



Etude des gènes associés à l'IOP dans une cohorte de 125 femmes d'origine Tunisienne : *NOBOX* est le principal gène autosomique impliqué dans l'IOP familiales

Bouali Nouha¹, Francou Bruno^{2,3}, Bouligand Jérôme^{2,3}, Lakhal Besma¹, Malek Iness¹, Kammoun Molka¹, Warszawski Josiane⁴, Mougou Soumaya¹, Saad Ali¹, Guiochon-Mantel Anne^{2,3*}

1. Laboratory of Human Cytogenetics, Molecular Genetics and Reproductive Biology, Farhat Hached University Hospital, Street Ibn ELJAZZAR, 4000 Sousse, Tunisia
2. INSERM UMR_S1185, Univ Paris sud, Faculté de Médecine Paris Sud, 63 rue Gabriel Péri, F-94276 Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de Bicêtre, Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Le Kremlin Bicêtre, F-94275, France
4. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de Bicêtre, Service d'Epidémiologie, Univ Paris-Sud; INSERM U1018 eq 4, Le Kremlin – Bicêtre

INTRODUCTION :

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) (OMIM 311360) se définit par une déplétion prématurée de la fonction ovarienne survenant avant l'âge de 40 ans. Elle est caractérisée par l'apparition d'une aménorrhée primaire ou secondaire de plus de 4 mois avec des concentrations élevées de gonadotrophines (FSH supérieure à 20 mUI / ml) et un faible taux d'œstrogènes. C'est une pathologie relativement fréquente qui affecte environ 1% des femmes. Bien que plusieurs facteurs ont été impliqués dans l'étiologie de l'IOP, tels que : chromosomiques, géniques, toxiques, auto-immunes et infectieuses, l'IOP reste idiopathique dans plus de 80% des cas. Ces dernières années, plusieurs gènes ont été identifiés comme associés à l'IOP.

OBJECTIF :

L'objectif de cette étude est la réalisation d'un criblage qui nous permettra de sélectionner les patientes atteintes d'IOP d'origine non détectable par des moyens de diagnostic de routine afin de les inclure dans un protocole de recherche de mutation dans des gènes candidats impliqués dans l'IOP et d'établir la prévalence de leurs anomalies dans une nouvelle population.

Cette étude a été autorisée par le comité d'éthique de l'hôpital Farhat Hached et toutes les patientes ont donné leur consentement éclairé.

MATERIEL ET METHODES :

Patientes & Contrôles :

Patientes:

Cette étude porte sur 127 patientes d'origine tunisienne atteintes d'insuffisance ovarienne prématurée colligées dans le service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction de l'hôpital CHU Farhat Hached de Sousse, pour l'exploration d'une IOP.

Les patientes incluses dans cette étude sont celles qui présentent :

- une aménorrhée primaire ou secondaire d'au moins de quatre mois.
- un taux de FSH supérieur à 30 UI/L, vérifié à deux reprises.
- un âge inférieur à 40 ans.

Population Contrôle :

200 femmes d'origine tunisienne sans antécédents de troubles du cycle menstruel, ni d'avortement ou de malformations fœtales et sans antécédents familiaux d'IOP, sont prises comme témoins

Méthodes :

Une analyse chromosomique par l'établissement du caryotype a été réalisée. Lorsque la formule chromosomique s'avère normale, nous avons recherché une monosomie X en faible mosaïque par la technique de l'Hybridation in Situ Fluorescente (FISH) sur noyaux interphasiques. Deux sondes sont utilisées : une spécifique du centromère du chromosome X marqué par la FITC et la deuxième, utilisée comme contrôle de l'hybridation, est spécifique du centromère du chromosome 18 marqué par la Rhodamine. 500 noyaux sont analysés pour chaque patiente. La Prémutation du gène *FMR1* a été recherchée, par la technique de PCR CG Rich, chez les patientes dont l'analyse cytogénétique n'a pas permis la détection de remaniements chromosomiques. Chez les patientes ne présentant pas d'anomalie de l'X, nous avons réalisé le séquençage des exons codant les gènes *NOBOX*, *GDF9* et *BMP15* afin d'établir la prévalence de leurs anomalies dans notre population.

RESULTATS :

Nous avons effectué une analyse cytogénétique sur 127 patientes âgées entre 15 et 39 ans (âge moyen = 23.93 ± 5.2). 64 patientes avaient une aménorrhée primaire et 61 patientes avaient une aménorrhée secondaire.

Nous avons mis en évidence une anomalie structurale ou numérique de l'X chez 15 patientes (11,81%). L'analyse en FISH a retrouvé chez 12 patientes (10,71%), un niveau de mosaïcisme de l'X significativement supérieure à la limite physiologique établie chez les contrôles. Cinq patientes présentent une prémutation X fragile.

Nous avons retrouvé 3 mutations non sens de *NOBOX* (p.Arg117Trp; p.Gly91Trp et p.Pro619Leu) chez 8 patientes, ce qui représente une prévalence des mutations de *NOBOX* de 5,4% dans la population Tunisienne.

Ces mutations ne sont pas retrouvées dans la population contrôle.

Nous n'avons pas retrouvé de nouveaux variants de *BMP15* et de *GDF9*.

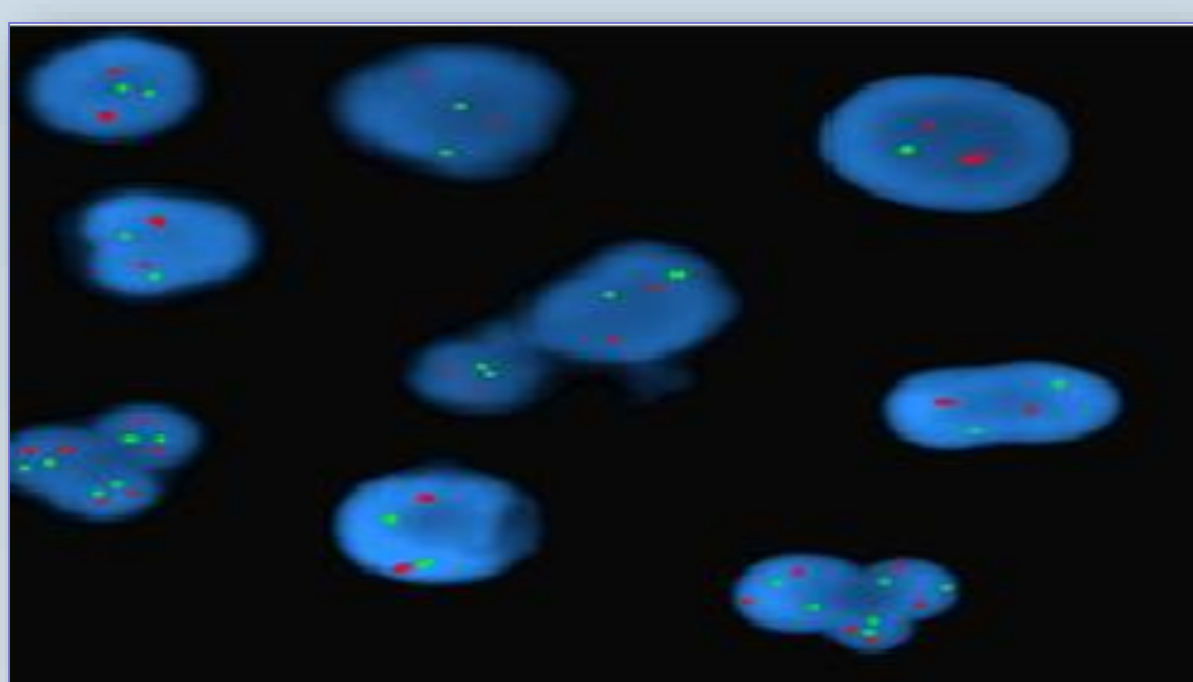


Figure 1 : FISH avec sonde centromérique du chromosome X marquée en fluorescence verte. La flèche montre une cellule présentant une monosomie pour le chromosome X.

Tableau 1: Les anomalies chromosomiques du chromosome X associées à l'IOP (à propos de 127 cas)

	Anomalies de l'X					Fréquences
	de nombre		de structure			
	47,XXX	45,X	iXq	Ring X	Xp délétion	
aménorrhée Primaire	1	8	2	0	0	11/127 (8.66%)
aménorrhée Secondaire	1	0	1	1	1	4/127 (3.14%)
Total	2	8	3	1	1	15/127 (11.81%)

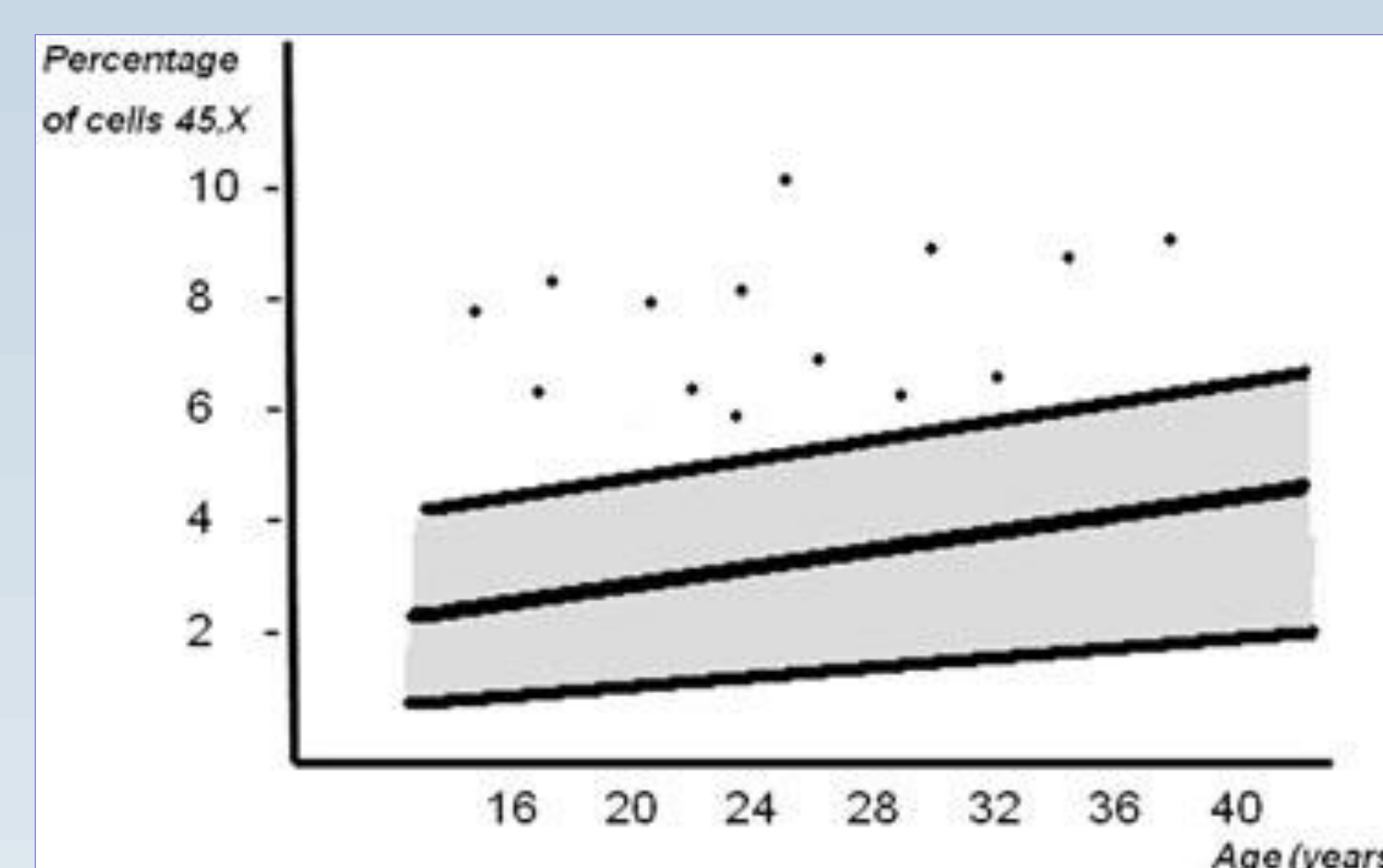


Figure 2: Pourcentage de cellules présentant la monosomie X en fonction de l'âge. La zone grise correspond à une mosaïque dans la limite physiologique, les points situés au dessus représentent le pourcentage de mosaïcisme supérieur à la normale.

CONCLUSION :

Cette étude est la première étude des gènes associés à l'IOP dans la population Tunisienne. Nous rapportons une prévalence des anomalies de l'X de 26%. La fréquence des mutations de *NOBOX* est de 5,4%. Notre étude confirme dans une nouvelle population l'implication du gène *NOBOX* comme le premier gène autosomique candidat impliqué dans l'IOP.