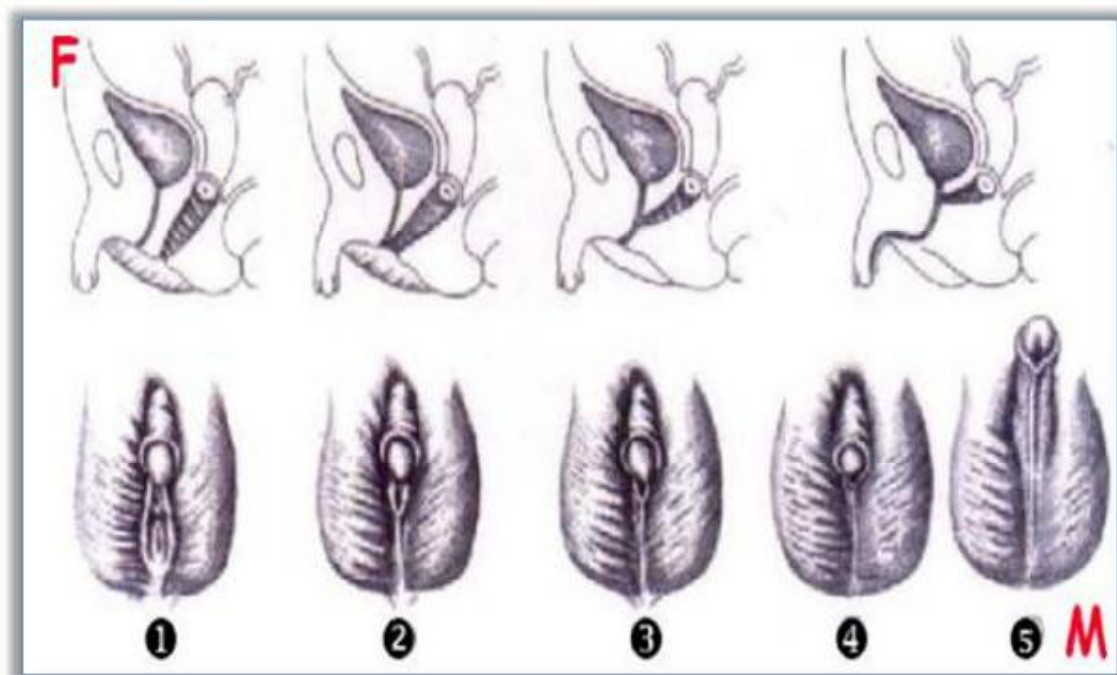


Figure 38 : Classification de Prader [125]

ii. Durant l'adolescence :

Les manifestations successives du développement pubertaire sont soigneusement recherchées. Schématiquement plusieurs éventualités peuvent se rencontrer :

✚ chez les sujets de phénotype féminin :

- Ø Infantilisme et aménorrhée primaire = syndrome de Turner; dysgénésies gonadiques pures; dysgénésies ovariennes; déficit en testostérone.
- Ø Infantilisme et hypertrophie clitoridienne = dysgénésies gonadiques pures ; gonocytomes.
- Ø Pseudo puberté hétérosexuelle = patients 46,XX DSD.
- Ø Puberté retardée et incomplète = certaines dysgénésies ovariennes.
- Ø Apparition d'une gynécomastie = patients 46,XY DSD avec anomalies de la biosynthèse ou de l'action des androgènes.

✚ Chez les sujets de phénotype masculin :

- Ø Infantilisme = certains dysgénésies testiculaires ; certains syndrome de Klinefelter.
- Ø Puberté retardée et incomplète = certains dysgénésies testiculaires; certains syndrome de Klinefelter; patients 46,XY DSD avec des organes génitaux internes de type féminin.
- Ø Apparition d'une gynécomastie = syndrome de klinefelter ; syndrome dit de Reifenstein.
- Ø Puberté dissociée : développement pubertaire des caractères sexuels secondaires (dépendant de la testostérone) à l'exception de la pilosité faciale (dépendant de la DHT)= déficit en 5 α -réductase. [127]

c. Bilan biologique. [127-128-129-130]

▼ Ionogramme sanguin et urinaire :

Il objective dans le cas d'un déficit en 21 hydroxylase : une hyponatrémie avec hypernatriurèse. Cliniquement le syndrome de perte de sel apparaît du moment où la natrémie est inférieure à 125meq/l. Une hyperkaliémie en général associée, elle peut être masquée par les vomissements. Les autres stigmates biologiques peuvent comporter l'hypoglycémie et les désordres hydro électrolytiques secondaires à la déshydratation comme l'hyperazotémie et l'acidose métabolique.

Dans le déficit en 11 bêta OH, en raison de l'excès de synthèse des métabolites minéralocorticoïdes, la rénine est basse. Elle peut parfois être associée à une hypokaliémie.

▼ Explorations hormonales :

Les ressources de l'hormonologie moderne pourraient conduire à une débauche d'examens dans l'exploration des anomalies de différenciation sexuelle. Nous n'en citerons que l'essentiel :

Ø Dans les anomalies 46,XX DSD, le diagnostic doit être obtenu très rapidement à cause du risque minéralo-corticoïde que comportent ces enzymopathies et en raison de la nécessité qu'il y a de réduire ce type d'hyperandrogénie aussi vite que possible.

S'agissant des blocs les plus fréquents, ceux de la 21 hydroxylase et de la 11 hydroxylase, les dosages des éliminations urinaires hormonales donnent des résultats aléatoires et d'interprétation délicate chez le très jeune enfant . Il est plus sûr de doser dans le plasma les concentrations de 17 OH progestérone ou de désoxycortisol (DOC) pour dépister réciproquement le bloc de la 21 hydroxylase et celui de la 11 hydroxylase. La réduction des concentrations plasmatiques de l'un ou l'autre précurseur hormonal sert

également de test d'efficacité au freinage de l'hyperplasie corticosurrénale par la dexaméthasone.

Ø Le diagnostic des anomalies 46,XY DSD est plus délicat mais ne requiert pas la même urgence. La conduite des examens biologiques ne peut être codifiée du fait de la grande diversité des troubles, mais le dosage de la testostérone reste la base de ces examens.

Dosage de la testostérone :

Deux cas de figures se présentent :

- Testostérone plasmatique est trouvée à des concentrations basses, il s'agit d'une anomalie 46,XY DSD par déficit de la synthèse de testostérone secondaire à :
 - L'agénésie des cellules de Leydig.
 - L'insensibilité des cellules de Leydig à la LH.
 - Un bloc d'une ou des hormones dans la voie de synthèse de la testostérone à partir du cholestérol citant le cas de déficit en 17 cétoréductase permettant la transformation de la $\Delta 4$ androstènedione (A) en testostérone (T) dans l'évolution normale. En cas de déficit de la 17 cétoréductase, l'A est augmenté, alors que la T est basse, avec augmentation du rapport A/T, ce rapport augmente d'avantage par la stimulation par HCG signant le blocage de la synthèse [129].
- la testostérone plasmatique est normale ou élevée. On conclue alors qu'il n'y a pas de troubles dans la synthèse de la testostérone.

Dosage de la dihydrotestostérone (DHT) :

Si le taux plasmatique est à la limite inférieure de la normale, et si le rapport T/DHT s'élève anormalement après stimulation par HCG, il s'agit d'un déficit en 5 α réductase.

Si la DHT est normale, d'autres étiologies sont évoquées : insensibilité tissulaire aux androgènes mise en évidence par culture sur fibroblaste.

Test à l'HCG : [129–130]

Parmi les nombreux types d'épreuves qui ont été proposées, on retient schématiquement :

- ü L'épreuve longue (1500 unités tous les 2 jours pendant deux semaines).
- ü L'épreuve courte (1000 unités tous les jours pendant trois jours).

L'épreuve longue a l'intérêt de permettre la différenciation des cellules de Leydig dans un testicule infantile immature. Elle paraît donner des résultats plus constants, mais peut susciter des signes cliniques de virilisation.

Il est préférable de ne pas administrer 1'HCG quotidiennement dont la mesure où l'on sait que l'HCG a pour effet de diminuer la réponse de la cellule de Leydig à une nouvelle stimulation trop rapprochée.

La réponse testiculaire à la stimulation par l'HCG est habituellement appréciée par le dosage des androgènes plasmatiques prélevées le lendemain de la troisième et de la dernière injection, et le rapport de testostérone /dihydrotestostérone.

En raison de la grande dispersion des résultats chez des sujets normaux, l'épreuve de stimulation par HCG ne permet pas de mettre en évidence avec sécurité un déficit fonctionnel testiculaire discret, mais elle permet d'affirmer ou d'infirmer la présence de tissu testiculaire et éventuellement un déficit enzymatique portant sur la biosynthèse de la testostérone. Signalons qu'au cours des trois premiers mois de vie, la stimulation par HCG n'est pas indispensable, car l'activité testiculaire spontanée est déjà importante.

Dosage des gonadotrophines plasmatiques : [127–128]

Dans les dysgénésies gonadiques, les explorations hormonales sont souvent entreprises tardivement, dans la deuxième enfance ou dans l'adolescence, à l'occasion d'un infantilisme ou d'un retard pubertaire. Alors le déficit gonadique doit

être évalué par les dosages habituels (testostérone, androstènedione, estradiol, estrone) dans le sang et pour leurs métabolites, dans les urines.

Le dosage des gonadotrophines plasmatiques, LH et FSH est un temps capital du diagnostic, les gonadotrophines dans les dysgénésies gonadiques sont régulièrement supérieures à la normale avant 6 ans et après 10 ans, dans l'intervalle, les taux sont variables mais nettement majorés par LH-RH. L'hypergonadotrophisme permet de séparer, sans ambiguïté, les dysgénésies gonadiques de certains hypogonadismes hypothalamo-hypophysaires dont les aspects cliniques sont assez voisins [127].

Dosage de l'hormone anti müllérienne :

Son déficit est responsable de la persistance des canaux de Müller, il existe deux types:

- persistance des canaux de Muller type 1, due à une mutation au niveau de l'AMH.
- persistance des canaux de Muller type 2, due à une mutation au niveau du récepteur de l'AMH.

d. Exploration morphologique. [131]

L'échographie pelvienne :

Examen simple et anodin dont l'intérêt est limité car opérateur dépendant. A haute résolution, l'échographie permet de repérer le siège exact d'une ou des gonades non palpables avec une sensibilité de 76% et une spécificité de 100%, mais ne renseigne pas sur sa fonctionnalité. Il permet aussi de visualiser un éventuel utérus.



Figure 39 : Echographie en période néonatale montrant (1.vessie, 2.utérus, 3.ligne de vacuité) [124]



La génitographie ou urétrogénitographie (figure 40)

Le but de cet examen est d'étudier la cavité vaginale, et rechercher l'empreinte du col utérin. L'examen comporte également un temps cystographique pour analyser la morphologie et la longueur de l'urètre.

Technique : après désinfection locale comme pour une cystographie :

- ü S'il existe 2 orifices : il faut opacifier ces 2 orifices séparément ou au mieux simultanément. Le cliché essentiel est l'incidence de profil.
- ü S'il n'existe qu'un orifice, il faut essayer d'obtenir une opacification rétrograde dans un premier temps afin de mettre en évidence un abouchement éventuel d'un vagin dans l'urètre. Un bon moyen est d'utiliser une sonde à ballonnet, l'extrémité de la sonde est introduite dans le bas urètre, le ballonnet gonflé à l'extérieur obstrue l'orifice.

Dans un 2ème temps, la sonde est poussée jusque dans la vessie comme pour une cystographie. Il est essentiel d'obtenir des clichés permictionnels pour

visualiser l'urètre et rechercher une cavité vaginale si celle-ci n'a pas été vue auparavant.

La génitographie est souvent un examen difficile qui nécessite :

- ◆ Des précautions d'asepsie.
- ◆ de calmer l'enfant éventuellement.
- ◆ de la patience comme souvent en pédiatrie, en sachant que plusieurs tentatives peuvent être nécessaires.

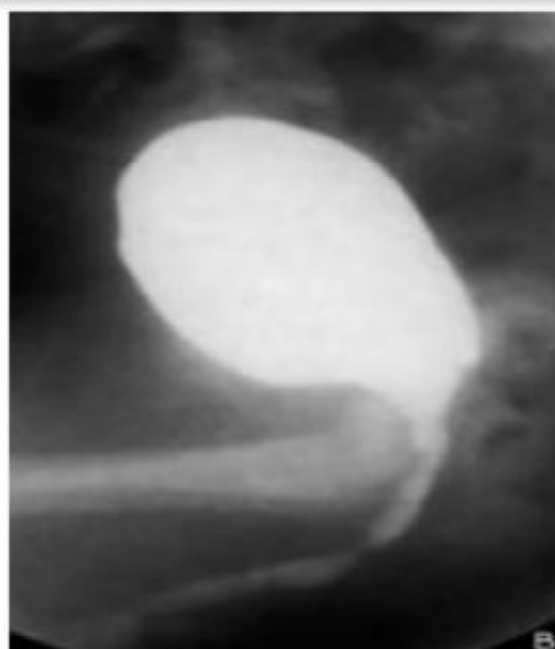
Résultats de la génitographie

Les éléments importants sont :

- La morphologie et la longueur de l'urètre (cliché de profil en cours de miction).
- La morphologie et la taille de la cavité müllérienne qui correspond soit à un utricule prostatique soit à une cavité vaginale.
- L'existence d'une empreinte de col utérin à la partie supérieure de la cavité.
- Il faut évaluer la distance col vésical-orifice vaginal qui conditionne la chirurgie d'abaissement du vagin.



A. Axe génital féminin implanté sur la face postérieure de l'urètre.



B. Axe génital masculin avec un urètre segmenté de façon masculine.

Figure 40 : Aspect de l'axe génital interne lors de la génitographie [124]



IRM pelvienne :

- ü La présence de l'utérus, du col utérin et du vagin est mieux évaluée sur la coupe sagittale T2.
- ü Ovaires et testicules : ils apparaissent comme des formations ovoïdes paramédianes voire latérales, en hypo signal T1 et en hyper signal T2, IRM permet de repérer le siège des ovaires ou des testicules en intraabdominales ou dans la région inguinale voir scrotale.
- ü La prostate est mieux explorée sur le T2 surtout si le tissu prostatique autour de l'urètre est plus importante que le muscle urétral.
- ü Le clitoris : visualisé en hyper signal T2 depuis l'insertion ischiatique des corps caverneux.

On parle d'hypertrophie clitoridienne lorsque la longueur du clitoris est > 1 cm en avant de la branche pubienne dans le plan sagittal.

- ü Le pénis est déclaré présent lorsque les deux piliers du corps caverneux étaient détectés, en même temps que le corps spongieux avec sa tunique albuginée et le muscle bulbo-spongieux.

Les résultats d'imagerie sont corrélés avec les résultats génétiques et les dosages hormonaux ainsi que des conclusions de laparoscopie.

e. Autres éléments du bilan.

Les résultats de la génitographie sont confrontés à ceux de l'endoscopie réalisée sous anesthésie générale par le chirurgien. [132]

Dans les anomalies 46,XX DSD, l'endoscopie en urgence est en règle inutile, elle sera faite juste avant l'intervention dans le même temps opératoire.

Une exploration chirurgicale (coelio-chirurgie) peut être nécessaire dans les premiers jours de vie afin de mieux définir l'anatomie interne, d'apprécier la nature et le volume des gonades et de les biopsier afin d'en préciser le type anatomopathologique exact.

Ainsi, on peut trouver dans l'exploration anatomique de la cavité pelvienne :

- ü Un utérus avec ses annexes dont la découverte est aussi significative chez le sujet à phénotype féminin que chez le sujet à phénotype masculin.
- ü Deux ovaires qui sont soit normaux, soit malformés.
- ü Deux testicules qui sont soit normaux, soit malformés, reconnaissables à leurs épидидymes.
- ü Une gonade tumorale : gonocytome.
- ü Une glande de structure mixte ou bien deux glandes de sexes opposés.
- ü Soit des gonades réduites à l'état de bandelettes, voire encore plus rarement absentes.

Sous coelioscopie, la biopsie de la glande est possible. De l'examen histologique du prélèvement, on attend la confirmation de la nature de la gonade et de ses éléments constitutifs ou bien l'affirmation que le fragment remis à l'examen ne renferme aucun élément gonadique identifiable.

f. Exploration cytogénétique.

Enquête familiale :

L'enquête familiale est fondamentale et doit rechercher la notion d'anomalies de développement sexuel dans les antécédents familiaux, les anomalies éventuelles dans la fratrie. Les études familiales ont en effet montré un mode de transmission récessive autosomique des anomalies 46,XY DSD par déficit enzymatique, déficit en 5 α réductase. De même, les cas familiaux de testicule féminisant sont en faveur d'une transmission récessive liée à l'X.

Caryotype

Hybridation in situ fluorescente (FISH).

PCR.

} Voir Matériels et méthodes.

B. Diagnostic étiologique.

Au terme de ces examens conduits en quelques jours, on peut arriver à un diagnostic étiologique précis de l'anomalie de différenciation sexuelle.

Sujet XX, gonades non palpables :

La masculinisation est rarement complète.

Si la 17OHP est très élevée ($>100\text{ng/ml}$), il s'agit d'une hyperplasie congénitale des surrénales, par bloc en 21 hydroxylase, 9 fois sur 10.

Si la 17OHP est normale :

- hyperandrogénie maternelle (exceptionnelle) ;
- déficit en aromatase ;
- patient 46,XX DSD associé à des malformations ou non.

Il peut s'agir d'un ovotestis: coexistence de tissu testiculaire et de tissu ovarien. C'est la réponse de la testostérone plasmatique sous HCG qui évoquera le diagnostic.

Sujet XY, gonades palpables :

Si la testostérone s'élève normalement après le test à l'HCG: Anomalie de la sensibilité aux androgènes (à confirmer par une étude biochimique du récepteur et moléculaire du gène du récepteur) ou déficit en 5 α réductase, beaucoup plus rare.

Si la testostérone ne s'élève pas après le test :

- Anomalie de la détermination testiculaire : dysgénésie testiculaire,
- Trouble de l'hormonosynthèse testiculaire.

La génitographie permet de différencier ces deux éventualités :

- Présence d'un vagin et d'une cavité utérine : dysgénésie testiculaire,
- Vagin borgne sans cavité utérine : troubles de l'hormonosynthèse testiculaire.

Sujet XX/XY, une gonade palpable (dysgénésie gonadique mixte) :

Cette situation non exceptionnelle correspond à la coexistence d'un testis d'un côté et d'un streak (gonade indifférenciée) de l'autre. [127, 133, 134]

C. Diagnostic anténatal. [135]

Le diagnostic peut être fortuit ou survenir dans le cadre d'un conseil génétique. La pratique fréquente aujourd'hui des échographies et de l'examen du caryotype fœtal conduit parfois à la découverte fortuite d'une anomalie des chromosomes sexuels, ou de malformations des organes génitaux externes. A l'opposé, la survenue d'un cas d'anomalie de différenciation sexuelle pose le problème du diagnostic anténatal lors d'une grossesse ultérieure.

La transmission du risque génétique n'est bien documentée que dans un nombre limité d'affections: anomalies chromosomiques, anomalies génétiques à

transmission autosomique récessive ou anomalies géniques à transmission liée au sexe.

Anomalies chromosomiques :

Leur diagnostic anténatal ne peut être que fortuit. En effet, le plus souvent ces anomalies ne sont pas héréditaires, et le diagnostic d'une anomalie dont on sait qu'elle peut être la cause d'une anomalie de développement sexuel est fait lors de la réalisation d'un caryotype fœtal. Celui-ci n'est jamais fait à titre systématique, mais sur indications bien précises, dont la plus fréquente est l'âge maternel (dépistage du syndrome de Down ou trisomie 21 chez des mères de plus de 38 ans). Exceptionnellement, une anomalie chromosomique peut être mise en évidence lors de la détermination du sexe fœtal pour le diagnostic anténatal d'une autre affection liée au sexe (hémophilie par exemple). Ces anomalies chromosomiques sont en règle causes de dysgénésie gonadique. Elles portent sur le nombre ou la structure des gonosomes présents au cours du syndrome de Turner, du syndrome de Klinefelter, de la dysgénésie gonadique mixte. Il s'agit bien plus rarement d'une anomalie des autosomes (syndrome de Drash par exemple).

Anomalies géniques à transmission autosomique récessive :

Celles-ci concernent les déficits enzymatiques de la biosynthèse du cortisol et/ou de la testostérone . Leur diagnostic anténatal est possible. Il est toujours orienté, donc pratiqué dans une famille à risque qui a eu un premier enfant atteint.

- **Déficit en 21 hydroxylase**

Du fait de la fréquence de ce déficit, la demande de diagnostic anténatal a été rapidement très forte. Les moyens diagnostiques ont suivi les étapes de notre connaissance. Le diagnostic a tout d'abord reposé sur la détermination des hormones stéroïdes dans le liquide amniotique à mi- gestation. La mesure des taux de 17 OH progestérone dans le liquide amniotique a permis l'établissement d'un

diagnostic anténatal relativement aisé (à condition d'avoir une méthodologie et des références strictes), fiable et sans danger pour le fœtus. Le diagnostic peut être fait à titre individuel en dehors de toute étude familiale. Cependant, seules les formes classiques (congénitales) sont dépistées.

Après la mise en évidence que l'affection était en étroite liaison avec les gènes des groupes majeurs d'histocompatibilité (HLA), le typage HLA des cellules fœtales a constitué une seconde approche dans ce diagnostic prénatal. A partir du cas index, on peut ainsi identifier quel haplotype parental est porteur du gène déficient et déterminer si le fœtus en a hérité ou non. Cette approche a permis un diagnostic beaucoup plus précoce quand les techniques de ponction des villosités chorales se sont développées. Cependant elle est d'interprétation parfois difficile, coûteuse, longue car nécessitant une culture cellulaire (amniocytes, ou villosités chorales) et peut être non informative. Elle nécessite l'étude préalable du cas index et de la famille. Plus récemment, la fiabilité du typage HLA a été améliorée par l'emploi de sondes moléculaires et de l'étude du polymorphisme de restriction des gènes HLA.

Cette méthode est en passe d'être supplantée par l'étude directe des gènes 21 OH. L'utilisation de la méthode de Southern permet dans environ 1/4 des familles de mettre en évidence une délétion ou une conversion génétique. Tout récemment, 8 mutations responsables de déficit en 21 OH ont été décrites. Il devient possible de les rechercher directement par la méthode de PCR (Polymorphism Chain reaction). L'étude préalable de la famille est indispensable, mais une fois les anomalies géniques reconnues chez les parents, le diagnostic anténatal se fait précocement sur l'ADN extrait de villosités chorales. Le diagnostic est rapide, informatif dans plus de 90 % des familles et totalement fiable.

- **Déficit en 20-22 desmolases (p450scc)**

Le fœtus normal synthétise de grandes quantités de 16 hydroxydéhydro épiandrosterone que le placenta et la mère métabolisent en estriol. Les taux maternels d'estriol reflètent donc l'activité globale de la surrénale fœtale. La mesure des taux d'estriol maternels (plasmatiques ou urinaires) permet de faire le diagnostic dans une famille à risque, sans geste agressif pour le fœtus. L'affection étant rare, ce diagnostic anténatal reste exceptionnel.

- **Déficit en 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase, delta5 / delta4 isomérase**

Le diagnostic est théoriquement possible sur l'analyse des hormones stéroïdes dans le liquide amniotique à mi- gestation : augmentation des stéroïdes de la voie $\Delta 5$ et surtout du rapport $\Delta 5/\Delta 4$. Un seul essai rapporté dans la littérature a permis d'affirmer que l'enfant n'était pas atteint.

La faisabilité du diagnostic anténatal des autres déficits enzymatiques a été démontrée: elle repose sur la détermination des marqueurs de chaque bloc enzymatique dans le liquide amniotique à mi- gestation: taux élevés de 11-désoxycortisol dans le déficit en 11β hydroxylase, taux élevés de $\Delta 4$ -androstènedione et taux bas de testostérone avec élévation du rapport $\Delta 4/Tne$ dans le déficit en 17-cétostéroïde réductase. Le dépistage du déficit en 17α hydroxylase n'a pas été réalisé.

 Anomalie génique à transmission liée au sexe :

Il s'agit essentiellement du syndrome d'insensibilité aux androgènes. Quelques essais de diagnostic anténatal ont été rapportés. La détermination du récepteur des androgènes sur amniocytes en culture est longue et d'interprétation difficile (nombre faible de sites de liaison chez le fœtus normal). Elle nécessite l'étude préalable du cas index. Enfin elle n'est pas informative en cas de syndrome de résistance au récepteur positif. La biologie moléculaire n'a pas encore permis de reconnaître avec précision toutes les lésions géniques en cause de ce

syndrome. Par contre, il vient d'être montré que l'étude du polymorphisme de restriction de l'exon 1 du gène du récepteur androgène permet de reconnaître l'haplotype maternel atteint à partir du cas index et donc un diagnostic anténatal fiable [136].

En résumé :

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des différents aspects cliniques et paracliniques des TDS

Circonstance de découverte	-Anomalie des OGE à la naissance. -Gros clitoris, des masses inguinales. -Fusion postérieure des grandes lèvres. -Micropénis, un hypospade postérieur. -Hypospadias et/ou cryptorchidie. -Aspect masculin, mais deux testicules non palpables.	
Examen clinique	<u>Bourgeon génital</u> : -Coudure -Capuchon +/-hypertrophique	
	<u>Bourrelets génitaux</u> : -Striés transversalement (d'aspect scrotal) -Lisses (évoquant des grandes lèvres)	
	<u>Sinus uro-génital</u> : Orifice unique uro-génital ouvert dans un sillon muqueux	
Examens para clinique	<u>Ionogramme sanguin et urinaire</u>	
	<u>Bilan hormonal</u>	XX : 17OHP, T, DOC, SDHEA, FSH, LH
		XY: Testostérone, 17OHP, DHT, $\Delta 4$ androsténone, AMH, test à l'HCG, FSH, LH
	<u>Bilan radiologique</u>	Echographie: Repérer le siège exact des gonades non palpables Génitographie: -Etudier la cavité vaginale. -Rechercher l'empreinte du col utérin. -Analyser la morphologie et la longueur de l'urètre.
	<u>Coelioscopie</u>	-Apprécier la nature et le volume des gonades. -Faire des biopsies, pour avoir le type anatomopathologique exact .
Etude cyto-Génétique	<u>Caryotype</u> : XX ou XY ou présence d'une anomalie	

6. Prise en charge

A- CHOIX DU SEXE ET LEGISLATION :

A-1 – Choix du sexe :

- **Choix du sexe théorique :**

a-Virilisation d'un enfant de sexe féminin ⇒ féminin

b-Virilisation incomplète d'un enfant de sexe masculin :

- Défauts de biosynthèse de la testostérone ⇒ masculin

- Insensibilité partielle aux androgènes ⇒ masculin

(Seulement si bonne réponse aux androgènes)

- Insensibilité complète aux androgènes ⇒ féminin

- Déficit en 5 α réductase ⇒ masculin

c-Dysgénésie gonadique ⇒féminin ? Masculin ?

d-Syndrome de persistance des canaux de Muller ⇒masculin

e-OVOTESTIS

- Utérus présent ⇒féminin

- Pas d'utérus ⇒féminin ou masculin (dépends des OGE)

- **Arguments majeurs pour l'orientation du sexe :**

a-Génitoplastie de masculinisation :

- Taille de la verge.
- Sensibilité aux androgènes.
- Puberté spontanée possible.
- Fertilité.

b-Génitoplastie de féminisation :

- Impossibilité de reconstruction de la verge.
- Puberté spontanée.
- Possibilités de grossesse (utérus).

- **Autres arguments pour l'orientation du sexe :**

a- Masculin :

- Parents refusant le sexe féminin.
- Caryotype XY.
- Absence d'utérus.

b- Féminin :

- Tissu ovarien meilleur que le tissu testiculaire en cas d'ovotestis.
- Caryotype XX.

A-2- Législation : [137]

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

- v **Article 23** : « l'acte de naissance énoncera le jour, l'heure et le lieu de naissance, le sexe de l'enfant et le prénom qui lui sera donné ».
- v **Article 21** : « les déclarations de naissance se font dans le premier mois. Ce délai dépassé, la déclaration ne peut être établie qu'en vertu du jugement rendu par le tribunal de première instance »
- v **Le chapitre V** : concerne la rectification des actes de l'état civil qui est ordonnée par le président du tribunal de première instance. La lettre doit être appuyée par un certificat médical justifiant la nécessité du changement.

B- TRAITEMENT

L'anomalie de développement sexuel d'un sujet, qu'il soit enfant ou adulte, est une situation pénible qui peut créer une souffrance psychologique durable pendant toute la vie. Un diagnostic précoce et une prise en charge thérapeutique complète sont souhaitables le plus tôt possible.

Le traitement comporte en général trois volets: un traitement hormonal, un traitement chirurgical et une prise en charge psychologique. Les indications

sont très variables dépendants du type d'anomalie de développement sexuel, de son étiologie et du sexe d'élevage choisi.

Pour le traitement chirurgical, la génitoplastie sera masculinisante ou féminisante avec ou sans ablation des gonades.

B-1- Traitement hormonal [124-138]

- **-Traitement des blocs surrénaliens**

La supplémentation en glucocorticoïdes permet de freiner l'ACTH et la sécrétion d'androgènes. L'hydrocortisone est administrée à la dose de 18 à 25 mg/m² par jour en 2 ou 3 prises. L'adjonction de minéralocorticoïdes à la dose de 25 à 100µg de fludrocortisone et de sel (2 à 3 g/jours) est nécessaire s'il existe un syndrome de perte de sel.

La prévention des accidents d'insuffisance surrénale nécessite une éducation des parents. On double les doses d'hydrocortisone en cas de stress, de fièvre ou d'intervention chirurgicale. On administre de l'hydrocortisone par voie parentérale en cas de vomissements.

Ces doses sont consignées sur une carte d'insuffisance surrénale.

La surveillance du traitement est clinique, radiologique et biologique.

La tension artérielle, la croissance, l'index cardiothoracique, l'âge osseux, la normalisation de l'androstènedione ou l'activité rénine, sont les paramètres essentiels à surveiller.

Un échappement au traitement doit faire discuter 3 causes principales: des médicaments non ou mal pris, un adénome surrénalien autonome, ou un échappement vrai qui nécessite un freinage par dexaméthasone.

- **Traitement androgénique :**

En cas de déficit, ou de castration, le traitement androgénique est nécessaire. La testostérone administrée entre 9 et 12 mois en 3 injections de 25 mg d'une forme retard à 3 semaines d'intervalle permet une augmentation de volume de la verge sauf si l'anomalie des organes génitaux est en rapport avec un trouble de la réceptivité aux androgènes.

Le déclenchement de la puberté se fait quand l'âge osseux est supérieur à 13 ans par des injections mensuelles de 250 mg de testostérone retard.

- **Déclenchement de la puberté féminine**

Le déclenchement de la puberté féminine peut être rendu nécessaire après gonadectomie précoce. Il se fait quand l'âge osseux est supérieur à 11 ans, d'abord par de petites doses d'éthinyl-oestradiol (EE): 10 mg par jour pendant 3 mois, puis par une association oestroprogestative (EP) permettant des cycles artificiels et des menstruations s'il existe un utérus.

B-2- Conduite vis à vis des gonades : [124]

Dans les anomalies 46,XX DSD, les ovaires sont normaux. La fertilité est normale si la freination d'un éventuel bloc surrénalien est satisfaisante. Les ovaires sont donc laissés en place.

En revanche, parmi les anomalies 46,XY DSD, un certain nombre de causes prédisposent à une néoplasie gonadique comme les dysgénésies gonadiques ou les troubles de la réceptivité aux androgènes; de plus, dans les troubles de la sensibilité aux androgènes, la masculinisation pubertaire est insuffisante. De même, les ovotestis DSD (exemple hermaphrodisme vrai) sont associés à un risque accru de néoplasie gonadique.

Les enfants subissent soit une gonadectomie précoce lorsque le déroulement spontané de la puberté risque d'entraîner un développement opposé au sexe choisi, soit après la puberté, si les sécrétions hormonales des gonades laissées en place permettent un certain développement pubertaire en accord avec le sexe choisi [124].

Risk group	Disorder	Malignancy risk (%)	Recommended action	No. studies (n)	No. patients (n)
High	GD ^a (+Y) ^b intra-abd.	15–35	Gonadectomy ^c	12	>350
	PAIS non-scrotal	50	Gonadectomy ^c	2	24
	Frasier	60	Gonadectomy ^c	1	15
	Denys-Drash (+Y)	40	Gonadectomy ^c	1	5
Intermediate	Turner (+Y)	12	Gonadectomy ^c	11	43
	17 β -HSD	28	Monitor	2	7
	GD (+Y) ^b scrotal	Unknown	Biopsy ^d and irradiat.?	0	0
	PAIS scrotal gonad	Unknown	Biopsy ^d and irradiat.?	0	0
Low	CAIS	2	Biopsy ^d and ???	2	55
	Ovotest DSD	3	Testis tissue removal ?	3	426
	Turner (–Y)	1	None	11	557
No (?)	5 α -Reductase	0	Unresolved	1	3
	Leydig cell hypoplasia	0	Unresolved	1	2

^a Gonadal dysgenesis (including not further specified, 46XY, 46X/46XY, mixed, partial, complete).
^b GBY region positive, including the *TSPY* gene.
^c At time of diagnosis.
^d At puberty, allowing investigation of at least 30 seminiferous tubules, preferentially diagnosis based on OCT3/4 immunohistochemistry.

Tableau 5 : Les cas nécessitant une gonadectomie [71].

B-3– La chirurgie de féminisation :

La réparation chirurgicale pour ces enfants qui doivent être élevés comme femmes inclue :

- ✓ L'enlèvement du corps pénien en laissant le gland et son innervation pour préserver la sensibilité clitoridienne ;
- ✓ La création d'un introitus d'aspect normal ainsi que la petite et la grande lèvre ;
- ✓ La réalisation d'une vaginoplastie pour fournir une ouverture perméable et satisfaisante du vagin. [139]

• La clitoridoplastie :

En association avec la vaginoplastie, la reconstruction clitoridienne chez les patients présentant des anomalies de différenciation sexuelle était l'un des principaux sujets de recherche et de discussion scientifique d'autant plus qu'il est important d'avoir des résultats postopératoires satisfaisants aussi bien sur le plan cosmétique que sur le plan de la fonction sexuelle chez ces patients. Plusieurs techniques de reconstruction clitoridiennes ont été publiées, y compris l'utilisation de tissus érectiles ou non érectiles. Ces techniques ont subi une évolution impressionnante.

- **La vaginoplastie :**

Le choix de la technique chirurgicale la plus appropriée est conditionné par les résultats de l'examen clinique, de l'échographie, de la génitographie et de l'exploration endoscopique précédemment réalisés. Il dépend du niveau de confluence entre vagin et urètre.

La cavité vaginale peut fusionner à tout niveau avec la paroi postérieure de l'urètre entre le col vésical (sinus uro-génital haut) et la partie distale de l'urètre (sinus uro-génital bas). Habituellement plus le sinus uro-génital est long, moins la cavité vaginale est développée. Les sinus uro-génitaux doivent être distingués des hypospades féminins [140] qui correspondent à une malformation rare où l'urètre féminin fusionne avec la paroi antérieure du vagin à tout niveau entre la partie haute et basse du vagin.

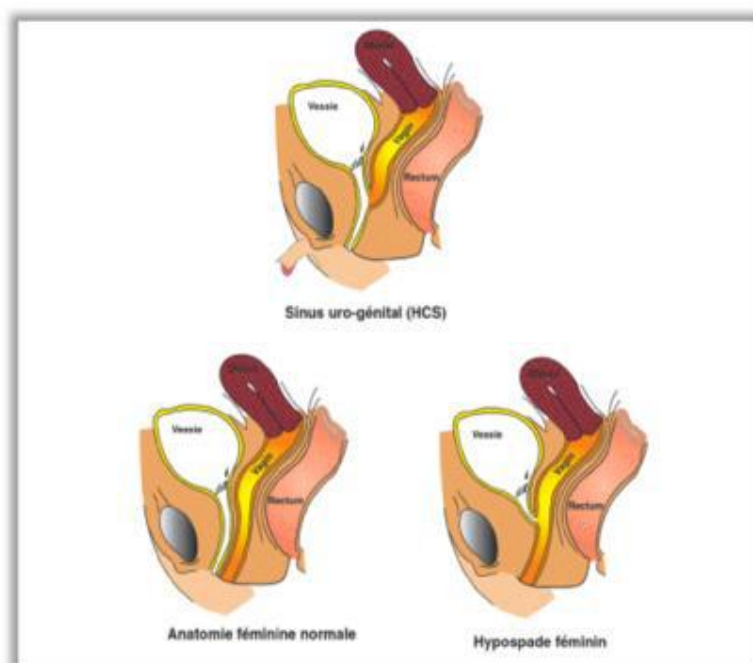


Figure 41 : Anatomie des sinus uro-génitaux comparée à l'anatomie féminine normale et à l'anatomie de l'hypospade féminin [125]

- **La reconstruction vaginale : [141,142,143]**

Dans de rares cas, la cavité vaginale résiduelle est trop petite pour être descendu jusqu'au plancher pelvien et, une vaginoplastie de substitution apparaît nécessaire. Dans leur grande majorité, les chirurgiens pédiatres préconisent l'utilisation d'un substitut intestinal pour remplacer le vagin, plutôt que l'utilisation d'un lambeau périnéal ou d'autres techniques impliquant la réalisation de dilatations vaginales qui sont particulièrement mal acceptées chez l'enfant. Cette technique consiste à isoler un segment intestinal de faible longueur (10 à 20 cm) prélevé aux dépens de l'iléon ou du colon sigmoïde. Le méso de ce segment intestinal est largement libéré dans le but de réaliser une anastomose au périnée avec le minimum de tension. L'iléon est préféré par certains chez l'enfant, alors que le colon sigmoïde est plutôt utilisé lors de reconstruction vaginale chez les adolescentes.

B-4- La chirurgie de masculinisation :

La chirurgie de masculinisation nécessite, une orchidopexie, la réparation d'un hypospadias et l'enlèvement des structures mülleriennes persistantes.

• Réparation de l'hypospadias :

L'hypospade se définit comme une hypoplasie de la face ventrale de la verge. Trois anomalies sont associées à des degrés variables : un abouchement ectopique de l'orifice urétral; une courbure ventrale de la verge; une anomalie du prépuce avec excès de peau à la face dorsale et un manque cutané à la face ventrale. Le segment manquant d'urètre est remplacé par une plaque urétrale allant de l'orifice ectopique jusqu'au sommet du gland entre les deux corps caverneux.

Objectifs :

- Corriger la brièveté de l'urètre en amenant un canal de calibre normal au bout du gland.
- Assurer à la verge sa rectitude à l'érection.
- Assurer au gland un aspect le plus proche de la norme et au méat une forme normale.
- Assurer une fonction normale en assurant une miction franche vers l'avant sans dispersion, ni bavure.

• Enlèvement des structures mülleriennes persistantes :

La persistance des canaux de Müller chez des individus de sexe masculin peut avoir comme conséquences: la présence d'utricule prostatique élargi (kystes de l'utricule), des kystes des canaux de Müller ou l'association des deux, ceci étant un évènement fréquent chez les sujets souffrant de troubles de différenciation sexuelle.

L'utricule prostatique est un diverticule élargi au niveau de l'urètre postérieur. Il est la plupart du temps asymptomatique. Il se manifeste parfois par des infections à répétitions du tractus urinaire. Il présente le risque de formation de calculs, des troubles urinaires, des épидидymites récurrentes, l'infertilité et finalement le risque de dégénérescence néoplasique.

L'excision chirurgicale est le traitement de choix. L'excision chirurgicale constitue le traitement définitif pour les cas symptomatiques. La gestion chirurgicale de ce problème constitue un challenge pour les chirurgiens à cause de la proximité de ces anomalies des canaux éjaculateurs, des nerfs de la région pelvienne, des canaux déférents et de l'urètre.

Il y a eu plusieurs approches chirurgicales éditées précédemment, y compris les approches: abdominale trans-vésicale (trans-trigonale), périnéale et antérieure ou postérieure transrectale sagittale.

La prise en charge est basée sur les symptômes et la taille des restes müllériens d'après les résultats des examens complémentaires réalisés.

Chez tous les garçons, la présence du col et de l'utérus est considérée comme une indication absolue au déplacement des structures müllériennes. Une confluence basse de l'utricule et de l'urètre, qui est un cas habituel dans les troubles de différenciation sexuelle, rend l'intervention beaucoup plus facile à exécuter, et ceci explique les larges indications pour le déplacement de l'utricule.

Une technique laparoscopique pour l'excision d'un utricule prostatique est récemment décrite.

- **Orchidopexie :**

L'orchidopexie peut s'avérer difficile à exécuter car les testicules en situation intra-abdominale peuvent avoir des vaisseaux et des canaux spermatiques courts atteignant à peine le cou du scrotum.

Ainsi une technique laparoscopique en une ou deux étapes de Fowler-Stephens a été préconisée avec des pourcentages élevés de succès.

B-5- L'âge de l'intervention : [124]

La génitoplastie féminisante comme la génitoplastie masculinisante doit répondre à trois impératifs :

- une chirurgie précoce ;
- le moins de temps opératoire possible ;
- un bon résultat avant l'âge scolaire.

L'âge moyen de l'intervention se situe dans une série récente à 12 mois pour des extrêmes de 4 mois et 36 mois. D'une façon générale, l'âge où est pratiquée l'intervention n'influe pas sur le taux de complication. La tendance actuelle est d'opérer les enfants entre 4 et 6 mois. Les résultats esthétiques à moyen terme sont, pour les premières génitoplasties précoces en un temps, satisfaisants, permettant de reconstruire une anatomie proche de la normale.

Au plan fonctionnel, sur le bourgeon génital, l'étude des potentiels évoqués somesthésiques donne des résultats encourageants, mais qui restent incomplets et au stade de l'étude préliminaire.

Que la génitoplastie soit masculinisante ou féminisante, sa réalisation précoce est souhaitable. Ceci permet de rassurer les familles et d'améliorer l'identification de l'enfant dans son milieu. Les résultats actuels sur les génitoplasties en un temps sont satisfaisants sur une large série. Cependant, il faut souligner que ces résultats sont de meilleure qualité dans les génitoplasties féminisantes que dans les génitoplasties masculinisantes.

B-6- Prise en charge psychologique :

Le choix du sexe d'un enfant porteur d'une anomalie de développement sexuel nécessite, parallèlement une évaluation précise de la dimension psychologique [55].

Money et Hampson [144] ont étudiés 172 cas d'anomalies de développement sexuel, dont 39 cas sont 46,XY DSD. Pour eux, l'orientation psychosexuelle ne dépend ni de leur sexe génétique, ni de leur sexe gonadique, mais elle est liée essentiellement à l'ambiance familiale et surtout à l'éducation.

Wilkins[145] qui a étudié 30 cas d'anomalies de développement sexuel, estime lui aussi que l'élément important à considérer dans la détermination du sexe est le «gender role» qu'on peut appeler tout simplement le «comportement sexuel» (par opposition au comportement génital). Selon Wilkins, ce comportement sexuel est déterminé par le sexe assigné à la naissance, et par l'éducation quel que soit les autres déterminants du sexe: chromosomique, gonadique, hormonal, génital interne et externe.

Il semble que le sexe psychologique prime le sexe chromatinien, le sexe gonadique et le sexe gonophorique interne. Par contre, le sexe gonophorique externe

ne doit pas être négligé, ni les paramètres fonctionnels offerts par une opération plastique.

Les paramètres psychologiques qui devront guider le choix du sexe seront appréciés par un examen psychologique approfondi des parents et de l'enfant et sont:

- Le désir des parents inscrits dans leur propre histoire familiale et dans un contexte socio-culturel.
- Les comportements et les conduites éducatifs adoptés à l'égard de l'enfant.

Une fois le choix clinique du sexe décidé, après confrontation des paramètres médicaux, chirurgicaux et psychologiques, il faut faire percevoir aux parents qu'on a découvert le vrai sexe et non pas qu'il a été choisi. Il est aussi important de les prévenir des conséquences pratiques de l'orientation choisie :

- ü Le calendrier des interventions chirurgicales ;
- ü La nature du traitement substitutif ;
- ü La stérilité éventuelle ;
- ü Le conseil génétique ;
- ü La vigilance constante vis-à-vis des gonades lorsqu'elles ont pu être conservées et une éventuelle castration devront être progressivement annoncées.

Hélas, quand le choix du sexe est fait, et l'enfant pris en charge médicalement, le suivi psychologique est souvent très difficile à obtenir, ne permettant pas d'évaluer le devenir à long terme de ces enfants [138].

7. Conseil génétique [146]

Le conseil génétique est une consultation spécialisée de médecine préventive qui, à partir du diagnostic précis d'une affection génétique survenue dans une famille, tâche à évaluer le risque de récurrence dans cette même famille. Il s'adresse à des couples ayant eu un enfant atteint ou s'avérant inquiets sur un éventuel risque pour leur descendance parce qu'ils sont eux-mêmes atteints, ont des apparentés atteints ou appartiennent à des populations à risque.

Dans ce cas, une enquête familiale doit être minutieusement établie et aboutir à un arbre généalogique le plus complet possible. Le conseil génétique sera donc évoqué dans deux grandes situations :

- la présence d'antécédents familiaux ayant une affection au diagnostic connu et confirmé.
- des antécédents familiaux ayant une maladie potentiellement héréditaire au diagnostic non certain.

Le conseil génétique doit expliquer, avec une formulation adaptée à l'interlocuteur, le mode de transmission et le type d'analyse effectuée ainsi que ses résultats et leurs conséquences, afin de lui permettre de bien comprendre la situation dans le but de prendre les décisions qui lui conviennent le mieux.

Le conseil génétique doit également, lorsque le risque est faible ou ne diffère pas de celui de la population générale, rassurer les personnes ayant des craintes génétiquement non justifiées.

8. Gestion de l'information :

L'éducation médicale et sexuelle des enfants DSD et de leurs parents et le conseil (y compris ce qu'il convient de faire avec la parentèle et les amis) est une partie d'importance cruciale dans la gestion psychosociale. La question la plus difficile est l'annonce de leur statut médical et de leur histoire aux patients DSD eux-mêmes, spécialement à ceux qui ont été assignés à un genre qui est en désaccord avec le sexe chromosomique et ou la structure des gonades. Les règlements légaux donnent généralement aux patients le droit à leur information médicale et beaucoup de cliniciens expérimentés sont d'accord qu'au moment de la fin des études secondaires, un patient DSD devrait être pleinement informé en fonction de son niveau de capacité cognitive. Les faits tirés d'études de patients ayant d'autres conditions médicales chroniques et d'adoptés montrent que l'annonce est associée à une adaptation

psychologique accrue [147], bien que ce ne soit pas toujours bénéfique. Bien des parents sont anxieux et aimeraient que l'annonce complète soit différée, voire définitivement. Depuis le moment du diagnostic, le processus d'annonce devrait être planifié avec les parents dans un dialogue continu sur ce qui peut être dit et quand [148]. Le moment adéquat pour l'annonce est important. Une annonce précoce se heurte aux limites cognitives. Une annonce tardive implique une occultation et une tromperie et peut entraîner une méfiance à long terme et une colère à l'égard des professionnels médicaux et même mettre en danger l'utilisation future appropriée des services médicaux.

L'annonce peut être conceptualisée au mieux comme un processus à long terme commençant à la fin de l'âge préscolaire, en plusieurs temps, de préférence en conjonction avec des événements médicaux significatifs comme l'induction de la puberté par le traitement hormonal ou la chirurgie génitale à l'adolescence.

Il y a la question de la chirurgie génitale antérieure et de ses signes révélateurs, à savoir les cicatrices sur l'abdomen, les anomalies éventuellement persistantes de l'apparence génitale, et les projets de chirurgie ultérieure ; le besoin d'induire la puberté par un traitement hormonal sexuel et de maintenir les caractéristiques sexuelles secondaires par sa prolongation tout au long de la vie ; la question de l'infertilité ou, mieux, de la réalisation potentielle de la parentalité par des moyens autres que la grossesse ou l'insémination ; la question de la variabilité du rôle de genre parmi les individus ayant le même noyau d'identité de genre ; et le potentiel pour les aventures sentimentales, la sexualité et la formation d'un couple – sans parler de l'orientation sexuelle. Toutes ces questions du potentiel fonctionnel sont, pour la moyenne des personnes DSD, plus importantes que les détails de la structure moléculaire des gènes, les variantes de la synthèse des hormones, les déficiences des récepteurs, les anomalies enzymatiques et l'organisation et l'activation des réseaux neuraux – bien que tel ou tel patient adolescent ou adulte puisse avoir des intérêts

spécialisés ou même choisir une carrière dans les sciences biologiques correspondantes et chercher une compréhension aussi complète que possible actuellement de sa condition biologique.

Pour l'enfant et l'adolescent en cours de développement, l'information médicale doit être taillée sur mesure en fonction du niveau de sa maturité cognitive. Le fait que la signification et les connotations des termes diffèrent grandement entre le personnel médical et les profanes rend nécessaire un choix réfléchi et précautionneux de la terminologie. La « vérité » médicalement formulée peut être dramatiquement différente de ce que le patient ou les parents perçoivent. Des aides visuelles peuvent être très utiles.

À chaque stade, tous les membres de l'équipe soignante ont besoin d'être conscients de ce que le patient sait.

À la fois pour les patients et les parents, discuter les aspects médicaux de l'intersexualité tend à être chargé d'émotion, si bien qu'une rétention adéquate est problématique. La procédure idéale pour l'information médicale d'une famille nouvellement référée est que le médecin en charge de la coordination d'ensemble des soins, d'ordinaire un pédiatre endocrinologue ou urologue, fasse aux parents un résumé soigneusement formulé de l'information médicale en présence du personnel de santé mentale qui prend la relève. Nous demandons aux parents de nous redire en détail ce qu'ils ont compris de la condition médicale, de son origine et de son pronostic. Puis nous répétons l'éducation, corrigeons ce que les parents n'ont pas compris et répondons à leurs inquiétudes particulières. Aux visites suivantes, nous répétons la procédure si nécessaire, gardant à l'esprit que de nouvelles incompréhensions et des inquiétudes différentes se développent au cours du temps. Nous utilisons des procédures similaires avec les enfants avec DSD quand ils ont assez âgés, sauf qu'en plus nous leur faisons expliquer (en notre présence) ce qu'ils ont appris de nous, ouvrant ainsi les canaux de la communication [149].

9. Les groupes de soutien :

Un des problèmes récurrents des personnes souffrant de troubles rares et de leur famille est le sentiment d'isolement et de n'avoir personne à qui parler qui comprennent réellement ce qu'ils ont à affronter. Ces dernières années, de nombreux groupes de soutien ont surgi, y compris des groupes spécifiques aux personnes DSD et/ou à leurs parents, et Internet a grandement contribué à leur développement. Quelques-uns ont développé leurs propres lignes de conduite pour la gestion psychosociale des patients DSD [150,151]. En général, ces groupes ont apporté une grande aide à de nombreux patients et à leur famille. Cependant, la qualité de ces groupes est hautement variable et l'information médicale et autre qui vient d'eux induit parfois quelque peu en erreur. Aussi recommandons-nous des échanges fréquents entre les groupes de soutien et les professionnels et les participants de ces groupes devraient être fortement encouragés à chercher un second avis auprès des médecins et autres soignants en ce qui concerne l'information reçue.

MATERIELS ET METHODES

I. But de l'étude :

Le but de notre travail est la mise en évidence de la diversité des troubles de différenciations sexuelles et la détermination de l'importance de la cytogénétique et de la biologie moléculaire dans leur prise en charge.

II. Matériels :

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive menée au niveau du laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique, ce travail concerne 62 patients.

Ont été inclus tous les patients porteurs de trouble de différenciation sexuelle.

Le travail est fondé sur l'exploitation des dossiers cliniques des patients vus au laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique durant une période comprise entre 2009 et 2014. Pour extraire les informations des dossiers, nous nous sommes aidés d'une fiche d'exploitation.(voir annexe 1)

Nous avons classés nos patients, selon la nouvelle classification des troubles de différenciation sexuelle, comme suit :

- troubles 46,XX DSD.
- troubles 46,XY DSD.
- Troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.

III. Tableaux des observations :

A- Patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique

1- Identité, motif d'hospitalisation :

Cas	Sexe	Origine	Age	Etat matrimonial	Assurance	Consanguinité	Motif de consultation
1	Masculin	Fès	7	Non marié	Assuré	Non	Micropénis.
2	Féminin	Fès	34	Non marié	Assuré	—	Hypertrophie clitoridienne.
3	Masculin	Taza	33	Marié	—	Non	Stérilité
4	Masculin	Fès	27	Marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral.
5	Masculin	—	34	Marié	—	Non	Stérilité
6	Féminin	Taza	35	Non marié	Non assuré	Non	Dysmorphie.
7	Féminin	Fès	24	Non marié	Assuré	Oui	Aménorrhée
8	Masculin	Taounate	27	Non marié	—	Oui	Micropénis.
9	Féminin	Fès	30	Non marié	—	Non	Aménorrhée
10	Indéterminé	Taza	43	Non marié	—	Non	Hypertrophie clitoridienne.
11	Féminin	Fès	6	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral.
12	Féminin	Taza	21	Non marié	Assuré	Non	Aménorrhée.
13	Masculin	Hoceima	42	Marié	—	Non	Stérilité.
14	Féminin	Taounate	5	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral.
15	Féminin	Tanger	1	Non marié	Non assuré	Non	Dysmorphie.
16	Féminin	Fès	15	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral.
17	Féminin	Chaouen	32	Marié	Non assuré	Non	Dysmorphie.
18	Masculin	Oujda	9	Non marié	Non assuré	Oui	Dysmorphie
19	Masculin	Oujda	16	Non marié	—	Non	Retard staturopondéral
20	Féminin	Fès	17	Non marié	Assuré	Non	Retard pubertaire
21	Féminin	Taounate	20	Non marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral.
22	Féminin	—	15	Non marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral
23	Féminin	Fès	1	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral
24	Masculin	Fès	15	Non marié	Assuré	Non	Gynécomastie
25	Féminin	Taza	12	Non marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral
26	Féminin	Errachidia	5	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral
27	Masculin	Errachidia	23	Non marié	Non assuré	Non	Retard pubertaire.
28	Féminin	Fès	6	Non marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral
29	Féminin	Meknès	16	Non marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral
30	Féminin	Fès	10	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral
31	Féminin	Fès	20	Non marié	—	Non	Aménorrhée
32	Féminin	Fès	18	Non marié	Assuré	Non	Aménorrhée
33	Masculin	Taounate	33	Marié	Non assuré	Non	Stérilité
34	Féminin	Fès	17	Non marié	Assuré	Non	Retard pubertaire
35	Féminin	Fès	1	Non marié	—	Non	Dysmorphie.
36	Féminin	Oujda	13	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral
37	Féminin	Fès	11	Non marié	Assuré	Non	Retard staturopondéral
38	Féminin	Oujda	1	Non marié	Non assuré	Non	Retard staturopondéral
39	Féminin	Fès	30	Marié	Non assuré	Non	Aménorrhée.
40	Féminin	Fès	21	Non marié	Non assuré	Non	Aménorrhée.
41	Masculin	Fès	32	Marié	—	Non	Stérilité
42	Féminin	Taounate	4	Non marié	—	Oui	Retard staturopondéral
43	Féminin	Oujda	15	Non marié	Assuré	Oui	Retard staturopondéral
44	Féminin	—	6	Non marié	—	—	Retard staturopondéral
45	Masculin	—	15	Non marié	—	Oui	Insensibilité à la douleur

Tableau 6 : Identité, motif d'hospitalisation des patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.

2- Renseignements cliniques, Exploration radiologique :

Cas	Renseignements cliniques	Exploration radiologique
1	Ectopie testiculaire, micropénis, faciès trisomique, retard psychomoteur.	Echographie pelvienne : testicules normales.
2	Hypertrophie clitoridienne.	-----
3	Testicule hypotrophique, infertilité avec azoospermie.	-----
4	Taille haute, testicule hypotrophique, infertilité avec azoospermie.	Echographie pelvienne : Testicules hypotrophiques.
5	Infertilité avec azoospermie.	-----
6	Retard staturopondéral, retard psychomoteur, cheveux bas implantés, micrognathisme, hypertélorisme, front bombant, philtrum mal dessiné, doigt en bague de tambour, brachydactylie atteinte dermatologique et ophtalmologique.	Echographie pelvienne : visualisation de l'utérus et des ovaires.
7	Retard staturopondéral, pterygion colli, visage triangulaire, impubérisme.	Echographie pelvienne : visualisation de l'utérus.
8	Testicule hypotrophique, micropénis, caractères sexuels secondaires non développés.	-----
9	Cou court, pterygion colli, signes d'hyperandrogénie, impubérisme.	Echographie pelvienne : Utérus hypoplasique.
10	Bourgeon génital de grande taille, 2 orifices urogénitaux de position périnéale, bourrelets génitaux d'aspect scrotal, testicule palpée, uropathie.	-----
11	Retard staturopondéral, cheveux bas implantés, retard âge osseux.	-----
12	Retard staturopondéral, cheveux bas implanté, visage triangulaire, strabisme, impubérisme.	-----
13	Infertilité avec azoospermie.	-----
14	Retard psychomoteur, retard staturopondéral.	-----
15	Oreilles décollées, doigt en bague de tambour, brachydactylie, mégalocornée avec cornée dystrophique et œdémateuse.	-----
16	Retard staturopondéral, cheveux bas implantés, micrognathisme, oreilles décollées, impubérisme, hypertrophie clitoridienne.	-----
17	Pterygion colli	-----
18	Retard statural, retard psychomoteur, oreilles décollées, retrognathisme, micrognathisme, fente palpébrale oblique en bas, hirsutisme, hypertrophie clitoridienne.	-----
19	Retard statural, retard pubertaire.	-----
20	Retard staturopondéral, mamelon écarté, impubérisme.	Echographie pelvienne : absence de visualisation des ovaires
21	Retard staturopondéral.	Echographie pelvienne : visualisation de l'utérus.
22	Retard staturopondéral, retard psychomoteur, visage triangulaire, diabète.	-----
23	Retard staturopondéral, hypertélorisme, oreilles décollées, nez en prise de courant, rétraction bitemporal, strabisme, bouche en chapeau de gendarme, atteinte cardiaque et ORL.	-----
24	Taille haute, gynécomastie, retard de l'âge osseux.	Echographie pelvienne : testicules hypotrophiques.
25	Retard staturopondéral, cheveux bas implantés, mamelon écarté, visage triangulaire.	-----
26	Retard staturopondéral, mamelon écarté, malformation buccodentaire, obésité, signes d'hyperandrogénie.	-----
27	Taille haute, retard psychomoteur, retard pubertaire, trouble émotionnelle, caractères sexuels secondaires non développés, oreilles décollé, valvulopathie, infection à répétition, hypogonadisme.	-----

28	Retard staturopondéral, retard psychomoteur, pterygion colli, épicanthus, mamelon écarté, hypertélorisme, oreilles décollées, front bombant, atteinte cardiaque.	-----
29	Retard staturopondéral, thorax large, cou court, cheveux bas implantés, mamelon écarté et hypoplasique, retard de l'âge osseux, atteinte dermatologique, impubérisme.	-----
30	Retard staturopondéral, mamelon écarté, visage triangulaire, oreilles décollées.	-----
31	Retard staturopondéral, atteinte cardiaque, impubérisme.	Echographie pelvienne : absence de visualisation d'utérus et des ovaires.
32	Retard staturopondéral, cou court, cheveux bas implantés, mamelon écarté, visage triangulaire, impubérisme.	Echographie pelvienne : absence de visualisation de l'utérus.
33	Testicule hypotrophique, infertilité avec azoospermie.	Echographie pelvienne : testicules hypotrophiques.
34	Retard staturopondéral, retard pubertaire, m020amelon hypoplasique.	Echographie pelvienne : utérus et ovaires hypoplasiques.
35	Fente palatine, micrognathisme, genou recurvatum, atteinte cardiaque.	-----
36	Retard staturopondéral, retard pubertaire, thorax large, retard âge osseux.	-----
37	Retard staturopondéral, pterygion colli, oreilles bas implantés, cheveux bas implanté, retard âge osseux, retard pubertaire, retard psychomoteur.	-----
38	Retard staturopondéral, pterygion colli.	-----
39	Retard staturopondéral, retard pubertaire.	Echographie pelvienne : absence de visualisation des ovaires avec utérus hypoplasique.
40	Impubérisme.	-----
41	Testicule hypotrophique, infertilité avec azoospermie, gynécomastie.	-----
42	Retard staturopondéral, cheveux bas implantés, mamelon écarté, retard âge osseux.	-----
43	Retard staturopondéral, mamelon écarté, visage triangulaire, hypertélorisme, retard psychomoteur, impubérisme, retard psychomoteur.	-----
44	Retard staturopondéral, cheveux bas implantés, mamelon écarté, visage triangulaire, hypertélorisme, retard âge osseux.	-----
45	Insensibilité à la douleur, retard pubertaire, testicule hypotrophique, micropénis, caractères sexuels secondaires non développés, gynécomastie, absence de la 3ème phalange des deux mains et des gros orteils, mal perforant plantaire, retard psychomoteur, hypogonadisme.	-----

Tableau 7 : Renseignement cliniques, Exploration radiologique des patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.

3– Bilans biologiques et Diagnostic :

Cas	Bilan hormonal	Cytogénétique et biologie moléculaire	Diagnostic
1	-----	Caryotype : 48,XXY,+21	Syndrome de Klinefelter + trisomie 21.
2	-----	Caryotype : 45,X. FISH : absence du chromosome Y. MULTIPLEX-PCR SRY : absence du gène SRY.	Syndrome de Turner
3	-----	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
4	FSH élevé, LH normal.	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
5	-----	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
6	FSH LH élevés, prolactine normal.	Caryotype : mos 45,X/46,XX FISH : absence du chromosome Y	Syndrome de Turner
7	FSH LH prolactine élevés.	Caryotype : 46,X,i(X)	Syndrome de Turner
8	Testostérone normal, FSH élevé.	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
9	Progestérone bas.	Caryotype : 45,X FISH : absence du chromosome Y.	Syndrome de Turner
10	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XY FISH : présence du chromosome Y.	Dysgénésie gonadique mixte
11	Testostérone bas, FSH LH prolactine œstradiol et progestérone normaux.	Caryotype : 45,X avec translocation entre X et Y MULTIPLEX-PCR SRY : présence du gène SRY	Syndrome de Turner
12	-----	Caryotype : 46,X,der(X)t(X,X)(pter,pter)	Syndrome de Turner
13	-----	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
14	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XX FISH : absence du chromosome Y MULTIPLEX-PCR SRY : absence du gène SRY	Syndrome de Turner
15	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XY FISH : présence du chromosome Y.	Dysgénésie gonadique mixte
16	-----	Caryotype : 45,X MULTIPLEX-PCR SRY : présence du gène SRY	Syndrome de Turner
17	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XX FISH : absence du chromosome Y	Syndrome de Turner
18	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XY FISH : présence du chromosome Y.	Dysgénésie gonadique mixte
19	-----	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
20	-----	Caryotype : 45,X MULTIPLEX-PCR SRY : absence du gène SRY.	Syndrome de Turner
21	-----	Caryotype : 46,X,i(X)	Syndrome de Turner
22	-----	Caryotype : 45,X	Syndrome de Turner

23	-----	Caryotype : mos 46,X, i(X)/45,X/46,XX FISH : présence d'une mosaïque X0/XX.	Syndrome de Turner
24	Testostérone bas, FSH LH PROLACTINE élevés, œstradiol normal.	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
25	-----	Caryotype : 45,X	Syndrome de Turner
26	-----	Caryotype : 46,X, i(X) (q10) MULTIPLEX-PCR SRY : présence du gène SRY.	Syndrome de Turner
27	Testostérone bas, FSH LH élevé.	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
28	-----	Caryotype : 45,X	Syndrome de Turner
29	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XY FISH : présence du chromosome Y.	Dysgénésie gonadique mixte
30	-----	Caryotype : 45/X	Syndrome de Turner
31	-----	Caryotype : 45/X MULTIPLEX-PCR SRY : absence du gène SRY.	Syndrome de Turner
32	FSH élevé, LH prolactine normaux.	Caryotype : 45/X	Syndrome de Turner
33	Testostérone bas, FSH élevé.	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
34	FSH élevé.	Caryotype : mos 45,X/46,XX	Syndrome de Turner
35	-----	Caryotype : mos 48,XXX, +18/47,XX,+18 FISH : présence de 3 chromosomes X.	Syndrome triple X + trisomie 18
36	-----	Caryotype : mos 46,X, i(X)/45,X/46,XX FISH : présence d'une mosaïque X0/XX.	Syndrome de Turner
37	-----	Caryotype : 45,X MULTIPLEX-PCR SRY : absence du gène SRY.	Syndrome de Turner
38	-----	Caryotype : 45,X	Syndrome de Turner
39	FSH LH élevés, prolactine œstrogène normaux.	Caryotype : mos 46,XX/46,XY FISH : mos 46,XX/46,XY	Chimérisme
40	-----	Caryotype : mos 45,X/46,XX FISH : absence du chromosome Y.	Syndrome de Turner
41	Testostérone prolactine normaux, FSH LH élevés.	Caryotype : 47,XXY	Syndrome de Klinefelter
42	-----	Caryotype : 45,X MULTIPLEX-PCR SRY : absence du gène SRY	Syndrome de Turner
43	FSH LH élevés, œstrogène progestérone bas.	Caryotype : 45,X	Syndrome de Turner
44	-----	Caryotype : 46,X,r(X)	Syndrome de Turner
45	Testostérone bas.	Caryotype : 47,XXY FISH : présence de 2 chromosomes Y.	Syndrome double Y

Tableau 8 : Bilans biologiques et Diagnostic patients avec troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.

B– Troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD**1– Identité, motif d'hospitalisation :**

Cas	Sexe	Origine	Age	Etat matrimonial	Assurance	Consanguinité	Motif de consultation
1	Indéterminé	Errachidia	1	Non marié	—	Non	Hypertrophie clitoridienne.
2	Indéterminé	Fès	10	Non marié	—	Non	Micropénis.
3	Indéterminé	Taounate	1	Non marié	Non assuré	Oui	Hypertrophie clitoridienne.
4	Indéterminé	Fès	1	Non marié	Assuré	Non	Hypospadias.
5	Indéterminé	Oujda	1	Non marié	Non assuré	Non	Cryptorchidie.
6	Indéterminé	Fès	1	Non marié	Assuré	Non	Hypospadias.
7	Indéterminé	Taounate	4	Non marié	Non assuré	Oui	Micropénis.
8	Féminin	Azrou	23	Non marié	-	Non	Aménorrhée.

Tableau 9 : Identité, motif d'hospitalisation des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD.

2– Renseignement cliniques, Exploration radiologique :

Cas	Renseignements cliniques	Exploration radiologique
1	Retard staturopondéral, Hypertrophie clitoridienne.	—
2	Retard staturopondéral, micropénis, bourrelets génitaux lisses évoquant les grandes lèvres, cardiopathie.	Echographie pelvienne : testicules présents et eutrophique.
3	Hypertrophie clitoridienne, bourrelets génitaux striés d'aspect scrotal, testicules palpés.	—
4	Hypospadias, micropénis, cryptorchidie, retard psychomoteur.	Echographie pelvienne : ectopie testiculaire, absence de structures évoquant l'utérus
5	Cryptorchidie, micropénis, bourrelets génitaux lisses évoquant les lèvres, malformation anorectale.	Echographie pelvienne : ectopie testiculaire, absence de structures évoquant l'utérus
6	Retard staturopondéral, hypospadias, cryptorchidie.	—
7	Micropénis, cryptorchidie, bourrelets génitaux lisses évoquant les lèvres.	Echographie pelvienne : pénis hypotrophique, ectopie testiculaire.
8	Retard staturopondéral, retard âge osseux, retard psychomoteur, impubérisme.	—

Tableau 10 : Renseignement cliniques, Exploration radiologique des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD.

3- Bilans biologiques et Diagnostic :

Cas	Bilan hormonal	Cytogénétique et biologie moléculaire	Diagnostic
1	_____	Caryotype : 46,XY. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : absence du gène <i>SRY</i> .	Dysgénésie gonadique complète
2	Testostérone bas, FSH LH normaux progestérone normaux.	Caryotype : 46,XY.	Anomalie du récepteur du LH.
3	_____	Caryotype : 46,XY.	Déficit en 5 α réductase.
4	Testostérone LH FSH normaux.	Caryotype : 46,XY. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : présence du gène <i>SRY</i>	Déficit en 5 α réductase.
5	_____	Caryotype : 46,XY.	Trouble de l'hormonosynthèse.
6	_____	Caryotype : 46,XY. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : absence du gène <i>SRY</i> .	Dysgénésie gonadique partielle.
7	_____	Caryotype : 46,XY.	Déficit en 5 α réductase.
8	Testostérone élevé, prolactine normal, FSH LH bas, œstradiol bas.	Caryotype : 46,XY.	Insensibilité complète aux androgènes

Tableau 11 : Bilans biologiques et Diagnostic patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XY – 46,XY DSD.

C- Troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD :

1- Identité, motif d'hospitalisation :

Cas	Sexe	Origine	Age	Etat matrimonial	Assurance	Consanguinité	Motif de consultation
1	Indéterminé	Fès	1	Non marié	Assuré	Non	Hypospadias.
2	Féminin	Fès	20	Non marié	Assuré	Oui	Aménorrhée.
3	Indéterminé	Nador	1	Non marié	Non assuré	Oui	Hypospadias.
4	Indéterminé	Kenitra	1	Non marié	—	Non	Retard staturopondéral
5	Indéterminé	Fès	2	Non marié	Non assuré	Non	Micropénis.
6	Indéterminé	Errachidia	1	Non marié	Non assuré	Oui	Déshydratation aigue
7	Indéterminé	Fès	1	Non marié	Non assuré	Oui	Déshydratation aigue
8	Indéterminé	Hoceima	1	Non marié	—	Oui	Cryptorchidie.
9	Indéterminé	Taza	1	Non marié	Non assuré	Oui	Déshydratation aigue

Tableau 12 : Identité, motif d'hospitalisation des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD.

2– Renseignement cliniques, Exploration radiologique :

Cas	Renseignements cliniques	Exploration radiologique
1	Hypospadias, bourrelets génitaux lisses évoquant les grandes lèvres, cryptorchidie.	Echographie pelvienne : aspect d'un vagin IRM pelvienne : présence de structures rappelant l'utérus et les ovaires.
2	Retard pubertaire, aménorrhée.	Echographie pelvienne : absence de visualisation des ovaires et de l'utérus. IRM pelvienne : absence de structures rappelant l'utérus et les ovaires.
3	Micropénis, hypospadias, cryptorchidie.	Echographie pelvienne : présence de structures rappelant l'utérus.
4	Retard staturopondéral, cryptorchidie, micropénis.	Echographie pelvienne : présence de structures rappelant l'utérus.
5	Déshydratation aiguë, cryptorchidie.	Echographie pelvienne : présence de structures rappelant l'utérus, absence de visualisation d'ovaires et les testicules.
6	Déshydratation aiguë, mélanodermie.	Echographie pelvienne : visualisation de l'utérus, absence de visualisation des testicules.
7	Hypospadias, bourrelets génitaux lisses évoquant les lèvres, mélanodermie.	_____
8	Micropénis, cryptorchidie, bourrelets génitaux lisses évoquant les lèvres,	Echographie pelvienne : présence de structures rappelant l'utérus.
9	Déshydratation, micropénis.	Echographie pelvienne : présence de structures rappelant l'utérus, absence de visualisation des ovaires.

Tableau 13 : Renseignement cliniques, Exploration radiologique des patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD.

3– Bilans biologiques et Diagnostic :

Cas	Bilan hormonal	Cytogénétique et biologie moléculaire	Diagnostic
1	_____	Caryotype : 46,XX. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : absence du gène <i>SRY</i> .	Hyperplasie congénitale des surrénales.
2	Testostérone normal, FSH LH élevés, prolactine normal.	Caryotype : 46,XX. FISH : absence du chromosome Y.	Hyperplasie congénitale des surrénales.
3	Testostérone normal, progestérone élevé.	Caryotype : 46,XX. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : absence du gène <i>SRY</i> .	Hyperplasie congénitale des surrénales.
4	Testostérone normal, FSH LH bas.	Caryotype : 46,XX. FISH : absence du chromosome Y.	Hyperplasie congénitale des surrénales.
5	Testostérone FSH LH normaux.	Caryotype : 46,XX. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : absence du gène <i>SRY</i> .	Hyperplasie congénitale des surrénales.
6	_____	Caryotype : 46,XX. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : absence du gène <i>SRY</i> .	Hyperplasie congénitale des surrénales.
7	Œstrogènes élevé.	Caryotype : 46,XX. FISH : absence du chromosome Y.	Hyperplasie congénitale des surrénales.
8	_____	Caryotype : 46,XX. MULTIPLEX-PCR <i>SRY</i> : présence du gène <i>SRY</i> .	male 46,XX <i>SRY</i> -positif.(testicular DSD)
9	Testostérone élevé.	Caryotype : 46,XX. FISH : absence du chromosome Y.	Hyperplasie congénitale des surrénales.

Tableau 14 : Bilans biologiques et Diagnostic patients avec troubles de différenciation sexuelle 46,XX – 46,XX DSD.

IV. Méthodes :

A. Prélèvement sanguin et Conservation

Pour chaque patient, on a effectué un prélèvement de sang veineux (de 3 à 5ml) qui a été stockés dans deux tubes :

- Ø Tube Hépariné (Lithium Heparin) consacré pour l'étude cytogénétique. Ce tube est conservé à +4°C et ne doit pas dépasser trois jours de stockage pour obtenir une culture optimale.
- Ø Tube EDTA (Ethylène Diamine Tétracétique acide) consacré pour la DNA thèque

B. Caryotype par marquage aux bandes R

1. Principe

Le caryotype est le processus d'appariement et de mise en ordre des chromosomes d'un individu, qui sert à détecter les anomalies chromosomiques que se soient de nombres ou de structures.

Les lymphocytes sanguins sont mis en culture stimulés par la phytohémagglutinine (PHA), puis bloqués en métaphase par colchicine qui perturbe les fuseaux mitotiques.

Par la suite, les chromosomes seront dispersés par un choc hypotonique, puis fixés par un fixateur à base d'alcool et d'acétate.

Ces chromosomes seront sujets à une technique de marquage par bandes : permettant de mettre en évidence 400 à 500 bandes constantes et caractéristiques d'une paire chromosomique donnée.

Plusieurs marquages sont utilisés notamment celui des bandes R obtenues après dénaturation thermique ménagée des chromosomes puis coloration par Giemsa.

Enfin un logiciel va permettre de classer les différents chromosomes ainsi obtenu sous un ordre de taille décroissant.

2. Réactifs nécessaires (annexe 3)

Les réactifs utilisés dans le protocole du caryotype sont :

✚ Milieu de culture contenant principalement :

- ✚ Sérum
- ✚ Mitogène (PHA)
- ✚ Antibiotique

✚ Colchicine CarylMax 10mg/ml

✚ KCL 0.065M (1.4g de KCl qsp 300ml)

✚ Carnoy I (3V méthanol-1V acide acétique)

✚ Earl

✚ Giemsa 7% qui est un colorant.

3. Protocole

a) Mise en culture des cellules sanguines

On prélève à partir du sang préalablement conservé dans le tube hépariné, 500µl qu'on ajoute, sous hôte, à un tube de 15 ml contenant un milieu de culture prêt à l'emploi (PB-MAX Karyotyping middle d'Invitrogène). On note sur ce tube les données du patient (nom, numéro du dossier, date de culture). Le tube est ensuite incubé en position inclinée à 37°C pendant 72h.

b) Blocage des cellules en métaphase

Après 72h de culture, on y ajoute sous hôte 100µl de colchicine qui a pour rôle de bloquer les cellules en métaphase. Après avoir bien mélangé les constituants on remet le tube à l'étuve à 37°C pendant 50 minutes.

c) Choc hypotonique

On prépare d'abord la solution hypotonique de KCl 0.065 M qui sert à éclater les cellules. Cette solution doit être à 37°C lors d'utilisation.

Après 50 minutes, on mélange le tube, on centrifuge à 1500 tr/mn à 25°C pendant 5 mn et on élimine le surnageant pour ne garder que le culot. On suspend ce dernier dans quelques gouttes de la solution de KCl 0.065M à l'aide d'une pipette, puis on complète à 12 ml par la même solution. On homogénéise bien et on incube à 37°C pendant 20 mn.

d) Fixation

Le fixateur ou solution de Carnoy doit être préparé juste avant l'utilisation. Il est constitué de trois volumes de méthanol additionnés d'un volume d'acide acétique.

Après incubation, on effectue une série de fixations précédée par une préfixation :

◆ Préfixation :

On ajoute 1ml du fixateur au tube, soit 13 ml au total. On centrifuge à 1500 tr/mn à 25°C pendant 5 mn et on élimine le surnageant.

◆ Première fixation :

On suspend le culot dans quelques gouttes de Carnoy I et on complète à 10 ml par la même solution. On homogénéise et on incube pendant 20 mn à température ambiante. Puis on centrifuge à 1500 tr/mn à 25°C pendant 5 mn, on retire le surnageant jusqu'à environ 0.5 ml.

◆ Deuxième fixation :

On remet le culot en suspension dans quelques gouttes du fixateur et on complète à 8 ml. On homogénéise et on laisse fixer à température ambiante pendant au moins 45mn. Ensuite, on centrifuge à 1500 tr/mn à 25°C pendant 5 mn et on retire le surnageant jusqu'à environ 1ml. Ensuite on procède à l'étalement.

e) Etalement

D'abord on prépare une pièce sous conditions de température de $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ et d'humidité d'au moins $45\% \pm 5$. On prépare également des lames à bord rodé sur lequel on note les références du patient.

On remet le culot contenant les leucocytes en suspension dans quelques gouttes du Carnoy I, on aspire dans l'effilure de la pipette pasteur. Dans la zone humidifiée, on tient la pipette pasteur horizontalement au-dessus de la lame avec une distance d'à peu près 25 cm, et on laisse tomber 2 à 3 gouttes de la culture d'une façon à couvrir l'ensemble de la lame. Puis on laisse sécher à température ambiante.

Une fois séchées, on incube les lames à 37°C pendant 4 jours pour permettre la déshydratation des chromosomes et pour rendre fragile les liaisons hydrogènes qui lient les deux brins d'ADN, à fin de les préparer pour l'étape de dénaturation.

f) Dénaturation et coloration

Au quatrième jour d'incubation on récupère les lames et on procède à la dénaturation thermique ménagée qui vise les liaisons A=T. On met les lames dans la solution saline Earl à 87°C pendant 1h25mn, ensuite on rince les lames et on les met dans une solution de Giemsa 7% (colorant) pendant 8 mn à fin de colorer les chromosomes en bandes claires et sombres. En effet les liaisons A = T dénaturées dans l'étape précédente ne peuvent plus absorber le colorant et apparaissent claires sous microscope, alors que les liaisons G $\equiv$ C qui sont restées intactes absorbent le colorant et apparaissent sombres sous microscope.

On laisse sécher la lame pour la lire sous un microscope relié à un ordinateur qui va permettre à l'aide du logiciel "Applied Imaging CytoVision™ 3.6" d'organiser les chromosomes sous la forme du caryotype classique.

C. Hybridation in situ fluorescente (FISH) via la sonde

LSI SRY/CEPX

1. Principe

La FISH consiste à faire hybrider une sonde marquée (par fluorochrome) avec sa séquence spécifique (locus spécifique, partie télomérique ou centromérique, ou encore un chromosome entier) supposée présente au niveau d'une préparation chromosomique grâce à la complémentarité de bases, et ceci selon des conditions de température, de salinité et de pH bien précises. La fluorescence est ensuite visualisée sous microscope à épifluorescence.

2. Réactifs nécessaires (annexe 3)

-  Solution de 1XPBS
-  Solution 2XSSC
-  Solution 2XSSC/0,1% NP40
-  Solution 0,4XSSC/0,3% NP40
-  Pepsine 0.4 mg/ml
-  Ethanol 100%, 85% et 70%
-  Sonde *SRY* Probe LSI *SRY* Spectrum Orange CEPX Spectrum Green (≈120 Kb)
-  DAPI
-  Eau distillée

3. Protocole expérimental

La FISH suit dans ses premières étapes le protocole du caryotype jusqu'à obtention des lames étalées et sèches. Sur ces lames on délimite la zone riche en mitoses qui sera ciblée par les étapes qui suivent.

Avant de débiter la technique, on met au bain marie les solutions qui seront utilisées à chaud.

a) Prétraitement

On immerge les lames, en premier lieu, dans la solution de 2XSSC (solution de lavage) à 37°C pendant 30mn, ensuite dans du PBS 1X (solution de lavage) à température ambiante pendant 1 minute.

b) Traitement à la pepsine

On place les lames sur le Thermobrite (un système permettant d'automatiser les étapes de dénaturation et d'hybridation pour les protocoles de la FISH), à 37°C, on recouvre la zone délimitée par la pepsine diluée (pour éliminer les impuretés) et on laisse incuber entre 10 et 20mn. Ensuite on immerge les lames dans du PBS 1X pendant 2mn, puis on déshydrate la lame dans un gradient d'éthanol 70%, 85% et 100%, 2mn chacun. On laisse sécher les lames avant de procéder à l'étape d'Hybridation.

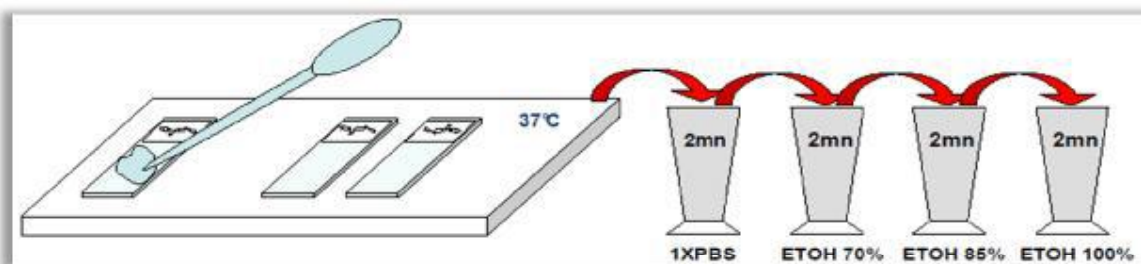


Figure 42 : Traitement à la pepsine et lavages

c) Hybridation des échantillons

On prépare d'abord la sonde qui sera utilisée dans cette étape : on met dans un tube de 0.2 ml, dans l'ordre suivant, 7 μ l de tampon d'hybridation, 2 μ l d'H₂O et 1 μ l de sonde. On met au vortex et on centrifuge pour faire descendre les gouttes de la paroi. Puis on dépose les 10 μ l de la sonde préparée sur une lamelle.



Figure 43 : Dépôt de la sonde

On reprend, ensuite, la lame échantillon et on la retourne sur la lamelle exactement au niveau de la zone délimitée. On retourne immédiatement la lame et on scelle la lamelle à l'aide de Rubber Cement à fin de créer une sorte de "chambre" où va se dérouler la réaction d'hybridation.



Figure 44 : Création de la chambre d'hybridation

On place la lame dans le Thermobrite et on laisse incuber à 37°C pendant 5 mn avant de lancer le programme de dénaturation/hybridation :

Température de dénaturation : 73°C / temps de dénaturation : 1 mn

Température d'hybridation : 37°C / temps d'hybridation : 20 h

d) Lavage Post-Hybridation

A partir de cette étape on travaille en lumière réduite de manière à préserver les fluorochromes des sondes présentes sur les lames.

A la fin de l'hybridation, on récupère les lames du Thermobrite, on retire le Rubber Cement et on place la lame (avec la lamelle dessus) dans la solution de lavage 2XSSC/0,1%NP40 à t° ambiante pendant quelques secondes pour faciliter le décollement de la lamelle. On retire ensuite délicatement la lamelle et on transfère la lame dans la solution 0,4XSSC/0,3%NP40 à 73°C pendant 2 mn. On effectue un rinçage à température ambiante 30s à 1mn, puis, on laisse sécher la lame à l'obscurité.

e) Contre-Coloration des noyaux au DAPI

On dépose 10 µl de DAPI sur une lamelle, puis on retourne la lame échantillon sur la lamelle (de la même façon que pour la sonde d'hybridation).

On place les lames à 4°C pendant au moins 5mn avant de procéder à la lecture sous microscope.

D. Extraction d'ADN par sel sur suspension cellulaire**1. Principe**

L'extraction d'ADN sur suspension cellulaire est une technique qui permet d'isoler l'ADN à partir d'une suspension cellulaire par lyse des cellules suivie d'une élimination des protéines et tout débris cellulaire, puis une précipitation de l'ADN par l'alcool.

2. Réactifs nécessaires (voir annexe 3)

 Tris-EDTA 20mM/5mM

 Tris-EDTA 10mM/1mM

 SLB à +42°C

 Protéase K 10 mg/ml

 Na Cl 5M

 Ethanol 75% à +4°C

 Eau Distillé stérile

3. Protocole expérimental

On utilise pour l'extraction d'ADN, le sang conservé dans le tube EDTA qui a été stocké à -20°C. Donc on le laisse décongeler juste avant la manipulation.

a) Lyse des globules rouges

On récupère le sang dans un tube de 15 ml, on ajoute deux volumes du tampon d'extraction TE 20/5 qui va lyser les globules rouges, puis, on incube dans la glace pendant 20 mn.

Après incubation, on centrifuge à 2500tr/mn pendant 5 mn, on élimine le surnageant jusqu'à 1ml.

On refait les étapes précédents (ajout de deux volumes de TE 20/5, incubation.....) jusqu'à obtenir un culot blanc ne renfermant que les globules blancs.

b) Lyse des globules blancs

On suspend le culot dans 3ml de SLB, on homogénéise, puis on ajoute 100µl de protéinase K. Ensuite on incube 42°C pendant une nuit sous agitation douce.

c) Dénaturation et précipitation des protéines et impuretés

Le lendemain, on ajoute 4 ml d'eau distillée stérile et 4 ml de NaCl 5 M, on homogénéise bien, puis on centrifuge à 3000 tr/mn pendant 30 mn.

d) Précipitation et lavage de l'ADN

On récupère le surnageant dans un nouveau tube de 50ml, on ajoute deux volumes d'éthanol absolu froid et on homogénéise pour faire apparaître "la méduse" d'ADN.

On récupère la méduse dans un tube eppendorff de 1.5 ml, on réalise un lavage à l'éthanol 75% et on laisse évaporer les traces de l'éthanol.

Après évaporation, on dilue l'ADN dans 200µl de TE et on le stocke à +4°C pour toute utilisation ultérieure (pour un stockage prolongé il est préférable de conserver l'ADN à -20°C).

E. Extraction d'ADN par Kit sur suspension cellulaire

1. Principe

L'extraction d'ADN par Kit sur suspension cellulaire est une technique qui permet d'isoler l'ADN à partir d'une suspension cellulaire grâce à un kit muni de billes magnétiques qui après lyse cellulaire va permettre de collecter l'ADN dispersé dans la solution sur une plaque magnétique permettant ainsi de le purifier avec un rendement maximal. Ce qui rend cette technique avantageuse lorsqu'il y a un faible volume de sang.

2. Réactifs nécessaires

🚦 Kit Gene Catcher TM DNA (3-10 ml de Sang) contenant les solutions suivantes :

- Gene Catcher TM tampon Lysis (L13)
- Protéase
- Tampon Protéase
- Gene Catcher TM billes Magnétiques
- Gene Catcher TM tampon de lavage (W12)
- Gene Catcher TM tampon Elution (E5)

🚦 Isopropanol absolu

🚦 Isopropanol 50 %

3. Protocole expérimental

a) **Extraction de l'ADN**

Dans un premier temps on met dans un tube de 50 ml le volume adéquat du tampon de Lysis (L13) et des billes magnétiques suspendues préalablement selon le tableau suivant :

Tableau 15 : Volumes de billes magnétiques et du tampon de lysis correspondant au volume du sang

Blood (ml)	3	4	5	6	7	8	9	10
Beads (µl)	45	60	75	90	105	120	135	150
L13 (ml)	9	12	15	18	21	24	27	30

On homogénéise le mélange en tourbillonnant le tube jusqu'à ce que les billes soient dispersées, puis on y ajoute le sang conservé préalablement dans le tube EDTA après décongélation.

On incube le tube à température ambiante pendant 5 mn tout en agitant de temps en temps pour permettre à l'ADN de se lier aux billes, puis on place le tube sur le support du Séparateur Magnétique pendant 3 minutes.



Figure 45 : Séparateur magnétique

Sans enlever le tube du séparateur magnétique, on élimine soigneusement le surnageant à l'aide d'une pipette de 5 ml sans toucher les billes.

On enlève le tube du séparateur magnétique, on ajoute 5 ml du tampon de Lysis (L13), on inverse doucement le tube 3 fois pour enlever les contaminations résiduelles par lavage, puis on incube à la température ambiante pendant 30 secondes.

On place le tube sur le séparateur magnétique pendant 20 secondes et sans déplacer le tube, on élimine le surnageant à l'aide d'une pipette de 5 ml sans toucher les billes.

b) Purification de l'ADN

On met le bain marie à 65°C.

On enlève le tube du Séparateur Magnétique puis on ajoute le volume de la Protéase et du tampon de Protéase selon le volume initial du sang (tableau 16).

Tableau 16 : Volumes de protéase et du tampon de protéase correspondant au volume du sang

Blood (ml)	3	4	5	6	7	8	9	10
Protease Buffer (ml)	3	3	3	3	3.5	4	4.5	5
Protease (μl)	40	40	40	40	40	40	40	40

On met au vortex le tube pendant 30s pour disperser les billes, puis on incube le tube à 65°C pendant 10 minutes et ensuite à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes.

Après incubation on inverse doucement le tube deux fois pour resuspendre les billes, on ajoute 5 ml d'isopropanol (IPA) 100 % et on tourbillonne le tube pour précipiter l'ADN. On remarque l'apparition d'une forme d'agrégation visible.

On place le tube sur le séparateur magnétique pendant 30 secondes, on élimine le surnageant et on ajoute 3 ml d'IPA 50% (v/v) après avoir enlevé le tube du séparateur magnétique.

On inverse doucement le tube 5 fois, on le place sur le séparateur magnétique pendant 30 secondes, puis, Sans enlever le tube du séparateur magnétique, on élimine soigneusement le surnageant à l'aide d'une pipette de 5 ml sans toucher les billes.

c) Lavage de l'ADN

Sans déplacer le tube, on ajoute doucement 250 μ l du tampon de lavage (W12), on incube pendant 1 minute et on élimine le surnageant.

On répète ces étapes deux fois, puis on enlève le tube du séparateur magnétique.

d) Elution de l'ADN

On ajoute au tube 1 ml du tampon d'Elution (E5), puis on l'incube à 65°C pendant 1h.

Après incubation, on mixe le contenu du tube par une pipette et on place le tube sur le séparateur magnétique jusqu'à clarification du surnageant.

Une fois claire, on récupère le surnageant contenant l'ADN épuré dans un tube d'eppendorff de 1.5.

De même, l'ADN sera stocké à +4°C pour toute utilisation ultérieure.

F. Amplification du gène *SRY* par réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

Pour le gène *SRY* on a réalisé La PCR multiplexe dans laquelle on a utilisé dans le même mix deux types d'amorces, celles amplifiant l'exon du gène *SRY* et celles amplifiant le marqueur du chromosome X, *DXS1684*. Cette première PCR avait pour but de détecter la présence du gène *SRY* tout en signalant la présence du chromosome Y.

1. Principe

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une technique qui permet, via un programme de cycles dénaturation/hybridation/élongation, d'amplifier in vitro une séquence spécifique d'un ADN donné grâce à une ADN polymérase thermorésistante (Taq polymérase) afin d'en tirer une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier.

2. Réactifs nécessaires et programme PCR

Tableau 17 : MULTIPLEX-PCR SRY/DXS1684							
Gène	SRY	Locus	Yp11.31	Nombre d'exons	1		
Taille de l'amplifia		Amorce Forward (5'>3')			Amorce Revers (5'>3')		
648 pb		GTCGCACTCTCCTTGTITTTGAC			CCGATTGTCCTACAGTTTGTC		
Marqueur	DXS1684	Locus	Xq28	Nombre d'exons	-		
Taille de l'amplifia		Amorce Forward (5'>3')			Amorce Revers (5'>3')		
128-148 pb		AGCACCCAGTAAGAGACTGAAC			CCTCAGTGGCAACCACTCAAG		
Conditions expérimentales				Programme PCR			
Réactif		Concentration	V (µl)	Etape	T (°C)	Temps	Cycles
Tampon		5X	5				
MgCl2		25mM	2.5				
Dntp		10mM	0.5	Dénaturation initiale	94 °C	7min	1
Amorces SRY	SRY F	10mM	2	Dénaturation	94°C	30s	30
	SRY R	10mM	2				
Amorces DXS164	DXS1684 F	10mM	2	Hybridation	68°C	30s	
	DXS1684 R	10mM	2				
H2O		Qsp	6.8	Elongation	72°C	30s	
Taq		5u/µl	0.2				
ADN		100 ng/µl	2				
Volume total		25 µl		Elongation finale	72°C	7min	1

3. Protocole

Dans un premier temps, on prépare les tubes eppendorff de 0.2ml selon le nombre des ADN qu'on veut amplifier. On utilise les deux contrôles positifs (l'ADN d'un homme 46,XY normal et d'une femme 46,XX normale), le contrôle négatif (ne contenant aucun ADN) et l'ADN de(s) patient(s) qu'on veut tester. On note sur chaque tube les données correspondantes, puis on prépare le mix PCR qui contient le volume des différents constituants signalés précédemment, chacun multiplié par le nombre des ADN qu'on veut amplifier.

On aliquote le mix préparé dans les différents tubes en raison de 23µl par tube puis on ajoute dans chaque tube 2µl d'ADN correspondant.

On met les tubes dans le Thermocycleur et on lance le programme de dénaturation/hybridation/ élongation illustré précédemment.

A la fin de la réaction on récupère les tubes et on les conserve à +4°C jusqu'à utilisation.

G. Visualisation du produit PCR par électrophorèse sur gel d'agarose

1. Principe

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique qui permet la séparation des molécules chargées sous l'action d'un champ électrique en fonction de leur taille et de leur charge électrique. A pH neutre, les molécules d'ADN chargé négativement en raison de la présence du phosphate migrent vers l'anode. Le *BET* s'étant intercalé entre les bases de l'ADN va permettre de visualiser les bandes d'ADN sous UV.

2. Réactifs nécessaires (voir annexe 3)

-  Poudre d'agarose
-  TAE 1X
-  BET
-  Solution de charge

3. Protocole expérimental

Dans un premier temps, on prépare le gel d'agarose 1.5%. Pour ceci on met dans un récipient 0.75g de poudre d'agarose et 50 ml de TAE 1X, on porte à ébullition puis on ajoute 2µl de BET qui est un agent révélateur par sa fluorescence sous U.V et qui va s'intercaler entre les bases.

On coule le gel dans le moule à électrophorèse, on y installe un peigne qui sera retiré après refroidissement du gel en laissant à sa place des puits où sera déposé l'ADN.

Après refroidissement, on installe le moule dans la cuve qui est remplie du tampon de migration (TAE 1X), on dépose dans chaque puits un mélange de 8.5 µl de produit PCR et de 1.5 µl de solution de charge qui a pour rôle de stabiliser l'ADN au fond du puits et on lance la migration à 100V. Finalement, on visualise les bandes d'ADN fluorescentes sous UV.

RESULTATS

1. Introduction :

62 patients atteints de troubles de différenciation sexuelle ont été inclus dans l'étude.

Ce nombre, 62 cas, ne représente en aucun cas la fréquence réelle de cette catégorie de troubles dans la population. Ceci s'explique par plusieurs raisons, on cite :

- La tendance des sujets atteints à cacher leur maladie.
- Le sujet atteint ou le tuteur, si le trouble est mineur, ignore tout de la maladie et des possibilités thérapeutiques. Ces dernières sont d'ailleurs parfois impressionnantes et peuvent permettre une parfaite rémission avec une anatomie des organes génitaux et une vie sexuelle tout à fait normale.
- Le niveau socio-économique, du moment que le coût des différents examens complémentaires peut s'avérer au-dessus des moyens financiers du sujet.

Ces 62 patients ont été répartis en 3 groupes :

🚦 **Groupe 1** : 72,58 % présentent des troubles de différenciation d'origine chromosomique.

🚦 **Groupe 2** : 12,90 % présentent des troubles de différenciation sexuelle 46,XY.

🚦 **Groupe 3** : 14,52 % présentent des troubles de différenciation sexuelle 46,XX.

2. Répartition générale des patients :

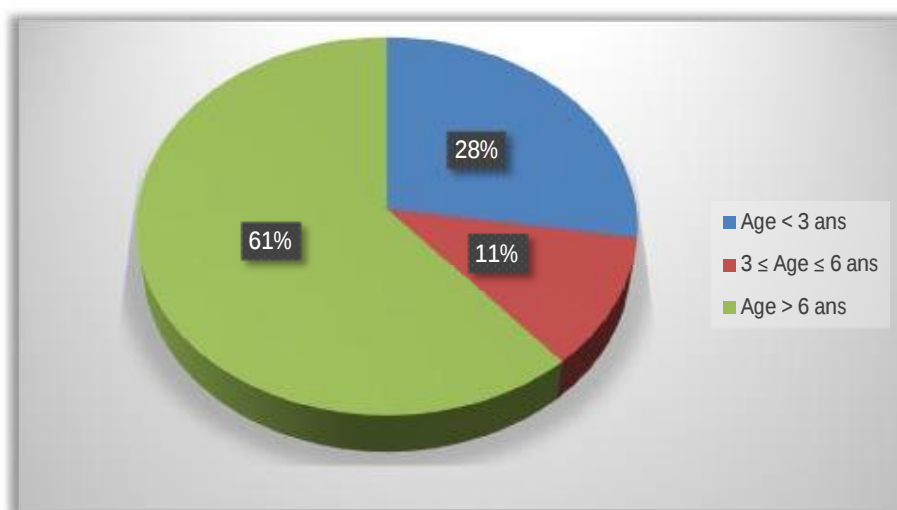
a- répartition en fonction de l'âge de diagnostic :

L'âge moyen de diagnostic des troubles de différenciations sexuelles est 14,3 ans, ce qui représente un âge tardif de diagnostic avec les difficultés de prise en charge qui en découlent.

Dans la répartition en fonction de l'âge, nous avons choisi comme repère de trois ans et de six ans, et ceci pour les raisons suivantes :

- ü L'âge de trois ans : Parce que à cet âge, l'identification sexuelle est complète et l'enfant se reconnaît comme appartenant au sexe masculin ou féminin. Ainsi le choix de sexe d'élevage doit s'effectuer avant cet âge, permettant une bonne évolution psychologique de l'enfant, sinon les répercussions sont nombreuses et de gravité variable.
- ü L'âge de six ans : Du moment que les différentes interventions plastiques doivent s'effectuer avant cet âge, permettant ainsi à l'enfant une bonne intégration sociale.

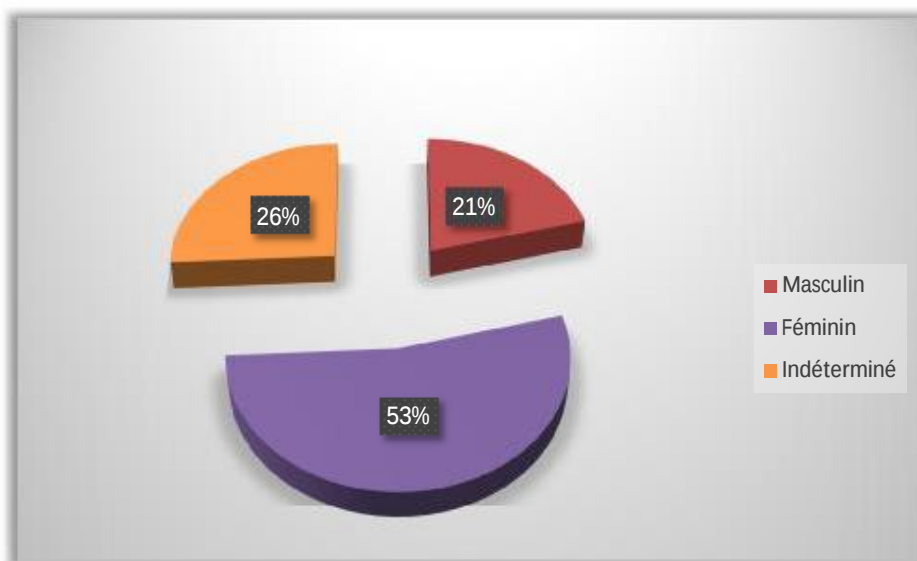
L'objectif est d'évaluer dans quel pourcentage cette démarche théorique a été respectée.



Graphique n°1 : Répartition des patients de l'étude en fonction de l'âge de diagnostic.

- Dans 61,3 % des cas, la découverte d'un trouble de différenciation sexuelle s'est faite à un âge supérieur à 6 ans, relativement élevé surtout vu les complications psychiques et physiques qui vont en découler.
- Dans des 11,29 % cas, le diagnostic du trouble est fait entre l'âge de 3 ans et 6 ans. Dans ce cas l'enfant n'est pas encore scolarisé, cependant l'identification sexuelle est terminée. Ce qui rend la prise en charge plus aisée, puisque le choix du sexe et les premières interventions plastiques peuvent être réalisées avant la scolarisation, mais aussi délicate que dans le cas précédent.
- Et dans 27,41 % des cas, le diagnostic est fait avant l'âge de 3 ans, répondant aux normes d'une bonne prise en charge.

b– La répartition en fonction du sexe :



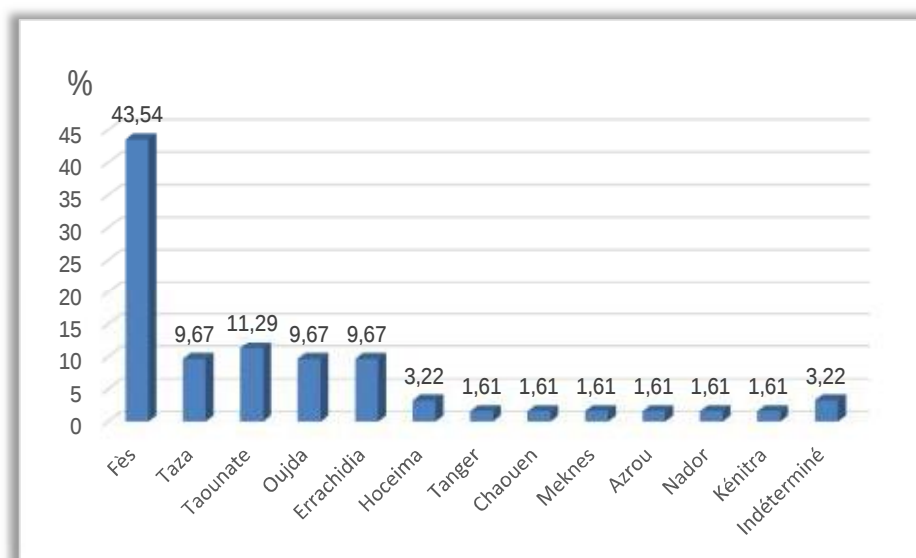
Graphique n°2 : Répartition des patients de l'étude en fonction du sexe.

La répartition des 62 patients en fonction du sexe a mis en évidence une Prédominance féminine avec 53 % (33 patients), contre 26 % de patients de sexe indéterminé (16 patients), alors que 21 % (13 patients) sont de sexe Masculin.

La répartition géographique

Fès

43,54 %

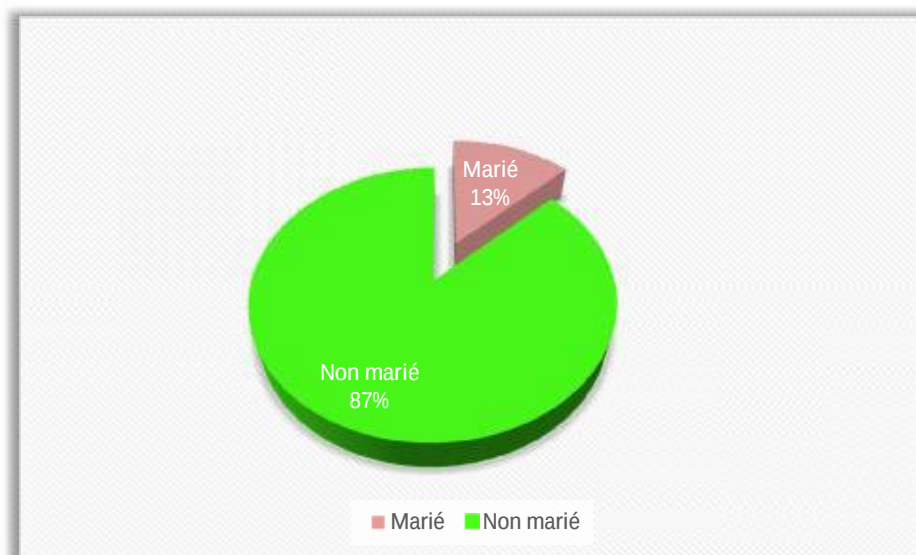


Graphique n°3 : Répartition géographique des patients de l'étude.

Ce graphique montre une nette prédominance des patients originaires de la région de Fès de point de vue fréquence. En seconde place viennent les patients originaires des villes de Taounate, Oujda, Taza et Errachidia. Ceci s'explique par la distance entre l'habitat de la population et le centre hospitalier.

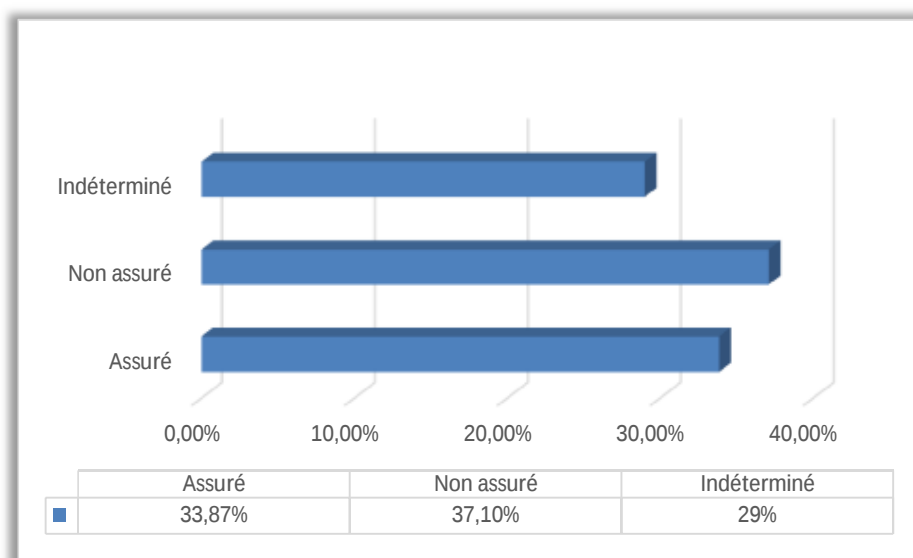
c– La répartition en fonction de l'état matrimonial :

Le graphique n°4 montre une nette prédominance des patients non mariés avec un pourcentage égale à 87,1% contre 12,9% des patients mariées. Ceci revient au petit âge de nos patients, aux désordres sexuels et aux problèmes de santé associés.



Graphique n°4 : Répartition des patients de l'étude en fonction de l'état matrimonial.

d- La répartition en fonction du statut d'assurance :

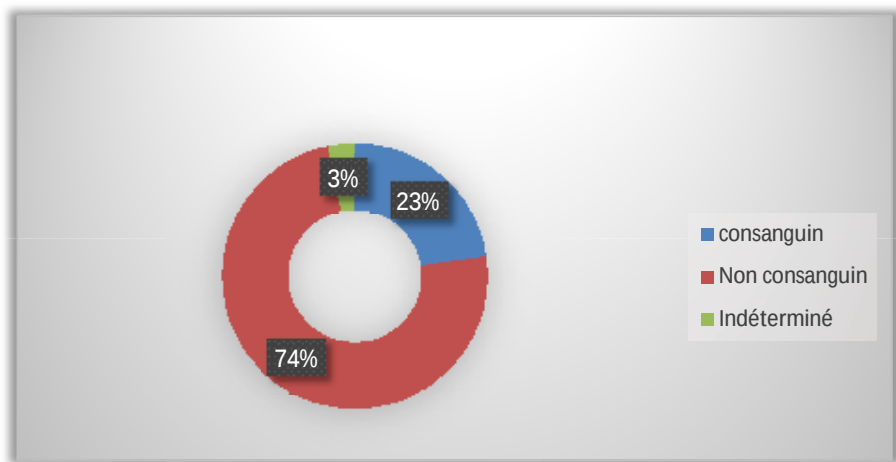


Graphique n°5 : Répartition des patients de l'étude en fonction du statut d'assurance (assuré=CNOPS/CNSS/RAMED)

Le graphique montre un pourcentage élevé des patients non assurés, ce qui concorde avec la supposition qui dit que la vraie fréquence des troubles de différenciation sexuelle est plus importante le nombre de cas diagnostiqué. Le niveau socio-économique bas et le coût élevé des différents examens complémentaires sont des paramètres qui ne peuvent être surmontés que par une couverture universelle.

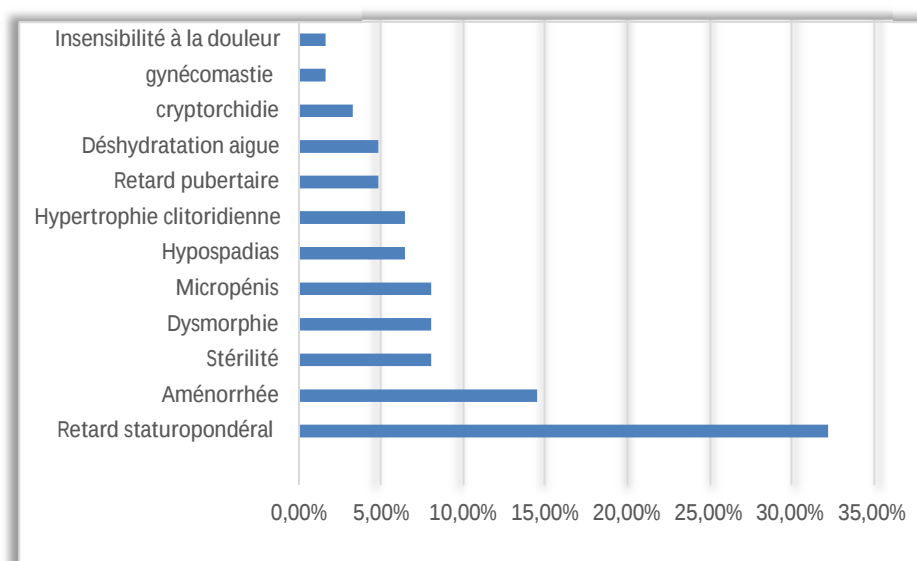
e– Répartition des patients de l'étude en fonction des antécédents :

On ne note aucun antécédent de cas de trouble de différenciation sexuelle dans les familles de nos patients. La consanguinité a été retrouvée chez 23% des patients de notre étude.



Graphique n°6 : Répartition des patients de l'étude en fonction de la consanguinité.

f- Répartition en fonction du motif de consultation :



Graphique n°7 : Répartition des patients de l'étude en fonction du motif de consultation

L'analyse du graphique montre les résultats suivants :

Retard staturopondéral	32,25%
Aménorrhée	14,51%
Stérilité	8,06%
Dymorphie	8,06%
Micropénis	8,06%
Hypospadias	6,45%
Hypertrophie clitoridienne	6,45%
Retard pubertaire	4,83%
Déshydratation aiguë	4,83%
Cryptorchidie	3,28%
gynécomastie	1,61%
Insensibilité à la douleur	1,61%

Le retard staturopondéral est le signe le plus fréquent, il est retrouvé dans 32,25% des cas. Il est généralement associé à d'autres symptômes.

L'aménorrhée, la stérilité, la dymorphie et le micropénis viennent en second plan.

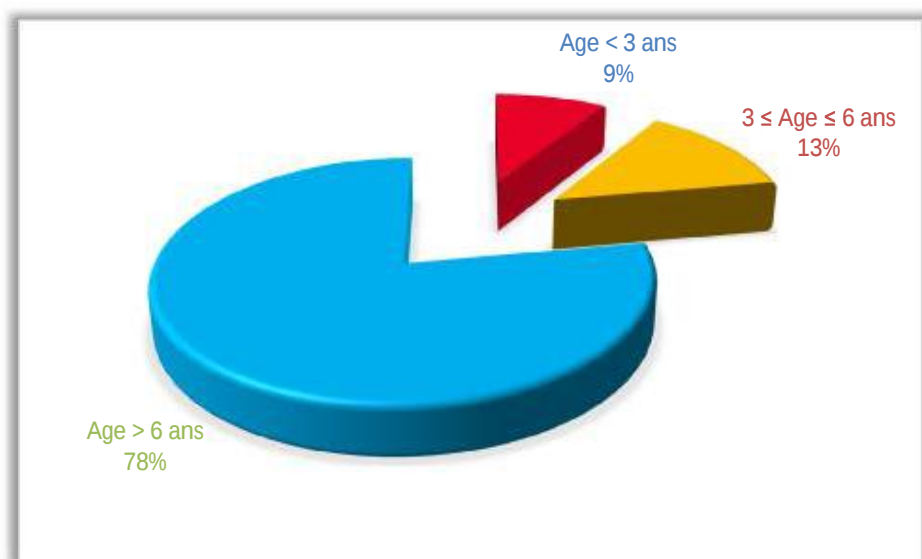
3. Groupe 1 : les troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.

a- répartition en fonction de l'âge de diagnostic :

L'âge moyen de diagnostic des troubles de différenciation chromosomique est 18,18 ans, il est relativement élevé par rapport à l'âge de diagnostic de l'ensemble des troubles de notre étude (14,3 ans). Ceci peut être expliqué par les manifestations tardives des troubles en question.

L'âge moyen de diagnostic est de 24 ans chez le sexe masculin, alors qu'il est de 15 ans chez le sexe féminin.

Ainsi la prise en charge, en se limitant à l'âge du diagnostic, est meilleure chez les sujets féminins que chez les sujets masculins du même groupe.

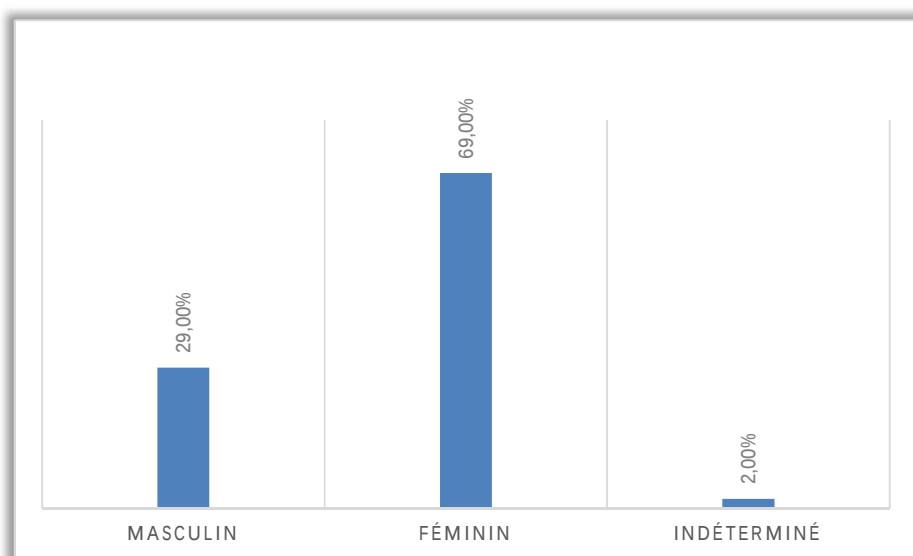


Graphique n°8 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction de l'âge de diagnostic.

L'analyse du graphique n°7 nous montre que la grande majorité des patients de ce groupe (77,78% - 35 patients) ont un âge dépassant les six ans, et viennent en seconde place la catégorie d'âge situé entre trois et six ans (13,3% -

6 patients), pour laisser la dernière place aux patients âgés de moins de trois ans (8,89% - 4 patients).

b–La répartition en fonction du sexe :

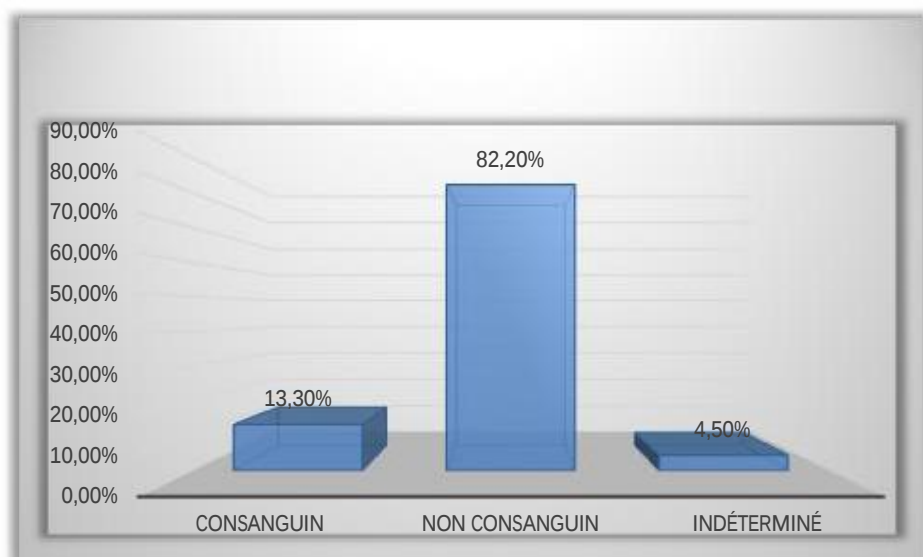


Graphique n°9 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du sexe.

Ce graphique montre un pourcentage de sexe civil féminin de 69%, contre 29% pour le sexe civil masculin et 2% pour le sexe dite indéterminé. Il démontre ainsi la nette prédominance Féminin.

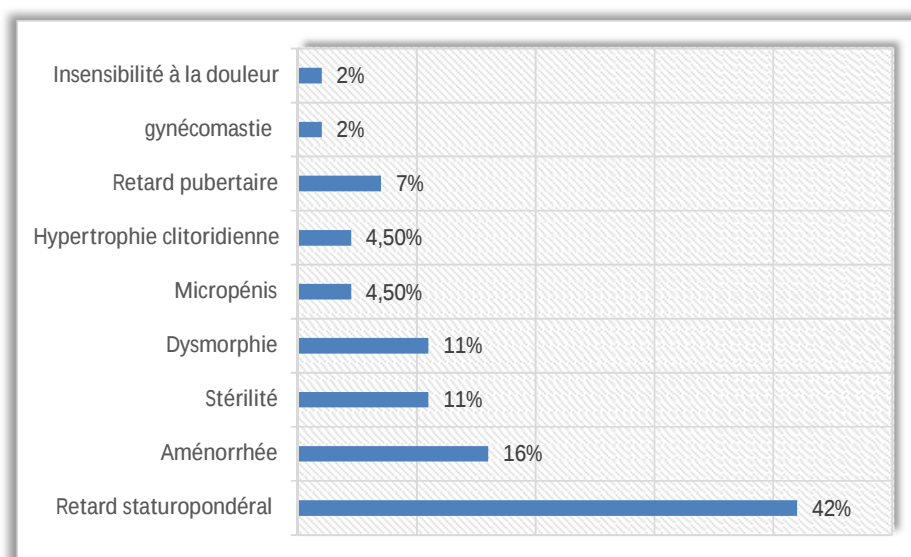
c– Répartition en fonction de la consanguinité.

L'analyse du graphique n°10 montre que 82,2% des patients de ce groupe sont issus d'un mariage non consanguin.



Graphique n°10 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction de la consanguinité.

d-Répartition en fonction du motif de consultation :



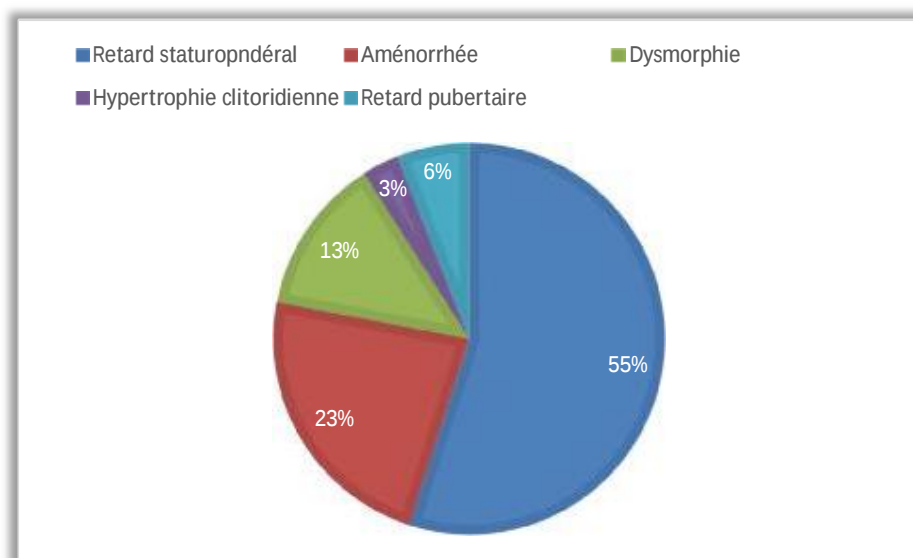
Graphique n°11 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du motif de consultation.

Selon les données de ce graphique nous pouvons déduire que le retard staturopondéral (42%) représente le signe clinique le plus fréquent dans ce groupe. Viennent en second lieu l'aménorrhée (16%) et la stérilité (11%) et la dysmorphie (11%).

Nous allons répartir les résultats des signes d'appel selon le sexe car il existe une différence importante de sexe dans ce groupe de patients.

e- Répartition en fonction du signe d'appel dans le sexe féminin :

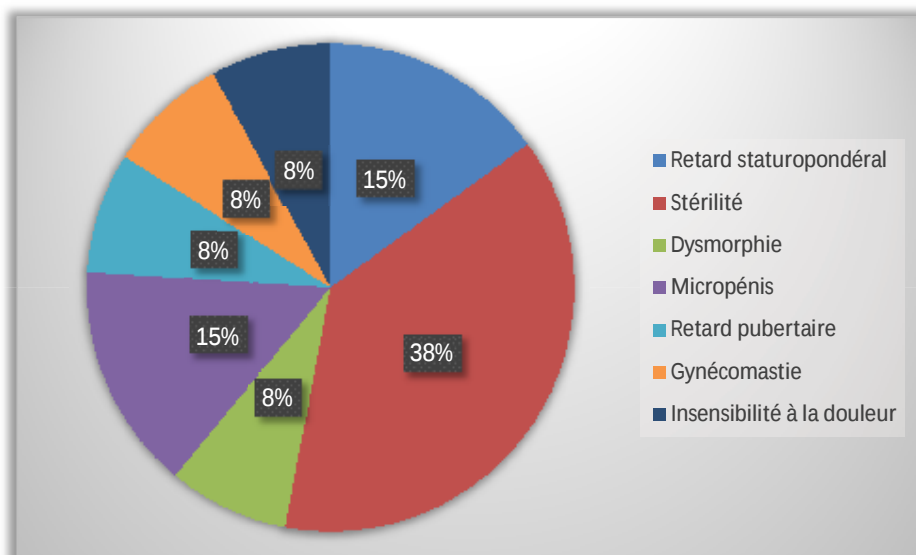
Le signe d'appel le plus fréquent est le retard staturopondéral. Elle est retrouvée dans 55% des cas. En second lieu vient l'aménorrhée (23%) et la dysmorphie (13%).



Graphique n°12 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du signe d'appel dans le sexe féminin.

f- Répartition en fonction du signe d'appel dans le sexe masculin :

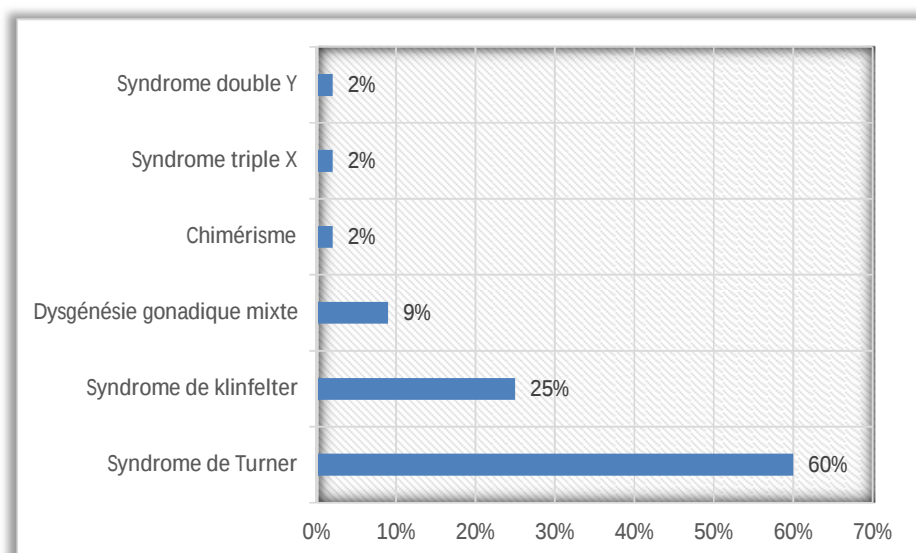
Le signe d'appel le plus fréquent est la stérilité (38%), vient ensuite le retard staturopondéral (15%), et le micropénis (15%).



Graphique n°13 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du signe d'appel dans le sexe masculin.

g-Répartition en fonction du diagnostic retenu :

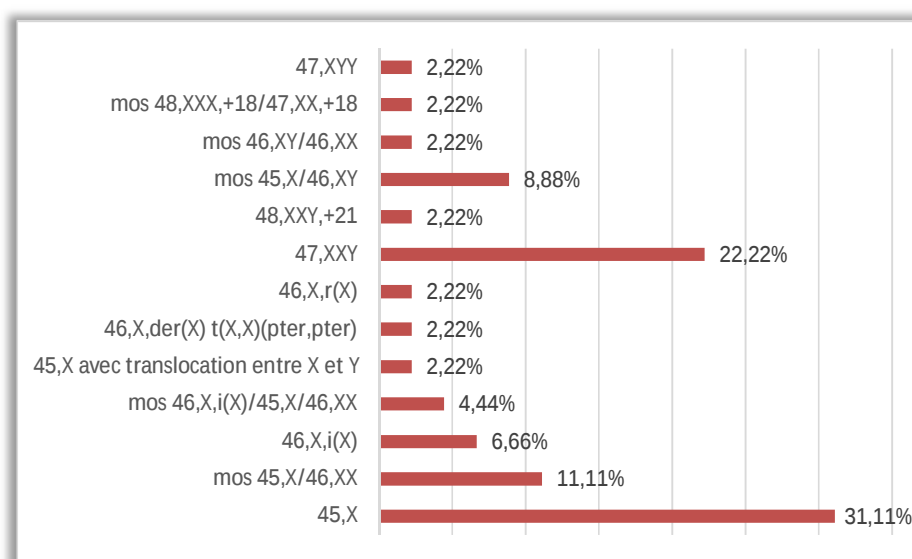
On a commencé par exposer les résultats des diagnostics retenus avant les résultats des explorations génétiques afin de faire une répartition des résultats génétiques en fonction des diagnostics si nécessaire.



Graphique n°14 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du diagnostic retenu.

Ce graphique montre que le syndrome de Turner est le trouble de différenciation chromosomique le plus fréquent (60%), en seconde lieu vient le syndrome de Klinefelter (25%). Le pourcentage de la dysgénésie gonadique mixte est non négligeable (9%). Le chimérisme, le syndrome triple X et le syndrome double Y sont minoritaires dans notre échantillon, ils sont représentés par un seul cas pour chacun, ils représentent ainsi 2% pour chacun.

h-Répartition en fonction du caryotype :

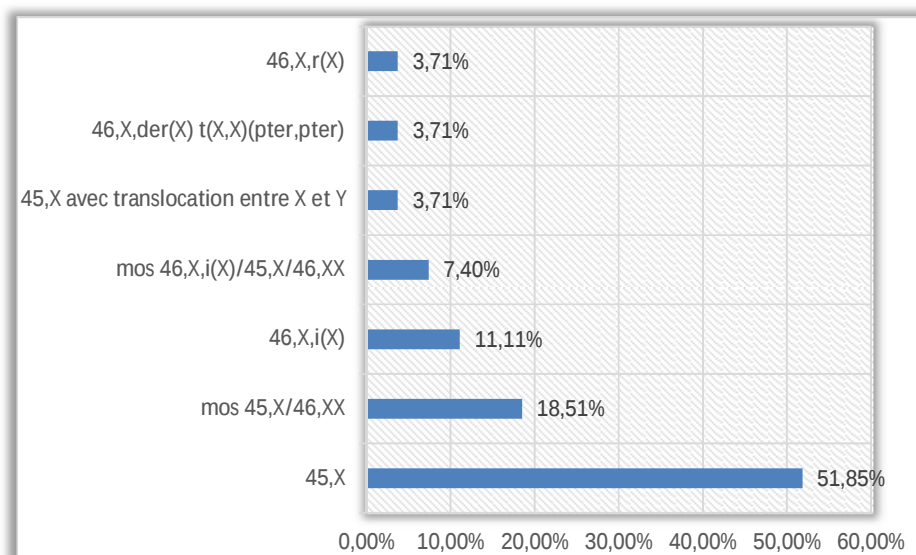


Graphique n°15 : Répartition des patients du groupe 1 selon le caryotype.

Ce graphique montre une nette prédominance de la monosomie X (31,11%), en seconde place vient la formule chromosomique 47,XXY.

On va faire une nouvelle répartition en fonction du caryotype pour les patients atteints présentant un syndrome de Turner.

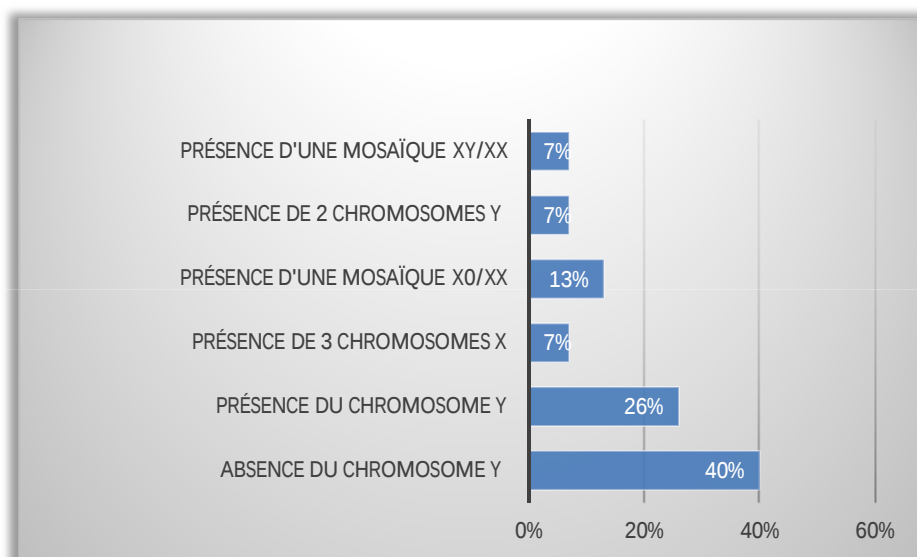
Le graphique N°16 montre une diversité des formules caryotypiques dans le syndrome de Turner avec une prédominance de la monosomie (51,85%), en seconde place vient la formule en mosaïque (18,51%).



Graphique n°16 : Répartition des patients turnériens du groupe 1 en fonction du caryotype.

i- Répartition selon l'hybridation in situ fluorescente (FISH)

Cette exploration génétique était faite pour 33,33% des patients de ce groupe, les résultats obtenus de la FISH sont répertoriés dans le graphique suivant :



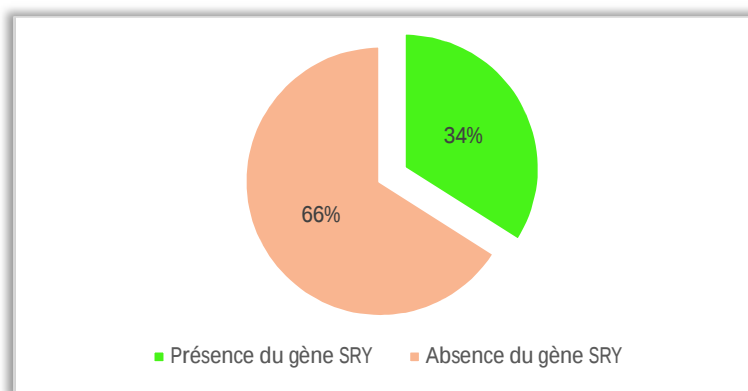
Graphique n°17 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction de la FISH.

Dans les résultats de la FISH, on constate une diversité des résultats en fonction de l'objectif pour lequel le test est fait. Autres résultats peuvent être notés s'il y avait

une autre indication. L'absence du chromosome Y est le résultat prédominant (40%), la présence du chromosome Y vient en seconde lieu.

j- Répartition en fonction du MULTIPLEX-PCR *SRY* :

Le test est fait pour 20 % des patients du groupe, ceci revient aux indications limitées de ce teste. Les résultats notent l'absence du gène *SRY* dans 66% des cas explorés contre 34% de présence du gène.

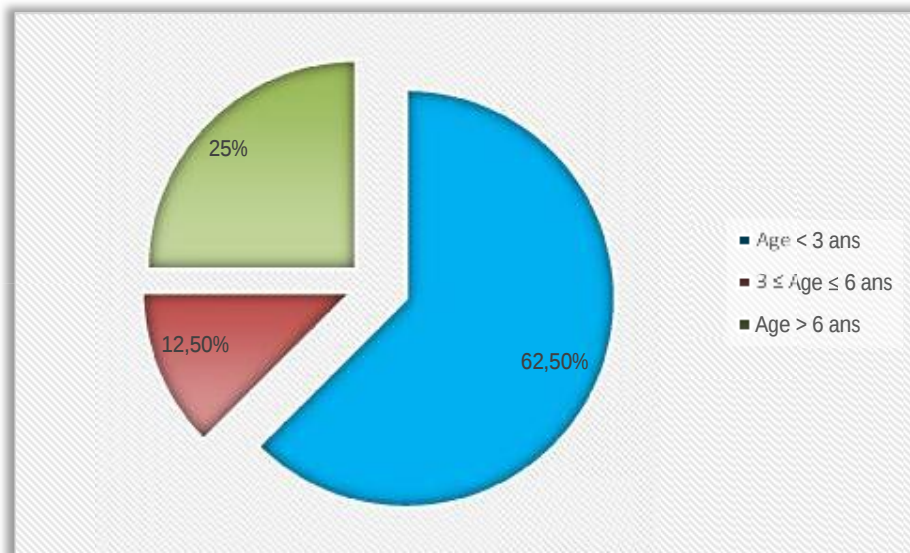


Graphique n°18 : Répartition des patients du groupe 1 en fonction du MULTIPLEX-PCR *SRY*.

4. Groupe 2 : les troubles de différenciation sexuelle 46,XY.

a. Répartition en fonction de l'âge de diagnostic :

L'âge moyen de diagnostic des troubles de différenciation sexuelle 46,XY est 5,25 ans. Il dépasse 3 ans, l'âge ou l'identification sexuelle est complète et l'enfant se reconnaît comme appartenant au sexe masculin ou féminin, ce qui veut des répercussions psychologiques importantes et une mauvaise intégration sociale.

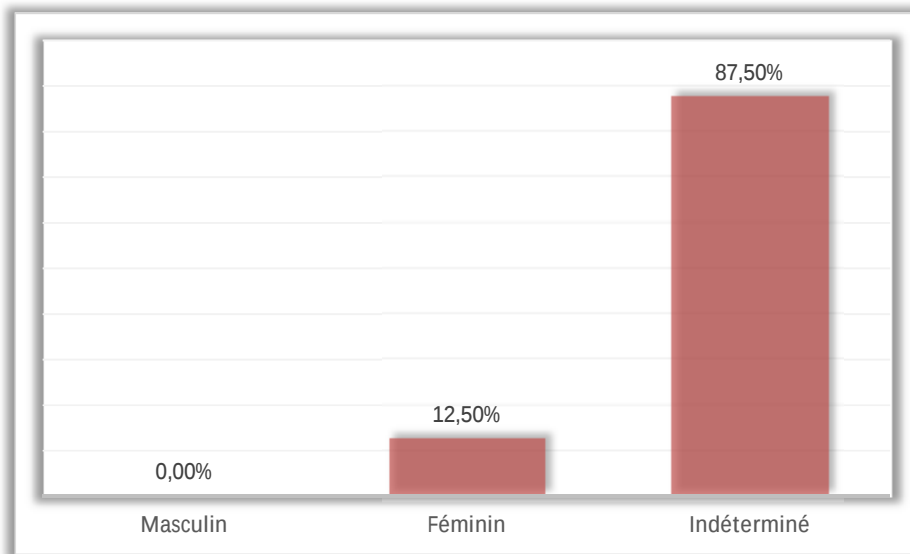


Graphique n°19 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction de l'âge de diagnostic

L'analyse du graphique N°19 apporte les éléments suivants :

- 📊 dans 62,5% des cas, la découverte du trouble de différenciation est faite à un âge inférieur à 3 ans, répondant aux normes d'une bonne prise en charge.
- 📊 Dans 25% des cas, le diagnostic est fait à un âge supérieur à 6 ans, relativement élevé surtout vu les complications qui vont en découler.
- 📊 Et dans 13% des cas, le diagnostic est fait à un âge situé entre 3 et 6 ans, Le meilleur âge de la détermination du sexe d'élevage est dépassé.

b. La répartition en fonction du sexe :



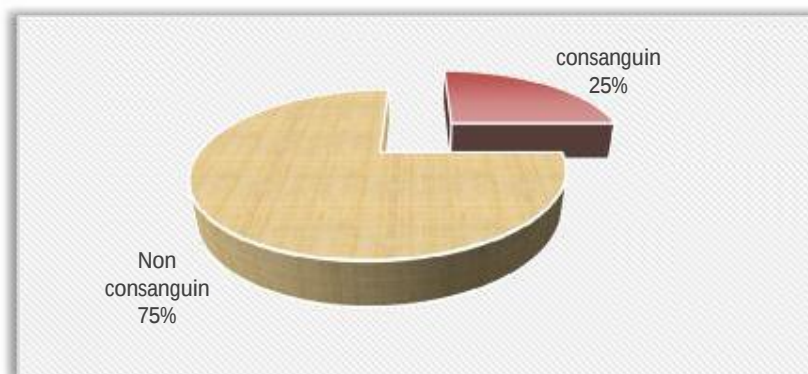
Graphique n°20 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction du sexe

L'analyse de ce graphique montre les résultats suivants :

- ü 87,5% sont de sexe indéterminé.
- ü 12,5% sont de phénotype féminin.
- ü Aucun patient de phénotype masculin.

Ceci nous conduit à nous demander si cette prédominance de sexe indéterminé témoigne de la gravité du trouble chez les patients du groupe, ce qui à motiver les parents à consulter très tôt.

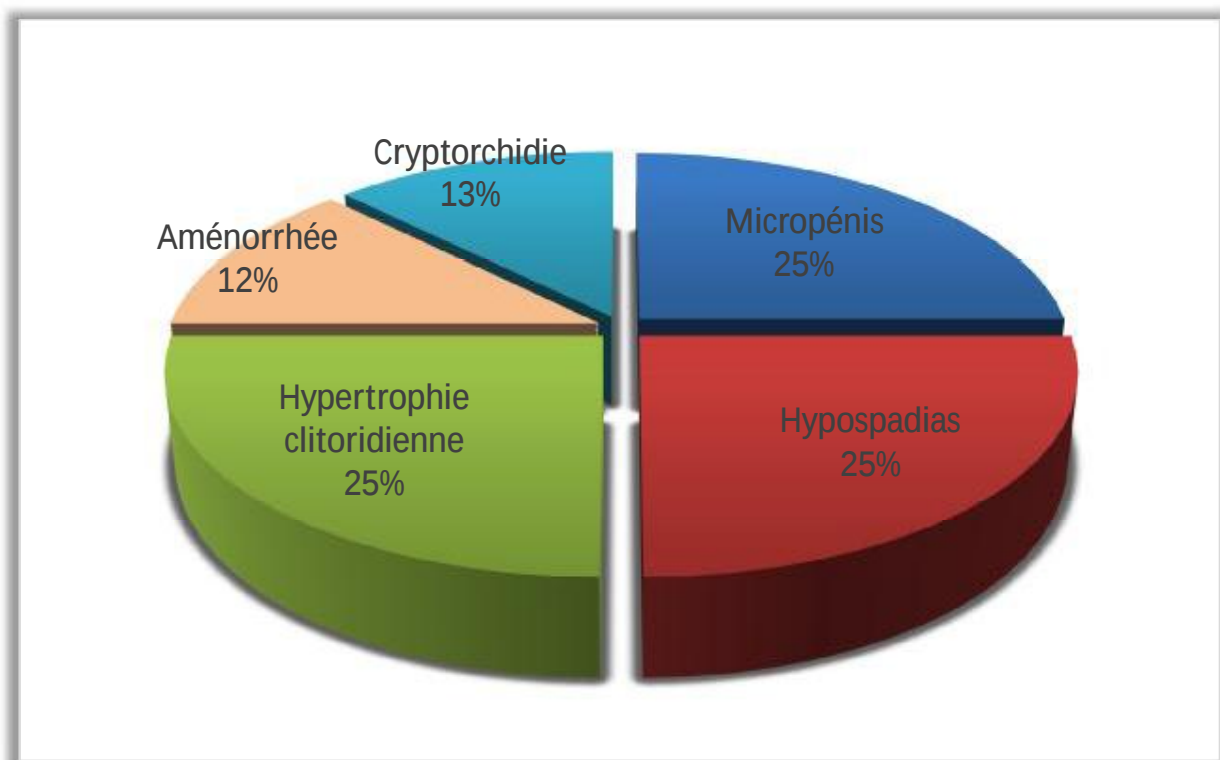
c. Répartition en fonction de la consanguinité.



Graphique n°21 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction de la consanguinité

L'analyse du graphique montre que 75% des patients de ce groupe sont issus d'un mariage non consanguin.

d. Répartition en fonction du motif de consultation :



Graphique n°22 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction du motif de consultation.

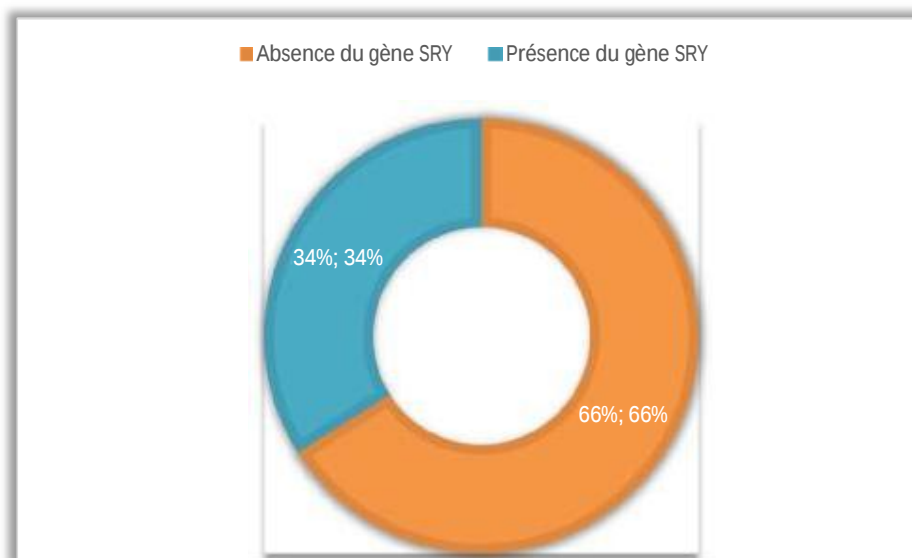
L'hypospadias, le micropénis et l'hypertrophie clitoridienne sont les motifs de consultation les plus fréquents, en seconde lieu viennent l'aménorrhée et l'hypertrophie clitoridienne. Ils peuvent être isolés ou associés à d'autres symptômes.

e. Répartition en fonction du caryotype :

Le caryotype est fait pour tous les patients du groupe 2, le résultat commun était 46,XY sans anomalies associées (100%).

f. Répartition en fonction du MULTIPLEX-PCR SRY :

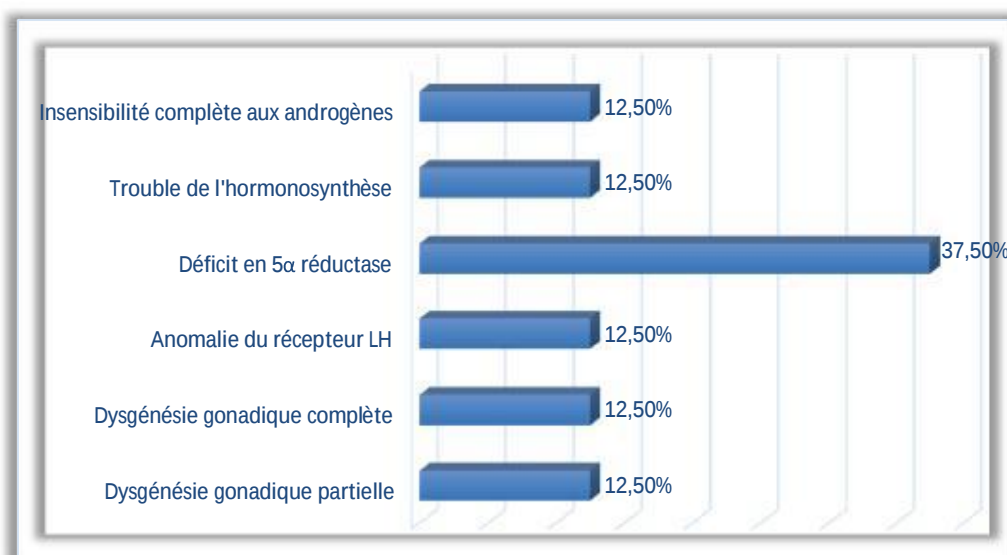
La MULTIPLEX-PCR *SRY* était faite pour 37,5% des patients du groupe, les résultats étaient comme le montre le diagramme suivant :



Graphique n°23 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction du MULTIPLEX-PCR *SRY*.

Le graphique montre que l'absence du gène *SRY* était majoritaire comme résultat.

g. Répartition en fonction du diagnostic retenu :

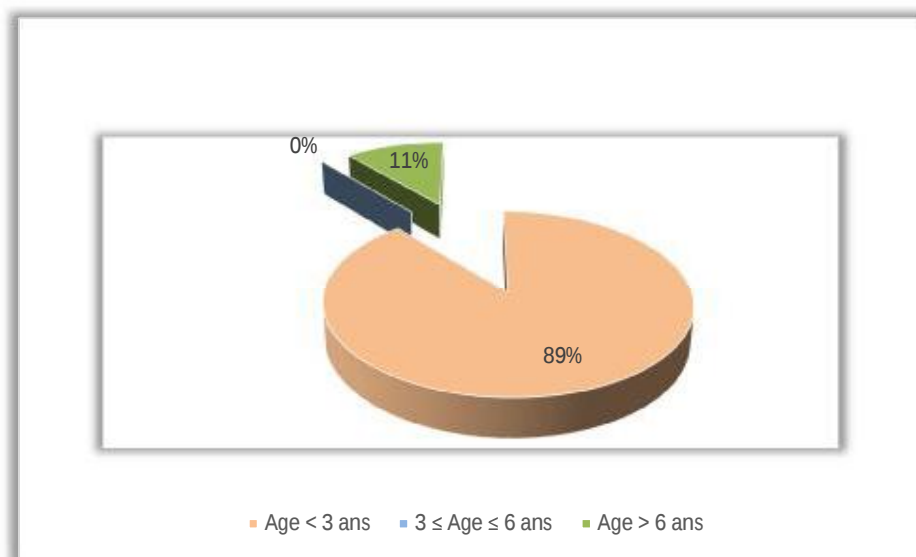


Graphique n°24 : Répartition des patients du groupe 2 en fonction diagnostic retenu.

Ce graphique montre une prédominance du déficit en 5 α Réductase (37,5%) comme diagnostic retenu dans le groupe 2.

5. Groupe 3 : les troubles de différenciation sexuelle 46,XX.

a. répartition en fonction de l'âge de diagnostic :

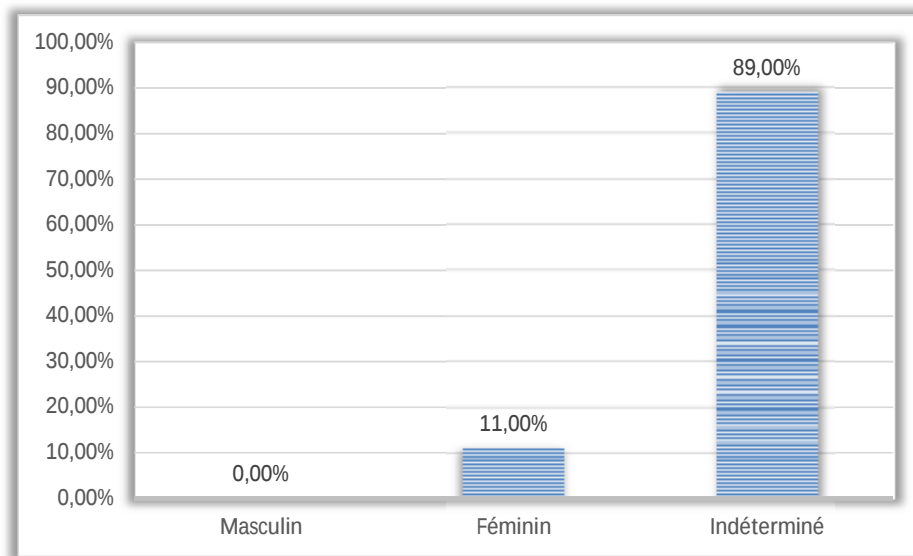


Graphique n°25 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction de l'âge de diagnostic

L'âge moyen de diagnostic des troubles de différenciation sexuelle 46,XX est 3,22 ans.

Les pourcentages d'âges sont nettement meilleurs que chez le groupe 2. En effet, le pourcentage diagnostiqué avant l'âge de 3 ans est de 89% contre 62,5%. De même, le pourcentage diagnostiqué après 6 ans est de 11% contre 25% chez le groupe 2. Ainsi la prise en charge, en se limitant à l'âge du diagnostic, est meilleure chez les sujets du groupe 3 que chez les sujets du même groupe 2.

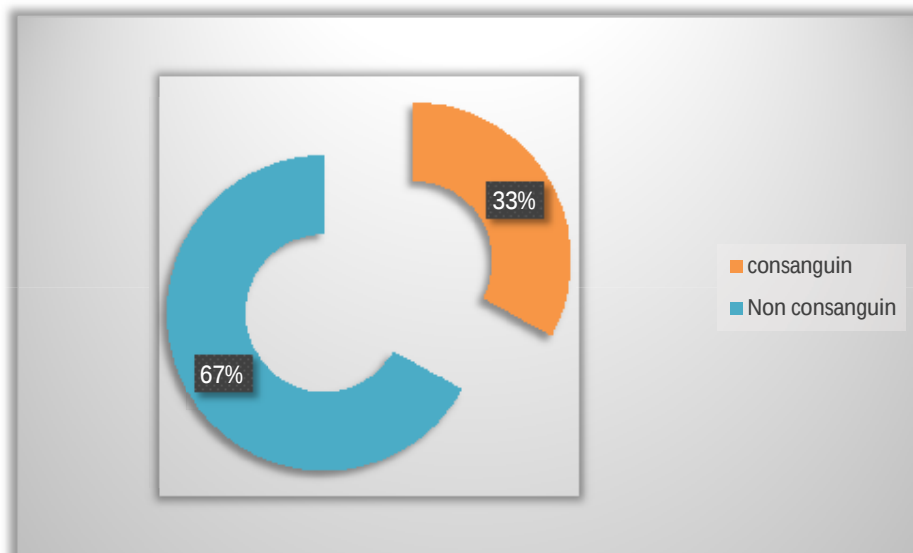
b. La répartition en fonction du sexe :



Graphique n°26 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du sexe.

Ce graphique montre un pourcentage de sexe indéterminé de 89 %, contre 11% pour le sexe civil féminin. Il démontre ainsi la nette prédominance du sexe indéterminé.

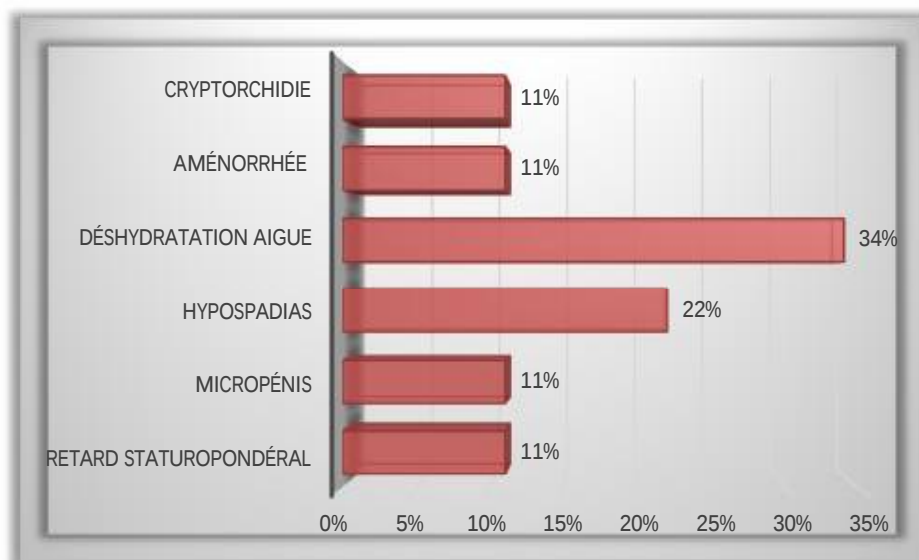
c. Répartition en fonction de la consanguinité.



Graphique n°27 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction de la consanguinité.

Ce graphique montre que 67% des patients de ce groupe sont issus d'un mariage non consanguin.

d. Répartition en fonction du motif de consultation :



Graphique n°28 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du motif de consultation.

Le signe d'appel le plus fréquent est la déshydratation aigue (34%), vient ensuite l'hypospadias (22%). Ces signes d'appel sont le plus souvent associés à d'autres signes.

e. Répartition en fonction du caryotype :

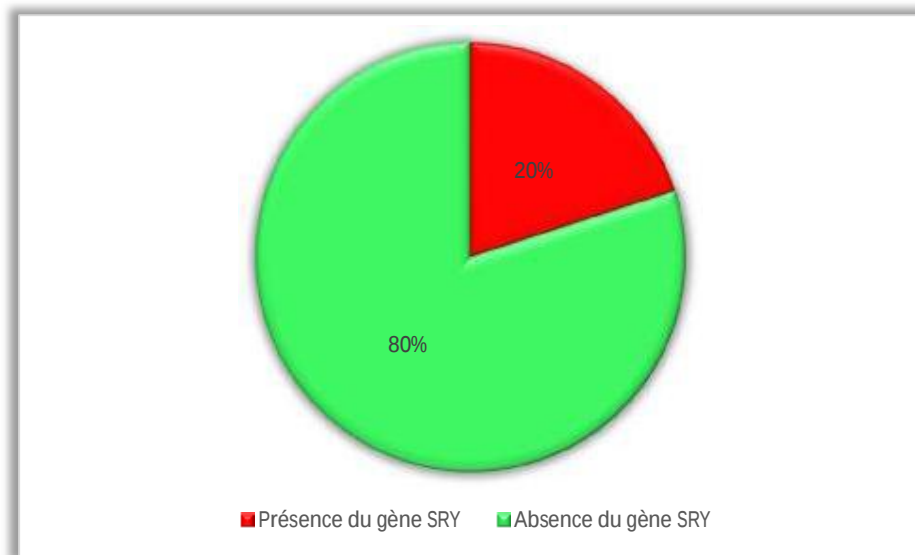
Le caryotype est fait pour tous les patients du groupe 2, le résultat commun était 46,XX sans anomalies associées (100%).

f. Répartition selon l'hybridation in situ fluorescente (FISH)

Cette exploration génétique était faite pour 44% des patients de ce groupe, les résultats obtenus de la FISH montrent l'absence du chromosome Y chez tous les cas.

g. Répartition en fonction du MULTIPLEX-PCR *SRY* :

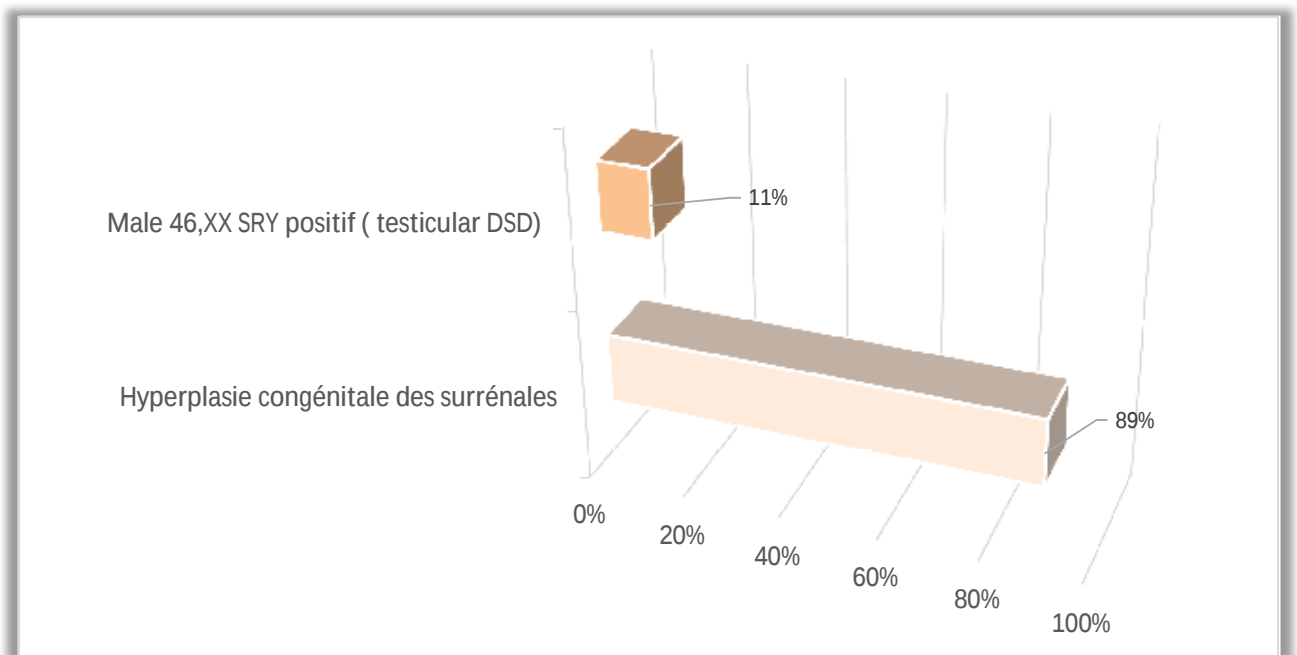
La MULTIPLEX-PCR *SRY* est faite pour 56% des patients du groupe, les résultats étaient comme le montre le diagramme suivant :



Graphique n°29 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du MULTIPLEX - PCR *SRY*.

Le graphique montre que l'absence du gène *SRY* était majoritaire comme résultat.

h. Répartition en fonction du diagnostic retenu :



Graphique n°30 : Répartition des patients du groupe 3 en fonction du diagnostic retenu.

Ce graphique montre une prédominance de l'hyperplasie congénitale des surrénales (89%) comme diagnostic retenu dans le groupe 3.

DISCUSSION

1. Introduction :

Nous avons procédé à une étude descriptive en raison de la petitesse de l'échantillon. L'ensemble des cas étudiés, correspondent à 62 cas, a été subdivisé en trois groupes avec un pourcentage respectif de :

- Ø **Groupe 1** : 72,58 % présentent des troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique.
- Ø **Groupe 2** : 12,90 % présentent des troubles de différenciation sexuelle 46,XY.
- Ø **Groupe 3** : 14,52 % présentent des troubles de différenciation sexuelle 46,XX.

Le groupe 1 est nettement plus important. Il correspond aux patients atteints de troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique. A travers notre étude, on a conclu que le caryotype est le pilier du diagnostic de ces troubles. En effet, l'interrogatoire et l'examen clinique permettent d'orienter le diagnostic, alors que le caryotype permet de confirmer le diagnostic dans la plupart des cas. Dans certains cas, d'autres examens, comme la FISH ou la MULTIPLEX-PCR *SRY*, sont nécessaires.

Quant aux **groupes 2 et 3**, qui correspondent respectivement aux patients atteints de DSD 46,XY et DSD 46,XX. Dans ces cas, le caryotype est un élément clé dans l'enquête étiologique.

2. Etude comparative :

Une étude comparative des trois groupes s'avère intéressante, elle a pour but de souligner les caractéristiques de chaque groupe. (Tableau n°18)

G	%	Sexe	Age			Consanguinité	Motif de consultation	Diagnostic
			< 3 ans	3-6ans	> 6 ans			
G1	73%	M=29% F=69% I=2%	9%	13%	78%	13%	Retard staturopondéral=42%	Syndrome de Turner=60%
G2	13%	M=0% F=12,5% I=87,5%	62%	13%	25%	25%	- Micropénis=25% - Hypospadias=25% - Hypertrophie clitoridienne=25%	Déficit en 5 α réductase=37,5%
G3	14%	M=0% F=11% I=89%	89%	0%	11%	33%	Déshydratation aigue=34%	Hyperplasie congénitale des surrénales=89%

Tableau 18 : Tableau comparatif des 3 groupes de l'étude.

a- Etude comparative en fonction du sexe civil :

Le groupe 1 montre une prédominance féminine, alors que les groupes 3 et 2 montrent une prédominance du sexe indéterminé. Ceci témoigne de l'importance des ambiguïtés sexuelles dans les troubles de différenciation sexuelle DSD 46,XX et DSD 46,XX par rapport aux troubles de différenciations chromosomiques dans notre série.

b- Etude comparative en fonction de l'âge :

Dans l'ensemble, les tranches d'âges où le diagnostic est réalisé sont très variables. Néanmoins, le plus grand pourcentage de patients après 6 ans correspondant à celui des patients du groupe 1.

Alors que les groupes 2 et 3 répondent à la norme de la meilleure prise en charge, en se limitant à l'âge du diagnostic.

c- Etude comparative en fonction de la consanguinité :

L'étude comparative en fonction de la consanguinité montre les résultats suivants :

- 🌈 G1 : 13% des patients sont issus d'un mariage consanguin.
- 🌈 G2 : 25% des patients sont issus d'un mariage consanguin.
- 🌈 G3 : 33% des patients sont issus d'un mariage consanguin.

Tout en sachant que la consanguinité est un facteur favorisant de survenue de la pathologie héréditaire autosomique récessive, l'importance de la consanguinité dans les groupes 2 et 3 par rapport au groupe 1 permet de suspecter l'existence d'une aberration génétique à transmission récessive causant les troubles de différenciation sexuelle type DSD 46,XX et DSD 46,XX dans notre série.

d- Etude comparative en fonction du signe d'appel :

Le retard staturopondéral est le signe le plus fréquent, il est retrouvé dans 32,25% des cas de toute l'étude. L'étude par groupe a montré une grande différence dans les signes d'appel.

Les signes d'appels prédominants diffèrent d'un groupe à un autre ce qui peut vouloir dire un éventail des troubles de différenciation sexuelle en cause.

e- Etude comparative en fonction du type pathologique :

Comme nous l'avons déjà mentionné, l'ensemble de cette étude est effectuée sur des patients atteints de différents troubles de différenciation sexuelle répartis en 3 groupes :

- 🌟 **Groupe 1** : dans ce groupe, il y a une prédominance du syndrome de Turner et du syndrome de Klinefelter dont les manifestations cliniques sont souvent tardives ce qui explique l'âge relativement tardif du diagnostic. Le caryotype et le reste du bilan génétique sont primordiaux pour le diagnostic étiologique.

- **Groupe 2** : dans ce groupe, il y a une légère prédominance du déficit en 5 α réductase. Ce trouble cause une absence de virilisation des organes génitaux, ce qui est responsable d'une ambiguïté sexuelle à la naissance, celle-ci entraîne une demande précoce de prise en charge de la part des parents. Le caryotype, avec les données cliniques, permet d'orienter le diagnostic.
- **Groupe 3** : dans ce groupe, l'hyperplasie congénitale des surrénales est l'étiologie prépondérante parmi les troubles de différenciation type DSD 46,XX. Le diagnostic est orienté par la clinique et la précision du sexe chromosomique, les explorations biologiques permettent de confirmer le diagnostic dans la plupart des cas.

3. Etude analytique :

L'analyse et la comparaison des résultats de cette étude, avec les autres études de la littérature, permettent de faire certains commentaires.

a- Groupe 1 : troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique :

- Donnée épidémiologique et clinique :

Les patients atteints de trouble de différenciation chromosomique représentent 72,58% de l'ensemble des patients de notre étude, ce pourcentage est supérieur à celui retrouvé dans la série égyptienne de Rabah M. Shawky (2012)[152] (41,29%) et encore plus supérieur à celui dans la série danoise de Johannes Nielsen (1991)[153] (23,4%).

Le sexe d'élevage prédominant dans ce groupe est le sexe féminin (69%) contrairement au sexe d'élevage de la série de Rabah M. Shawky [152] ou le sexe

masculin est prédominant (60,35%). Ceci est dû à l'importance du syndrome de Turner par rapport aux autres troubles dans notre échantillon.

Dans ce groupe, l'âge moyen de diagnostic est 18,18 ans. Selon Rabah M. Shawky [152], l'âge moyen de diagnostic est de 12,46 ans. Selon la série écossienne de N. MACLEAN (1964) [154] est un an. Ainsi, l'âge de diagnostic est relativement élevé dans ce groupe par rapport aux séries de comparaison.

Le taux de consanguinité dans le groupe 1 est de 13%. Ce taux est inférieur à celui de la série de Rabah M. Shawky [152] (55,5%).

Le retard staturopondéral constitue le signe d'appel le plus fréquent dans ce groupe de patients. Rabah M. Shawky [152] rapporte que infertilité est le motif de consultation le plus fréquent (48,55%). Quant à la série malienne de SIDIBE AT(2005) [155] le premier signe d'appel était l'ambiguïté sexuelle. Par conséquent, le signe d'appel est variable d'une série à une autre.

- **Diagnostic, cytogénétique et biologie moléculaire :**

Selon la classification suggérée par Hughes et coll, les troubles de différenciation chromosomique comprennent plusieurs entités pathologiques : le syndrome de Turner, syndrome de Klinefelter, la dysgénésie gonadique mixte et le chimérisme.

Dans notre série, ce groupe de trouble de différenciation sexuelle représente 72,58% de l'ensemble des troubles. Selon la série de Luigi Laino (2013) [156], les troubles de différenciation chromosomique constituent 88% des troubles. D'après Rabah M. Shawky [152], ils représentent 41,29% de la série. 45,5% est le pourcentage de ces troubles dans la série de Johannes Nielsen [153].

On remarque que les troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique sont prépondérants.

Le syndrome de Turner, dont le diagnostic est fait par caryotype, touche 60 % des patients du groupe. Rabah M. Shawky [152] rapporte 26,98% de cas de Turner et Johannes Nielsen [153] parle de 5,3% de cas de Turner.

Le syndrome est dû à une anomalie de nombre ou de structure. Théoriquement, l'anomalie de nombre constitue 70 % des cas de Turner ; 50% homogène et 20% en mosaïque, le pourcentage des anomalies de structure est estimé à 30% y compris : l'isochromosome X, les translocations X, le X en anneau (5%) et les délétions (5%).

Dans notre groupe, la monosomie X constitue 51,85% des cas de Turner, la monosomie en mosaïque (18,51%), isochromosome (11,11%), X en anneau (3,71%), les translocations (7,42%). Donc les résultats du groupe 1 concordent avec les données admises. Les différences de la formule chromosomique entre notre groupe et les autres séries sont illustrées dans le tableau suivant :

	<i>Monosomie X</i>	<i>Monosomie en mosaïque</i>	<i>Isochromosome X</i>	<i>X en anneau</i>	<i>translocations</i>	<i>Délétions</i>
<i>Rabah M. Shawky [152]</i>	33,46%	64,89%	0,81%	-	-	0,81%
<i>Johannes Nielsen [153]</i>	11%	22%	11%	11%	-	11%
<i>Groupe 1</i>	51,85%	18,5%	11,11%	3,71%	7,42%	-

Tableau 19 : Tableau comparatif entre le groupe 1 et les autres séries concernant les différentes formes de Turner

Le syndrome de Klinefelter constitue 25% des troubles de différenciations chromosomique, dont 91% sont homogènes et 9 % en mosaïque, ceci est conforme avec les données admises. Les différences de la formule chromosomique entre notre groupe et les autres séries sont illustrées dans le tableau suivant :

	<i>Homogène</i>	<i>en mosaïque</i>
<i>Rabah M. Shawky [152]</i>	83,84%	11,35%
<i>Johannes Nielsen [153]</i>	90%	10%
<i>Groupe 1</i>	91%	9%

Tableau 20 : Tableau comparatif entre le groupe 1 et les autres séries concernant les différentes formes du syndrome de klinefelter.

La dysgénésie gonadique mixte constitue 8,88% des troubles chromosomiques dans notre série. Selon Johannes Nielsen [153] la DGM représente 0.3% des patients de sa série. La série malaysienne de Kannan TP.[157] montre un pourcentage de 7,1% de DGM. Le pourcentage de la DGM est très différent d'une série à une autre.

Le chimérisme 46,XX/46,XY représente 2,22% des troubles de différenciation sexuelle de notre série. Johannes Nielsen [153] rapporte 0,3% de cas de chimérisme dans sa série d'étude. Selon Rabah M. Shawky[152], 8,25% est le pourcentage du chimérisme dans sa série. Ainsi, le taux du chimérisme est variable d'une série à une autre.

Le syndrome de double Y représente 2% de l'ensemble des patients du groupe. Tandis que Rabah M. Shawky[152] rapporte 1,61% de ce syndrome.

L'analyse des résultats de ce groupe de patients atteints de troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique montre que le caryotype est le pilier du diagnostic. Bien que la classification soit basée sur les résultats caryotypiques, notre série montre que le caryotype permet le diagnostic dans la plupart des cas. L'utilisation de nouvelles techniques d'exploration génétique, telle que la FISH et la PCR, a permis une approche plus approfondie des troubles de différenciation sexuelle.

La technique de la FISH a été appliquée chez 33,33% des patients de ce groupe. Les spots verts correspondent à la région centromérique du chromosome X (CEPX), alors que les spots orange correspondent à la région Yp11.3.

D'après nos résultats, La FISH permet :

- Ø La confirmation de la monosomie homogène en cas de syndrome de Turner.
- Ø Diagnostic rapide d'un mosaïsme en cas de Turner ; 45,X dans certaines mitoses et 45,XX dans autres.
- Ø La confirmation du diagnostic DGM ; 46,XY dans certaines mitoses et 45,XX dans autres.
- Ø Présence de 3 chromosomes X dans un syndrome triple X.
- Ø Confirmation du diagnostic du chimérisme ; présence d'un mosaïsme 46,XX/46,XY.
- Ø Confirmation d'un syndrome double Y ; présence de 2 chromosomes Y.

Exemple :

Chez le patient P18, le résultat de la FISH a permis de mettre en évidence la présence d'un mosaïsme 45,X/46,XY. En effet, on observe sur la figure 46 une première mitose contenant un spot vert correspondant aux régions hybridées des deux chromatides du chromosome X , et un spot orange correspondant à celles du chromosome Y. alors que la figure 47 montre une deuxième mitose renfermant un seul spot vert indiquant la présence exclusive du chromosome X.

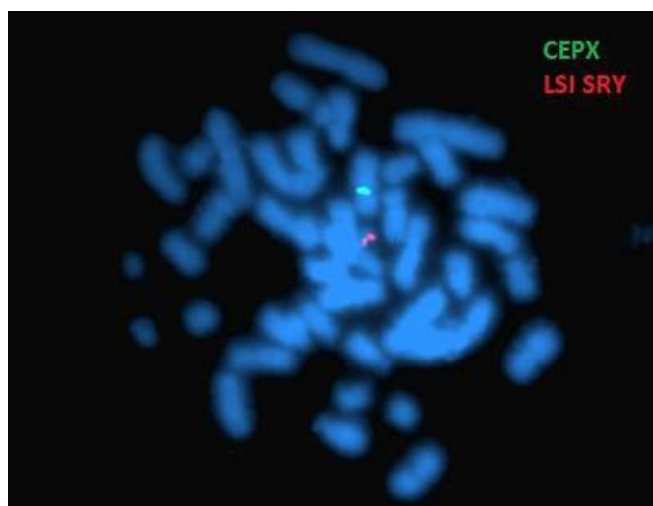


Figure 46 : Résultat de FISH du P18 montrant un spot vert et un spot orange

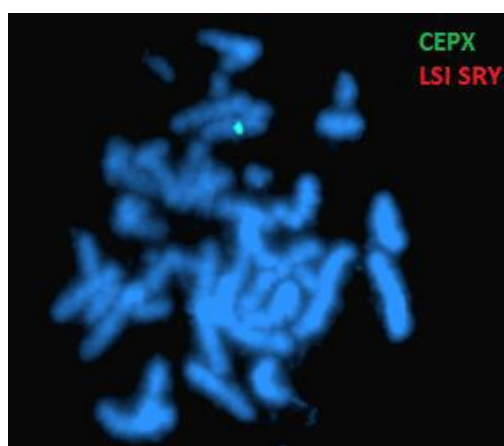


Figure 47 : Résultat de FISH du P18 montrant un seul spot vert

Ainsi, le résultat de la FISH confirme celui du caryotype pour le patient P 8.

Le comptage sur lame, quant à lui, indique la présence de formule 46,XY sur 50 noyaux et mitoses et 45,X sur 18 noyaux et mitoses.

Ainsi, le diagnostic définitif pour ce patient est le syndrome de dysgénésie gonadique mixte 45,X/ 46,XY avec la formule chromosomique "mos46,XY[50]/ 45,X[18].

La littérature indique que le phénotype des patients 45,X/46,XY est très diversifié, allant d'un phénotype complètement féminin à un phénotype complètement masculin passant par l'ambiguïté sexuelle et ceci selon la proportion des cellules 45,X par rapport aux cellules 46,XY. Vu ceci, on peut déduire que le phénotype du P18, qui

tend vers un profil masculin, pourrait être dû au fait que les cellules 46,XY sont plus importantes que celles 45,X.

Dans ce groupe, la PCR du gène *SRY* a été appliqué pour 20% des patients. Ces derniers sont principalement des turnériens dont théoriquement 12% disposent du gène *SRY* dans leur génome (ce qui indique la présence de risque de développer des gonadoblastomes. On a constaté que les 11,11% des turnériens testés possèdent un gène *SRY* positif avec un risque néoplasique. Ainsi, une gonadectomie est indiquée.

b- Groupe 2 : troubles de différenciation sexuelle 46,XY:

- **Donnée épidémiologique et clinique :**

Les troubles de différenciation sexuelle 46,XY constituent 12,90 % de l'ensemble des troubles de différenciation sexuelle. Ce taux est supérieur à celui de la série de Rabah M. Shawky [152] (7,26%). Sallahi (1990-2000) [158] rapporte 28% de DSD 46,XY. Les DSD 46,XY constituent 50% de la série de Borer et coll (1985-1995)[159].

Le sexe indéterminé est prédominant dans ce groupe de patients (87,5%). Selon Sallahi [158], parmi les 6 cas d'anomalies 46,XY DSD étudiés, 3 ont été élevés comme garçon (50%), et 3 comme fille (50%). Selon Ftouhi[160], parmi les 29 cas d'anomalies 46,XY DSD étudiés, 18 ont été élevés comme fille (62%) et 11 comme garçon (38%). Le sexe est très différent d'une série à une autre.

L'âge moyen de diagnostic est 5,25 ans dans ce groupe, dans 62% des cas le diagnostic est fait avant 3 ans. Alors que dans la série de Sallahi [158], l'âge moyen de diagnostic est de 4 ans avec des extrêmes allant de 4 mois à 9 ans, le diagnostic est porté à la première année dans 50% des cas. Dans la série de Borer [159], le diagnostic des ADS est fait à la naissance dans 50%, et dans la série de Aguilar Martinez (1979-1990)[161], le diagnostic à la naissance est fait dans 100% des cas. Dans ce groupe, le diagnostic est porté tardivement par rapport aux autres séries.

Chez les patients de ce groupe, la consanguinité est retrouvée chez 25% des patients. Pour Ftouhi [160], la consanguinité est retrouvée dans 62% des cas. Chez Sallahi [158], la consanguinité est retrouvée dans 50% des cas. La consanguinité est moins importante par rapport aux autres séries.

Les OGE ambigus constituent dans ce groupe de patients la circonstance de découverte la plus importante (75%), dans une autre série, Ftouhi [160] rapporte également que l'ambiguïté des OGE constitue le motif de consultation le plus fréquent (59%). Aussi dans la série de Sallahi [158], l'ambiguïté des OGE constitue la circonstance de découverte la plus importante (83%). Alors, l'ambiguïté des OGE reste le motif de consultation le plus fréquent dans les anomalies 46,XY DSD.

- **Diagnostic, cytogénétique et biologie moléculaire :**

Selon la classification des troubles de différenciation sexuelle, basée sur le consensus de Chicago, les DSD 46,XY regroupent plusieurs pathologies : les troubles du développement gonadique (testiculaire), les troubles de synthèse ou d'action des androgènes, anomalie de l'AMH et de son récepteur, anomalie du récepteur de la LH.

Dans notre groupe, les diagnostics retenus étaient suit :

- ✚ le Déficit en 5 α réductase est diagnostiqué chez 37,5%,
- ✚ Dysgénésie gonadique (25%),
- ✚ Troubles de l'hormonosynthèse de la testostérone (12,5%),
- ✚ Insensibilité complètes aux androgènes (12,5%),
- ✚ Anomalie du récepteur du LH (12,5%).

D'après la série de Sallahi [158], le déficit en testostérone est diagnostiqué dans 3 cas (50%), l'insensibilité aux androgènes dans 1 cas (16,6%). ABBADI [162] a trouvé 8 cas d'insensibilités aux androgènes soit 29,6%. Ainsi, la répartition des étiologies est variable d'une série à une autre.

Dans les anomalies 46,XY DSD, tous les patients ont bénéficiés d'un caryotype. Ce dernier était masculin 46 XY dans tous ces cas. Ceci rejoint les 2 séries de Sallahi [158] et de Rabah M. Shawky[152], dans laquelle le caryotype était masculin dans tous les cas. Le Résultat du caryotype dans ce groupe a permis d'orienter le reste des investigations paracliniques afin de poser le diagnostic.

La MULTIPLEX-PCR *SRY* est faite pour 3 sujets soit 37,5% des patients du groupe, chez qui on suspecte l'absence du gène *SRY* comme étiologie de l'ambiguïté sexuelle, le gène *SRY* était absent chez 2 patients soit 66%, les diagnostics retenus pour ces 2 patients étaient les dysgénésies gonadiques partielles et complètes. La théorie dit que 15% des patients souffrant du DGC présentent des mutations ou délétions au niveau du gène *SRY*. Il faut impérativement enlever les gonades qui présentent, dans ces 2 cas, un risque potentiel de malignité.

c- Groupe 3 : troubles de différenciation sexuelle 46,XX :

- Donnée épidémiologique et clinique :

Les troubles de différenciation sexuelle 46,XX constituent 14,52 % de l'ensemble des troubles de différenciation sexuelle. Cette dernière est supérieure à celle retrouvée dans la série de Rabah M. Shawky [152] (7%). Sallahi [158] rapporte 5 cas d'anomalies 46,XX DSD, parmi 18 cas d'ADS diagnostiqués entre 1990 et 2000, soit 28%.

Le sexe indéterminé est prépondérant dans ce groupe de patients (89%). Ceci est différent de la série de Sallahi [158], selon laquelle le sexe d'élevage est féminin chez 60% des patients, et masculin chez 40%.

L'âge moyen de diagnostic est 5,25 ans dans ce groupe 3,22 ans, Selon Sallahi [158], l'âge moyen de diagnostic est de 7 mois pour les filles et 18,5 mois pour les garçons. Selon Amri [163], l'âge moyen de diagnostic est de 20 mois pour

les filles et 18 mois pour les garçons. L'âge de diagnostic est relativement tardif dans ce groupe par rapport aux séries de comparaison.

Le taux de consanguinité dans le groupe 3 est de 33%. Ce taux est inférieur à celui de Sallahi [158] (80%), et celui d'Amri [163] (78%). Le taux de consanguinité est relativement élevé dans les différentes séries.

Dans le groupe des DSD 46,XX, le motif de consultation était une ambiguïté sexuelle chez 44 % patients, une déshydratation aigue chez 34 %, une aménorrhée chez 11% et un retard staturopondéral chez 11%. Selon Amri [163], sur 36 cas d'anomalies 46,XX DSD, le motif de consultation est une ADS chez 10 patients(27%) , allant du stade I au stade V de Prader; une déshydratation aigue ayant entraîné un état de choc chez 6 patients (17%) et un dépistage néonatal chez 2 autres enfants (6%). Selon Sallahi [158], le motif de consultation est une ADS chez 4 patients (80%), et une déshydratation aigue chez 1 patient (20%). La répartition des signes d'appel est variable d'une série à une autre.

- **Diagnostic, cytogénétique et biologie moléculaire :**

Les troubles de différenciation sexuelle 46,XX comprennent : les troubles de développements gonadique(ovarien), l'hyperplasie congénitale des surrénales, le déficit en aromatase placentaire et enfin l'hyperandrogénie d'origine maternelle.

Dans ce groupe, dans les anomalies 46,XX DSD, le diagnostic d' HCS a été retenu chez 89% des patients et un cas de male 46,XX SRY positive DSD testicular. D'après la série de Mohamed El-Sherbiny [152], Hyperplasie congénitale des surrénales concerne 70% des patients de la série. Selon Amri [163], l'HCS constitue 100% des cas de DSD 46,XX. On remarque que l'hyperplasie congénitale des surrénales est la plus fréquente des 46,XX DSD dans toutes les séries.

Dans les Trouble 46,XX DSD, le caryotype a été fait pour tous les patients. Ce dernier était féminin 46 XY dans tous ces cas. Alors que dans la série de Sallahi [158],

le caryotype était 46,XX chez tous les cas, sauf un, qui présentait une anomalie : 46,XX,-11,-19.

Les données cliniques et le résultat du caryotype a permet d'orienter le diagnostic étiologique. Ainsi plusieurs explorations paracliniques sont nécessaires notamment hormonales.

La fiche a été appliquée chez 44% des patients du groupe, l'objectif était de confirmer les résultats caryotypiques en affirmant l'absence du chromosome Y (les spots orange correspondent à la région Yp11.3). Le chromosome Y était absent dans tous les cas.

La MULTIPLEX-PCR *SRY* est faite pour 56% des patients du groupe. Le gène *SRY* était présent chez un seul patient (20%), la théorie dit que 90% des patients atteints de testicular DSD disposaient de fragments comprenant le gène *SRY* sur leur chromosome X, ainsi le diagnostic de male 46,XX *SRY*-positif testicular DSD) a été retenu.

CONCLUSION

Les troubles de différenciation sexuelle constituent le résultat d'anomalies ayant survenues au cours de la différenciation sexuelle de l'individu. Le diagnostic de ces anomalies nécessite des analyses et des bilans divers, notamment, les analyses cytogénétiques et moléculaires.

A travers l'étude de 62 cas de patients adressés au laboratoire de génétique médical et d'oncogénétique du CHU Hassan II de Fès, on a pu mettre en évidence le rôle de chacun des examens génétiques dans l'établissement du diagnostic, de l'étiologie et de la démarche thérapeutique de certains troubles de différenciation sexuelle.

Dans un premier temps on a pu classer les patients en catégories selon leur formule génotypique, ensuite, grâce au caryotype on a pu diagnostiquer certains troubles de différenciation sexuelle tels que le syndrome de Turner et de Klinefelter. D'autres troubles ont été diagnostiqués grâce à la combinaison avec les résultats biologiques, cliniques et radiologiques, c'est le cas de l'hyperplasie congénitale des surrénales. (annexe5)

Ainsi on a pu prendre en charge les patients atteints et leur prescrire les traitements convenables. Par contre, le diagnostic de certains troubles a été difficile par cytogénétique seul.

La FISH, de son côté, a permis de confirmer le résultat du caryotype et de préciser les proportions du mosaïsme (syndrome de Turner et DGM) sur une population plus large dans un temps court. D'autres diagnostics ont été confirmés grâce à la réalisation de la FISH ; notamment le syndrome triple, le syndrome 2Y et le chimérisme.

La MULTIPLEX-PCR *SRY*, quant à elle, nous a permis d'établir une prise en charge assez complète pour les patients Turner par élimination du souci de gonadoblastome. Pour les femmes XY, la PCR a contribué à la compréhension de l'étiologie par

élimination de certaines hypothèses (tels que la délétion du gène *SRY*), la PCR a permis également de confirmer un diagnostic de testiculaire DSD en notant la présence du gène *SRY* avec un caryotype 46,XX.

On a pu déduire à travers notre étude que le résultat de la cytogénétique et de la biologie moléculaire ne peut être utile en absence de constatations cliniques, biologique et radiologiques bien illustrées, et que la recherche d'étiologie nécessite l'exploration d'autres gènes aussi importants que le gène du déterminisme sexuel.

On conclut finalement, que la génétique et la biologie moléculaire, aussi spécifique et fiable qu'elle soit, ne permettent pas de prendre en charge les troubles de différenciation sexuelle sans contribution des autres disciplines. Ainsi, une prise en charge multidisciplinaire est recommandée (annexe 4).

Afin de présenter la meilleure prise en charge aux patients souffrants de troubles de différenciation sexuelle, on pourrait explorer d'autres gènes aussi importants que celui du déterminisme sexuel, tels que le gène du récepteur aux androgènes (AR) et le gène codant pour la 21-hydroxylase.

RESUME

Le but de ce travail, est de mettre le point sur l'apport de la cytogénétique et de la biologie moléculaire dans les troubles de différenciations sexuelle.

Les troubles de différenciation sexuelle constituent le résultat d'anomalies ayant survenues au cours de la différenciation sexuelle de l'individu. Le diagnostic de ces anomalies nécessite des analyses et des bilans divers, notamment, les analyses cytogénétiques et moléculaires.

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive menée au niveau du laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique, ce travail concerne 62 patients. Ont été inclus tous les patients porteurs de trouble de différenciation sexuelle.

Le travail est fondé sur l'exploitation des dossiers cliniques des patients vus au laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique durant une période comprise entre septembre 2009 et décembre 2014.

L'âge moyen de diagnostic des troubles de différenciations sexuelles est 14,3 ans, ce qui représente un âge tardif de diagnostic avec les difficultés de prise en charge qui en découlent. Le retard staturopondéral est le signe le plus fréquent, il est retrouvé dans 32,25 % des cas. Il est généralement associé à d'autres symptômes. L'aménorrhée, la stérilité, la dysmorphie et le micropénis viennent en second plan.

72,58 % des cas étudiés présentent des troubles de différenciation sexuelle d'origine chromosomique dont le syndrome de Turner est le plus fréquent. 12,90 % des sujets étudiés présentent des troubles de différenciation sexuelle 46,XY dont le déficit en 5 α réductase est le plus fréquent . 14,52 % présentent des troubles de

différenciation sexuelle 46,XX dont l'hyperplasie congénitale des surrénales est l'étiologie la plus fréquente.

On a pu déduire à travers notre étude que le résultat de la cytogénétique et de la biologie moléculaire ne peut être utile en absence de constatations cliniques, biologique et radiologiques bien illustrées, et que la recherche d'étiologie nécessite l'exploration d'autres gènes aussi importants que le gène du déterminisme sexuel.

On conclut finalement, que la cytogénétique et la biologie moléculaire, aussi spécifique et fiable qu'elle soit, ne permettent pas de prendre en charge les troubles de différenciation sexuelle sans contribution des autres disciplines. Ainsi, une prise en charge multidisciplinaire est recommandée.

SUMMARY

The aim of this study is to put the item on the contribution of cytogenetics and molecular biology in disorders of sexual differentiation.

The disorders of sexual differentiation constitute the result of the deficiencies that occurred during the sexual differentiation of the individual. The diagnosis of these anomalies requires various analyzes and assessments, in particular, cytogenetic and molecular analyzes.

It is about a descriptive retrospective study conducted in the Laboratory of medical genetics and oncogenetics, this work concerns 62 patients. All the patients carrying disorder of sexual differentiation were included.

The work is based on the exploitation of the clinical files of the patients seen in the laboratory of medical genetics and oncogenetics during a period between September 2009 and December 2014.

The average age of diagnosis of disorders of sexual differentiation is 14.3 years, which represents a late age of diagnosis with health care difficulties that result. Growth delay is the most frequent call sign; it is found in 32.25% of the cases. It is generally associated with other symptoms. Amenorrhea, infertility, dysmorphia and micropenis come in second place.

The chromosomal disorder of differentiation account for 45 % of the studied cases whose syndrome of turner is most frequent. 12.90 % of the studied subjects present disorders of sexual differentiation 46,XY whose deficit in 5 α reductase is most frequent. 14,52 % have disorders of sexual differentiation 46,XX whose congenital hyperplasia of the suprarenals is the most frequent etiology.

One could deduce through our study that the result of cytogenetics and molecular biology cannot be useful in the absence of clinical, radiological and biological observations good illustrated, and that the search for etiology requires exploration of other genes as important as the gene of sex determination.

We finally concluded that the cytogenetics and molecular biology, as specific and reliable it is, does not allow to support disorders of sexual differentiation without contribution of other disciplines. Thus, a multidisciplinary approach is recommended.

مطى

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة دور الطفرات الجينية في تشخيص اضطرابات التمايز الجنسي و لظاهرة بالخصائص بها.

تعد اضطرابات التمايز الجنسي نتيجة لاختلالات وقعت خلال التمايز الجنسي الطبيعي للفرد، يتطلب تشخيص هذه الفوعة من الاضطرابات إجراء جملة من الفحوصات التحليلية بما فيها التحاليل الجينية لمؤثرات التحاليل الجينية لوجية الجنسية.

تجدراسة رجعية وصفية لملحة الطيور اثة الجنسية وطب جينيك السرطان، هملثدراسة 62 صاب بظطرا التمايز الجنسي حيث تموزدراسة لملت الصحية لمرضى الدبر و ا على الملحة خلال المدة ما بين شتبر 2009 و دجنبر 2014.

تم تشخيص اضطرابات التمايز الجنسي في سن متأخر، 14 سنة كمتوسط، وهو ما يعنى صعوبة لظاهرة الطبية لما ينتج عنه التأخر من تطور لتسلبية تهم صحتهم النفسيتو الجديدة، إن تأخر النمو هو لعلما رضالد اعى لملقص الأكرشيوعا، بهم تأخر النمو 32,25 بالمائة من المرضى، يصاحبه في غالب الأحيان أعراض أخرى، و تأتي في المرتبة الثانية من ناحية رجة الأهمية لأعراضا تقطاعا لطما، لعق، التشوهات لملقية وقصر طول القضيب.

احتمل اضطرابات التمايز الجنسي الطبغى المرتبة الأولى ب 72,58 % من مجموع الحالات لدراسة حيث مثلك ملازمة تيرنلخلى الأكرشيوعا. أما اضطرابات التمايز الجنسي من نوع 46,XY فشلك 12,9 % من مرضى ملا لمللدراسة فكان نقص أنزيم 5α المحزل الأكرشيوعا من بينها، في حين مثلك اضطرابات التمايز الجنسي من نوع 46,XX نسبة 14,52 % حيث كان تضخم لغدة لكظية المسبب الأكرشيوعا.

استنتجنا من خلال هذه الدراسة أن فعالية التحاليل الجينية لمؤثرات التحاليل الجينية لوجية لظاهرة لا تحقق في غياب باقى الفحوصات السريرية المؤثرة لوجية الإشعاعية، كما أن تشخيصا دقيقا لملح الفوعة من الاضطرابات يتطلب استكشاف وأغراض جينيك مهمة أخرى على شاكلة الجينة المحلد لجنس.

خلصنا في ملهة ر استنا إلى أن التشخيص لظاهرة الصحية المناسبة للأشخاص الخصائص بظطرا التمايز الجنسي لا يحقق إلا بمساهمة وتظفر و د مجموعة من التخصصات الطبية.

ANNEXES

ANNEXE I : Fiche d'Exploitation

I-Identité

✎ Nom :

✎ Prénom :

✎ Sexe : 1-Masculin 2-Feminin 3-Indéterminé

✎ Origine :

✎ Age :

✎Etat matrimonial : 1- Marié 0-Non marié

✎ Assurance : 1-Assuré 0-Non assuré

II- ATCDs : 1-Sporadique 2-Familial

III- Consanguinité : 1-Consanguin 0-Non consanguin

IV-Motif de consultation :

V-Clinique :

1 /Sexe Masculin :

✎ Taille : 1-Retard statural 2-Normal 3-Haute

✎ Retard pubertaire : 1-Oui 0-Non

✎ Taille des testicules : 1-Normal 2-Hypotrophique

✎ Malformation ou ectopie testiculaire : 1-Oui 0-Non

✎ Autres malformations génitales : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type de malformations génitales :

✎ Caractères sexuels secondaires : 1-Développés 0-Non Développés

✎ Infertilité : 1-Oui 0-Non

✎ Spermogramme : 1-Normal 2-anormal

✎ Si anormal : 1-Anomalie de Nombre 2-Anomalie de structure

✎ Gynécomastie : 1-Oui 0-Non

✎ Dysmorphie : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type de dysmorphie :

✎ Malformation osseuse : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type de malformations osseuses :

✎ Etat buccodentaire : 1-Bon 0-Mauvais

✎ Retard psychomoteur : 1-Oui 0-Non

✎ Retard mental : 1-Oui 0-Non

✎ Troubles socio-émotionnels : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type de troubles socio-émotionnels :

✎ Atteinte d'organe : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, Type d'atteintes d'organes :

✎ Atteinte endocrinienne : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type d'atteintes endocriniennes :

2 / Sexe féminin :

✎ Retard staturo-pondéral : 1-Oui 0-Non

✎ Dysmorphie : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type de dysmorphie :

✎ Retard âge osseux : 1-oui 0-Non

✎ Atteinte d'organe : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type d'atteintes d'organes :

✎ Troubles endocriniens : 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type de troubles endocriniens :

✎ Retard psychomoteur : 1-Oui 0-Non

✎ Retard mental : 1- Oui 0-Non

✎ Retard pubertaire : 1-Oui 0-Non

✎ Impubérisme : 1-Oui 0-Non

✎ Aménorrhée : 1-Oui 0-Non

✎ Caractères sexuels secondaires : 1-Développés 2-Non Développés

✎ Règles 1-Régulières 0-Irrégulières

✎ Infertilité : 1-Oui 0-Non

✎ Gestité : 1-Oui 0-Non

✎ Parité : 1-Oui 0-Non

✎ Troubles socio-émotionnels : 1-Oui 0-Non

3 / Sexe indéterminé :

✎ Aspect des organes génitaux externes : 1-Masculin 2-Féminin

✎ Bourgeon génital : 1-Petite taille 2-Grande taille

✎ Orifice urogénital : 1-Un orifice 2-Deux orifices ou plus.

✎ Position d'orifice : 1-Base du bourgeon 2-Périnéal

✎ Bourrelets génitaux : 1-Striés d'aspect scrotal

2-Lisses évoquant les grandes lèvres

3-Combinés

✎ Testicules palpés : 1-Oui 0-Non

✎ Sinus urogénital : 1-Présent 0-Absent

✎ Si oui, type de sinus urogénital : 1-Muqueux 2-Cutané

✎ Retard staturo-pondéral : 1-Oui 0-Non

✎ Dysmorphie : 1-Oui 0-Non

✎ Atteinte d'organe 1-Oui 0-Non

✎ Si oui, type d'atteintes d'organes :

✎ Problème orthopédique : 1-Oui 0-Non

✎ Problème endocrinien : 1-Oui 0-Non

✎ Retard psychomoteur : 1 –Oui 0–Non

✎ Retard mental : 1 –Oui 0–Non

✎ Troubles socio-émotionnels : 1 –Oui 0–Non

VI-Paraclinique :

1 /Bilan biologique :

✎ Testostérone : 1 – Valeur basse 2–valeur normale 4–valeur élevée

✎ FSH : 1 – Valeur basse 2–valeur normale 4–valeur élevée

✎ LH : 1 – Valeur basse 2–valeur normale 4–valeur élevée

✎ Progestérone : 1 – Valeur basse 2–valeur normale 4–valeur élevée

✎ Œstradiol : 1 – Valeur basse 2–valeur normale 4–valeur élevée

✎ Prolactine : 1 – Valeur basse 2–valeur normale 4–valeur élevée

2/Imagerie :

A/ Echographie pelvienne :

B/IRM pelvienne :

VII-Carvotype :

✎Techniques utilisées:

✎Résultats :

VIII-Cytogénétique :

✎ Sonde(s) utilisée(s) :

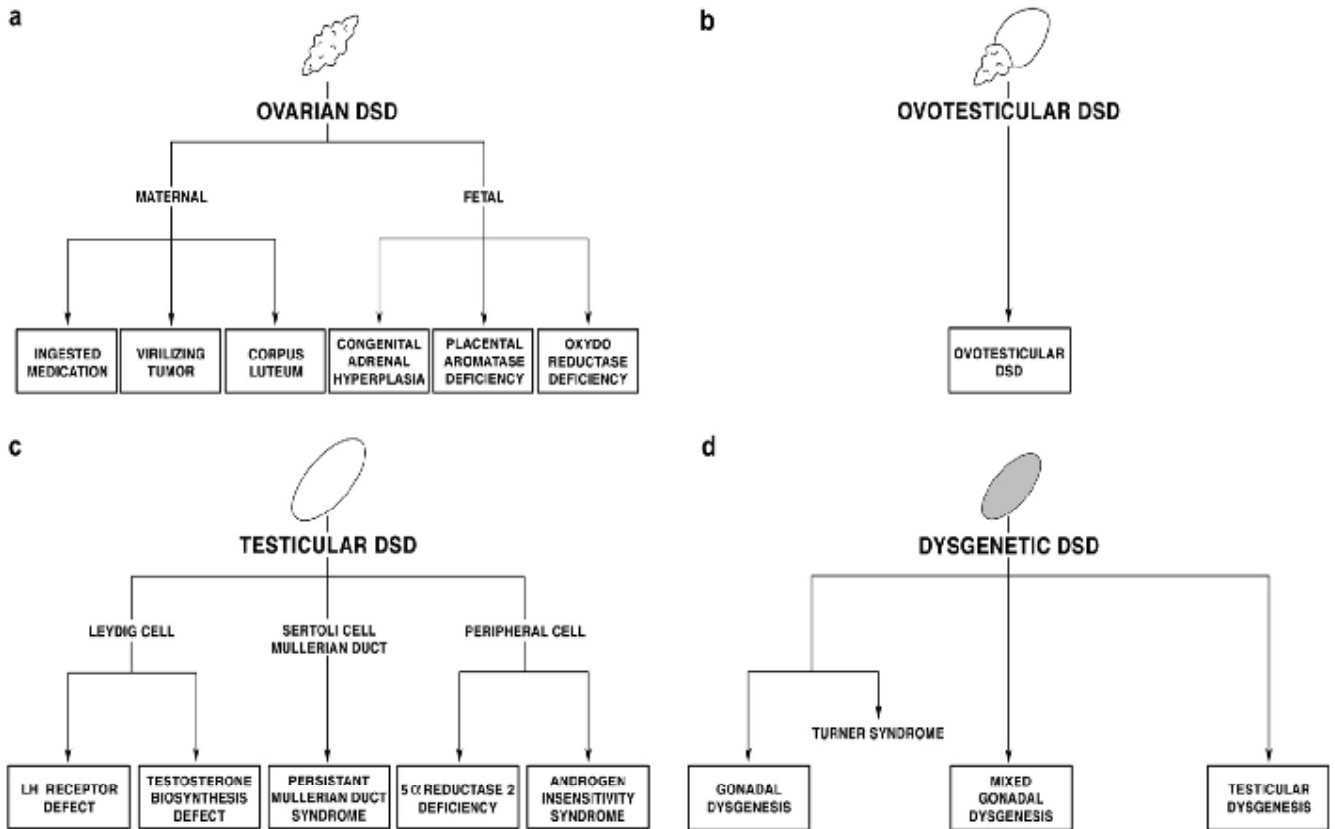
✎ Résultats :

IX- MULTIPLEX-PCR SRY:

X-Diagnostic Retenu :

ANNEXE II : Classification selon Ian A. Aaronson et coll.

a, b, c et d : les quatre catégories de troubles de différenciation sexuelle selon Ian A.



Aaronson et coll.

ANNEXE III : Constitution des réactifs

1 / Réactifs du caryotype :

v Earl :

NaCl	6.8 g
KCl	0.4 g
MgSo4	0.1 g
Glucose	1 g
CaCl2	0.2 g
NaH2, PO4	0.14 g
Eau distillée qsp	100 ml

v Giemsa

Giemsa	7.5g
Glycerol	250ml
Methanol	750ml

2/ Réactifs de la FISH :

v 20X SSC

20X SSC	pH 5.3	66g
Eau qsp		250 ml

v 2X SSC

20X SSC	pH5.3	10 ml
Eau distillée qsp		100 ml

v 2 X SSC / 0.1% NP 40 pH 7

NP40	1 ml
20X SSC	100 ml

Eau distillée	850 ml
v 0,4X SSC / 0.3% NP 40 pH 7	
NP40	3 ml
20X SSC	20 ml
Eau distillé	950 ml

3/ Réactifs par Extraction d'ADN par sel :

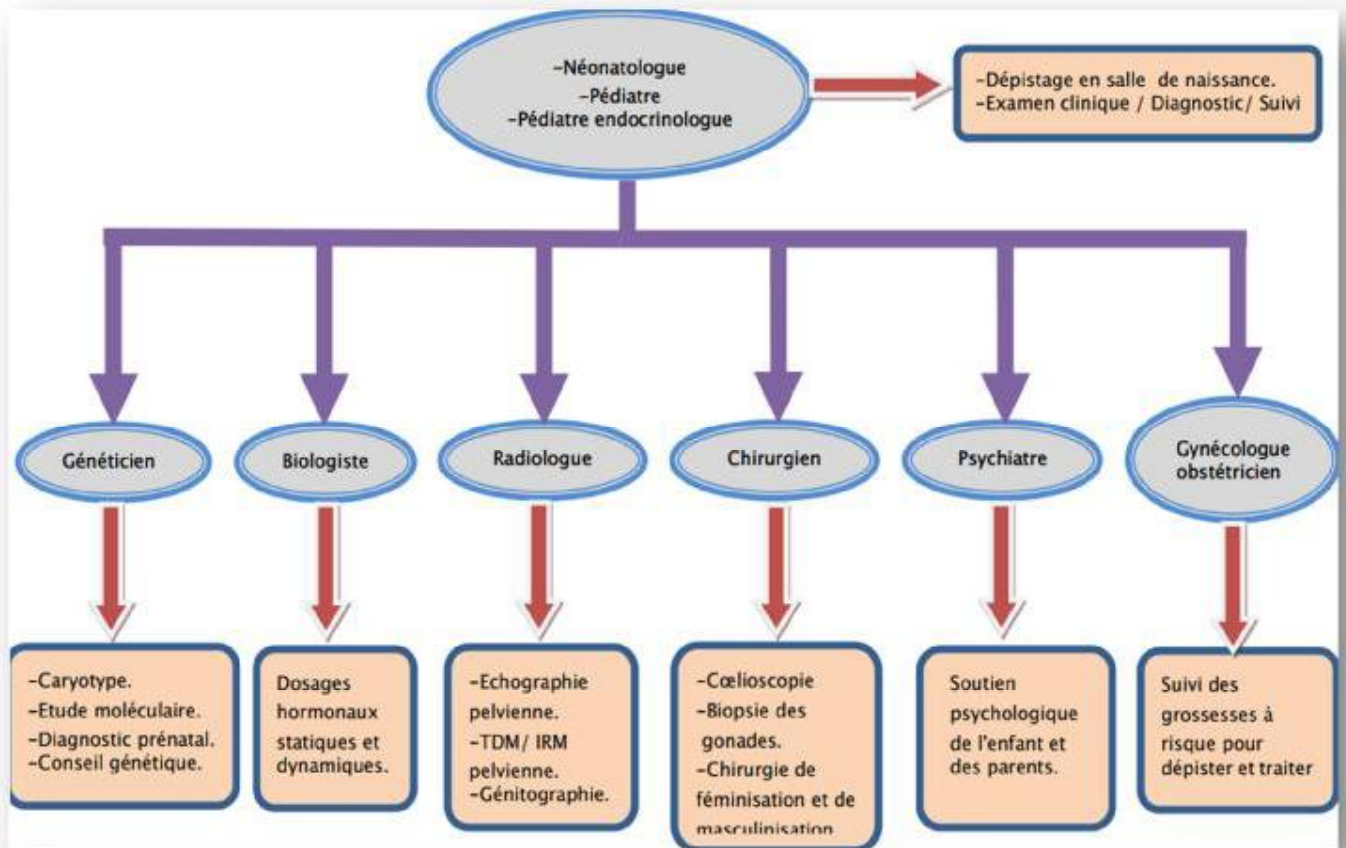
v TE 20/5 : (1L)			
Tris-HCl 1 M	pH 7,6	20 ml	
EDTA disodique 0,5 M	pH 8	10 ml	
H2O distillée			
v Solution SLB (Lyse des globules blancs)			
Tris-HCl 1 M	pH 7,6	10 ml	
EDTA disodique 0,5 M	pH 8	20 ml	
SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) 10%		20 ml	
NaCl 5 M		10 ml	
Eau stérile			
v TE 10/1 : (200 ml)			
Tris-HCl 1 M	pH 7,6	2 ml	
EDTA disodique 0,5 M	pH 8	400 µl	

4/ Gel d'agarose :

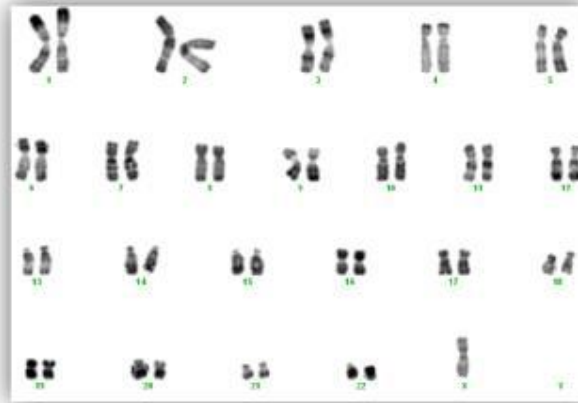
v TAE 50X			
Tris-base		242,2g	
EDTA 0,5M	pH = 8	100ml	
Acide Acétique Glacial		57ml	
Eau distillée		qsp 1L	
v Solution de charge (2 mg/ml) :			

Bleu de bromophénol	200 mg	
TRIS-HCl 1M	pH 7,6	10 ml
Glycérol	50 ml	
Eau distillée	qsp	100 ml

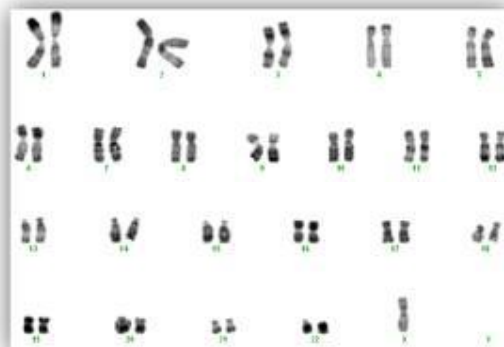
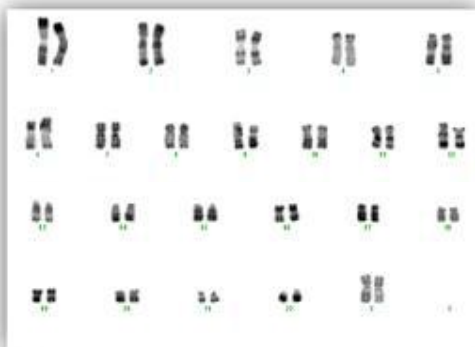
ANNEXE IV : Prise en charge multidisciplinaire



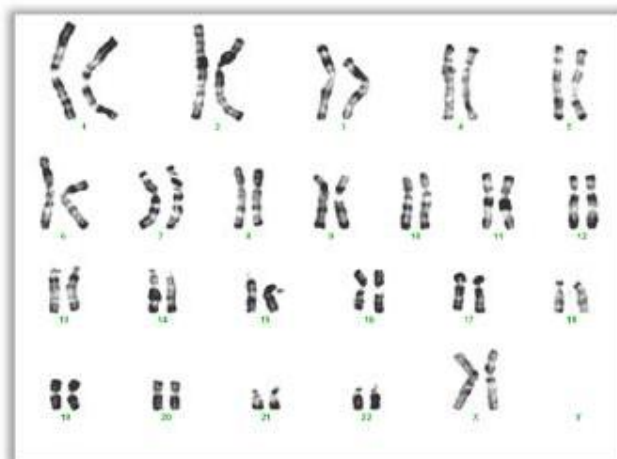
Annexe V : Exemple des résultats de la Cytogénétique et biologie moléculaire des patents de notre étude.



Caryotype d'un syndrome de Turner (45,X)



Caryotype d'un syndrome de Turner (45,X/46,XX)



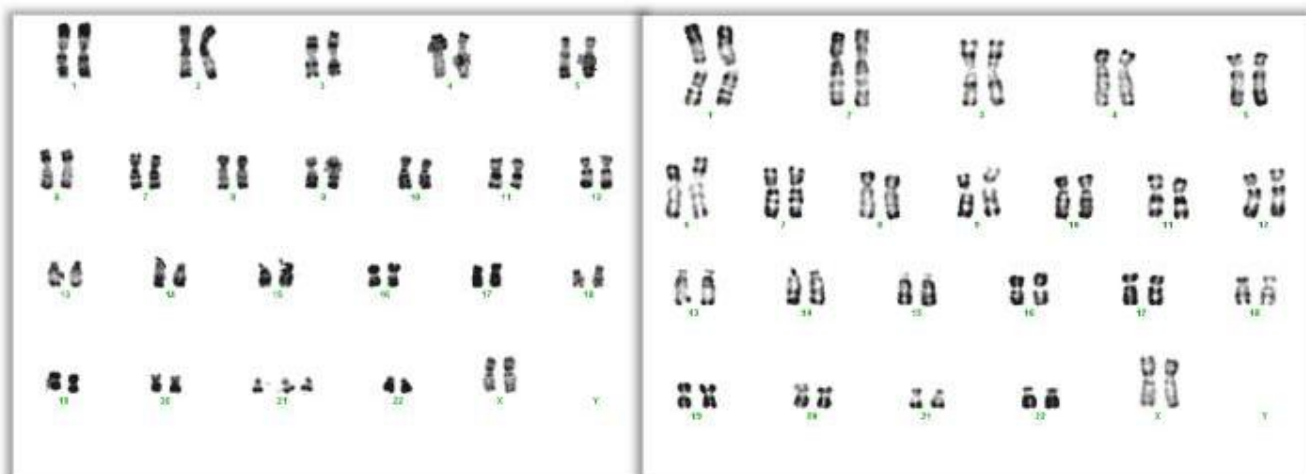
Caryotype d'un syndrome de Turner avec isochromosome X (46,X,i(X))



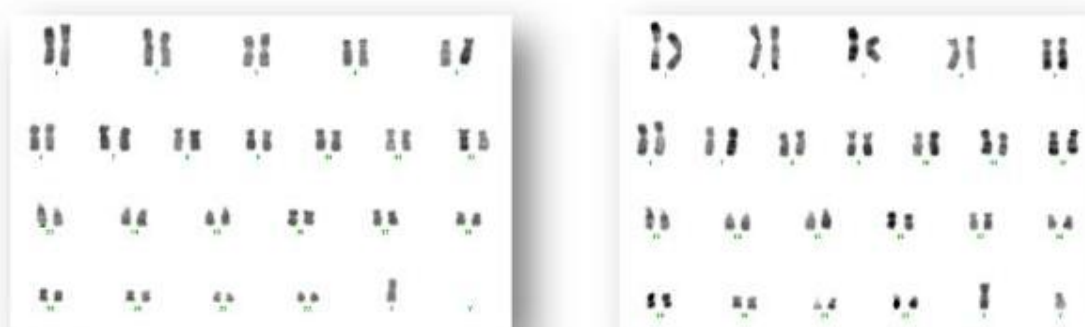
Caryotype d'un syndrome de Turner (45,X avec translocation X-Y)



Caryotype d'un syndrome de Turner (46,X, der(X) t(X,X)(pter,pter))



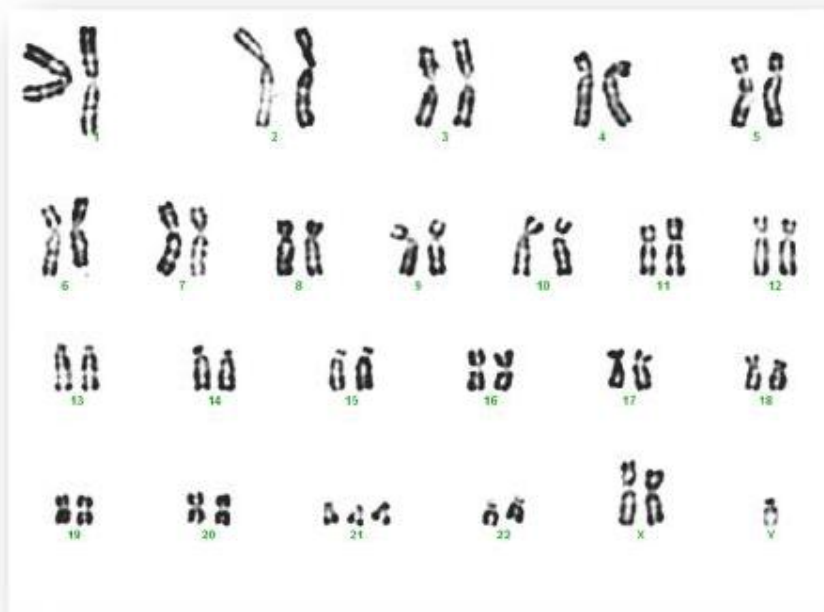
Caryotype d'un syndrome de Turner (45,X/46,X,i(X)/46,XX)



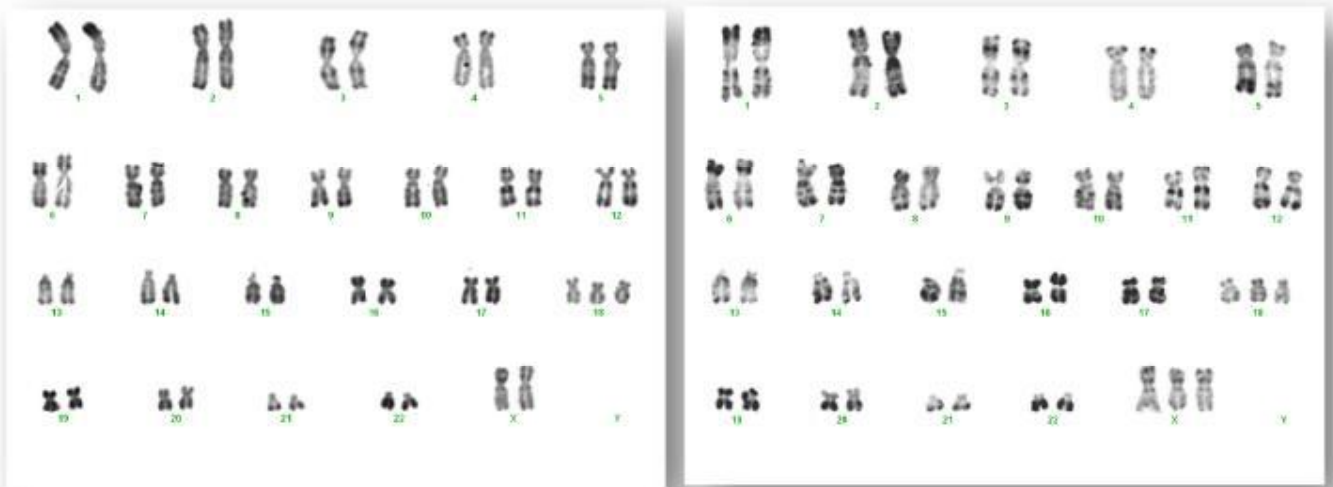
Caryotype d'une dysgénésie gonadique mixte (45,X/46,XY)



Caryotype d'un syndrome de Klinefelter (47,XXY)



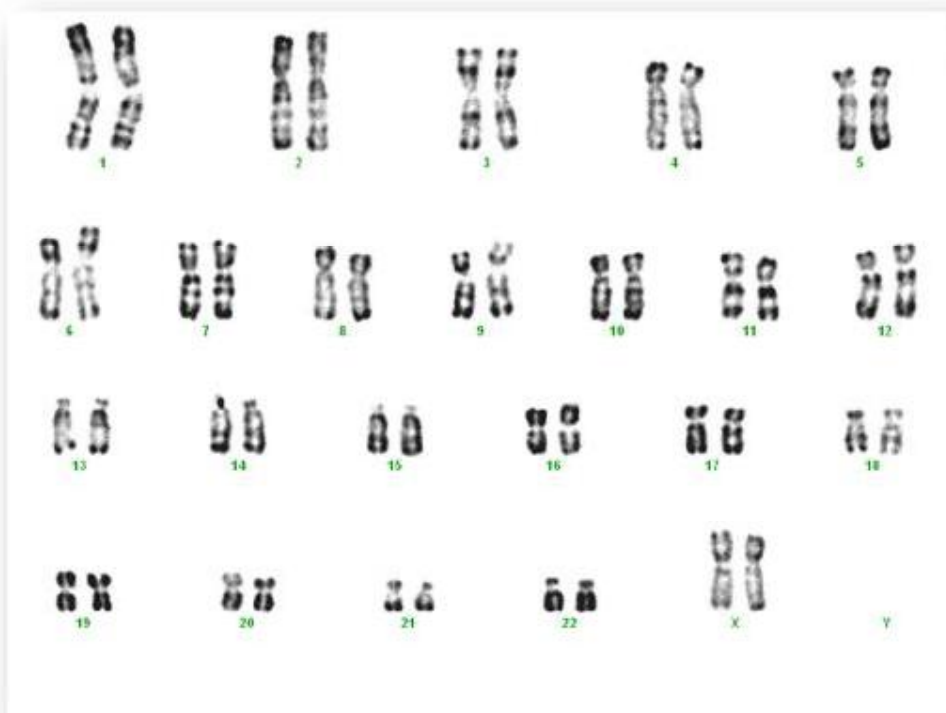
Caryotype d'un syndrome de Klinefelter + trisomie 21 (48,XXY,+21)



Caryotype d'un syndrome triple X + trisomie 18 (48,XXX,+18/47,XX,+18)



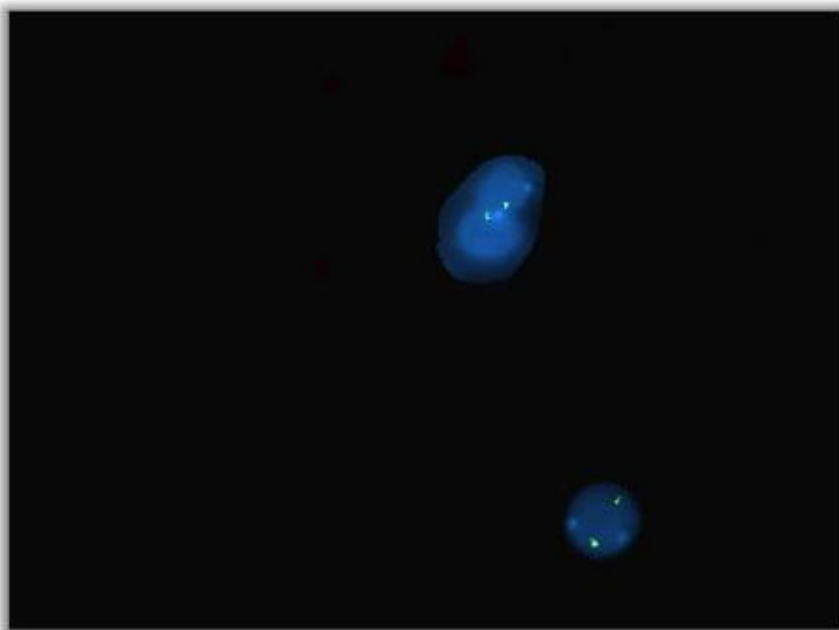
Syndrome double Y (47,XYY)



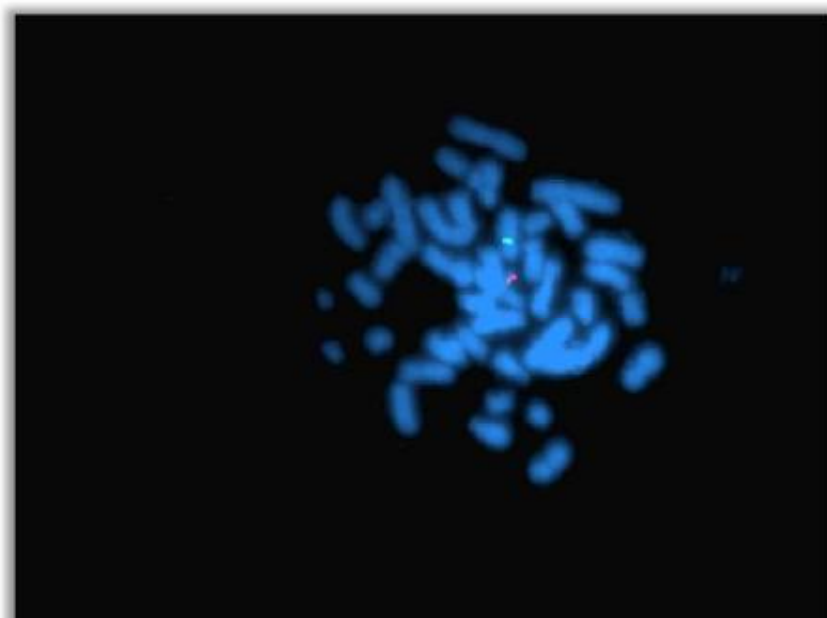
Caryotype 46,XX



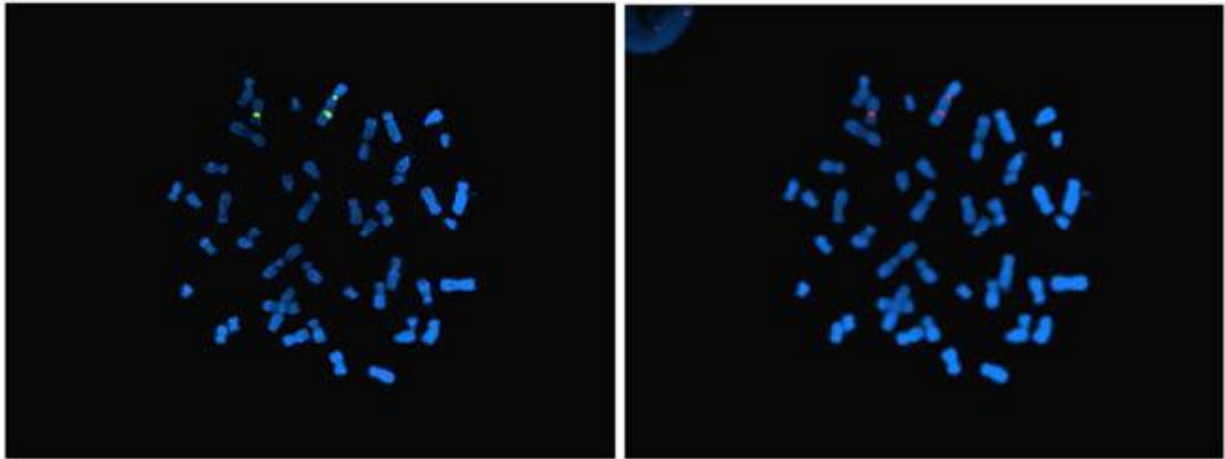
Caryotype 46,XY



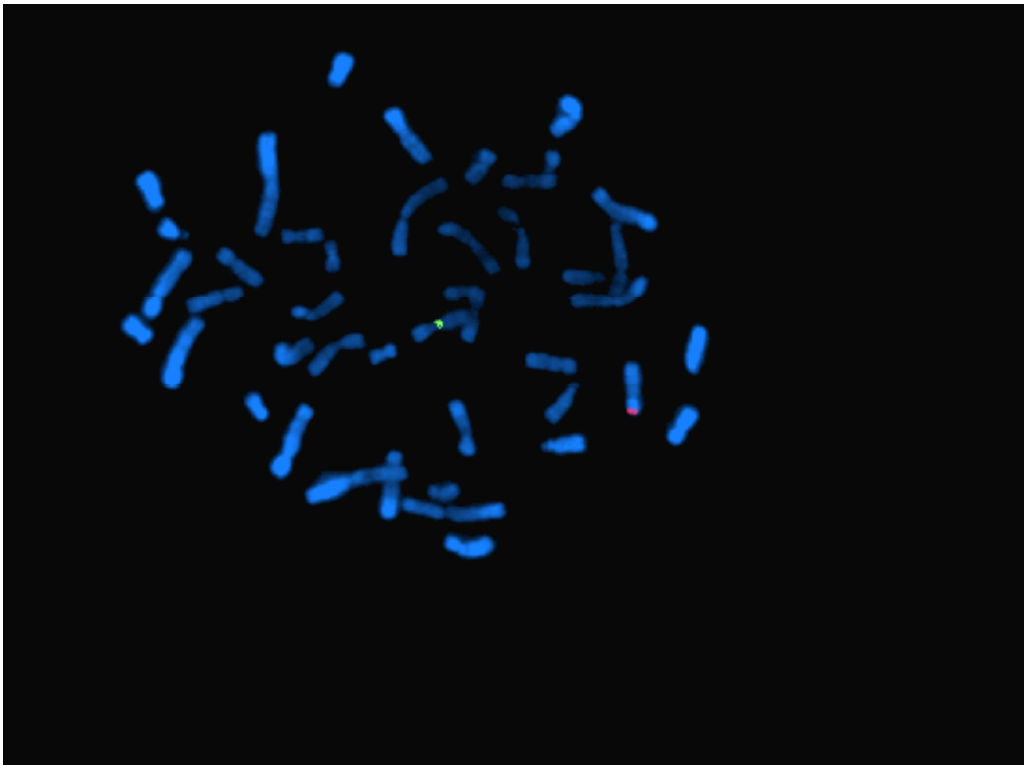
FISH d'un patient 46,XX



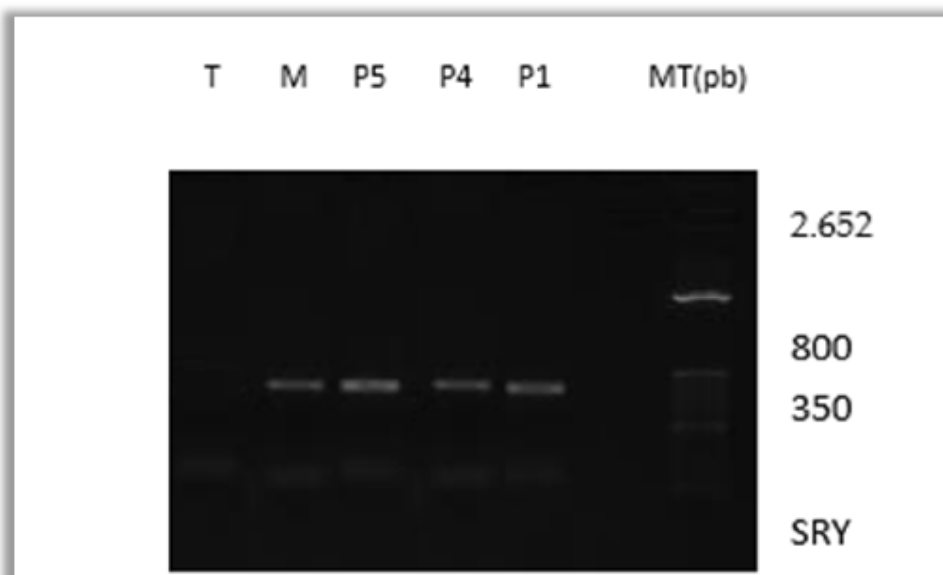
FISH d'un patient 45,XY



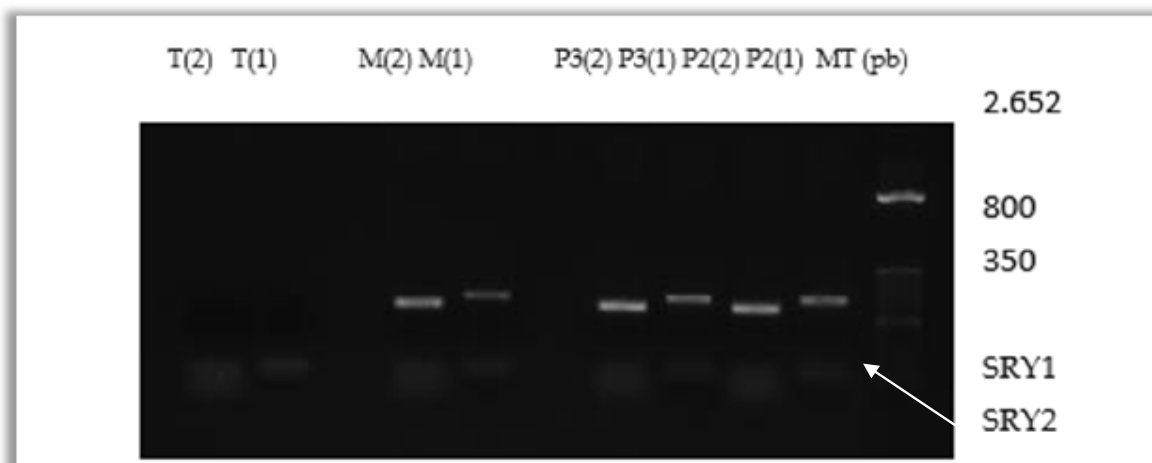
FISH d'un syndrome de Turner (46,X, der(X) t(X,X)(pter,pter))



FISH d'un syndrome de Turner (45,X avec translocation X-Y)



Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose de séquences d'ADN du gène SRY amplifié par PCR



Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose de séquences d'ADN du SRY1 et SRY2 amplifié par PCR

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Mark Woodward, Nitin Patwardhan. Disorders of sex development. PAEDIATRIC SURGERY II 28 (8) (2010) 396-401.
- [2] <http://mon.bateau.pagesperso-orange.fr/mythologie/aphrodite.htm>
- [3] EL IDRISSE.H : les aspects cytogénétique de l'ambiguïté sexuelle (à propos de 99 cas) thèse de médecine n° 218/1998.
- [4] http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/appareil_g%C3%A9nital_masculin/13292
- [5] http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/appareil_g%C3%A9nital_f%C3%A9minin/1329
- [6] www.embryology.ch/francais/ugenital/planmodgenital.html
- [7] F. Bargo, C. Morel-Bouvattier, S. Beaudoin, Ambiguïtés sexuelles. P 802 – 30.
- [8] Ferguson-Smith Ma. X-Y chromosomal interchange in the etiology of true hermaphroditism and of XX Klinefelter's syndrome. Lancet 1966 ; 2:475 – 6.
- [9] Morel Y., Michel-Calemard L., Mallet D. Anomalies génétiques du récepteur aux androgènes et ambiguïté sexuelle avec fonction testiculaire normale à la naissance. Ann. Endocrinol 66, 3 (2005) 217-224.
- [10] Ravel C., Chantot-Bastaraud S., Siffroi J.-P. Aspects moléculaires du déterminisme sexuel : régulation génique et pathologie. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 32 (2004) 584-594.
- [11] Encha-Razavi F., Escudier E. Embryologie. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Gynécologie/Obstétrique 5-001-A-50 (2010).
- [12] Jan Langman, T.-W.Sadler (traduction et adaptation française Robert Pagès). Embryologie médicale. Edition pradel, Paris (2000) p308.
- [13] Braat AK, Speksnijder JE, Zivkovic D. Germ line development in fishes (Review). Int J Dev Biol 43 (1999) 745-760.
- [14] Bendel-Stenzel M, Anderson R, Heasman J, Wylie C. The origin and migration of primordial germ cells in the mouse (Review). Semin Cell Dev Biol 4 (1998)393-400.
- [15] McLaren A. Germ cells and germ cell sex. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 350 (1995) 229-33.
- [16] Adams IR, McLaren A. Sexually dimorphic development of mouse primordial germ cells: switching from oogenesis to spermatogenesis. Development 129(2002)1155-64.
- [17] Rodolfo A. Rey, MD, PhD, Senior Researcher, Professor, Romina P. Grinspon, MD. Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development; Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism 25 (2011) 221-238.
- [18] Barriere P., Langlois M.-L., Mirallie S., Jean M. Embryologie de l'appareil génital féminin. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Gynécologie 10-A-08 (2007).
- [19] Morel Y, Mallet D, Menassa R. La différenciation sexuelle du fœtus. Med C/in Endocrinol Diabere (2006) 2-10.
- [20] Jan Langman, Sadler T.-W. Langman's Essential Medical Embryology. Lippincott Williams & Wilkins. 2004.

- [21] Jost A. Gonadal hormones in the sex differentiation of the mammalian fetus. In: Organogenesis, ed. Ursprung RLD HaH, Holt, Rinehart and Winston Inc: New York, (1965) p. 611-28.
- [22] Bouvattier C. Anomalies du développement sexuel 46,XY (anciennement pseudohérmaprodismes masculins). EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Endocrinologie-Nutrition, (2009) 10-033-B-10.
- [23] Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. Arch Anat Micr Morph Exp 36 (1947) 271-315.
- [24] Jost A. Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypophyseal hormones. Rec Prog Horm Res 8 (1953) 379-418.
- [25] Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. Arch Anat Micr Morph Exp 36 (1947) 271-315.
- [26] Robboy SJ, Bentley RC, Russell P, Anderson MC. Embryologie and disorders of sexual development. In: Pathology of female reproductive tracts. Ed. Robboy SJ, Anderson MC, and Russell P, Churchill Livingstone (2001) p. 819-60.
- [27] Kuttenn F, d'Acremont MF et Mowszowicz I. Anomalies de la différenciation sexuelle. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Endocrinologie-Nutrition, 10-033-A-10 (2003) p 26.
- [28] Ravel C., Siffroi J.-P. Anomalies de structure du chromosome Y et syndrome de Turner. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 37 (2009) 511-518.
- [29] www.wikipédia.com
- [30] Barboux S, Niaudet P, Gubler MC, Grunfeld JP, Jaubert F, Kuttenn F et al. Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. Nature Genet 17 (1997) 467-470.
- [31] Hammes A, Guo JK, Lutsch G, Leheste JR, Landrock D, Ziegler U ET al. Two splice variants of the Wilms' tumor 1 gene have distinct functions during sex determination and nephron formation. Cell 106 (2001) 319-329.
- [32] Wilhelm D & Englert C. The Wilms tumor suppressor WT1 regulates early gonad development by activation of Sf1. Genes & Development 16 (14) (2002) 1839-1851.
- [33] Karl J, Capel B. Sertoli cells of the mouse testis originate from the coelomic epithelium. Dev Biol 203 (1998) 323-333.
- [34] Royer-Pokora B, Beier M, Henzler M, Alam R, Schumacher V, Weirich A, et al. Twenty-four new cases of WTI germline mutations and review of the literature: genotype/phenotype correlations for Wilms tumor development. Am J Med Genet A 127 (2004) 249-57.
- [35] Klamt B, Koziell A, Poulat F, Wicacker P, Scambler P, Berta P, et al. Frasier syndrome is caused by defective alternative splicing of WTI leading to an altered ratio of WTI./-KTS splice isoforms. Hum Mol Genet 7 (1998) 709-14.
- [36] Birk OS, Casiano DE, Wassif CA ET al. The LIM homeobox gene Lhx9 is essential for mouse gonad formation. Nature 403 (6772) (2000) 909-913.
- [37] Tremblay J, Viger RS. GATA factors differentially activate multiple gonadal promoters through conserved GATA regulatory elements. Endocrinology 142 (2001) 977-986.

- [38] Tevosian SG, Albrecht KH, Crispino JD, Fujiwara Y, Eicher EM, Orkin SH. Gonadal differentiation, sex determination and normal Sry expression in mice require direct interaction between transcription partners GATA4 and FOG2. *Development* 129 (2002) 4627–4634.
- [39] Biason-Lauber A. Control of sex development. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 24 (2010) 163–186. [33] Jacobs PA, Ross A. Structural abnormalities of the Y chromosome in man. *Nature* 210(34) (1966) 352–354.
- [40] Jacobs PA, Ross A. Structural abnormalities of the Y chromosome in man. *Nature* 210(34) (1966) 352–354.
- [41] Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, Fellous M. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature* 348 (1990) 448–450.
- [42] Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346 (1990) 240–244.
- [43] Charles Thibault, Marie-Claire Levasseur. *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Ellipses Editions, paris, 2001, p221.
- [44] Jager RJ, Harley VR, Pfeiffer RA et al. A familial mutation in the testis-determining gene SRY shared by both sexes. *Human Genetics* 90 (4) (1992) 350–355.
- [45] Battiloro E, Angeletti B, Tozzi MC, Bruni L, Tondini S, Vignetti P, et al. A novel double nucleotide substitution in the HMG box of the SRY gene associated with Swyer syndrome. *Hum Genet* 100 (1997) 585–587.
- [46] Pivnick EK, Watchel S, Woods D, Simpson JL, Bishop CE. Mutations in the conserved domain of SRY are uncommon in XY gonadal dysgenesis. *Hum Genet* 90 (1992) 308–310.
- [47] McElreavey K, Vilain E, Abbas N, Herskowitz I, Fellous M. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci USA* 90 (1993) 3368–3372.
- [48] Tajima T, Fujieda K, Kouda N, Nakae J, Miller WL. Heterozygous mutation in the cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450 scc) gene in a patient with 45 XY sex reversal and adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 86 (2001) 3820–3825.
- [49] Ramayya MS, Zhou J, Kino T et al. Steroidogenic factor 1 messenger ribonucleic acid expression in steroidogenic and nonsteroidogenic human tissues: Northern blot and in situ hybridization studies. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82 (6) (1997) 1799–1806.
- [50] Hanley NA, Ball SG, Clement-Jones M ET al. Expression of steroidogenic factor 1 and Wilms' tumour 1 during early human gonadal development and sex determination. *Mechanisms of Development* 87 (1–2) (1999) 175–180.
- [51] Sekido R & Lovell-Badge R. Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. *Nature* 453 (7197) (2008) 930–934.
- [52] Lin L & Achermann JC. Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development. *Sexual Development* 2 (4–5) (2008) 200–209.

- [53] Biason-Laubert A & Schoenle EJ. Apparently normal ovarian differentiation in a prepubertal girl with transcriptionally inactive steroidogenic factor 1 (NR5A1/SF-1) and adrenocortical insufficiency. *American Journal of Human Genetics* 67 (6) (2000) 1563–1568.
- [54] Lourenco D, Brauner R, Lin L et al. Mutations in NR5A1 associated with ovarian insufficiency. *The New England Journal of Medicine* 360 (12) (2009) 1200–1210.
- [55] Sekido R, Bar I, Narvaez V et al. SOX9 is up regulated by the transient expression of SRY specifically in Sertoli cell precursors. *Developmental Biology* 274 (2) (2004) 271–279.
- [56] Lovell-Badge R. Sex-determining genes in mice: building pathways .Wiley, (2002).
- [57] Huang B, Wang S, Ning Y, Lamb AN, Bartley J. Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. *Am J Med Genet* 87 (1999) 349–53.
- [58] Biason-Laubert A, Konrad D, Meyer M et al. Ovaries and female phenotype in a girl with 46, XY karyotype and mutations in the CBX2 gene. *American Journal of Human Genetics* 84 (5) (2009) 658–663.
- [59] Hanley NA, Hagan DM, Clement-Jones M, Ball SG, Strachan T, Salas-Cortes L et al. SRY, SOX9, and DAX1 expression patterns during human sex determination and gonadal development. *Mech Development* 91 (2000) 403–407.
- [60] Nachtigal MW, Hirokawa Y, Enyeart-Vanhouten DL, Flanagan JN, Hammer GD, Ingraham HA. Wilms' Tumor 1 and Dax-1 modulate the orphan nuclear receptor SF-1 in sex-specific gene expression. *Cell* 93 (1998) 445–454.
- [61] Jordan BK, Mohammed M, Ching ST et al. Up-regulation of WNT-4 signaling and dosage-sensitive sex reversal in humans. *American Journal of Human Genetics* 68 (5) (2001) 1102–1109.
- [62] Crisponi L, Deiana M, Loi A ET al. The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis / ptosis / epicanthus inversus syndrome. *Nature Genetics* 27 (2) (2001) 159–166.
- [63] Cocquet J, Pailhoux E, Jaubert F et al. Evolution and expression of FOXL2. *Journal of Medical Genetics* 39 (12) (2002) 916–921.
- [64] Pisarska MD, Bae J, Klein C et al. Forkhead l2 is expressed in the ovary and represses the promoter activity of the steroidogenic acute regulatory gene. *Endocrinology* 145 (7) (2004) 3424–3433.
- [65] Pannetier M, Fabre S, Batista F et al. FOXL2 activates P450 aromatase gene transcription: towards a better characterization of the early steps of mammalian ovarian development. *Journal of Molecular Endocrinology* 36 (3) (2006) 399–413.
- [66] Mauvais-Jarvis P, Mowszowicz I, Kuttann F. Significance of 5 α -reductase activity in human sexual differentiation. In: Serio M ed. *Sexual Differentiation. Basic and clinical aspects*. New York: Raven Press (1984) 247–260.
- [67] Dreger AD, Chase C, Sousa A, Gruppuso PA, Frader J. Changing the nomenclature/taxonomy for intersex: a scientific and clinical rationale. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18 (2005) 729–33.
- [68] Houk CP, Hughes IA, Ahmed SS, Lee PA. International intersex consensus conference: special article. *Pediatrics* 118 (2006) 753–757.

- [69] Lee PA, Houk CP, Ahmed SS. Consensus statement on management of intersex disorders. *Pediatrics* 118 (2006) 488-500.
- [70] Aaronson I.A., Aaronson A.J. How should we classify intersex disorders? *Journal of Pediatric Urology* 6 (2010) 443-446.
- [71] Hughes I.A., Houk C., Ahmed S.F., Lee P.A. Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society (LWPES)/European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE) Consensus Group. Consensus statement on management of intersex disorders. *Journal of Pediatric Urology* 2 (2006) 148-162.
- [72] Barbaro M., Wedell A., Nordenström A. Disorders of sex development. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 16 (2011) 119-127.
- [73] Klinefelter HF, Reifenstein EC, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without a leydigism and increased excretion of follicle-stimulating hormone. *J Clin Endocrinol* 2 (1942) 447-461.
- [74] Briard M.-L., Morichon-Delvallez N. Anomalies chromosomiques. EMC (Elsevier SAS, Paris), Pédiatrie, 4-002-T-30 (2006).
- [75] Bauduceau B. Mayaudon H, Dupuy U et Desangles F. SYndmme de klinefelter. *Encycl Med Chir* (Editions Scientifiques médicales Elsevier SAS, Paris tour droits réservés), Endocrinologie Nutrition 10-032-E-20 (2001) 6 p.
- [76] Cabrol S. Le syndrome de turner. *Annale d'endocrinologie* 68 (2007) 2-9.
- [77] Christin-Maitre S. Le syndrome de Turner : protocole national de diagnostic et de soins. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36 (2008) 826-827.
- [78] Grumbach MM, Conte FA. Disorders of sex differentiation. In: Wilson JA, Foster DW eds. *Williams textbook of endocrinology*, 9e ed. Philadelphia: WB Saunders (1998) 960-985.
- [79] Pasquino AM, Passeri F. Pucarelli I. Segni M, ET al. Spontaneous pubertal development in Turner's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 82 (1997) 1810-1813.
- [80] Massa G, Heinrich C. Verlinde S, Thomas M, et al. Late or delayed induced or spontaneous puberty in girls with Turner syndrome treated with growth hormones does not affect final height. *J Clin Endocrinol Metab* 88 (2003) 4168-4174.
- [81] Hovatta O. Hreinsson J, Fridstrom M, Borgstrom B. *Int Congr Series* 1298 (2006) 185-189.
- [82] Gravholt CH, Fedder J. Naeraa RW. Muller J. Occurrence of gonado-blastoma in females with Turner syndrome and Y chromosome material: a population study. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (2000) 3199-3202.
- [83] Pienkowski C., Menendez M., Cartault A., Lorenzini F., Lesourd F., Tauber M. Syndrome de Turner et procreation. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36 (2008) 1030-1034.
- [84] www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=1772
- [85] www.orpha.net/
- [86] LinaMichala, MRCOG, Consultant Gynaecologist a, Sarah M Creighton, MD, FRCOG, Consultant Gynaecologist. The XY female. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 24 (2010) 139-148.

- [87] Veitia R, Ion A, Barbaux S et al. Mutations and sequence variants in the testis-determining region of the Y chromosome in individuals with a 46, XY female phenotype. *Human Genetics* 99 (1997) 648–652.
- [88] Fallat ME & Donahoe PK. Intersex genetic anomalies with malignant potential. *Current Opinion in Pediatrics* 18 (2006) 305–311.
- [89] Fukami M, Wada Y, Miyabayashi K et al. CXorf6 is a causative gene for hypospadias. *Nature Genetics* 38 (2006) 1369–1371
- [90] Bardoni B, Zanaria E, Guioli S et al. A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nature Genetics* 7 (1994) 497–501.
- [91] Rey RA, Belville C, Nihoul-Fékété C et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84 (1999) 627–631.
- [92] Kohler B, Lin L, Mazen I et al. The spectrum of phenotypes associated with mutations in steroidogenic factor 1 (SF-1, NR5A1, Ad4BP) includes severe penoscrotal hypospadias in 46, XY males without adrenal insufficiency. *European Journal of Endocrinology* 161 (2009) 237–242.
- [93] Josso N & Briard ML. Embryonic testicular regression syndrome: variable phenotypic expression in siblings. *J Pediatr* 97(2) (1980) 200–204.
- [94] Cussenot O., Fournier G. Progès en urologie. Rapport du congrès 2000 de l'association Française d'Urologie. Ed. Vingt ET UN. Paris 10 (2000) 970-971.
- [95] Bose HS, Sugawara T, Strauss 3rd JF, Miller WL. The pathophysiology and genetics of congenital lipid adrenal hyperplasia. *N Engl J Med* 335 (1996) 1870-1878.
- [96] Bongiovanni AM, Kellenbenz G. The adrenogenital syndrome with deficiency of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Clin Invest* 41 (1962) 2086-2092.
- [97] Krone N, Dhir V, Ivison HE, Arlt W. Congenital adrenal hyperplasia and P450 oxidoreductase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* 66 (2007) 162-172.
- [98] Boehmer ALM, Brinkmann AO, Sandkuijl LA, Halley DJJ, Niermeijer MF, Andersson S et al. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency : diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and world wide distribution of ancient and de novo mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 84 (1999) 4713-4721.
- [99] Mendonca B, Inacio M, Arnhold P, Costa MF, Bloise W, Martin RM et al. Male pseudohermaphroditism due to 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency : diagnosis, psychological evaluation, and management. *Medicine* 79 (2000) 299-309.
- [100] Mograbi N, Andersson S. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases: physiological roles in health and disease. *TEM* 9 (1998) 265-270.
- [101] Andersson S, Geissler WM, Wu L, Davis DL, Grumbach MM, New MI et al. Molecular genetics and pathophysiology of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 81 (1996) 130-136.
- [102] Rossler A. Steroid 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *J Steroid Biochem Molec Biol* 43 (1992) 989-1002.

- [103] Rossler A, Belanger A, Labrie F. Mechanisms of androgen production in male pseudohermaphroditism due to 17 β hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 75 (1992) 773-778.
- [104] Prader A, Guérin HP. Das syndrom des pseudohermaphroditismus masculinus bei kongenitaler Nebennierenrinden-Hyperplasia ohne Androgenüberproduktion (adrenaler pseudohermaphroditismus masculinus). *Helv Paediat Acta* 10 (1955) 397-412.
- [105] Lam CW, Arlt W, Chan CK, Honour JW, Lin CJ, Tong SF et al. Mutation of proline 409 to arginine in the meander region of cytochrome P450c17 causes severe 17 α hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab* 72 (2001) 254-259.
- [106] Hughes IA, Deeb A. Androgen resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 20 (2006) 577-598.
- [107] Hughes IA. A novel explanation for resistance to androgens. *N Engl J Med* 343 (2000) 881-882.
- [108] Josso N, Belville C, di Clemente N & Picard JY. AMH and AMH receptor defects in persistent Mullerian duct syndrome. *Human Reproduction Update* 11 (2005) 351-356.
- [109] Kubini K, Zachmann M, Albers N et al. Basal inhibin B and the testosterone response to human chorionic gonadotropin correlate in prepubertal boys. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85 (2000) 134-138.
- [110] Huhtaniemi I, Alevizaki M. Gonadotrophin resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 20 (2006) 561-576.
- [111] McElreavey K, Vilain E, Abbas N, Herskowitz I, Fellous M et al. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci USA* 90 (1993) 3368-3372.
- [112] Huang B, Wang S, Ning Y, Lamb AN, Bartley J. Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. *Am J Med Genet* 87 (1999) 349-353.
- [113] Parma P, Radi O, Vidal V, et al. R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. *Nat Genet* 38 (2006) 1304-1309.
- [114] Walker AM, Walker JL, Adams S, Shi E, McGlynn M, Verge CF. True hermaphroditism. *J Paediatr Child Health* 36 (2000) 69-73.
- [115] Bargey F, Bouvattier C et Lefèvre H. Ambiguïtés sexuelles. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Pédiatrie*, 4-107-B-50 (2000) 8 p.
- [116] Miller WL. Genetics, diagnosis and management of 21 hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 78 (1994) 241-246.
- [117] White PC, Curnow KM, Pascoe L. Disorders of 11 α -hydroxylase isoenzymes. *Endocr Rev* 15 (1994) 421-439.
- [118] Simard J, Rheaume E, Sanchez R et al. Molecular basis of congenital adrenal hyperplasia due to 3 α -HSD deficiency. *Mol Endocrinol* 7 (1993) 716-728.
- [119] Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S et al. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev* 15 (1994) 342-355.

- [120] Deladoey J, Fluck C, Bex M, Yoshimura N, Harada N, Mullis PE. Aromatase deficiency caused by a novel P450 arom gene mutation: impact of absent estrogen production on serum gonadotropin concentration in a boy. *J Clin Endocrinol Metab* 84 (1999) 4050-4054.
- [121] Grumbach MM, Auchus RJ. Estrogen : consequences and implications of human mutations in synthesis and action. *J Clin Endocrinol Metab* 84 (1999) 4677-4694.
- [122] Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiologic consequences of aromatase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 72 (1991) 560-566.
- [123] Mullis PE, Yoshimura N, Kuhlmann B, Lippuner K, Jaeger P, Harada H. Aromatase deficiency in a female who is compound heterozygote for two new point mutations in the P450arom gene : impact of estrogens on hypergonadotropic hypogonadism, multicystic ovaries, and bone densitometry in childhood. *J Clin Endocrinol Metab* 82 (1997) 1739-1745.
- [124] BARGYF. Et COUPRIEC. : Les ambiguïtés sexuelles. *Encycl Méd.chir. (Paris-France), pédiatrie*, 4107 B50, 9-1989, 8 P.
- [125] EL HOUSSEIN HICHAM: Actualité de prise en charge en matière de dysgénésie gonadique. Thèse de médecine N° 18/2011
- [126] Michael Hanschild, Gérald Theintz, Lausanne: Le développement de la fonction testiculaire. Vol.19 N°3. 2008.
- [127] LINQUETTE M. Et SAVARY J.-B : Généralités sur les états intersexués. *Encycl.méd.chir. paris, Glandes*, 10033A-I0, 1-1980.
- [128] COLACURA.N, CARDON.A, DE FRANCISCIS.P, LANDOL.L.E, VENDITTO.H, and SINISI AA: Laparoscopic-hysterectomy in a case of male pseudohermaphrodism with persistent müllerian duct derivatives. *Hum. Reprod.* 1997 Feb, 12(2) ,272-4.
- [129] FOREST.MG, E de PERETTI te A CAMPO PAYSAA : Cas familial de pseudohermaphrodisme masculin par déficit en 17 α -hydroxylase. *Annales d'endocrinologie (Paris)* 1979 : 40,545-546
- [130] HIORT.O, WILLENBRING.H, ALBERS.N, HECKER.W, ENGERT.J, DIBBERLT.L, SINNECKER.CH: Molecular genetic analysis and human chorionic gonadotrophin stimulation tests in the diagnostics of prepubertal patients with partial 5 α reductase deficiency. *Eur J.pediatr* 1996, Jun, 155 (6), 445-51.
- [131] A. Cheikhelard, D. Luton, P. Philippe-Chomette, J. Léger, E. Vuillard, C. Garel, M. : Le diagnostic prénatal des ambiguïtés sexuelles est-il fiable ? Hôpital Robert Debré, Paris
- [132] QASIM SM.SACHDEV: Laparoscopic bilateral gonadectomy in a phenotypic woman with a form of Leydig cell hypoplasia. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1996;3; 313-316
- [133] Bailez M.M., Dibenedetto M., Elmo G.: Laparoscopic sigmoid vaginal replacement. San Francisco: Presented at American Academy of Pediatric Section on Urology, 2001.
- [134] Ch Sultan, S Lumbroso. Exploration d'une ambiguïté sexuelle néonatale. *s.l.: Immunoanal Biol Spec*, 2001, Vol. 16. 110-112
- [135] Raphaël Rappaport, Maguelone G. Forest: Disorders of sexual differentiation. *Pediatric Endocrinology* 1993, 307-331.

- [136] QUIGLEY CA. DE BELLIS A. MARSCHKE KB. EL AWADY MK. WILSON EM. FRENCH FS: Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives" Endocr Rev 1995; 16: 271-321.
- [137] ABBADHIND : Hermaphrodisme vrai et dysgénésie gonadique mixte. Thèse de médecine N°345/2000.
- [138] SEKKAT REDA SALIMI : Troubles de réceptivité périphérique aux androgènes à propos de 4 cas. Thèse de médecine n ° 14/2000.
- [139] Rink, Elizabeth B. Yerkes and Richard C: Chapter 36: Surgical Management of Female Genital Anomalies and Disorders of Sexual Development. Richard C. Rink, Pierre D. E. Mouriquand John P. Gearhart. Paediatric urology. s.l.: Saunders Elsevier, 2001.
- [140] KNIGHT H.M.L., PHILLIPS N.J., and MOURIQUAND P.D.E: Female hypospadias: a case report s.l.: J. Pediatr. Surg., 1995, Vol. 30. 1738-1740.
- [141] HENSLE T.W., REILEY: Vaginal replacement in children and young adults. s.l.: J. Urol., 1998, Vol. 159. 1035-1038.
- [142] TILLEM S.M., STOCK J.A., and HANNA M.K: Vaginal construction in children. s.l.: J. Urol., 1998, Vol. 160. 186-190.
- [143] WESLEY J.R., CORAN A.G: Intestinal vaginoplasty for congenital absence of vagina. s.l.: J. Pediatr. Surg., 1992, Vol. 27. 885-889.
- [144] EL IDRISSE HICHAM : Les Aspects cytogénétiques de l'ambiguïté sexuelle à propos de 99 cas. Thèse de médecine no218/1998.
- [145] F.Poulat P. BERTA : Détermination du sexe et chromosome Y. Annales d'endocrinologie (PARIS) 1991, 52,410-414
- [146] Kassis M., Galacteros F., Ferec C., Delpech M. Place du conseil génétique en médecine fœtale Role of the genetic advice in foetal medicine. EMC-Pédiatrie 2 (2005) 116-150.
- [147] Wiener L, Mellins CA, Marhefka S, Battles HB. Disclosure of a HIV diagnosis to children: History, current research, and future directions. J DevBehav Pediatr 2007; 28:155-66.
- [148] Carmichael P, Ransley P. Telling children about a physical intersex condition. Dialog Pediatr Urol 2002; 25:7-8.
- [149] Money J. Sex errors of the body and related syndromes. A guide to counseling children, adolescents, and their families. Second edition Baltimore (MD): Paul H. Brookes; 1994.
- [150] Consortium on the management of disorders of sex differentiation. Clinical guidelines for the management of disorders of sex differentiation in childhood. 2006a; retrieved 7-16-07 from www.dsdguidelines.org.
- [151] Consortium on the management of disorders of sex differentiation. Handbook for parents. 2006b; retrieved 7-16-07 from www.dsdguidelines.org.
- [152] Rabah M. Shawky, Profile of disorders of sexual differentiation in the Northeast region of Cairo, Egypt. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics (2012)13, 197-205.
- [153] Johannes Nielsen and Mogens Wohler, Chromosome abnormalities found among 34910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark.

- [154] N. MACLEAN, SEX-CHROMOSOME ABNORMALITIES IN NEWBORN BABIES M.B. Edin., M.R.C.P.E. OF THE PATHOLOGY DEPARTMENT, WESTERN GENERAL HOSPITAL, EDINBURGH.
- [155] SIDIBE AT, LES AMBIGUÏTES SEXUELLES EN MEDECINE INTERNE DE L'HOPITAL DU POINT G BAMAKO – MALI en 2005.
- [156] Luigi Laino, Disorders of sex development: a genetic study of patients in a multidisciplinary clinic, Endocrine Connections, 2013.
- [157] Kannan TP, Azman BZ, Ahmad Tarmizi AB, Suhaida MA, Siti Mariam I, Ravindran A, Zilfalil BA. Syndrome diagnosed in north eastern Malaysia. Singapore Med J 2008 ; 49(5) :400.
- [158] HICHAM SALLAHI : Les ambiguïtés sexuelles, à propos de 18 cas. Thèse de médecine N° 413/2003.
- [159] Joseph E Raine, Malcolm D C Donaldson, John W Gregory, Martin O Savage, Raymond L Hintz: Practical endocrinology and diabetes in children (second edition).
- [160] FTOUHI.B, M. KAMOUN, M.SANDI, B.SAADA, A.MEKAOUER, S. TAKTAK: Les pseudohermaphrodismes masculins à propos d'une série de 29 cas Maghreb Médical-N°337-JUIN 1999.
- [161] AGUILAR MARTINEZ.P, MONTOYA.F, LAFFARGUE.P, VIALA.J.L : Pseudohermaphrodismes masculins : facteurs anténatals. J.Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. 1990, 19, 285-289.
- [162] ABBADI FATIMA : Pseudohennaphrodismes masculins à propos de 27 cas. Thèse de médecine N°360.
- [163] F. AMRI, M. TROUDI, S. FEJJI, H. KHARRAT, A. ZBIDI, B. CHAOUACHI, A. NOURI: Hyperplasie congénitale des surrénales: Aspects épidémiologiques et évolutifs à propos de trente-six observations. Revue Maghrébine de pédiatrie, Vol VII N°5 - sep-oct 1997
- [164] www.embryology.ch/francais/ugenital/planmodgenital.html.
- [165] Jan Langman, T.-W.Sadler. Langman's Essential Medical Embryology. Lippincott Williams & Wilkins 2004.
- [166] Holger Scholz and Karin M. Kirschner. A Role for the Wilms' Tumor Protein WT1 in Organ Development. Physiology, Vol. 20, No. 1, 2005, 54-59.
- [167] the Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism March 1, 2007 vol. 92 no. 3 991-999.
- [168] Pascal Philibert, Anna Biason-Laubert. Identification and Functional Analysis of a New WNT4 Gene Mutation among 28 Adolescent Girls with Primary Amenorrhea and Müllerian Duct Abnormalities: A French Collaborative Study. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism March 1, 2008 vol. 93 no. 3 895-900
- [169] Biason-Laubert A, Control of sex development, Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism 24 (2010) 163-186.