

# ETUDE CYTOGENETIQUE ET MOLECULAIRE D'UN CAS D'INTERSEXUALITE CHEZ LE CHIEN ET LE CHEVAL

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2001  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Sandrine, Christine, Renée PAGET**  
Née, le 26 mars 1976 à LAVELANET (Ariège)

---

Directeur de thèse : **M. le Docteur Alain DUCOS**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Henri DABERNAT**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :  
**M. Alain DUCOS**  
**M. Xavier BERTHELOT**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ETUDE CYTOGENETIQUE ET MOLECULAIRE  
D'UN CAS D'INTERSEXUALITE CHEZ LE CHIEN  
ET LE CHEVAL. 1  
6608-2001



Partie 1/2

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur par intérim	: M.	<b>G. BONNES</b>
Directeurs honoraires.....	: M.	<b>R. FLORIO</b>
	M.	<b>R. LAUTIE</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
Professeurs honoraires.....	: M.	<b>A. BRIZARD</b>
	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAUX</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **CAZIEUX André, (sur nombre)** *Pathologie chirurgicale*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **GUEIFI Jean-François**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **CHANTAL Jean**, *Pathologie infectieuse*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **EECKHOUTTE Michel**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **GRIESS Daniel**, *Alimentation*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEUR ASSOCIE**

- M. **YOUSSEF Youssef**, *Clinique équine*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**MAITRES DE CONFERENCES 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- M. **ASIMUS Erick**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS- BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mlle **GAYRARD Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
M. **VALARCHER Jean-François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**MAITRES DE CONFERENCES 2<sup>e</sup> CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mlle **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du Bétail*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mlle **HAY Magali**, *Zootechne*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE  
CONTRACTUELS**

- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*  
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mlle **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*

A Monsieur le Professeur Dabernat,  
Professeur des Universités .  
Praticien Hospitalier  
Microbiologie

Qui me fait l'honneur de juger ce travail et d'accepter la présidence du jury de  
cette thèse. Recevez mes hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Alain Ducos,  
Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Zootechnie

Qui a eu l'amabilité de me confier ce travail, de m'accorder son aide et sa  
confiance. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Xavier Berthelot,  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Pathologie de la Reproduction

Qui m'a apporté son aide et qui a accepté de participer au jury de cette thèse.  
Recevez mes sincères remerciements.

## Remerciements

Ce travail a mobilisé de nombreuses personnes et je tiens à adresser mes sincères remerciements :

- A Mme Patricia Ronsin, Chargée de Consultation aux cliniques de Pathologie de la Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, pour m'avoir confié des cas et m'avoir fait confiance,
- A M. Roland Darré, Professeur de Productions Animales à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui a accepté ma présence au laboratoire UMR INRA-ENVT de Cytogénétique des Populations animales et m'a permis de réaliser ce travail,
- Au Professeur Youssef Tamzali qui m'a fait découvrir et apprécier la Médecine Equine et qui m'a aidée dans la réalisation de cette thèse,
- A Melle Marie-Christine Cadiergues, Chargée de Consultation aux cliniques de Parasitologie et de Dermatologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui m'a beaucoup encouragée et qui m'a aidée pour l'étude des chiens témoins,
- A M. Alain Pinton pour m'avoir si généreusement communiqué sa passion des chromosomes, pour avoir toujours su me motiver lorsque l'ADN me mettait les nerfs en pelote, pour sa patience et sa gentillesse,
- A Mme Hélène Berland qui m'a toujours fait confiance et m'a prodigué ses conseils,
- A M. Laurent Marache et Melle Sandrine Fétis, assistants en Médecine équine, qui ont permis l'étude des chevaux témoins,
- A Mme Aafke Darré pour toute son aide,
- A Mme Nathalie Prono, pour sa bonne humeur,
- A Melle Nathalie Bonnet, Mme Corinne Brun-Baronnat et Melle Anne Séguéla qui ont participé à l'étude des cas au sein du laboratoire de Cytogénétique des Populations animales de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
- A Mme Isabelle Letron-Raymond, Maître de Conférence, et l'ensemble du personnel du service d'Anatomie Pathologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse pour avoir permis la réalisation des études histologiques,
- A M. Dominique Bergonier, de l'unité de Pathologie de la Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui m'a apporté son aide,
- A Melle Anne Rossignol et Melle Rachel Bachellerie, assistantes en Biologie Clinique à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui ont patiemment réalisé les hémogrammes des animaux que j'ai étudiés,
- Aux assistants de l'unité de Chirurgie des Carnivores Domestiques de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui ont facilité le diagnostic de certains cas,
- A l'ensemble des vétérinaires praticiens qui ont enrichi le nombre des cas étudiés,
- A Mme Danielle Guiraud qui m'a soutenue et m'a apporté son amitié depuis bien des années,
- A l'ensemble du personnel de la Bibliothèque de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, pour sa patience, son dévouement,
- A Imax, pour ces 6 mois de bonheur, et à ses copains les chevaux de travaux pratiques de la Clinique Equine,
- A Indra et aux chiens du service de Parasitologie,
- A Minouche pour sa patience et pour tous les cours qu'elle a « révisés » à sa façon,
- A Naïva pour sa participation,
- A Réglisse et Menthe. A Cachou, qui, avec ses deux petits bouts, a grignoté bien des cours mais a toujours eu la gentillesse de respecter mes notes concernant ce travail.

*A mes parents qui ont toujours su me faire confiance  
et m'ont toujours soutenue*

*A Mamie*

*A Marraine Christine et Tonton Roger*

*A ma famille*

*A Julie, Nathalie, Magali et Olivier*

*Au Pitou*

*A Carine*

*A Mikaël*

*A Jean.*

*A Alain*



# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIÈRES</b>	<b>11</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>21</b>
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>25</b>
<b>I. DETERMINISME DU SEXE CHEZ LES MAMMIFERES ET ANOMALIES DU DEVELOPPEMENT SEXUEL</b>	<b>25</b>
I.1. Différenciation des sexes mâle et femelle	27
I.1.1. Mise en place des cellules germinales et formation des gonades	27
I.1.1.a. Etape indifférenciée	27
I.1.1.b. Différenciation des gonades	27
I.1.1.b.1. Différenciation en testicules	27
I.1.1.b.2. Différenciation en ovaires	29
I.1.2. Différenciation des tractus génitaux	29
I.1.2.a. Evolution de l'appareil urinaire	29
I.1.2.b. Différenciation du tractus génital mâle	29
I.1.2.c. Différenciation du tractus génital femelle	31
I.1.3. Différenciation de l'appareil génital externe	31
I.1.3.a. Stade indifférencié	31
I.1.3.b. Chez le mâle	31
I.1.3.c. Chez la femelle	33
I.1.4. Migration des gonades	33
I.1.4.a. Migration des testicules	33
I.1.4.b. Migration des ovaires	33
I.1.5. Maturation de l'appareil génital et mise en place des caractères sexuels secondaires	34
I.2. Déterminisme du sexe	34
I.2.1. Déterminisme primaire	35
I.2.1.a. Sexe chromosomique et rôle de la fécondation	35
I.2.1.b. Etude du chromosome Y et recherche du facteur masculinisant	35
I.2.1.c. Rôle du gène SRY et mécanisme d'action général	39
I.2.1.d. Le SRY ne fait qu'induire les mécanismes de différenciation	39
I.2.1.e. Autres gènes impliqués dans la différenciation	41
I.2.1.e.1. Gène porté par le chromosome X	41
I.2.1.e.2. Gènes portés par les autosomes	41
I.2.2. Déterminisme secondaire	45
I.2.2.a. Mise en évidence du rôle des hormones	45
I.2.2.b. Testostérone et dihydrotestostérone	47
I.2.2.c. Hormone anti-müllérienne	49
I.2.2.d. Développement des voies génitales femelles	51
I.3. Anomalies du développement sexuel des Mammifères	52

I.3.1. Les manifestations cliniques rencontrées lors d'anomalies du développement	52
I.3.1.a. Cas de l'hypogonadisme	52
I.3.1.b. Les animaux intersexués	52
I.3.1.b.1. L'hermaphrodisme vrai	53
⇨ Gonades observées chez les hermaphrodites	53
⇨ Phénotype des hermaphrodites vrais	53
⇨ L'hermaphrodisme et la fonction de reproduction	54
I.3.1.b.2. Pseudo-hermaphrodisme mâle	54
⇨ Gonades observées chez les pseudo-hermaphrodites mâles	54
⇨ Appareil génital des pseudo-hermaphrodites mâles	55
I.3.1.b.3. Pseudo-hermaphrodisme femelle	56
⇨ Ovaires et appareil génital interne des pseudo-hermaphrodites femelles	56
⇨ Phénotype des pseudo-hermaphrodites femelles	56
I.3.2. Etiologie génétique des anomalies du développement sexuel des mammifères	57
I.3.2.a. Aneuploïdie des chromosomes sexuels et leurs mosaïques	57
I.3.2.a.1. Caryotype XXY (Syndrome de Klinefelter) et ses formes dérivées	59
⇨ Le Syndrome de Klinefelter et hypogonadisme	59
⇨ Caryotype XXY (ou dérivés) et pseudo-hermaphrodisme mâle	60
⇨ Hermaphrodisme	60
⇨ Mosaïques XX/XXY ou X0/XX/XXY	60
⇨ Mosaïque XY/XXY ou X0/XY/XXY	61
⇨ Autres mosaïques comportant une lignée cellulaire XXY	61
I.3.2.a.2. Caryotype XYY	62
⇨ Hermaphrodisme et mosaïque X0/XYY	62
⇨ Pseudo-hermaphrodisme mâle et mosaïque X0/XYY	62
I.3.2.a.3. Trisomie X	62
⇨ Trisomie X au sens strict	62
⇨ Mosaïque incluant une population cellulaire XXX	63
I.3.2.a.4. Caryotype X0	63
⇨ Syndrome de Turner au sens strict : caryotype X0 et hypogonadisme	63
⇨ Mosaïques incluant une population de cellules X0	65
I.3.2.a.5. Cas d'un caryotype aberrant X0/XX/XXX/XXY/XXXY/XXYY	67
I.3.2.b. Caryotype équilibré ne comportant qu'une lignée cellulaire	67
I.3.2.b.1. Caryotype XX	67
⇨ Caryotype XX et présence de séquences du chromosome Y	67
⇨ Caryotype XX et absence de séquences du chromosome Y	69
I.3.2.b.2. Caryotype XY	72
⇨ Caryotype XY et présence de séquences du chromosome Y	72
⇨ Caryotype XY et absence de séquences du chromosome Y	77
I.3.2.c. Caryotype équilibré comportant deux lignées cellulaires	79
I.4. Intersexualité chez le chien et le cheval	84
I.4.1. Intersexualité dans l'espèce canine	84
I.4.1.a. Hermaphrodisme vrai	89
I.4.1.a.1. Phénotype des chiens hermaphrodites vrais	89
I.4.1.a.2. Pathologies associées à l'intersexualité	89
I.4.1.a.3. Appareil génital interne des chiens hermaphrodites	89
I.4.1.a.4. Caryotype des chiens hermaphrodites vrais	90
I.4.1.a.5. « Effet » de la race	90
I.4.1.b. Pseudo-hermaphrodisme mâle	90
I.4.1.b.1. Phénotype des chiens pseudo-hermaphrodites mâles	90

I.4.1.b.2. Pathologies associées à l'intersexualité tubulaire mâle	91
I.4.1.b.3. Appareil génital interne des chiens pseudo-hermaphrodites mâles	91
I.4.1.b.4. Caryotype des chiens pseudo-hermaphrodites mâles	93
I.4.1.b.5. Influence de la race	93
I.4.1.c. Pseudo-hermaphrodisme femelle	93
I.4.1.c.1. Phénotype des chiens pseudo-hermaphrodites femelles	93
I.4.1.c.2. Pathologies associées au pseudo-hermaphrodisme femelle	95
I.4.1.c.3. Appareil génital interne	95
I.4.1.c.4. Caryotype des chiens pseudo-hermaphrodites femelles	95
I.4.2. Intersexualité dans l'espèce équine	97
I.4.2.a. Hermaphrodisme vrai	99
I.4.2.a.1. Phénotype des chevaux hermaphrodites vrais	99
I.4.2.a.2. Appareil génital interne	99
I.4.2.a.3. Caryotype des chevaux hermaphrodites	99
I.4.2.b. Pseudo-hermaphrodisme mâle	101
I.4.2.b.1. Phénotype des chevaux pseudo-hermaphrodites mâles	101
I.4.2.b.2. Appareil génital interne	101
I.4.2.b.3. Caryotype des pseudo-hermaphrodites mâles dans l'espèce équine	101
I.4.2.c. Pseudo-hermaphrodisme femelle	103
I.4.2.c.1. Phénotype des chiens pseudo-hermaphrodites femelles	103
I.4.2.c.2. Appareil génital interne	103
I.4.2.c.3. Caryotype des pseudo-hermaphrodites femelles	103
<b>II. Les outils d'investigation des états inter-sexués chez les animaux domestiques</b>	<b>106</b>
II.1. Rôle de l'examen clinique et de l'étude histologique	106
II.1.1. Examen clinique	107
II.1.1.a. Individu de phénotype sexuel anormal	107
II.1.1.b. Animal de phénotype sexuel normal	107
II.1.1.b.1. Diagnostic d'une pathologie révélatrice de l'intersexualité	107
II.1.1.b.2. Découverte lors de chirurgie de convenance	109
II.1.2. Rôle de l'histologie	109
II.2. Utilisation de la Cytogénétique	109
II.2.1. Place de la Cytogénétique dans le diagnostic	109
II.2.2. Limites de l'étude Cytogénétique	110
II.3. Importance croissante de la Biologie Moléculaire	110
II.3.1. Intérêts	110
II.3.2. Limites de la PCR	111
<b>PARTIE EXPÉRIMENTALE</b>	<b>113</b>
<b>I. Introduction</b>	<b>113</b>
<b>II. Etude d'un cas d'animal intersexué dans l'espèce canine</b>	<b>113</b>
II.1. Introduction	113
II.2. Matériel et méthodes	115
II.3. Résultats	117
II.3.1. Organes mis en évidence lors de la chirurgie :	117
II.3.2. Résultat de l'analyse histologique :	118
II.3.3. Etude cytogénétique :	118
II.3.4. Résultats de la PCR :	118

II.4. Discussion	118
<b>III. Etude d'un état intersexué dans l'espèce équine</b>	<b>123</b>
III.1. Introduction	123
III.2. Matériel et méthodes	123
III.3. Résultats	125
III.4. Discussion	125
III.5. Références	127
<b>CONCLUSION</b>	<b>129</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>131</b>
<b>Annexe 1 : la méiose chez les mammifères</b>	<b>132</b>
<b>Annexe 2 : développement de l'ovule humain</b>	<b>133</b>
<b>Annexe 3 : hermaphrodisme vrai dans l'espèce canine</b>	<b>134</b>
<b>Annexe 4 : pseudo-hermaphrodisme mâle dans l'espèce canine</b>	<b>138</b>
<b>Annexe 5 : pseudo-hermaphrodisme femelle dans l'espèce canine</b>	<b>145</b>
<b>Annexe 6 : hermaphrodisme vrai dans l'espèce équine</b>	<b>148</b>
<b>Annexe 7 : pseudo-hermaphrodisme mâle dans l'espèce équine</b>	<b>150</b>
<b>Annexe 8 : pseudo-hermaphrodisme femelle dans l'espèce équine</b>	<b>154</b>
<b>Annexe 9 : Matériel et méthodes</b>	<b>157</b>
I.1. Matériel et méthodes utilisés pour l'étude cytogénétique des cas	157
I.1.1. Cultures de lymphocytes	157
I.1.1.a. Mise en culture des lymphocytes	157
I.1.1.b. Traitement des cultures de sang	159
I.1.1.b.1. Arrêt des divisions cellulaires	159
I.1.1.b.2. Choc hypotonique	159
I.1.1.b.3. Fixation	159
I.1.2. Cultures cellulaires de fibroblastes	161
I.1.2.a. Mise en culture des fibroblastes : cultures primaires	161
I.1.2.a.1. Méthode de la digestion enzymatique	161
e <sup>7</sup> Prélèvement de l'échantillon	161
e <sup>7</sup> Mise en culture proprement dite	161
e <sup>7</sup> Maintien des cultures cellulaires et adaptation du milieu en fonction de l'âge de la culture	162
I.1.2.a.2. Méthode des explants	163
I.1.2.b. Morphologie des fibroblastes en culture	163
I.1.2.c. Conservation des cultures de fibroblastes	165
I.1.2.c.1. Cryopréservation des cultures de fibroblastes (Adolphe, 1986)	165
e <sup>7</sup> Etapes préalables: détachement des fibroblastes	165
e <sup>7</sup> Protocole de congélation des fibroblastes	165
I.1.2.c.2. Congélation des explants	165

I.1.2.d. Décongélation de lignées cellulaires	165
I.1.2.e. Utilisation des cultures de fibroblastes pour l'obtention de chromosomes	166
I.1.2.e.1. Synchronisation des cultures de fibroblastes: synchronisation simple par la thymidine	166
<i>et</i> Préparation de la thymidine	166
<i>et</i> Synchronisation des cultures	166
I.1.2.e.2. Récolte des fibroblastes en nature	167
I.1.3. Etalement sur lame	167
I.1.3.a. Etapes préalables	167
I.1.3.b. Préparation des lames	167
I.1.3.c. Réalisation des étalements	168
I.1.3.c.1. Méthode du frottis	168
I.1.3.c.2. Méthode de la goutte	168
I.1.4. Coloration des lames	169
I.1.4.a. Coloration conventionnelle des lames	169
I.1.4.b. Coloration en bandes	169
I.1.4.b.1. Coloration des lames en bandes GTG	170
<i>et</i> Préparation de la trypsine (solution à 0,25%)	170
<i>et</i> Préparation du colorant pour réaliser les bandes G	170
<i>et</i> Coloration des lames	171
I.1.4.b.2. Coloration des lames en bandes CBG	172
<i>et</i> Etapes préalables	172
<i>et</i> Protocole de coloration des chromosomes en bandes C	172
I.1.5. Particularités liées aux espèces étudiées : Remarques sur les études de lames	174
I.1.5.a. Cheval	174
I.1.5.b. Chien	174
I.1.6. Observation des métaphases et réalisation des caryotypes	175
I.1.6.a. Matériel optique et logiciel utilisés	175
I.1.6.b. Technique d'observation des lames	175
I.1.6.c. Capture des métaphases et caryotypage	175
I.2. Techniques de Biologie Moléculaire mises en œuvre	176
I.2.1. Extraction de l'ADN	176
I.2.2. PCR proprement dite	176
I.2.3. Electrophorèse en gel d'agarose	177

## **BIBLIOGRAPHIE**

**179**



## TABLE DES ILLUSTRATIONS

<i>Figure 1 : Détail d'une crête génitale indifférenciée avec les canaux de Wolff, les canaux de Müller et le tube mésonéphritique (embryon humain).....</i>	26
<i>Figure 2 : Différenciation en testicules (embryon humain).....</i>	26
<i>Figure 3 : Différenciation en ovaire (embryon humain).....</i>	28
<i>Figure 4 : Développement de l'appareil génital et urinaire chez le mâle et la femelle à partir d'une phase indifférenciée.....</i>	30
<i>Figure 5 : Voies génitales femelles des mammifères.....</i>	32
<i>Figure 6 : Développement de l'appareil génital externe chez un fœtus humain.....</i>	32
<i>Figure 7 : Carte de l'extrémité du bras court du chromosome Y humain.....</i>	36
<i>Figure 8 : Structure du chromosome Y et schémas représentant les portions du chromosome Y présents dans le génome de mâles XX, de femelles XY et de mâles XY.....</i>	36
<i>Figure 9 : Protéine à doigts de Zinc.....</i>	38
<i>Figure 10 : Evolution de l'étude du chromosome Y.....</i>	38
<i>Figure 11: Schéma de la structure du gène SRY humain.....</i>	40
<i>Figure 12: Modèle hypothétique du déterminisme primaire du sexe.....</i>	42
<i>Figure 13: Facteurs impliqués, ou susceptibles de l'être, dans la différenciation sexuelle normale des gonades des Mammifères.....</i>	44
<i>Figure 14 : Conséquences des modifications affectant les gènes du déterminisme primaire sur le développement de l'embryon.....</i>	44
<i>Figure 15 : Voies génitales de fœtus femelles de lapin au 28<sup>ème</sup> jour de gestation.....</i>	46
<i>Figure 16 : Les régions de l'appareil génital mâle humain dépendantes de la testostérone et de la dihydrotestostérone.....</i>	48
<i>Figure 17: Le déterminisme secondaire du sexe des Mammifères.....</i>	50
<i>Figure 18 :Gamétogenèse anormale chez les Mammifères : conséquences des non-disjonctions.....</i>	58
<i>Figure 19: Mécanismes expliquant le caryotype des individus Klinefelter.....</i>	58
<i>Figure 20: Mécanisme de survenue du syndrome de Turner.....</i>	64
<i>Figure 21 :Etiologie du phénotype des hommes XX par échange aberrant entre les séquences liées au chromosome Y lors de la méiose chez l'homme.....</i>	66
<i>Figure 22 :Schéma présentant un mécanisme hypothétique de la survenue d'un individu XX phénotypiquement normal, issu de parents porteurs d'un gène autosomal muté.....</i>	70
<i>Figure 23 : Persistance des canaux de Müller.....</i>	74
<i>Figure 24 : Le syndrome du testicule féminisant chez un chat (schéma de l'appareil génital interne).....</i>	74
<i>Figure 25 : Relation vasculaire entre deux embryons freemartins bovins.....</i>	78
<i>Figure 26 : Schémas des tractus génitaux d'embryons femelle, mâle normaux et de bovins freemartins.....</i>	80
<i>Figure 27 : Diagramme récapitulatif.....</i>	85
<i>Figure 28 : Chiens hermaphrodites vrais.....</i>	88
<i>Figure 29 : Répartition des cas de chiens hermaphrodites en fonction de la race.....</i>	88
<i>Figure 30 : Représentation schématique d'une fistule uréthro-vaginale chez un chien pseudo-hermaphrodite mâle.....</i>	92
<i>Figure 31 : Pseudo-hermaphrodites mâles dans l'espèce canine.....</i>	92
<i>Figure 32 : Répartition des cas de pseudo-hermaphroditisme mâle en fonction des races des chiens.....</i>	92

<i>Figure 33 : Représentation schématique d'une fistule uréthro-vaginale chez un animal pseudo-hermaphrodite femelle.</i>	94
<i>Figure 34 : Pseudo-hermaphrodites femelles dans l'espèce canine</i>	94
<i>Figure 35 : Répartition des cas de pseudo-hermaphrodites femelles en fonction des races de chiens.</i>	94
<i>Figure 36 : Répartition des cas d'intersexualité en fonction des races de chiens.</i>	96
<i>Figure 37 : Répartition des formes d'intersexualité chez le chien en fonction du caryotype.</i>	96
<i>Figure 38 : Hermaphrodites vrais dans l'espèce équine</i>	98
<i>Figure 39 : Répartition des cas d'hermaphrodites vrais en fonction des races de chevaux.</i>	98
<i>Figure 40 : Pseudo-hermaphrodisme mâle dans l'espèce équine.</i>	100
<i>Figure 41 : Répartition des cas de pseudo-hermaphrodisme mâle en fonction des races de chevaux</i>	100
<i>Figure 42 : Chevaux pseudo-hermaphrodites femelles.</i>	102
<i>Figure 43 : Répartition des cas de pseudo-hermaphrodites femelles en fonction des races de chevaux.</i>	102
<i>Figure 44 : Répartition des cas d'intersexualité chez les chevaux en fonction du caryotype.</i>	104
<i>Figure 45 : Obtention des chromosomes métaphasiques à partir d'une culture lymphocytaire.</i>	108
<i>Figure 46: Appareil génital externe.</i>	114
<i>Figure 47: Clitoris péniforme extériorisé.</i>	114
<i>Figure 48: Vulve après exérèse du clitoris.</i>	114
<i>Figure 49: Appareil génital interne.</i>	116
<i>Figure 50 : Os pénien extrait du clitoris.</i>	116
<i>Figure 51 : Métaphase en coloration conventionnelle (2n=78, XY).</i>	119
<i>Figure 52 : Métaphase et caryotype en bandes G (2n=78, XY).</i>	119
<i>Figure 53 : Gels d'électrophorèse des PCR réalisées.</i>	120
<i>Figure 54 Appareil génital externe.</i>	122
<i>Figure 55 : Métaphases en coloration en bandes C.</i>	124
<i>Figure 56 : Coupe histologique des testicules hypoplasiques.</i>	126
<i>Figure 57: Culture de fibroblastes : méthode des digestions enzymatiques</i>	160
<i>Figure 58 : Cultures de fibroblastes : méthode des explants</i>	164







## INTRODUCTION

Chez les Mammifères, la reproduction est sexuée. Elle nécessite la fusion de deux gamètes produits par deux individus de phénotypes complémentaires, la femelle et le mâle. Le sexe chromosomique de l'embryon est déterminé lors de la fécondation. L'établissement du sexe gonadique et du sexe phénotypique résulte d'une série d'étapes complexes. Elles aboutissent, dans un premier temps, à la formation des gonades à partir de structures indifférenciées et communes aux embryons mâle et femelle, puis à la formation de l'appareil génital (interne et externe). Ces étapes s'effectuent in utero. Elles dépendent de facteurs génétiques et hormonaux. L'appareil reproducteur ne sera fonctionnel qu'à partir de la puberté.

Toute anomalie intervenant lors d'une étape du développement sexuel aura des répercussions sur la fonction de reproduction. Elle entraînera soit un hypogonadisme (chez un individu dont le phénotype correspond à son sexe chromosomique et gonadique), ou bien sera à l'origine de l'une des trois formes d'intersexualité (hermaphrodisme vrai, pseudo-hermaphrodisme mâle ou pseudo-hermaphrodisme femelle).

Dans le cas de l'intersexualité, le phénotype est en désaccord avec le sexe chromosomique et le sexe gonadique. L'individu affecté présente un phénotype très variable allant de la quasi normalité à une apparence ambiguë.

Bien que rare, l'intersexualité se rencontre dans toutes les espèces de Mammifères. En ce qui concerne nos animaux domestiques, cette anomalie du développement sexuel a été essentiellement étudiée chez les Caprins, les Bovins et les Porcins. Elle a également été décrite dans l'espèce canine et chez le cheval.

L'intersexualité a différentes répercussions. Elle est généralement liée à une infertilité. Ceci diminue fortement la valeur économique des animaux de rente affectés. De plus, chez les animaux de boucherie, elle peut être responsable de modification des caractères organoleptiques de la viande (apparition d'un goût chez les porcs intersexués et cryptorchides). Lorsque cette anomalie concerne des chevaux, elle peut modifier leurs capacités sportives ou bien les rendre positifs au contrôle anti-dopage. D'une façon plus générale, l'intersexualité peut provoquer des modifications du comportement qui rendent difficile la conduite des troupeaux. Chez les animaux de compagnie et plus particulièrement dans l'espèce canine, l'intersexualité peut être responsable de pathologies de gravité variable.

Les différentes formes intersexuées sont parfois difficiles à mettre en évidence. La suspicion clinique doit être confirmée par des examens de laboratoire complémentaires. Le diagnostic de l'intersexualité fait appel à une étude cytogénétique des cas. Cette dernière peut être complétée par une étude moléculaire afin d'affiner la compréhension des mécanismes conduisant au développement d'un état intersexué. Le type d'intersexualité ne peut être déterminé que par une analyse histologique des gonades.

Dans la partie bibliographique de cette thèse, on abordera le déterminisme du sexe des Mammifères ainsi que les anomalies du développement sexuel, en s'attachant plus particulièrement à l'intersexualité dans les espèces canine et équine. Dans un second temps, on présentera les différents outils d'investigation des états intersexués.

La partie expérimentale présentera un cas d'intersexualité chez le chien et chez le cheval.





# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I. DETERMINISME DU SEXE CHEZ LES MAMMIFERES ET ANOMALIES DU DEVELOPPEMENT SEXUEL**

Les Mammifères sont des animaux gonochoriques : les gamètes mâles et femelles sont produits par des individus distincts.

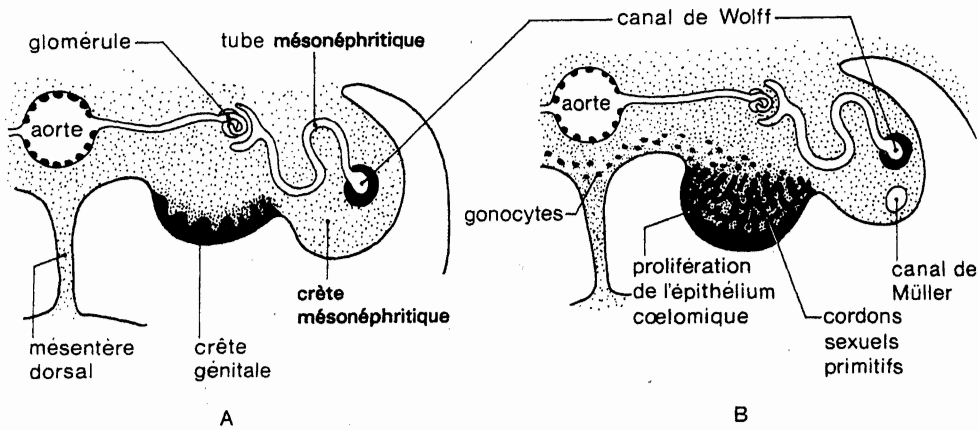
La différenciation sexuelle s'opère en trois étapes.

Il s'agit d'abord de la différenciation des gonades (gonadogenèse) qui consiste en la colonisation des crêtes génitales issues du mésoderme par des cellules germinales endodermiques. Après un stade indifférencié, les cellules s'organisent pour former les testicules, chez les individus mâles, ou les ovaires, chez les femelles. A terme, l'animal de sexe mâle produira des spermatozoïdes, suite à la spermatogenèse. Après l'ovogenèse, une femelle produira des ovocytes II. La gonadogenèse dépend de facteurs génétiques.

Une fois formées, les gonades participent à la seconde étape, la différenciation du tractus génital. Celle-ci se fait essentiellement à partir du mésoderme ; néanmoins, la portion terminale de l'appareil génital interne dérive de l'ectoderme. En même temps, se forment l'appareil urinaire et des organes génitaux externes. L'ensemble de ces phénomènes s'effectue in utero. A la naissance, l'individu est déterminé par ses gonades et les gamètes en cours de formation qu'elles contiennent et par son sexe phénotypique.

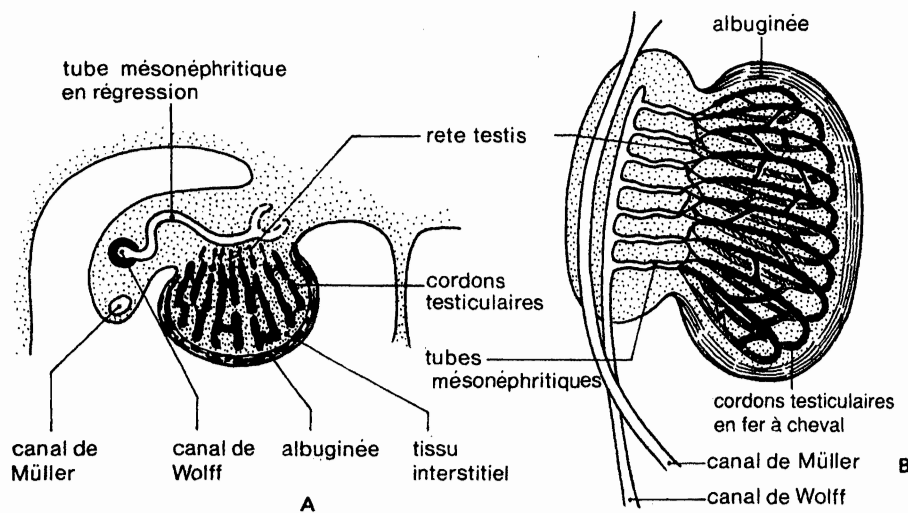
La différenciation sexuelle est bloquée de la naissance à la puberté, stade à partir duquel se développent les caractères sexuels secondaires ; les gamètes, quant à eux, terminent leur formation.

Nous envisagerons successivement les étapes du développement du sexe des Mammifères puis les mécanismes responsables de cette différenciation.



**Figure 1 :** *Détail d'une crête génitale indifférenciée avec les canaux de Wolff, les canaux de Müller et le tube mésonéphritique (embryon humain).*

**A :** Avant colonisation par les gonocytes primordiaux. **B :** Après colonisation et formation des cordons sexuels primitifs (embryon de 6 semaines). (D'après Langham, Masson, éd. 1976, cité par Le Moigne, (157)).



**Figure 2 :** *Différenciation en testicules (embryon humain).*

**A :** coupe transversale. Dès la 8<sup>ème</sup> semaine, les cordons testiculaires forment des liens avec le tube mésonéphritique par l'intermédiaire du rete testis. **B :** Le mésonéphros forme l'épididyme (4<sup>ème</sup> mois). Les cordons testiculaires en boucle sont reliés aux conduits mésonéphritiques transformés. (D'après Langham, Masson, éd. 1976, cité par Le Moigne, (157)).



## **I.1. Différenciation des sexes mâle et femelle**

### **I.1.1. Mise en place des cellules germinales et formation des gonades**

La formation des gonades s'effectue précocement lors du développement embryonnaire. Elle débute par une étape commune aux individus mâles et femelles (Le Moigne, (157) et Cassier, (47)).

#### **I.1.1.a. Etape indifférenciée**

Chez la plupart des Vertébrés, les cellules germinales primordiales, ou gonies, se détachent de l'endoderme ; chez les Mammifères, ces cellules proviendraient de l'ectoderme et se regrouperaient dans l'endoderme (Cassier, (47)).

Les gonies sont caractérisées par leur grande taille et leur richesse en réserves (lipides et glycogène). Elles migrent dans l'interstitium vers les crêtes génitales issues de la somatopleure, mésoderme intermédiaire.

De part et d'autre des deux crêtes se trouvent les ébauches rénales du mésonéphros. Les cellules germinales se multiplient au cours de leur migration et vont coloniser la crête génitale pour former l'épithélium germinatif superficiel (figure 1).

La crête génitale s'épaissit pour donner le cortex qui reste en surface de la future gonade. La partie interne de la gonade est appelée médulla; elle contient du mésenchyme, dérivé des structures mésonéphritiques, et des cordons épithéliaux.

Jusque là, la gonade est toujours indifférenciée. Puis, l'étape de différenciation primaire du sexe débute. Les gonies prolifèrent avant de s'engager dans la spermatogenèse ou l'ovogenèse.

#### **I.1.1.b. Différenciation des gonades**

##### **I.1.1.b.1. Différenciation en testicules**

Alors que chez les Amphibiens, on observe le développement d'ampoules séminifères, chez les Mammifères, les Reptiles et les Oiseaux, la différenciation est marquée par le développement de cordons séminifères dans la médulla. Ces structures sont issues des cordons épithéliaux ou de la médulla indifférenciée (figure 2).

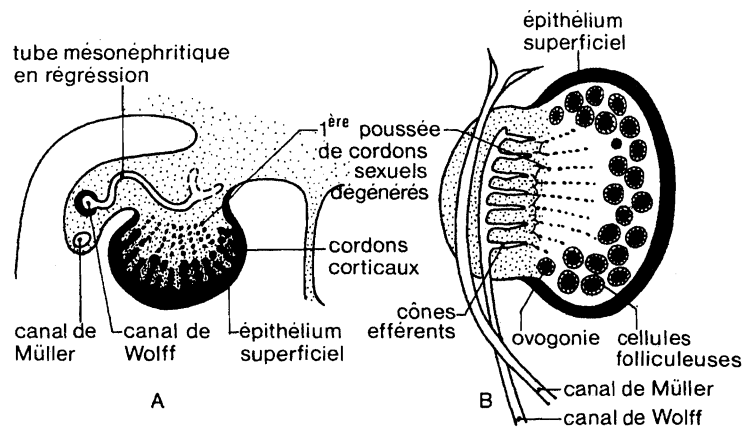
Les cordons séminifères sont formés de cellules de Sertoli regroupées en épithélium. Elles ont un rôle de soutien et de nutrition des gamètes mâles.

Les gonies, quant à elles, quittent l'épithélium germinatif et s'insèrent entre les cellules de Sertoli, puis se multiplient sans entrer en méiose. Elles forment les spermatogonies primordiales.

L'épithélium superficiel dépourvu de ses cellules germinales s'amincit.

Le conjonctif médullaire s'organise en une tunique fibreuse, l'albuginée, qui tapisse les cordons séminifères. Entre les cordons, le mésenchyme médullaire évolue en tissu interstitiel à l'origine des cellules de Leydig. Ces dernières sont responsables de la sécrétion des hormones stéroïdes mâles. Les tubes mésonéphritiques voisins se lient à la gonade en se différenciant en rete testis.

A la puberté, les cordons séminifères se creusent en tubes séminifères et les spermatogonies entrent en méiose (Annexe 1).



**Figure 3 :** *Différenciation en ovaire* (embryon humain).

**A :** coupe transversale. Les cordons médullaires et mésonéphritiques régressent à la 7<sup>ème</sup> semaine. **B :** Chez l'embryon de 5 mois, les cordons corticaux sont découpés en îlots d'ovogonies entourés de cellules folliculeuses, qui formeront les follicules primordiaux. Les canaux mésonéphritiques et les canaux de Wolff continuent de régresser. (D'après Langham, Masson, éd. 1976, cité par Le Moigne, (157))

### I.1.1.b.2. Différenciation en ovaires

Chez les Vertébrés, la différenciation femelle consiste en une multiplication des cellules germinales. Elles entrent ensuite en méiose et évoluent en follicules ovariens dans la partie superficielle de la gonade.

A partir du cortex, des cordons contenant des cellules germinales se développent. Ces cordons se fragmentent, régressent et sont remplacés par un tissu vascularisé qui sera la médulla de l'ovaire (figure 3).

Dans un deuxième temps, d'autres cordons se développent à partir du cortex, sans s'en détacher. Les cellules germinales qu'ils renferment sont appelées ovogonies. Elles amorcent la première division de la méiose, mais restent bloquées en prophase. Ces cellules s'entourent de follicules (cellules du cortex, dérivées des crêtes génitales) ; l'ensemble follicules et ovocyte I constitue le follicule primordial. Ils sont en grand nombre dans l'ovaire, mais beaucoup subissent une atresie.

Le développement de l'ovocyte I est bloqué jusqu'à la puberté et ne reprendra que lors des cycles sexuels (Annexe 2).

### **I.1.2. Différenciation des tractus génitaux**

Cette étape de la différenciation est liée à la mise en place de l'appareil urinaire, dérivé du mésoderme. Pour cette raison, nous allons dans un premier temps aborder le développement du système urinaire, puis, ensuite, nous verrons celui de l'appareil génital (Le Moigne, (157) et Cassier, (47)).

#### **I.1.2.a. Evolution de l'appareil urinaire**

Le rein primitif est le pronéphros. Présent de chaque côté de l'embryon, il donne trois tubules se rejoignant en un uretère primaire ou Canal de Wolff qui va dans le cloaque.

Plus caudalement, d'autres tubules se différencient et constituent le mésonéphros. Il disparaîtra chez les Mammifères, les Reptiles et les Oiseaux, mais sera le rein définitif des Poissons et des Amphibiens.

Chez les Amniotes, dont les Mammifères, le rein définitif est le métanéphros dont les tubules excréteurs rejoignent l'uretère secondaire, dérivé du Canal de Wolff.

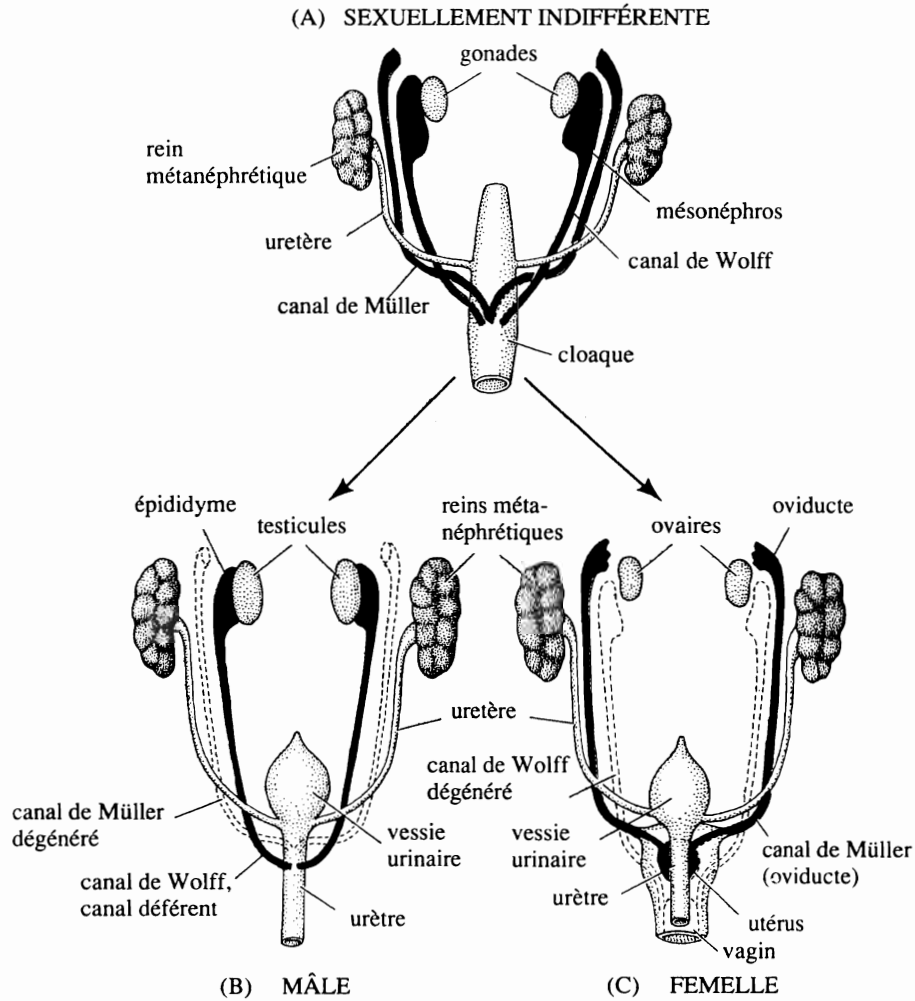
Parallèlement au Canal de Wolff, se développe le Canal de Müller. Il provient de l'épithélium coelomique situé au niveau du pronéphros.

Les canaux de Wolff et les canaux de Müller sont présents chez tous les embryons, au stade indifférencié (figure 4). L'évolution ultérieure s'effectue dans le sens femelle ou mâle.

#### **I.1.2.b. Différenciation du tractus génital mâle**

En général chez le mâle, les canaux de Müller dégénèrent. Il ne reste que les canaux de Wolff (figure 4). Chez les Amniotes, ils évoluent en canaux déférents (spermiductes).

Le réseau testiculaire (rete testis) se développe dans le futur testicule. Il est composé de tubes droits dépourvus de cellules germinales et prolongeant les cordons séminifères. Les canaux efférents, vestiges du mésonéphros, font suite au rete testis. Ils confluent pour former l'épididyme situé à l'extrémité proximale du Canal de Wolff. Les vésicules séminales se diffé-



GONADES

Type de gonades	Testicules	Ovaire
Cordons sexuels	Médullaire (interne)	Cortical (externe)

CONDUITS

Conduit restant pour les cellules germinales	Canal de Wolf	Canal de Müller
Différenciation du conduit	Canal déférent épididyme, vésicule séminale	Oviducte, utérus, canal cervical, vagin supérieur

**Figure 4 :** Développement de l'appareil génital et urinaire chez le mâle et la femelle à partir d'une phase indifférenciée

(D'après Higgins, 1989, cité par Gilbert (96)).

renient à l'extrémité distale. Les deux canaux de Wolff se rejoignent à la base de la vessie, à l'entrée de l'urètre.

A partir de ce dernier, on observe la mise en place du bourgeon prostatique et de glandes bulbo-urétrales ainsi que les glandes urétrales.

### **I.1.2.c. Différenciation du tractus génital femelle**

L'appareil génital femelle dérive essentiellement des canaux de Müller (figure 4). L'extrémité proximale de chaque canal se différencie en un pavillon cilié ouvert sur la cavité péritonéale et au regard de l'ovaire. Il s'agit de la Trompe de Fallope.

Les canaux de Müller s'adossent pour former l'utérus musculeux et le vagin. La fusion de ces structures est plus ou moins importante, suivant les espèces. En effet, elle est presque nulle chez les monotrèmes (exemple : l'ornithorynque) ; chez la lapine et la rate, la fusion s'effectue au niveau du vagin, il en résulte un utérus duplex (2 corps utérins + 2 cols). Chez les Carnivores, les Ruminants et les Equidés, la fusion des canaux de Müller se fait au niveau l'utérus : ces femelles ont un utérus bicorné (2 cornes utérines, 1 corps et 1 col). Chez les Primates, la fusion apparaît dès le début de l'utérus; on a alors un utérus simplex formé d'un corps et d'un col (figure 5).

Les canaux de Wolff régressent pour ne laisser que l'organe de Gardner.  
L'urètre femelle s'abouche dans le vestibule.

### **I.1.3. Différenciation de l'appareil génital externe**

Comme pour la gonadogenèse, au départ, il est impossible de différencier les embryons mâles et femelles à partir de l'appareil génital externe (Pavaux, (210)).

#### **I.1.3.a. Stade indifférencié**

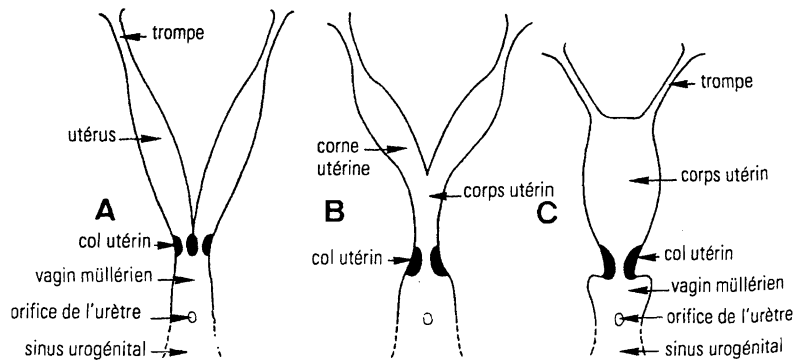
Les organes génitaux externes dérivent du cloaque (formé de la membrane cloacale) et du mésoderme. Les plis cloacaux ou uro-génitaux fusionnent crânialement en un tubercule génital (phallus primitif). Puis, de part et d'autre des plis cloacaux, se mettent en place les plis labio-scrotaux.

La membrane cloacale se scinde en membrane anale et en membrane uro-génitale, toutes deux séparées par le futur périnée.

Dès lors, l'évolution se fait dans le sens mâle ou femelle.

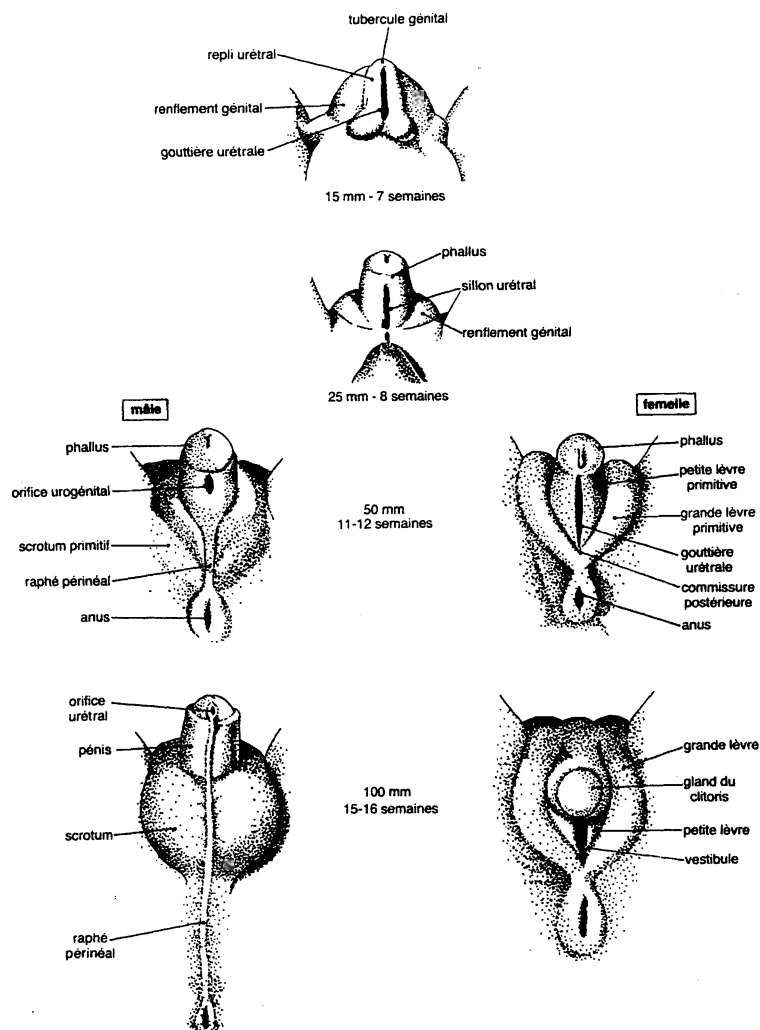
#### **I.1.3.b. Chez le mâle**

Le phallus primitif s'allonge entraînant les plis uro-génitaux. Ceci permet le creusement du sillon uro-génital (ou urétral). Les plis uro-génitaux fusionnent pour donner le canal de l'urètre pénien. La fusion des plis labio-scrotaux aboutit à la formation des bourses. Les lignes de soudure déterminent le raphé (figure 6).



**Figure 5 : Voies génitales femelles des mammifères.**

A : Utérus duplex (lapine) B : Utérus bicorne (chienne, chatte, jument, vache) C : Utérus simple (femme). (D'après Raynaud IN Beaumont A. et Cassier P., *Biologie animale*, Cordès. Dunod, Paris, 1982, cité par Cassier, (47))



**Figure 6 : Développement de l'appareil génital externe chez un fœtus humain**

(D'après Grumbach M., *Fertility and Sterility*. 1960 ; 11 : 157, cité par Jost, (136))

Peu à peu les tissus adjacents fixent le phallus primitif à la partie ventrale de l'abdomen, sauf chez les Primates et le chat.

### **I.1.3.c. Chez la femelle**

L'allongement du tubercule génital est moindre par rapport au mâle. Il forme le clitoris.

Chez les Mammifères domestiques, les plis uro-génitaux permettent le développement de la vulve. Le sillon uro-génital reste ouvert et forme le vestibule du vagin.

Les plis labio-scrotaux donnent les grandes lèvres de la vulve chez la femme (figure 6), des surélévations cutanées chez la chienne, et s'estompent chez les femelles des autres espèces.

## **I.1.4. Migration des gonades**

### **I.1.4.a. Migration des testicules**

Les gonades mâles restent intra-abdominales chez les Enorchides (Cétacés, Monotrèmes, Edentés).

Chez les autres Mammifères, dits Exorchides, les testicules migrent et vont se localiser hors de la cavité abdominale. C'est le cas des Primates, des Carnivores, des Ongulés. Les testicules descendent dans le scrotum par le canal inguinal.

Cette migration se fait passivement, en 2 temps. Le testicule est relié au pli labial-scrotal par un méso, le gubernaculum testis. Lors de l'embryogenèse, on observe une croissance différentielle du gubernaculum testis et de l'embryon : le méso ne croît pas. Ceci amène le testicule au niveau de l'anneau inguinal profond. En même temps, la cavité péritonéale met en place la future vaginale testiculaire. Puis, la gonade franchit l'espace inguinal; le gubernaculum testis se rétracte laissant le testicule dans le scrotum. Le canal inguinal se ferme chez l'homme, il est très étroit chez les Ruminants, mais reste ouvert chez les Carnivores, les Porcins et les Equidés.

Au cours de la descente, le testicule se recouvre de la tunique vaginale. Les autres enveloppes testiculaires se forment à partir des muscles de la paroi abdominale.

Lors de la migration, le cordon spermatique se différencie; il est constitué d'une artère testiculaire, du plexus pampiniforme (veine testiculaire très sinueuse), d'un plexus nerveux, de vaisseaux lymphatiques et du conduit déférent). Le cordon testiculaire a pour rôle d'abaisser la température du testicule ce qui permet la spermatogenèse.

La migration des testicules est précoce chez les Ruminants et les Primates; elle s'effectue in utero. En revanche, elle est plus tardive chez les Carnivores, les Porcins et les Equidés et ne se fait qu'après la naissance (Pavaux, (210)).

### **I.1.4.b. Migration des ovaires**

Dans la plupart des espèces de Mammifères, les ovaires ne migrent pas et restent appendus à la voûte lombaire. Même si les gonades femelles descendent dans le bassin chez les Suidés et les Ruminants, elles restent toujours intra-abdominales (Pavaux, (210)).

### **I.1.5. Maturation de l'appareil génital et mise en place des caractères sexuels secondaires**

A la naissance, l'appareil reproducteur est totalement formé, mais il est immature et non fonctionnel jusqu'à la puberté. Cette période est marquée par une accentuation du dimorphisme sexuel, en fonction des espèces.

D'une manière générale, chez le mâle, la puberté est caractérisée par un allongement du pénis, la maturation des testicules et la production de spermatozoïdes lors de spermatogénèse.

Chez la femelle, cette étape du développement sexuel correspond à la reprise de l'ovogénèse et à la formation d'ovocytes II à partir de certains follicules primordiaux. Ceci s'effectue lors des cycles sexuels. De plus, la puberté est associée au développement des glandes mammaires (Pavaux, (210)).

L'évolution phénotypique et de la capacité reproductrice s'accompagne d'une évolution comportementale.

Le développement sexuel est long et complexe. Il résulte de différents mécanismes liés d'une part à la fécondation et d'autre part, à l'embryon lui-même.

## **I.2. Déterminisme du sexe**

Depuis longtemps, les biologistes s'intéressent aux mécanismes conduisant au développement sexuel. L'hypothèse d'une différenciation mâle ou femelle liée aux conditions environnementales a été retenue pendant de nombreux siècles, mais les progrès de la génétique ont permis de mettre en évidence le rôle fondamental des chromosomes sexuels (Mac Clung, 1902, cité par Jost, (135)). Leur implication dans le déterminisme du sexe a été établie chez les insectes dès 1905, avec les travaux de Stevens (1905) puis de Wilson (1905).

Chez les Mammifères et les autres animaux gonochoriques, le sexe de l'embryon est imposé lors de la fécondation qui fixe une paire d'hétérosomes (ou gonosomes). A la différence des Oiseaux, de certains Amphibiens, et de certains Poissons, les femelles Mammifères sont homogamétiques (elles possèdent deux chromosomes X ; même si les deux exemplaires sont actifs et nécessaires à la différenciation des cellules germinales, l'un d'entre eux est inactivé dans les autres populations cellulaires et cet X inactivé se réplique plus tardivement). Les mâles, quant à eux, sont hétérogamétiques (ils possèdent deux chromosomes sexuels différents, le X et le Y).

Le sexe chromosomique détermine normalement le sexe phénotypique des Vertébrés. Cependant, si chez les Reptiles et certains Poissons, les différences de température extérieure sont responsables de l'évolution de l'embryon vers le sexe femelle ou le sexe mâle (Pieau, 1982, cité par Cassier, (47)), l'environnement reste sans influence sur le développement sexuel des Mammifères (Cribiu, (66)).

L'évolution se fait spontanément vers le sexe homogamétique : en l'absence d'élément permettant la différenciation vers le mâle, on a une mise en place du sexe femelle avec la formation des ovaires et d'un appareil génital femelle (Cotinot, (62)).

Certaines séquences du chromosome Y apparaissent donc nécessaires à la différenciation du sexe mâle.



En 1953, Jost a mené des expériences sur des embryons de lapins XX et XY : la gonadectomie réalisée in utero avant la différenciation des gonades conduit automatiquement au phénotype femelle, et ce quel que soit le caryotype des embryons. Le phénotype mâle est donc dépendant de la formation des testicules (Jost, 1953, cité par Jost, (135)).

Ceci indique que le développement sexuel peut être relié à deux notions. On considère d'abord la différenciation des gonades déterminée par des facteurs chromosomiques, puis de la différenciation du tractus génital, sous la dépendance des gonades (Scafer, (236)). Il s'agit en fait d'une cascade d'événements.

Dans une première partie, nous envisagerons le déterminisme primaire, puis, dans un second temps, la différenciation du sexe phénotypique.

### **I.2.1. Déterminisme primaire**

Il s'agit de l'ensemble des mécanismes responsables du développement des gonades de l'un ou de l'autre sexe, à partir d'une structure indifférenciée, commune à tous les embryons.

#### **I.2.1.a. Sexe chromosomique et rôle de la fécondation**

Chez les Mammifères, le sexe de l'individu est imposé à la conception. En effet, les embryons possèdent tous un chromosome X, issu de l'ovogenèse chez la femelle. La fécondation apporte un gamète mâle qui contient soit un autre chromosome X, soit un chromosome Y.

Le sexe chromosomique établit normalement le sexe gonadique et le sexe phénotypique, sans influence de l'environnement. Le couple de gonosomes ainsi fixé se retrouve dans toutes les cellules diploïdes de l'organisme, par le biais des mitoses.

Chez les individus XX, on observe la formation d'un ovaire puis de l'appareil génital femelle. Il en va de même chez les embryons X0 ou XXX, comme nous le reverrons ultérieurement (Le Moigne, (157)). En revanche, chez les mammifères XY, il se développe des testicules et un appareil génital mâle. Les animaux XXY ou XXXXY possèdent également des tractus génitaux masculinisés et des formations testiculaires. En effet, si les 23 paires de chromosomes humains sont connues depuis 1956, dès 1959, on a démontré chez l'homme, puis chez la souris, que le chromosome Y est directement impliqué dans le développement des testicules, quel que soit le nombre de chromosomes X de la cellule (Welshons, 1959 et Ford, 1959, cités par Jost, (135)).

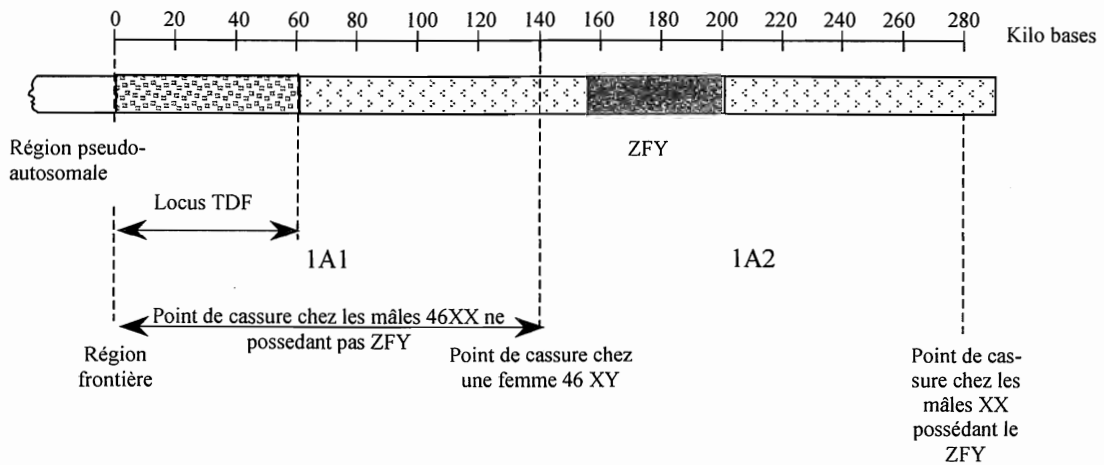
#### **I.2.1.b. Etude du chromosome Y et recherche du facteur masculinisant**

Dans l'espèce humaine, on a observé dès 1964 des patients mâles XX et des patientes XY (De La Chapelle, 1964, cité par Jost, (135)). Ces phénomènes peuvent s'expliquer selon Ferguson-Smith par le fait que les hommes XX possèdent une partie de chromosome Y transloquée sur un autre chromosome, les femmes XY ayant perdu cette même portion de l'hétérosome (Ferguson-Smith, 1966, cité par Jost, (135)).

Une partie seulement du chromosome Y serait donc impliquée dans le déterminisme du sexe gonadique.

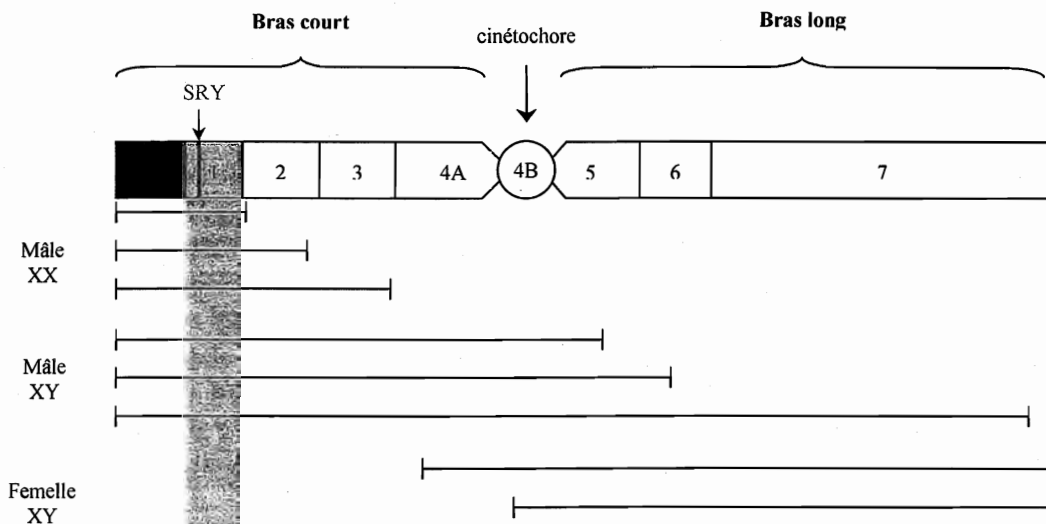
Jost a suggéré en 1973 que la gonade indifférenciée évolue spontanément en ovaire en l'absence de facteur masculinisant porté par le Y (Jost, 1973, cité par Jost, (135)).

Cet élément a été recherché. Les premières études se sont d'abord orientées vers l'antigène



**Figure 7 :** Carte de l'extrémité du bras court du chromosome Y humain.

(D'après Cotinot, (62)).



**Figure 8 :** Structure du chromosome Y et schémas représentant les portions du chromosome Y présentes dans le génome de mâles XX, de femelles XY et de mâles XY

Sur le bras court du chromosome Y : la zone foncée est la région pseudo-autosomale (c'est la seule région homologe avec le chromosome X ; elle est le site de recombinaison lors de la méiose). La région n°1 correspond au locus TDF et contient le gène SRY.

Le chromosome Y est divisé en 7 zones correspondant à des sondes d'ADN radioactif utilisées pour réaliser des hybridations moléculaires *in situ* sur des patients ayant une formule anormale. Les mâles XX possèdent un fragment du bras court contenant la région 1 suite à un crossing-over inégal lors de la méiose. Les femelles XY ont un Y délété pour cette région 1. Les mâles XY peuvent subir une délétion du bras long du Y sans altération de leur phénotype. (D'après Page, 1985, cité par Le Moigne, (157)).

d'histocompatibilité H-Y (Wachtel, 1975, cité par Jost, (135)). Protéine codée par la région péricentrique du chromosome Y, l'antigène H-Y est absent chez les femelles. Cette molécule s'exprime à la surface des cellules. Son nom vient du fait que lorsque la molécule est en contact avec un organisme femelle, elle joue le rôle d'un antigène et active le système immunitaire, comme ceci a été confirmé par les greffes de peau de souris mâle sur des femelles.

Mais en 1984, Mac Laren a établi chez la souris que la différenciation des testicules ne dépend pas de l'antigène H-Y (McLaren, (168)).

Le Y possède donc une région, différente de celle codant pour l'antigène H-Y, déterminant l'évolution des gonades.

Les travaux de Palmer ont montré que toutes les cellules de Sertoli sont XY (Palmer, 1991, cité par Gilbert, (96)). Les cellules de Sertoli étant les premières à se différencier dans le testicule (Magne, 1980, cité par Gilbert, (96)), on peut supposer que l'expression d'une partie du Y est nécessaire dans les cellules de Sertoli, ce qui entraîne la formation du testicule.

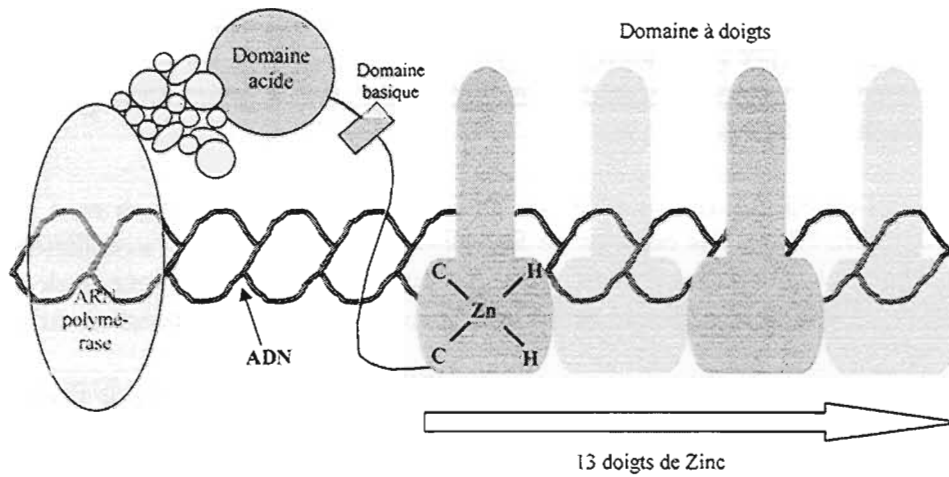
Cette portion de l'hétérosome est appelée TDF (Testis Determining Factor). Grâce à l'étude des hommes XX et des femmes XY, et aux techniques d'hybridation d'ADN, on a pu localiser le TDF sur le bras court du chromosome Y (Page, 1985, cité par Gilbert, (96))

D'autre part, l'étude de la méiose (analyse des complexes synaptonémaux (Gabriel-Robez, (90)) a révélé que la portion terminale du bras p du Y est la zone d'appariement avec le X; c'est un lieu de recombinaison important appelé région pseudo-autosomique (Cotinot, (62)). L'hypothèse des translocations avancée en 1966 et permettant d'expliquer le mécanisme d'apparition des mâles XX et des femelles XY a pu être confirmée (Guellaen, 1984, cité par Jost, (135)).

Des comparaisons entre les séquences spécifiques du Y des individus ayant perdu une partie du chromosome ont permis de montrer que le TDF est localisé dans la portion du Y juste sous la région pseudo-autosomique (Page, 1985, cité par Gilbert, (96)) (figures 7 et 8).

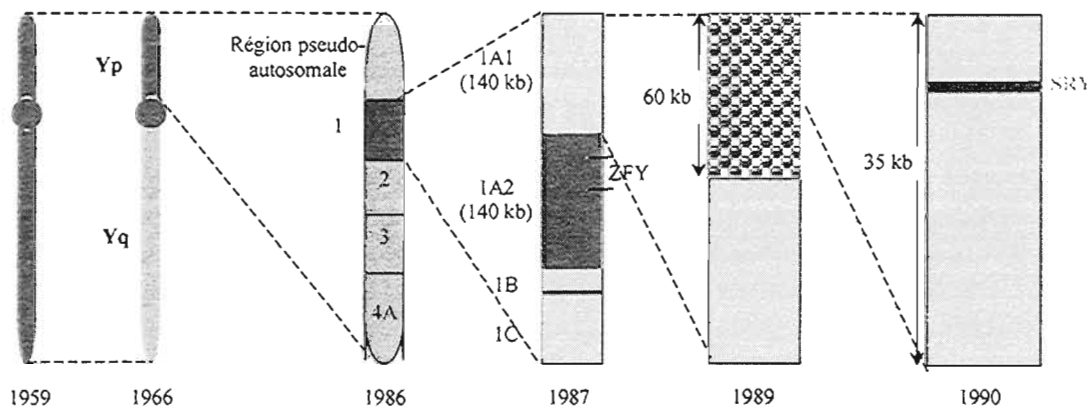
En 1987, Page a identifié le gène ZFY (Zinc Finger Protein Y), présent chez plusieurs patients mâles XX, et absent chez une femme XY. Ce gène se retrouve en double exemplaire chez la souris (Zfy1 et Zfy2). ZFY code pour une protéine de régulation de la transcription (protéine en doigt de zinc qui a la propriété de se fixer à l'ADN) (figure 9). ZFY a été considéré comme le TDF. Toutefois, Schneider, en 1989, a isolé l'homologue du ZFY sur le chromosome X (Schneider, 1989, cité par Cotinot, (62)). L'hypothèse de Page fût alors remise en cause, d'autant que, la même année, Palmer montrait que chez l'humain, des hommes XX ne possédaient pas le gène ZFY, mais avaient sous la région pseudo-autosomique une séquence particulière. Cette dernière, nommée SRY (Sex determining Region of the Y), a été caractérisée en 1990 dans l'espèce humaine (Sinclair 1990, cité par Jost, (135)).

Ce gène code pour un peptide de 223 acides aminés, contenant un domaine de liaison à l'ADN, appelé "boîte HMG" (pour High Mobility Group). Les boîtes HMG sont connues dans d'autres peptides, elles permettent de couder l'ADN ce qui facilite l'action des protéines actives de la transcription (Giese, 1992, cité par Cameron, (44)). Ceci laisse penser que le gène ainsi trouvé code pour un facteur régulateur de la transcription (Barboux, (11)). Il possède un équivalent chez la souris, également situé sur le bras court du Y, sous la région pseudo-autosomique, et appelé Sry (l'homologue murin du TDF est le Tdy, Gubbay, 1990, cité par Jost, (135)). La même année, Berta annonce que le SRY est le TDF et démontre son importance dans le déterminisme du sexe des Mammifères : ce gène est présent chez les mâles



**Figure 9 : Protéine à doigts de Zinc**

(D'après Cotinot, (62)).



**Figure 10 : Evolution de l'étude du chromosome Y.**

1959 : le chromosome Y contient le facteur déterminant du testicule chez les humains et la souris.  
 1966 : des translocations et des délétions détectées chez l'humain indiquent que le chromosome Y contient le TDF au niveau du bras court.  
 1987 : la localisation des délétions avec des sondes d'ADN spécifiques de mâle ont montré que le(s) gène(s) résidai(en)t dans la région 1 du bras court du Y. ZFY était le gène candidat pour le TDF.  
 1990 : les études sur les femelles XY et les mâles XX et les souris transgéniques ont permis de localiser le TDF dans une région du Y contenant le gène SRY. (D'après McLaren, 1990, cité par Gilbert, (96)).

XY et XX, alors qu'il est absent chez les femelles XX. Lorsqu'il peut être mis en évidence chez les femelles XY, il est muté (Berta, 1990 et Jäger, 1990, cités par Gilbert, (96)).

En 1991, Koopman a démontré que le Sry est réellement responsable de la détermination des gonades de souris en testicules en introduisant le gène dans le génome de souris XX transgéniques. L'absence du Y a été attestée par l'absence de Zfy1 et Zfy2. Ces animaux ont pour la plupart développé un appareil génital mâle et des testicules dépourvus de spermatozoïdes fonctionnels (Koopman, (145)). Ce dernier fait a été attribué à la présence des 2 X ; on a en effet démontré qu'ils interdisaient la formation de gamètes mâles chez les individus XXY (Cribru, (64) et Gilbert, (96)).

Les travaux de Koopman en 1991 ont également montré que le SRY était différent du Sry (Koopman, (145)). Seule la région de la boîte HMG est réellement conservée, ce qui dénote sa grande importance dans la fonction du SRY (Schafer, (236)) (figure 10).

Le facteur impliqué dans le déterminisme primaire du sexe étant identifié, on a cherché à connaître ses différentes fonctions.

#### **I.2.1.c. Rôle du gène SRY et mécanisme d'action général**

Le gène SRY possède une fonction encore assez mal définie. On sait que le rôle de la protéine SRY est lié à la boîte HMG. En effet, cette dernière assure la localisation intranucléaire de la protéine SRY et sa fixation à l'ADN (Poulat, 1995, cité par Jay, (132)) (figure 11). Ainsi, la première fonction de la protéine SRY serait d'activer la transcription de gènes spécifiques du développement testiculaire.

D'autre part, la courbure de l'ADN provoquée par SRY permettrait de juxtaposer des éléments de régulation de la transcription. SRY serait alors un auxiliaire de la transcription de l'ADN (Cohen, (58), Jay, (132) et Cameron, (44)).

Enfin, on a démontré in vitro des sites de liaison pour SRY dans des promoteurs de gènes, ce qui tend à confirmer son rôle de régulateur de la transcription (activateur ou inhibiteur) (Jay, (132)).

#### **I.2.1.d. Le SRY ne fait qu'induire les mécanismes de différenciation**

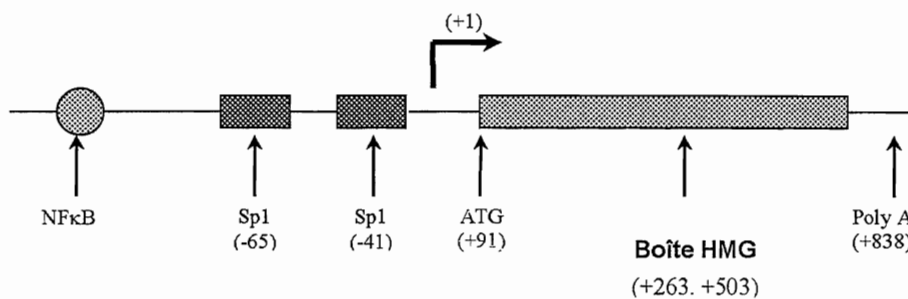
S'il est indispensable au déterminisme du sexe mâle, le gène SRY seul est insuffisant pour permettre la formation complète du testicule.

Dès 1987, Singh a montré que chez les souris, le Sry s'exprime d'abord au niveau des cellules de soutien, induisant leur différenciation en cellules de Sertoli (Singh, 1987, cité par Le Moigne, (157)). L'expression du gène est brève et ne s'effectue que dans ces populations cellulaires. Si la différenciation de la gonade se fait normalement, des cellules germinales s'intercalent entre les cellules de Sertoli pour former les spermatogonies (voir plus haut). Les cellules de Sertoli sont nécessaires pour bloquer l'entrée en méiose des spermatogonies.

La différenciation des cellules de Leydig, quant à elle, est dépendante de la présence des cellules de Sertoli. Le gène SRY ne s'y exprime pas.

Sans le SRY, les cellules de soutien évoluent en cordons intégrant les cellules germinales qui donneront les ovocytes I. Ces derniers provoquent le regroupement des cellules de soutien en follicules (Le Moigne, (157)).

Le SRY détermine indirectement la différenciation des cellules de soutien de la gonade indifférenciée. Ceci s'effectue par l'intermédiaire des cellules de Sertoli, uniquement présentes chez le mâle. Comme nous le verrons ultérieurement, les cellules de Sertoli sont des cellules endocrines (Josso, (134)), nécessaires au développement du testicule complet (tubule + cellules de Leydig + spermatogonies).



**Figure 11:** Schéma de la structure du gène *SRY* humain.

Des séquences consensus de fixation des facteurs de la transcription NFκB (facteur de la transcription inductible par différents signaux et contrôlant l'activité de nombreux gènes et virus) et Sp1 ont été identifiés dans la région proximale en 5' du gène *SRY* humain. La flèche notée +1 correspond au site majeur de début de la transcription. La boîte HMG représente le domaine HMG de fixation à l'ADN. L'abréviation « poly A » désigne le site de polyadénylation. (D'après Barbaux, (11)).

D'autre part, les études sur la souris révèlent que le Sry ne peut fonctionner qu'en présence de gènes autosomiaux (Le Moigne, (157)). Eicher a montré, dès 1983, que lorsque le Y de souris *Mus domesticus poshiavinus* noté Y<sup>POS</sup> est porté par une lignée de souris consanguines (souris C57BL), la moitié des souris C57BL-Y<sup>POS</sup> développent du tissu ovarien et sont des femelles Sex Reversed; l'autre moitié possède des ovotestis. Le Y de *Mus domesticus poshiavinus* paraît incapable d'induire le développement normal des testicules chez les souris C57BL. Le Sry d'une lignée d'individus (par exemple, *Mus domesticus poshiavinus*) peut interagir avec les autosomes présents chez les individus de cette lignée, mais pas forcément avec les autosomes d'individus d'une autre lignée (par exemple C57BL) (Eicher, 1983, cité par Gilbert, (96)). En 1991, Palmer a expliqué ce phénomène en travaillant sur le Tdy des souris *Mus musculus domesticus* et *Mus musculus musculus*. Dans ces deux lignées, le Tdy n'agit pas tout à fait au même moment lors de la différenciation des testicules. L'expression du Tdy se fait en même temps que celle des gènes autosomiaux intervenant dans le déterminisme primaire. Si le Tdy de *Mus musculus domesticus* s'exprime plus tard que celui de *Mus musculus musculus*, les gènes autosomiaux font de même. Si on introduit le Tdy de *Mus musculus domesticus* chez *Mus musculus musculus*, il y a un décalage temporel entre l'expression des gènes autosomiaux et du Tdy ; la gonade se différencie en ovaire ou en ovotestis (Palmer, (209)).

L'étude des individus "XX sex reversal" (gonades mâles et caryotype femelle) a mis en évidence le fait que du tissu testiculaire pouvait se développer en l'absence du SRY et du chromosome Y. Ceci montre que le chromosome Y n'est pas seul impliqué dans le déterminisme primaire du sexe.

### **I.2.1.e. Autres gènes impliqués dans la différenciation**

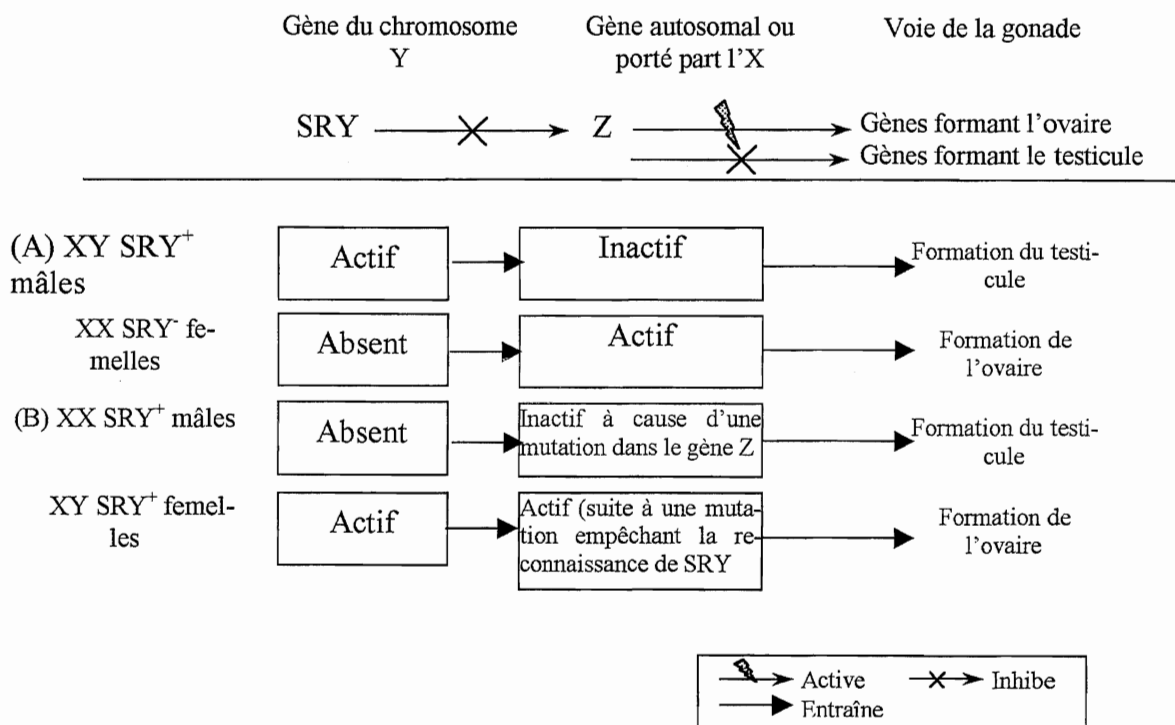
#### **I.2.1.e.1. Gène porté par le chromosome X**

En 1993, Bardoni et ses collaborateurs remarquent que des patients avec des ambiguïtés sexuelles et une hypoplasie génitale portent une translocation du fragment Xp21 sur le bras q du chromosome Y (Bardoni, 1993, cité par Barbaux, (11)). En 1994, la même équipe a mis en évidence chez des individus XY présentant les mêmes ambiguïtés sexuelles une duplication partielle du bras p du chromosome X. Ces deux anomalies correspondent à un dosage excessif d'un gène en Xp21-22, au niveau d'un locus appelé DSS (Dose Sensitive Sex reversal locus) (Bardoni, 1994, cité par Barbaux, (11)). La duplication de DSS entraîne le développement des ovaires. Mais les testicules se forment chez des individus XY délétés pour le DSS (Ramkisson, 1996, cité par Sinclair (249)). Le gène a pu être identifié dans le locus DSS : il s'agit du gène DAX1. Il semble impliqué dans la différenciation des ovaires. D'autre part, DAX1 est inhibé dans la gonade mâle; il semble que cette inactivation soit liée à l'action du SRY (Sinclair, (249)).

#### **I.2.1.e.2. Gènes portés par les autosomes**

Deux autres gènes, nommés WT1 et SF1, apparaissent comme nécessaires au développement de la gonade indifférenciée (Schafer, (236)).

Le premier, WT1 (Wilm tumor gene 1) est un oncogène mis en évidence chez des enfants atteints de cancer rénal. Il se situe, dans l'espèce humaine, en 11p13 (chromosome 11, bras p, bande 13). WT1 s'exprime très précocement chez l'embryon et participe à la différenciation du système urinaire (Mac Donough, (161)). Des souris knock out pour ce gène



**Figure 12:** *Modèle hypothétique du déterminisme primaire du sexe.*

Le gène SRY inactive l'expression du produit du gène Z dont l'activité inhibe le développement du testicule et active celui de l'ovaire. **(A)** : mâles et femelles de type sauvage. **(B)** : les mutations dans le gène Z expliqueraient les phénotypes mâles XX SRY<sup>-</sup> et les phénotypes femelles XY SRY<sup>+</sup>. (D'après McEleavey, (162)).



meurent suite à une absence de développement rénal; elles présentent, en outre, une dégénérescence des gonades (Cassier, (47)). Ainsi, WT1 semble-t-il indispensable à la formation de la gonade indifférenciée (Bruening, 1995, cité par Mac Donough, (161)).

La protéine issue de WT1 se fixe sur une autre protéine, codée par SF1 (Steroidogenic Factor 1) (Mac Donough, (161)).

SF1 régule la synthèse des enzymes nécessaires à la stéroïdogénèse. Le gène s'exprime très tôt chez les embryons des deux sexes, au niveau de la crête génitale. Son expression se poursuit jusqu'à la naissance chez les fœtus mâles, mais cesse lors de la formation de l'ovaire des embryons femelles.

En l'absence de SF1, les embryons de souris meurent d'insuffisance surrénalienne, on observe une agénésie gonadique; les organes génitaux internes et externes sont de type femelle, qu'il s'agisse d'individus XX ou XY (Saez, 1994, cité par Saez, (234)).

Un autre type de gène est impliqué dans le déterminisme primaire du sexe (Goodfellow, 1993, cité par Cameron, (44)). Il s'agit d'un gène SOX. Ce locus code pour une protéine de la même famille que le SRY (Gubbay, 1990, cité par Jost, (135)).

Le gène a été mis en évidence à la suite de travaux d'hybridation avec les boîtes HMG du SRY. Les SOX forment une famille de nombreux gènes et les protéines SOX ont les boîtes HMG qui présentent 60 % d'homologie avec celle de la protéine codée par SRY. Comme cette dernière, les protéines SOX provoquent une courbure de l'ADN.

Chez l'homme, l'étude de patients XY sex reversal atteints d'un syndrome de malformation osseuse et cartilagineuse (dysplasie campomélique) a permis de définir le SRA1 (Autosomal Sex Reversal locus) sur le chromosome 17 (Tommerup, 1993, cité par Jay, (132)). Foster en 1994 a proposé le gène SOX 9 comme candidat pour le SRA1.

Les études de mutation du gène SOX 9 ont confirmé son rôle dans la dysplasie campomélique et dans la différenciation testiculaire (Sinclair, (249)). Chez la souris, SOX 9 intervient surtout dans les cellules de Sertoli et semble régulé par le SRY (da Silva, 1996, cité par Sinclair, (249)).

SOX 9 ne s'exprime jamais chez l'embryon femelle, lors du développement ovarien (Cassier, (47)).

Chez le fœtus humain, SOX 9 s'exprime dans différents tissus (cerveau, chondrocytes et testicules) (Wagner, 1994, cité par Mac Donough, (161)). L'expression se poursuit à l'âge adulte dans de nombreuses structures (cœur, cerveau, reins, prostate, testicules) (Foster, 1994 et Wagner, 1994, cité par Mac Donough, (161)).

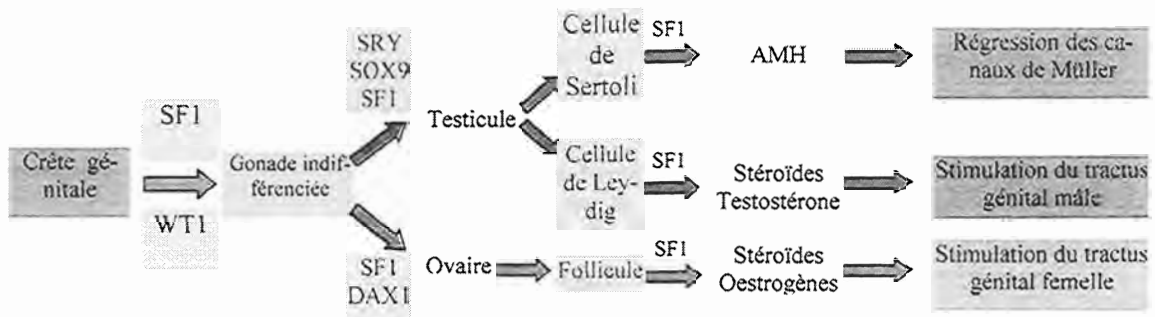
L'équivalent murin de ce gène est appelé Sox 9 (Wright, 1995, cité par Sinclair, (249)).

Enfin, Mac Elreavey a suggéré, dès 1993, que les autosomes pourraient participer à cette différenciation, par le biais d'une protéine codée par le gène Z.

Cette molécule serait responsable de l'inhibition de la formation des testicules et favoriserait celle du tissu ovarien. Mac Elreavey ajoute que chez les mâles XX et SRY négatifs dont les gonades sont des testicules, Z serait muté (Mac Elreavey, (162)).

Le SRY coderait donc pour une protéine inhibant le gène Z ou le résultat de sa transcription (figure 12).

*En résumé du paragraphe I.2.1, on peut dire que le déterminisme primaire du sexe des Mammifères repose tout d'abord sur la mise en place d'une gonade indifférenciée. Ceci implique, en particulier, les gènes autosomaux, WT1 et SF1, et s'effectue en même temps que la formation des glandes surrénales et du système urinaire. En l'absence de gènes*



**Figure 13:** Facteurs impliqués, ou susceptibles de l'être, dans la différenciation sexuelle normale des gonades des Mammifères.

AMH : Hormone Anti-Müllérienne (provoque la régressions des canaux de Müller)

DAX1 : Dosage Sensitive Sex Reversal et Adrenal Hypoplasia Congenital (porté par l'X, participe aux développement des ovaires et est inhibé chez le mâle)

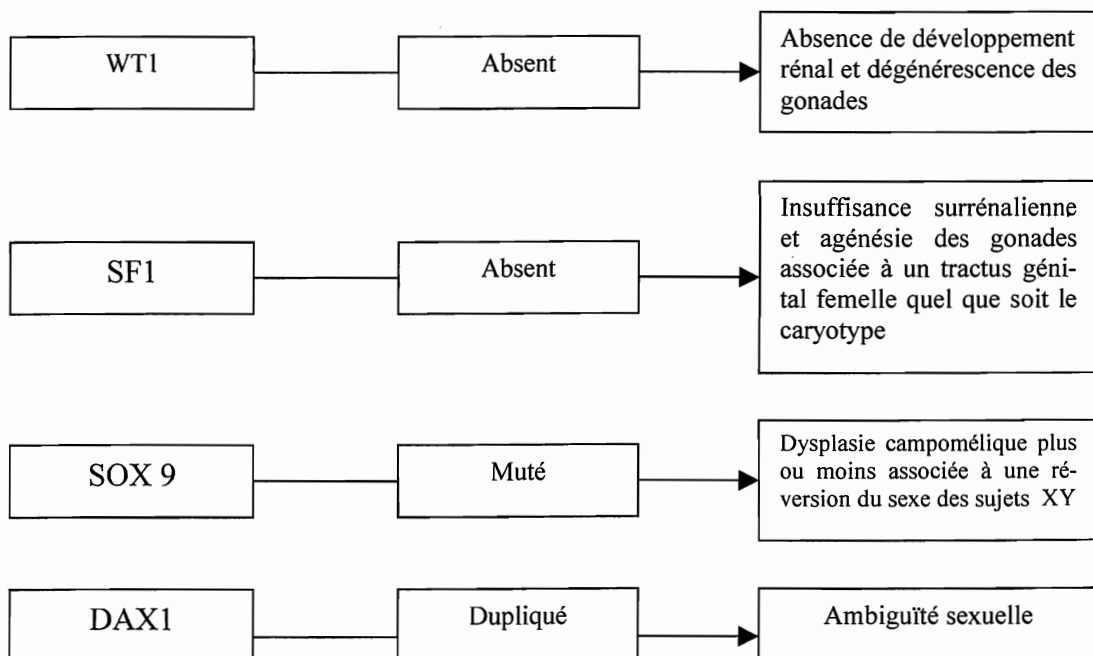
SF1 : Steroidogenic Factor 1 (régule la synthèse des enzymes de la stéroïdogénèse)

WT1 : Wilm Tumor 1 (oncogène participant au développement des voies urinaires)

SOX9 : SRY related HMG-box containing gene 9

SRY: Sex Determining Region Y

(D'après Ramkisson, 1996, cité par Cassier, (47)).



**Figure 14 :** Conséquences des modifications affectant les gènes du déterminisme primaire sur le développement de l'embryon.

*masculinisants (SRY), la gonade indifférenciée évolue vers un tissu ovarien. Les gènes SF1 et DAX1 sont impliqués dans ces mécanismes de différenciation.*

*La présence du gène autosomal SOX 9, non exprimé chez les femelles et du SRY porté par le chromosome Y détermine la différenciation des testicules (figure 13 et 14).*

Une fois formées, les gonades interviennent dans le développement de l'appareil génital interne et externe. Ceci correspond au déterminisme secondaire.

## **I.2.2. Déterminisme secondaire**

### **I.2.2.a. Mise en évidence du rôle des hormones**

L'étude du déterminisme secondaire a été plus précoce que celle du déterminisme primaire. Elle s'appuie avant tout sur des observations réalisées chez les Bovins, les Amphibiens et les Oiseaux.

Dès 1903, Bouin et Ancel identifient dans les testicules des adultes les cellules interstitielles, produisant la "sécrétion interne", que l'on appellera plus tard hormone. Ces cellules existent dans les testicules de fœtus de porc et sont aussi sécrétantes; ceci indique que le déterminisme du sexe se fait bien avant la naissance. En 1916, Lillie, après examen des fœtus de Bovins freemartins (nés d'une naissance gémellaire hétérosexuée), détermine que les ovaires des fœtus de phénotype femelle sont atrophiés et plus ou moins masculinisés, l'appareil génital, quant à lui, est anormal avec un développement de structures mâles.

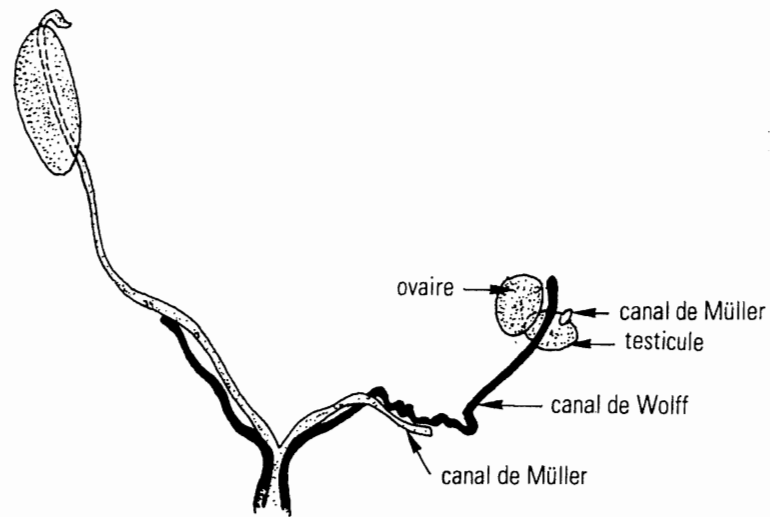
Les embryons mâles se différencient plus tôt que les femelles (Le Moigne, (157)). Chez la vache, les naissances gémellaires sont rares et associées à une fusion du chorion des deux fœtus et à des anastomoses vasculaires. On en a déduit que la femelle est masculinisée par le passage d'hormone mâle dans la circulation de l'embryon femelle. Cette hormone provient des testicules du fœtus jumeau. L'étude de trente neuf autres couples de faux jumeaux bovins a abouti à l'observation d'ovaires masculinisés, sauf dans six cas. Dans ces exceptions, les ovaires sont normaux et fonctionnels, il n'y a pas d'anastomose vasculaire entre les placentas.

Des expériences de freemartinisme ont été menées chez les Amphibiens que l'on a soudés artificiellement après une incision cutanée. Ces expériences de parabiose concernent des embryons de Batraciens au stade bourgeon caudal, avant la différenciation de la circulation et des gonades (Burns, 1925, cité par Jost, (135)). Lorsque la soudure intéresse un embryon mâle et un embryon femelle, les ovaires du parabionte femelle sont atrophiés ou masculinisés.

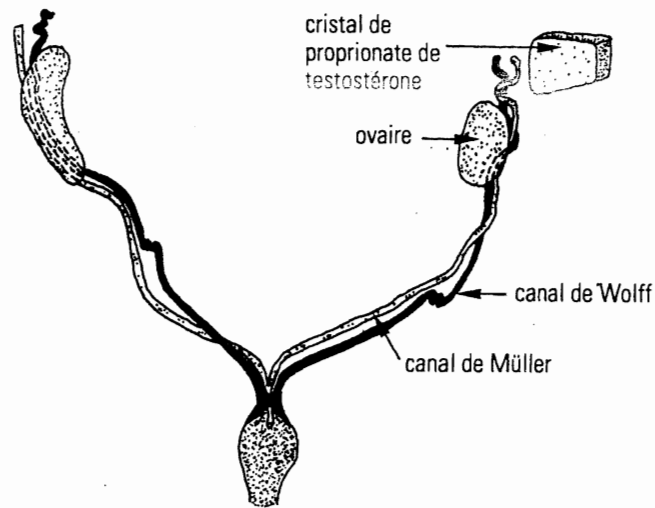
Ces travaux sur les Batraciens se sont poursuivis pendant une vingtaine d'année.

Les stéroïdes sexuels des adultes femelles ont été extraits en 1934. Injectée à des embryons de poulets mâles, une hormone ovarienne, la folliculine, modifie l'appareil génital entraînant l'intersexualité (mélange des caractères mâles et femelles) (Wolff, 1935, cité par Jost, (135)). Les hormones sexuelles des adultes mâles ont été isolées par la suite. En 1944, Gallien a montré que leur utilisation sur des Amphibiens non différenciés conduit à la formation des testicules (Gallien, 1944, cité par Jost, (135)).

Chez les Mammifères, l'injection de stéroïdes sexuels d'animaux adultes n'a que très peu d'effet sur les gonades, mais influence le développement de l'appareil génital (Le Moigne, (157)). Chez la souris, l'injection d'hormone d'une femelle adulte à un embryon mâle s'accompagne d'une régression des canaux de Wolff et d'une persistance des canaux de



**A**



**B**

**Figure 15 :** *Voies génitales de foetus femelles de lapin au 28<sup>ème</sup> jour de gestation.*

**A :** Modifications apportées par la greffe d'un testicule foetal près de l'ovaire au 20<sup>ème</sup> jour de gestation. **B :** Modifications liées à l'implantation d'un cristal de propionate de testostérone près de l'ovaire au 20<sup>ème</sup> jour de gestation. (D'après Jost, 1947, cité par Jost, (135)).

Müller. Les injections d'hormones d'adultes mâles sur un fœtus femelle ont l'effet inverse (Raynaud, cité par Le Moigne, (157)).

En 1953, Jost a castré des fœtus de lapin, pour voir l'effet des gonades sur le développement de l'appareil génital. Si cette opération se fait alors que les gonades sont encore indifférenciées (castration au 19<sup>ème</sup> jour de gestation), l'appareil reproducteur des fœtus XX ou XY évolue dans le sens femelle. Mais si cette castration intervient après le 23<sup>ème</sup> jour elle reste sans effet sur le développement génital. Entre 19 et 23 jours, les effets sont intermédiaires (Le Moigne, (157)). Raynaud a eu les mêmes résultats chez la souris en détruisant les gonades par irradiation. Ceci suggère que les gonades contrôlent l'évolution de l'appareil génital.

En 1949, Jost avait greffé un testicule sur un ovaire fœtal de lapin induisant la régression du Canal de Müller et la persistance du Canal de Wolff et son évolution dans le sens mâle du côté greffé (l'autre côté évoluant normalement comme chez toutes les femelles). La même observation a été faite lors de l'implantation d'un cristal de propionate de testostérone. Ceci permet de dire que le testicule est indispensable au développement du tractus mâle par le biais d'une hormone qu'il produit, la testostérone. En l'absence de cette molécule, il se forme spontanément un appareil génital femelle (Jost, 1949, cité par Jost, (135)) (figure 15).

Pourtant, les injections de testostérone, extraite chez l'adulte, ne provoquent pas de dégénérescence des canaux de Müller. Jost en a conclu en 1952 que le testicule du fœtus produit deux substances, dont la testostérone.

Il faudra attendre 1973 pour que la deuxième hormone testiculaire soit identifiée. Il s'agit de l'hormone anti-Müllérienne ou AMH (Josso, 1973, cité par Le Moigne, (157)).

Chez la femelle, le développement génital s'effectue en l'absence d'hormone mâle. L'effet des faibles quantités de testostérone produite par les surrénales est inhibé par la production de progestérone par les cellules de la thèque (Le Moigne, (157)).

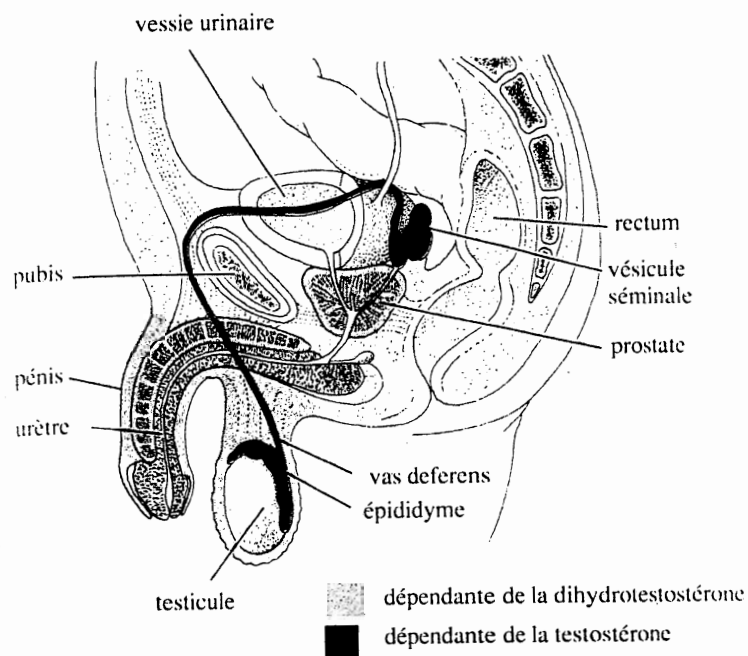
Les œstrogènes produits par l'ovaire favorisent le développement des canaux de Müller (Cassier, (47)).

### **I.2.2.b. Testostérone et dihydrotestostérone**

La formation de l'appareil génital mâle résulte de l'action de la testostérone. Si ce stéroïde sexuel est produit en faible quantité par les glandes surrénales des fœtus mâles et femelles, la majeure partie de la synthèse s'effectue dans les cellules de Leydig du testicule (Bouin, 1903, cité par Jost, (135)).

Les cellules de Leydig sont des cellules endocrines. Dès le début de leur différenciation, elles produisent des stéroïdes androgènes. L'activité endocrine est très intense et durable. Les cellules de Leydig occupent d'ailleurs 50% du testicule. L'hormone produite agit localement sur le Canal de Wolff, et sur le reste de l'appareil génital par le biais de la circulation sanguine fœtale (Le Moigne, (157)).

On a très tôt constaté que l'activité endocrine des gonades est régulée par le Système Nerveux Central et en particulier par l'antéhypophyse. Chez le fœtus mâle de lapin, la suppression de la sécrétion de l'hormone antéhypophysaire, suite à une décapitation ou une hypophysectomie, conduit à la formation d'un appareil génital femelle et à une diminution des synthèses testiculaires. Les injections d'hormone lutéotrope (LH) ou d'hormone FSH (Follicle Stimulating Hormone) antéhypophysaires conduisent, chez le fœtus mâle décapité, au développement d'un appareil mâle. La synthèse de testostérone est stimulée par la LH. Pourtant, bien que l'antéhypophyse se forme en même temps que les cellules de Leydig, elle n'est sécrétante qu'après les testicules (Cassier, (47)). On a montré, chez l'humain, que



**Figure 16 :** *les régions de l'appareil génital mâle humain dépendantes de la testostérone et de la dihydrotestostérone.*

(D'après Imperato-McGinley, 1974, cité par Gilbert, (96)).

pendant la vie fœtale, la hCG (human Chorionic Gonadotropin) maternelle assure le rôle de la LH au début du développement embryonnaire. Le relais est pris par la LH fœtale (Saez, (234)). Des études ont prouvé que la LH et la hCG se fixent sur le même récepteur.

La testostérone, quant à elle, se lie à un récepteur dont la quantité fluctue en fonction de la sensibilité des cellules à cette hormone. Les cellules peu sensibles expriment peu ce récepteur codé par un gène situé sur le chromosome X. Cette localisation explique que les récepteurs s'expriment à la fois chez les mâles et les femelles. Dans l'espèce humaine, le mutant  $X_0$  est déficient pour ce gène. Les mâles  $X_0Y$  possèdent des gonades mâles, sécrètent de la testostérone, mais sont incapables de l'utiliser. En revanche, ces patients sont capables de fixer les oestrogènes produits par les surrénales et développent un appareil génital femelle ; on parle du syndrome Tfm (Testicular feminisation) (Gilbert, (96) et Le Moigne, (157)).

Cependant, si la testostérone est indispensable à la différenciation des canaux de Wolff, il semble que ce soit un de ses métabolites, la 5-dihydrotestostérone, qui permette la différenciation des gonflements uro-génitaux et du sinus en pénis et scrotum, ainsi que la formation de la prostate (Gilbert, (96)) (figure 16). Les individus déficients pour l'enzyme qui permet cette transformation de la testostérone en 5-dihydrotestostérone ont un appareil génital externe femelle avec une poche vaginale et un clitoris hypertrophié ; l'appareil interne est de type mâle (Imperato Mac Ginley, 1974, cité par Gilbert, (96)).

*La différenciation de l'appareil génital mâle nécessite la présence de testostérone élaborée par les cellules de Leydig et réduite en 5-dihydrotestostérone.*

*La synthèse de la testostérone augmentera lors de la puberté pour stimuler l'apparition des caractères sexuels secondaires et activer la spermatogenèse (Le Moigne, (157)).*

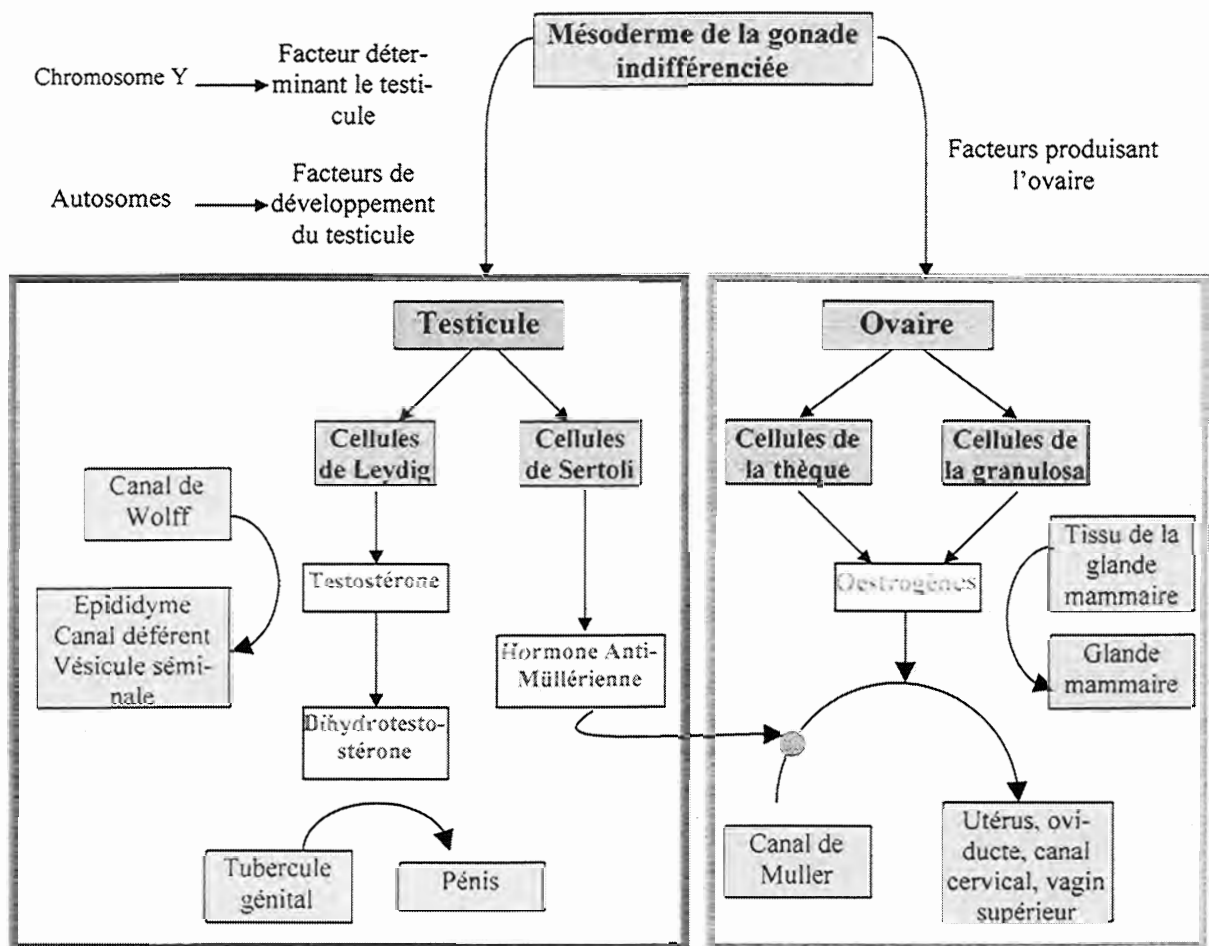
### **I.2.2.c. Hormone anti-müllérienne**

Encore appelée MIS (Mullerian Inhibiting Substance) ou MIF (MI Factor), l'AMH a été identifiée en 1973 (Josso, 1973, cité par Josso, (134)). Elle n'a été isolée et purifiée qu'en 1981 (Josso, 1981, cité par Jost, (135)). Il s'agit d'une glycoprotéine synthétisée par le testicule, dans les cellules de Sertoli immatures (Tran, 1977, cité par Gilbert, (96)). Cette hypothèse a été confirmée en 1993 : la destruction des cellules germinales et l'élimination des cellules de Leydig n'entraînent en rien l'activité anti-müllérienne.

L'AMH intervient, chez le mâle, dans la régression des canaux de Müller. Son élaboration dans les testicules n'a lieu qu'après la formation des tubes séminifères (Josso, 1993, cité par Josso, (134)). La production se poursuit pendant toute la vie du fœtus mâle et est maximale lors de la régression des canaux de Müller ; la synthèse persiste au-delà la naissance et diminue à la puberté (Le Moigne, (157)).

L'AMH est codée par un gène porté par le chromosome 19 humain (Cate, 1986, cité par Josso, (134)). Lorsque ce gène est muté, chez un embryon mâle, les canaux de Müller persistent sous forme d'utérus et de trompes de Fallope (Knebelmann, 1991 et Rosenthal, 1991, cités par Erikson, (82)). Par contre, les canaux de Wolff évoluent normalement (Erickson, (82)). De plus, quand on incube des fragments de testicules fœtaux ou des cellules de Sertoli avec des fragments de canaux de Wolff ou de Müller, on constate une atrophie des canaux de Müller, alors que les canaux de Wolff ne sont pas modifiés (Gilbert, (96)). L'AMH n'est donc pas impliquée dans la différenciation mâle, elle intervient comme une hormone anti-féminisante.

La synthèse de l'AMH est indépendante de la présence de hCG (Josso, (134)). Comme elle est essentiellement exprimée dans le testicule, on a d'abord pensé que ceci découlait de l'action du SRY (Haqq, 1994, cité par Jay, (132)), mais l'expression du SRY semble trop



**Figure 17:** *Le déterminisme secondaire du sexe des Mammifères*

En présence du chromosome Y la gonade indifférenciée évolue en testicule. Les cellules du testicule forment des hormones qui induisent la différenciation de l'organisme en mâle. En l'absence du chromosome Y, les gènes responsables de la formation de l'ovaire sont actifs ; l'ovaire produit des oestrogènes qui entraînent la différenciation femelle. (D'après Gilbert, (96)).



précoce par rapport à celle du gène de l'AMH (Münsterberg, 1991, cité par Josso, (134)). L'expression de l'AMH est en fait régulée par le gène SF1. Si SF1 est inactivé chez un fœtus mâle, les cellules de Sertoli ne forment plus d'AMH et les canaux de Müller persistent (Cassier, (47)).

Bien qu'indispensable au développement de l'appareil mâle, l'AMH est également synthétisée par l'ovaire, dans les cellules de la granulosa. Cette production reste très faible et constante au cours de la vie fœtale et n'entrave pas l'évolution des canaux de Müller (Josso, (134)).

En revanche, chez les freemartins, le passage de l'AMH du fœtus mâle chez la femelle en quantité suffisante entraîne une masculinisation des ovaires.

L'AMH inhibe la synthèse des œstrogènes (Cassier, (47)) en bloquant la synthèse de l'aromatase (enzyme nécessaire à la formation des œstrogènes à partir des androgènes). Ceci a également été constaté dans les cellules de Sertoli. Elles ont en effet des récepteurs sensibles à l'AMH, ce qui indique une activité autocrine des cellules de Sertoli et un rôle local de l'AMH (Rouiller-Fabre, (233)).

*L'évolution des canaux de Wolff et de Müller du fœtus mâle est conditionnée par la présence de deux hormones, la testostérone et l'AMH. En l'absence d'un de ces facteurs l'appareil génital évolue dans le sens femelle.*

#### **I.2.2.d. Développement des voies génitales femelles**

Chez la femelle, le développement génital est plus tardif que chez le mâle ; on peut considérer qu'il s'effectue par défaut, en l'absence de facteur masculinisant ou anti-féminisant.

Pourtant, on constate chez l'embryon femelle une synthèse d'androgènes. Mais l'effet des faibles quantités de testostérone produite par les surrénales est inhibé par la production de progestérone par les cellules ovariennes (cellules de la thèque) (Le Moigne, (157)).

Les œstrogènes produits par l'ovaire ne font que favoriser le développement des canaux de Müller. Comme chez le mâle, leur synthèse est sous la dépendance des hormones hypophysaires. Les expériences d'hypophysectomie de fœtus femelles montrent une diminution de l'activité ovarienne, mais restent sans influence sur le développement des voies femelles (Cassier, (47)).

*Le développement sexuel des Mammifères s'effectue en deux temps : au départ, le déterminisme primaire, ou génétique, fixé par la fécondation engage les gonades indifférenciées dans la formation soit des testicules, soit des ovaires. Au cours du déterminisme secondaire, les gonades contrôlent l'évolution des voies génitales et du phénotype par le biais des hormones qu'elles produisent (figure 17).*

### **I.3. Anomalies du développement sexuel des Mammifères**

Normalement, le sexe génétique détermine les gonades et s'accorde avec le phénotype.

Toutefois, résultant d'une cascade complexe d'événements, le développement sexuel peut présenter des anomalies qui ne sont généralement pas létales (George, (92)). Elles interviennent soit au niveau du déterminisme primaire, soit lors de la différenciation des gonades, ou encore lors de l'évolution de l'appareil génital.

#### **I.3.1. Les manifestations cliniques rencontrées lors d'anomalies du développement**

##### **I.3.1.a. Cas de l'hypogonadisme**

On distingue deux grands types de développement sexuel anormal. Il s'agit d'abord de l'hypogonadisme : la cohérence entre les sexes chromosomique, et phénotypique est préservée, mais les gonades sont non fonctionnelles ou aplasiques. Ces pathologies s'accompagnent le plus souvent d'une infertilité.

Le phénotype n'est que faiblement modifié. Certains individus atteints ont un appareil génital d'apparence normale, mais parfois un peu petit. D'autres, en revanche ont un appareil reproducteur immature et un impubérisme (dans l'espèce humaine, ceci se manifeste par une absence de pilosité pubienne et axillaire, une poitrine infantile chez les filles à la puberté). Les gonades sont généralement de petite taille et contiennent peu, voire pas, de cellules germinales (Thompson, (270)).

##### **I.3.1.b. Les animaux intersexués**

D'autres anomalies du développement sexuel, plus sévères, entraînent une incohérence entre l'appareil reproducteur et le sexe chromosomique, ou bien confèrent à l'individu un appareil génital ambigu (mélange des caractères mâles et femelles). On parle alors d'intersexualité.

Il s'agit d'un phénomène bien caractérisé chez l'homme. Chez les animaux de rente, l'intersexualité est depuis longtemps observée chez les Bovins freemartins, les porcs et les Caprins. Cette anomalie est aussi décrite chez les Ovins, les Equidés et les chiens, mais semble plus rare dans ces espèces (Chaffaux, (48)).

Depuis 1876, on reconnaît deux grands types d'intersexualité (Klebs, 1876, cité par Winter, 1977) :

✱ l'hermaphrodisme vrai ou intersexualité gonadique qui fait coexister des tissus ovariens et testiculaires.

✱ le pseudo-hermaphrodisme caractérisé par la présence de gonades d'un sexe et d'un appareil reproducteur de l'autre sexe. On parle aussi d'intersexualité tubulaire (Chaffaux, (48)). Cette catégorie se subdivise en pseudo-hermaphrodisme mâle lorsque les gonades sont des testicules. Quand il s'agit d'ovaires, on parle de pseudo-hermaphrodisme femelle.

Cette distinction entre les différents degrés d'intersexualité s'appuie à la fois sur le phénotype de l'animal, et sur l'examen histologique des gonades.

#### I.3.1.b.1. L'hermaphrodisme vrai

On définit l'intersexualité gonadique, comme la coexistence, chez un animal d'une espèce gonochorique, de tissu ovarien (caractérisé par la présence de follicules) et de tissu testiculaire (marqué par la formation de tubes séminifères distincts). Ceci s'accompagne d'un appareil génital plus ou moins ambigu, plus ou moins masculinisé (Guerra, (104)). Les gonades sont toujours intra-abdominales .

##### *et* Gonades observées chez les hermaphrodites

On distingue trois sortes d'hermaphrodites vrais en fonction du type de gonades que l'on peut mettre en évidence.

##### \*L'hermaphrodisme latéral :

Cette anomalie correspond à la présence d'un testicule d'un côté de l'appareil génital et d'un ovaire de l'autre côté. Cette forme d'intersexualité concerne 40% des hermaphrodites humains (Guerra, (104)). On peut parfois observer la coexistence de deux testicules et de deux ovaires chez un même individu (Chaffaux, (48)).

##### \*L'hermaphrodisme unilatéral :

Il est défini par la présence d'un ovotestis -c'est à dire que la même gonade est constituée de tissu ovarien et de tissu testiculaire, le tissu mâle étant au centre de la gonade (Meyers-Wallen, 1987, cité par Meyers-Wallen, (180))- d'un côté ; de l'autre côté de l'appareil génital, se trouve un testicule ou un ovaire. Ces caractéristiques se rencontrent chez 30% des humains hermaphrodites (Guerra, (104)).

##### \*L'hermaphrodisme bilatéral :

Les deux gonades observées chez l'individu affecté sont des ovotestis. 20% des humains hermaphrodites présentent cette structure gonadique (Guerra, (104)).

##### *et* Phénotype des hermaphrodites vrais

D'un point de vue phénotypique, les hermaphrodites vrais sont classés, dans l'espèce humaine, en trois catégories : on distingue tout d'abord les sujets féminins. Ils sont caractérisés par une pilosité pubienne de type féminin, une tendance à l'hypertrophie clitoridienne, un vagin court et un utérus normal ou hypoplasé.

A l'opposé, on trouve des patients masculins, ayant un pénis normal (avec possibilité d'érection et d'éjaculation), ou bien un hypospadias. On observe toujours une azoospermie.

Le dernier groupe est constitué d'individus d'apparence ambiguë : la poitrine reste infantile, la menstruation est plus ou moins présente. Le clitoris est hypertrophié voire péniforme, ou bien forme un pénis avec un hypospadias. Le vagin est plus ou moins anormal (Minh, (186)).

Chez l'animal, Meyers-Wallen a également identifié différentes catégories d'animaux hermaphrodites vrais en fonction de leur phénotype (Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180)).

Ce développement particulier de l'appareil reproducteur est lié à l'action des gonades. En effet, on sait que le tissu testiculaire présent chez un hermaphrodite est fonctionnel : il est capable de produire de l'AMH et de la testostérone. Malgré la présence d'AMH, synthétisée par les cellules de Sertoli de l'ovotestis ou du testicule, l'utérus dérivé des canaux de Müller se développe le plus souvent normalement (Meyers-Wallen, 1987, cité par Meyers-Wallen, (180)). Cependant, dans certains cas décrits chez le chien, l'utérus peut être anormal, voire partiellement absent (Alexon, (7) et Medleau, (176)). Meyers-Wallen a décrit un cheval hermaphrodite dépourvu de canaux de Müller (on n'a pu mettre en évidence qu'un utérus vestigial) (Meyers-Wallen, (182)). Si le développement utérin semble peu affecté par la présence d'AMH, cette hormone induit une régression dose dépendante des oviductes. Ceci nécessite donc une proportion de tissu testiculaire suffisante dans la gonade. De même, la quantité de tissu mâle chez un individu hermaphrodite conditionne la formation des épидидymes (Meyers-Wallen, 1987, cité par Meyers-Wallen, (180)).

La suspicion d'hermaphroditisme repose, le plus souvent, sur la présence d'un appareil génital externe ambigu (Chaffaux, (48), Thompson, (270) et Guerra, (104)). Dans ce cas, l'hermaphroditisme est souvent diagnostiqué à la naissance (Thompson, (270)).

#### *et* L'hermaphroditisme et la fonction de reproduction

Dans certains cas, l'hermaphroditisme n'interdit pas la reproduction : dans la mesure où l'individu possède un ou deux ovotestis, des oviductes bilatéraux et un appareil génital femelle normal, il peut avoir des descendants et se reproduit comme une femelle. Ceci s'explique par l'étude histologique des gonades : en effet, dans un ovotestis, on a fréquemment observé que le tissu testiculaire est immature alors que le tissu ovarien est normal (Krob, (146)). Des gestations sont donc possibles chez les hermaphrodites. Des cas ont été décrits chez le chien (Selden, (242) ; Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180)). Dans l'espèce humaine, Talerman a rapporté le cas d'une grossesse menée à terme chez un patiente ayant deux ovotestis (Talerman, (263)).

L'hermaphroditisme vrai est un phénomène rare ; chez l'homme, cette anomalie du développement sexuel concerne moins de 10% des patients intersexués (Damiani, (70) ; Walker, (282)). Il s'agit également d'une pathologie rare chez les Mammifères domestiques (Cribiu, (66)).

#### I.3.1.b.2. Pseudo-hermaphroditisme mâle

Il s'agit de la forme d'intersexualité la plus fréquemment rencontrée chez les Mammifères (Chaffaux, (48) et Cribiu, (64)). Les individus présentant cette anomalie du développement sexuel possèdent toujours des testicules plus ou moins fonctionnels et un appareil génital interne et externe le plus souvent ambigu.

#### *et* Gonades observées chez les pseudo-hermaphrodites mâles

Les testicules sont localisés en différents endroits. Ils peuvent être intra-abdominaux, plus ou moins situés à la place des ovaires, ou bien l'un abdominal et l'autre scrotal ou engagé dans le canal inguinal ; dans d'autres cas, ils peuvent se situer tous les deux en position

« scrotale » ou inguinale (Crihiu, (65)). Ces observations se retrouvent chez l'homme et dans différentes espèces animales (notamment chez le chien, le cheval).

Les testicules des animaux pseudo-hermaphrodites conservent, la plupart du temps, leurs capacités sécrétrices. Des études chez le chien révèlent que les concentrations sériques de testostérone sont intermédiaires entre celles observées chez une femelle et celles d'un mâle normal. On peut cependant ajouter que les testicules de ces mâles intersexués sont moins sensibles à la stimulation par l'hCG. Les concentrations sériques œstrogènes sont proches des valeurs usuelles des mâles, alors que les taux de progestérone ressemblent à ceux d'une femelle en anœstrus (Crihiu, (66)).

On constate cependant que, dans certains cas de pseudo-hermaphrodisme mâle, les testicules sont dysgénésiques et réduits à une simple bandelette fibreuse, regroupant quelques cellules proches des cellules de Leydig. Ces gonades ne contiennent pas de cellules de Sertoli. Une telle structure cellulaire explique que les testicules, ne synthétisant pas d'AMH, et ne formant que peu de testostérone, sont responsables d'une virilisation très minime de l'appareil génital (Minh, (186)).

Il faut noter que, comme chez tous les cryptorchides, les testicules ectopiques ont tendance à se tumorer. Les Sertolinomes sont fréquemment observés et constituent le motif principal de consultation dans l'espèce canine, la découverte du pseudo-hermaphrodisme étant souvent fortuite et secondaire à une tumeur testiculaire (Howard, (118)).

#### *et* Appareil génital des pseudo-hermaphrodites mâles

Lors de cette anomalie du développement, l'atteinte phénotypique est variable, allant de l'individu d'apparence normale à un individu sexuellement indéterminé.

Chez l'homme, on détermine 5 catégories de pseudo-hermaphrodites mâles en fonction de leur phénotype : la première regroupe les personnes dont l'appareil génital externe est celui d'une femme totalement normale, mais le vagin est borgne; l'appareil reproducteur interne est celui d'un mâle normal (on ne peut trouver que des dérivés de canaux de Wolff). A la puberté, ces patients mettent en place des caractères sexuels secondaires féminins avec un développement de la poitrine. En revanche, ils présentent une aménorrhée. Cette anomalie est associée au syndrome du testicule féminisant (Meyers-Wallen, 1987, cité par Meyers-Wallen, (180) et Minh, (186)).

Le deuxième groupe réunit les patients de phénotype essentiellement féminin qui ne se masculinisent qu'à la puberté. L'appareil génital interne est mâle, et les dérivés wolffiens sont normaux.

Ensuite, on définit les pseudo-hermaphrodites mâles d'apparence féminine qui ne se virilisent pas à la puberté et ont une aménorrhée primaire. L'appareil génital interne est femelle (les dérivés des canaux de Müller sont normaux).

Une quatrième classe regroupe les sujets de phénotype féminin qui ne développent aucun caractère sexuel secondaire à la puberté.

Enfin, lorsque l'apparence est masculine et normale, mais que les dérivés des canaux de Müller sont présents en même temps que les dérivés des canaux de Wolff, on parle de pseudo-hermaphrodisme mâle interne (Minh, (186)).

Cette classification des formes de pseudo-hermaphrodisme mâle peut être en partie appliquée aux animaux domestiques.

Cependant, on peut constater que chez le chien, lorsque le phénotype mâle domine, il est parfois lié à différents degrés d'hypospadias, à des anomalies du prépuce et du scrotum.

L'évolution des canaux de Wolff se manifeste chez les pseudo-hermaphrodites mâles par la présence d'épididymes, parfois de canaux déférents et quelque fois, par la formation de la prostate. Quand le phénotype est essentiellement femelle, le clitoris est la plupart du temps hypertrophié et la vulve est modifiée. La persistance des canaux de Müller, quand elle existe, se traduit par un développement utérin plus ou moins marqué, ce qui explique que chez le chien, le motif de consultation menant au diagnostic d'intersexualité tubulaire mâle, est parfois un pyomètre (Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180)).

Le pseudo-hermaphrodisme mâle est associé à une infertilité, du moins lorsque les testicules sont internes : même si on retrouve quelques spermatogonies dans les gonades, on a toujours une azoospermie en raison de la cryptorchidie (Chaffaux, (51)). Un seul cas de spermatogenèse active a été décrit chez le chien (l'animal présentait un phénotype essentiellement mâle, mais le fourreau était partiellement formé ; le chien avait une vulve rudimentaire) (Chaffaux, (48)).

### I.3.1.b.3. Pseudo-hermaphrodisme femelle

Cet état intersexué est rare (Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180) ; Chaffaux, (50)). Il est systématiquement associé à la présence d'ovaires et d'un appareil génital interne femelle. Les canaux de Wolff sont toujours absents. En revanche, l'appareil reproducteur externe est masculinisé (Minh, (187)).

#### *et* Ovaires et appareil génital interne des pseudo-hermaphrodites femelles

Les ovaires des pseudo-hermaphrodites femelles sont fonctionnels. Dans la mesure où il n'y a pas d'AMH (cf. absence de tissu testiculaire), le tractus génital interne correspond à celui d'une femelle : les canaux de Wolff sont absents, les canaux de Müller parfaitement formés.

#### *et* Phénotype des pseudo-hermaphrodites femelles

Prader a établi en 1954 une classification des pseudo-hermaphrodites femelles en fonction du degré de masculinisation de l'appareil génital externe. Ceci s'applique à l'espèce humaine. Il a distingué 5 groupes d'anomalies :

Le premier type correspond à des femmes d'apparence quasiment normale, à l'exception d'un clitoris un peu hypertrophié.

Le deuxième groupe est formé d'individus dont le clitoris est hypertrophié et la vulve anormale (les petites lèvres rappellent un scrotum).

Selon Prader, la troisième catégorie est constituée par des femmes dont le clitoris est très développé, les grandes lèvres semblent former un scrotum fendu.

Le quatrième type correspond à l'apparition d'un clitoris péniforme, ou un pénis avec un hypospadias, le vagin est très près du périnée ; les lèvres vulvaires ressemblent à un scrotum.

Le dernier cas représente le plus grand degré de masculinisation : le clitoris rappelle un pénis, le scrotum paraît bien formé (Prader, 1954, cité par Minh, (187)). Ce dernier type n'est que rarement décrit (Minh, (187)).

La seule anomalie observée dans le pseudo-hermaphrodisme femelle est d'ordre phénotypique et concerne l'appareil reproducteur externe ; d'ailleurs, dans l'espèce humaine,

la correction chirurgicale des anomalies phénotypique, et le traitement étiologique dans les cas d'hyperplasie congénitale des surrénales (associé au premier degré de la classification de Prader), permet aux patientes de retrouver une sexualité et une fertilité normale (Minh, (187)).

Chez les animaux domestiques, on retrouve les mêmes degrés de modifications phénotypiques (Chaffaux, (50) ; Meyers-Wallen, (180)).

Cette pathologie est liée à une exposition excessive des fœtus femelles à des androgènes endogènes ou exogènes (Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180) ; Minh, (187) ; Thompson, (270)).

Il faut noter que quelques cas humains sont les conséquences d'un traitement de la mère par différentes molécules en vue de prévenir un avortement (Reyes-Rivera, (229)). Ces accidents sont rares chez l'homme. Par contre, chez les animaux, et notamment les chiens, le pseudo-hermaphrodisme femelle reconnaît souvent une origine iatrogène : il résulte de l'administration de substances dopantes à activité androgénique sur des femelles gestantes (Howard, (118) ; Olson, (206) ; Chaffaux, (50)).

Les anomalies du développement sexuel des Mammifères se retrouvent associées à différents caryotypes et ont soit une étiologie exogène, soit une origine génétique.

L'essentiel des causes exogènes iatrogènes a été évoqué dans le paragraphe précédent et n'intéressent qu'une partie des pseudo-hermaphrodites femelles.

Les autres cas d'anomalies du développement sexuel, qu'il s'agisse d'hypogonadisme ou d'intersexualité, ont des explications génétiques variées dont la présentation fait l'objet du chapitre suivant.

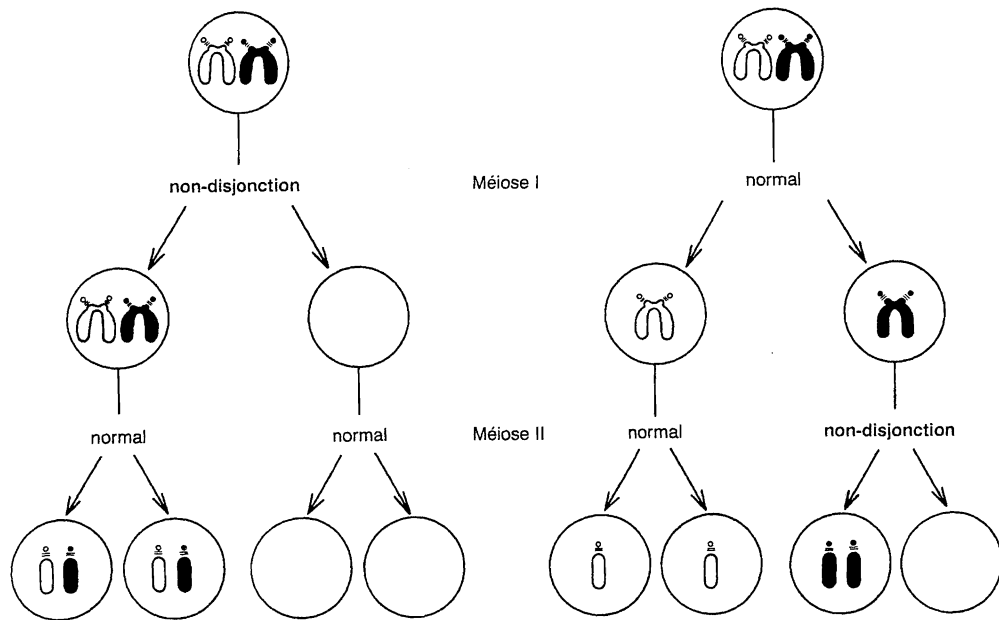
### **I.3.2. Etiologie génétique des anomalies du développement sexuel des mammifères**

Les caryotypes observés lors d'anomalies du développement sexuel peuvent être équilibrés ou présenter une aneuploïdie (anomalie de nombre) des gonosomes.

D'autre part, chez certains intersexués, on peut retrouver différentes lignées cellulaires (le plus souvent, deux lignées cellulaires, respectivement de caryotype XX et XY). Ces mélanges de populations peuvent avoir deux origines : lorsque les cellules de différents caryotypes présentes chez l'individu sont issues d'un même zygote, on parle de mosaïcisme. La plupart du temps, la mosaïque se retrouve dans tous les tissus. En revanche, lorsque les différentes lignées coexistent dans le même organisme sont issues de deux, voire plusieurs zygotes, on est en présence d'une chimère (Bertrand, (17)). Dans ce cas, le chimérisme concerne les cellules du sang, et les cellules du tissu hématopoïétique (Ohno, 1962, cité par Bertrand, (17)).

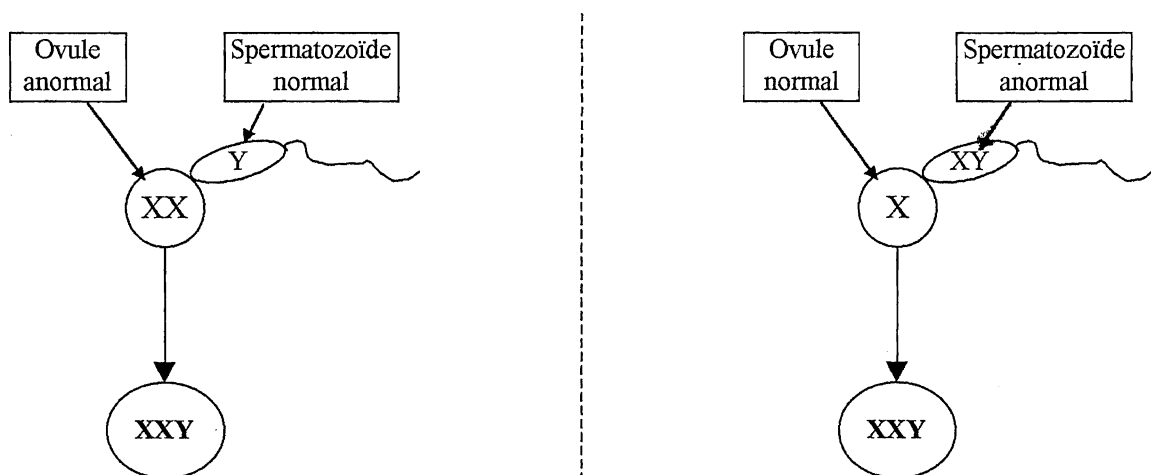
#### **I.3.2.a. Aneuploïdie des chromosomes sexuels et leurs mosaïques**

Les anomalies du nombre des gonosomes sont le plus souvent liées à des erreurs de migration (non-disjonction) des chromosomes sexuels lors de la méiose, ou lors des mitoses dans les cellules du zygote. La cohérence entre le sexe chromosomique, le sexe gonadique et le phénotype est le plus souvent respectée. Ces anomalies sont à l'origine d'un hypogonadisme (Howard, (118) ; Meyers-Wallen, (180)).



**Figure 18 :** *Gamétogenèse anormale chez les Mammifères : conséquences des non-disjunctions.*

Méiose I à gauche ; méiose II à droite. Si l'erreur survient en méiose I, les gamètes contiennent soit un chromosome paternel et maternel de la même paire, soit sont dépourvus d'un chromosome. Une anomalie de la méiose II entraîne la présence de 2 copies d'un chromosome parental dans un gamète ( et aucune copie dans l'autre). (D'après Thompson, (270))



**Figure 19:** *Mécanismes expliquant le caryotype des individus Klinefelter*



Certains cas d'aneuploïdie peuvent cependant être associés à des formes d'intersexualité.

La majeure partie des études réalisées concernent l'espèce humaine, pour laquelle on reconnaît quatre grands syndromes liés à une anomalie du sexe chromosomique.

#### I.3.2.a.1. Caryotype XXY (Syndrome de Klinefelter) et ses formes dérivées

##### *et* Le Syndrome de Klinefelter et hypogonadisme

Chez l'homme, ce syndrome atteint un enfant pour 800 naissances (Abramsky, (2)). Malgré un phénotype masculin, les patients 47, XXY sont le plus souvent caractérisés par une hypoplasie testiculaire bilatérale, associée à une dégénérescence des tubes séminifères (Mac Feely, (166)). Ces individus XXY sont dépourvus de gamètes fonctionnels. Ils peuvent également avoir un certain degré de gynécomastie dès la puberté, marqué par le développement des glandes mammaires, alors que l'appareil reproducteur reste infantile (Winter, (290)). Leur développement mental semble un peu inférieur à celui des mâles normaux (Abramsky, (2)). Certains peuvent manifester des troubles du comportement, en particulier de l'agressivité (Debray, 1972, cité par Bertrand, (18)).

Le Syndrome de Klinefelter résulte d'un défaut de migration des chromosomes sexuels lors de la méiose I du père ou de la mère (respectivement dans 50% et 33% des cas), ou bien de non-disjonction lors de la méiose II ou au moment de la première mitose dans le zygote (27% des cas) (Thompson, (270)) (figures 18 et 19).

On associe à ce syndrome les patients dont le caryotype est 48, XXYY ou 48, XXXY ou encore 49, XXXXY.

La présence des ces X supplémentaires s'accompagne d'anomalies du développement sexuel et d'un retard mental encore plus accusés que chez les mâles XXY (Thompson, (270)).

L'équivalent de cette pathologie a été observé dans différentes espèces animales. Elle est depuis longtemps chez les chats mâles tricolores, de robe dite «écaille et blanc» (possédant les allèles blanc, noir et jaune). Dans l'espèce féline, le couple d'allèles correspondant au noir et au jaune est porté par le X ; de ce fait, seules les femelles hétérozygotes peuvent être tricolores et les mâles sont normalement bicolores. Les mâles tricolores sont XXY et présentent une hypoplasie testiculaire (Thuline, (271) ; Norby, 1964, cité par Bertrand, (18)).

Des cas ont enfin été rapportés chez les Bovins (voir par exemple, Sysa, (262) ; Molteni, (189)).

On a pu également étudier cette anomalie chez le chien. Le premier cas a été rapporté par Clough en 1970 ; il s'agissait d'un Pointer Allemand de 15 mois présentant une hypoplasie testiculaire et une azoospermie (Clough, (57)). Plus tard, en 1982, cette anomalie caryotypique a été mise en évidence chez un Schnauzer nain ; âgé de 9 ans et cryptorchide, le chien avait un Sertolinome (Marshall, (174)). Le cas le plus récent concerne un Norwich terrier de 21 mois ; il a été examiné pour infertilité due à une azoospermie, malgré une libido normale. Les testicules étaient hypoplasiques (Nie, (199)).

L'équivalent du syndrome de Klinefelter au sens strict n'a été rencontré dans l'espèce équine que deux fois. Le premier cas a été étudié par Kubien en 1993. L'animal affecté présentait les mêmes caractéristiques que les patients Klinefelter humains ; âgé de 9 ans, le cheval ressemblait à un hongre, le scrotum était absent. Les testicules en position sous-

cutanée étaient petits et d'une consistance molle alors que les épидидymes, le pénis et le prépuce étaient normalement développés. L'animal ne manifestait aucun intérêt pour les femelles. Les taux de testostérone et d'œstradiol étaient anormalement bas pour un mâle, mais plus élevés que ceux d'un hongre. Les 150 métaphases observées ont révélé un caryotype XXY (Kubien, (147)).

Le second cas a été rapporté par Mäkinen. Il s'agissait d'un trotteur Français de 4 ans, présentant un phénotype et un comportement d'étalon normal, mais infertile ; de plus dans les testicules, on a pu noter une faible quantité de tubes séminifères et une absence de cellules germinales; le caryotype de cet animal était 65XXY (Mäkinen, (172)).

#### *et* Caryotype XXY (ou dérivés) et pseudo-hermaphrodisme mâle

Le caryotype XXY a été associé, chez le chien, à un état de pseudo-hermaphrodisme mâle (Marshall, (174)). L'animal, un Schnauzer atteint d'un sertolinome, avait une apparence de mâle (le pénis et le prépuce étaient développés), mais présentait une féminisation de l'appareil interne (présence d'un utérus) et un certain degré de gynécomastie. On a également identifié des épидидymes d'apparence normale, associés à des testicules intra-abdominaux (Marshall, (174)).

Des cas ont également été rapportés chez le cheval : Gluhovschi a notamment décrit une « jument » présentant une agressivité vis à vis des autres chevaux. L'examen clinique avait révélé la présence d'une vulve et d'un micropénis. Un utérus infantile avait été mis en évidence lors de la laparotomie exploratrice. Les testicules hypoplasiques étaient situés dans l'anneau inguinal. Le caryotype de cet animal pseudo-hermaphrodisme mâle était 66XXXXY (Gluhovschi, (98)).

#### *et* Hermaphrodisme

Hadjiathanasiou a rapporté le cas d'un patient présentant un hermaphrodisme vrai associé au caryotype XXY. Le signe d'appel était un appareil reproducteur externe modifié (Hadjiathanasiou, (105))

#### *et* Mosaïques XX/XXY ou X0/XX/XXY

Ce type de mosaïque a été décrite dans de rares cas d'hypogonadisme humain (Tharapel, 1983, cité Power, (222) ; Thompson, (270)).

Il semble plus fréquente chez les animaux et entraîne différentes formes d'intersexualité.

#### \*Pseudo-hermaphrodisme mâle

Le caryotype XX/XXY a été identifié dans différents cas de pseudo-hermaphrodisme mâle chez le cheval : Bouters a notamment étudié un Poney Welsh d'apparence femelle présentant un clitoris péniforme, un vagin borgne ; il avait un comportement d'étalon (Bouters, (24)). Ce même auteur a également rapporté le cas d'un autre Poney Welsh (64 XX/65 XXY), considéré comme une femelle et possédant un pénis hypoplasique, un petit vagin, mais pas d'utérus ; l'animal cryptorchide manifestait un comportement d'étalon (Bouters, (25)). Fretz a décrit un peu plus tard le cas d'une « jument » Arabe présentant le même phénotype que le cheval précédent ; elle avait un caryotype 63 X0/64 XX/65 XXY (Fretz, (88)). Enfin, Power a rapporté le cas d'un Pur-sang 64 XX/96 XXY. Agé de 3 ans et

agressif vis à vis des autres chevaux, l'animal présentait un clitoris hypertrophié, un vagin vestigial. Les testicules palpables dans la région inguinale étaient constitués de tissu mâle dégénéré (Power, (222)).

Plusieurs auteurs ont décrit des cas de pseudo-hermaphrodisme mâle chez des chiens XX/XXY. L'un ressemblait à une femelle avec un clitoris péniforme et un utérus (Allen, (8)). Dans le deuxième cas, le phénotype mâle dominait, le chien présentant pénis et une monorchidie (présence d'épididymes et de canaux déférents). L'appareil interne était formé d'un utérus (Dain, (69)).

#### \*Hermaphrodisme et mosaïque XX/XXY

Des hommes hermaphrodites de caryotype XX/XXY ont été identifiés par Hadjiathanasiou ; ils avaient un appareil génital ambigu (Hadjiathanasiou, (105)).

Cette condition a été décrite dans différentes espèces animales : on la retrouve notamment chez un cheval de phénotype femelle présentant une hypertrophie clitoridienne et un comportement agressif ; les gonades identifiées étaient des ovotestis (Nes, 1966, cité par Power, (222)).

D'autres animaux, d'aspect mâle (possédant un pénis normal, un scrotum) ont été rapportés dans l'espèce bovine : la « génisse » avait un ovaire et un ovotestis (Dunn, 1970 cité par Dunn, (77)). Chez le chien, Dain a décrit un mâle hermaphrodite et XX/XXY. Deux ovotestis, et utérus ont été mis en évidence chez cet animal, qui par ailleurs ne possédait pas de dérivé des canaux de Wolff (Dain, (69)).

#### et Mosaïque XY/XXY ou X0/XY/XXY

Quelques cas ont été identifiés dans l'espèce humaine (Tharapel, 1983, cité Power, (222)). La plupart du temps, ces mosaïques semblent peu affecter le phénotype et passent souvent inaperçues, leur seule manifestation étant une infertilité (Power, (222)).

Cette anomalie a également été identifiée dans certains cas d'intersexualité chez les animaux domestiques.

#### \*Pseudo-hermaphrodisme mâle

Mäkinen a récemment rapporté le cas d'un trotteur Américain de 11 ans présentant une apparence d'étalon normal, mais infertile ; l'étude histologique de ses testicules a révélé un arrêt de la spermatogenèse dès les premiers stades ; l'animal était une mosaïque 64 XY/65 XXY (Mäkinen, (172)).

#### \*Hermaphrodisme et mosaïque X0/XY/XXY

Le cas d'un cheval très masculinisé (présence d'un pénis, d'un prépuce normaux, mais également d'une pseudo-vulve et d'un petit utérus) a été étudié par Dunn ; les gonades intra-abdominales étaient des ovotestis (Dunn, (78)).

#### et Autres mosaïques comportant une lignée cellulaire XXY

Dans l'espèce équine, on rapporte d'autres mosaïques associées au pseudo-hermaphrodisme mâle. Dunn a décrit, par exemple, le cas d'un cheval ressemblant à un hongre, mais ayant un comportement d'étalon ; le caryotype était XX/XY/XXY (Dunn, (77)).

Une mosaïque X0/XX/XY/XXY a été observée chez un cheval monorchide présentant une vulve et un micropénis (Basrur, (12)).

#### I.3.2.a.2. Caryotype XYY

Ce Syndrome semble plus rare chez l'homme et affecte un enfant sur 1000. Le phénotype de ces patients est peu altéré. Ils présentent néanmoins un retard de croissance et des troubles du comportement (Abramsky, (2)). On leur reconnaît une agressivité marquée (Jacobs, 1968, cité par Thompson, (270)). Ces personnes ont une fertilité normale et des descendants normaux (nombre normal de gonosomes).

Cette pathologie serait liée à une non-disjonction lors de la méiose II de la spermatogénèse, produisant des gamètes YY (Thompson, (270)).

#### *et* Hermaphrodisme et mosaïque X0/XYY

Des cas de mosaïcisme X0/XYY ont été rapportés dans l'espèce humaine ; ce caryotype a été associé à un cas d'hermaphrodisme vrai chez un patient de phénotype féminin assimilé au troisième degré de la classification de Prader. On a pu identifier chez cette personne un testicule et un ovotestis (Guerra, (104)).

#### *et* Pseudo-hermaphrodisme mâle et mosaïque X0/XYY

Chez les animaux, le syndrome caractérisé par le caryotype XYY est très rare. Le plus souvent, les animaux atteints sont des mosaïques, ce qui conduit à un état intersexué (Bertrand, (18) et McFeely, (166)).

On rencontre cette anomalie chez certains chevaux pseudo-hermaphrodites mâles. Höhn a décrit un pur-sang d'un an, enregistré comme une femelle, mais ayant un pénis et un prépuce hypoplasiques et une cryptorchidie bilatérale. Le cheval avait développé un comportement d'étalon dès l'âge de 6 mois. Le caryotype a révélé la présence de 2 populations cellulaires, 63 X et 65 XYY (Höhn, (117)). Un deuxième cas a été identifié dans notre laboratoire et fera l'objet d'une présentation détaillée dans la partie expérimentale de ce travail.

#### I.3.2.a.3. Trisomie X

#### *et* Trisomie X au sens strict

Dans l'espèce humaine, les patientes affectées, de caryotype 47, XXX, semblent plus grandes que la moyenne, mais sans altération notable du phénotype. On note cependant qu'elles ont des difficultés d'apprentissage. La plupart d'entre elles ont une puberté et une fertilité normales (Thompson, (270)). Mais chez certaines, on observe un retard mental plus ou moins associé à une aménorrhée ou une ménopause précoce (Crihiu, (64)).

Ce caryotype résulte d'une erreur de migration des gonosomes lors de la méiose maternelle. On regroupe avec ce syndrome la tétrasomie X et la pentasomie X, toutes deux liées à une atteinte mentale et un dysmorphisme (Thompson, (270)).

Cette anomalie a également été mise en évidence chez des génisses (voir par exemple Popescu, 1990, cité par Mac Feely, (166)). En revanche, la trisomie X n'a été décrite qu'une fois dans l'espèce canine : chez une chienne de 5 ans infertile. Morte un an après l'étude

cytogénétique, la chienne a été autopsiée ; les ovaires étaient de taille et d'aspect normal et contenaient deux corps jaunes et des follicules primaires (Switonski, (260)).

Plusieurs cas ont été décrits chez des juments. Les phénotypes étaient comparables à celui d'une femelle normale (Chandley, (53) ; Crihiu, (64) ; Stewart-Scott, (255) ; Klunder, (142) ; Nie, (199) ; Mäkinen, (171)).

Par contre, en 1989, Moreno-Millan a rapporté le cas d'une jument 65 XXX intersexuée (l'appareil génital externe était formé d'une vulve et d'un micropénis) et des gonades ressemblant à des testicules, ce qui a permis de considérer l'animal comme un pseudo-hermaphrodite mâle (Moreno-Millan, (190)).

#### *et* Mosaïque incluant une population cellulaire XXX

Une mosaïque 64 XX/65 XXX a été observée chez une jument Arabe de 6 ans. Bien que régulièrement cyclée, la femelle était infertile. A la palpation, l'appareil génital était normal. Les ovaires, quant à eux, étaient de petite taille (Gill, (95)).

Une jument pur-sang de 2 ans, exceptionnellement grande, mais présentant une légère incoordination motrice a été étudiée en raison de son absence d'œstrus et de la petite taille de ses ovaires. Le caryotype a révélé une mosaïque 63 X0/65 XXX (94% de cellules X0 et 6% de cellules XXX) (Breen, (29)).

#### I.3.2.a.4. Caryotype X0

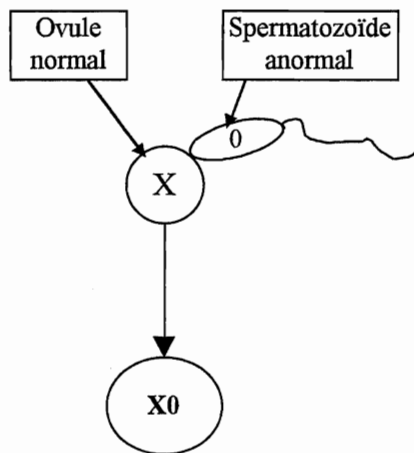
##### *et* Syndrome de Turner au sens strict : caryotype X0 et hypogonadisme

Le syndrome de Turner se rencontre lors d'une naissance sur 5000. Cette monosomie X est parfois appelée indifférenciation gonadique (Decourt, 1962, cité par Bertrand, (18)).

Les individus atteints sont de phénotype femelle (Ford, 1959, cité par Crihiu, (66)). Les enfants porteurs de cette anomalie sont identifiés très précocement (dans la plupart des cas, cette anomalie est repérée à la naissance, sinon avant l'âge de la puberté), en raison d'un phénotype très particulier. En effet, ces femmes sont de petite taille ; elles ont un cou court. Au niveau génital, elles présentent une atrophie ovarienne, une atrésie des cellules germinales et sont infertiles. Ce fait est lié à l'absence d'un chromosome X : dans certaines espèces gonochoriques qui ont un développement ovarien long et qui sont caractérisées par un délai important entre la formation des ovocytes et leur utilisation (comme c'est le cas, par exemple, dans l'espèce humaine, chez la jument ou la chienne), les animaux X0 ont peu de follicules et ils sont dépourvus d'ovocytes ; l'absence d'un X provoque une dégénérescence des cellules germinales (Burgoyne, 1976 et Migeon, 1977, cités par Chaffaux, (49)).

A ce phénotype sont associées des anomalies rénales et du système cardio-vasculaire. Sans affecter le développement mental, cette aneuploïdie entraîne une diminution de l'exécution motrice fine.

A la puberté, l'appareil génital reste infantile. Un traitement aux œstrogènes permet, en médecine humaine, de corriger le défaut de développement de l'appareil génital interne et externe, tout en favorisant l'apparition des caractères sexuels secondaires. Par contre, il ne permet pas de rétablir la fertilité.



**Figure 20:** *Mécanisme de survenue du syndrome de Turner.*

Dans le Syndrome de Turner, le X provient de l'ovocyte II. Le spermatozoïde est dépourvu d'hétérosome suite à une non-disjonction lors de la méiose (figure 20).

On constate que ce caryotype foetal est impliqué dans 18% des avortements spontanés chez la femme (Thompson, (270)).

Le Syndrome de Turner possède des équivalents chez les animaux domestiques. Si la monosomie X n'a pas été décrite chez la vache, elle a été observée chez les cochettes et les brebis (Mac Feely, (166)). C'est, en outre, une anomalie très fréquente chez la jument ; dans cette espèce, elle est responsable d'un phénotype très caractéristique, permettant d'établir une forte suspicion après un examen clinique : les juments, bien que de petite taille, ont un phénotype de femelle normale, mais n'ont pas de cycle sexuel. A la palpation, on peut constater que les ovaires sont petits, sans follicule ; le cervix et l'utérus sont flasques (Trommeshausen-Smith, (272)). De nombreux cas de juments X0 sont rapportés dans la littérature ; sur la centaine de chevaux présentant une anomalie du développement sexuel et recensés dans la bibliographie depuis les années 1960, un tiers sont des juments X0 (Chandley, (53), Hughes, (121-123) ; Bruere, (37) ; Metenier, (178), Buoen, (40-41) ; Cribiu, (64) ; Mäkinen, (170) ; Long, (160) ; Davies, (72)).

Dans l'espèce canine, des chiennes X0 d'apparence femelle normale ou avec un clitoris hypertrophié ont été décrites (Smith, (251) ; Löfstedt, (159)).

#### *et* Mosaïques incluant une population de cellules X0

En complément des cas précédemment cités, on peut évoquer d'autres mosaïques faisant intervenir une population cellulaire X0.

#### \*Hypogonadisme et mosaïque X0/XX

Dans l'espèce humaine 50% des patientes pour lesquelles le diagnostic de Syndrome de Turner est posé sont en fait des mosaïques, la population cellulaire X0 se trouvant le plus souvent associée à une population XX (15% des cas) (Thompson, (270)).

Des mosaïques 63X0/64XX ont également été diagnostiquées dans l'espèce équine (Chandley, (53) ; Hughes, (121-123) ; Cribiu, (64) ; Halman, (108) ; Reid, (227) ; Stewart-Scott, (255-256) ; Klunder, (142) ; Nie, (199)) ainsi qu'une mosaïque 63 X0/64 XX/65 XXX (Klunder,(142)). Dans ces cas, le phénotype est toujours femelle et on peut constater un hypogonadisme.

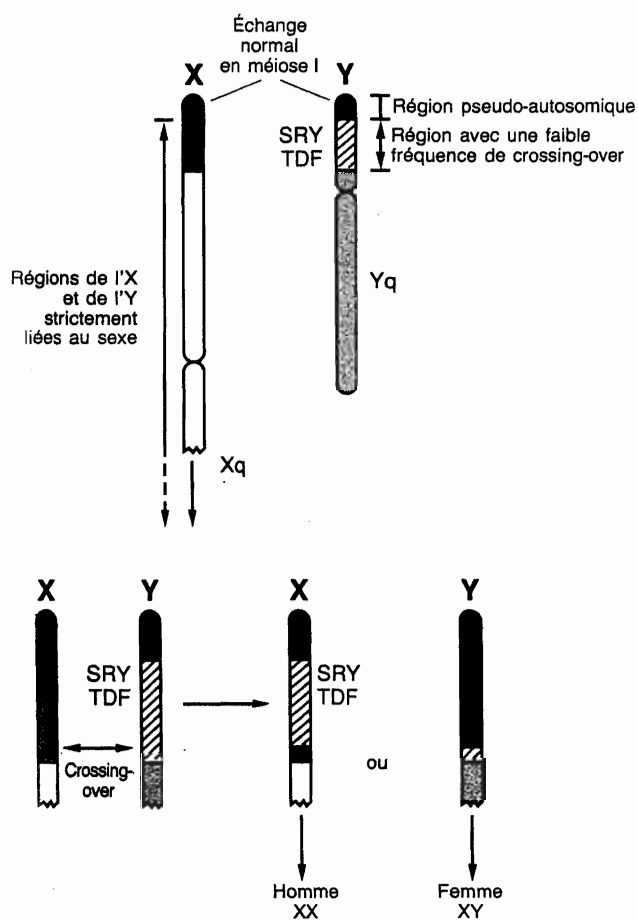
#### \*Pseudo-hermaphrodisme et mosaïque X0/XY

Le cas d'un cheval pseudo-hermaphrodite femelle de caryotype X0/XY a été rapporté ; la jument présentait un phénotype normal (Stewart-Scott, (256)).

#### \*Hermaphrodisme et mosaïque X0/XY

Certains cas d'hermaphrodisme, ont été associés à des mosaïques X0/XY chez la souris. Elles seraient le résultat de non-disjonctions mitotiques lors des premières divisions de l'embryon. Whitten a démontré que cette anomalie apparaissait lorsque la mitose se produisait avant la répllication du Y (Whitten, 1991, cité par Ishikawa, (128)).

Ce même phénomène peut expliquer les mosaïques X0/XY, rencontrées chez des individus hermaphrodites.



**Figure 21 :** *Etiologie du phénotype des hommes XX par échange aberrant entre les séquences liées au chromosome Y lors de la méiose chez l'homme.*

Les chromosomes X et Y se recombinent de façon normale dans le segment pseudo-autosomique. Lorsque cette recombinaison s'effectue sous cette région pseudo-autosomique, il y a transfert du gène SRY sur le chromosome X. la fertilisation d'un ovule par un spermatozoïde contenant un tel chromosome X conduit à un homme XX. (D'après Thompson, (270)).



### I.3.2.a.5. Cas d'un caryotype aberrant X0/XX/XXX/XXY/XXXY/XXYY

Klunder a constaté chez d'une jument, d'apparence normale, mais présentant des cycles irréguliers, un caryotype complexe au niveau sanguin : il regroupait 6 populations cellulaires différentes (X0/XX/XXX/XXY/XXXY/XXYY). Au niveau de la peau seules les populations X0, XX et XXX ont été retrouvées. La présence d'ovaires et la féminisation du tractus génital sont en contradiction avec le fait que normalement, la présence d'un chromosome Y, quel que soit le nombre de chromosome X, conduit à une masculinisation de l'individu (Jacobs, (130)). Ce caryotype peut être expliqué par la présence d'un jumeau mâle. Cette hypothèse est d'autant plus probable qu'aucun Y n'a pu être retrouvé dans les cultures tissulaires. Cette jument serait donc une chimère (Klunder, (142)).

*En résumé du chapitre I.3.2.a., on peut dire que si certaines aneuploïdies n'altèrent que modérément le phénotype et conservent la relation sexe génétique et sexe phénotypique, d'autres formes, notamment des mosaïques, sont responsables d'états intersexués. Les répercussions des aneuploïdies sur la fonction de reproduction sont très variées.*

### I.3.2.b. Caryotype équilibré ne comportant qu'une lignée cellulaire

#### I.3.2.b.1. Caryotype XX

Le caryotype équilibré XX est le plus fréquemment rencontré dans les différentes formes d'intersexualité. On peut subdiviser ce groupe en individus XX possédant des séquences du chromosome Y et en individus « Y négatifs ».

*et* Caryotype XX et présence de séquences du chromosome Y

#### \* Phénotype normal

Dès 1964, De La Chapelle décrit un caryotype XX chez des patients masculins. Ceci correspond à la réversion du sexe. Au sens strict, cette anomalie est caractérisée par un désaccord entre le sexe gonadique et le sexe génétique. Le phénotype, quant à lui, est directement relié au sexe gonadique. On observe donc des mâles XX Sex Reversed (et des femelles XY Sex Reversed, comme ceci sera abordé ultérieurement). L'incidence de cette anomalie est faible (un enfant sur 20000) (De La Chapelle, 1964, cité par Rego, (226)). Le plus souvent, il s'agit de cas sporadiques.

La plupart des patients XX ont un phénotype mâle normal, mais il se trouve fréquemment associé à un hypogonadisme, une gynécomastie et une azoospermie (des études menées dans l'espèce humaine montrent que les cellules germinales se développent chez l'embryon mais dégèrent chez l'enfant dès 5-8 ans (Kusz, (148)). En outre, certains enfants peuvent présenter une poche vaginale ou un hypospadias, ou bien être cryptorchides (Margarit, (173)). On constate en général une croissance normale, mais la puberté est plus ou moins retardée (Margarit, (173) ; Plöchl, (215)). Les mâles XX produisent de la testostérone ; les concentrations sériques de cette hormone sont normales à la puberté, mais deviennent inférieures aux taux rencontrés chez les individus normaux à l'âge adulte (Kusz, (148)).

Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer cette anomalie. Dans la majorité des cas, des séquences du Y sont retrouvées (McElreavey, (162)). Ce fait résulte d'une translocation du fragment du Y portant le TDF sur le chromosome X lors de la méiose

paternelle (Singh, 1982, cité par George, (92) et Ferguson-Smith, 1990, cité par Plöchl, (215)) et 80% des patients sont SRY positifs (Margarit, (173)). Fechner a étudié en 1993 l'impact de la présence du SRY sur le développement sexuel des mâles XX : quand le gène SRY est présent, les individus ont un appareil génital normal. D'autre part, Kusz a démontré que lors d'un développement mâle normal, on retrouve dans 96% des cas le fragment du Y transloqué sur le X actif (Kusz, (148)).

Des mâles XX ayant un phénotype normal peuvent aussi être observés chez les animaux : en 1967, Mac Feely a décrit plusieurs cas chez le porc (McFeely, (164)) ; en 1969, Basur a fait de même chez les Caprins (Basur, (12)). Des cas ont été mis en évidence chez le chien (Chaffaux, 1990) et le cheval (Gerneke, (94)).

\*Hermaphroditisme ou pseudo-hermaphroditisme et caryotype XX, SRY positif

Dans la plupart des cas rapportés dans la littérature, tant chez l'homme que chez l'animal, le caryotype des hermaphrodites est XX (ceci se vérifie chez 70% des humains (Guerra, (104)) et 50% des chiens (Chaffaux, (48))). Le SRY n'est mis en évidence que très rarement (on retrouve le SRY chez 10% des patients hermaphrodites vrais XX (McElreavey, (162) ; Kusz, (148))).

- Hermaphroditisme XX suite à une translocation d'une partie du chromosome Y sur le X inactif :

Kusz a démontré que chez trois patients hermaphrodites XX, bien que le gène SRY soit présent, il ne suffisait pas à induire un développement mâle complet dans le testicule. Le gène était effectivement transloqué sur un chromosome X, comme chez un mâle XX Sex Reversed, mais chez ces patients, la translocation impliquait, dans la plupart des métaphases, le X inactivé. Comme chez les Mammifères, tous les gènes portés par le chromosome X inactif (hétérochromatique) sont inactivés, ceci conduit à une expression insuffisante du gène SRY qui ne suffit plus à la masculinisation complète de la gonade indifférenciée (Kusz, (148)).

Ces travaux complètent ceux de Fechner qui a montré que, lors d'une translocation du bras p du chromosome Y sur le X, l'inactivation se produit préférentiellement sur le X modifié (Fechner, 1994, cité par Rego, (226)).

- Mosaïques non décelées ( $XX/XX^{SRY}$  ou  $XX/XY$ ) :

Pailhoux a décrit le cas d'un porc hermaphrodite XX. La PCR permettant de tester la présence du gène Sry a été réalisée sur le sang et a donné un résultat négatif. En revanche utilisée sur de l'ADN extrait des gonades de ce même animal, elle s'est avérée positive pour Sry. Pailhoux a donc émis l'hypothèse que le gène Sry était transloqué sur l'un des chromosomes X, mais en un site instable ; la translocation n'avait persisté que dans certaines cellules des gonades, l'animal étant en réalité une mosaïque  $XX/XX^{SRY}$  (Pailhoux, (207)).

De même, en 1998, Inoue a étudié un patient 46 XX hermaphrodite. La PCR pour le SRY réalisée à partir de l'ADN sanguin s'est avérée négative ; en revanche, le gène SRY a été amplifié à partir de l'ADN extrait de l'ovotestis (Inoue, (127)).

D'autre part, la présence de formation testiculaire en l'absence de SRY laisse supposer que ces hermaphrodites XX sont en fait des mosaïques  $XX/XY$  non décelées. Ainsi, Copelli rapporte le cas d'un patient avec une intersexualité gonadique pour lequel on a pu identifier, à l'aide de techniques de biologie moléculaire, la région hétérochromatique chromosome Y

alors que le Y était indétectable d'un point de vue cytogénétique ; il en a conclu à la présence d'une mosaïque XX/XY (Copelli, (61)).

#### *et* Caryotype XX et absence de séquences du chromosome Y

Un enfant sur 20000 est un hermaphrodite de caryotype XX. Dans la plupart des cas, on ne retrouve pas de trace de matériel issu du chromosome Y (McElreavey, (162), Thompson, (270) et McDonough, (161)).

#### \*Hermaphroditisme et caryotype XX, SRY négatif

- Hermaphroditisme chez un individu XX associé à une délétion sur le X :

Tar a décrit en 1995 un patient atteint d'intersexualité gonadique ; la personne était de caryotype 46 X, del(X) (p21 → pter). Le gène SRY n'a pas été détecté. Le X délété était inactivé dans toutes les cellules observées (Tar, (265)). On a depuis établi que cette région du bras p du chromosome X contient le gène DAX 1.

- Intersexualité gonadique suite à une duplication partielle d'un autosome :

En 1999, Aleck a analysé le caryotype d'un patient hermaphrodite vrai XX. Il a noté une duplication partielle du chromosome 22, mais n'a pas pu mettre en évidence le chromosome Y. Ces observations cytogénétiques concernent différents tissus (sang, peau, gonades). De plus la PCR a permis de montrer que la personne était SRY négative. Aleck a émis l'hypothèse que le chromosome 22 humain porterait des gènes impliqués dans le déterminisme du sexe (Aleck, (5)).

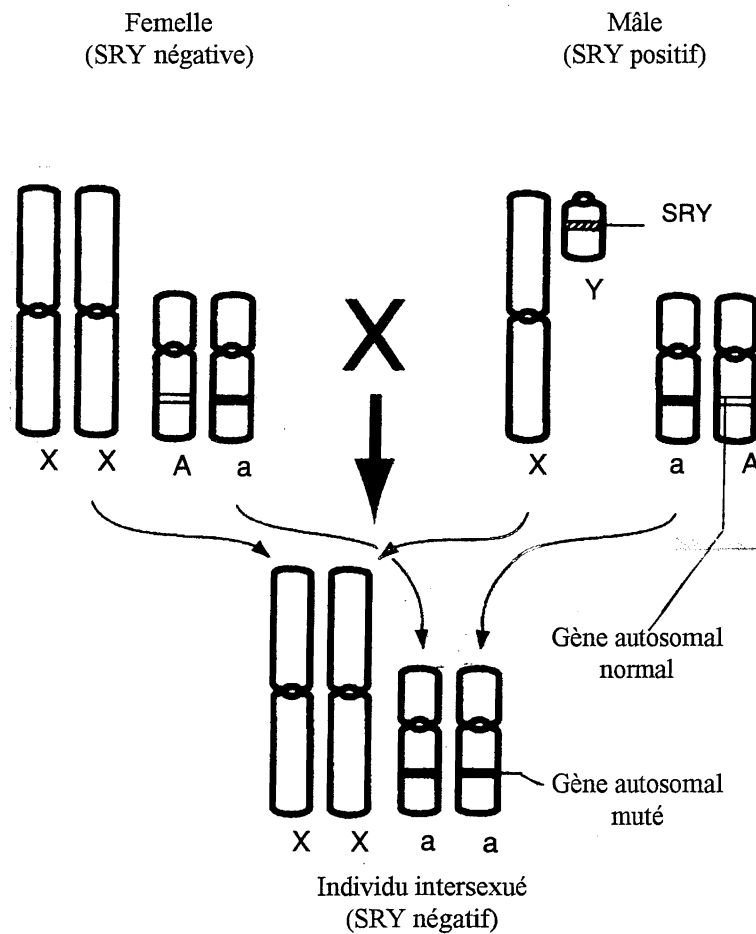
- Anomalie au niveau de gènes autosomiques ou liés au chromosome X et impliqués dans le déterminisme du sexe :

Dès 1994, une autre hypothèse a été avancée pour expliquer l'apparition d'individus XX Sex Reversed, SRY négatifs. Pailhoux (1994) a avancé l'idée que chez des porcs hermaphrodites et pseudo-hermaphrodites mâles XX, pour lesquels une mosaïque au niveau des gonades était exclue, l'anomalie du développement sexuel pouvait être liée à une mutation d'un gène autosomal ou porté par le chromosome X (Pailhoux, (207)). En 1997, Pailhoux a repris ses travaux sur les porcs intersexués. Plusieurs gènes candidats ont été testés (WT 1, SF 1, SOX 9, DAX 1, AMH et CYP19) pour voir s'ils pouvaient être responsables de l'intersexualité chez le porc. Des études moléculaires sur des familles de porcs intersexués ont montré que les profils génétiques obtenus pour WT 1 et SOX 9 chez les porcs affectés se retrouvaient chez les mâles normaux de la même famille. Ceci a permis d'exclure les gènes WT 1 et SOX 9 des gènes candidats, sans que l'on puisse déterminer les facteurs réellement impliqués dans les mécanismes d'apparition de l'intersexualité (Pailhoux, (208)).

On a pu déterminer que la transmission de l'anomalie semblait suivre un mécanisme autosomal récessif (figure 22), ceci a été déduit d'études familiales (Pailhoux, (208), Buoen, (42)).

Des cas d'hermaphroditisme vrai associé au caryotype XX, Sry négatif ont également été décrits dans l'espèce canine par Meyers-Wallen : elle a constaté l'absence du Sry dans une famille de Braques allemands XX Sex Reversal (Meyers-Wallen, (181)).

Meyers-Wallen a, d'autre part, constaté l'absence de Sry chez un cheval hermaphrodite XX sex reversed; l'animal avait 2 ovotestis et produisait de la testostérone en réponse à une stimulation à l'hCG (Meyers-Wallen, (182)).



**Figure 22 :** Schéma présentant un mécanisme hypothétique de la survenue d'un individu XX phénotypiquement normal, issu de parents porteurs d'un gène autosomal muté.

A : gène impliqué dans le déterminisme du sexe et normal

a : gène impliqué dans le déterminisme du sexe et possédant une mutation (transmission récessive). A l'état homozygote, ce gène peut initier un développement testiculaire, en l'absence de SRY.

(D'après Buoen, (42))

### \*Pseudo-hermaphroditisme mâle et caryotype XX, SRY négatif

Buoen a rapporté le cas de chevaux pseudo-hermaphrodites mâles de caryotype XX et SRY négatifs. Pour ces animaux aucune mosaïque ou chimère n'a pu être mise en évidence, ce qui laisse supposer l'intervention des gènes autosomaux, ou portés par le X et liés au déterminisme du sexe (Buoen, (42)).

### \*Pseudo-hermaphroditisme femelle et caryotype XX, SRY négatif

Le pseudo-hermaphroditisme femelle associé au caryotype XX résulte d'une exposition excessive aux androgènes endogènes ou exogènes (Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180), Minh, (187)).

Différentes étiologies ont été déterminées chez l'homme comme le syndrome d'hyperplasie congénitale des glandes surrénales, les tumeurs sécrétantes chez la mère ou le fœtus ou encore d'autres causes (notamment l'origine iatrogène, comme l'indique le paragraphe, I.3.1.b.3).

### ☞ Hyperplasie congénitale des glandes surrénales

L'hyperplasie congénitale des glandes surrénales est très documentée chez l'homme et suffit à expliquer la quasi totalité des cas de pseudo-hermaphroditisme femelle. Il s'agit d'un groupe de maladies autosomales récessives impliquant le déficit d'enzymes de la synthèse du cortisol (Thompson, (270)). Toutes les enzymes de la chaîne peuvent être déficientes, mais on constate surtout que les déficits concernent la 21-hydroxylase, la 11- $\beta$  hydroxylase et la 3- $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase (Minh, (187)). Le déficit en enzymes de la synthèse du cortisol entraîne une hypocortisolémie, ce qui provoque l'augmentation de la synthèse de l'ACTH hypophysaire. Il s'ensuit une hypertrophie des surrénales et un excès de stéroïdes précurseurs du cortisol qui sont métabolisés en hormones mâles responsables de la virilisation des individus XX (Minh, (187), Thompson, (270)).

Le déficit en 21-hydroxylase est l'anomalie la plus fréquemment liée à l'hyperplasie congénitale des glandes surrénales. Elle affecte un enfant sur 12500 (Thompson, (270)).

Les individus XX déficients en cette enzyme sont de phénotype ambigu. Le degré de masculinisation de l'appareil génital externe est variable. En revanche, l'anomalie qui existe aussi chez les personnes XY reste sans effet sur le développement de l'appareil reproducteur. Dans la forme « classique », l'ambiguïté des organes génitaux externes est, en général, visible dès la naissance (White, (288)). Cependant, il existe des cas de virilisation plus tardive, ce qui constitue une forme inhabituelle (Silverman, (248)). Indépendamment des troubles de l'appareil reproducteur, le déficit en 21-hydroxylase peut provoquer dans 75% des cas un déficit en aldostérone et une perte en sel, parfois létale (Minh, (187), Thompson, (270)). Quel que soit le sexe chromosomique de la personne atteinte, ce déficit en 21-hydroxylase perturbe la croissance osseuse en entraînant un développement rapide des os (Thompson, (270)). Valentino a rapporté le cas d'un patient XX pseudo-hermaphrodite femelle atteint d'une ostéopénie sévère (Valentino, (274)).

Cette pathologie a une étiologie génétique : le gène codant pour la 21-hydroxylase est porté par le bras court du chromosome 6 et se situe au niveau du locus du complexe majeur d'histocompatibilité HLA (Thompson, (270)). Ce gène, noté CYP21 peut comporter différentes mutations (il s'agit soit de recombinaisons entre le CYP21 et le pseudo-gène CYP21P adjacent, soit de délétions (Nunez, (203), White, (288)). Une étude a montré que ces mutations affectent parfois le site de reconnaissance du substrat (Mornet, (191)).

Bien que l'hyperplasie des glandes surrénales découle le plus souvent d'un déficit en 21-hydroxylase, elle peut, dans une moindre mesure, être liée à un déficit en 11- $\beta$  hydroxylase. Chez les patients affectés, on observe en général une association de trois éléments à savoir une ambiguïté sexuelle, la rétention de sel et l'hypertension artérielle, l'ambiguïté des organes génitaux externes étant secondaire à un excès d'androgènes (Minh, (187), Agboola-Abu, (4)).

Enfin, le déficit en 3- $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase, bien qu'exceptionnel, entraîne une hypertrophie clitoridienne et bloque toutes les synthèses des stéroïdes par les surrénales (Minh, (187)).

La grande majorité des cas de pseudo-hermaphrodisme femelle s'explique, chez l'homme, par l'hyperplasie congénitale des surrénales.

Cette même pathologie a été décrite chez les bovins, le porc, par contre, elle n'a été rapportée ni chez le chien, ni chez le cheval (Chaffaux, (48)).

#### ☞ Déficit en aromatase

Dans le paragraphe I.2.2.c., on a évoqué le fait que les androgènes sont transformés en œstrogènes en présence de l'aromatase. Les déficiences concernant cette enzyme sont responsables d'une forme de pseudo-hermaphrodisme femelle.

Conte (1994) a décrit deux mutations dans le gène de l'aromatase, noté CYP19, chez une patiente XX. A 17 mois, l'enfant avait un appareil génital interne femelle, des ovaires normaux ; à la puberté, l'appareil externe s'est masculinisé, ceci se manifestant par une hypertrophie clitoridienne et une augmentation des taux d'androgènes circulants, alors que la concentration sérique œstrogènes restait inférieure au seuil de détection. Les ovaires étaient kystiques.

Contrairement à ce qu'on observe lors du déficit en 21-hydroxylase (donc, lors d'un excès d'androgènes), lors du déficit en œstrogènes (secondairement à la déficience en aromatase), la croissance osseuse est ralentie (Conte, (60)).

#### ☞ Autres cas de pseudo-hermaphrodisme femelle XX, SRY négatif

Lors du développement fœtal, le tractus génital externe peut être masculinisé en présence d'un excès d'hormones maternelles. Cette surproduction est observée lors de pathologies tumorales. Ceci reste très rare (Minh, (187)).

### I.3.2.b.2. Caryotype XY

#### ☞ Caryotype XY et présence de séquences du chromosome Y

##### \* Hermaphrodisme et caryotype XY, SRY positif

Bien que rarement rencontré dans les cas d'intersexualité gonadique, le caryotype XY (SRY positif) est préférentiellement associé à un hermaphrodisme latéral avec un testicule (Guerra, (104)). Cette forme d'anomalie peut être associée à un phénotype femelle (Walker, (282)).

L'origine de cette anomalie pourrait être liée à une mutation dans les gènes du déterminisme du sexe interagissant avec le SRY (Eicher, 1983, cité par George, (92) et Eicher, 1986, cité par Cameron, (44)). Cameron a, par exemple, mis en évidence une mutation du gène SOX 9 chez un patient hermaphrodite 46 XY (Cameron, 1996, cité par Cameron, (44)).

\*Pseudo-hermaphroditisme mâle et caryotype XY, présence de locus portés par le Y

- Persistance des canaux de Müller :

Cette anomalie s'accompagne d'un caryotype XY, tant chez l'homme que chez l'animal (Meyers-Wallen, 1989, cité par Meyers-Wallen, (180) ; Nickel, (197) ; Jayaram, (131) ; Erk, (83)). Le développement des structures dérivées des canaux de Wolff, dépendant des androgènes, s'effectue normalement et donne toujours un phénotype mâle (Erk, (83)). En revanche, chez les sujets atteints, on observe des oviductes, un utérus, un cervix et la portion crâniale du vagin (figure 23). De plus, la plupart des intersexués sont cryptorchides (Meyers-Wallen, (180) ; Imbeaud, (125)). Chez l'humain, on observe souvent une hernie inguinale associée à la persistance des canaux de Müller (le sac herniaire contient souvent une portion d'utérus) (Jayarama, (131) ; Erk, (83)).

L'étiologie de la persistance des canaux de Müller n'est pas connue avec précision. La régression de ces structures étant liée à la présence d'AMH, on a cherché à analyser cette hormone chez les individus affectés (Meyers-Wallen, 1999). Des études dans l'espèce canine montrent que lorsqu'elle est présente, l'activité de l'AMH, chez les pseudo-hermaphrodites mâles présentant un syndrome de persistance des canaux de Müller, est sensiblement la même que celle observée chez des mâles normaux. L'absence de régression des voies müllériennes chez un fœtus XY exprimant l'AMH serait donc liée à un défaut des récepteurs à l'hormone (Meyers-Wallen, (180)). Cette hypothèse a depuis été confirmée. Imbeaud a isolé en 1995 une mutation dans le gène du récepteur de type II qui fixe l'AMH. La mutation modifie les capacités de liaison ligand récepteur (Imbeaud, (125)). D'autre part, dans 25% des cas humains de persistance des canaux de Müller, on a pu retrouver une délétion de 27 paires de bases dans un allèle du gène du récepteur de l'AMH (Imbeaud, (126) ; Belville, (14)). Enfin, on a démontré que lorsque le récepteur de l'AMH est modifié, les concentrations sériques d'AMH restent normales (Imbeaud, (126)).

D'autres études ont permis d'observer l'absence d'AMH chez certains patients atteints du syndrome de persistance des canaux de Müller. Knebelmann a montré en 1991 qu'une mutation dans le gène de l'AMH inhiberait son expression (les individus sont considérés comme AMH négatifs) ; dans l'espèce humaine, le développement testiculaire se ferait normalement, malgré cette déficience en AMH (Knebelmann, 1991, cité par Gilbert, (96)).

- Déficiences des phénomènes masculinisants induits par les androgènes :

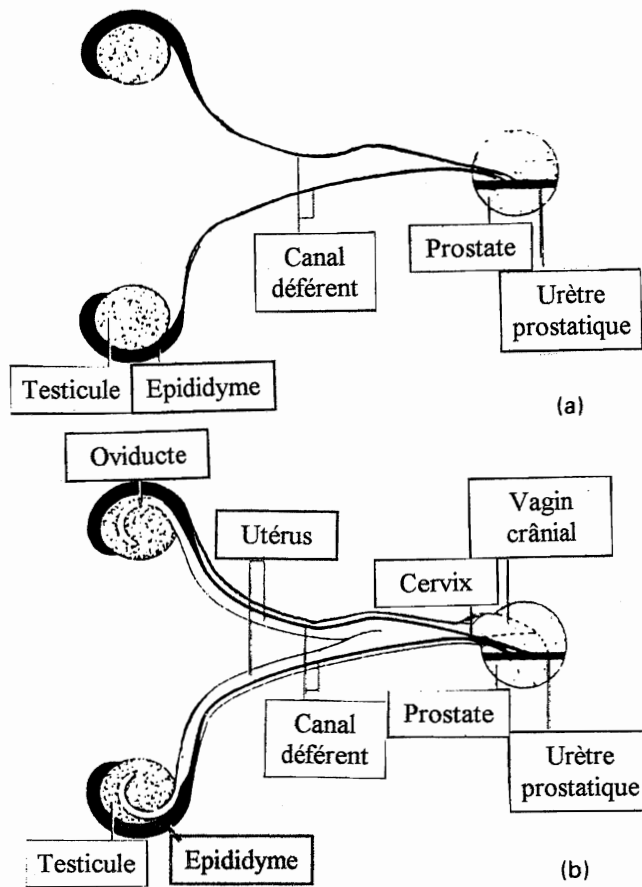
Cette inefficacité des systèmes masculinisants du fœtus est plus ou moins marquée. Bien que les individus possèdent deux testicules et que la régression des canaux de Müller s'effectue comme chez un mâle normal, l'évolution des canaux de Wolff est anormale et incomplète.

Le défaut de masculinisation découle soit d'un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire ou d'une hypoproduction d'androgènes, soit d'une mauvaise réponse des tissus aux androgènes présents, soit d'une anomalie de la testostérone synthétisée (Thompson, (270)).

Anomalie liée aux gonadotropines produites par l'axe hypothalamo-hypophysaire :

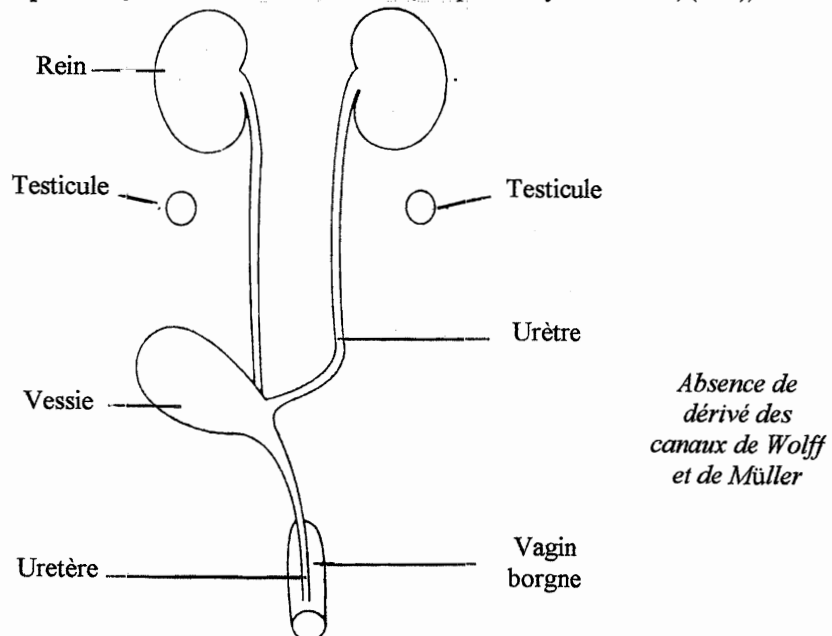
La différenciation mâle est dépendante de la production de testostérone par les cellules de Leydig.

Des cas de pseudo-hermaphroditisme mâle XY chez l'homme et le rat, associé à une absence de cellules de Leydig ont été décrits (Berthezène, 1976 et Bardin, 1973, cités par Saez, (234)). Mais on sait que le développement et le maintien des cellules de Leydig sont conditionnés par la présence de la hCG maternelle puis de la LH fœtale.



**Figure 23 :** *Persistence des canaux de Müller.*

**a :** mâle normal, **b :** chien mâle présentant un syndrome de persistance des canaux de Müller, avec une communication entre l'urètre prostatique et la portion crâniale du vagin. (D'après Meyers-Wallen, (180)).



**Figure 24 :** *Le syndrome du testicule féminisant chez un chat (schéma de l'appareil génital interne).*

(D'après Meyers-Wallen, (180))



Chez l'animal, les travaux d'hypophysectomie ou d'inhibition de la sécrétion de LH entraînent une atrophie des cellules de Leydig (Ewing, 1983, cité par Saez, (234)). De même, lorsque la LH est altérée suite à une mutation, on note un hypogonadisme et une absence de cellules interstitielles testiculaires (Weiss, 1992, cité par Saez, (234)).

Ces anomalies provoquent une diminution de la synthèse de testostérone et, par conséquent, une masculinisation incomplète de l'appareil génital.

#### Défaut de synthèse de la 5-dihydrotestostérone chez des individus XY :

Comme le précise le paragraphe I.2.2.b., la formation des organes génitaux externes nécessite la conversion de la testostérone en 5-dihydrotestostérone. L'absence, ou l'insuffisance de cette hormone aboutit à un phénotype ambigu, majoritairement femelle, les gonades et l'appareil interne étant mâles (Le Moigne, (157)).

La formation de la 5-dihydrotestostérone dépend de la 5  $\alpha$ -réductase 2 ; enzyme codée par un gène du chromosome 2 humain (Mowszowicz, (193)). Certaines mutations induisent une inactivation de l'enzyme (incapacité à se lier à la testostérone) et une déficience en dihydrotestostérone (Mowszowicz, (193)). Les patients, d'apparence femelle normale, ne se masculinisent qu'à la puberté (Mowszowicz, (193) ; Sinnecker, (250)), les tissus des organes génitaux externes, jusque là sensibles à la dihydrotestostérone, devenant sensibles à la testostérone (Gilbert, (96)).

D'autres mutations du gène de la 5  $\alpha$ -réductase 2, entraînent une masculinisation partielle de l'appareil reproducteur externe (présence d'un micropénis et d'un hypospadias, ou d'un hypospadias et un pseudo-vagin) (Sinnecker, (250)).

Le déficit en 5  $\alpha$ -réductase 2 se transmet sur un mode autosomal récessif (George, (92)).

#### Défaut de synthèse de la testostérone :

La biosynthèse de la testostérone par les cellules de Leydig peut être déficiente si une enzyme, la 17  $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase, est inactivée suite à une mutation (Saez, (234)). Les sujets XY affectés se développent comme des pseudo-hermaphrodites mâles : d'apparence femelle à la naissance, ils présentent une virilisation marquée à la puberté (Geisser, 1994 cité par Saez, (234)).

Cependant, le cas d'une patiente atteinte d'un déficit en 17  $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase a été noté par Duncan : cette personne n'a pas manifesté de masculinisation à la puberté, malgré une aménorrhée primaire et un léger hirsutisme de la face. De plus, les concentrations sériques en androgènes ont diminué spontanément, avant la gonadectomie, pour atteindre les valeurs usuelles rencontrées chez les femmes normales (Duncan, (76)).

Cette anomalie demeure rare.

#### Défaut des récepteurs à la testostérone et à la dihydrotestostérone :

Certains pseudo-hermaphrodites mâles synthétisent de la testostérone et de la dihydrotestostérone actives et en quantité suffisante, mais ont un phénotype de femelle normale. Il s'agit de la forme la plus fréquente d'insensibilité aux androgènes (forme complète) encore appelée syndrome du testicule féminisant. Elle affecte un enfant sur 20000.

Malgré un caryotype XY, un développement testiculaire totalement normal, on observe chez ces patients cryptorchides un phénotype féminin avec un vagin borgne, une absence de pilosité axillaire et un développement de la poitrine (George, (92) ; Thompson, (270)). En revanche, l'utérus et les trompes de Fallope ne sont jamais présents. En fait, les canaux de Wolff s'atrophient alors que les canaux de Müller régressent (figure 24) (Kieffer, (140)).

Bien que la réponse à l'AMH s'effectue normalement, on constate une absence de réponse aux androgènes consécutive à un défaut de récepteur intracellulaire. Ce dernier est codé par une copie unique d'un gène sur le chromosome X. Lorsque le gène est muté, on note cette anomalie chez l'homme par les caryotypes  $XX_0$  et  $X_0Y$  (voir paragraphe I.2.2.b.).

Actuellement, on a mis en évidence de nombreuses mutations sur le gène du récepteur aux androgènes ; elles interviennent au niveau du site de liaison hormone-récepteur et au niveau du site d'attachement à l'ADN (Komori, (144) ; Gottlieb (100) ; Zhu (292)).

D'autre part, des délétions d'une ou deux paires de bases sur ce gène suffisent à entraîner une absence totale de liaison aux androgènes (Bruggenwirth, (38) ; Thiele, (266)). On rapporte même une délétion totale du gène (Thompson, (270)).

Dans la mesure où les femmes  $XX_0$  sont fertiles et les hommes  $X_0Y$  toujours stériles, la transmission ne peut se faire que par la mère (Kieffer, (140) ; Gilbert, (96)) selon le mode autosomal récessif (Meyers-Wallen, (180)).

D'autres types d'insensibilité aux androgènes ont été décrits ; il s'agit d'abord de la forme partielle. Dans ce cas, l'appareil génital est plus ou moins ambigu (George, (92)). La forme légère de ce syndrome, quant à elle, correspond à un phénotype mâle avec un appareil génital peu développé voire un hypospadias, une azoospermie et une gynécomastie (George, (92) ; Shkolny, (246)). Ces formes atténuées sont liées à des mutations du gène provoquant une fixation instable des hormones (la démonstration a été réalisée *in vitro*) (Shkolny, (246)).

Les syndromes d'insensibilité aux androgènes sont donc présents chez les individus de caryotype XY et de phénotype femelle normal à mâle. Il faut cependant noter que chez une patiente 46 XY de 22 ans, on a diagnostiqué ce syndrome alors que phénotypiquement et d'un point de vue hormonal, on pensait à un syndrome de persistance des canaux de Müller ; le diagnostic moléculaire a révélé une délétion de 5 nucléotides dans le gène du récepteur à la testostérone (Chen, (55)).

Le syndrome d'insensibilité aux androgènes a été décrit chez le cheval. Kieffer (1976) rapporte le cas d'une femelle Quarter Horse de 7 ans en anoestrus permanent qui avait un comportement d'étalon. L'appareil génital externe était celui d'une femelle normale, mais l'utérus était relié à 2 testicules dépourvus de cellules germinales. L'étude cytogénétique a permis de trouver un caryotype XY (Kieffer, (140)).

#### \*Réversion du sexe et caryotype XY chez des individus SRY positifs

On considère qu'un individu est une femelle « sex reversed » lorsqu'il possède un caryotype XY et un phénotype femelle. Les étiologies de ce type d'anomalie peuvent être variées.

- Altération dans le gène SOX 9 :

Comme ceci a été précédemment évoqué, une mutation dans le gène SOX 9 est parfois responsable, outre de la dysplasie campomélique, d'une réversion du sexe mâle en sexe femelle (Foster, (87)). Cette observation a d'ailleurs donné son nom au locus SRA1 (locus contenant SOX 9). Cameron a recensé chez l'humain 14 mutations dans le gène SOX 9 et 10 translocations impliquant le bras q du chromosome 17. Aucun patient ne semble présenter les deux anomalies à la fois (Kwok, 1995, cité par Sinclair, (249)). Cependant, les mutations étudiées n'induisent pas toujours le phénotype femelle : on décrit des patients XY mâles ou hermaphrodites possédant une mutation sur un allèle de SOX 9 (Cameron, (44)).

En ce qui concerne les translocations, les points de cassure sont plus ou moins près du gène SOX 9 et modifient son expression, entraînant, à la fois, une dysplasie campomélique et une réversion du sexe (Jay, (132) ; Sinclair, (249)).

- Réversion du sexe et délétion sur des autosomes :

Chez l'homme, en 1993, Bennet a mis en évidence chez 5 patients XY une réversion sexuelle associée à une délétion chromosomique concernant la bande 9p24 (Bennet, 1993, cité par Barbaux, (11)). Flejter, en 1998, a également mis en évidence une délétion dans la région distale de la bande 9p24, à la suite d'une translocation non réciproque. Cette anomalie s'accompagne d'une réversion du sexe et d'une dysgénésie gonadique chez quatre patientes. En revanche, si le chromosome 9 est modifié, les études par PCR ont montré que le gène SRY chez ces malades ne porte aucune mutation au niveau du fragment codant la boîte HMG (Flejter, (85)).

D'autres délétions impliquées dans cette anomalie du développement sexuel ont été observées sur le bras q du chromosome 10 (Wilkie, 1993, cité par Barbaux, (11)).

- Femelle XY Sex Reversed suite à une altération de la protéine Z :

McElveavey a émis l'hypothèse qu'une mutation dans le gène codant pour la protéine Z pourrait la rendre insensible à l'inhibition exercée par le gène SRY. Malgré la mutation, la protéine Z conserverait son rôle d'inhibiteur de la transcription des gènes spécifiques du développement mâle. Ceci expliquerait que des femelles SRY positives développent des ovaires et un appareil génital femelle (McElveavey, (162)).

- Femelle XY et rôle du chromosome X :

Comme l'évoque le paragraphe I.2.1.e., un dosage excessif du gène DAX 1 situé en Xp21-22 entraîne le développement ovarien chez un individu XY (Bardoni, 1994, cité par Barbaux, (11)). Cet excès provient soit d'une translocation de Xp21-22 sur le bras q du Y, soit d'une duplication de cette zone sur le chromosome X.

La sur expression chez un fœtus XY prédominerait sur l'expression du SRY et annulerait les effets de ce dernier dans la différenciation de la gonade (McDonough, (161)).

### *et* Caryotype XY et absence de séquences du chromosome Y

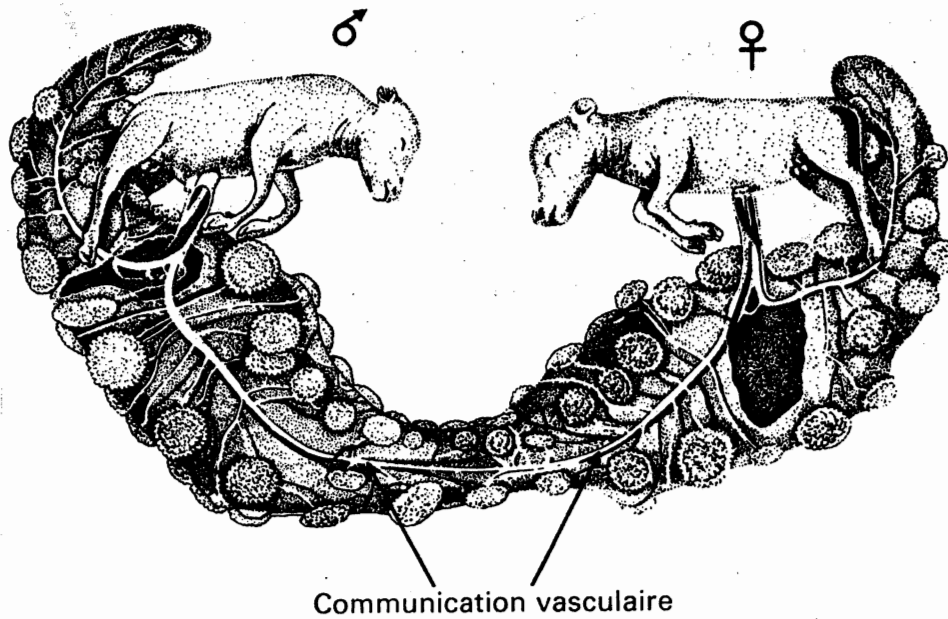
#### \*Réversion du sexe et caryotype XY chez des individus SRY négatifs

Cette catégorie regroupe différentes anomalies affectant le SRY, le chromosome Y, les gènes autosomaux et portés par le chromosome X et impliqués dans le déterminisme primaire du sexe (Cameron, (44)) et les chromosomes 9 (Bennet, 1993, cité par Barbaux, (11)) et 10 (Wilkie, 1993, cité par Barbaux, (11)).

Les patientes XY, SRY négatif sont rares. Malgré un phénotype femelle, elles présentent une aménorrhée, des ovaires dysgénésiques, elles sont de plus stériles (Barbaux, (11)). Elles sont de plus prédisposées aux tumeurs des gonades (Scherer, (237)). Le développement de l'appareil génital femelle découle de l'absence de testicule.

#### ☞ Femelle XY suite à une délétion d'une portion du Y :

McElveavey a observé chez une femme XY présentant une dysgénésie gonadique une délétion du Y en amont du SRY ; il a supposé que ce fragment est un régulateur de l'expression du SRY (McElveavey, 1992, cité par Barbaux, (11)). Cette anomalie concerne 10



**Figure 25 :** *Relation vasculaire entre deux embryons freemartins bovins*

On note la fusion des placentas des deux faux-jumeaux ; les échanges hormonaux par la voie sanguine sont donc possibles. (D'après Lillie, 1916, cité par Jost, (135)).

à 15% des personnes atteintes. Elle est liée à un crossing over entre le X et le Y lors de la spermatogenèse (échange des séquences Xp et Yp) (Wolf, 1992, cité par Scherer, (237)).

Abe a décrit une jument XY, ayant un appareil génital (externe et interne) normal, mais n'ayant jamais eu d'œstrus ; l'étude moléculaire a révélé l'absence du Sry, attribuée à une délétion du gène (Abe, (1)).

#### ♀ Femelle « Sex reversed » suite à une mutation du SRY :

Une trentaine de mutations sur le SRY ont été mises en évidence dans 15% des cas de femmes XY « Sex reversed » (Cameron, (44) et Scherer, (237)). Ces mutations, très souvent liées à la boîte HMG du SRY (Cameron, (44)), modifient la capacité de la protéine à se lier à l'ADN (Cameron, (44) et Scherer, (237)). D'autres mutations en amont des boîtes HMG modifieraient l'expression du SRY, et induiraient la réversion du sexe (Scherer, (237)).

Ces phénomènes de réversion du sexe chez des animaux XY ont été observés chez le chien (Meyers-Wallen, (180)) et le cheval (par exemple, Kent, (139), Nie, (198)). Le phénotype observé est celui d'une femelle normale, mais l'absence du Sry n'a pas été confirmée.

#### \* Hermaphrodisme et caryotype XY chez des individus SRY négatifs

Les hermaphrodites XY peuvent également être rencontrés lors de mutations du SRY. Braun a identifié en 1993 deux mutations distinctes (l'une silencieuse, l'autre pas), présentes chez un même patient. Selon lui, ces altérations du SRY se seraient produites après la formation du zygote, dans une partie du tissu gonadique, provoquant ainsi la perte de la fonction de masculinisation des cellules atteintes (Braun, (28)). Depuis, Hiort a pu mettre en évidence une autre mutation du gène SRY lié à un cas d'hermaphrodisme XY (Hiort, (114)).

*Les caryotypes équilibrés XX et XY peuvent être associés à différentes formes d'intersexualité. La présence du gène SRY, ou de son équivalent animal, n'est pas forcément nécessaire à la masculinisation des gonades indifférenciées. En revanche, la formation complète des testicules nécessite ce gène. Différentes anomalies autosomales ou concernant des gènes portés par le chromosome X peuvent altérer le développement sexuel des mammifères et entraîner une intersexualité soit gonadique, soit tubulaire.*

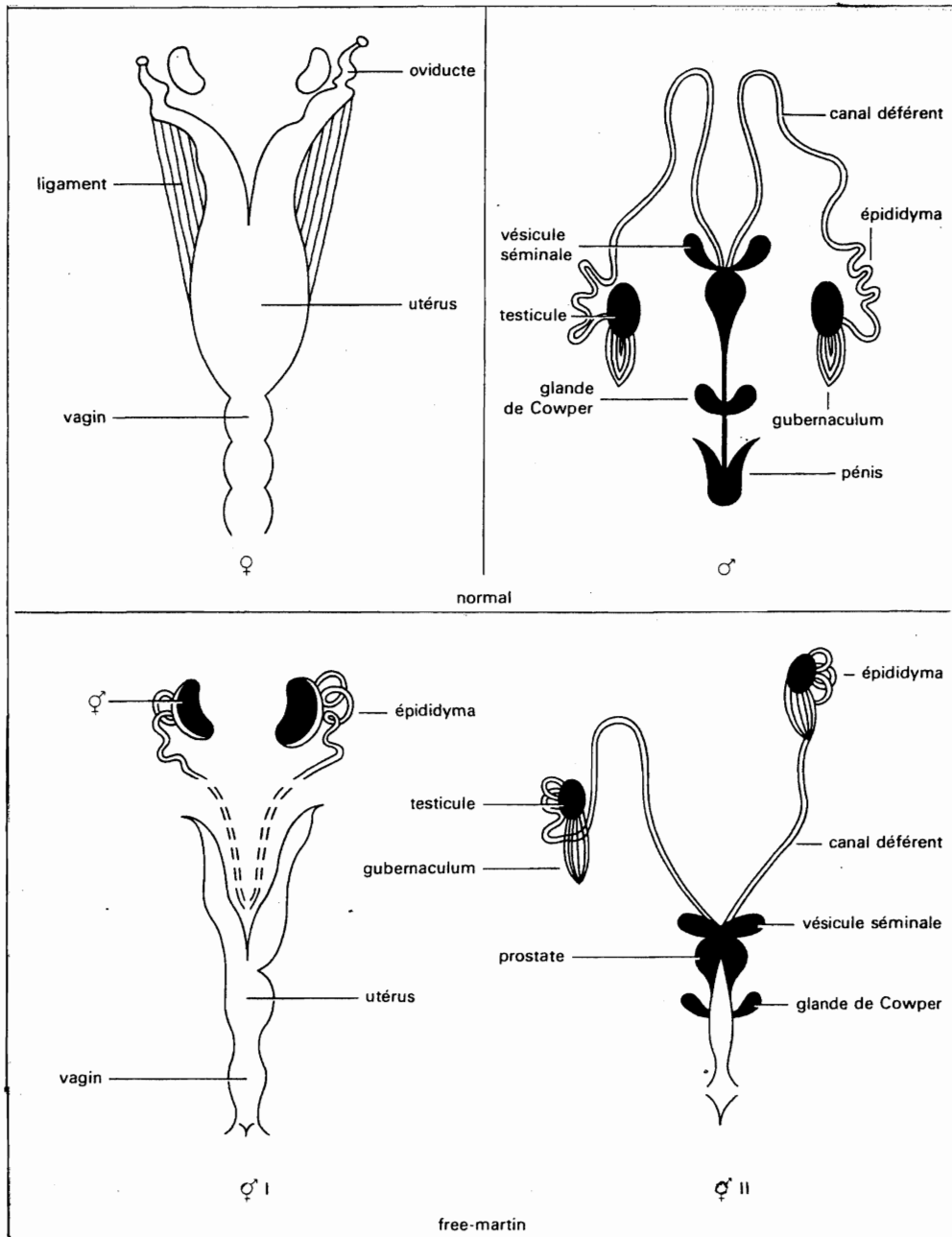
### **1.3.2.c. Caryotype équilibré comportant deux lignées cellulaires**

Des caryotypes équilibrés XX/XY, chimères ou mosaïques, ont été décrits dans différents cas d'intersexualité.

Tout d'abord il convient d'aborder le cas du freemartinisme. Cette forme particulière de chimérisme XX/XY est connue depuis très longtemps, surtout chez les Bovins. Observé lors de naissances gémellaires hétérosexuées, le freemartinisme résulte d'anastomoses vasculaires allantochoriales des placentas des deux veaux jumeaux (figure 25) (Lillie, 1916, cité par Jost, (135)).

Si le jumeau mâle semble peu affecté, la génisse s'avère stérile et présente une morphologie modifiée (Bertrand, (17)).

La génisse freemartin possède des organes sexuels mâles et femelles. Les canaux de Müller sont sous-développés, donnant un col et un utérus atrophiés, alors que les canaux de



**Figure 26 :** Schémas des tractus génitaux d'embryons femelle/mâle normaux et de bovins freemartins.

(D'après Wolff, (291)).

Wolff sont excessivement développés (on observe parfois des vésicules séminales) (Berthelot, (16)) et très rarement une prostate (Bertrand, (17)). La génisse a des ovotestis plus ou moins masculinisés et un appareil génital externe femelle (figure 26) (Rajakoski, 1963, cité par Bertrand, (17)). L'aspect général de la génisse freemartin rappelle celui d'un mâle castré précocement (Bertrand, (17)).

Une forte suspicion clinique repose sur un allongement du périnée, l'étranglement de la vulve associée à la présence d'un touffillon de poils au niveau de la commissure inférieure, et d'un clitoris qui, sans être péniforme, est un peu volumineux. Le vestibule vaginal est peu profond et borgne (Bertrand, (17) ; Berthelot, (16)).

Chez l'adulte, l'examen de l'appareil génital par palpation transrectale permet de constater l'arrêt du développement des voies génitales et des gonades. Ces dernières sont atrophiées et difficilement palpables. Normalement, situées à la place des ovaires, elles peuvent descendre dans l'anneau inguinal. La gonade est toujours masculinisée et ce dès 45 jours de gestation (Bertrand, (17)). On peut parfois observer des tubes semblables aux tubes séminifères des testicules dans la gonade de la femelle freemartin (Hay, 1950, cité par Bertrand, (17)). Les génisses ainsi affectées sont stériles alors que leur jumeau mâle peut se reproduire normalement (Darré, (71)).

Pour expliquer cette anomalie du développement sexuel, on s'appuie sur l'existence d'une fusion des enveloppes allantochooriales des fœtus suivie d'une anastomose vasculaire entre les fœtus de sexes différents (figure 25). En effet, cette fusion des vaisseaux s'observe dans 90 à 95% des cas lors de gestation gémellaire, et ce quel que soit le sexe du fœtus jumeau (Lillie, 1916, cité par Jost, (135)). Ce lien entre les jumeaux s'établit précocement avant le 30<sup>ème</sup> jour de gestation. En revanche, il n'est pas mis en évidence lors de gestation hétérosexuée donnant naissance à une femelle normale. Lorsqu'elle existe malgré tout, cette anastomose vasculaire est plus tardive et se fait après l'étape de différenciation des gonades et des voies génitales (Bertrand, (17)). Quand les jumeaux sont tous de génotype XX, qu'il y ait fusion ou non, on assiste au développement de femelles normales (Vigier, (278)). Tous ces éléments suggèrent des échanges entre le jumeau mâle et l'embryon femelle avec passage de facteurs masculinisants chez cette dernière.

Les échanges sont de deux types : il s'agit du transfert de cellules souches, notamment du système hématopoïétique, et d'hormones mâles vers le fœtus XX.

Si on considère d'abord le chimérisme cellulaire, on peut dire qu'il se retrouve au niveau sanguin : la présence de leucocytes XX et XY chez un même individu sert de base au diagnostic cytogénétique du freemartinisme. Les jumeaux présentent aussi un chimérisme érythrocytaire : bien que les jumeaux dizygotiques possèdent le même groupe sanguin, ils ont des antigènes sanguins différents (ceci diffère du cas des vrais jumeaux) (Owen, 1945, cité par Podliachouck, (216)). Ces 2 populations cellulaires sont encore rencontrées dans le foie, les reins, la moelle osseuse et les testicules. On comprend ainsi que les cellules germinales des mâles de freemartins sont soit XX soit XY. Par contre, dans la gonade de la génisse freemartin, on ne trouve pas de cellules XY (Darré, (71)).

Comme l'a démontré Miyake, la présence du chimérisme leucocytaire n'est que le témoin de l'existence d'au moins un veau jumeau de sexe différent et de l'anastomose vasculaire qui s'est établie entre les fœtus (Miyake, 1980, cité par Berthelot, (16)). De plus, aucun lien ne peut être fait entre le degré de masculinisation de la femelle freemartin et l'importance du chimérisme leucocytaire (Greene, 1977, cité par Berthelot, (16)). On a même démontré que la masculinisation du fœtus XX n'est pas liée au passage des cellules XY du jumeau mâle chez la femelle.

Le phénomène freemartin est en fait secondaire à la diffusion d'AMH du fœtus mâle vers sa sœur (Lillie, 1917, cité par Vigier, (279)). Cette théorie hormonale proposée par Lillie en 1917 a été confirmée par Vigier en 1984 : alors que chez un embryon femelle normal, le taux d'AMH sérique est nul, chez une femelle freemartin, ce taux peut avoisiner ceux observés lors du développement d'un fœtus mâle lors d'une gestation simple. Lors de freemartinisme, les concentrations de l'hormone sont presque identiques chez les veaux jumeaux. De plus, la gonade de la jumelle ne produit que très rarement de l'AMH et toujours en de faibles quantités (Vigier, (279)). L'AMH provoque une régression des gonades et des canaux de Müller chez l'embryon XX. Le développement débute comme chez une femelle normale, mais est stoppé dès le 50<sup>ème</sup> jour. Cette période correspond au début de la différenciation testiculaire chez le jumeau mâle. Chez la femelle normale, bien que l'ovaire soit le lieu d'une multiplication intense des cellules germinales dès le 60<sup>ème</sup> jour après la fécondation, il ne se différencie vraiment qu'au 100<sup>ème</sup> jour. Dans le cas des gestations gémellaires hétérosexuées, la gonade de la femelle ne présente pas ou peu de cellules germinales et débute sa différenciation au 90<sup>ème</sup> jour. Cette étape se traduit alors par une masculinisation de l'ovaire (Vigier, (278)). Chez le freemartin, les canaux de Wolff commencent à se différencier en structures mâles dès 60-70 jours après fécondation alors que chez une femelle normale ils n'évoluent pas jusqu'au 80<sup>ème</sup> jour (début de régression des canaux de Wolff). Par contre, l'involution des canaux de Müller intervient au même moment chez les embryons jumeaux quel que soit leur sexe chromosomique (Vigier, (278) ; Prepin, (223)).

Compte tenu de la stérilité des génisses freemartins, cette forme d'intersexualité doit être diagnostiquée précocement, ce qui détermine la durée de vie économique du Bovin.

Des cas de freemartinisme ont été également rapportés dans l'espèce ovine (par exemple, Alexandre, 1964, cité par Podliachouk, (216)), et chez la chèvre (Davies, 1913, cité par Bertrand, (17)).

Bien que décrite chez le porc, cette anomalie est rare (Biggers, 1968, cité par Bertrand, (18) ; Pailhoux, (208)). Seuls quelques cas ont été rapportés (Hughes, (120) ; Bruere, (36) ; Potter, (218) ; Clarkson, (56)).

Chez le cheval, l'anomalie sans être rare (Podliachouk, (216)) n'est que peu observée. En effet, la gestation gémellaire est mal tolérée et s'accompagne souvent d'avortements assez précoces ou de la momification d'un des deux fœtus. Le nombre de possibilités d'anastomoses des enveloppes et des vaisseaux s'en trouve limité. D'autre part, toutes les gestations gémellaires recensées sont dizygotiques et concernent les deux cornes utérines ; la fusion des chorions apparaît souvent, mais n'est pas systématiquement liée à des anastomoses vasculaires (Podliachouk, (216) ; Bertrand, (18)). De même, on n'observe pas toujours de chimérisme érythrocytaire (Trommershausen-Smith, (272)). Comme les anastomoses placentaires ne semblent pas induire d'intersexualité chez la femelle jumelle d'un fœtus mâle, on peut supposer que ces fusions sont plus tardives que dans l'espèce bovine et se font après les étapes de différenciation des organes génitaux (Vandeplasshe, 1970, cité par Bertrand, (18) ; Podliachouk, (216)). Il existe cependant une exception (Basrur, (13)).

Chez les carnivores domestiques, bien que les sas choriaux des différents fœtus soient contigus, on n'observe ni fusion des enveloppes ni anastomoses vasculaires (Arthur, 1964, cité par Bertrand, (17)).



D'autres mécanismes, que le freemartinisme, permettent d'expliquer le chimérisme XX/XY.

Le premier est la fusion postzygotique de deux embryons de sexe différent, suite à la fécondation de deux ovules par deux spermatozoïdes (Cribiu, (63) ; Green, (101)). Cette hypothèse a été retenue pour expliquer le chimérisme leucocytaire observé chez deux chevaux hermaphrodites (McIlwraith, (167) et Dunn, (78)).

Les mixoploïdies XX/XY peuvent encore être expliquées par la fertilisation dispermatique d'un ovocyte II et du globule polaire suivie par une fusion des deux cellules en un seul embryon (Cribiu, (63) ; Green, (101)).

Un autre mécanisme serait la fertilisation d'un ovule haploïde par deux gamètes mâles suivie d'une division cellulaire donnant deux cellules filles à 2n chromosomes (Plachot, (214)).

En 1998, Giltay a proposé une dernière hypothèse pour expliquer le chimérisme 46XX/46XY chez un enfant hermaphrodite. Ce mécanisme s'appuie sur les données de Strain ((257)) : un ovocyte II haploïde se diviserait pour donner deux noyaux haploïdes identiques qui seraient fécondés par deux spermatozoïdes différents. Cette explication repose sur l'hypothèse d'une division parthénogénétique du gamète maternel (Giltay, (97)).

Enfin, des mosaïques XX/XY ont été identifiées dans différents cas d'hermaphrodisme vrai et de pseudo-hermaphrodisme.

#### ☞ Hermaphrodisme

Chez le chien, les cas décrits présentent un phénotype femelle avec un clitoris péniforme et ont au moins un ovotestis (Gerneke, (93) ; Pullen, (224) ; Bosu, (23)). A l'inverse, les cas décrits chez le cheval sont de phénotype mâle (McIlwraith, (167) ; Dunn, (78)).

#### ☞ Pseudo-hermaphrodisme

Des cas d'intersexualité tubulaire mâle sont reportés dans différentes espèces animales, notamment le porc (Booth, (21)), et le chien (Chaffaux, (48) ; Genero, (91)).

Des pseudo-hermaphrodites femelles de caryotype XX/XY sont rencontrés dans l'espèce équine (Klunder, (142)). Alors que ces animaux ont l'apparence de femelles normales, les cas de femelles pseudo-hermaphrodites décrits chez le chien concernent des animaux de phénotype mâle (Weaver, (286) ; Chaffaux, (48)).

Les mécanismes conduisant à ces mosaïques ne sont pas définis. D'autre part, il faut préciser que, souvent, les cultures cellulaires ne sont réalisées que sur le sang ; la possibilité d'un chimérisme, dans les espèces où il est susceptible d'être rencontré, n'est pas toujours vérifiée.

*L'étude bibliographique concernant les anomalies du développement sexuel des Mammifères montre que ces dernières se répartissent en 2 grands groupes, l'hypogonadisme (la relation sexe chromosomique, sexe gonadique et sexe phénotypique est conservée, mais l'individu est stérile) et l'intersexualité (elle se caractérise par une incohérence entre le sexe génétique, le sexe gonadique et le phénotype ; quelques rares individus restent fertiles). Les anomalies du déterminisme du sexe sont, pour la plupart, d'origine génétique. Elles sont secondaires à des anomalies du nombre des chromosomes sexuels, ou bien à des altérations des gènes impliqués dans le déterminisme du sexe.*

*La majeure partie des cas d'hypogonadisme sont associés à une aneuploïdie des gonosomes. Cependant, il faut noter que, certaines anomalies de nombre des gonosomes*

*modifient peu la fonction de reproduction, mais affectent le comportement des sujets atteints (cas des individus XYY) ; d'autres restent, le plus souvent, inapparentes (femelles XXX).*

*Dans toutes les formes d'intersexualité, la fonction de reproduction est très altérée. D'autre part, contrairement à l'hypogonadisme, aucun lien ne peut être fait entre le caryotype et le type d'intersexualité observé. Hermaphrodisme et pseudo-hermaphrodisme sont associés à une grande variété de modifications au niveau du phénotype et des organes génitaux internes (indépendamment du caryotype). Ces formes d'intersexualité ne se distinguent que sur des critères histologiques.*

*L'ensemble des anomalies du développement sexuel rencontrées chez les Mammifères en fonction de leur caryotype est résumé dans le tableau 1 et dans la figure 27.*

*Les anomalies du développement sexuel, et tout particulièrement l'intersexualité, sont très rares chez l'homme (Thompson, (270)) ; chez les animaux domestiques, elles semblent plus répandues.*

## **I.4. Intersexualité chez le chien et le cheval**

Une étude plus exhaustive des cas d'intersexualité décrits dans la littérature a été réalisée pour deux espèces d'animaux domestiques, le chien (essentiellement considéré comme un animal de compagnie) et le cheval (considéré, à la fois, comme un animal de loisir et un animal de rente). Ces anomalies du développement ont différentes répercussions chez ces animaux domestiques.

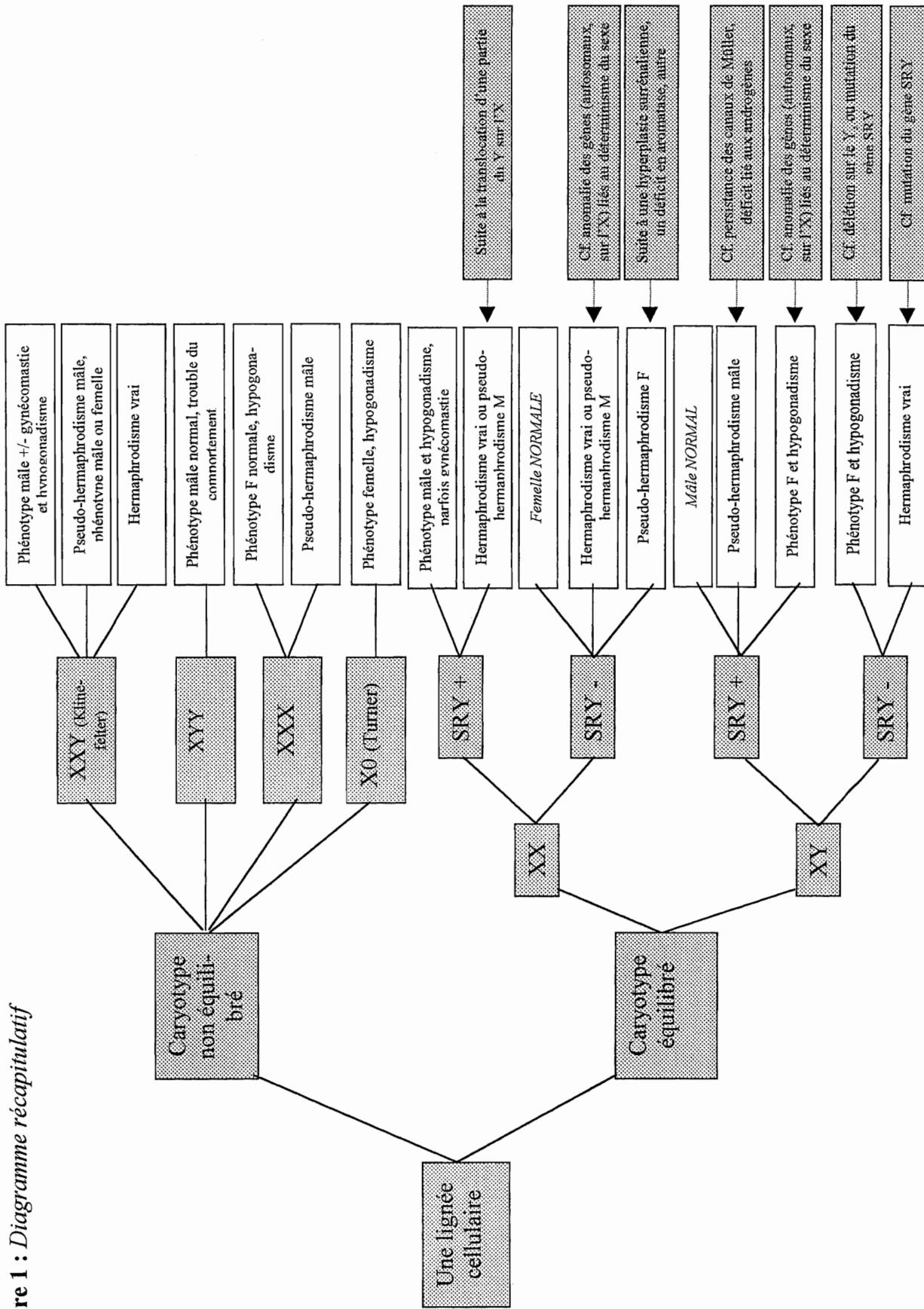
Chez le chien, hormis dans le cas des animaux reproducteurs pour lesquels on recherche un état intersexué afin d'expliquer l'infertilité, le diagnostic d'intersexualité est souvent une découverte fortuite. Il est néanmoins intéressant d'étudier ce phénomène dans la mesure où le chien pourrait être un modèle animal des différents types d'intersexualité rencontrés chez l'homme.

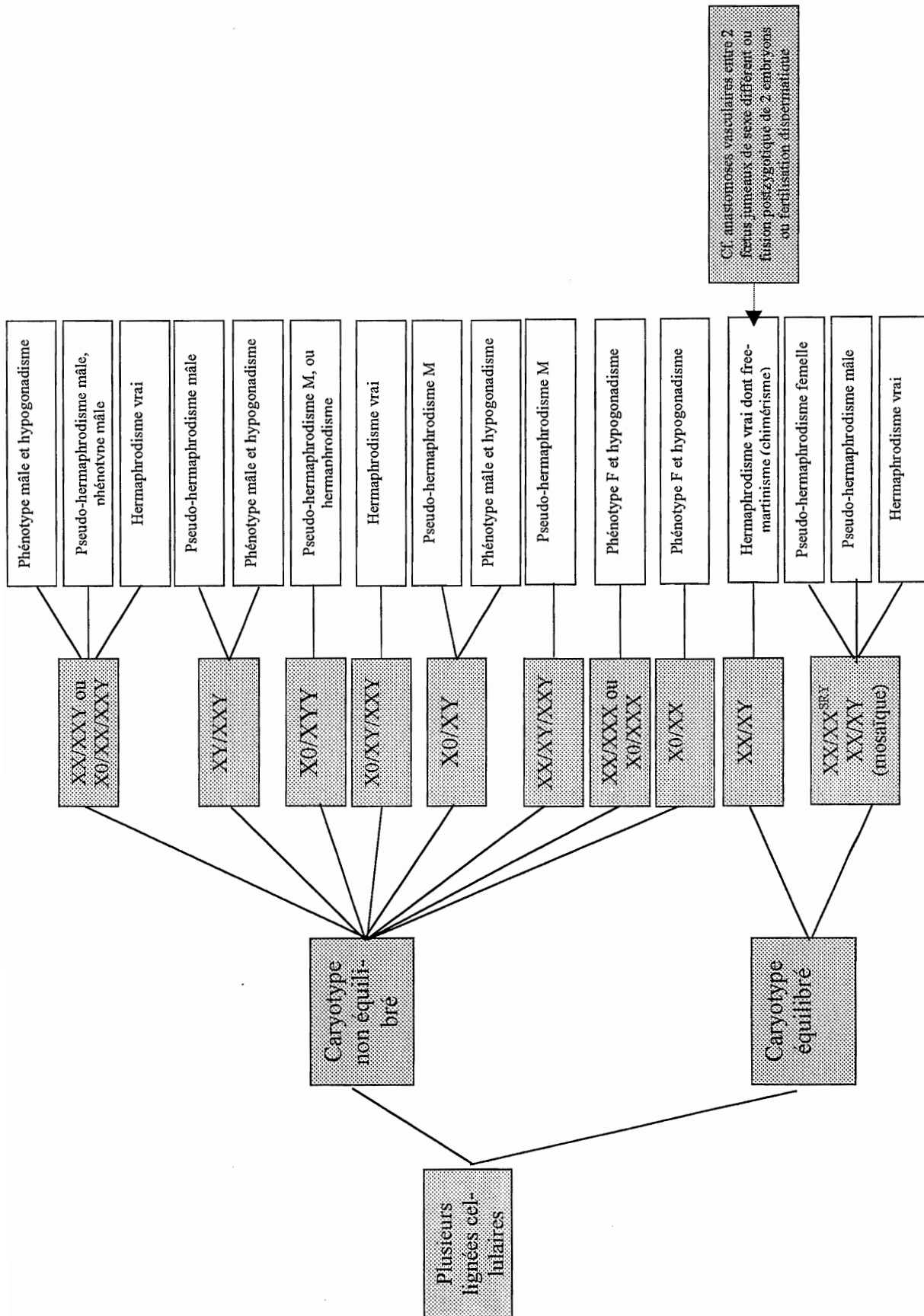
Si elle est rare dans l'espèce canine, la recherche d'un état intersexué est plus fréquemment demandée dans l'espèce équine ; en effet, dans le premier cas, les anomalies du développement sexuel entraînent une infertilité et la valeur économique des chevaux affectés est diminuée. De plus, dans certains cas, l'intersexualité est responsable de troubles du comportement, les chevaux atteints pouvant être agressifs. Pour d'autres, cette anomalie du développement peut modifier les aptitudes sportives. Enfin, dans de rares cas, l'intersexualité peut entraîner des diagnostics faussement positifs lors des contrôles anti-dopages et écourter la carrière du cheval. Pour cette étude, ont été prises en compte des publications postérieures à 1960, dans la mesure où les articles antérieurs, les techniques d'investigation de l'intersexualité ne permettaient pas une approche très rigoureuse des cas.

### **I.4.1. Intersexualité dans l'espèce canine**

Chez le chien, on retrouve les trois formes d'intersexualité (Annexes 3, 4 et 5 où les données sont classées par phénotype, caryotype et date) ; elles sont associées à des caryotypes et des phénotypes très variés. Leurs effets vont de la simple anomalie phénotypique, à la létalité en l'absence de traitement. L'intersexualité est le plus souvent liée à l'infertilité. Elle peut parfois se manifester sous la forme de troubles endocriniens et dermatologiques (Howard, (118)).

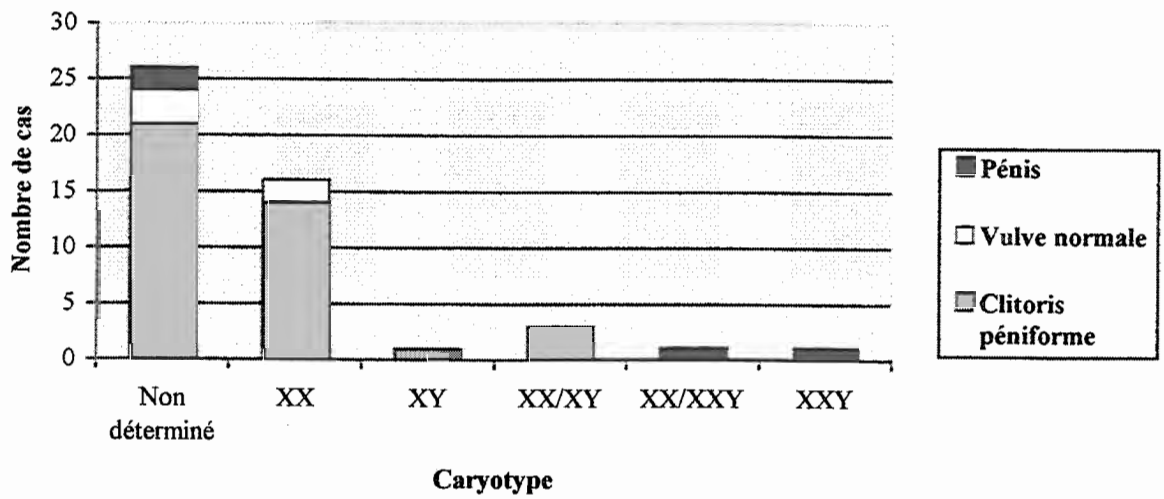
Figure 1 : Diagramme récapitulatif



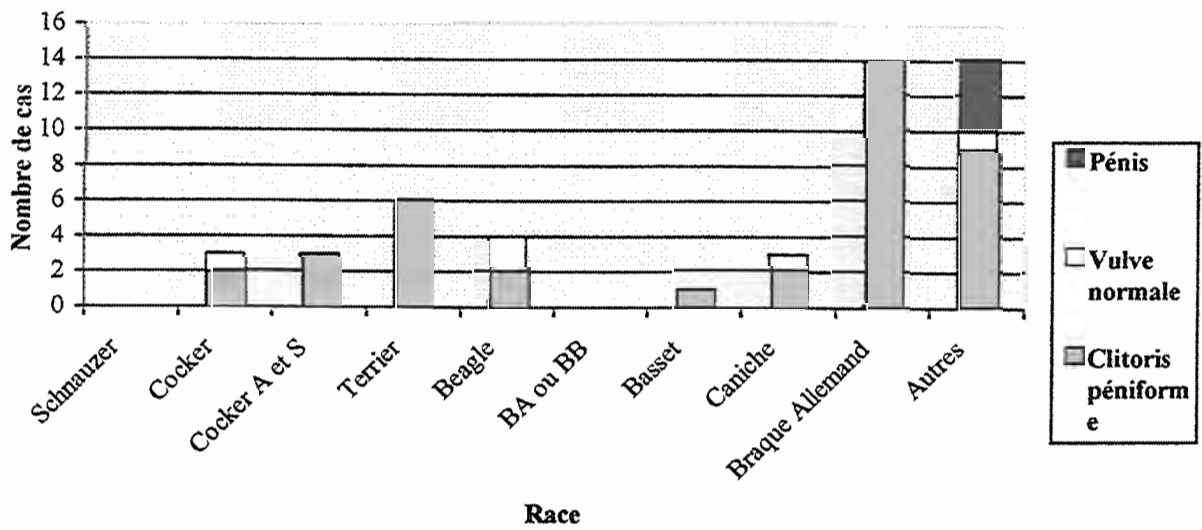


Phénotype	Caryotype équilibré					Caryotype non équilibré														
	Une lignée cellulaire					2 lignées cellulaires					Une lignée cellulaire					Plusieurs lignées cellulaires				
	XX, SRY +	XX, SRY -	XY, SRY +	XY, SRY -	XX/XX <sub>SRY</sub>	XX/XY	XXY ou XXXY ou XXXX <sub>Y</sub>	YYY	XXX	XO	XX/XX <sub>Y</sub>	XO/XX/XXY	XY/XX <sub>Y</sub>	XO/XY/XXY	XX/XY/XXY	XO/XY/Y	XX/XX <sub>X</sub> ou XO/XX <sub>X</sub>	XO/XX	XO/XY	
Femelle normale																				
Hypogonadisme femelle			X	X				X	X							X				
Pseudo-hermafrodite femelle		X																		
Hermaphroditisme	X	X	X	X	X	X								X	X				X	
Pseudo-mâle		X	X	X		X		X							X				X	
Hypogonadisme mâle	X																X	X		
Mâle normal							X													

Tableau 1 : Répartition des phénotypes observés en fonction du caryotype



**Figure 28 : Chiens hermaphrodites vrais**



**Figure 29 : Répartition des cas de chiens hermaphrodites en fonction de la race.**

(Avec BA = Berger Allemand et BB = Berger Belge)

### **I.4.1.a. Hermaphrodisme vrai**

L'intersexualité gonadique n'a été rapportée que 48 fois sur les 141 cas d'intersexualité ayant fait l'objet de publication dans l'espèce canine (soit 34%).

#### **I.4.1.a.1. Phénotype des chiens hermaphrodites vrais**

On peut regrouper les animaux en trois grandes catégories phénotypiques :

- Le phénotype le plus courant est caractérisé par une apparence femelle, avec une vulve plus ou moins développée et un clitoris péniforme. On le rencontre dans 39 cas sur les 48 décrits (81,25%).
- Les chiens d'apparence femelle normale constituent 10,41% des cas (5/48)
- Le dernier phénotype correspond aux chiens d'apparence mâle (4 animaux soit 8,34%).

Pour la majeure partie des chiens, 75%, on constate la présence d'un os pénien.

Des manifestations d'œstrus ont été rapportées dans 5 cas seulement (Bosu, (23), Sundberg, (258) ; Tangner, (264) ; Thomas, (268) ; Medleau, (176)) (Annexe 3).

#### **I.4.1.a.2. Pathologies associées à l'intersexualité**

Une partie des chiens hermaphrodites ont été présentés en consultation pour différents troubles associés à leur état intersexué. Ces pathologies sont soit des pathologies de l'appareil uro-génital, soit des troubles dermatologiques soit des anomalies comportementales.

- Pathologies concernant l'appareil uro-génital :

On décrit tout d'abord des cas de chiens présentant des écoulements purulents au niveau de la vulve et inflammation du clitoris. Deux animaux phénotypiquement femelle et présentant ces manifestations cliniques ont été rapportés (Hubler, (119), Melniczek, (177)).

L'irrégularité des cycles œstraux peut également être un motif de consultation chez des « chiennes » hermaphrodites (Tangner, (264) ; Thomas, (268) ; Medleau, (176)).

Enfin, l'incontinence urinaire peut être liée à l'intersexualité gonadique, mais semble rare. Un seul chien, a priori présentait cette pathologie (Chaffaux, (49)).

- Alopécie :

Des consultations pour des dépilations diffuses plus ou moins symétriques peuvent conduire au diagnostic d'hermaphrodisme (Chaffaux, (49), Medleau, (176)).

- Agressivité et comportement de mâle chez un animal de phénotype femelle :

Cette attitude est mentionnée pour 2 jeunes Cockers Spaniels (7 mois et 16 mois respectivement) pour lesquels on a mis en évidence deux ovotestis (Sundberg, (258) ; Allen, (8)).

L'hermaphrodisme peut être associé à différentes pathologies sans que cela ne soit systématique. Aucune maladie ne semble prédominer.

#### **I.4.1.a.3. Appareil génital interne des chiens hermaphrodites**

Lorsqu'on possède le renseignement, on remarque que les dérivés des canaux de Wolff des chiens hermaphrodites sont généralement présents sous forme d'épididymes.

Le développement de tissu prostatique n'a été constaté que dans deux cas (Philips, (213) ; Alexon, (7)).

Les canaux de Müller se différencient pour former un vagin et un utérus qu'on retrouve chez la plupart des individus affectés. On peut parfois mettre en évidence des oviduc-tes.

En ce qui concerne les gonades retrouvées chez ces animaux, la présence d'au moins un ovotestis est fréquente (83,3% des chiens). En fait 52 % des individus sont des hermaphro-dites bilatéraux, 10,4% possèdent un testicule et un ovotestis. Un seul cas d'hermaphrodisme unilatéral avec un ovaire a été mentionné chez un Doberman (Meyers-Wallen, (183).

10,4% des chiens sont des hermaphrodites latéraux.

#### I.4.1.a.4. Caryotype des chiens hermaphrodites vrais

L'étude du caryotype des chiens hermaphrodites décrits dans la littérature a été réali-sée pour 35,4% des animaux.

Dans un tiers des cas, le caryotype est XX, alors que 6,2% des chiens hermaphrodites vrais sont des mosaïques XX/XY.

Dans les publications, on ne rapporte qu'un seul cas d'hermaphrodite XY (Chaffaux, (49)) ; les caryotypes XXY et XX/XXY n'ont eux aussi été décrits qu'une fois (Bosu, (23) ; Dain, (69)).

La présence des deux chromosomes X est fréquemment associée au développement de 2 ovotestis. L'hermaphrodisme unilatéral avec un testicule n'est rencontré qu'en présence d'un chromosome Y (caryotype XY ou XX/XY ou XX/XXY) (figure 28).

#### I.4.1.a.5. « Effet » de la race

L'hermaphrodisme vrai paraît affecter toutes les races de chien de façon à peu près équivalente (figure 29). L'hypothèse d'une prédisposition des Braques Allemands à poils courts (13 cas ont été décrits, dont 11 concernaient une étude familiale) (Randolph, (225), Sommer, (253) ; Meyers-Wallen, (181)) a été formulée, mais doit être, dans l'état actuel des choses, considérée avec prudence. D'autres études concernant des familles de Braques Alle-mands à poils courts seraient nécessaires.

#### I.4.1.b. Pseudo-hermaphrodisme mâle

Il se rencontre dans 50% des cas d'intersexualité dans l'espèce canine (70 cas sur les 141 étudiés). Cette forme d'intersexualité est fréquemment impliqué dans des pathologies de l'appareil uro-génital. Elle intervient aussi dans des troubles du comportement et des patholo-gies cutanées.

##### I.4.1.b.1. Phénotype des chiens pseudo-hermaphrodites mâles

Comme pour les hermaphrodites, on peut déterminer trois catégories phénotypi-ques (Annexe 4) :

- La plupart des chiens ont une apparence de femelle avec un clitoris péniforme (52,8% des cas).
- Le deuxième type regroupe des chiens présentant un appareil génital externe mâle normal plus ou moins associé à une gynécomastie (43% des cas).



- Enfin, on peut observer des chiens avec une vulve et un micropénis ou un pénis (4,3% des animaux).

La présence de l'os pénien n'est constatée que dans 30% des cas (Annexe 4).

#### I.4.1.b.2. Pathologies associées à l'intersexualité tubulaire mâle

Le pseudo-hermaphrodisme peut être responsable de pathologies parfois graves dans l'espèce canine (Annexe 4).

- Pathologies de l'appareil uro-génital :

Il s'agit, premièrement, de l'incontinence urinaire. Elle est parfois le seul motif de consultation (Howard, (118)). Sur les 70 chiens pseudo-hermaphrodites mâles recensés dans la bibliographie, l'incontinence urinaire est mentionnée pour quatre cas (Carillo, (46) ; Chaffaux, (48) ; Holt, (116) ; Gotthelf, (99)). Elle peut être liée à une fistule uréthro-vaginale (figure 30).

D'autre part, les malformations du pénis constituent une des manifestations du pseudo-hermaphrodisme mâle. Sur les 30 chiens ayant un appareil reproducteur externe avec un développement pénien, 5 présentent des anomalies morphologiques.

Le diagnostic de pyomètre nécessitant un traitement chirurgical rapide peut également conduire à la mise en évidence du pseudo-hermaphrodisme mâle (18,6% des chiens pseudo-hermaphrodites mâles développent un pyomètre).

Les tumeurs testiculaires (Sertolinomes et Séminomes) sont les pathologies les plus fréquemment associées au pseudo-hermaphrodisme mâle. En effet, la présence de testicules internes favorise le développement de Sertolinomes, et dans une moindre mesure de Séminomes (Howard, (118)). On constate que 28,6% des pseudo-hermaphrodites mâles présentent l'une ou l'autre, voire les deux formes de tumeurs testiculaires. Il est intéressant de noter que les Schnauzers pseudo-hermaphrodites mâles décrits dans la littérature, à l'exception d'un chien de 3 ans rapporté par Medleau (1989), présentent une tumeur d'un ou des deux testicules (15 des 16 Schnauzers mentionnés dans la bibliographie sont atteints de Sertolinome). Ceci laisse entrevoir l'hypothèse d'une prédisposition des Schnauzers intersexués aux Sertolinomes, comme l'avait déjà supposé Brown en 1976.

- Agressivité et comportement de mâle chez un animal de phénotype mâle :

Cette modification du comportement n'est rapportés que pour un chien (Genero, (91))

- Alopécie :

Medleau rapporte le cas d'un Schnauzer nain « femelle » avec une alopécie (Medleau, (176)). De même, Bruisma décrit le cas d'un Schnauzer de phénotype mâle castré atteint d'une alopécie bilatérale symétrique (Bruisma, (39)).

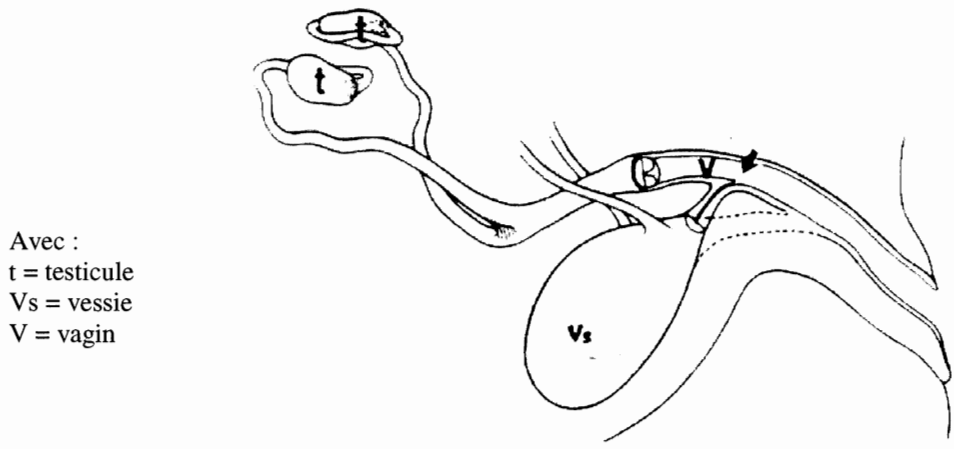
#### I.4.1.b.3. Appareil génital interne des chiens pseudo-hermaphrodites mâles

On peut noter la présence d'un ou deux épидидymes dans 28 cas sur les 70 (40%). Les canaux déférents sont retrouvés chez 23% des chiens.

Le développement de tissu prostatique est confirmé pour 7 cas (10% des animaux)

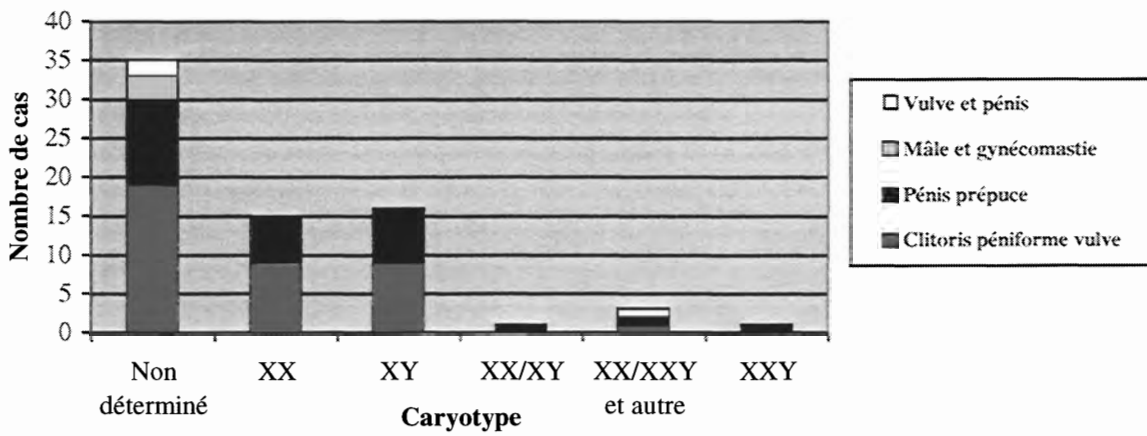
Si l'utérus est présent dans 68.5% des cas, le vagin n'est observé que chez 24% des chiens pseudo-hermaphrodites mâles.

Les testicules sont soit abdominaux soit inguinaux.

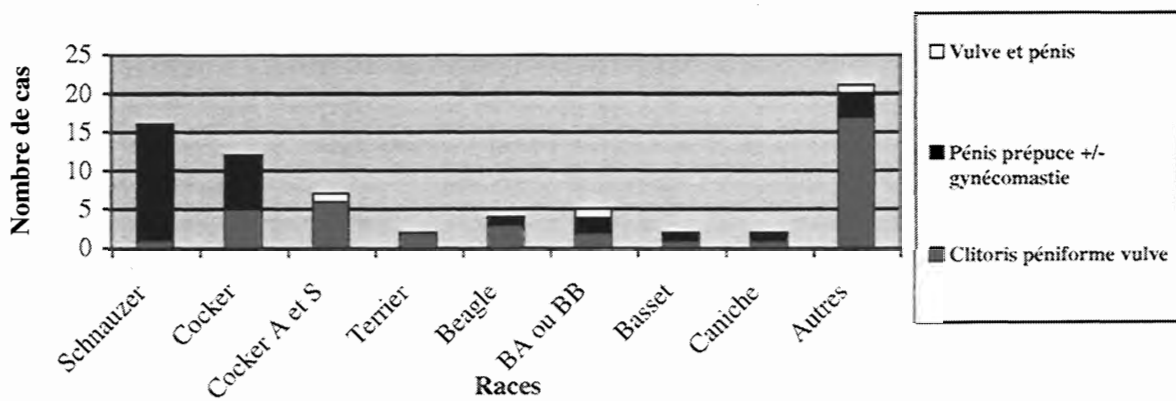


**Figure 30 :** Représentation schématique d'une fistule uréthro-vaginale chez un chien pseudo-hermaphrodite mâle.

La position normale de l'urètre est indiquée en pointillés. (D'après Jackson, (129)).



**Figure 31 :** Pseudo-hermaphrodites mâles dans l'espèce canine



**Figure 32 :** Répartition des cas de pseudo-hermaphroditisme mâle en fonction des races des chiens

(Avec BA = Berger Allemand et BB = Berger Belge)

#### I.4.1.b.4. Caryotype des chiens pseudo-hermaphrodites mâles

L'étude du caryotype des chiens décrits dans la littérature concerne 51,5% des animaux.

Les caryotypes XX et XY sont trouvés dans une proportion sensiblement égale des cas (21,5% et 22,8% respectivement). Leurs effets sur le développement de l'appareil génital ne paraît pas différent (figure 31).

Quelques cas de mosaïques (XX/XXY, XX/XY) sont rapportés. (Allen, (8) ; Chaffaux, (48); Dain, (69); Genero, (91)). Marshall a étudié un chien pseudo-hermaphrodite mâle Klinefelter (Marshall, (174)).

Il faut préciser que sur les 70 chiens pseudo-hermaphrodites mâles, 10 sont des XX sex reversed (Annexe 4).

Lorsque la PCR pour tester la présence du SRY a été réalisée sur des chiens de phénotype femelle avec un clitoris péniforme, elle était le plus souvent négative (le caryotype n'a été déterminé que pour 3 des 7 chiens testés, ils étaient XX) (Meyers-Wallen, (183) ; Melniczek, (177)). Un résultat positif a été obtenu pour un chien XY (Meyers-Wallen, (183)).

#### I.4.1.b.5. Influence de la race

Les chiens pseudo-hermaphrodites mâles sont de différentes races (figure 32).

Cependant, on peut constater que sur les 70 chiens étudiés, 19 sont des Cockers, soit 27%, et 16 sont des Schnauzers (23%).

En ce qui concerne les Cockers, la plupart des cas étudiés étaient des cas isolés à l'exception d'une étude d'une famille de Cockers Spaniels (les 3 chiens étaient issus de 2 portées différentes, mais avaient les mêmes parents, la mère ayant été saillie par son père) (Hare et McFeely, (111)). Les 3 cas de Cockers Spaniels présentés par Meyers-Wallen en 1988 correspondaient à des animaux consanguins (Meyers-Wallen, (179)).

Les différents Schnauzers présentés n'avaient, a priori aucun lien entre eux à l'exception des 3 cas décrits par Marshall (1982).

Ceci peut laisser supposer que les Schnauzers et les Cockers pourraient être prédisposés pour le pseudo-hermaphrodisme mâle

#### I.4.1.c. Pseudo-hermaphrodisme femelle

C'est la forme d'intersexualité la plus rare (16% des chiens). Seuls 23 cas ont été recensés dans la littérature et 6 d'entre eux ont une origine iatrogène confirmée.

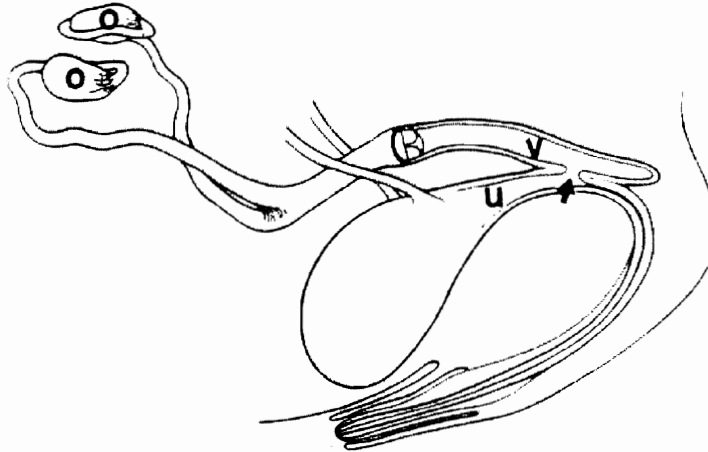
##### I.4.1.c.1. Phénotype des chiens pseudo-hermaphrodites femelles

Quatre catégories phénotypiques peuvent être définies (Annexe 5) :

- La plupart des chiens ressemblent à des mâles normaux (39,1%).
- La deuxième catégorie réunit des animaux présentant un prépuce seul (34,8% des chiens).
- L'apparence femelle avec un clitoris péniforme s'observe dans 17,4% des cas.
- Enfin, des chiens avec une vulve et un micropénis forment 8,7% des pseudo-hermaphrodites femelles.

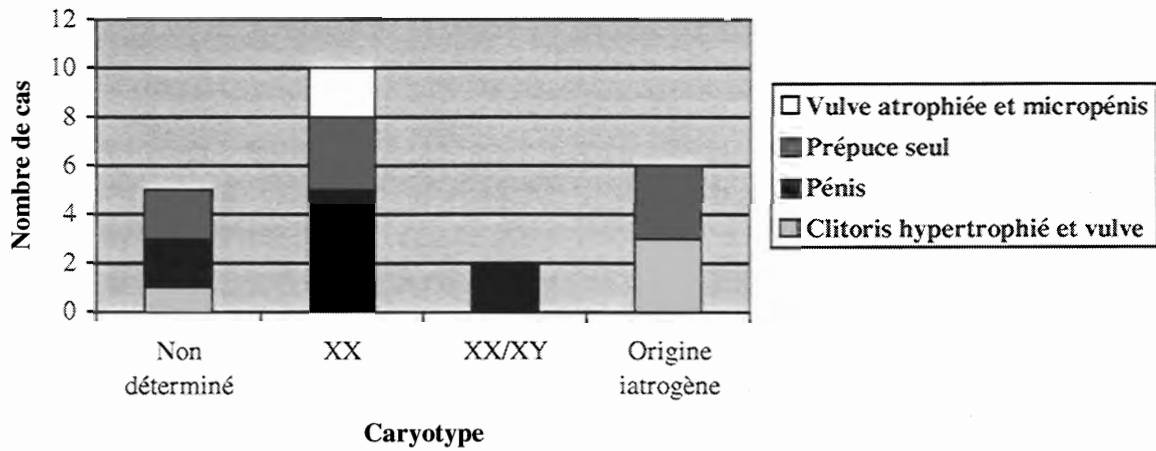
Aucun os pénien n'est constaté.

Avec :  
 O = ovaire  
 U = urètre  
 V = vagin

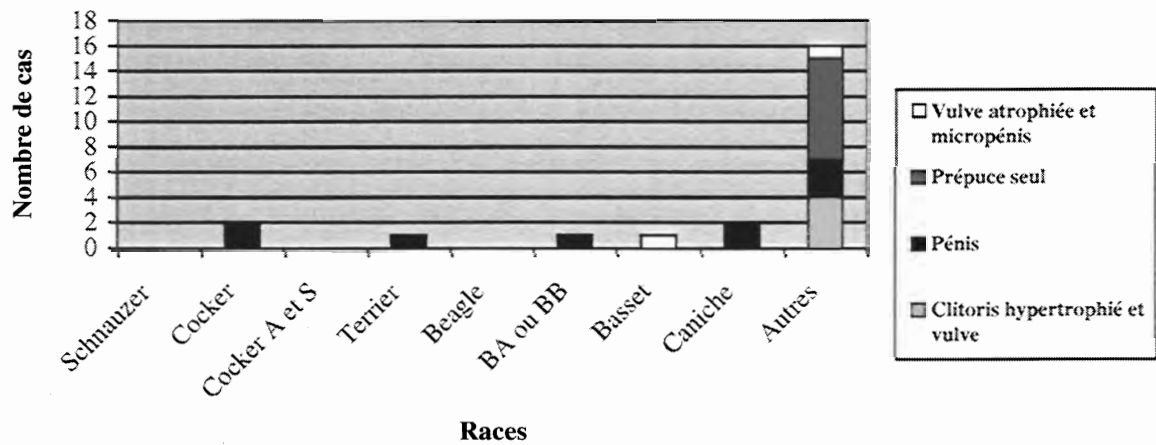


**Figure 33 :** Représentation schématique d'une fistule uréthro-vaginale chez un animal pseudo-hermaphrodite femelle.

(D'après Jackson, (129))



**Figure 34 :** Pseudo-hermaphrodites femelles dans l'espèce canine



**Figure 35 :** Répartition des cas de pseudo-hermaphrodites femelles en fonction des races de chiens.

21,7% des femelles ont des manifestations d'œstrus (Stewart, (254) ; McFeely, (163) ; Van Schouwemberg, (276) ; Olson, (206) ; Chaffaux, (50)).

#### I.4.1.c.2. Pathologies associées au pseudo-hermaphrodisme femelle

Trois grandes manifestations cliniques concernant l'appareil uro-génital sont observées lors de cette forme d'intersexualité (Annexe 5).

Il s'agit, dans un premier temps, de l'incontinence urinaire. Elle est parfois associée à une fistule uréthro-vaginale (figure 33) et affecte 52,2% des animaux.

Des cas de fistule entre la vessie et l'utérus sont également rapportés. Cette anomalie, parfois létale, a été décrite dans 3 cas (Perl, (212) ; Van Schouwemberg, (276); Lennoz, (158)).

Enfin, un pyomètre a été diagnostiqué chez deux animaux (Olson, (206), Nemzeck, (195)).

#### I.4.1.c.3. Appareil génital interne

Les dérivés des canaux de Wolff ne sont jamais retrouvés.

La prostate est mentionnée chez deux chiens pseudo-hermaphrodites femelles (McFeely, (163) ; Nemzeck, (195)).

L'utérus est toujours présent.

#### I.4.1.c.4. Caryotype des chiens pseudo-hermaphrodites femelles

L'étude du caryotype des chiens décrits dans la littérature été réalisée pour 37,8% des animaux. Les pseudo-hermaphrodites femelles sont surtout XX (56,5% des cas) (figure 34). Deux mosaïques XX/XY sont rapportées (Chaffaux, (48) ; Weaver (286)).

A notre connaissance, aucune femelle XY sex reversed n'a été décrite chez le chien.

La race semble sans influence sur l'apparition de cette forme d'intersexualité (figure 35).

*En conclusion de cette partie sur l'intersexualité chez le chien, et malgré un nombre relativement peu important de cas, on peut dire que les pseudo-hermaphrodites mâles sont les plus fréquents, devant les hermaphrodites et les pseudo-hermaphrodites femelles.*

*La majeure partie des animaux décrits sont des animaux de propriétaires, ce qui explique que tous les cas ne soient pas renseignés de la même façon. Lorsque la chirurgie a été réalisée, elle n'a pas forcément donné lieu à une analyse histologique des gonades, certains cas ayant été classés au vu de l'aspect macroscopique de ces dernières (voir par exemple Lee, (155) ou Bruisma, (39)). De ce fait, la répartition des cas en hermaphrodites vrais ou pseudo-hermaphrodites peut parfois être remise en cause.*

*Dans la bibliographie, trois races paraissent plus sensibles (figure 36) ; il s'agit des Schnauzers, des Cockers (pour les pseudo-hermaphrodites mâles) et des Braques Allemand à poils courts (pour les hermaphrodites). L'hypothèse d'une prédisposition raciale demanderait à être vérifiée par d'autres études de familiales.*

*L'âge de mise en évidence d'un état intersexué est très variable. Lorsque l'intersexualité se manifeste par une anomalie de l'appareil génital externe chez un individu de phénotype mâle, le diagnostic est précoce : la présence d'un hypospadias, ou d'un paraphimosis chez un chiot de moins de 1 an oriente le diagnostic vers l'intersexualité (Dain,*

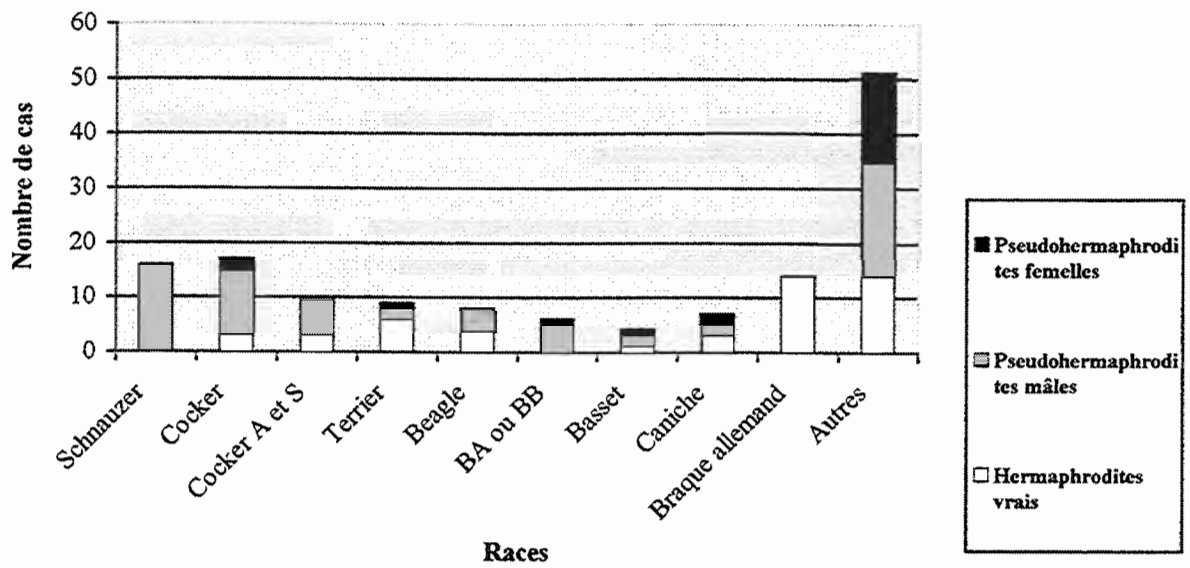


Figure 36 : Répartition des cas d'intersexualité en fonction des races de chiens.

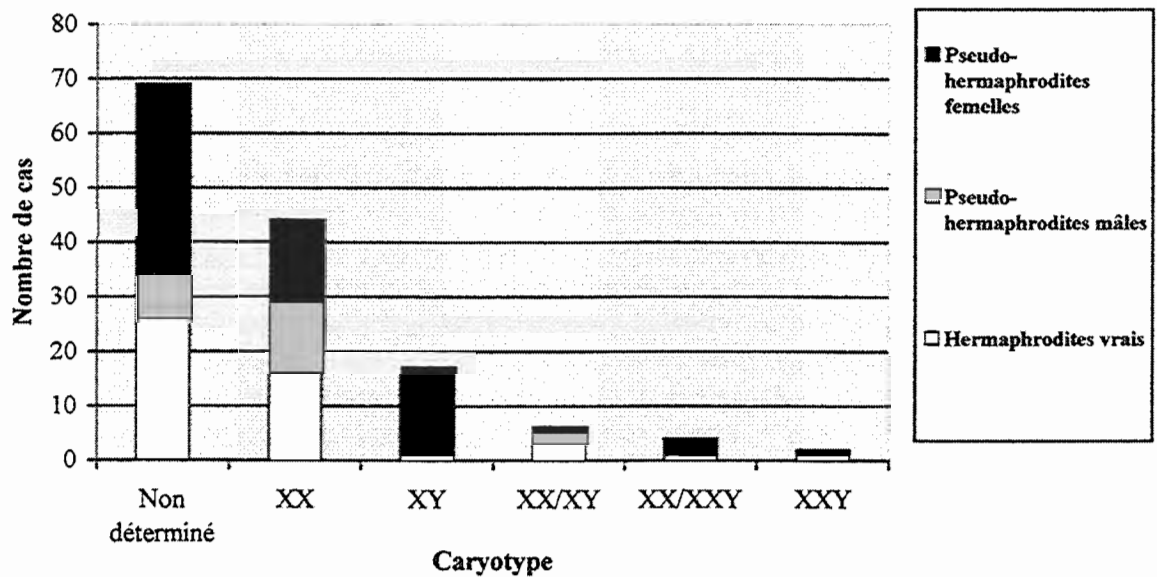


Figure 37 : Répartition des formes d'intersexualité chez le chien en fonction du caryotype.

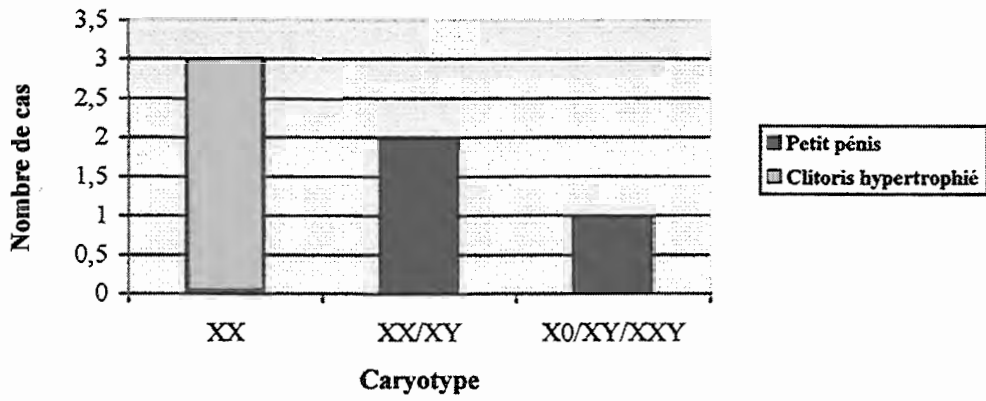
(68) ; Lee, (155) ; Chaffaux, (48)). En revanche, la présence d'une vulve et d'un clitoris péniforme peut être découverte très tôt et conduire au diagnostic d'un état intersexué dès 2 mois (Hare et McFeely, (111)) ou bien rester inaperçue jusqu'à un âge avancé (8 ans) (Chaffaux, (48)). L'incontinence urinaire secondaire à l'intersexualité est généralement détectée dans les 3 premières années de vie de l'animal, probablement en raison de l'inconfort occasionné pour les propriétaires. Il existe cependant des diagnostics tardifs de cas de chiens intersexués incontinents (Chaffaux, (48)). D'autres pathologies menant au diagnostic d'un état intersexué apparaissent chez des animaux adultes. Il s'agit d'abord des tumeurs testiculaires : leur diagnostic n'est fait que chez les chiens de plus de 5-6 ans, ce qui correspond à l'âge normal de détection de ces tumeurs chez les chiens cryptorchides, indépendamment de toute intersexualité, les signes d'appel sont des surtout des troubles cutanés. Enfin, les pyomètres, bien qu'ils puissent être rencontrés dès les premières ou deuxièmes chaleurs (Volpe, (281)), semblent surtout se manifester chez les animaux intersexués de plus de 5 ans, âge moyen de détection des pyomètres chez les chiennes normales.

D'autre part, on peut constater que l'étude cytogénétique n'a pas toujours été faite. Lorsqu'elle a été réalisée, le nombre de cellules observées n'est pas toujours mentionné. Il l'est néanmoins dans quelques cas, mais l'étude cytogénétique a rarement porté sur plus de 100 métaphases (Hare et McFeely, (111) ; Dain, (68) ; Volpe, (281)). Ceci peut moduler les résultats caryotypiques obtenus pour certains chiens. Cependant on peut remarquer que le caryotype XX est souvent associé à l'intersexualité (44 cas sur les 73 pour lesquels l'analyse cytogénétique a été réalisée), mais aucune corrélation ne peut être faite entre le caryotype et le type de gonade ou encore le phénotype d'un chien intersexué (figure 37).

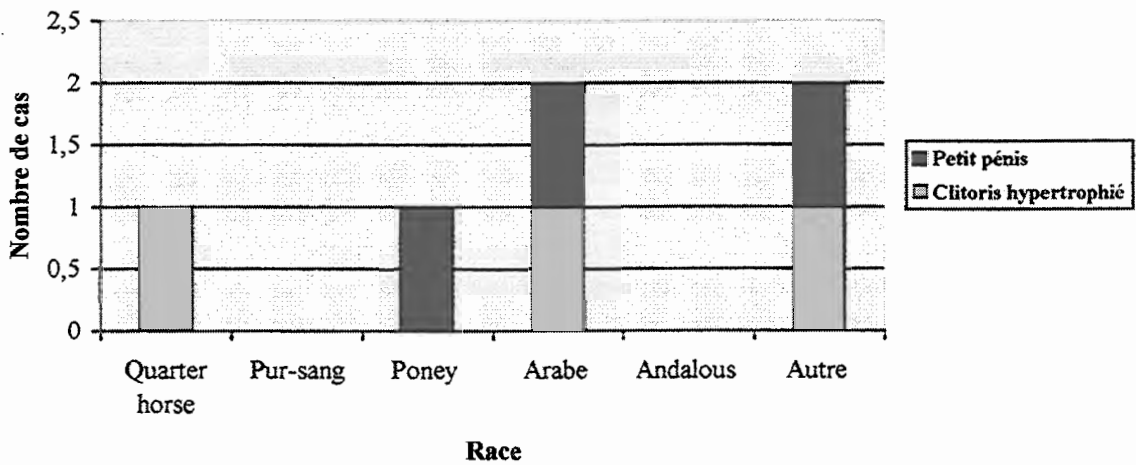
Depuis 1995, des analyses moléculaires ont été faites sur certains chiens intersexués : elles concernent des chiens hermaphrodites vrais, et des pseudo-hermaphrodites mâles. A l'exception d'un caniche XY, Sry positif (pseudo-hermaphrodite mâle), tous les animaux sont Sry négatifs. Mais pour 14 des 24 chiens testés, le caryotype n'a pas été déterminé. Ceci est un peu regrettable dans la mesure où on ne possède aucun renseignement sur la présence éventuelle du chromosome Y. De plus, dans les différentes publications (Meyers-Wallen, (181-183) ; Melniczek, (177)), les auteurs ne mentionnent pas la sensibilité de leur PCR : ils ne précisent pas, en cas de mosaïque éventuelle XX/XY, le nombre de cellules mâles qui seraient détectables par la PCR. A l'heure actuelle et contrairement à ce qui peut se faire chez l'homme, le Sry est l'un des seuls gènes impliqués dans le déterminisme du sexe qui peut être testé chez le chien ; on peut également mettre en évidence, par PCR, la présence du gène WT 1 (Venta, (277)). Par contre, il est possible d'utiliser des couples d'amorces permettant d'amplifier différents fragments du chromosome Y, autres que le Sry (Olivier, (204-205)). Ceci serait intéressant pour vérifier une partie de l'intégrité du chromosome Y. De plus, à l'heure actuelle, il est possible d'utiliser les techniques de « Chromosome painting » pour mettre en évidence le chromosome Y (Langford, (149)), ainsi que la FISH (Breen, (30)). L'ensemble des techniques de Biologie Moléculaire pourraient être utilisées, en complément de l'étude cytogénétique pour caractériser les différents cas d'intersexualité observés chez le chien. Mais ces techniques récentes ne sont pas encore utilisables en routine chez le chien.

#### **I.4.2. Intersexualité dans l'espèce équine**

Dans l'espèce équine, bien que les trois formes d'intersexualité soient présentes, elles ne semblent pas affecter un grand nombre d'animaux. L'étude bibliographique a permis de regrouper 50 cas de chevaux intersexués possédant des caryotypes et des phénotypes très



**Figure 38 :** *Hermaphrodites vrais dans l'espèce équine*



**Figure 39 :** *Répartition des cas d'hermaphrodites vrais en fonction des races de chevaux.*



variés (annexes 6, 7 et 8 où les données sont classées par phénotype, caryotype et date). L'intersexualité est généralement recherchée pour expliquer l'infertilité. Elle ne semble pas liée à des pathologies particulières, mais influence souvent le comportement des animaux.

#### **I.4.2.a. Hermaphrodisme vrai**

L'hermaphrodisme semble peu répandu chez les chevaux et ne concerne que 6 des 50 animaux intersexués étudiés dans la bibliographie (12%).

##### **I.4.2.a.1. Phénotype des chevaux hermaphrodites vrais**

Sur les 6 animaux recensés dans la littérature, 3 avaient une apparence de jument avec un clitoris hypertrophié. Les 3 autres animaux étaient de phénotype mâle, mais présentaient un pénis peu développé (Annexe 6).

Trois des six chevaux se comportaient comme des étalons, malgré une apparence femelle (McIlwraith, (167), Meyers-Wallen, (182), Buoen, (42)), ce qui a motivé la recherche d'un état intersexué.

Un poney Welsh décrit par Dunn avait une absence de libido malgré un phénotype mâle (Dunn, (78)).

##### **I.4.2.a.2. Appareil génital interne**

Pour tous les cas renseignés (4 sur les 6), on constate que les dérivés des canaux de Wolff sont généralement présents sous forme d'épididymes. Des canaux déférents ont été identifiés dans un seul cas. Le développement de tissu prostatique hypoplasique a également été constaté chez le même animal (Dunn, (78)).

Les canaux de Müller se différencient pour former un utérus, parfois le col de l'utérus. En revanche, on n'observe jamais de vagin.

Chez ces chevaux, 3 sont des hermaphrodites bilatéraux (Dunn, (78) ; Meyers-Wallen, (182)). Les 3 autres sont des hermaphrodites latéraux (McIlwraith, (167) ; Shook, (247) ; Buoen, (42)).

##### **I.4.2.a.3. Caryotype des chevaux hermaphrodites**

L'étude du caryotype a été réalisée pour les 6 chevaux hermaphrodites vrais décrits dans les publications (figure 38).

Le caryotype XX a été retrouvé dans 3 cas (Shook, (247), Meyers-Wallen, (182), Buoen, (42)).

Deux hermaphrodites vrais XX/XY ont été étudiés par McIlwraith et Dunn (McIlwraith, (167) ; Dunn, (78)).

Une mosaïque X0/XY/XXY a été mise en évidence chez un trotteur d'apparence mâle (Dunn, (78)).

Le développement de 2 ovotestis intervient chez des chevaux des trois caryotypes. L'hermaphrodisme latéral n'est rencontré qu'en présence du caryotype XX.

L'hermaphrodisme vrai paraît affecter différentes races de façon à peu près équivalente mais compte tenu du peu d'animaux décrits, il est difficile de préjuger du lien entre la race et l'hermaphrodisme vrai (figure 39).

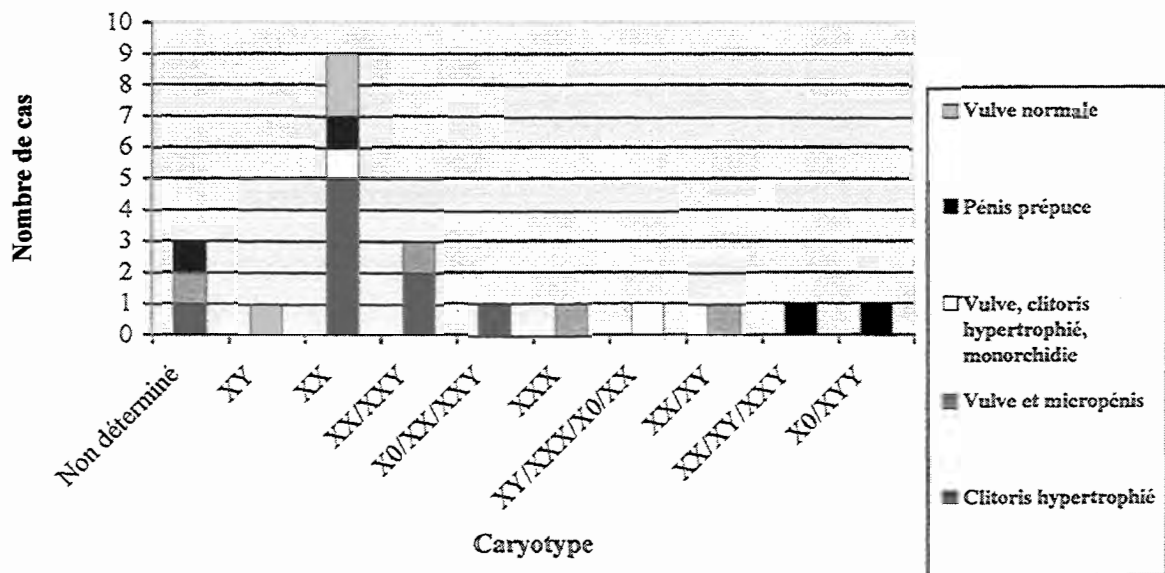


Figure 40 : Pseudo-hermaphroditisme mâle dans l'espèce équine.

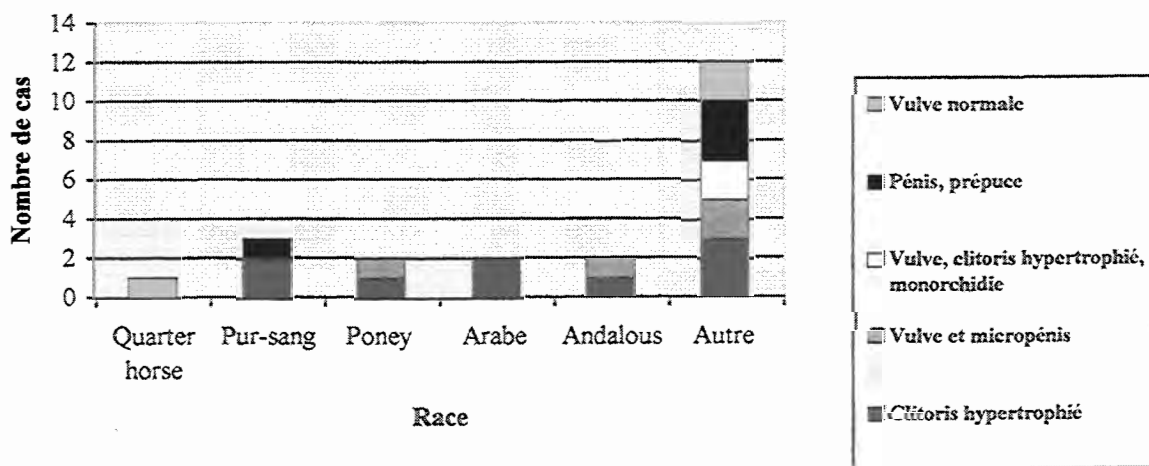


Figure 41 : Répartition des cas de pseudo-hermaphroditisme mâle en fonction des races de chevaux

### I.4.2.b. Pseudo-hermaphrodisme mâle

Il concerne 22 animaux sur les 50 étudiés (44%) et correspond à une grande variété de phénotypes et de caryotypes.

#### I.4.2.b.1. Phénotype des chevaux pseudo-hermaphrodites mâles

On distingue 5 catégories phénotypiques (Annexe 7):

- La plupart des chevaux pseudo-hermaphrodites mâles ont un phénotype de femelle avec un clitoris péniforme (40,9% des cas).
- Le deuxième groupe correspond aux chevaux qui présentent un appareil génital externe femelle et un micropénis (18,2% des cas).
- D'autres ont une apparence de hongre (18,2% des chevaux affectés).
- La quatrième catégorie regroupe les pseudo-hermaphrodites mâles qui ont un phénotype de femelle normale (13,6% des animaux). Ils peuvent aussi avoir une conformation de mâle
- La dernière catégorie est formée par les chevaux qui ont une vulve et qui sont monorchides (9,1% des cas).

Le développement mammaire peut être constaté chez des animaux de phénotype mâle (13,6% des cas) (Kodagali, (143) ; Gluhovshi, (98) ; Constant, (59)).

Le pseudo-hermaphrodisme mâle entraîne souvent une forte agressivité des chevaux atteints vis à vis des autres chevaux, notamment les étalons. Lorsque les chevaux ne sont pas agressifs, ils présentent pour la plupart une attitude d'étalon (59,1% des pseudo-hermaphrodites mâles).

Le flehmen (attitude caractéristique d'un étalon qui retousse la lèvre supérieure pour percevoir les phéromones sexuelles) a pu être observé chez un cheval pseudo-hermaphrodite mâle de phénotype femelle (Fretz, (88)).

#### I.4.2.b.2. Appareil génital interne

La présence des dérivés des canaux de Wolff est confirmée dans 18,2% des cas sous forme d'épididymes, parfois de canaux déférents. Des glandes bulbo-urétrales sont retrouvées dans deux cas (White, (287) ; Constant, (59)).

Une prostate a été identifiée chez un palamino (Constant, (59)).

Si l'utérus n'est pas toujours présent. Il est observé dans 31,8% des cas ; il n'est pas palpable chez 36,4% des chevaux ; les autres cas ne sont pas renseignés.

Le vagin est souvent petit ou rudimentaire.

Les testicules sont soit abdominaux soit inguinaux.

#### I.4.2.b.3. Caryotype des pseudo-hermaphrodites mâles dans l'espèce équine

L'analyse cytogénétique a été réalisée pour 13,6% des animaux (figure 40). Le caryotype XX domine et s'observe dans 41% des cas.

En revanche, le caryotype XY n'est décrit qu'une seule fois, associé au syndrome du testicule féminisant (Kieffer, (140)).

Quelques cas de mosaïques XX/XXY et X0/XX/XXY sont rapportés (18,9% des cas) (Bouters, (24-25) ; Fretz, (88) ; Power, (221)).

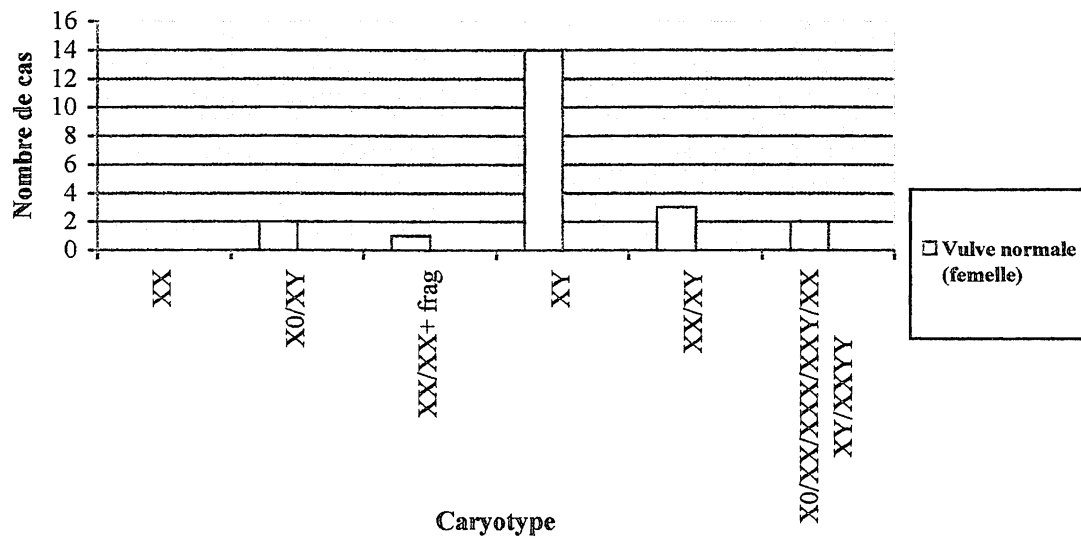


Figure 42 : Chevaux pseudo-hermaphrodites femelles.

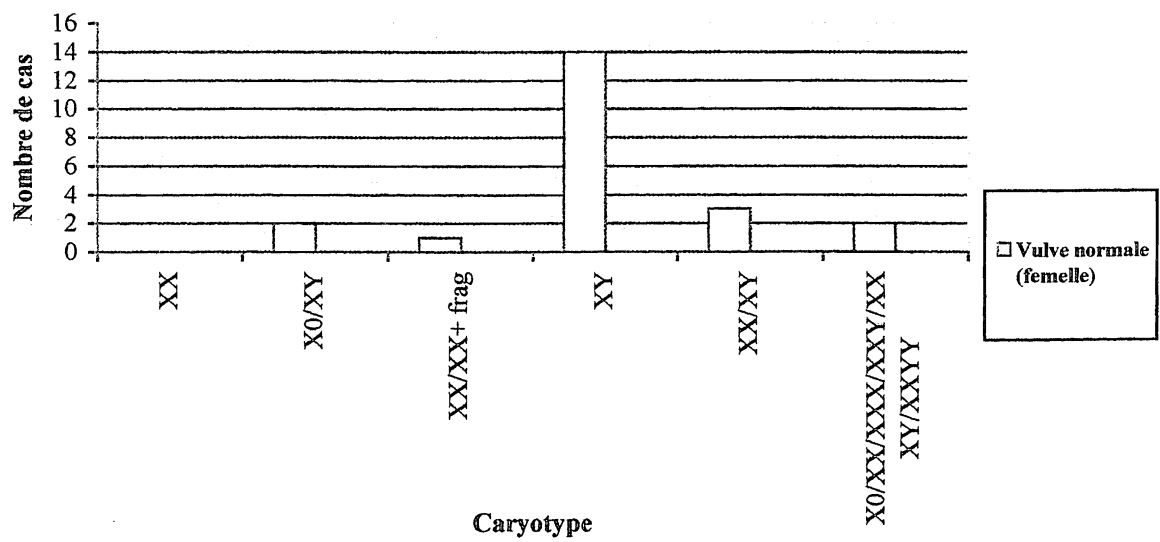


Figure 43 : Répartition des cas de pseudo-hermaphrodites femelles en fonction des races de chevaux.

On observe encore des caryotypes XXX (Moreno-Millan, (190)), X0/XX/XY/XXY (Basrur, (12)), X0/XXY (Höhn, (117)) et XX/XY/XXY (Dunn, (78)).

Lorsque la PCR pour tester la présence du SRY a été réalisée, elle concernait des animaux XX (pour les 30 métaphases observées) et était négative (Buoen, (42)).

Les chevaux pseudo-hermaphrodites mâles sont de différentes races, sans prédominance (figure 41).

#### **I.4.2.c. Pseudo-hermaphrodisme femelle**

Cette la forme d'intersexualité affecte 22 chevaux parmi les 50 recensés dans la bibliographie (44%).

##### **I.4.2.c.1. Phénotype des chiens pseudo-hermaphrodites femelles**

Tous les animaux ont un phénotype de femelle normale (Annexe 8).

Seuls quatre chevaux (18,2%) présentent des manifestations œstrales (Chandley, (53) ; Cribiu, (64) ; Klunder, (142) ; Mäkinen, (171)).

L'agressivité vis à vis des autres chevaux n'est décrite que dans un cas (Cribiu, (64)).

##### **I.4.2.c.2. Appareil génital interne**

Les dérivés des canaux de Wolff ne sont jamais retrouvés.

Les dérivés des canaux de Müller sont soit normaux, soit l'utérus (parfois même le cervix) paraît plus flasque à la palpation.

##### **I.4.2.c.3. Caryotype des pseudo-hermaphrodites femelles**

L'étude du caryotype a été réalisée pour tous les animaux (figure 42).

Les pseudo-hermaphrodites femelles sont surtout des femelles XY sex reversed et des animaux de caryotype XY (63,6% des cas). Ce caryotype paraît corrélé à la morphologie des chevaux et à leurs bonnes performances en course (ces juments XY ont une musculature de mâle) (Cribiu, (64) ; Power, (220) ; Mäkinen, (171)).

Deux mosaïques XX/XY sont rapportées (Klunder, (142)). Le même auteur a décrit deux cas de pseudo-hermaphrodites femelles X0/XX/XXX/XXY/XXXY/XXYY.

La mosaïque X0/XY concerne 9% des cas (Stewart-Scott, (255)).

Les purs-sang semblent être les plus concernés par cette forme d'intersexualité, sans que l'on ne puisse conclure à un effet de la race (figure 43).

*L'intersexualité chez le cheval paraît surtout représentée par les pseudo-hermaphrodites mâles qui sont les plus fréquents, devant les hermaphrodites et les pseudo-hermaphrodites femelles. Cependant, ceci doit être considéré avec prudence, compte tenu d'un faible nombre de cas étudiés dans la bibliographie.*

*Les observations recensées dans les différentes publications concernent des animaux de propriétaires. Les cas présentés sont parfois incomplets.*

*De plus, aucune étude familiale n'a été entreprise, et aucun lien évident ne peut être établi entre les races affectées et les différents cas d'intersexualité étudiés. Malgré tout, les purs-sang, les chevaux Arabes semblent les plus concernés par l'intersexualité.*

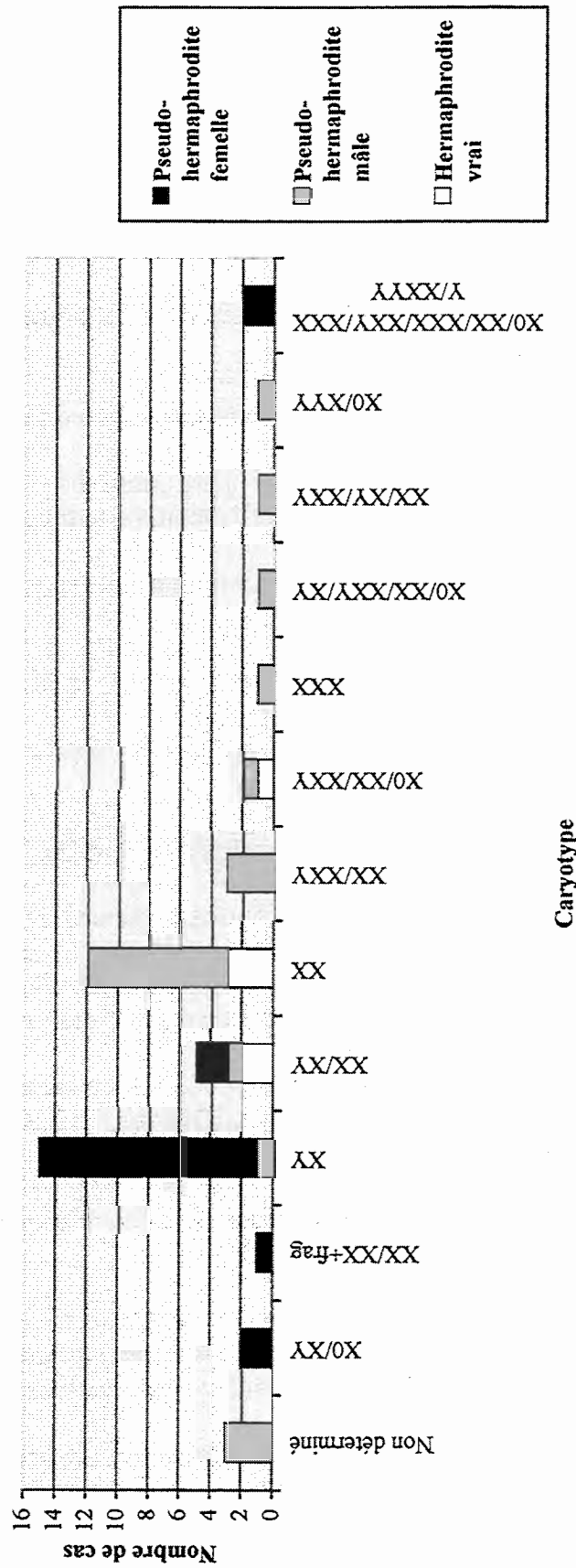


Figure 44 : Répartition des formes d'intersexualité dans l'espèce équine en fonction des caryotypes.

Contrairement à ce qu'on peut remarquer dans l'espèce canine, l'intersexualité ne se manifeste pas, chez le cheval, par une pathologie particulière. Seules sont observées des anomalies phénotypiques, une infertilité et une modification du comportement, mais aucune ne semble mettre en jeu le pronostic vital. Le diagnostic d'un état intersexué peut être fait à des âges très variables. Les anomalies de l'appareil génital externe peuvent attirer l'attention dès le plus jeune âge (2 mois) (Leadon, (152)). Elles sont le plus souvent mises en évidence avant 3 ans. Les diagnostics d'intersexualité sur des animaux de plus de 5 ans concernent pour la plupart des chevaux de phénotype femelle normale. Ces animaux présentent soit une absence d'œstrus soit une infertilité plus ou moins associée à un comportement d'étalon (voir par exemple Chandley, (53) ; Cribiu, (64)). Il apparaît donc que dans le cas du pseudo-hermaphrodisme femelle, l'examen clinique avec la palpation de l'appareil génital et l'absence de cycles peut permettre de suspecter une forme d'intersexualité. Dans les autres cas aucun lien, en l'absence de modifications phénotypiques importantes, ne peut être fait avec un état intersexué. Chez les autres chevaux ayant une anomalie du comportement (agressivité) et un appareil génital externe anormal, le diagnostic d'intersexualité est souvent fait avant l'âge de 3-4 ans sauf pour 3 cas (Kieffer, (140) ; Moreno-Millan, (190) ; Cribiu, (64)).

Les cas d'intersexualité ne sont pas toujours classés en fonction de l'analyse histologique des gonades. Cette dernière a été réalisée pour 21 des 50 chevaux étudiés (42%). Si elle a été faite pour tous les hermaphrodites décrits et pour 12 des 22 pseudo-hermaphrodites mâles, l'analyse microscopique des gonades ne concerne que 2 des 22 chevaux pseudo-hermaphrodites femelles. Dans ce cas, les gonades sont considérées comme des ovaires après palpation de l'appareil génital. Cette technique ne permet qu'une approximation de la taille et de la morphologie des gonades, et est insuffisante pour affirmer avec certitude qu'il s'agit d'ovaires.

D'autre part, le caryotype des chevaux a été presque systématiquement déterminé (94% des cas), mais, lorsque le nombre de cellules observées est donné, on constate que le caryotype a fréquemment été établi pour moins de 100 métaphases (sauf pour Bouters, (24) ; McIlwraith, (167) ; Fretz, (88) ; Kieffer, (140) ; Höhn, (117) ; Sharp, (245) ; Power, (220) ; Moreno-Millan, (190) ; Klunder, (142)). Il convient donc de rester critique à l'égard du caryotype de certains animaux. Pourtant, les caryotypes XX et XY semblent souvent associés à l'intersexualité (respectivement 12 cas et 15 cas sur les 47 chevaux pour lesquels l'analyse cytogénétique a été réalisée) (figure 44).

Enfin, depuis les travaux de Meyers-Wallen (1997), l'utilisation de la PCR et la recherche du gène Sry peuvent servir au diagnostic de l'intersexualité chez le cheval. Ces analyses concernent des chevaux hermaphrodites vrais, et des pseudo-hermaphrodites mâles. Tous les animaux testés sont XX, Sry négatifs. Deux pseudo-hermaphrodites femelles XY ont été testées et étaient Sry négatifs. Mais comme chez le chien, dans les différents articles (Meyers-Wallen, (183) ; Abe, (1) ; Mäkinen, (171) et Buoen, (41)), on ne connaît pas la sensibilité de leur PCR : en cas de mosaïque éventuelle XX/XY, le nombre de cellules mâles qui seraient détectables par la PCR n'est pas précisé. Le Sry du cheval n'est que l'un des gènes impliqués dans le déterminisme du sexe qui peut être testé chez le chien ; comme chez l'homme, on connaît des amorces spécifiques du cheval qui permettent de mettre en évidence, des fragments des gènes WT 1 (Brouillette, (33)), Sox 9 (Nixon, (200)) et CYP19 (Seralini, (244)). L'utilisation de ces amorces, en complément de celles utilisées pour le gène Sry, serait utile pour affiner le diagnostic dans les différents cas d'intersexualité rencontrés chez le cheval. Les résultats obtenus dans l'espèce équine seraient à comparer avec ceux observés chez le chien, afin de mieux comprendre les mécanismes du déterminisme du sexe chez les Mammifères dont l'homme.

Dans ce premier chapitre de l'étude bibliographique, nous avons vu les différentes étapes de la mise en place des sexes mâle et femelle (à partir d'un embryon indifférencié) chez les Mammifères. Cet enchaînement d'événements résulte de mécanismes complexes, imbriqués les uns dans les autres, initiés dès la fécondation (déterminisme primaire) et poursuivis tout au long de la vie fœtale (déterminisme secondaire). Des anomalies affectant soit le déterminisme génétique du sexe, soit la différenciation des gonades, soit le déterminisme secondaire peuvent conduire à un développement sexuel anormal (hypogonadisme ou intersexualité). Deux grandes étiologies peuvent expliquer ces phénomènes : il s'agit soit de la teratogenèse (souvent d'origine iatrogène) soit d'anomalies génétiques qui sont les causes les plus fréquentes.

Ces anomalies du développement sexuel sont très étudiées chez l'homme et la souris, et dans une moindre mesure chez les animaux domestiques. Des relations ont été nettement établies entre des anomalies caryotypiques et l'hypogonadisme. En revanche, l'ensemble des mécanismes conduisant aux états intersexués n'ont pas tous été élucidés. Il serait pourtant nécessaire de comprendre les facteurs d'apparition de l'intersexualité, compte tenu de ses importantes répercussions (psychologiques et médicales dans l'espèce humaine (voir par exemple, Minh, (186)) et surtout économiques et parfois médicales chez nos animaux domestiques).

Quelle que soit l'espèce animale considérée, l'étude des états intersexués, ainsi que leur diagnostic, est difficile : ils se manifestent soit par des anomalies phénotypiques qui retiennent l'attention, soit par une infertilité chez un individu d'apparence normale (cas le plus fréquent). A ce moment, toutes les autres causes d'infertilité doivent être exclues avant d'envisager une forme d'intersexualité. De plus, les états intersexués ne peuvent pas être objectivés avec certitude à la suite d'un examen du phénotype (il n'existe pas de corrélation nette entre le phénotype et le type d'intersexualité). De même, aucun lien ne peut être établi entre le phénotype et le caryotype des individus affectés. Pour être complète, l'étude d'un cas doit suivre une démarche raisonnée et s'appuyer sur différents outils d'investigation, tous complémentaires.

## **II. LES OUTILS D'INVESTIGATION DES ETATS INTERSEXUES CHEZ LES ANIMAUX DOMESTIQUES**

Le diagnostic de l'intersexualité repose sur l'association de différents moyens d'investigation de la fonction de reproduction. Il s'agit dans un premier temps de l'examen clinique, puis de l'analyse histologique des gonades. La Cytogénétique et la Biologie Moléculaire viennent ensuite pour essayer de comprendre les mécanismes d'apparition (et éventuellement de transmission héréditaire) de l'intersexualité.

### **II.1. Rôle de l'examen clinique et de l'étude histologique**

Si dans l'espèce humaine un grand nombre des cas d'intersexualité sont diagnostiqués dès la naissance d'après des anomalies phénotypiques (Thompson, (270)), il n'en va pas de même pour les animaux domestiques. En effet, les propriétaires de chevaux consultent plus



pour des troubles de la fertilité ou des problèmes comportementaux, l'apparence des chevaux intersexués étant souvent très proche d'un phénotype femelle (ou mâle) normal (Crihiu, (63)). Dans l'espèce canine, les états intersexués sont souvent à l'origine de pathologies qui motivent la consultation (Howard, (118)). Dans cette partie nous ne verrons que les démarches aidant au diagnostic utilisées chez les animaux domestiques.

### **II.1.1. Examen clinique**

L'examen clinique commence par le recueil des commémoratifs, et du motif de consultation. Cette étape est très importante et permet d'avoir des informations sur l'attitude de l'animal, son comportement vis à vis de ses congénères. On peut aussi se renseigner sur les pathologies antérieures et les éventuelles opérations chirurgicales.

Au cours de l'examen clinique deux cas de figures peuvent se présenter.

#### **II.1.1.a. Individu de phénotype sexuel anormal**

L'examen de l'appareil génital, qu'il s'agisse des organes reproducteurs externes ou internes, suggère un état intersexué. Dans ce cas on s'oriente vers la recherche des gonades : l'échographie est un bon moyen d'investigation pour mettre en évidence des gonades intra-abdominales, ou bien pour apprécier leur structure. Elle permet de d'évaluer l'hétérogénéité du tissu, la présence de follicules... Ces données doivent être confirmées par l'histologie.

#### **II.1.1.b. Animal de phénotype sexuel normal**

##### **II.1.1.b.1. Diagnostic d'une pathologie révélatrice de l'intersexualité**

Bon nombre d'animaux intersexués ont une apparence sexuelle normale, mâle ou femelle. Parfois, lors de changement de propriétaire, on peut penser que ce sont des animaux déjà castrés, et l'absence de chaleurs ou la cryptorchidie passent inaperçues (White, (287) ; Dunn, (77) ; Bruisma, (39)). Les consultations ne concernent que des animaux malades ou stériles, ou dont le comportement est modifié. Le diagnostic d'intersexualité est donc fait par défaut, quand les autres hypothèses ont été éliminées, ou bien il s'agit d'une découverte fortuite.

Il arrive que la découverte d'un état intersexué soit secondaire à des dosages hormonaux. En effet, certaines anomalies détectées lors de l'examen clinique nécessitent confirmation par des dosages sanguins. Ils sont surtout réalisés lors de troubles dermatologiques, le plus souvent secondaires à la tuméfaction de testicules internes. D'autres dosages hormonaux peuvent être entrepris pour réaliser un diagnostic d'exclusion.

D'autre part, on a parfois recours à l'échographie ou à la radiographie pour affiner un diagnostic (cf. palpation trans-abdominale), ou pour identifier une masse abdominale d'apparition brutale et responsable d'une distension abdominale (voir par exemple Perl, (212), Lennoz, (158)). Ces techniques d'imagerie médicales peuvent révéler la présence d'un appareil génital interne anormal.

Enfin, la chirurgie associée au traitement de certaines pathologies comme les pyomètres et les Sertolinomes, ou encore les anomalies du tractus urinaire, peut permettre de mettre en évidence un appareil génital interne modifié, ou incohérent avec le phénotype de l'animal (Howard, (118)).

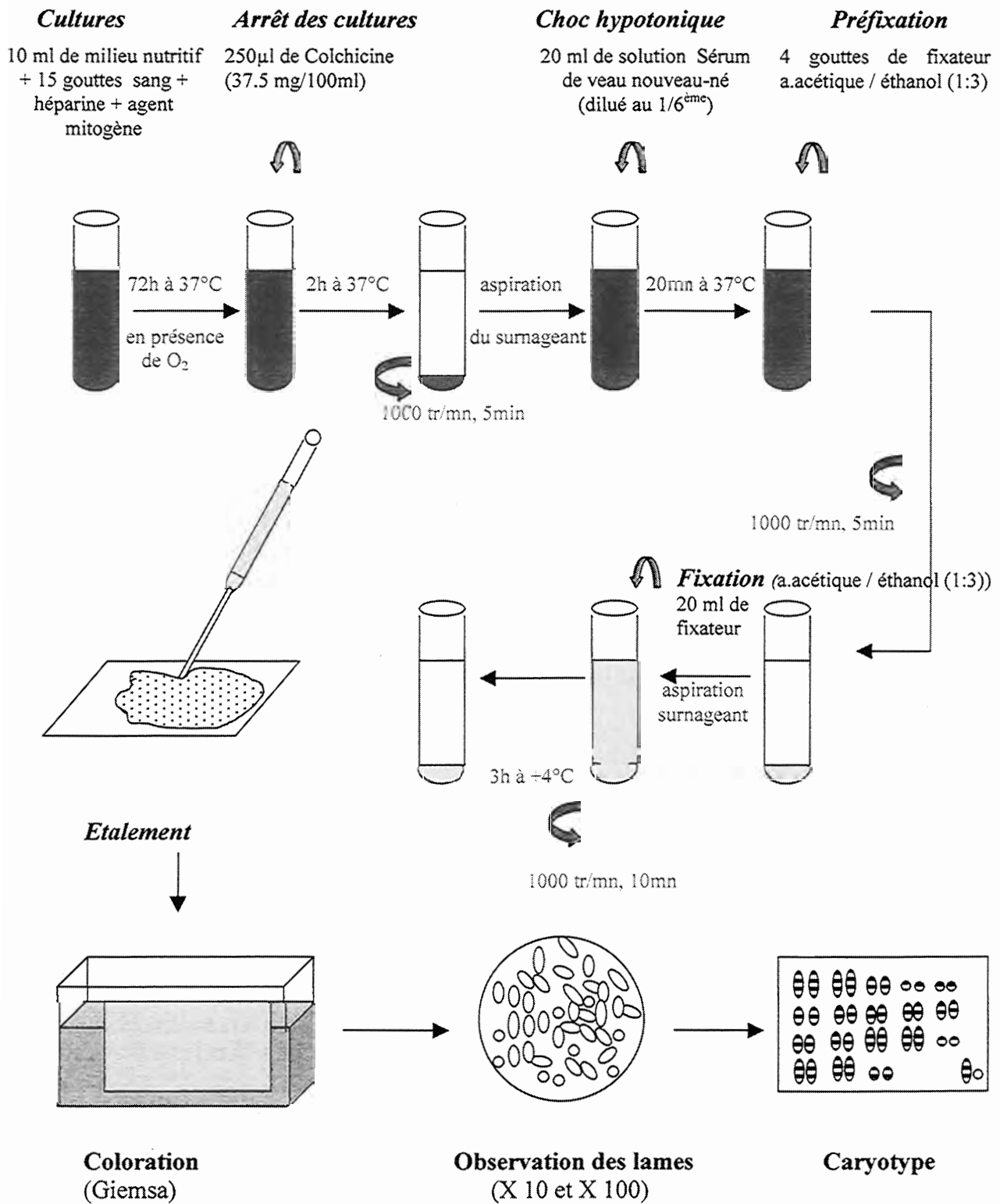


Figure 45 : Obtention de chromosomes métaphasiques à partir d'une culture lymphocytaire

### II.1.1.a.1. Découverte lors de chirurgie de convenance

Il arrive souvent qu'un état intersexué soit diagnostiqué, dans l'espèce canine, lors d'une castration de convenance qui révèle un appareil génital interne anormal (Howard, (118)). Parfois les gonades ont un aspect anormal ou bien ne sont pas celles attendues.

Si l'examen clinique permet d'envisager une forme d'intersexualité, il ne permet pas de la définir. Pour cela, il faut avoir recours à l'histologie des gonades et parfois du tractus génital.

### **II.1.2. Rôle de l'histologie**

Avant toute chose, elle permet de classer les états intersexués en fonction du type de gonades retrouvées. Il est important de réaliser une analyse de chaque gonade, dans la mesure où elles ne correspondent pas forcément au même sexe (cas des hermaphrodites latéraux) et présentent des degrés de développement différent allant de l'organe atrétique à la gonade fonctionnelle (Chaffaux, (48)).

Les prélèvements peuvent être obtenus par castration ou bien lors d'une biopsie. Mais dans le dernier cas, on ne peut avoir qu'une appréciation partielle, voire « fausse » de la structure de la gonade, les tissus anormaux se répartissant de manière hétérogène.

Dans le cas d'un ovotestis, l'analyse histologique peut permettre de préciser une éventuelle possibilité de reproduction.

Ayant déterminé un état intersexué, on va chercher à identifier l'étiologie par des outils cytogénétiques ou moléculaires.

## **II.2. Utilisation de la Cytogénétique**

L'analyse chromosomique permet de mettre en évidence des anomalies de nombre et de structure des chromosomes. Elle doit porter sur un nombre suffisant de cellules, afin de distinguer la possibilité d'une mosaïque (Chaffaux, (48)). La Cytogénétique apporte soit une confirmation de l'intersexualité (en révélant une incohérence entre le sexe chromosomique, le sexe phénotypique, et/ou le sexe gonadique) soit la compréhension d'un état intersexué (en montrant la présence d'une chimère, d'une mosaïque ou d'une anomalie chromosomique).

Elle est néanmoins insuffisante pour définir une forme d'intersexualité, en l'absence d'étude histologique.

### **II.2.1. Place de la Cytogénétique dans le diagnostic**

L'étude cytogénétique n'est jamais entreprise d'emblée, sauf si l'animal présente un phénotype intersexué. Lors de ce dernier cas de figure, l'étude chromosomique peut permettre d'expliquer les anomalies de l'appareil reproducteur.

Par contre, dans le cas d'un animal d'apparence normale, la recherche d'une anomalie chromosomique ne s'effectue qu'en fin de la cascade de diagnostic (voir par exemple Dumon, (75); Fontbonne, (86)). En effet, lorsque le motif de la consultation est la stérilité, avant

d'entreprendre l'étude chromosomique, on commence par rechercher les autres causes d'infertilité. Après avoir éliminé par l'anamnèse les erreurs de conduite de la reproduction (il s'agit par exemple de problème de détection des chaleurs, conduite de la saillie ou de l'insémination, utilisation d'un animal trop jeune), on recherche généralement les éventuelles pathologies de l'appareil génital (métrites, vaginites chez la femelle, prostatite ou phimosis chez le mâle) et les dysendocrinies souvent reliées à des troubles dermatologiques. On évalue alors la fonction de reproduction (par exemple par la réponse aux stimulations hormonales). Lorsque aucune anomalie n'est détectée lors de ces examens, on réalise le caryotype.

### **II.2.2. Limites de l'étude Cytogénétique**

L'analyse cytogénétique est, à elle seule, insuffisante pour explorer un état intersexué. Elle connaît, en effet, différentes limites. Il s'agit tout d'abord d'une analyse longue qui nécessite l'observation d'au moins 100 métaphases pour rechercher d'éventuelles mosaïques. Le chiffre de 30 métaphases avancé par Hook (Hook, 1977, cité par Buoen, (42)) paraît insuffisant. Idéalement, on cherche à observer 200 cellules, ce qui suppose que les lames obtenues par la culture cellulaire soient suffisamment « riches ». Comme ceci est expliqué dans l'annexe 9, la qualité des cultures est soumise à de nombreux facteurs (par exemple, l'âge des animaux, la qualité du prélèvement).

La culture cellulaire peut favoriser des métaphases aberrantes. D'autre part, compte tenu des artefacts liés aux techniques d'étalement et de coloration, il arrive que certaines métaphases soient incomplètes.

Enfin, la Cytogénétique ne donne accès qu'aux anomalies chromosomiques de nombre ou de structure. Dans ce cas, seules des délétions, des translocations, ou des inversions de fragments de grande taille sont visibles. Il est impossible d'accéder à des remaniements chromosomiques de petite taille.

Bien que spécifique, l'analyse cytogénétique n'est pas toujours suffisamment sensible. A l'heure actuelle, le recours à la Biologie Moléculaire peut permettre d'affiner un diagnostic.

## **II.3. Importance croissante de la Biologie Moléculaire**

Depuis plus d'une quinzaine d'années, l'utilisation de la Biologie Moléculaire, et en particulier de la PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'accéder aux gènes, notamment aux gènes impliqués dans le déterminisme du sexe. Les techniques de Biologie Moléculaire sont utilisées pour mettre en évidence des anomalies génétiques (découverte de mutations, utilisation des fins de diagnostic), et pour la recherche de traitement de maladies génétiques (Bogard, (20)). Pour étudier les états intersexués, on se sert essentiellement de la PCR. L'utilisation de cette technique de Biologie Moléculaire possède de nombreux avantages.

### **II.3.1. Intérêts**

La PCR, utilisée dès 1985 (Mullis, 1985, cité par Larzul, (150)), est, avant tout, sélective (cf. choix des amorces et des conditions de réaction) et se réalise in vitro. A partir d'un couple d'oligonucléotides d'environ 20 pb chacun, on arrive à amplifier des fragments

de plus de 1 kb ; on peut amplifier des fragments, voire des gènes entiers (Bogard, (20)). L'absence d'amplification peut révéler la présence d'une anomalie dans le gène, ou l'absence du gène. La PCR autorise une étude plus fine que l'analyse du caryotype.

De plus, cette amplification est une technique très sensible. Elle permet d'amplifier, à partir d'une très faible quantité d'ADN (ou d'ARN, ou d'ADNc issus de n'importe quel type de tissu), des fragments du génome. Ceci est intéressant dans le cadre de l'intersexualité : on peut mettre en évidence des mosaïques qui ne sont pas décelables d'un point de vue Cytogénétique (Copelli, (61) ; Inoue, (127)).

D'autre part, on peut identifier la présence du gène SRY en l'absence de chromosome Y (ceci témoigne d'une translocation d'un fragment du Y sur un autre chromosome) (voir par exemple Pailhous, (207)).

Enfin, contrairement à l'analyse cytogénétique, la PCR est une méthode de diagnostic rapide : les résultats peuvent être obtenus en moins de 24 heures. Il est également possible de traiter plusieurs échantillons « à la fois ». Ceci constitue un gain de temps important. Il faut noter que la PCR ne nécessite pas l'utilisation de tissu vivant.

### **II.3.2. Limites de la PCR**

Comme la Cytogénétique, la PCR permet de mettre en évidence une anomalie impliquée dans l'apparition de l'intersexualité, mais ne permet pas de la définir avec précision.

De plus, la plupart des protocoles ne permettent pas de quantifier la quantité d'ADN amplifié.

Du fait de sa grande sensibilité, la PCR est soumise aux contaminations. Des méthodes rigoureuses doivent être respectées pour éviter des résultats faussement positifs (Thiers, (267) ; Berninger, (15)).

D'autre part, les réactifs utilisés pour les réactions, et en particulier les enzymes sont très fragiles. On peut avoir des réactions faussement négatives d'où la nécessité de toujours mettre des échantillons témoins (Bogard, (20)).

Lorsque le gène à amplifier est absent, on peut constater l'apparition de bandes parasites lors de la révélation de la PCR. Ces artefacts peuvent fausser les résultats.

Les protocoles utilisés lors des analyses PCR doivent être établis en vue d'assurer la plus grande spécificité de la réaction, des amplifications parasites pouvant masquer les résultats.

Enfin, il s'agit d'une méthode d'analyse assez coûteuse.

L'utilisation de la Biologie Moléculaire comme unique outil de diagnostic des états intersexués semble insuffisante. Les techniques de Biologie Moléculaire doivent être utilisées en complément de l'étude cytogénétique : elles apportent un complément d'information (présence du SRY chez des individus XX, ou absence du gène chez des sujets XY, mutation d'un gène autosomal) qui permet de mieux cerner l'origine d'une anomalie du développement.

La mise en évidence d'un état intersexué repose sur l'utilisation de l'examen clinique, de la Cytogénétique et des techniques de Biologie Moléculaire. Mais toutes ces méthodes ne permettent qu'une approche de l'étiologie de l'intersexualité. Seule l'histologie permet de caractériser telle ou telle forme d'intersexualité et de poser un diagnostic de certitude.

Si certains états intersexués sont mis en évidence dès le jeune âge en raison des anomalies phénotypiques, d'autres cas ne sont diagnostiqués que tardivement.

Il faut noter que, chez nos animaux domestiques présentant certaines pathologies (par exemple chez des chiens atteints de Sertolinomes, ou chez des sujets présentant une

agressivité), la castration est proposée d'emblée; dans la mesure où elle permet une régression des manifestations cliniques, on ne pousse pas les investigations plus avant. Ceci laisse penser que des cas d'intersexualité peuvent passer inaperçus.