

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

**aa** : acide aminé

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**ADNc** : acide désoxyribonucléique concentré

**COMT** : la catéchol- O- méthyltransférase

**CYP17 $\alpha$**  : cytochrome P450 c-17 alpha

**dNTP** : désoxyribonucléotide

**E2** : estradiol

**FIGO** : Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique

**FU** : Fibrome Utérin

**HOGIP** : Hopital Général Idrissa POUYE

**I.R.D** : Institut de Recherche pour le Développement

**ISRA** : Institut Sénégalais de Recherche Agricole

**MED12** : mediator complex subunit 12

**Mg<sup>2+</sup>** : Ions magnésium

**MgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de magnésium

**NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Hydrogénase

**P** : progestérone

**pb** : paire de bases

**RcE2** : récepteur d'estradiol

**RcP** : récepteur de progestérone

**PCR** : Polymorphism Chain Reaction

**SNP** : single nucléotide polymorphism

**TP** : témoin positive

**UCAD** : Université Cheikh Anta DIOP de Dakar

## LISTE DES FIGURES

<b>FIGURE 1</b> : UTERUS POLYMYOMATEUX .....	3
<b>FIGURE 2</b> : MYOMES UTERINS .....	3
<b>FIGURE 3</b> : CLASSIFICATION FIGO (2011) DES MYOMES UTERINS.....	4
<b>FIGURE 4</b> : LOCALISATION DU GENE CYP17A .....	11
<b>FIGURE 5</b> : STRUCTURE ET FONCTION DU GENE CYP17A (PETRUNAK ET AL., 2017).....	12
<b>FIGURE 6</b> : QUELQUES SNP DU GENE CYP17A .....	17

## LISTE DES TABLEAUX

<b>TABLEAU 1</b> : CARACTERISTIQUES DES PARAMETRES EPIDEMIOLOGIQUES .....	16
<b>TABLEAU 2</b> : NATURE ET POSITION DES MUTATIONS DU GENE CYP17A .....	18
<b>TABLEAU 3</b> : PATHOGENICITE DES MUTATIONS DU GENE CYP17A.....	20
<b>TABLEAU 4</b> : PARAMETRES DE DIVERSITE GENETIQUE DU GENE CYP17 A.....	22
<b>TABLEAU 5</b> : FREQUENCE DES ACIDES AMINES ET LEUR P-VALUE CHEZ LES TEMOINS ET FIBROMES UTERINS .....	23
<b>TABLEAU 6</b> : DIFFERENCIATION GENETIQUE.....	24
<b>TABLEAU 7</b> : DISTANCES GENETIQUES SUIVANT LES PARAMETRES CLINICO-PATHOLOGIQUES .....	25
<b>TABLEAU 8</b> : DIFFERENCIATION GENETIQUE SUIVANT LES FACTEURS EPIDEMIOLOGIQUES.....	25
<b>TABLEAU 9</b> : DIFFERENCIATION GENETIQUE DE LA POPULATION GENERALE EN FONCTION DES PARAMETRES CLINIQUES.....	26

## LISTE DES ANNEXES

**ANNEXE 1** : libellé du protocole d’Ethique

**ANNEXE 2** : fiche de consentement éclairé

**ANNEXE 3** : fiche clinique fibrome utérin

**ANNEXE 4** : Dispositif de coloration et de révélation des extraits d’ADN et produits PCR :  
sale BET

**ANNEXE 5** : Migration électrophorétique des extraits d’ADN des tissus

**ANNEXE 6** : Fiche PCR du gène *CYP17a* avec 4 µL D’ADN concentré

**ANNEXE 7** : Thermocycleur de type Eppendorff

**ANNEXE 8** : Migration électrophorétique après PCR

**ANNEXE 9** : protocole d’extraction d’ADN avec le kit Qiagen Dneasy Tissue

# TABLE DES MATIERES

<b>DEDICACES</b> .....	<b>i</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>ii</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES</b> .....	<b>iii</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>v</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>vi</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES FIBROMES</b> .....	<b>3</b>
I.2. ASPECTS HISTOLOGIQUES DES FIBROMES UTERINS .....	3
I.2.1. Aspect microscopique du myome utérin .....	3
I.2.2. Aspect macroscopique des fibromes .....	3
I.3. ÉPIDÉMIOLOGIE DES FIBROMES UTERINS : PREVALENCE .....	4
I.4. ETUDE CLINIQUE DES FIBROMES UTERINS : SYMPTOMES ET TRAITEMENT .....	5
I.5. FACTEURS DE RISQUES ASSOCIES AUX LEIOMYOMES.....	6
I.6. FACTEURS REGULANT LES LEIOMYOMES UTERINS .....	6
I.7. MECANISMES GENETIQUES ET MOLECULAIRES IMPLIQUES DANS LE DEVELOPPEMENT DES MYOMES UTERINS .....	7
I.7.1. Aspects génétiques.....	7
I.7.1.1. Gène <i>COMT</i> .....	7
I.7.1.2. Gène <i>CYP17<math>\alpha</math></i> .....	7
<b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>9</b>
II.1. APPROBATION ETHIQUE.....	9
II.2. POPULATION D'ÉTUDE .....	9
II.3. COLLECTE DES DONNEES .....	9
II.4. ETUDE GENETIQUE .....	10
II.4.1. Extraction d'ADN des tissus.....	10
II.4.2. Migration électrophorétique.....	11
II.4.3. Amplification en chaine par polymérase du <i>CYP17<math>\alpha</math></i> .....	11
II.4.3.1. Choix du gène <i>CYP17<math>\alpha</math></i> .....	11
II.4.3.2. PCR du gène <i>CYP17<math>\alpha</math></i> .....	12
II.4.3.3. Séquençage du <i>CYP17<math>\alpha</math></i> .....	12
II.5. ANALYSES MOLECULAIRES .....	12
II.5.1. Analyse des chromatogrammes .....	12
II.5.2. Pathogénicité des mutations identifiées .....	13
II.5.3. Quantification de la pénétrance mutationnelle du gene .....	13

II.5.3.1. Diversité génétique .....	14
II.5.3.2. Différenciation génétique.....	14
II.5.4. Polymorphisme du gène <i>CYP17α</i> et facteurs épidémiologique .....	15
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>17</b>
III.1. RESULTATS.....	17
III.1.1. MUTATIONS DU GENE <i>CYP17A</i> .....	17
III.1.2. Nature et position des mutations.....	17
III.1.2. PENETRANCE MUTATIONNELLE .....	22
III.1.2.1. Diversité génétique du gène <i>CYP17α</i> .....	22
III.1.2.2. Fréquence en acides aminés de l'exon 1 du gène <i>CYP17α</i> .....	23
III.1.2.3. Différenciation génétique.....	23
III.1.3. POLYMORPHISME GENETIQUE ET FACTEURS EPIDEMIOLOGIQUES .....	24
III.2. DISCUSSION .....	26
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>31</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>32</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>a</b>

## INTRODUCTION

Les fibromes utérins encore appelés léiomyomes, myomes utérins ou fibroléiomyomes sont des tumeurs utérines bénignes, encapsulées, constituées de fibres musculaires lisses de l'utérus et de tissu conjonctif, les plus répandues du tractus génital féminin. Ils peuvent être uniques ou multiples, de taille et de localisation variables (Wathie, 2007). Ils touchent 20 à 25% des femmes en âge de procréer et sont 3 à 9 fois plus fréquents chez les femmes noires que chez les femmes blanches et près de 70% de celles de près de 50 ans (Bernard *et al.*, 2002 ; Baird *et al.*, 2003 ; Chalal *et al.*, 2013 ; Eltoukhi *et al.*, 2014). Tumeurs monoclonales, elles sont composées de grandes quantités de matrice extracellulaire contenant du collagène, du fibronectine, et du protéoglycane (Okogbo *et al.*, 2011 ; Tal *et al.*, 2014).

Les léiomyomes sont associés à une gamme de dysfonctionnements de la reproduction, notamment fausses couches récurrentes, infertilité, travail prématuré, présentation du fœtus et complications du travail. Le léiomyome utérin bien que représentant une pathologie bénigne pose souvent de sérieux problèmes, provoquant une morbidité importante et la détérioration de la qualité de vie (Sparic *et al.*, 2014). Sa prise en charge médicale, l'impact social et le coût de l'intervention, les complications éventuelles, l'arrêt de travail qu'il occasionne, mais aussi l'impact psychologique (Lamien, 2009), imposent une recherche sur le déterminisme de cette lésion fréquente au sein des populations de femmes noires vivant dans un contexte de sous-développement.

De plus en plus de preuves se concentrent sur l'étude des mécanismes moléculaires du développement de la maladie et de l'influence de l'ethnicité. Les stéroïdes ovariens jouent un rôle important dans le développement du léiomyome. La progression rapide des léiomyomes pendant les années de procréation et la régression après la ménopause indiquent que les œstrogènes jouent un rôle clé en tant que facteur de croissance pour ces tumeurs (Catherino *et al.*, 2013). Bien que peu d'études aient été menées sur le dysfonctionnement de la reproduction lié aux fibromes, la perspective clinique dominante est que ces complications surviennent le plus souvent lorsque les fibromes déforment physiquement la cavité utérine (Center for Uterine Fibroids 2020). Sur le plan moléculaire, des études indépendantes ont suggéré l'implication de certains gènes dans la survenue voire la progression de ces tumeurs hormono-dépendantes (Kénémé, 2020 ; Ndime, 2020). Et parmi les gènes étudiés, le polymorphisme du gène *Cytochrome P-450c17 $\alpha$*  (*CYP17 $\alpha$* ), impliqué dans l'hydroxylation de l'œstrogène peut avoir une influence sur le degré de métabolisme de l'œstrogène.

Néanmoins, malgré tous les efforts fournis dans la recherche sur les fibromes, les causes exactes de l'initiation et/ou la promotion de la tumeur restent encore incomplètement élucidées. De plus, aucune indication claire sur la disparité raciale de la distribution des fibromes utérins n'a encore été obtenue tant en Afrique que dans le reste du monde. Ceci montre un grand besoin d'entreprendre une étude

sur les déterminismes génétiques des fibromes utérins chez une population noire en particulier sénégalaise.

C'est en ce sens que s'inscrit notre étude qui a pour objectif général de contribuer à la connaissance des facteurs étiologiques impliqués dans le processus tumoral des fibromes utérins. De cet objectif général, découlent les objectifs spécifiques à savoir :

- ❖ identifier et caractériser les mutations du gène *CYP17 $\alpha$*  dans les cas de fibromes utérins ;
- ❖ comparer la pénétrance mutationnelle de ce gène *CYP17 $\alpha$*  chez les patientes par rapport aux témoins ;
- ❖ déterminer le processus évolutif des altérations génétiques en fonction des paramètres clinico-pathologiques des patientes.

Ce travail consistera d'abord en une revue de la littérature relative aux aspects histologiques, épidémio-génétiques, symptomatologiques et traitements des fibromes utérins. Ensuite, nous déclinons la méthodologie qui a été utilisée pour répondre aux objectifs fixés. Puis l'ensemble des observations sera discuté au regard des connaissances actuelles. Enfin, la conclusion ainsi que les perspectives de recherches seront présentées.

## CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES FIBROMES

### I.1. GENERALITES SUR LES FIBROMES UTERINS

De localisation très variable au sein de l'utérus, le léiomyome utérin, est une tumeur mésoenchymateuse développée aux dépens du muscle lisse, et souvent séparée du myomètre normal par une pseudo-capsule liée à la condensation du tissu conjonctif. L'origine unicellulaire (monoclonale) de chaque myome est aujourd'hui bien admise. Ainsi, deux myomes chez la même patiente, provenant de cellules différentes, peuvent avoir une évolution tout à fait différente (Audebert, 1990). De plus, la terminologie utilisée pour nommer la pathologie utérine bénigne dont nous avons à décrire l'épidémiologie ne fait pas encore l'objet d'une appellation unique, définitive et consensuelle puisqu'on emploie aussi bien les termes de myome, de léiomyome, de fibroléiomyome et, plus fréquemment, de fibrome pour les caractériser ; ce qui traduit bien la diversité histopathologique de l'affection (Racinet, 2009).

### I.2. ASPECTS HISTOLOGIQUES DES FIBROMES UTERINS

#### I.2.1. Aspect microscopique du myome utérin

Le tissu myomateux est fait de cellules musculaires lisses au cytoplasme peu abondant, finement rayé ou homogène, au noyau allongé, serrées les unes contre les autres et groupées en faisceaux qui se ramifient, s'anastomosent et s'enchevêtrent dans tous les sens donnant une véritable image tourbillonnaire (Magassouba, 2008).

#### I.2.2. Aspect macroscopique des fibromes

L'utérus myomateux apparaît le plus souvent déformé, bosselé par une ou plusieurs formation (s) tumorale (s) constituant chacune un nodule myomateux. Le nodule myomateux est une formation plus ou moins arrondie de coloration blanche ou rose, lisse limitée, de consistance ferme pierreuse (Figure 1). Un pseudo capsule formée par la condensation du tissu conjonctif constitue un excellent plan de clivage et en permet l'énucléation (Coulibaly, 2020).

Le myome se prête à toutes les descriptions maraîchères, citron, mandarine, orange, pamplemousse, poire etc. (Magassouba, 2008). Il va de quelques grammes à plusieurs kilogrammes (Figure 2).

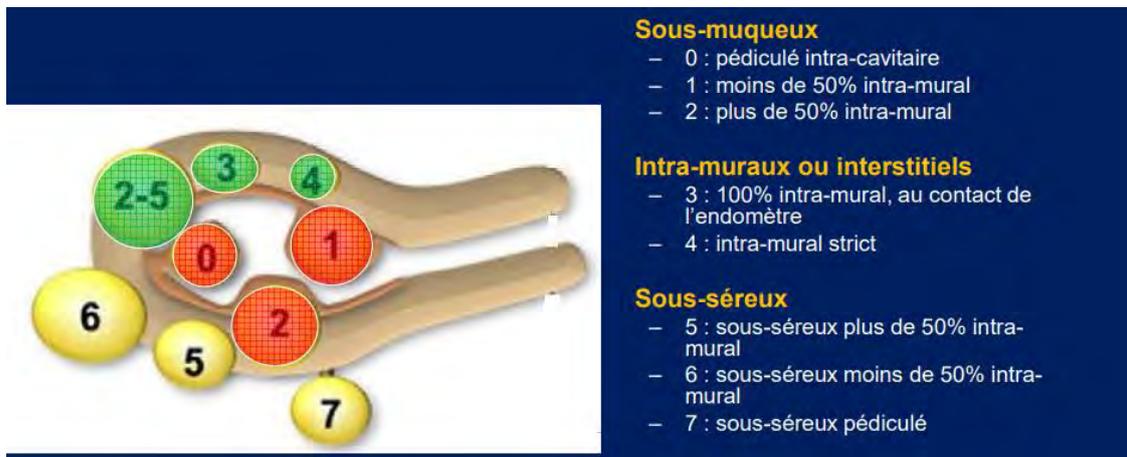


**Figure 1** : Utérus polymyomateux



**Figure 2** : Myomes utérins

<sup>1</sup>Les léiomyomes sont classés en fonction de leur emplacement dans l'utérus. Les léiomyomes sous-séreux ou péritonéal sont situés juste sous la séreuse utérine et peuvent être pédonculés (attachés au corpus par une tige étroite) ou sessiles (à base large). Les léiomyomes intra-muraux ou interstitiels se trouvent principalement dans le myomètre. Ils sont symétriques et sphériques et ont tendance à faire des protrusions dans la cavité utérine et devenir des sous muqueux. Ces derniers sont situés juste sous la muqueuse utérine (endomètre) et, comme les léiomyomes sous-séreux, ils peuvent être pédonculés ou sessiles. Ils sont le plus symptomatiques ; ils sont souvent associés à des anomalies de l'endomètre sous-jacent et produisent des saignements anormaux (ménorragie). Suivant la classification de la Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) (Munro *et al.*, 2011), on distingue de l'intérieur vers l'extérieur du corps utérin, plusieurs types de fibromes.



**Figure 3** : Classification FIGO (2011) des myomes utérins

Les tumeurs des localisations sous-séreuses et intra-murales représentent la majorité (95%) des léiomyomes ; léiomyomes sous-muqueux constituent les 5% restants.

### 1.3. ÉPIDÉMIOLOGIE DES FIBROMES UTERINS : PREVALENCE

Les fibromyomes utérins sont fréquents et touchent 20 à 40% des femmes blanches et 50% des femmes noires chez qui la croissance est plus rapide. Selon Huyck *et al.* (2008) les femmes noires ont 5 fois plus de risques d'avoir des symptômes sévères de fibromes utérins et de développer la maladie 5 à 6 ans plus tôt. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 30 et 50 ans, avec 20% des femmes de 30 ans et 40% des femmes de 50 ans qui en sont porteuses (Bernard *et al.*, 2002 ; Chalal *et al.*, 2013). On retrouve des fibromes chez environ 5% des femmes infertiles, mais le fibrome peut être considéré comme la réelle cause de l'hypofertilité dans environ 3% des cas seulement (Buttram *et al.*, 1981), 30 à 40% des fibromes sont symptomatiques et justifient un traitement (Audebert, 1990).

<sup>1</sup> Center for Uterine Fibroids à l'hôpital Brigham and Women's 10/07/20).

De par leur biologie moléculaire peu révélatrice, l'étiologie de ce type de pathologie, demeure encore ambiguë. Le développement des léiomyomes est lié au statut hormonal. Les œstrogènes ont été traditionnellement proposés comme principal promoteur de la croissance du fibrome utérin. Cette supposition est basée en partie sur les observations cliniques que les fibromes se produisent seulement après les premières règles, se développent au cours des années de reproduction, peuvent augmenter au cours de la grossesse, et régressent souvent après la ménopause (Rosati *et al.*, 1992 ; Strobelt *et al.*, 1994 ; Medikare *et al.*, 2011). Par exemple, les léiomyomes ne surviennent généralement pas chez les filles pré-pubères et sont rarement observées chez les adolescentes (Flake *et al.*, 2003 ; Commandeur *et al.*, 2015).

Au Sénégal, les travaux de Bèye (1998) ont montré que les fibromes utérins représentaient 58,82% des affections gynécologiques opérées au service de chirurgie générale adulte de l'hôpital Aristide Le Dantec, ce qui constituait 13,31% de l'ensemble des hospitalisations. Les études de Sall (2017) quant à elles ont indiqué que les interventions chirurgicales réalisées pour le traitement d'une myomatose utérine étaient 37,3% de l'ensemble des actes chirurgicaux gynécologiques réalisés au Centre Hospitalier National (CHN) de Pikine sur une période de 5 ans (60 mois) allant de janvier 2010 à Décembre 2014. Ce résultat est similaire à celui rencontré dans l'étude de Wathie en 2007 réalisée au CHN de Roi Baudoin qui avait montré un pourcentage de 37,2% d'interventions chirurgicales pour le traitement du FU par rapport à l'ensemble des actes chirurgicaux gynécologiques.

### **I.4. ETUDE CLINIQUE DES FIBROMES UTERINS : SYMPTOMES ET TRAITEMENT**

Ils restent longtemps muets, le maître symptôme est représenté par l'hémorragie. Les hyperménorrhées d'abord, puis les ménorragies (augmentation de la durée et de l'abondance des règles), représentent le signe principal. Les règles se rapprochent progressivement, durent plus longtemps et leur émission plus abondante peut s'accompagner de caillots donnant lieu à des coliques expulsives (Bernard *et al.*, 2002 ). Des leucorrhées, soit inflammatoires, soit congestives témoignent de l'hyperœstrogénie. Les douleurs se résument habituellement à de simples pesanteurs pelviennes, plus marquées dans la période prémenstruelle. Exceptionnellement, ils peuvent se manifester par une stérilité ou des avortements spontanés (Peddada *et al.*, 2008 ; Racinet, 2009).

L'évolution des fibromyomes est capricieuse. Des périodes de quiescence s'interrompent pour laisser place à des poussées plus ou moins brusques et rapides, provoquées par des modifications du statut hormonal ou encore par l'administration intempestive de produits hormonaux à effets gonadotropes ou encore d'œstrogènes (Bernard *et al.*, 2002). Dans certains cas, il existe des relations qui unissent fibromes et grossesse : les fibromes peuvent empêcher la conception et la nidation et être facteurs d'infécondité. Ils peuvent également compliquer l'évolution de la grossesse, de

l'accouchement et du post-partum. L'état gravidique peut faciliter l'évolution des fibromyomes vers les complications (Lopes *et al.*, 1999).

Les myomes sont majoritairement asymptomatiques, mais de nombreuses patientes ont des signes fonctionnels nécessitant un traitement (Jacob et Rafii, 2004). Ces complications peuvent être traitées afin d'offrir la possibilité à celles qui le désirent d'avoir des grossesses (Wathie, 2007). Le traitement peut être : hormonal (progestatifs, œstrogènes, etc.), non hormonal (antibiotiques, antalgiques, corticoïdes, transfusions sanguines, embolisation des artères utérines, ultrasons focaliser sous contrôle IRM) (Ravina *et al.*, 2003 ; Trillaud, 2010 ; Kahn *et al.*, 2013 ; Sall, 2017), chirurgical : myomectomie ou chirurgie conservatrice réalisée par voie abdominale et consiste à faire l'exérèse des fibromyomes vus ou suspectés ; hystérectomie sub-totale laissant en place le col d'où le risque de cancer du col restant ; hystérectomie totale, elle peut se faire par voie vaginale, par voie abdominale ou par voie laparoscopie (Chapron *et al.*, 1999 ; Wathie, 2007).

### **1.5. FACTEURS DE RISQUES ASSOCIES AUX LEIOMYOMES**

Les facteurs de risque identifiés pour le développement des léiomyomes utérins dans la population générale incluent l'âge, l'origine africaine, les facteurs de croissance et d'angiogenèse, la prédisposition génétique, le statut pré-ménopausique, la ménarche précoce, l'utilisation de contraceptifs oraux, l'obésité, la nulliparité, la consommation d'alcool et une alimentation riche en viande rouge (Flake *et al.*, 2003 ; Huyck *et al.*, 2008 ; Chalal *et al.*, 2013, Kénémé, 2020).

### **1.6. FACTEURS REGULANT LES LEIOMYOMES UTERINS**

L'hormono sensibilité du léiomyome utérin est bien démontrée, mettant en jeu non seulement l'œstradiol mais aussi la progestérone.

Les œstrogènes ont un effet mitotique bien admis, médié en grande partie par les facteurs de croissance. Si les taux plasmatiques d'œstradiol ne sont pas forcément élevés, on reconnaît le rôle essentiel d'un milieu hyperestrogénique local (concentrations plus élevées d'œstradiol (E2), d'œstrone et leurs sulfates), lié à des anomalies métaboliques comme la moindre conversion d'E2 en œstrone et à des concentrations plus fortes de cytochrome P450 (Audebert, 1990). Il est souvent noté au niveau de l'endomètre voisin d'un myome sous-muqueux une certaine hyperplasie. Enfin les concentrations en récepteurs à E2 (RcE2) sont plus fortes dans les myomes que dans le myomètre normal (Audebert, 1990).

Il a été démontré que l'activité mitotique des fibromes est supérieure en phase lutéale qu'en phase folliculaire. De plus, le nombre de récepteurs de la progestérone est plus élevé dans le tissu fibromateux que dans le myomètre sain et que les niveaux de récepteurs à progestérone varient entre les différents fibromes de la même patiente (Christin-Maitre & Hugon, 2009). Il a été démontré que l'association d'un agoniste de la GnRH et de la progestérone n'a aucun effet sur le volume utérin. L'observation que les fibromes régressent avec l'administration de l'agent anti-progestérone,

RU-486, confirme en outre le rôle de la progestérone en tant que promoteur de la croissance des fibromes (Medikare *et al.*, 2011).

## **I.7. MECANISMES GENETIQUES ET MOLECULAIRES IMPLIQUES DANS LE DEVELOPPEMENT DES MYOMES UTERINS**

### **I.7.1. Aspects génétiques**

Les léiomyomes sont plus fréquents chez les femmes afro-américaines par rapport à d'autres groupes ethniques, et les différences observées sont basées de manière spécifique, sur le polymorphisme des gènes *COMT*, *CYP17 $\alpha$*  participant à la synthèse et / ou au métabolisme des œstrogènes, à la variation des niveaux d'expression, à la fonction des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone (Catherino *et al.*, 2013).

#### **I.7.1.1. Gène *COMT***

Plusieurs études ont étudié la distribution des génotypes d'un certain nombre de gènes liés au métabolisme des œstrogènes chez les différents groupes ethniques pour voir si cela peut expliquer les différences observées dans le phénotype de la maladie (Commandeur *et al.*, 2015).

Un autre aspect qui a également été étudié concerne les différentes enzymes impliquées dans la synthèse / métabolisme des œstrogènes et le polymorphisme de leurs gènes codés. Une de ces enzymes est la catéchol- O- méthyltransférase (*COMT*). Il s'agit d'une enzyme ubiquitaire qui introduit un groupe méthyle dans les groupes hydroxyles du catéchol œstrogène, ce qui entraîne la conversion de 2,4 hydroxyestradiol en 2,4 méthoxyestradiol. Ainsi, la régulation de l'activité *COMT* peut modifier l'effet biologique de l'œstrogène et peut jouer un rôle dans la formation de léiomyomes (Catherino *et al.*, 2013).

#### **I.7.1.2. Gène *CYP17 $\alpha$***

Localisé sur le chromosome 10q24.3, le cytochrome P450-c17 alpha (*CYP17 $\alpha$* ) code pour la 17 $\alpha$ -hydroxylase, enzyme intervenant dans la biosynthèse de deux hormones androgéniques tels que les œstrogènes et la progestérone (Sharp *et al.*, 2004). Plusieurs investigations ont été faites sur le polymorphisme de *CYP17 $\alpha$*  dans des cas de fibromes utérins chez des populations présentant une forte diversité ethnique telle que l'Afrique du Sud, le Brésil et les Caraïbes (Amant *et al.*, 2004 ; Viera *et al.*, 2008 ; Alleyne *et al.*, 2014). Le gène *CYP17 $\alpha$*  présente un polymorphisme mononucléotidique (single nucleotide polymorphism ou SNP) au niveau de l'extrémité 5' de la région non transcrite du gène (UTR pour untranslated region). Ce polymorphisme correspond à une substitution d'une thymine (T) de l'allèle sauvage nommé A1 vers une cytosine (C) donnant l'allèle mutant A2. Plusieurs études ont émis l'hypothèse selon laquelle l'allèle C de *CYP17 $\alpha$*  peut être un marqueur d'une augmentation de la stéroïdogénèse (Li *et al.*, 2002 ; Sata *et al.*, 2003).

Dans la plupart des pathologies tumorales, les cellules sont caractérisées par des anomalies génétiques diverses (mutations ponctuelles, translocations chromosomiques, amplification ou délétion de gènes,

méthylation de promoteurs géniques) qui les distinguent des cellules non-tumorales. Ces anomalies moléculaires constituent des marqueurs tumoraux et sont utilisées comme marqueurs diagnostiques, pouvant avoir une valeur pronostique et prédictive. Ceci permet d'augurer d'une réponse thérapeutique ou encore à évaluer la charge tumorale persistante au cours de la prise en charge thérapeutique

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

### II.1. APPROBATION ETHIQUE

Après examen selon les règles édictées par le Comité National d'Ethique pour la Recherche en Santé (CNERS) du Sénégal et conformément aux procédures établies par l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (UCAD) pour toute recherche impliquant des participants humains, l'approbation éthique de cette étude a été obtenue (Référence : Protocole 0267/2017 /CER/UCAD voir Annexe 1).

### II.2. POPULATION D'ETUDE

Echantillon a été constitué de 57 patientes atteintes de fibromes utérins et programmées pour une intervention chirurgicale au Service de Maternité et Gynécologie Obstétrique de l'Hôpital Général Idrissa Pouye (ex HOGGY). Comme les fibromes utérins constituent des tumeurs bénignes (absence de métastase à travers le sang), des prélèvements de sang post-opération ont été effectués sur certaines des patientes (au nombre de 18) pour servir de témoins pour les analyses génétiques. (NB. Les prélèvements de sang n'ont pas pu être obtenus pour l'ensemble des patientes du fait des symptômes d'anémies post-opération).

Avant toute inclusion des cohortes, chaque patiente recrutée a été interviewée. Les objectifs de l'étude, le protocole, les avantages, la confidentialité et leurs droits leur ont été expliqués pour leur donner la possibilité d'accepter ou de refuser d'y participer. Dans le cas d'une acceptation, un consentement éclairé dûment rempli et signé est requis pour son admission dans l'étude (Cf. annexe 2). Pour garantir l'anonymat des patientes et donc le respect du secret professionnel, les échantillons ont été codés : FU (fibrome utérin) et TP (témoin positif).

Après prélèvements, les échantillons ont été directement acheminés au laboratoire où les tissus sanguins ont été conservés dans des tubes EDTA par contre les tissus tumoraux ont été conservés dans de l'alcool 96% au réfrigérateur à -20°C pour les différentes analyses moléculaires.

### II.3. COLLECTE DES DONNEES

Après l'obtention du consentement éclairé, une fiche d'enquête épidémiologique a été mise à la disposition des patientes pour recueillir des informations relatives à leur identité (l'âge des patientes, l'ethnie, la taille, le poids, la gestité et la parité...), leur mode de vie (activité physique, régime alimentaire contraception...), les antécédents médicaux et/ou familiaux et l'anatomo-pathologie (nombre de fibromes, localisation...) (Cf. annexe 3). Ces données ont été saisies sur un tableur Excel pour les différentes analyses sur la corrélation entre polymorphisme génétique et facteurs épidémiologiques.

## II.4. ETUDE GENETIQUE

### II.4.1. Extraction d'ADN des tissus

L'ADN total des tissus a été extrait grâce à la méthode standard Kit Qiagen DNeasy Tissue. Les échantillons de tissus tumoraux, préalablement découpés en petits morceaux afin de faciliter la digestion sont placés dans un tube de 1,5 mL. L'extraction de l'ADN comporte 4 étapes :

- La phase de digestion avec laquelle, 25 mg de tissus sont mis dans un tube contenant 180 µL de tampon de digestion ATL qui rompt les liaisons entre les tissus et permet l'individualisation des cellules. Après incubation au Bain Marie à 55°C pendant toute la nuit pour une digestion tissulaire complète, 20 µl de protéinase K ont été ajoutés à ce mélange pour dégrader toutes les protéines. Le mélange a été centrifugé à 1361,3568 rad /s durant une minute, pour pouvoir éliminer les débris tissulaires et le surnageant est récupéré dans un autre tube.
- La deuxième étape correspond à la lyse cellulaire qui consiste à rompre la membrane cytoplasmique et également la membrane nucléaire pour la libération de l'ADN. Cette phase consiste à ajouter 200 µL de tampon de lyse cellulaire AL à ce surnageant qui est vortexé puis incubé dans un bain marie à 70°C pendant 10 minutes. Ensuite, 200 µL d'éthanol 100% ont été ajoutés au culot obtenu pour la fixation de l'ADN dans la membrane de silice. Pour ce faire, le mélange est transvasé dans une colonne contenant une membrane de silice et placée au préalable sur un tube collecteur de 2 mL qui est ensuite centrifugé à 1361,3568 rad /s pendant une minute. Après centrifugation, l'ADN chargé négativement est retenu au niveau de la membrane de silice chargée positivement par interaction ionique. Le reste de cette solution (protéines, lipides, polysaccharides) traverse la membrane et précipite au fond du tube collecteur qui est jeté. Chaque colonne est remplacée sur un autre tube collecteur de 2 mL.
- La troisième étape est la purification de l'ADN. Cette purification est réalisée par deux tampons de lavage AW1 et AW2. Dans un premier temps 500 µL de AW1 ont été versés dans la colonne et le mélange obtenu est centrifugé à 1361,3568 rad /s pendant 1 minute. Après centrifugation, 500 µL de AW2 sont ajoutés et le mélange est centrifugé à 1361,3568 rad /s pendant 3 minutes. Durant la centrifugation, les deux tampons précipitent avec les contaminants au fond des tubes collecteurs qui sont jetés.
- La quatrième étape correspond à l'élution de l'ADN. Les colonnes contenant l'ADN purifié sont remplacées sur d'autres tubes de 1,5 mL. Ensuite, 50 µL du tampon AE, au préalable incubé à 70°C permettant ainsi l'augmentation du rendement de 15 à 20%, ont été directement versés sur la membrane pour décrocher l'ADN de cette dernière. La colonne a ensuite été incubée à température ambiante pendant 5 minutes puis centrifugée à 1361,3568 rad /s pendant une minute.

Pour l'extraction des prélèvements sanguins, le même protocole a été appliqué à la seule différence qu'étant donné que le sang est constitué de cellules déjà individualisées, 20 µl de protéinase K et 200 µl de tampon AL ont été directement ajoutés après avoir prélevé 200 µl du liquide biologique (sang). L'ADN ainsi extrait a été conservé à -20°C.

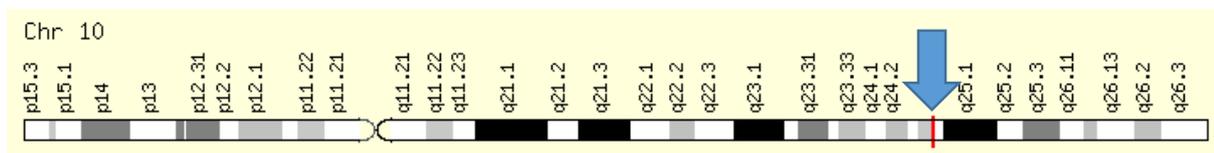
#### II.4.2. Migration électrophorétique

Le gel est préparé avec 1,5 g de poudre d'agarose dissoute dans 100 mL de solution TAE 0,5X. Ainsi, 7 µL d'extraits d'ADN et 3 µL de bleu de bromophénol (bleu de charge), ont été déposés dans des puits puis migrés à 100 volts pendant 35 minutes. Après migration, l'ADN a été révélé après passage dans un bain de Bromure d'Ethidium (BET) *via* le GelDoc (Cf. annexe 4). La taille des extraits d'ADN a été approximativement évaluée à l'aide d'un marqueur de taille Smart Ladder de 200 paires de bases (Cf. annexe 5).

#### II.4.3. Amplification en chaîne par polymérase du *CYP17α*

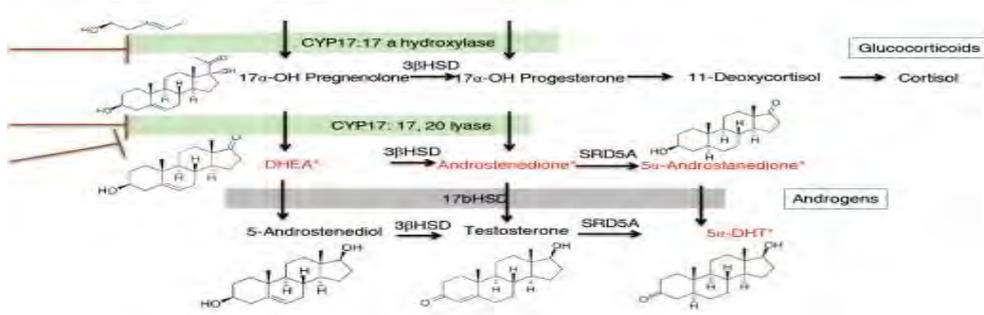
##### II.4.3.1. Choix du gène *CYP17α*

Le stéroïde 17α hydroxylase a une double fonction : catalyseur de la réaction 17α hydroxylation de pregnenolone et progestérone et du clivage 17,20 du stéroïde hydroxylé correspondant. L'enzyme est codée par le *CYP17α* qui est localisé sur le chromosome 10 (10q24.q25) (Figure 4). Le *CYP17α* est constitué de 8 exons et est exprimé dans les glandes surrénales et gonadotrophiques. L'enzyme cytochrome P450c17α joue un rôle fondamental dans la genèse des hormones stéroïdiennes sexuelles (Figure 5). La région 5' promotrice de *CYP17α* contient un polymorphisme T-C pouvant créer un nouveau site (CCACC box) à 34 pb en amont du site d'initiation de la traduction et 27 pb en aval du site d'initiation de la transcription (Carey *et al.*, 1994). Il a été suggéré que ce promoteur additionnel pourrait augmenter le rôle fondamental dans la genèse des hormones stéroïdiennes sexuelles. Le taux d'œstradiol dans le sérum est élevé chez la femme hétéro et homozygote pour l'allèle C de *CYP17*. Ce polymorphisme introduit un site de restriction pour *MspA1* donnant 2 allèles : A1 qui ne contient pas de site de restriction et A2 en contenant.



**Figure 4** : localisation du gène *CYP17α*

<https://cdn.genecards.org/genomic-location-v4-12/CYP17A1-gene.png>



**Figure 5** : Structure et fonction du gène *CYP17α* (Petrunak et al., 2017)

#### II.4.3.2. PCR du gène *CYP17α*

L'amplification a été réalisée dans un volume réactionnel de 50 µl avec les amorces 5'-TCCTGAGCCCAGATAACCAT-3' et 5'-CCGCCAGAGAAGTCCT-3 encadrant la région 5'UTR à l'exon 1 et fait 612 pb. Pour chaque individu, la PCR a été effectuée avec 2 µl d'extrait d'ADNc, 34.9 µl d'eau MilliQ, 5 µl de Tampon (10X) contenant des ions Mg<sup>2+</sup> à une concentration initiale de 15 mM, 1 µl de MgCl<sup>2</sup> supplémentaire, 2 µl de dNTP, 2,5 µl de chaque amorce et 0,1 µl de Taq.

La PCR a été réalisée dans un thermocycleur de type Eppendorf dans les conditions suivantes : une dénaturation initiale à 94°C pendant 12 min, suivie de 35 cycles de dénaturation à 94°C pendant 30 s, d'hybridation des amorces à 60°C pendant 30 s, d'élongation à 72°C pendant 1 min. Elle est terminée par une élongation finale à 72°C pendant 7 min. La PCR a été bouclée par un hold à 10°C pour la conservation du produit par le thermocycleur (cf. Annexe 6). Les amplicons ont été visualisés après migration électrophorétique (Cf. annexe 7).

#### II.4.3.3. Séquençage du *CYP17α*

Les réactions de séquençages ont été effectuées dans un thermocycleur de type MJ Research PTC-224 Peltier avec les kits ABIPRISM BigDye TM Terminator Cycle. Chaque échantillon a été séquençé en utilisant l'amorce sens. Les fragments fluorescents ont été purifiés avec le protocole BigDye Xterminator purification. Les échantillons ont été suspendus dans de l'eau distillée et soumis à une électrophorèse dans ABI 3730xl sequencer (Applied Biosystems).

### II.5. ANALYSES MOLECULAIRES

#### II.5.1. Analyse des chromatogrammes

Les séquences obtenues ont été soumises au logiciel Mutation Surveyor version 5.0.1 ([www.softgenetics.com](http://www.softgenetics.com)). Ce logiciel compare en effet les chromatogrammes soumis avec la séquence de référence du gène d'intérêt incorporée dans la base de données dudit logiciel mais également avec des séquences issues de la base de données Genbank sous le numéro d'accès NT\_030059\_104589788. Ainsi ce logiciel permet de détecter la présence de mutations hétérozygotes (het), d'insertions (in) et de délétions (del) en comparaison à la séquence de référence du génome humain.

Le logiciel Mutation Surveyor offre une précision et une sensibilité excellentes ainsi que de faibles taux de faux positifs et de faux négatifs dans l'analyse de l'ADN. Le score de mutation indique le niveau de confiance qu'une mutation soit appelée une « réelle mutation ». Le score est basé sur le concept des scores Phred, où les scores de qualité sont liés logarithmiquement aux probabilités d'erreur. Les valeurs de «Facteur de chevauchement», «Facteur de chute» et «Ratio S/N» sont utilisées dans le calcul du score de mutation. Plus le score est bas, plus le nombre d'appels de mutation est grand, mais la confiance dans l'exactitude des appels est réduite. Ici nous ne considérons une mutation que si score Phred  $\geq 20$ , valeur pour laquelle la précision est de 99%.

Les mutations retrouvées chez nos patientes portant des myomes utérins ont été comparées à celles retrouvées chez la population témoin pour voir s'il existe une quelconque expression différente du gène *CYP17 $\alpha$* .

### **II.5.2. Pathogénicité des mutations identifiées**

Les mutations ainsi détectées sont ensuite soumises aux bases de données SIFT, Mutation Taster et Polyphen 2 qui sont des logiciels d'aide à l'interprétation des mutations génétiques identifiées sur le génome humain.

SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant) utilise une homologie de séquence pour prédire si une substitution d'acide aminé affectera la fonction de la protéine et, par conséquent, modifiera potentiellement le phénotype. Pour prédire si une substitution d'acide aminé affectera la fonction de la protéine, SIFT considère la position à laquelle le changement s'est produit et le type de changement d'acide aminé. Etant donné une séquence protéique, SIFT choisit des protéines apparentées et obtient un alignement de ces protéines avec la requête. Sur la base des aa apparaissant à chaque position, SIFT calcule la probabilité qu'un aa à une position soit toléré, à condition que l'aa le plus fréquent soit toléré. Si cette valeur normalisée est inférieure à une valeur limite, la substitution devrait être délétère (Ng & Henikoff, 2003). Et toutes mutations avec un score  $< 0,05$  sont considérées comme délétères (pourrait avoir une conséquence sur la maladie) ; celles avec un score  $\geq 0,05$  sont considérées comme tolérant.

Pour Mutation Taster et Polyphen 2 il s'agit d'une classification de probabilité qui calcule la signification fonctionnelle d'un changement d'allèle par Naives Bayes, un ensemble d'algorithmes d'apprentissage supervisé pour identifier les mutations délétères. Les options d'entrée pour cette méthode constituent le numéro d'acquisition de la base de données ou la séquence protéique ainsi que les détails des variantes. Toute mutation avec un score  $\geq 0,9$  (nombre indépendant de positions spécifiques) est classée comme «mutations potentiellement dommageables».

### **II.5.3. Quantification de la pénétrance mutationnelle du gene**

Après correction, les séquences brutes, ont été minutieusement alignées avec le logiciel BioEdit 7.0.8.0 (Hall, 1999) en utilisant l'algorithme Clustal-W (Thomson *et al.*, 1997). L'alignement est en

effet une étape importante de l'analyse des données. Il sert notamment, à mettre en évidence, les similitudes entre les séquences en retrouvant la position des délétions, des insertions probables ou encore des substitutions.

### **II.5.3.1. Diversité génétique**

Les paramètres de diversité génétique nous donne une information générale du jeu donné et permettent de ressortir d'une part la longueur totale des sites sans gaps, la taille de l'échantillon, le nombre de sites invariables et variables, le nombre total de mutations, le nombre d'haplotypes, le nombre moyen de différences nucléotidiques entre séquences, la fréquence nucléotidique, la nature des mutations et le taux des mutations. Ces paramètres ont été déterminés dans chaque groupe (témoin et tissu tumoral) avec les logiciels DnaSP version 5.10 (Librado et Rozas, 2009) et MEGA version 7.0.14 (Tamura *et al.*, 2016). D'autre part nous avons aussi les indices de diversité génétique qui comportent la diversité haplotypique et la diversité nucléotidique qui ont été ressortis avec le logiciel DnaSP version 5.10 (Librado et Rozas, 2009) pour appréhender l'évolution des mutations génétiques. La comparaison des fréquences en acides aminés entre témoins et tissus atteints de myomes utérins a été effectuée grâce au logiciel MEGA version 7.0.14 (Tamura *et al.*, 2016). Le calcul de la fréquence des acides aminés a été fait à partir du 1<sup>er</sup> nucléotide débutant l'exon 1 du gène et en choisissant le 1er cadre de lecture. Pour voir s'il existe une différence significative sur la distribution des fréquences de chaque aa entre sang et tissu tumoral, la base de données a été soumise au logiciel R version 3.3.1 (R Core Team, 2016). Le test de normalité de Shapiro Wilk a été effectué pour voir si les données suivent une distribution normale. Dans le cas d'une distribution normale, le test t de Student est effectué pour la comparaison des moyennes ; dans le cas contraire le test Wilcoxon est utilisé. Un seuil de significativité fixé à 5% a été retenu.

### **II.5.3.2. Différenciation génétique**

L'estimation de la différenciation génétique porte sur deux indices : l'indice de différenciation génétique ( $F_{st}$ ) et la distance génétique de Nei.

Si l'on étudie plusieurs populations, on peut mesurer la différenciation génétique qui existe entre ces populations en établissant des distances génétiques entre populations deux à deux. La distance génétique la plus couramment utilisée est celle de Nei (1972). Pour ce faire, le nombre de substitutions de bases par site à partir de la moyenne sur toutes les paires de séquences dans chaque groupe est calculé accompagné des estimations d'erreur standard. Les analyses ont été effectuées en utilisant le meilleur modèle d'évolution des données. Ces analyses ont été effectuées avec MEGA7 (Tamura *et al.*, 2016).

La détermination de l'indice de différenciation génétique ( $F_{st}$ ) consiste à mesurer les variations de la fréquence allélique des SNP entre les tissus tumoraux et les témoins. Les valeurs de différenciation génétique par paire de populations ( $F_{st}$ ) ainsi que les probabilités associées sont estimées à l'aide du

logiciel Arlequin version 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005). Son calcul se base sur une décomposition de la variance totale des fréquences haplotypiques observées en différentes composantes de la variance. Les estimations du  $F_{st}$  réalisées à partir d'un grand nombre de marqueurs génétiques de types SNP repartis sur l'ensemble du génome humain ont mis en évidence une différenciation génétique modérée, avec une valeur moyenne de  $F_{st}$  de l'ordre de 0,10-0,15 (Akey *et al.*, 2002 ; Weir *et al.*, 2005 ; Barreiro *et al.*, 2008 ; Barbujani et Colonna, 2010). Plus récemment, les estimations de la différenciation génétique moyenne des populations humaines, basées sur un plus grand nombre de populations dans le monde ont révélé des valeurs plus faibles, de l'ordre de 0,05-0,010 (Auton *et al.*, 2009 ; 1000 Génomes Project Consortium *et al.*, 2010 ; Barbujani et Colonna, 2010). Ces différentes valeurs nous permettent de quantifier le degré de différenciation génétique de la population d'étude.

#### **II.5.4. Polymorphisme du gène *CYP17 $\alpha$* et facteurs épidémiologique**

La structuration génétique suivant les paramètres épidémiologiques gestité (nombre de grossesses), parité (nombre d'enfants par femme), la ménarche précoce âge de la patiente, ethnie et IMC (Indice de Masse Corporelle) a également été appréhendée en effectuant une analyse de la variance moléculaire (AMOVA : Analysis of Molecular Variance) dans le but de voir quels sont les facteurs de risques impliqués dans cette pathologie au Sénégal. Les valeurs de différenciation génétique par paire de populations ( $F_{st}$ ) (Weir & Hill, 2002) ainsi que les probabilités associées sont estimées à l'aide du logiciel Arlequin version 3.5.1.3 (Excoffier & Lischer, 2010).

Tableau 1 caractéristiques des paramètres épidémiologiques

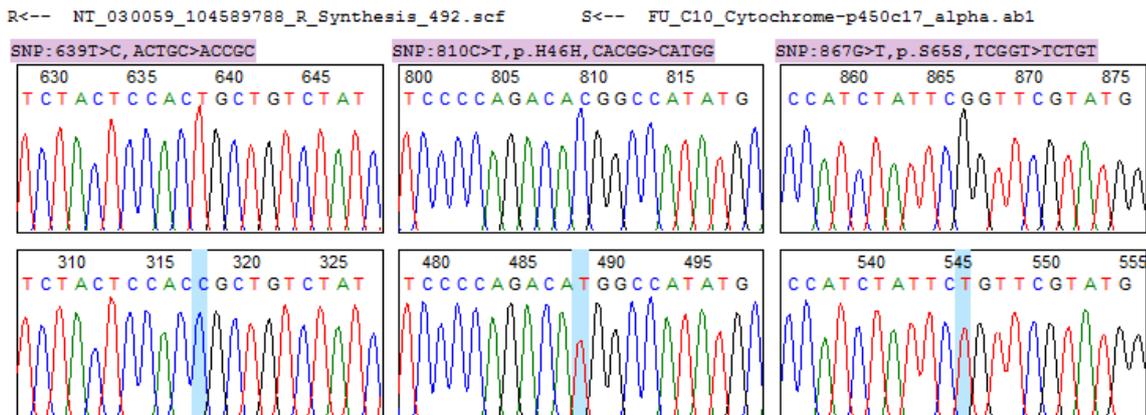
Paramètres épidémiologiques	Groupes	Nombre de patientes (%)
Age (n= 57)	≤35	20 (35,57%)
	] 35-45]	25 (43,86%)
	>45	12 (21,05%)
Parité (n= 57)	Nullipare	43 (75,44%)
	Multipare	14 (24,56%)
Gestité (n= 57)	Nulligeste	31 (54,38%)
	Multigeste	26 (45,61%)
Ménarche (n= 57)	[12-14]	30 (52,63%)
	>14	27 (47,37%)
Régime alimentaire (n= 57)	Carne	22 (38,6%)
	Végétarien	13 (22,80%)
	Mixte	22 (38,6%)
Statut matrimonial (n= 57)	Marié	34 (59,65%)
	Célibataire	19 (33,33%)
	Divorcé	4 (7,02%)
Ethnies (n= 57)	Wolof	19 (33,33%)
	Poulaar	15 (26,31%)
	Sérère	7 (12,28%)
	Diola	11 (19,3%)
	Lébou	5 (8,77%)
IMC (n=57)	Insuffisance	6 (10,52%)
	Normale	32 (56,14%)
	Obèse	19(33,33%)

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

### III.1. RESULTATS

#### III.1.1. MUTATIONS DU GENE *CYP17A*

L'analyse des chromatogrammes du gène *CYP17α* avec le logiciel Mutation Surveyor a indiqué que la majorité des mutations est localisée au niveau des tissus tumoraux par rapport aux témoins (plusieurs sites polymorphes pour les tissus et 1 seul pour les témoins) (Figure 6).



**Figure 6** : Quelques SNP du gène *CYP17α*

#### III.1.2. Nature et position des mutations

Chez les patientes atteintes de myomes utérins, 84 mutations ont été retrouvées parmi lesquels 68 (80,95%) sont nouvellement identifiées et 16 (19,06%) déjà trouvées dans les bases de données. La mutation c.-34T>C qui se situe dans la région 5' promotrice à 34 pb en amont du site d'initiation de la traduction a été retrouvée chez les patientes atteintes de fibromes utérins. Les mutations non synonymes (42) sont majoritaires par rapport aux mutations synonymes (16). Des mutations induisant la perte du codon initiateur méthionine ont également été retrouvées (c.2T>A p.Met1Lys ; c.3G>A p.Met1Ile), deux codons non-sens (c.5G>A p.Trp2\* ; c.81C>A p.Tyr27\*) sont aussi identifiés chez certaines patientes (tableau 2).

**Tableau 2** : Nature et position des mutations du gène CYP17 $\alpha$

Position des mutations	dbSNP	Effet sur le codage	Acide aminé affecté
c.-93G>T	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-86C>T	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-77G>C	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-75C>G	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-73T>A	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-49G>T	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-46C>A	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-43C>A	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-40C>A	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-38C>A	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-34T>C	rs743572	Création d'un site CCACC box	
c.-31T>C	rs1237281550	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-30G>C	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-28C>T	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-24G>C	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	

**Tableau 2 (suite 1)** : Nature et position des mutations du gène CYP17 $\alpha$

Position des mutations	dbSNP	Effet sur le codage	Acide aminé affecté
c.-21G> T	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-17G>C	Nouvelle	Pas d'effet sur le site d'épissage	
c.-15C>T	rs140012815	Site cryptique faiblement activé	
c.-5C>A	Nouvelle	Site cryptique fortement activé	
c.2T>A	Nouvelle	Perte du codon initiateur Met	p.Met1Lys
c.3G>A	rs61754262	Perte du codon initiateur Met	p.Met1Ile
c.5G>A	Nouvelle	Non-sens	p.Trp2*
c.12C>T	rs565323692	Synonyme	p.Leu4Leu
c.15G>T	Nouvelle	Synonyme	p.Val5Val
c.32C>T	rs72559703	Non synonyme	p.Thr11Ile
c.38C>A	Nouvelle	Non synonyme/accepteur activé	p.Ala13Asp
c.62G>A	rs61754263	Non synonyme	p.Arg21Lys
c.66C>G	rs762563	Non synonyme	p.Cys22Trp
c.70G>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Gly24Cys
c.73G>C	Nouvelle	Non synonyme	p.Ala25Pro

**Tableau 2 (suite 2) :** Nature et position des mutations du gène CYP17 $\alpha$ 

Position des mutations	dbSNP	Effet sur le codage	Acide aminé affecté
c.79T>C	Nouvelle	Non synonyme	p.Tyr27His
c.80A>C	rs757251521	Non synonyme	p.Tyr27Ser
c.81C>A	rs104894152	Non-sens	p.Tyr27*
c.86A>C	Nouvelle	Non synonyme	p.Lys29Thr
c.87G>A	Nouvelle	Synonyme	p.Lys29Lys
c.88A>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Ser30Gly
c.89G>A	rs1341416067	Non synonyme	p.Ser30Asn
c.90C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Ser30Arg
c.91C>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Leu31Val
c.94C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Leu32Met
c.96G>C	rs1398304295	Synonyme	p.Leu32Leu
c.98C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Ser33Tyr
c.99C>T	rs939625154	Synonyme	p.Ser33Ser
c.100C>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Leu34Val
c.102C>G	Nouvelle	Synonyme	p.Leu34Leu
c.106C>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Leu36Val
c.108G>C	Nouvelle	Synonyme/Site accepteur activé	p.Leu36Leu
c.109G>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Val37Leu
c.111G>A	Nouvelle	Création d'un site d'épissage	p.Val37Val
c.112G>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Gly38Ser
c.112G>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Gly38Cys
c.120G>C	Nouvelle	Synonyme	p.Leu40Leu
c.121C>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Pro41Ala
c.129C>G	Nouvelle	Synonyme	p.Leu43Leu
c.134G>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Arg45Lys
c.137A>G	Nouvelle	Non synonyme	p.His46Arg
c.138C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.His46Gln
c.138C>T	rs6162	Synonyme	p.His46His

**Tableau 2 (suite et fin) :** Nature et position des mutations du gène CYP17 $\alpha$ 

Position des mutations	dbSNP	Effet sur le codage	Acide aminé affecté
c.141C>A	Nouvelle	Synonyme	p.Gly47Gly
c.142C>T	Nouvelle	Non synonyme	p.His48Tyr
c.144T>A	Nouvelle	Non synonyme	p.His48Gln
c.147G>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Met49Ile
c.154A>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Asn52Tyr
c.156C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Asn52Lys
c.159C>T	Nouvelle	Synonyme	p.Phe53Phe
c.164A>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Lys55Met
c.167T>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Leu56Gln
c.171G>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Gln57His
c.179A>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Tyr60Cys
c.180T>G	Nouvelle	Non-sens	p.Tyr60*
c.183C>G	Nouvelle	Synonyme	p.Gly61Gly
c.188T>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Ile63Ser
c.189C>G	Nouvelle	Non synonyme	p.Ile63Met
c.194C>A	Nouvelle	Synonyme	p.Ser65Ser
c.195G>C	Nouvelle	Synonyme	p.Ser65Ser
c.195G>T	rs6163	Synonyme	p.Ser65Ser
c.197T>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Val66Asp
c.199C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Arg67Ser
c.200G>A	rs376074317	Non synonyme	p.Arg67His
c.213G>A	Nouvelle	Synonyme	p.Lys71Lys
c.215C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Thr72Asn
c.240G>T	Nouvelle	Non synonyme	p.Gln80His
c.245C>A	Nouvelle	Non synonyme	p.Ala82Asp
c.267G>C	Nouvelle	Non synonyme	p.Lys89Asn

Tableau 3 : Pathogénicité des mutations du gène CYP17 $\alpha$ 

Mutations	Acides amines	Effet sur le codage	Mutation Taster (score)	SIFT (score)	Polyphen-2 (score)
<b>c.2T&gt;A</b>	p.Met1Lys	Perte du codon initiateur Met			
<b>c.3G&gt;A</b>	p.Met1Ile	Perte du codon initiateur Met			
<b>c.32C&gt;T</b>	p.Thr11Ile	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,63)	Bénigne (0,001)
<b>c.38C&gt;A</b>	p.Ala13Asp	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Délétère (0,02)	Domageable (0,91)
<b>c.62G&gt;A</b>	p.Arg21Lys	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (1)	Bénigne (0,001)
<b>c.66C&gt;G</b>	p.Cys22Trp	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,18)	Domageable (0,91)
<b>c.70G&gt;T</b>	p.Gly24Cys	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Délétère (0,01)	Domageable (0,998)
<b>c.73G&gt;C</b>	p.Ala25Pro	Non synonyme	Polymorphisme (0,847)	Tolérante (0,2)	Bénigne (0,028)
<b>c.79T&gt;C</b>	p.Tyr27His	Non synonyme	Polymorphisme (0,968)	Tolérante (0,54)	Domageable (0,989)
<b>c.80A&gt;C</b>	p.Tyr27Ser	Non synonyme	Polymorphisme (0,897)	Tolérante (0,41)	Bénigne (0,221)
<b>c.86A&gt;C</b>	p.Lys29Thr	Non synonyme	Polymorphisme (0,994)	Tolérante (0,2)	Bénigne (0,051)
<b>c.88A&gt;G</b>	p.Ser30Gly	Non synonyme	Pathogène (1)	Tolérante (0,22)	Domageable (0,998)
<b>c.89G&gt;A</b>	p.Ser30Asn	Non synonyme	Pathogène (1)	Tolérante (0,18)	Domageable (1)
<b>c.90C&gt;A</b>	p.Ser30Arg	Non synonyme	Pathogène (1)	Tolérante (0,2)	Domageable (1)
<b>c.91C&gt;G</b>	p.Leu31Val	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0,05)	Domageable (0,992)
<b>c.94C&gt;A</b>	p.Leu32Met	Non synonyme	Pathogène (0,825)	Tolérante (0,12)	Domageable (0,975)
<b>c.98C&gt;A</b>	p.Ser33Tyr	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,37)	Bénigne (0,006)
<b>c.100C&gt;G</b>	p.Leu34Val	Non synonyme	Pathogène (1)	Tolérante (0,15)	Domageable (0,991)
<b>c.106C&gt;G</b>	p.Leu36Val	Non synonyme	Pathogène (0,758)	Tolérante (0,11)	Bénigne (0,005)
<b>c.109G&gt;T</b>	p.Val37Leu	Non synonyme	Pathogène (0,995)	Tolérante (0,07)	Bénigne (0,104)
<b>c.112G&gt;A</b>	p.Gly38Ser	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0)	Domageable (1)
<b>c.112G&gt;T</b>	p.Gly38Cys	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0)	Domageable (1)
<b>c.121C&gt;G</b>	p.Pro41Ala	Non synonyme	Pathogène (0,582)	Tolérante (0,21)	Domageable (0,977)
<b>c.134G&gt;A</b>	p.Arg45Lys	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,06)	Bénigne (0,012)
<b>c.137A&gt;G</b>	p.His46Arg	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,65)	Bénigne (0,007)
<b>c.138C&gt;A</b>	p.His46Gln	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,66)	Domageable (0,853)
<b>c.142C&gt;T</b>	p.His48Tyr	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (1)	Domageable (0,991)
<b>c.144T&gt;A</b>	p.His48Gln	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,65)	Bénigne (0,028)
<b>c.147G&gt;A</b>	p.Met49Ile	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,37)	Bénigne (0,376)
<b>c.154A&gt;T</b>	p.Asn52Tyr	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,4)	Bénigne (0,037)
<b>c.156C&gt;A</b>	p.Asn52Lys	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,94)	Bénigne (0,037)

**Tableau 3 (suite et fin) : Pathogénicité des mutations du gène CYP17 $\alpha$** 

<b>Mutations</b>	<b>Acides Aminés</b>	<b>Effet sur le codage</b>	<b>Mutation Taster (score)</b>	<b>SIFT (score)</b>	<b>Polyphen-2 (score)</b>
<b>c.164A&gt;T</b>	p.Lys55Met	Non synonyme	Pathogène (0,998)	Délétère (0,03)	Domageable (1)
<b>c.167T&gt;A</b>	p.Leu56Gln	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0,01)	Domageable (1)
<b>c.171G&gt;T</b>	p.Gln57His	Non synonyme	Pathogène (1)	Tolérante (0,11)	Domageable (1)
<b>c.179A&gt;G</b>	p.Tyr60Cys	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0,06)	Domageable (1)
<b>c.188T&gt;G</b>	p.Ile63Ser	Non synonyme	Polymorphisme (0,818)	Délétère (0,01)	Domageable (0,974)
<b>c.189C&gt;G</b>	p.Ile63Met	Non synonyme	Pathogène (0,799)	Délétère (0,04)	Domageable (0,996)
<b>c.197T&gt;A</b>	p.Val66Asp	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0)	Domageable (0,507)
<b>c.199C&gt;A</b>	p.Arg67Ser	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,4)	Domageable (0,997)
<b>c.200G&gt;A</b>	p.Arg67His	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,23)	Domageable (0,951)
<b>c.215C&gt;A</b>	p.Thr72Asn	Non synonyme	Polymorphisme (1)	Tolérante (0,31)	Domageable (0,464)
<b>c.240G&gt;T</b>	p.Gln80His	Non synonyme	Pathogène (0,78)	Tolérante (0,1)	Bénigne (0,339)
<b>c.245C&gt;A</b>	p.Ala82Asp	Non synonyme	Pathogène (1)	Délétère (0,02)	Domageable (1)
<b>c.267G&gt;C</b>	p.Lys89Asn	Non synonyme	Pathogène (1)	Tolérante (0,46)	Domageable (0,995)

La plupart des mutations non synonymes sont considérées comme polymorphe neutre par contre 20 variants (47,61%) apparaissent comme potentiellement pathogènes selon le logiciel Mutation Taster, 12 (28,57%) mutations sont considérées comme délétères par SIFT. Par contre, la plus part des mutations est considérée comme potentiellement domageable par polyphen-2. Les mutations (c.91C>G p.Leu31Val ; c.112G>A p.Gly38Ser ; c.112G>T p.Gly38Cys ; c.164A>T p.Lys55Met ; c.167T>A p.Leu56Gln ; c.179A>G p.Tyr60Cys ; c.189C>G p.Ile63Met ; c.197T>A p.Val66Asp ; c.245C>A p.Ala82Asp) sont considérées comme probablement pathogènes, délétères et domageables par ces 3 logiciels de prédiction.

### III.1.2. PENETRANCE MUTATIONNELLE

#### III.1.2.1. Diversité génétique du gène *CYP17α*

L'analyse des 612 sites obtenus après alignement du jeu de données chez les 57 patientes atteintes de fibromes utérins montre 133 sites polymorphes dont 74 sites informatifs avec un nombre total de mutation de 162 et un nombre moyen de différence nucléotidique de 27,959. La nature des mutations indique un rapport transition/transversion de 0,681 montrant que les transversions (59,1%) sont plus nombreuses que les transitions (40,1%). Le taux de substitution synonymes (mutations n'entraînant pas un changement d'acide aminés) et non synonymes (mutations à l'origine des changements d'acides aminés) indique que les substitutions non-synonymes (dN : 0,038) sont inférieurs aux substitutions synonymes (dS : 0,061). Par contre un (1) seul site polymorphe est noté au niveau des témoins (18). Ces résultats sont présentés dans le tableau 3.

**Tableau 4** : Paramètres de diversité génétique du gène *CYP17α*

Paramètres	Témoins	atteints
Taille échantillons	18	57
Nombre total de sites	612	612
Sites variables	1	133
Sites invariables	611	479
Informatifs	1	74
Non Informatifs	0	59
Nombre total de mutations Eta	1	162
Nombres d'Haplotypes Ha	2	24
Nombre moyen de différence nucléotidiques k	0,503	27,959
Transition (%)		40,9%
Transversion (%)		59,1%
Fréquences nucléotidiques	A : 20,83% T/U : 21,66% C : 32,84% G : 24,66%	A : 23,86% T/U : 21,28% C : 30,43% G : 24,44%
Taux de mutation R		0,681
Substitutions synonymes (dS)		0,061±0,013
Substitution non synonyme (dN)		0,038±0,007
Z-tes Sélection (dN<dS)		Prob=0,025 ; stat=1,974
Hd (Diversité Haplotypique)		0,850±0,042
Pi (Diversité nucléotidique)		0,04569±0,00268

**III.1.2.2. Fréquence en acides aminés de l'exon 1 du gène *CYP17α***

Les résultats montrent une diminution significative de la fréquence de certains aa des tissus tumoraux par rapport aux témoins tels que : l'Histidine, la Lysine, la Leucine et la Méthionine, par contre le taux de Phénylalanine a augmenté. Ces résultats sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Fréquence des acides aminés et leur p-value chez les témoins et fibromes utérins

ACIDES AMINES	Témoins	atteints	P-value
<b>Ala</b>	3,555	4,364	0,3705
<b>Cys</b>	1,185	1,288	0,6887
<b>Asp</b>	0	0,062	0,3328
<b>Glu</b>	1,185	1,621	0,2086
<b>Phe</b>	4,740	5,403	0,0300*
<b>Gly</b>	7,110	7,024	0,5821
<b>His</b>	5,925	5,258	<0,001***
<b>Ile</b>	2,370	3,283	0,1927
<b>Lys</b>	8,295	7,544	0,0043**
<b>Leu</b>	17,775	15,253	<0,001***
<b>Met</b>	3,555	3,221	<0,001***
<b>Asn</b>	3,555	3,554	0,7559
<b>Pro</b>	9,480	9,622	0,6565
<b>Gln</b>	2,370	2,992	0,6732
<b>Arg</b>	5,925	5,923	0,673
<b>Ser</b>	4,740	4,697	0,558
<b>Thr</b>	4,740	4,759	0,9662
<b>Val</b>	7,110	7,294	0,6518
<b>Trp</b>	2,370	2,369	0,7795
<b>Tyr</b>	4,016	4,468	0,0753

Codes de significativité : p <0,001 '\*\*\*' p≈0,001 '\*\*' p≈0,01 '\*'

**III.1.2.3. Différenciation génétique**

L'analyse des distances génétiques intra-groupe révèle que les tissus tumoraux présentent une différence génétique alors que les témoins n'en présentent pas. Les résultats de la distance génétique inter-groupe indique que les témoins et les tissus sont génétiquement différents (D=0,044).

Il en est de même pour l'analyse du facteur de différenciation génétique qui révèle une grande différenciation génétique entre témoins et tissus  $F_{st}$  (0,23253). Ces résultats sont représentés dans le tableau 6.

**Tableau 6** : Différenciation génétique

<b>Distance génétique de Nei</b>		
	Intra-groupe	Inter-groupes
<b>Témoins</b>	0,000 ± 0,000	0,031 ± 0,007
<b>Fibromes utérins</b>	0,044 ± 0,009	
<b>Facteur de différenciation génétique Fst (p-value)</b>		
<b>Témoins et Tumeur</b>	0.23253 (0,0000)	

### III.1.3. POLYMORPHISME GENETIQUE ET FACTEURS EPIDEMIOLOGIQUES

Les résultats montrent plus de différences moléculaires chez les patientes de plus de 45 ans, à ménarche tardive, à insuffisance pondérale, nulligeste, nullipare, de préférence alimentaire mixte et marié (tableau 7).

Cependant, aucune structuration du gène CYP17 en fonction de ces paramètres clinico-pathologiques n'est observée (tableau 8)

**Tableau 7** : Distances génétiques suivant les paramètres clinico-pathologiques

Distance génétique de Nei		
Paramètres Cliniques	Intra-groupe	Inter-groupes
Age		
1. ≤35	0,043 ± 0,009	1 et 2 : 0,040 ± 0,009
2.] 35-45]	0,041 ± 0,009	1 et 3 : 0,048 ± 0,010
3. >45	0,058 ± 0,011	2 et 3 : 0,047 ± 0,010
Parité		
1. Nullipare	0,043 ± 0,009	1 et 2 : 0,045 ± 0,010
2. Multipare	0,039 ± 0,010	
Gestité		
1. Nulligeste	0,043 ± 0,009	1 et 2 : 0,044 ± 0,009
2. Multigeste	0,043 ± 0,010	
Ménarche		
1. [12-14]	0,042 ± 0,010	1 et 2 : 0,043 ± 0,009
2. >14	0,047 ± 0,009	
Régime alimentaire		
1. Carne	0,043 ± 0,010	1 et 2 : 0,043 ± 0,009
2. Végétarien	0,045 ± 0,010	1 et 3 : 0,042 ± 0,010
3. Mixte	0,045 ± 0,008	2 et 3 : 0,046 ± 0,009
Statut matrimonial		
1. Marié	0,047 ± 0,009	1 et 2 : 0,043 ± 0,009
2. Célibataire	0,041 ± 0,010	1 et 3 : 0,042 ± 0,009
3. Divorcé	0,046 ± 0,011	2 et 3 : 0,040 ± 0,009
Ethnies		
1. Wolof	0,045 ± 0,009	1 et 2 : 0,044 ± 0,010
2. Poulaar	0,035 ± 0,009	1 et 3 : 0,042 ± 0,009
3. Sérère	0,044 ± 0,011	1 et 4 : 0,045 ± 0,009
4. Diola	0,049 ± 0,010	1 et 5 : 0,041 ± 0,008
5. Lébou	0,022 ± 0,008	2 et 3 : 0,037 ± 0,010
		2 et 4 : 0,048 ± 0,011
		2 et 5 : 0,055 ± 0,012
		3 et 4 : 0,045 ± 0,010
IMC		
1. Insuffisance	0,052 ± 0,012	1 et 2 : 0,047 ± 0,010
2. Normale	0,045 ± 0,009	1 et 3 : 0,042 ± 0,010
3. Obésité	0,041 ± 0,010	2 et 3 : 0,042 ± 0,009

**Tableau 8** : Différenciation génétique suivant les facteurs épidémiologiques

Facteur de différenciation génétique Fst (p-value)		
Paramètres Cliniques	Intra-groupe	Inter-groupes
Age		
1. ≤35	-0,03842	1 et 2 : -0,03585 (0,93694)
2.] 35-45]	-0,03973	1 et 3 : -0,04295 (0,67568)
3. >45	-0,04952	2 et 3 : -0,04959 (0,89189)
Parité		
1. Nullipare	0,07378	1 et 2 : 0,07516 (0,05405)
2. Multipare	0,07938	
Gestité		
1. Nulligeste	0,02559	1 et 2 : 0,02579 (0,10811)
2. Multigeste	0,02602	
Ménarche		
1. [12-14]	-0,02015	1 et 2 : -0,02115 (0,63964)
2. >14	-0,02226	
Régime alimentaire		
1. Carne	-0,00573	1 et 2 : -0,00987 (0,34234)
2. Végétarien	-0,00638	1 et 3 : -0,02887 (0,82883)
3. Mixte	-0,00846	2 et 3 : 0,02999 (0,21622)
Statut matrimonial		
1. Marié	-0,04173	1 et 2 : -0,02973 (0,86486)
2. Célibataire	-0,03262	1 et 3 : -0,07287 (0,57658)
3. Divorcé	-0,02872	2 et 3 : -0,04680 (0,33333)
Ethnies		
1. Wolof	0,05124	1 et 2 : 0,07187 (0,16216)
2. Poulaar	0,07083	1 et 3 : -0,06014 (0,62162)
3. Sérère	0,06823	1 et 4 : -0,04241 (0,78378)
4. Diola	0,05991	1 et 5 : 0,09908 (0,16216)
5. Lébou	0,11029	2 et 3 : -0,04936 (0,63063)
		2 et 4 : 0,11832 (0,04505)
		2 et 5 : 0,40922 (0,02703)
		3 et 4 : -0,02471 (0,33333)
IMC		
1. Insuffisance	-0,02863	1 et 2 : -0,03597 (0,66667)
2. Normale	-0,03413	1 et 3 : -0,09388 (0,81982)
3. Obésité	-0,02534	2 et 3 : -0,01834 (0,43243)

L'analyse de la différenciation génétique révèle qu'il n'existe aucune structuration génétique en fonction des paramètres épidémiologiques car la valeur des p-values est supérieure à 0,05 donc non significative (tableau 9).

**Tableau 9** : Différenciation génétique de la population générale en fonction des Paramètres cliniques

Paramètres épidémiologiques	Pourcentage de variation (%)		Fst (p-value)
	Intra-groupe	Inter-groupes	
Age	104,13	-4,13	-0,04133 (0,96676)
Parité	92,48	7,52	0,07516 (0,07820)
Gestité	97,42	2,58	0,02579 (0,14370)
Ménarche	102,12	-2,12	-0,02115 (0,71359)
Régime alimentaire	100,69	-0,69	-0,00693 (0,42424)
Statut matrimonial	103,77	-3,77	-0,03769 (0,75660)
Ethnies	93,47	6,53	0,06534 (0,09580)
IMC	103,06	-3,06	-0,03062 (0,70772)

### III.2. DISCUSSION

Cette présente étude a porté sur 57 patientes atteintes de myomes utérins. Elle avait comme objectif d'identifier les mutations du gène *CYP17 $\alpha$*  (gène nucléaire) impliquées dans le développement des fibromes utérins, de déterminer la pénétrance mutationnelle ainsi que les paramètres clinico-pathologiques qui interviennent dans l'apparition de cette maladie au sein de la population d'étude. L'analyse de la variabilité nucléotidique a permis de déceler plusieurs mutations du gène *CYP17 $\alpha$*  au niveau des tissus fibreux (68,1) et une seule mutation (1) dans les témoins. Cela témoigne que ces variations pourraient être impliquées dans le développement des fibromes utérins chez nos patientes. Le fait que certaines patientes atteintes de fibromes utérins ne présentent pas des altérations indique que le gène *CYP17 $\alpha$*  n'est pas le seul gène impliqué dans les fibromes. En effet, d'autres gènes ont été incriminés dans la survenue de fibromes utérins dont le plus important est le gène *MED12* (Makinen *et al.*, 2011 ; Kénémé *et al.*, 2018).

L'enzyme du cytochrome P450-17A1 (*CYP17A1*) humain agit à un moment clé de la stéroïdogénèse humaine, contrôlant les niveaux de minéralocorticoïdes influençant la pression artérielle, les glucocorticoïdes impliqués dans les réponses immunitaires et au stress et les androgènes impliqués dans le développement et l'homéostasie des tissus reproducteurs (Nakajin et Hall, 1981). L'enzyme *CYP17A1* catalyse à la fois les activités de la 17 $\alpha$ -hydroxylase et de la 17,20-lyase et possède également un degré modeste d'activité de la 16 $\alpha$ -hydroxylase (Nakajin *et al.*, 1985). La stéroïde 17 $\alpha$ -hydroxylase (stéroïde 17 $\alpha$  monooxygénase) convertit la pregnénolone en 17-hydroxypregnénolone et convertit la progestérone en 17-hydroxyprogestérone, précurseur ou synthèse douce de testostérone et d'œstrogène. Bien que les activités des stéroïdes 17 $\alpha$ -hydroxylase et 17,20-lyase puissent être

facilement distinguées, l'examen des produits stéroïdiens veineux circulants ont montré que les deux activités résident dans une seule protéine, CYP17A1 codée par le gène *CYP17α* (Zachmann *et al.*, 1972 ; Goebelsmann *et al.*, 1976). Ainsi, l'enzyme CYP17A1 est un point de branchement clé dans la synthèse des hormones stéroïdes humaines.

Chez les femmes, *CYP17α* est exprimé dans les glandes surrénales, le tissu adipeux, les cellules thécales de l'ovaire et le corps jaune (Sasano *et al.*, 1989 ; Hanukoglu, 1992 ; Puche *et al.*, 2002). L'enzyme CYP17A1 convertit les stéroïdes à 21 carbones en androgènes à 19 carbones en deux transformations chimiques (Arlt *et al.*, 2002). Premièrement, la pregnénolone ou la progestérone à 21 atomes de carbone est hydroxylée. Le produit 17α hydroxypregnénolone peut subir une seconde réaction de 17,20-lyase dans le même site actif pour donner la déhydroépiandrostérone (DHEA) à 19 carbones, précurseur des androgènes pour tous les stéroïdes sexuels. Ainsi, des mutations ou une inhibition clinique affectant les deux réactions du CYP17A1 bloquent la production d'androgènes et de glucocorticoïdes. La carence en glucocorticoïdes entraîne la sécrétion d'hormone adrénocorticotrophine, ce qui entraîne une surproduction de minéralocorticoïdes (Auchus, 2001).

Les mutations au niveau de la région promotrice du *CYP17α* sont très fréquentes chez les patientes atteintes de fibromes utérins. Ces mutations pourraient induire une surexpression de synthèse de l'enzyme CYP17A1. En effet, les travaux de Wickenheisser *et al.* (2000) ont montré que l'expression de CYP17A1 dans les cellules thécales isolées chez des femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques est constamment élevée, par rapport aux cellules normales. Pour étudier le mécanisme de l'accumulation accrue d'ARNm de CYP17A1 dans les cellules tumorales ovariennes, Wickenheisser *et al.* (2000) ont examiné les activités du promoteur du *CYP17α* et de la protéine de régulation aiguë stéroïdogène (StAR). L'activité du promoteur *CYP17α* basal était 4 fois plus élevée dans les cellules tumorales ovariennes que dans les cellules de la thèque isolées des ovaires normaux. Les auteurs ont conclu de ces données que la transcription du gène *CYP17α* basal et dépendant de l'AMPc est augmentée dans les cellules tumorales.

De plus, la mutation c.-34T>C crée un nouveau site CCACC box et donc un promoteur additionnel. Carey *et al.* (1994) ont identifié en premier ce SNP et ont émis l'hypothèse selon laquelle l'allèle C pourrait surréguler l'expression génétique en augmentant en premier lieu les hormones du sérum incluant l'androstènedione et l'œstradiol (E2). Ce polymorphisme est commun : le génotype CC est présent chez 11 à 19% des femmes blanches nord-américaines et 6 à 16% des africaines américaines (Sharp *et al.*, 2004). Plusieurs études ont émis l'hypothèse selon laquelle l'allèle C de *CYP17α* peut être un marqueur d'une augmentation de la stéroïdogénèse (Li *et al.*, 2002 ; Sata *et al.*, 2003). Ce SNP a ensuite été investigué dans des cas de fibromes utérins chez des populations présentant une forte diversité ethnique telle que l'Afrique du Sud, le Brésil et les Caraïbes (Amant *et al.*, 2004 ; Viera *et al.*, 2008 ; Alleyne *et al.*, 2014). En Afrique du Sud, Amant *et al.* (2004) ont indiqué une forte

association entre fibromes utérins et présence de l'allèle mutant C. Les travaux d'Alleyne *et al.* (2014), se basant sur la distribution allélique de *CYP17 $\alpha$*  ont montré une prédominance du génotype homozygote TT avec une fréquence de 52% suivi du génotype hétérozygote TC avec une fréquence de 41% ; le génotype CC ne constituant que 6% des cas. Par contre au Brésil, aucune association n'a été notée entre fibromes utérins et présence de l'allèle mutant C (Vieira *et al.*, 2008).

La mutation c.3G>A altère le 1<sup>er</sup> acide aminé de l'exon 1 du gène *CYP17 $\alpha$*  à savoir la Méthionine et donc entraîne la perte du codon initiateur de la traduction. Cette perte pourrait se traduire par une inhibition de la synthèse de l'enzyme CYP17A1 et donc un blocage des activités 17 $\alpha$ -hydroxylase et 17,20-lyase chez les patientes présentant ce polymorphisme. Ceci est davantage confirmé par la découverte du variant c.5G>A. Ce variant correspond à un codon stop prématuré au Tryptophane dans le codon 2 (p.Trp2) et induit le désordre génétique du CYP17A1 qui entraîne un déficit en 17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase. La mutation en position 17 pourrait induire la perte du clivage en C17 de l'enzyme CYP17A1 et donc une surexpression des stéroïdes sexuels par inhibition du métabolisme de régulation.

La mutation c.81C>A et c.180T>G qui correspondent respectivement à un remplacement de la Tyrosine 27 par un codon stop (p.Tyr27\*) et (p.Tyr60\*) sont aussi des variants pathogènes retrouvés dans les fibromes utérins. Ce polymorphisme qui crée une enzyme tronquée est également retrouvé dans d'autres pathologies. En effet, les études de Müssig *et al.* (2005) ont indiqué la présence de ce variant chez une patiente turque âgée de 20 ans et qui a présenté une aménorrhée primaire et un infantilisme sexuel. Le métabolisme stéroïdien de la patiente montrait des taux accrus de précurseurs de minéralocorticoïdes et de concentrations plasmatiques faibles ou indétectables de 17 $\alpha$ -hydroxycorticoïdes, d'androgènes et d'œstrogènes. Le postulat en est que chez cette patiente, les deux copies du gène de la 17 $\alpha$ -hydroxylase sont défectueuses sous la forme d'un codon d'arrêt homozygote dans l'exon 1, tronquant de manière importante la protéine à l'acide aminé. Le site de liaison de l'hème, la poche de liaison du substrat et le site du partenaire rédox, qui ont tous été signalés comme étant essentiels à l'activité catalytique en C17, font défaut. Par conséquent, le CYP17A1 n'aura aucune activité, ni en tant que 17 $\alpha$ -hydroxylase ni en tant que 17,20-lyase.

Les résultats sont en accord avec les données de la littérature. Les mutations entraînent un blocage de la synthèse enzymatique dans les cas de fibromes. Ceci pourrait s'expliquer par une inhibition du métabolisme de régulation de la progestérone par l'enzyme CYP17A1 et donc une surproduction de cette dernière chez les patientes. Ce qui stipule que la surproduction de progestérone serait en effet indispensable à la croissance de fibromes et que l'œstrogène aurait un effet indirect. La dépendance hormonale de la croissance du fibrome utérin a été acceptée depuis longtemps, et le 17 $\beta$ -estradiol (E2) a été considéré comme le mitogène des fibromes utérins pendant des décennies (Hyder *et al.*, 2000). Cependant, en utilisant le modèle de xénogreffe, Wu *et al.* (2017) établissent que la

progestérone (P4) est en fait le moteur de la croissance du fibrome utérin. Bien que l'E2 lui-même ne soit pas un mitogène, il joue un rôle essentiel dans leur croissance en sensibilisant les cellules du fibrome utérin à P4 grâce à la régulation positive du récepteur de la progestérone.

L'implication du gène *CYP17 $\alpha$*  dans la progression des fibromes utérins est d'avantage confirmée par les indices de la diversité génétique. Parmi les variations trouvées, les mutations de types transitions (40,9%) sont inférieures aux transversions (59,1%). Ces dernières sont à l'origine des changements de la conformation de la structure des protéines le plus souvent au niveau de la deuxième position du codon.

L'analyse de la composition en acides aminés a montré une augmentation de phénylalanine et une diminution des acides aminés tels que l'histidine, la lysine, la leucine et la méthionine chez les tissus tumoraux. Le statut histidine semble être important dans les dysfonctionnements cutanés et diverses maladies cutanées, la carence en histidine, comme dans les autres aa essentiels (Ile, Leu, Lys, Met, Cys, Phe, Tyr, Thr, Trp, Val, Arg ou Gln) a réduit de manière significative les taux d'hyaluronane dans les fibroblastes cutanés humains (Yamane *et al.*, 2016). Hyaluronane joue un rôle important dans la réparation des tissus et dans la prolifération et la migration cellulaires dans la peau (Moro *et al.*, 2020). La leucine est un acide aminé essentiel pour la synthèse des protéines. L'initiation de la traduction de l'ARNm est le principal mécanisme par lequel la leucine stimule la synthèse des protéines. Additionnellement, de manière similaire à d'autres acides aminés, le squelette carboné de la leucine peut être utilisé pour générer de l'ATP. cependant, la leucine peut également réguler plusieurs processus cellulaires tels que la synthèse des protéines, la régénération tissulaire et métabolisme (Pedroso *et al.*, 2015). La méthionine n'est plus seulement pour l'initiation aux protéines, le cycle redox permet aux résidus méthionine de fournissent une défense antioxydante catalytiquement efficace en réagissant avec des espèces oxydantes. Le cycle constitue également une réversible modification covalente post-traductionnelle analogue à la phosphorylation. Comme pour la phosphorylation, à médiation enzymatique l'oxydation et la réduction de résidus méthionine spécifiques fonctionnent comme un processus de régulation dans la cellule (Lim *et al.*, 2019).

L'analyse de la différenciation génétique révèle l'existence d'une différence génétique entre myomes utérins ( $d=0,044$ ) et un facteur de différenciation génétique ( $F_{st}$ ) significatif ( $p < 0,05$ ) entre tissus témoins et tissus myomateux. La différence entre tissus atteints de myomes serait à l'origine de la localisation différente des myomes dans l'utérus. En effet, les myomes se présentent sous des formes extrêmement variables (myomes sous-séreux, intramuraux et sous muqueux) et cette variabilité se caractérise par leur taille, leur consistance et leur localisation différente (Peddada *et al.*, 2008). Par rapport au myomètre par contre, la différence entre tissus tumoraux et témoins serait à l'origine de l'évolution rapide des tumeurs. Une forte diversité haplotypique ( $H_d=0,850$ ) a été obtenue associée à

une faible diversité nucléotidique ( $P_i=0,04569$ ) cela laisserait penser à une multiplication rapide des cellules tumorales confirmant les résultats précédents.

Bien que les fibromes utérins soient des tumeurs multifactorielles, la recherche de contributeurs génétiques dans les facteurs épidémiologiques s'avère pertinente pour la compréhension de facteurs étiologiques impliqués dans leur physiologie de développement. Il n'existe pas de structuration du gène *CYP17 $\alpha$*  en fonction des paramètres épidémiologiques. Le gène *CYP17 $\alpha$*  n'interviendrait que dans la progression tumorale mais pas dans l'initiation de la tumeur. Le développement des fibromes utérins est associé à une exposition des stéroïdes ovariens sexuels. L'œstrogène peut exercer son effet mitogénique via les facteurs de croissance dépendant de l'œstrogène (œstrogen dependant growth factor). Les facteurs de croissance sont des cytokines multifonctionnelles qui régulent plusieurs fonctions biologiques allant de la croissance à la différenciation vers les cellules apoptotiques. Les facteurs de croissance sont aussi associés à la prolifération cellulaire et à la différenciation, l'angiogenèse, les modifications de la matrice extracellulaire et l'immunomodulation (Kim *et al.*, 2014).

Malgré de nombreuses preuves cliniques que le statut hormonal soit associé au développement du fibrome (Kim *et al.*, 2013 ; Moravek *et al.*, 2015), les rôles fonctionnels précis des œstrogènes et des progestatifs dans la biologie des fibromes sont encore incomplètement compris. Par exemple, la prolifération des cellules dérivées des muscles lisses utérins humains et des cellules dérivées du fibrome utérin est stimulée en fonction de la dose de 17 $\beta$ -estradiol (Andersen *et al.*, 1995 ; Pedeutour *et al.*, 1998, Yin *et al.*, 2007). Ces résultats suggèrent que les œstrogènes exercent leur effet pro-mitogénique par des mécanismes transcriptionnels. Il existe des résultats expérimentaux et cliniques contradictoires quant à un éventuel rôle stimulant, inhibiteur ou facilitateur de la progestérone dans le développement du fibrome utérin (Kim et Sefton, 2012). La progestérone semble être essentielle à la croissance des xénogreffes de fibromes humains, ce qui est à la fois contre-intuitif, étant donné la propension de la grossesse à atténuer le développement et/ou la croissance du léiomyome et à améliorer la charge tumorale observée avec les antiprogestatifs (Ishikawa *et al.*, 2010). Ces résultats contradictoires, couplés au fait que les fibromes multiples sont clonaux et peuvent avoir des caractéristiques de croissance différentes dans le même utérus, suggèrent que les mécanismes locaux et cellulaires, jouant éventuellement un rôle dans leur microenvironnement, est un facteur clé dans le développement et la croissance du fibrome (Hanahan et Coussens, 2012).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les fibromes affectent des millions de femmes dans le monde et surviennent, dans 60% des cas, chez les femmes en âge de procréer ce qui constitue un réel problème de santé publique. Cette prévalence varie en fonction de l'origine ethnique, les femmes d'origine africaine ayant un risque plus accru. Puisque ces disparités ethniques ne peuvent pas être entièrement expliquées par des facteurs socio-économiques ou environnementaux, la recherche de contributeurs génétiques semble indispensable. Les résultats sur le déterminisme génétique du gène *CYP17* ont montré une différence significative entre les témoins et les tissus atteints de myomes utérins.

Les enzymes du cytochrome P450 responsables des réactions hautement spécifiques dans la voie de biosynthèse des stéroïdes gagnent en intérêt comme cibles moléculaires, étant donné leur rôle clé dans la formation de diverses hormones stéroïdes endogènes très puissantes. En effet, les traitements actuels des tumeurs en particulier des fibromes sont principalement chirurgicaux et coûteux. Il est alors essentiel de développer et d'évaluer des alternatives aux procédures chirurgicales. Les modulateurs sélectifs des récepteurs de la progestérone sont des composés synthétiques qui ont un impact agoniste ou antagoniste sur les tissus cibles déterminés par leurs liaisons aux progestérone-récepteurs. Leur activité mixte dépend du recrutement de cofacteurs qui régulent la transcription le long des voies génomiques, ainsi que des interactions non génomiques avec d'autres voies de signalisation. Il ne fait aucun doute que la chirurgie reste indiquée dans certains cas, mais nous devons maintenant établir si l'utilisation des modulateurs sélectifs des récepteurs de la progestérone permet de pallier à la chirurgie.

Toutefois, l'amélioration de la prise en charge doit passer par : une sensibilisation des femmes sur les manifestations cliniques des fibromes utérins et ses complications, et insister sur l'intérêt de la prise en charge précoce ; une restructuration voire une informatisation du système d'archivage afin d'améliorer le suivi des patientes mais aussi d'avoir un aperçu sur l'incidence réelle de la pathologie au niveau national.

Bien que nos résultats concourent à une réponse favorable à la question de recherche de solution, il serait intéressant d'élargir l'échantillonnage sur d'autres centres hospitaliers, d'élaborer une fiche clinique qui tient compte des variants histologiques, de faire une analyse génétique multiplexe pour appréhender l'ensemble des mécanismes moléculaires.

<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>
------------------------------------

1. Akey J.M., Zhang G., Zhang K., Jin L., Shriver M.D., **2002**. Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. *Genome Research*; 12:1805-1814.
2. Alleyne A.T., Austin S., Williams A., **2014**. Distribution of CYP17 $\alpha$  polymorphism and selected physiochemical factors of uterine leiomyoma in Barbados, Met. *Gene* ; 2 : 358–365.
3. Amant F., Dorfling C.M., de Brabanter J., Vandewalle J., Vergote I., Lindeque B.G., **2004**. A possible role of the cytochrome P450-c17 $\alpha$  gene (CYP17 $\alpha$ ) polymorphism in the pathobiology of uterine leiomyomas from black South African women : a pilot study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* ; 83 : 234– 239.
4. Andersen J., Dyreyes V.M., Barbieri R.L., Coachman D.M., Miksicek R.J., **1995**. Leiomyoma primary cultures have elevated transcriptional response to estrogen compared with autologous myometrial cultures. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*; 2:542-551.
5. Arlt W., Mertens J.W., Song M., Wang J.T., Auchus R.J., Miller W.L., **2002**. Molecular evolution of adrenarche: structural and functional analysis of p450c17 from four primate species. *Endocrinology*; 143(12):4665-4672.
6. Auchus R.J., **2001**. The genetics, pathophysiology, and management of human deficiencies of P450c17. *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America*; 30:101-119.
7. Audebert A., **1990**. Endométriose externe : histogénèse, étiologie et évolution naturelle, *Rev. Praticien* ; 40 : 1077-1081.
8. Auton A., Bryc K., Boyko A.R., Lohmueller K.E., Novembre J., Reynolds A., Indap A., Wright M.H., Degenhardt J.D., Gutenkunst R.N., **2009**. Global distribution of genomic diversity underscores rich complex history of continental human populations. *Genome Research*; 19:795- 803.
9. Baird D.D., Dunson D.B., Hill M.C., Cousins D., Schectman J.M., **2003**. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women : ultrasound evidence, *Am. J. Obstet. Gynecol.* ; 188 : 100–107.
10. Barbujani G., Colonna V., **2010**. Human genome diversity: frequently asked questions. *Trends in Genetics*; 26:285-295.
11. Barreiro L.B., Laval G., Quach H., Patin E., Quintana-Murci L., **2008**. Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genetics*; 40:340-345.
12. Bernard P., **2002**. Les fibromyomes utérins, *Corpus Médical–Faculté de Médecine de Grenoble : Université Joseph Fourier*
13. Bèye S., **1998**. Les fibromes utérins à la Clinique chirurgicale de CHU de Dakar opérés en 2 ans, *Thèse Medecine FMPOS : UCAD - Dakar*, 46p.
14. Buttram V.C., Reiter J.C., **1981**. Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology and management, *Fertil Steril* ; 36 : 433-445.
15. Carey A. H., Dawn Waterworth L., Kirty Patel., Davinia White., Julie Little., Patricia Novelli., Stephen Franks., Robert Williamson., **1994**. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17, *Human Molecular Genetics* ; 3 (10) : 1873-1876
16. Catherino W.H., Eltoukhi H.M., Al-Hendy A., **2013**. Racial and Ethnic Differences in the Pathogenesis and Clinical Manifestations of Uterine Leiomyoma, *Seminars in Reproductive Medicine* ; 31 (5) : 370–379.
17. Chalal N., Demmouche A., **2013**. Profil épidémiologique des fibromes utérins dans la région de Sidi Bel Abbes, Algérie. *Pan African Medical Journal* ; 1-8.
18. Chapron, B. C., Fernandez A., Fauconnier J.B., Dubuisson., **1999**. Prise en charge des fibromes utérins Indications et modalités du traitement chirurgical conservateur des myomes interstitiels et sous-séreux, *Gynecol Obstet Biol Reprod* ; 28 : 732-737.
19. Christin-Maitre & Hugon., **2009**. Physiopatologie des fibromes, *Medecine de la reproduction* ; 2(11) : 123-127.
20. Commandeur A.E., Styer A.K., Teixeira J.M., **2015**. Epidemiological and genetic clues formolecular mechanisms involved in uterine leiomyoma development and growth, *Human Reproduction Update*, Vol.21, No.5pp.593–615.
21. Coulibaly A., **2020**. Aspects épidémiologiques et histo-pathologiques des tumeurs du corps utérin au service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques au CHU du Point G. *Thèse, Bamako : Université de Bamako*, 109p.
22. Eltoukhi H.M., Modi M.N., Weston M., Armstrong A.Y., Stewart E.A., **2014**. The Health Disparities of Uterine Fibroids for African American Women : A Public Health Issue, *Am. J. Obstet. Gynecol.* ; 210 (3) : 194–199.
23. Excoffier L., Laval G., Schneider S., **2010**. Arlequin version 3.1 : An integrated software package for population genetics data analysis, *Evol. Bioinform. Online* ; 1 : 45-50.
24. Flake G.P., Andersen J., Dixon D., **2003**. Etiology and Pathogenesis of Uterine Leiomyomas : A Review, *Environ. Health Perspect.* ; 11 (8) : 1037-1054.
25. Goebelsmann U., Zachmann M., Davajan V., Israel R., Mestman J.H., Mishell D.R., **1976**. *Gynecology Investigation*; 7:138-156.
26. Hall T.A., **1999**. BioEdit : a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41 : 95-98.
27. Hanahan D., Coussens L.M., **2012**. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell*; 21:309-322.

28. Hanukoglu I., **1992**. Steroidogenic enzymes-structure, function, and role in regulation of steroidhormone biosynthesis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*; 43:779-804.
29. Huyck K.L., M.P.H., Panhuysen C.I.M., Cuenco K.T., Zhang, J.M.S., Goldhammer, H. M.S., Jones E.S., Somasundaram P., M.B.B.S., Lynch A.M., B.S., Bernard L.H., Hang LEE, Elizabeth A. Stewart E.A., Morton C.C., **2008**. The Impact of Race as a Risk Factor for Symptom Severity and Age at Diagnosis of Uterine Leiomyomata among Affected Sisters, *Am J Obstet Gynecol* ; 198(2) : 168–168.
30. Ishikawa H., Ishi K., Serna V.A., Kakazu R., Bulun S.E., Kurita T., 2010. Progesterone is essential for maintenance and growth of uterine leiomyoma. *Endocrinology*; 151:2433-2442.
31. Jacob D., Rafii A., **2004**. L'embolisation des artères utérines dans le traitement des myomes utérins : état des lieux Embolization of uterine arteries for uterine fibroids: state-of-the-art, *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* ; 32 : 927–936.
32. Kahn V., Pelage J.P., Marret H., **2013**. Embolisation dans le traitement des myomes, Elsevier Masson SAS ; 42: 1127–1132.
33. Kénéme B., **2020**. Fibromes Uterins Et Adénofibromes Du Sein : Epidémiologie Et Impacts Des Mutations Génétiques Sur Leur Physiologie De Développement, Thèse De Doctorat Unique : UCAD-Dakar, 177p.
34. Kénéme B., Ciss D., Ka S., Mbaye F., Dem., Sembène M., **2018**. Uterine Fibroids in Senegal: Polymorphism of MED12 Gene and Correlation With Epidemiological Factors, *American Journal of Cancer Research and Reviews* ; 2(4) : 1-16.
35. Kim J.J., Kurita T., Bulun S.E., **2013**. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocrinology Reviews*; 34:130-162.
36. Kim J.J., Sefton E.C., **2012**. The role of progesterone signaling in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Molecular and Cellular Endocrinology*; 358:223-231.
- Lamien A., **2009**. Leiomyomes utérins : Aspects anatomopathologiques et l'impact sur l'endomètre et les hormones ovariennes, Diplôme d'Etude Approfondie (D.E.A) UCAD – Dakar, 72p.
37. Li T.C., Tuckerman E.M., Laird S.M., **2002**. Endometrial factors in recurrent miscarriage. *Human Reproductive Update*; 8:43-52.
38. Librado P., Rozas J., **2009**. DnaSP version 5 : a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinform.* ; 25 : 1451-1452.
39. Lim J. M., Kim G., Rodney L., Levine R.L., 2019. Methionine in Proteins: It's Not Just for Protein Initiation Anymore, *Neurochemical Research* ; 44:247–257.
40. Lopes P., Thibaud S., Simonnet R., Boudineau M., **1999**. Fibrome et grossesse : quels sont les risques ?, *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* ; 28 : 772-777.
41. Magassouba D., **2008**. Etude épidémiologique et thérapeutique du fibrome utérin dans le service de gynécologie obstétrique du CHU de point- G. Thèse, Bamako : Université de Bamako, 94p.
42. Mäkinen N., Heinonen H., Moore S., Tomlinson I., Spuy Z., Aaltonen L., **2011**. MED12 exon 2 mutations are common in uterine leiomyomas from South African patients. *Oncotarget*; (2): 966-969.
43. Medikare V., Kandukuri L., Ananthapur V., Deenadayal M., Nallari P., **2011**. The Genetic Bases of Uterine Fibroids A Review. *Journal Reproduction Infertile*; 12(3):181-191.
44. Moravek M.B., Yin P., Ono M., Coon J.St., Dyson M.T., Navarro A., Marsh E.E., Chakravarti D., Kim J.J., Wei J.J. **2015**. Ovarian steroids, stem cells and uterine leiomyoma: therapeutic implications. *Human Reproduction Updates*; 21:1-12.
45. Moro J., Tomé D., Schmidely P., Demersay T.C., Azzout-Marniche D., 2020. Histidine: A Systematic Review on Metabolism and Physiological Effects in Human and Different Animal Species, *MDPO* ; 12 : 1-20.
46. Munro M.G., **2011**. For the FIGO Working Group on Menstrual Disorders. FIGO classification system (PALM-COEN) for causes of abnormal uterine bleeding in non-gravid women of reproductive age. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*; 113(1):3-13.
47. Müssig K., Kaltenbach S., Machicao F., Maser-Gluth C., Hartmann M.F., Wudy S.A., Schnauder G., Haring H.U., Seif F.J., Gallwitz B., **2005**. 17 $\alpha$  hydroxylase/17,20 lyase deficiency caused by a novel homozygous mutation (Y27stop) in the cytochrome CYP17 gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*; 90(7):4362-4365.
48. Nakajin S., Hall P.F., **1981**. Microsomal cytochrome P450 from neonatal pig testis. Purification and properties of a C21 steroid side-chain cleavage system (17 $\alpha$ -hydroxylase-C17, 20 lyase). *Journal of Biological Chemistry*; 256:3871-3876.
49. Nakajin S., Takahashi M., Shinoda M., and Hall, P. F., 1985. Cytochrome b5 promotes the synthesis of delta 16-C19 steroids by homogeneous cytochrome P-450 C21 side-chain cleavage from pig testis. *Biochemical & Biophysical Research Communications*; 132(2):708-713.
50. Ndimé F, **2020**. Pénétrance du gène p53 dans les fibromes uterins chez les femmes sénégalaises, *Mémoire de Diplôme de Master II en Biologie Animale : UCAD-Dakar*, 36p.
51. Ng P.C., Henikoff S. 2003. SIFT: prediction amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Research*; 31(13):3812-3814.
52. Okogbo F O., Ezechi OC., Loto OM., Ezeobi PM., **2011**. Uterine Leiomyomata in South Western Nigeria : a clinical study of presentations and management outcome, *African Health Sciences* ; 11(2): 271 – 278.
53. Peddada S.D., Laughlinb S.K., Minera K., Guyonc J.P., Hanekec K., Vahdatc H.L., Semelkard R.C, Kowalike A., Armaod D., Davis B., Baird D.D., **2008**. Growth of uterine leiomyomata among premenopausal black and white women, *PNAS* ; 105 (50) : 19887–19892.

## Références Bibliographiques

54. Pedeutour F., Quade B.J., Weremowicz S., Dal Cin P., Ali S., Morton C.C., **1998**. Localization and expression of the human estrogen receptor beta gene in uterine leiomyomata. *Genes Chromosomes Cancer*; 23:361-366.
55. Pedroso A.B.J., Zampieri T.T., Donato J., 2015. Reviewing the Effects of L-Leucine Supplementation in the Regulation of Food Intake, Energy Balance, and Glucose Homeostasis, *ISSN* ; 7 : 3914-3937
56. Puche C., Jose M., Cabero A., Meseguer A., **2002**. Expression and enzymatic activity of the P450c17 gene in human adipose tissue. *European Journal of Endocrinology*; 146:223-229.
57. Racinet C., **2009**. Épidémiologie, facteurs de risque et symptomatologie des myomes utérins, *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie* ; 11 (2) : 118-22.
58. Ravina J.H., Aymard A., Vigneron N.C., Clerissi J., Merland J.J., **2003**. Embolisation des fibromes utérins : résultats sur 454 cas Uterine fibroids embolization: results about 454 cases, *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* ; 31 : 597-605.
59. Rosati P., Exacoustos C., Mancuso S., **1992**. Longitudinal evaluation of uterine myoma growth during pregnancy: a sonographic study. *Journal of Ultrasound in Medicine*; 1(1):511-515.
60. Sall, **2017**. Prise en charge des fibromes utérins au Centre Hospitalière National de Pikine à propos de 419 cas opérés, Thèse Médecine. DIPLOME D'ETAT : UCAD – Dakar, 100p.
61. Sasano H., Okamoto M., Mason J.I., Simpson E.R., Mendelson C.R., Sasano N., Silverberg S.G., 1989. Immunolocalization of aromatase, 17 alpha-hydroxylase and side-chain-cleavage cytochromes P-450 in the human ovary. *Journal of Reproduction and Fertility*; 85:163-169.
62. Sata F., H. Yamada., A. Yamada1., E.H.Kato., S.Kataoka., Y.Saijo1., T.Kondo., J.Tamaki., H.Minakami., R.Kishi., **2003**. A polymorphism in the CYP17 gene relates to the risk of recurrent pregnancy loss, *Molecular Human Reproduction* ; 9 (11) : 725-728.
63. Sharp L., Cardy A.H., Cotton S.C., Little J., **2004**. CYP17 gene polymorphisms : prevalence and associations with hormone levels and associated factors. *Am. J. Epidemiol* ; 160 (8) : 729-740.
64. Sparic R., M.D., Ljiljana Mirkovic, Ph.D., Antonio Malvasi, M.D., Andrea Tinelli, Ph.D., **2014**. Epidemiology of Uterine Myomas A Review, *Int J Fertil Steril*. 2016 ; 9(4): 424-435.
65. Strobelt N., Ghidini A., Cavallone M., **1994**. Natural history of uterine leiomyomas in pregnancy, *J. Ultrasound Med* ; 1 (3) : 399-401.
66. Tal R., James H. Segars., **2014**. The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis : potential implications for future therapy, *Human Reproduction Update* ; 20 (2) : 194-216.
67. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S., **2016**. MEGA6 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol* ; 30 : 2725-2729.
68. Trillaud, **2010**. Traitement du fibrome utérin par embolisation des artères utérines, *Sang Thrombose Vaisseaux* ; 22 (9) : 449-56.
69. Vieira L.C.E., Gomes M.T.V., Castro R.A., de Souza N.C.N., da Silva I.D.C.G., Baracat E.C., **2008**. Association of CYP17 gene polymorphism with risk of uterine leiomyoma in Brazilian women, *Gynecol. Endocrinol.* ; 24 (7) : 373-377.
70. Wathie F.K., **2007**. Les fibromes utérins au centre de santé Roi Baudouin de Guédiawaye : à propos de 148 cas opérés, Thèse Médecine. FMPOS : UCAD – Dakar, 188p.
71. Weir B.S., Cardon L.R., Anderson A.D., Nielsen D.M., Hill W.G., **2005**. Measures of human population structure show heterogeneity among genomic regions. *Genome Research*; 15:1468- 1476.
72. Wickenheisser J.K., Quinn P.G., Nelson V.L., Legro R.S., Strauss J.F., McAllister J.M., **2000**. Differential activity of the cytochrome P450 17-alpha-hydroxylase and steroidogenic acute regulatory protein gene promoters in normal and polycystic ovary syndrome theca cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*; 85:2304-2311.
73. Wu X., Serna V.A, Thomas J., Qiang W., Blumenfeld M.L., Kurital T., **2017**. Subtype-Specific Tumor-Associated Fibroblasts Contribute to the Pathogenesis of Uterine Leiomyoma. *Cancer Research*; 77(24):1-11.
74. Yamane T., Inoue Y., Kobayashi-Hattori K., Oishi Y., **2016**. Effects of an Amino acid Deficiency on Hyaluronan Synthesis in Human Dermal Fibroblasts, *Food Science and Technology Research* ; 22 (2) :279-281.
75. Yin X.J., Wang G., Khan-Dawood F.S., **2007**. Requirements of phosphatidylinositol-3 kinase and mammalian target of rapamycin for estrogen-induced proliferation in uterine leiomyoma and myometrium-derived cell lines. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*; 196(176):171-175.
76. Zachmann M., Vollmin J.A., Hamilton W., Prader A., **1972**. *Clinical Endocrinology*; 1:369- 385.

### Webographie

<https://fibrome-paris.com/fibrome-et-grossesse/> (lundi 2 mars 2020)

[http://campus.cerimes.fr/urologie/enseignement/urologie\\_22/site/html/5.html](http://campus.cerimes.fr/urologie/enseignement/urologie_22/site/html/5.html) (10/07/20)

Center for Uterine Fibroids à l'hôpital Brigham and Women's 10/07/20).

<http://campus.cerimes.fr/genetique-medicale/enseignement/genetique28/site/html/3.html> (25/11/20)

## ANNEXES

## Annexe 1 : libellé du protocole d’Ethique



**Université Cheikh Anta Diop de Dakar**  
**Comité d’Ethique de la Recherche (CER)**

Dakar, le 3 janvier 2018

**A Mme Bineta KENENE**  
Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal

**Référence : Protocole 0267/2017/CER/UCAD : "Tumeurs bénignes fibrotiques de la race noire : caractéristiques épidémiologiques, prédispositions génétiques et étude comparative."**

**Approbation éthique de la recherche**

Votre protocole a été examiné selon les règles édictées par le Comité National d’Ethique pour la Recherche en Santé (CNERS) du Sénégal et conformément aux procédures établies par l’Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) pour l’approbation éthique de toute recherche impliquant des participants humains.

J’ai le plaisir de vous informer que, sur la base des informations fournies dans le protocole, le Comité d’Ethique de la Recherche (CER) de l’UCAD considère que la recherche proposée, respecte les normes éthiques appropriées et en conséquence, approuve son exécution.

Le CER attire votre attention sur tout changement ultérieur dans la recherche qui soulèverait des questions éthiques non incluses dans le protocole original. Ces changements devront être soumis au Comité d’Ethique de la Recherche pour approbation.

**Le président**  
**Professeur Albane DIEYE**



Université Cheikh Anta Diop de Dakar – FST/ST  
Comité d’Ethique de la Recherche – CER – Université Cheikh Anta Diop de Dakar  
R.P. 1403, Dakar, Sénégal, Téléphone : +221 77 467 77 89  
E-mail : comite.ethique@ucad.edu.sn

**Annexe 2** : formulaire de consentement

## FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

TITRE DE L'ETUDE : « IMPLICATION DU GENE *Cytochrome P-450c17α (CYP17α)* DANS LA PROGRESSION TUMORALE DES FIBROMES UTERINS CHEZ LES FEMMES SENEGALAISES »

Objectif de la recherche : le but de cette étude est de de contribuer à la connaissance des facteurs étiologiques impliqués dans le processus tumoral des fibromes utérins.

1. Je soussigné,

.....

déclare avoir lu le document d'information et accepte de participer à l'étude de.....

2. j'ai reçu une explication concernant la nature, le but, la durée de l'étude et j'ai informé de ce qu'on attend de ma part. On m'a remis une copie de ce formulaire de consentement signé et daté, précédé d'un résumé de l'objectif de la recherche.

3. Je suis libre de participer ou non, de remplir le questionnaire, complètement ou non, sans qu'il soit nécessaire justifier ma décision et sans cela n'entraîne le moindre désavantage pour moi.

4. Les catégories de données qui seront utilisées dans le cadre de cette étude sont des résidus opératoires et un prélèvement de sang.

5. J'accepte que ces prélèvements fassent l'objet de traitements ultérieurs à des fins scientifiques, en relation directe avec les objectifs de la recherche ci-dessus mentionnés, dans le respect de la loi belge du 8 septembre 1992 relative à la protection de la vie privée à l'égard des traitements de données à caractère personnel. Mon nom, les réponses aux questionnaires et mes informations personnelles seront gardés confidentiels. Les responsables scientifiques de cette étude et les personnes qui traiteront les données s'engagent à respecter cette confidentialité de données.

6. J'accepte que les résultats de cette étude, qui seront toujours anonymisés, soient diffusés à des fins scientifiques et en respectant les règles déontologiques de la communauté scientifique.

7. Je peux à tout moment demander la consultation des données à caractère personnel collectés ou leur rectification sans frais. Ces données seront conservées durant le temps nécessaire à leur analyse et ce, jusqu'à un maximum de dix années. Les responsables de traitement de ces données..... peuvent être contactés à l'adresse suivante.....

8. J consens de mon plein gré à participer à cette étude.

Nous vous remercions d'apposer la mention « lu et approuvé ».

\_\_\_\_\_

Signature du sujet/patiente

\_\_\_\_\_

Date (jour/mois/année)

Je confirme que j'ai expliqué la nature, le but et la durée de l'étude au sujet mentionné ci-dessus.

Le sujet confirme son accord de participer par sa signature personnelle datée.

\_\_\_\_\_

Nom et prénom

\_\_\_\_\_

Date (jour/mois/année)

Signature de l'enquêteur

**Annexe 3** : fiche clinique fibrome utérin

## FICHE CLINIQUE FIBROME UTERIN

## IDENTITE DE LA PATIENTE

Index ou numéro de l'observation.....

Numéro de dossier.....

Catégorie d'hospitalisation.....

Structure de recueil.....

Prénom et Nom.....

Numéro de téléphone.....

Adresse.....

Ethnie.....

Age.....

Situation matrimonial.....

Date de mariage.....

Nombre d'enfant.....

Nombre d'avortement.....

DPR.....

DDR.....

Age de la première grossesse.....

Délai de latence entre les grossesses.....

## MODE DE VIE

Activité physique	Tabac	Alcool	Régime alimentaire	
-Oui <input type="radio"/>	-Oui <input type="radio"/>	- Oui <input type="radio"/>	- Animal <input type="radio"/>	<input type="radio"/>
-Non <input type="radio"/>	-Non <input type="radio"/>	- Non <input type="radio"/>	- Végétal <input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Contraception Hormonale	Méthode Contraceptive		Durée de la prise de Contraceptive	
- Oui <input type="radio"/>	-pilule <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-mois <input type="radio"/>	<input type="radio"/>
-Non <input type="radio"/>	- implant <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-année <input type="radio"/>	<input type="radio"/>

## ANATOMO-PATHOLOGIE

Nombre de fibromes.....

Localisation (sous-muqueux, intra-mural ou sous-séreux) .....

Douleurs pelviennes.....

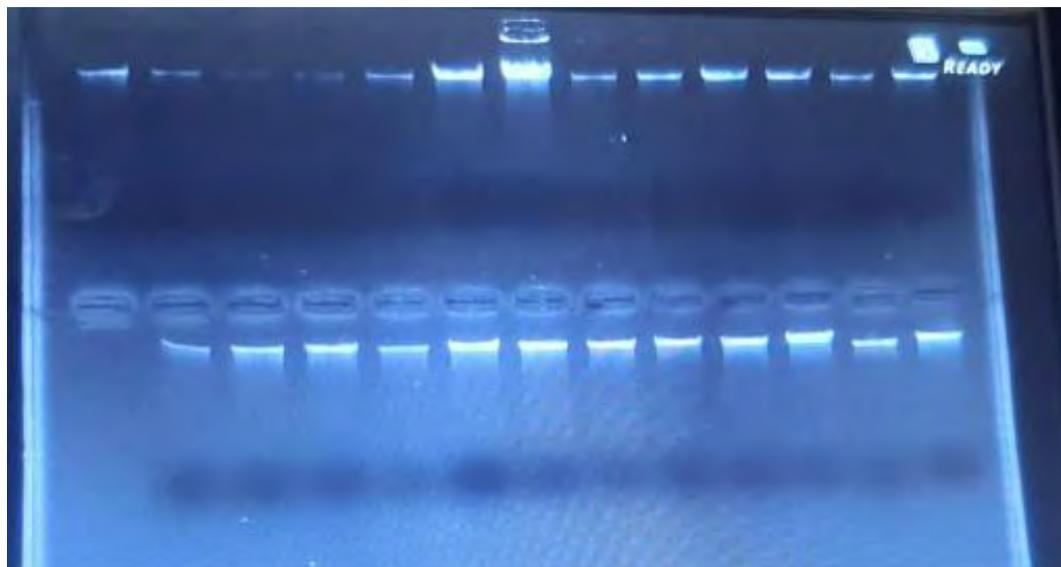
Ménorragie (augmentation de la durée et de l'abondance des règles) .....

Métrorragies (survenue de saignement en dehors des périodes de règles)

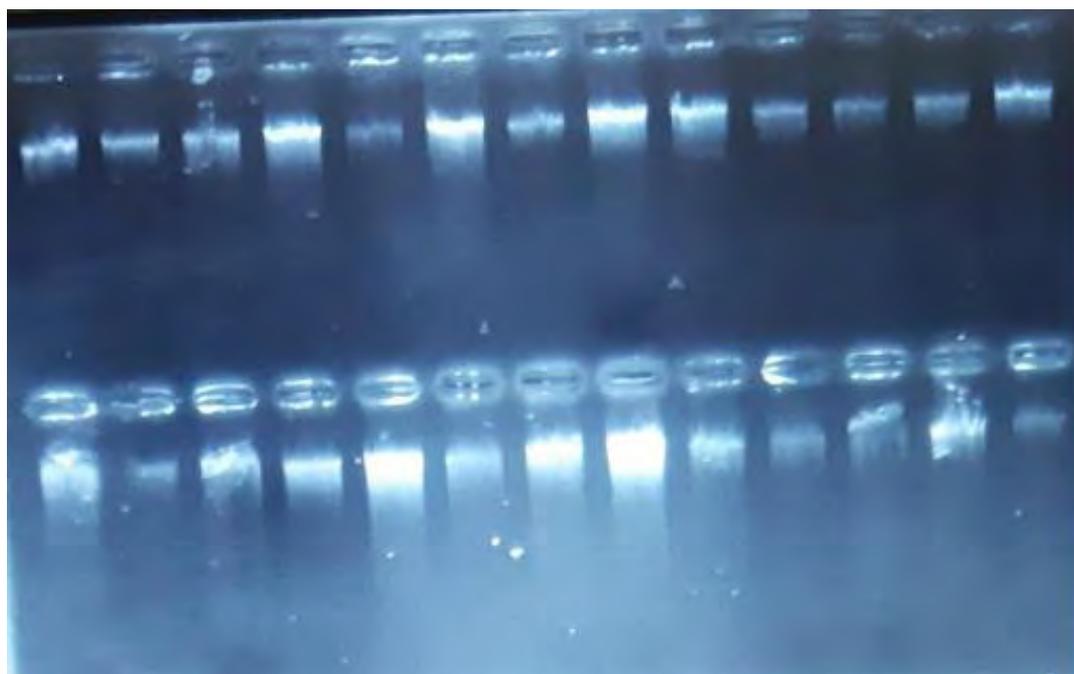
**Annexe 4** : Dispositif de coloration et de révélation des extraits d'ADN et produits PCR : sale  
BET



**ANNEXE 5** : Migration électrophorétique des extraits d'ADN des tissus



**Figure 1** : Profil de migration des extraits ADN de sang



**Figure 2** : Profil de migration des extraits ADN de tissus tumoraux

**ANNEXE 6** : Thermocycleur de type Eppendorf



**ANNEXE 7** : Migration électrophorétique après PCR

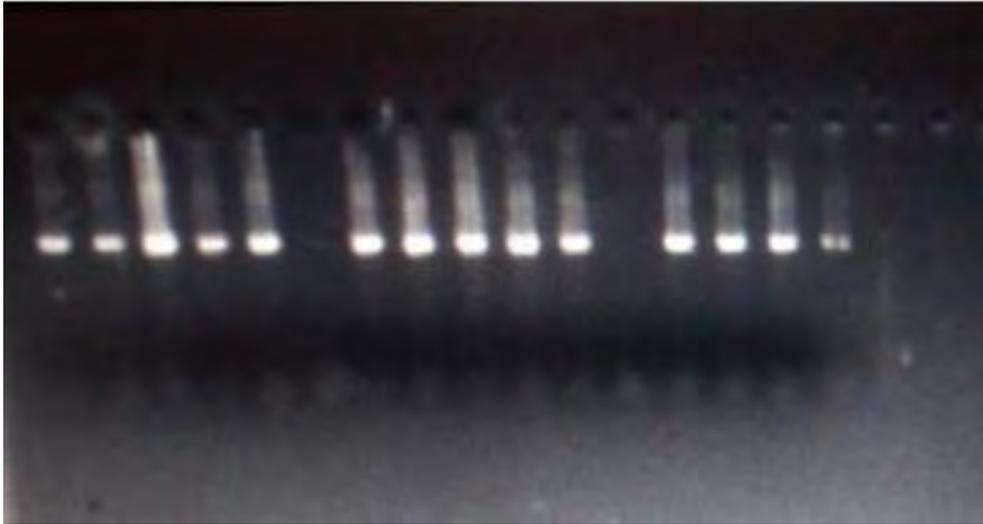


Figure 3. Profil de migration du gène CYP17A1

## ANNEXE 8 : protocole d'extraction d'ADN avec le kit Qiag

---

**Protocol d'extraction d'ADN avec le Kit Qiagen Dneasy Tissue**


---

**A faire avant de commencer :**

- Les tampons ATL et AL peuvent former un précipité durant le stockage. Si un précipité s'est formé, incubez le tampon à 55°C jusqu'à ce que le précipité disparaisse.
- Avant d'utiliser les tampons AW1 et AW2 pour la première fois, ajoutez la quantité appropriée d'éthanol 96-100% (les quantités pour chacun des tampons sont marqués sur les bouteilles).
- Pensez à allumer le bain-marie avant de commencer l'extraction (55° C à l'étape 2 et 70°C à l'étape 3).
- Si vos échantillons à extraire sont congelés, laissez-les décongeler à température ambiante avant l'extraction.

**Procédure :**

- Coupez jusqu'à 25 mg de tissus (environ 2 mm x 2 mm), placez le dans un tube de 1.5 ml et ajoutez 180µl de tampon ATL ;  
*L'échantillon peut être découpé en petits morceaux, ce qui facilite la digestion.*
- Ajoutez 20 µl de protéinase K, vortexez puis incubez à 55°C jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement lysé (de 3h à toute la nuit). Vortexez de temps en temps durant la lyse ; Si l'échantillon n'est pas complètement digéré, centrifugez le tube et transférez le liquide dans un nouveau tube 1.5 ml pour éliminer les restes de tissus.
- Vortexez 15s, ajoutez 200µl de tampon AL, vortexez immédiatement puis incubez à 70°C pendant 10 min ;  
*Il est important de vortexer immédiatement après l'ajout du tampon AL.*
- Ajoutez 200µl d'éthanol 96-100% et vortexez ;
- Pipetez le mélange de l'étape 4 et déposez le dans une colonne préalablement placée sur un tube collecteur 2 ml (fourni dans le kit). Centrifugez à 13000 rpm pendant 1 min. jetez le tube collecteur ;
- Placer la colonne sur un nouveau tube collecteur 2 ml, ajoutez 500µl de tampon AW1, puis centrifugez à 13000 rpm pendant 1 min. Jetez le tube collecteur ;
- Placer la colonne sur un nouveau tube collecteur 2 ml, ajoutez 500µl de tampon AW2, puis centrifugez à 13000 rpm pendant 3 min pour sécher la membrane. Jetez le tube collecteur ;
- Placez la colonne sur un tube de 1.5 ml (non fourni dans le kit), ajoutez 50 à 200µl de tampon AE (ou de l'eau) directement sur la membrane. Incubez à température ambiante pendant 5 min, puis centrifugez à 13000 rpm pendant 1 min. Gardez le tube 1.5ml qui contient l'ADN ;  
*Chauffer le tampon AE ou l'eau à 70°C avant l'éluion permet d'augmenter le rendement d'extraction de 15 à 20%.*
- Répétez éventuellement l'étape 8 dans un nouveau tube de 1.5ml.
- Conserver l'ADN à -20°C

**Titre : IMPLICATION DU GENE *Cytochrome P-450c17a (CYP17a)* DANS LA PROGRESSION TUMORALE DES FIBROMES UTERINS CHEZ LES FEMMES SENEGALAISES**

Nom et Prénom de la candidate : Diallo Mariama

Président du jury : Professeur Pape Mbacké SEMBENE

Professeur titulaire FST/UCAD

Membres du jury : Docteur Daouda CISS

Docteur en Gynécologie Obstétrique HOGIP

Docteur Toffène DIOME

Maitre de conférences titulaire FST/UCAD

Docteur Bineta KENEME

Assistante FST/UCAD

Docteur Bakary NDIAYE

Assistant FST/UCAD

**Résumé :** Les fibromes utérins encore appelés léiomyomes, myomes utérins ou fibroléiomyomes sont des tumeurs utérines bénignes, encapsulées, constituées de fibres musculaires lisses de l'utérus et de tissu conjonctif, les plus répandues du tractus génital féminin. Ils touchent 20 à 25% des femmes en âge de procréer et sont 3 à 9 fois plus fréquents chez les femmes noires que chez les femmes blanches et près de 70% de celles de près de 50 ans. Les myomes utérins constituent un réel problème de santé publique. Le coût de leur prise en charge est cher et le seul traitement jugé efficace reste la chirurgie. La progression rapide des léiomyomes pendant les années de procréation et la régression après la ménopause indiquent que les œstrogènes jouent un rôle clé en tant que facteur de croissance pour ces tumeurs. Pour contribuer à la connaissance des facteurs étiologiques impliqués dans le processus tumoral des fibromes utérins, l'étude du gène *Cytochrome P-450c17a (CYP17a)*, impliqué dans l'hydroxylation de l'œstrogène a été effectuée. Notre population d'étude a été constituée de 57 patientes atteintes de fibromes utérins. Après PCR, séquençage des tissus (tissus tumoraux et sang périphérique), l'identification des mutations a été effectuée avec les logiciels Surveyor 5.0.1 et AlamutVisual 2.12. La pathogénicité des mutations a été évaluée avec les logiciels de prédictions Polyphen-2, Mutation Taster et SIFT. Après nettoyage, correction et alignement des séquences avec le logiciel BioEdit 7.0.8.0, la diversité génétique, la différenciation génétique ainsi que le polymorphisme du gène *cyp17a* et facteurs épidémiologique ont été déterminées avec les logiciels DNASP 5.10.01, MEGA 7.0.14, Arlequin 3.5.3.1 et le logiciel statistique RStudio 3.5.1. Nos résultats ont montré 84 mutations caractérisant un fort taux de polymorphisme des tissus tumoraux mais également une différence génétique entre tissus tumoraux et témoins. La mutation c.-34T>C qui se situe dans la région 5' promotrice à 34 pb en amont du site d'initiation de la traduction a été retrouvée chez les patientes atteintes de fibromes utérins. Aucune structuration génétique du gène *CYP17a* en fonction de ces paramètres clinico-pathologiques n'est observée. C'est dans ce sens qu'on pourrait en déduire que le gène *CYP17a* n'intervient pas dans la survenue des fibromes utérins mais plutôt dans la progression tumorale. En conclusion, Les enzymes du cytochrome P450 responsables des réactions hautement spécifiques dans la voie de biosynthèse des stéroïdes gagnent en intérêt comme cibles moléculaires, étant donné leur rôle clé dans la formation de diverses hormones stéroïdes endogènes très puissantes. En effet, les traitements actuels des tumeurs en particulier des fibromes sont principalement chirurgicaux et coûteux. Il est alors essentiel de développer et d'évaluer des alternatives aux procédures chirurgicales.

**Mots clés :** fibromes utérins, *Cytochrome P-450c17a (CYP17a)*

**Abstract:** Uterine fibroids, also known as leiomyomas, uterine myomas or fibroleiomyomas, are benign, encapsulated uterine tumors consisting of smooth muscle fibers of the uterus and connective tissue, the most common in the female genital tract. They affect 20 to 25% of women of childbearing age and are 3 to 9 times more common in black women than in white women, and nearly 70% of those close to 50 years of age. Uterine myomas are a real public health problem. The cost of treating them is expensive and the only treatment deemed effective is surgery. The rapid progression of leiomyomas during the childbearing years and regression after menopause indicate that estrogen plays a key role as a growth factor for these tumors. To contribute to the knowledge of the etiological factors involved in the tumor process of uterine fibroids, the study of the *Cytochrome P-450c17a* gene (*CYP17a*), involved in the hydroxylation of estrogen, has been carried out. Our study population consisted of 57 patients with uterine fibroids. After PCR, tissue sequencing (tumor tissue and peripheral blood), mutation identification was performed using Surveyor 5.0.1 and AlamutVisual 2.12 software. The pathogenicity of the mutations was evaluated with the prediction software Polyphen-2, Mutation Taster and SIFT. After cleaning, correction and alignment of sequences with BioEdit 7.0.8.0, genetic diversity, genetic differentiation and polymorphism of the gene *cyp17a* and epidemiological factors were determined with DNASP 5.10.01, MEGA 7.0.14, Arlequin 3.5.3.1 and the statistical software RStudio 3.5.1. Our results showed 84 mutations characterizing a high rate of tumor tissue polymorphism but also a genetic difference between tumor and control tissues. The mutation c.-34T>C which is located in the 5' promoter region at 34 bp upstream of the translation initiation site was found in patients with uterine fibroids. No genetic structuring of the *CYP17a* gene according to these clinico-pathological parameters was observed. It is in this sense that we could deduce that the *CYP17a* gene is not involved in the occurrence of uterine fibroids but rather in tumor progression. In conclusion, the cytochrome P450 enzymes responsible for highly specific reactions in the steroid biosynthesis pathway are gaining interest as molecular targets, given their role clé in the formation of various very potent endogenous steroid hormones. Indeed, current treatments for tumors, particularly fibroids, are mainly surgical and expensive. It is therefore essential to develop and evaluate alternatives to surgical procedures.

**Keys words:** leiomyoma uterine, *Cytochrome P-450c17a (CYP17a)*