

# Association de mutations de deux gènes chez des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne primaire

J. BOUILLY<sup>1,2</sup>, S. BARRAUD<sup>1,2</sup>, K. AZIBI<sup>3</sup>, C. BELDJORD<sup>3</sup>, C. DODE<sup>3</sup>, A.C. HECART<sup>4</sup>, B. DELEMER<sup>4</sup>, J. YOUNG<sup>1,5</sup> et N. BINART<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Inserm U693, Le Kremlin-Bicêtre, <sup>2</sup> Université Paris-Sud, Faculté de Médecine Paris-Sud, UMR-S693, Le Kremlin-Bicêtre, <sup>3</sup> Biologie Moléculaire et Génétique, Hôpital Cochin, AP-HP, Université Paris Descartes, Paris, <sup>4</sup> CHU de Reims, Hôpital Robert Debré, Service d'Endocrinologie-Diabète-Nutrition, Reims, <sup>5</sup> Assistance publique-hôpitaux de Paris (AP-HP), hôpital de Bicêtre, Service d'endocrinologie et des maladies de la reproduction, Le Kremlin-Bicêtre

## Abstract

L'insuffisance ovarienne primaire (IOP) est une maladie rare, définie par une aménorrhée de plus de 4 mois avant l'âge de 40 ans. Une origine génétique de cette maladie est parfois retrouvée avec des mutations des autosomes (*FSHR*, *NOBOX*...) et/ou du chromosome X, mais dans plus de 80% des cas l'IOP est idiopathique. De nouveaux gènes issus des études de modèles murins reproduisant la maladie représentent de bons candidats pour mieux comprendre cette pathologie. Les mutations de 19 nouveaux gènes ont été recherchées par puce PGM ION TORRENT au sein d'une cohorte de 95 femmes atteintes d'IOP sporadique primaire ou secondaire. Toutes les variations retrouvées ont été validées par la technique de Sanger. Nous confirmons la prévalence des mutations de *NOBOX* ou *ESR1*. De plus, nous mettons en évidence de nouvelles variations d'une kinase impliquée dans une des voies de signalisation essentielle à la croissance folliculaire. De façon intéressante, ces variations sont associées à des mutations perte de fonction de *BMP15* ou *GDF9*, deux acteurs essentiels au dialogue ovocyte-granulosa. Les analyses fonctionnelles de ces variants sont en cours d'analyse afin de confirmer leur participation à la genèse de la maladie. Cette étude contribue à une meilleure compréhension de l'origine génétique de l'IOP et met pour la première fois en évidence le phénomène d'oligogénicité chez des patientes en IOP.

## Insuffisance ovarienne primaire (IOP)

Maladie rare

- Aménorrhée de plus de 4 mois
- Taux de FSH > 30 UI/L
- Prévalence : - 1% femmes <40 ans  
- 0,1% femmes <30 ans  
- 0,01% femmes < 20 ans

● Hétérogénéité de l'IOP tient à la variété de ses causes :

- Auto-immunes
- Métaboliques
- Virales
- Chimio- et Radiothérapies

→ 2 tableaux cliniques d'IOP

**Aménorrhée Primaire**  
Forme la plus sévère présentant une absence de menstruation

**Aménorrhée Secondaire**  
Formes post-pubertaires se caractérisant par la disparition des cycles menstruels

→ Retrouvée sous 2 formes

Syndromiques

Syndrome de Turner  
Galactosémie  
BPES

Non Syndromiques

Mutation des gènes *FSHR*, *FIGLA*, *BMP15*...

Mais dans plus de > 80% des cas l'IOP reste idiopathique

## Cohorte IOP

CHU de Reims et CHU du Kremlin-Bicêtre  
Cohorte colligée par le Pr. B. DELEMER et le Pr. J. YOUNG

Critères de sélection : - ≤ 40 ans  
- FSH > 20 UI/L  
- Caryotype normal

95 patientes incluses

## 26 % des patientes présentent un défaut génétique

19 gènes candidats

10 gènes mutés

6 gènes connus responsables de l'IOP

4 nouveaux gènes candidat

Gènes	Prévalence
<i>NOBOX</i>	6%
<i>BMP15</i>	6%
<i>GDF9</i>	2,1%
<i>ESR1</i>	5,2%
<i>FOXL2</i>	1%
<i>GALT</i>	1%

- 2 gènes de méiose (Analyse en cours)
- 1 facteur de transcription (Analyse en cours)
- 1 kinase : *LATS1*  
Prévalence : 4,2%

## PGM™ Ion Torrent

En collaboration avec le service Biologie Moléculaire et Génétique (Hôpital Cochin)

Méthode de séquençage nouvelle génération

Permet la réalisation d'un séquençage multiplex :  
Dans notre étude 19 gènes sont étudiés chez 95 patientes



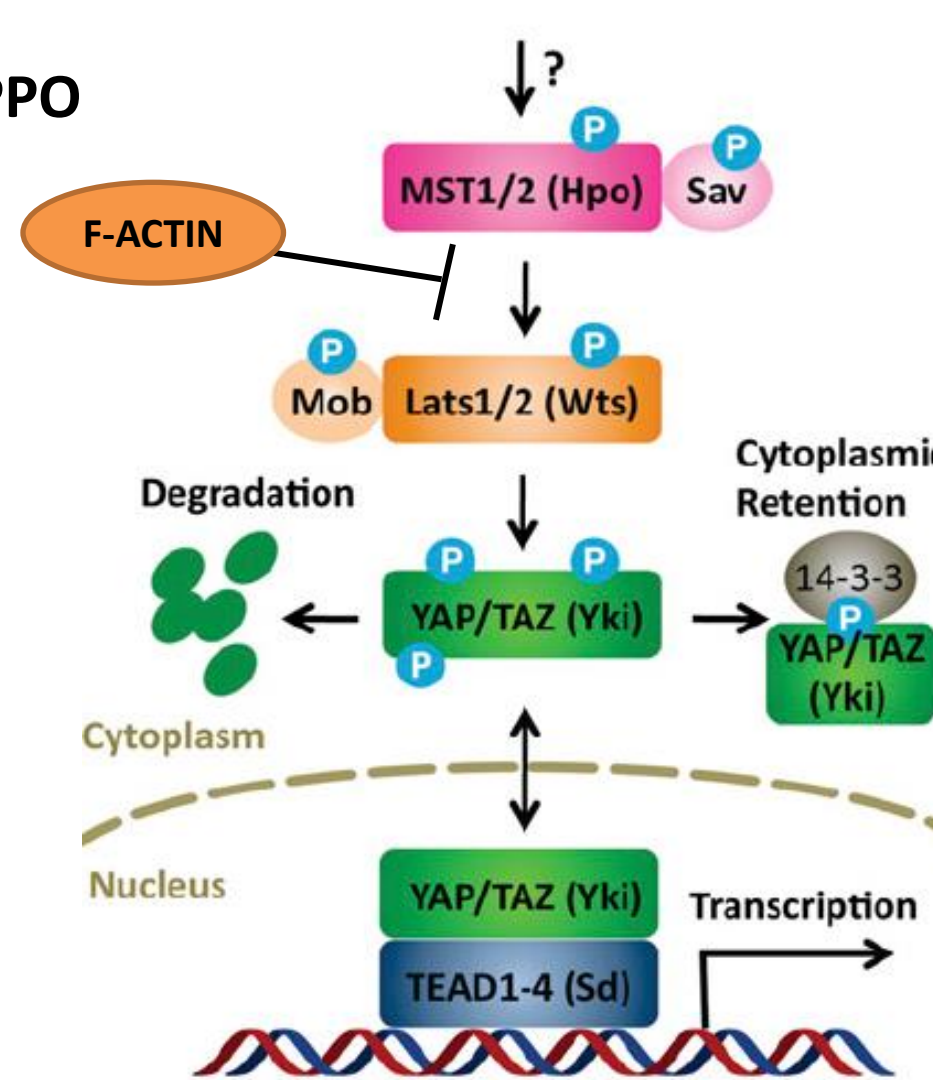
→ Validation des variations par la méthode de Sanger

## LATS1

- Sérine/thréonine kinase appartenant à la voie de signalisation HIPPO
- Implication dans la folliculogénèse :

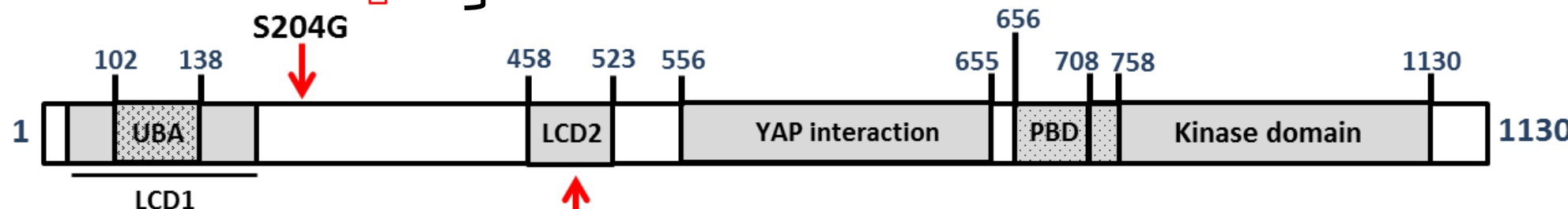
→ Fragmentation de l'ovaire induit la polymérisation de la F-actine inhibant la voie de signalisation HIPPO ce qui entraîne une activation folliculaire accélérée

→ Permet la phosphorylation de FOXL2 pour une meilleure régulation de ses cibles



### Mutations identifiées :

Prédite délétère



Prédite délétère

LCD : Lats Conserved Domain  
PDB : Protein Binding Domain  
UBA : Domaine ubiquitine

### Patientes :

Variation	Patient	aménorrhée	Age début des symptômes (années)	Puberté	FSH (UI/L)	LH (UI/L)	Oestradiol (pg/mL)	AMH (pmol/l)	Taille des ovaires
S204G	1	primaire	NR	S4P4	43	30	10	11	Diminuée
	2	secondaire	18	12	63	21	10	<1	Diminuée
	3	secondaire	27	14	112	51	6	<3	Diminuée
	4	secondaire	34	Normale	60	32	20	NR	Diminuée
K499E	5	primaire	NR	S3P5	47	28	24	3	Non détectable

NR: non renseigné

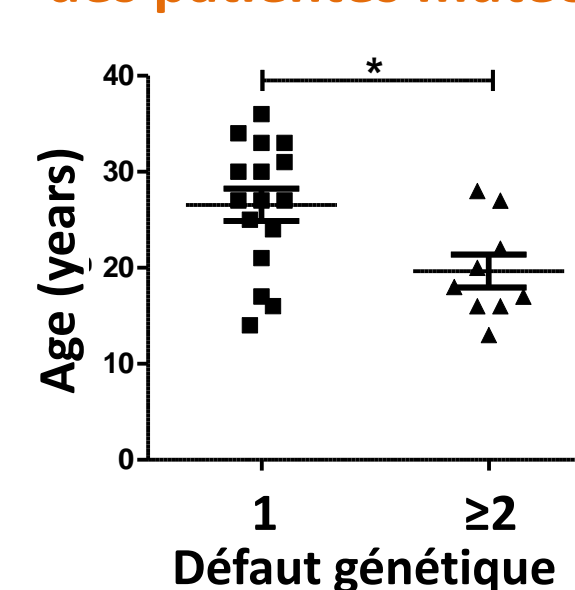
**LATS1 est un nouveau gène impliqué dans la genèse de l'IOP**

## Nouvelle architecture génétique de l'IOP

- Phénotypes, génotypes et valeurs hormonales des 25 patientes porteuses de mutations impliquées dans la pathogénèse de l'IOP

Aménorrhée	Patientes	Age au diagnostic	Puberté	Valeurs hormonales		Nombre de mutation	Gènes
				FSH	LH		
Primary	1	16	B1	73	17	1	NOBOX
	2	17	B1	72	25	1	Méiose
	3	13	B1	59	18	2	GDF9 + Méiose
	4	17	B2P2	40	16	2	GDF9 + Méiose
	5	14	B3P4	47	28	1	LATS1
	6	16	B4P4	43	29	2	LATS1 + BMP15
	7	ND	Normale	53	25	2	GALT + FOXL2
Secondary	8	18	Normal	63	21	2	LATS1 + BMP15
	9	20	Normal	71	28	2	NOBOX + BMP15
	10	21	Normal	53	60	1	NOBOX
	11	22	Normal	64	43	2	NOBOX + Méiose
	12	24	Normal	40	29	1	ESR1
	13	25	Normal	84	22	1	ESR1
	14	27	Normal	112	50	3	NOBOX + BMP15 + LATS1
	15	27	Normal	72	47	1	ESR1
	16	27	Normal	136	37	1	BMP15
	17	27	Normal	75	68	1	Facteur de transcription
	18	28	Normal	28	17	2	BMP15 + Méiose
	19	30	Normal	122	46	1	Méiose
	20	30	Normal	20	9	1	NOBOX
	21	31	Normal	110	66	1	Méiose
	22	33	Normal	111	54	1	Méiose
	23	33	Normal	39	14	1	ESR1
	24	34	Normal	47	28	1	LATS1
	25	36	Normal	150	69	1	Méiose

Age d'apparition des symptômes des patientes mutées



La sévérité du phénotype augmente avec le nombre de variations des gènes considérés mettant en évidence le phénomène d'oligogénicité chez les patientes en IOP