

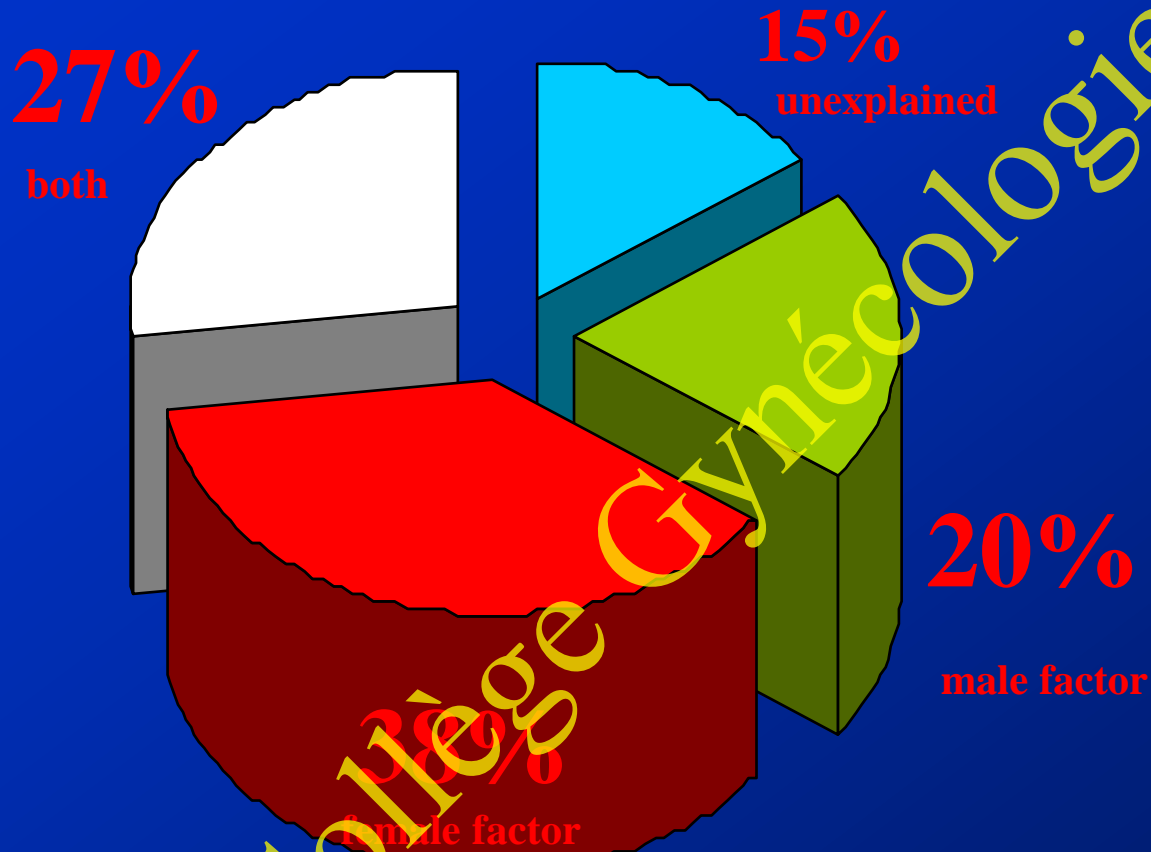
# Le bilan génétique chez les couples infertiles

Pr Sophie Christin-Maitre  
Endocrinologie de la Reproduction  
Hôpital Saint-Antoine, Paris



# Infertilité

WHO 1987

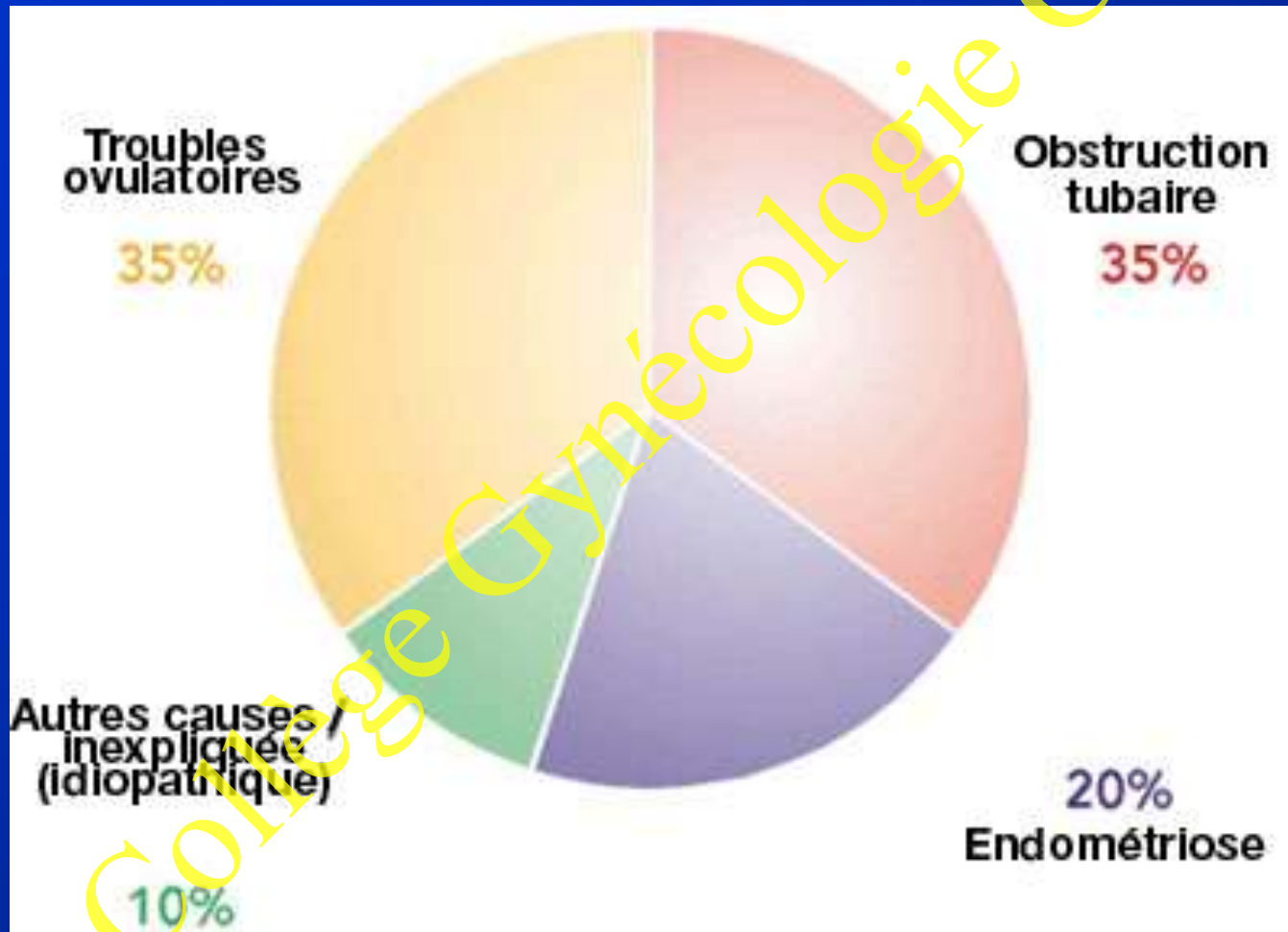


College Gynécologie CVL

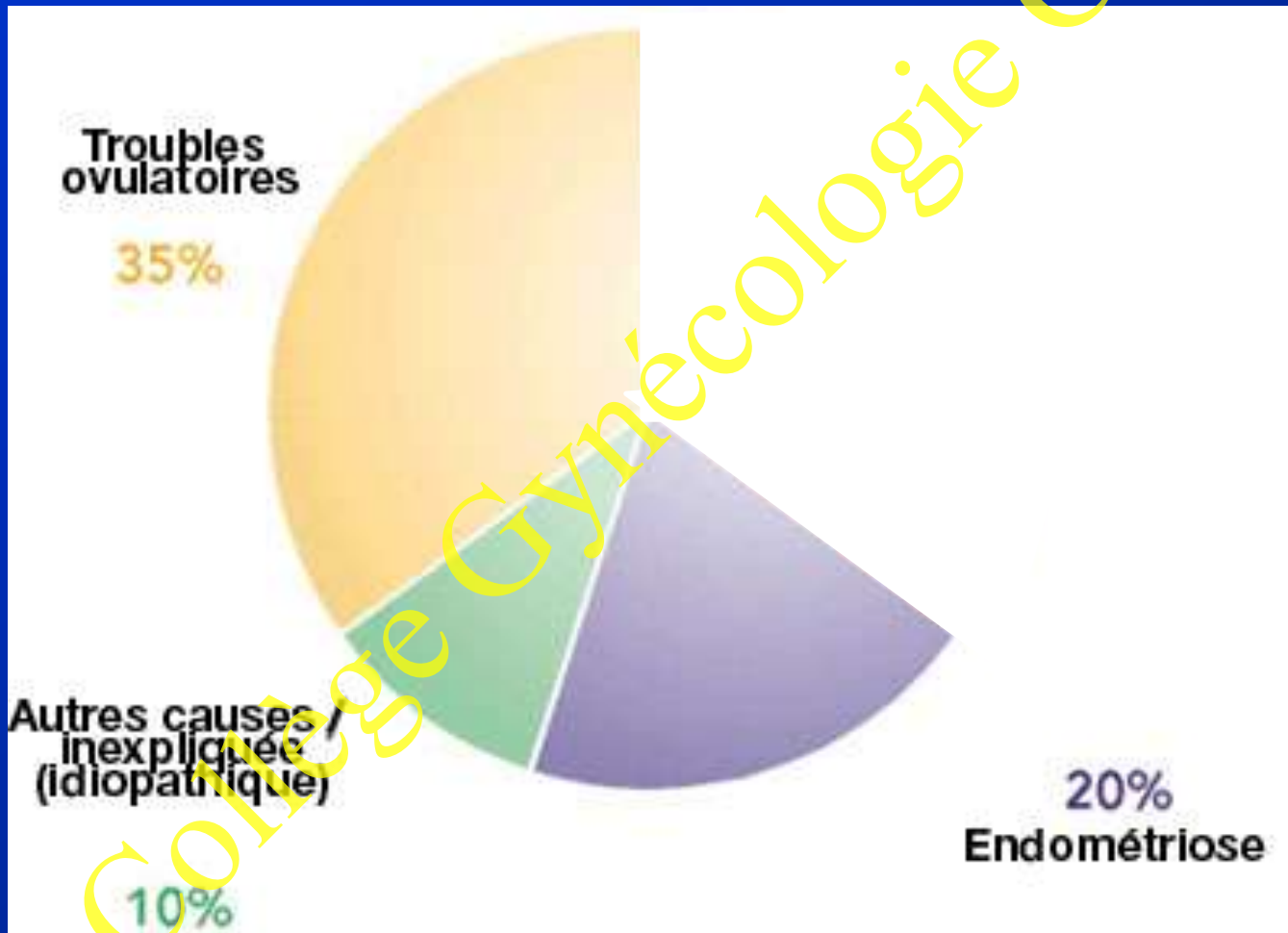


Collège Gynécologie CVL

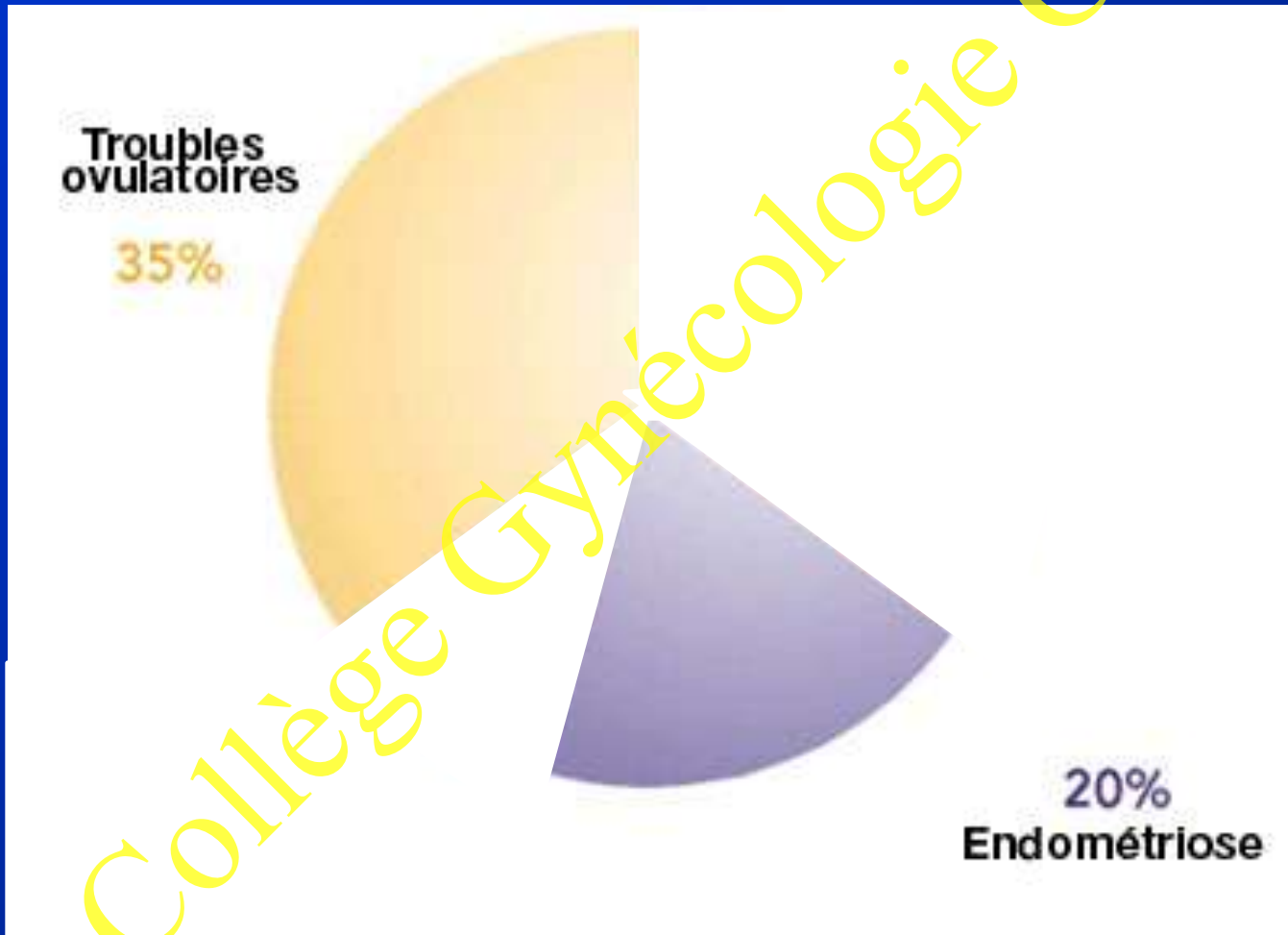
# L'infertilité féminine



# Etiologies de l'infertilité féminine



# Etiologies de l'infertilité féminine



Origine génétique  
de l'endométriose ?

Collège Gynécologie CVL

# Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: -endometriosis

---

C.B. Tempfer<sup>1,5</sup>, M. Simoni<sup>2</sup>, B. Destenaves<sup>3</sup> and B.C.J.M. Fauser<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University, 1090 Vienna, Austria; <sup>2</sup>Department of Medicine, Endocrinology and Metabolism, University of Modena and Reggio Emilia, I-41100 Modena, Italy; <sup>3</sup>Stratified Medicine Group, Merck Serono International S.A, 1202 Geneva, Switzerland; <sup>4</sup>Department of Reproductive Medicine and Gynecology, University Medical Center, 3508 GA Utrecht, The Netherlands

<sup>5</sup>Correspondence address. E-mail: clemens.tempfer@meduniwien.ac.at

Collège  
Gynécologie  
C.V.M.

114 études



# Endométriose

- Etude de gènes impliqués

dans l'inflammation (cytokines, molécules d'adhésion..)

dans la vascularisation (VEGF, EGFR, endostatine..)

dans le remodelage tissulaire (métalloprotéinases..)

dans le métabolisme des stéroïdes ( $17\beta$  HSD, CYP17, CYP19)

dans l'action des stéroïdes (ER, PR, AR..)

# Endométriose

⇒ Glutathione S transférase?

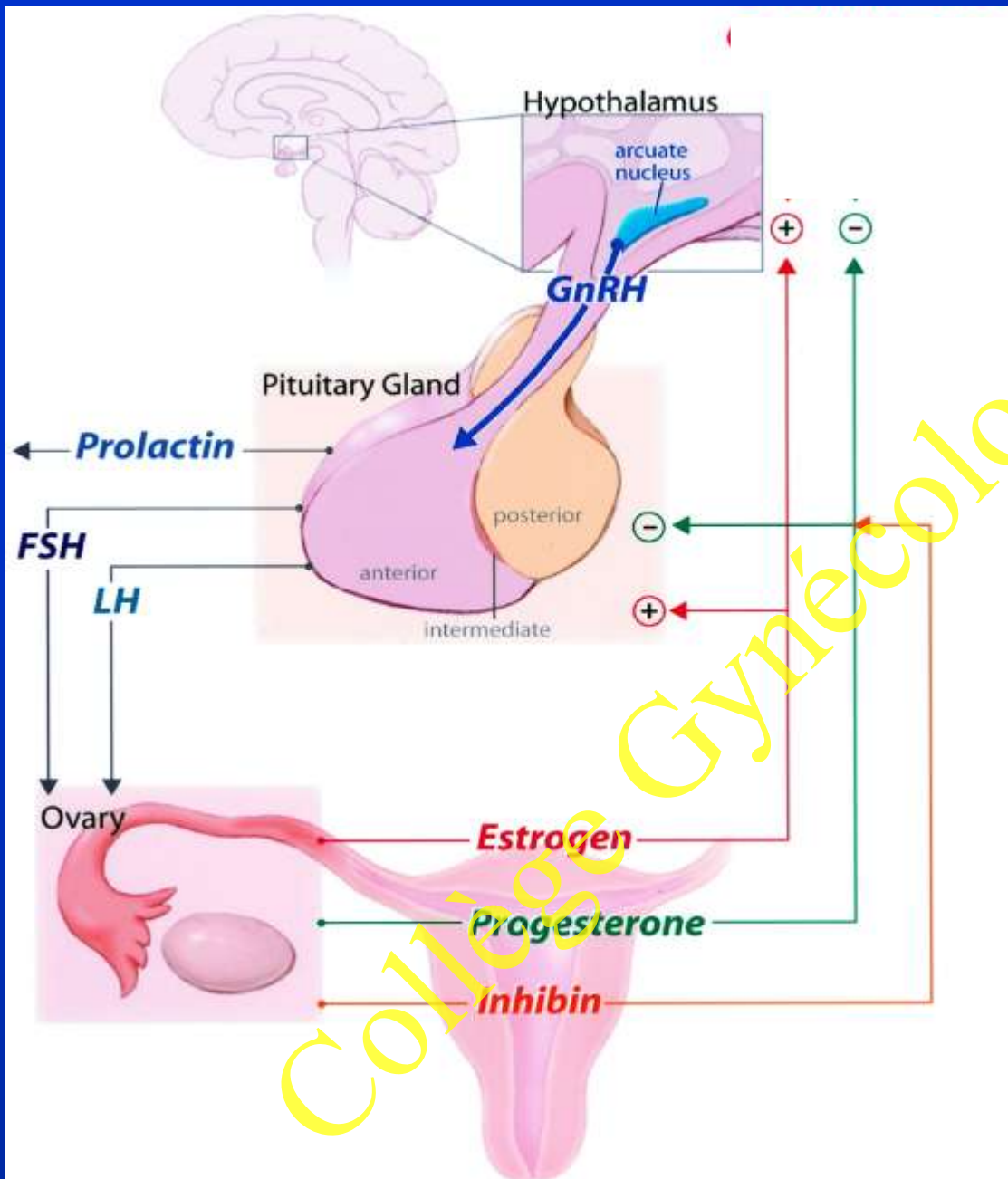
Enzyme de détoxification

Variant de *GSTT1*

=> Pas de polymorphisme spécifique lié à l'endométriose dans plusieurs populations

# Etiologies de l'infertilité féminine



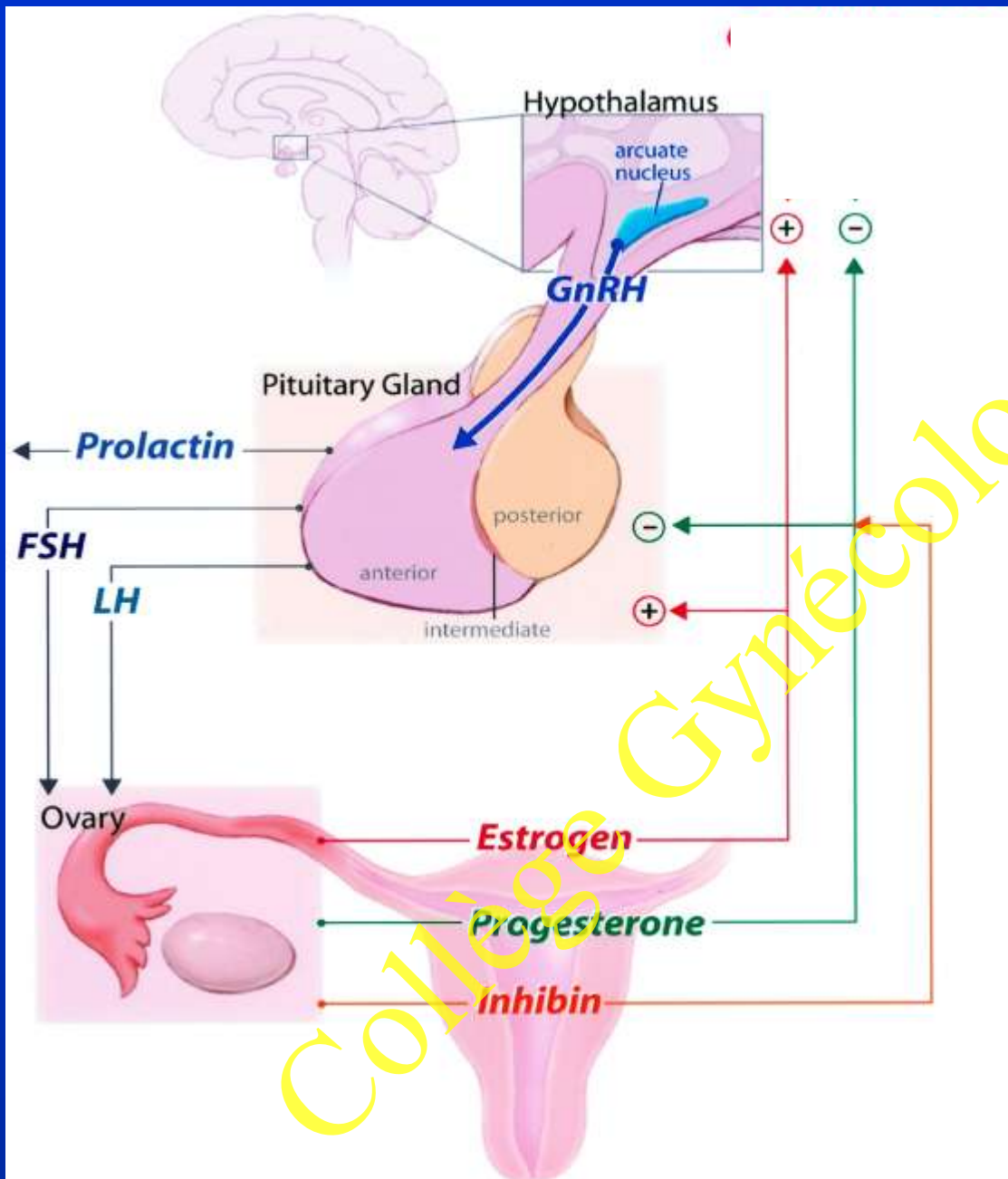


Hypothalamique

Hypophysaire

Surrénalienne

Ovariennne



Hypothalamique

Hypophysaire

Surrénalienne

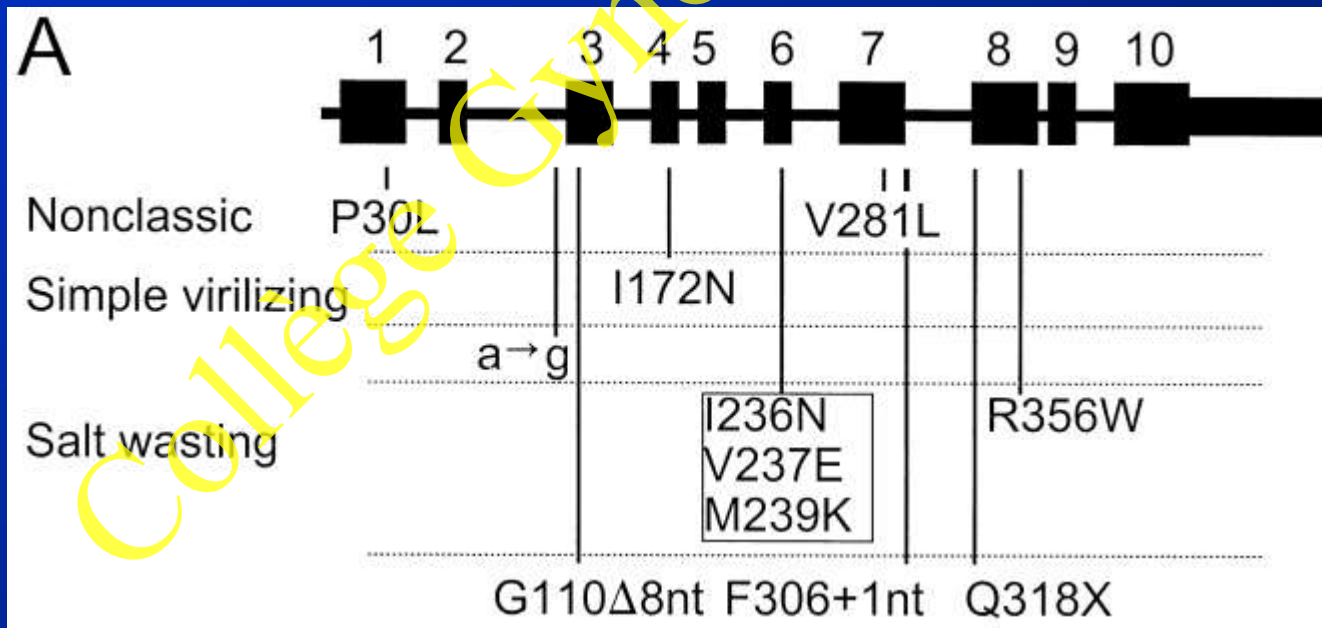
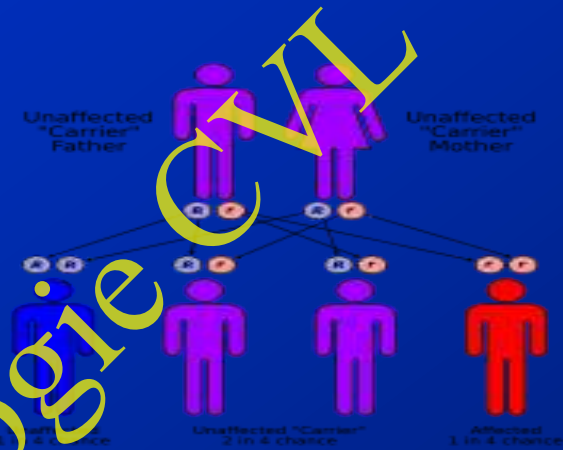
**Bloc en 21 OH**

Ovariennne

# Le bloc en 21 hydroxylase

- Y penser devant :
  - Une hyperandrogénie
  - Des cycles longs et ou irréguliers
  - 17 OH progesterone > 2 ng/ml de base,  
17OH progesterone > 10 ng/ml lors du  
test au synacthène

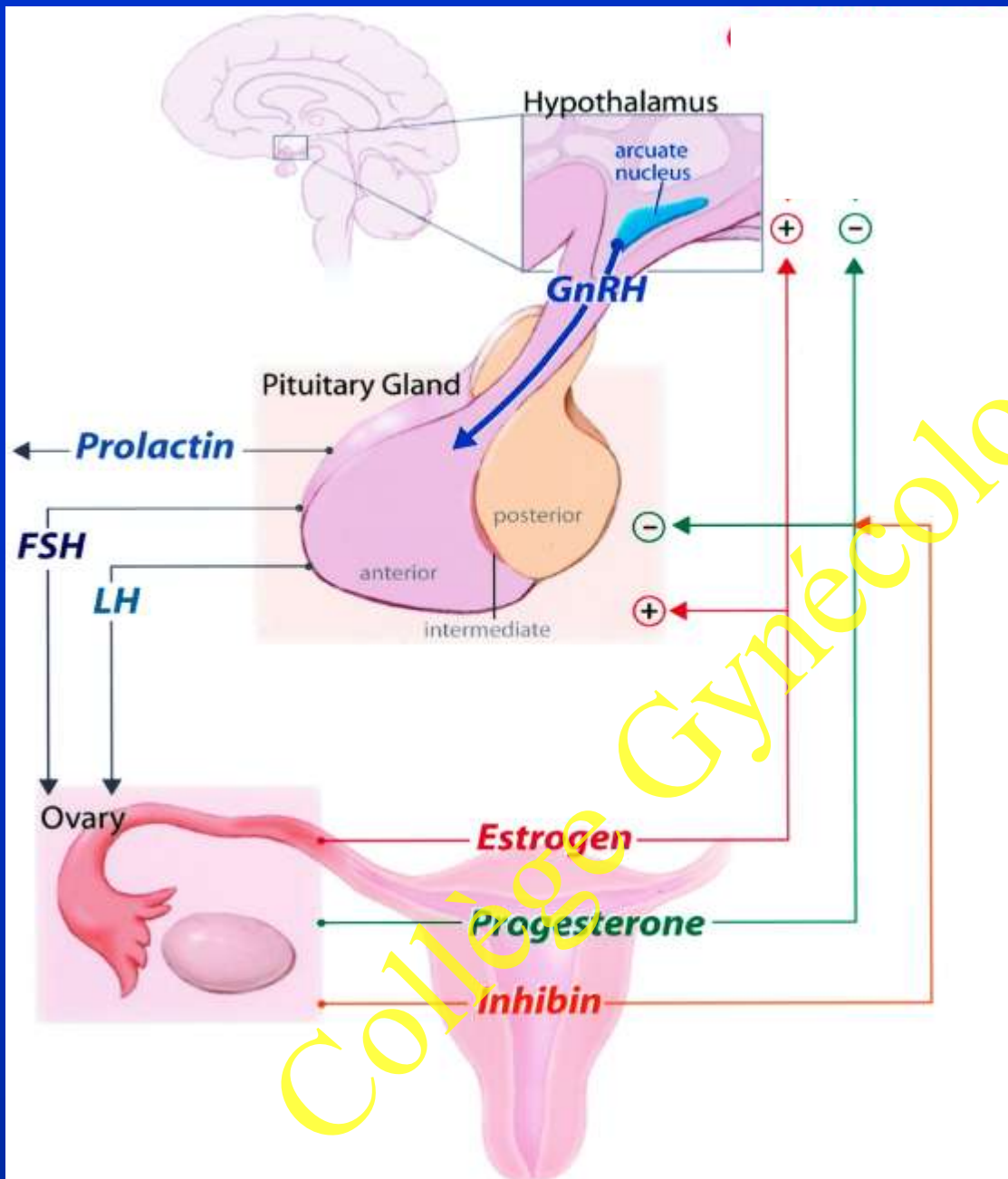
# Pathologie autosomique récessive



# Le bloc en 21 hydroxylase

- Pourquoi y penser ?
  - Nécessité de dépistage du conjoint car risque de transmission d'une forme sévère ++
  - Traitement d'induction de l'ovulation : hydrocortisone en 1<sup>ère</sup> intention
  - Enquête familiale et dépistage ++





Hypothalamique

Hypophysaire

Surrénalienne

Ovariennne

**SOPK**

Human Reproduction Update, Vol.14, No.5 pp. 459–484, 2008  
Advance Access publication July 4, 2008

doi:10.1093/humupd/dmn024

# Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: polycystic ovary syndrome and ovarian response

---

M. Simoni<sup>1,5</sup>, C.B. Tempfer<sup>2</sup>, B. Destenaves<sup>3</sup> and B.C.J.M. Fauser<sup>4</sup>

Collège Gynécologie CVL  
139 études

# SOPK

- Etude de gènes impliqués

dans action hormonale

(AR, FSHR, LH, LHR, SHBG, follistatine...)

dans le métabolisme hormonal (CYP11A, CYP17, CYP21)

dans l'homéostasie énergétique (récepteurs adrénergiques, leptine, récepteur de la leptine...)

dans le diabète et le risque cardiovasculaire

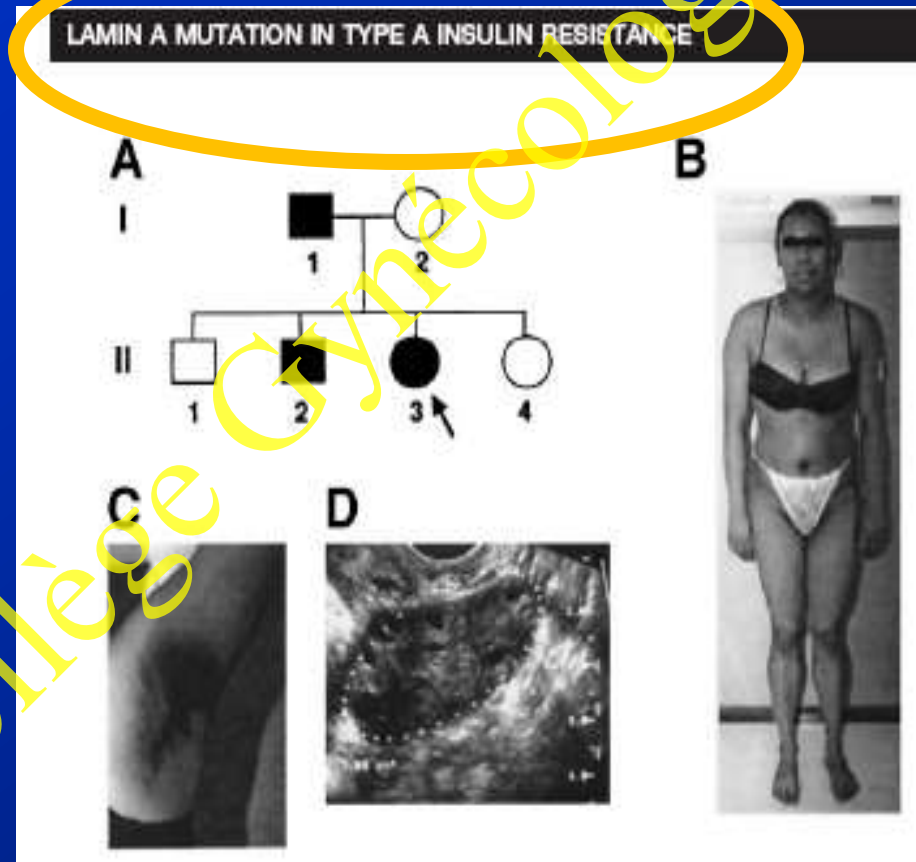
( calpaïne, insuline, récepteur de l'insuline, IGF, IGFR, IRS, PPAR $\gamma$ ...)

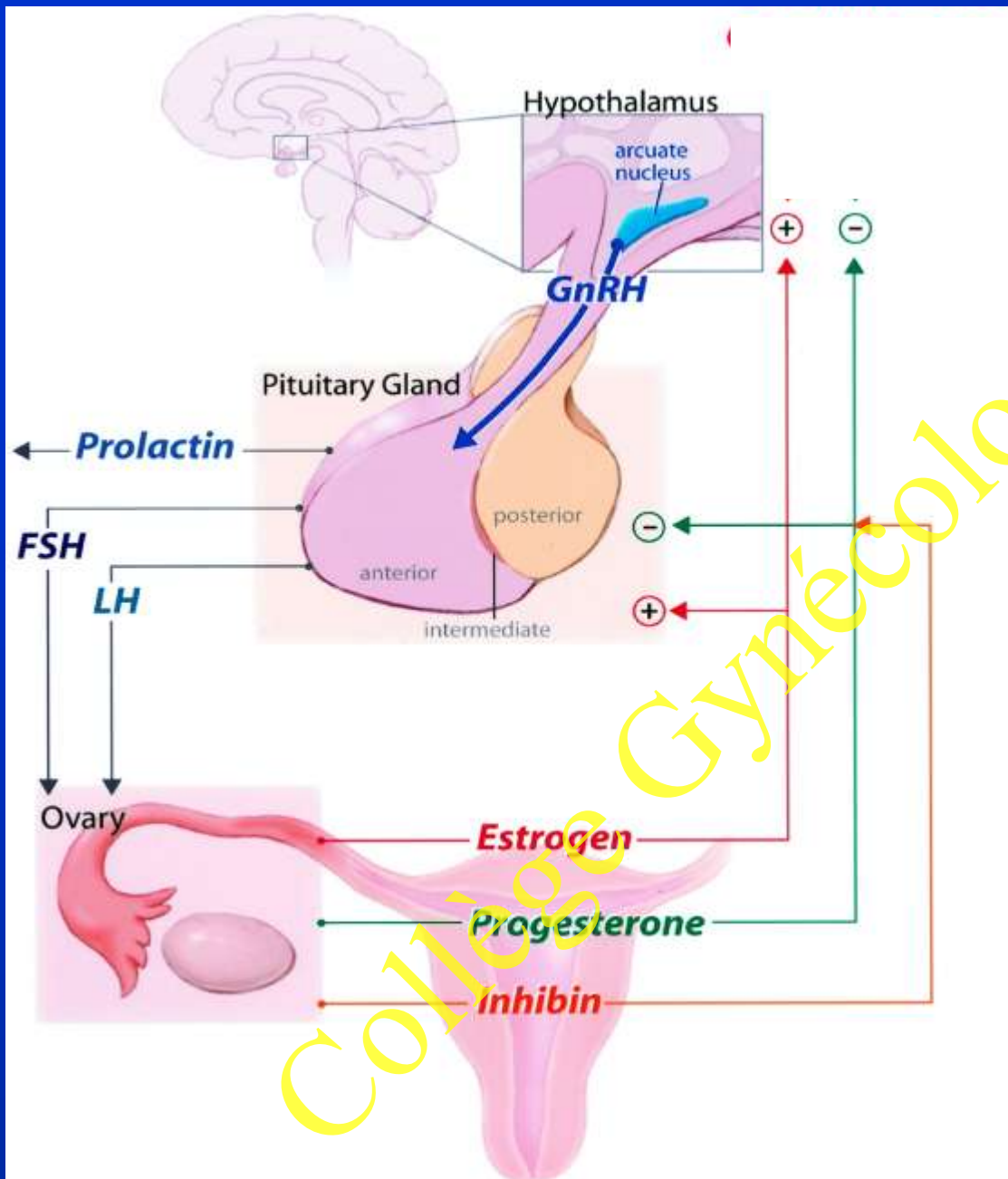
# SOPK

⇒ Pas de polymorphisme spécifique lié au SOPK

Collège Gynécologie CVL

# SOPK : cas particulier en cas d'insulinorésistance majeure





Hypothalamique

Hypophysaire

Surrénalienne

Ovariennne

**IOP**

# Bilan génétique en cas d'IOP

- Caryotype
- Recherche de prémutation du gène *FMR1*

Collège Gynécologie CNR

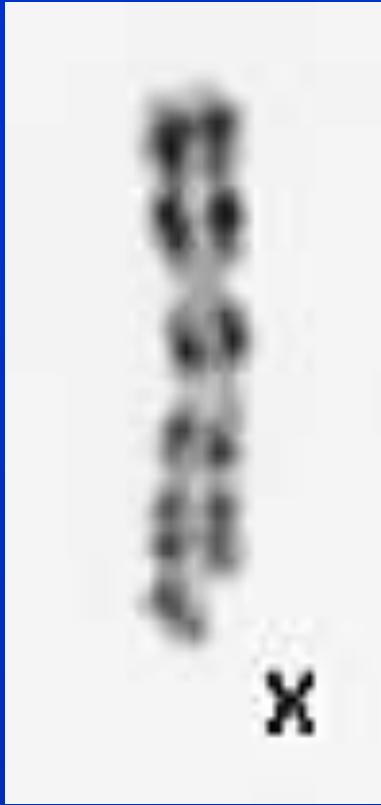
# Le Caryotype sert à identifier les étiologies des IOP

- liées à l'X
  - Monosomie X
  - Mosaïcisme X,XX
  - X en anneau
  - Triple X
  - Délétions de l'X
  - Translocation X,autosome

Collège Gynécologie



# La recherche de prémutation de FMR1



FMR1 inactivated gene

CGG triplets

FMR1 gene

Normal <40  
Intermediate-  
41-59 triplets

Pre-mutation:  
60-200 triplets

Mutation (>200)

Méthylation anormale du gène FMR1

Collège Gynécologie CML

20% des femmes avec une prémutation ont une IOP

*Sherman Am J Med Genet 2000; 97: 189*

Une prémutation est présente chez 3% des IOPs sporadiques

Une prémutation est présente chez 13% des IOPs familiales

*Conway G Hum Reprod 1998; 13: 1184*

*Sullivan AK Hum Reprod 2005; 20: 402*

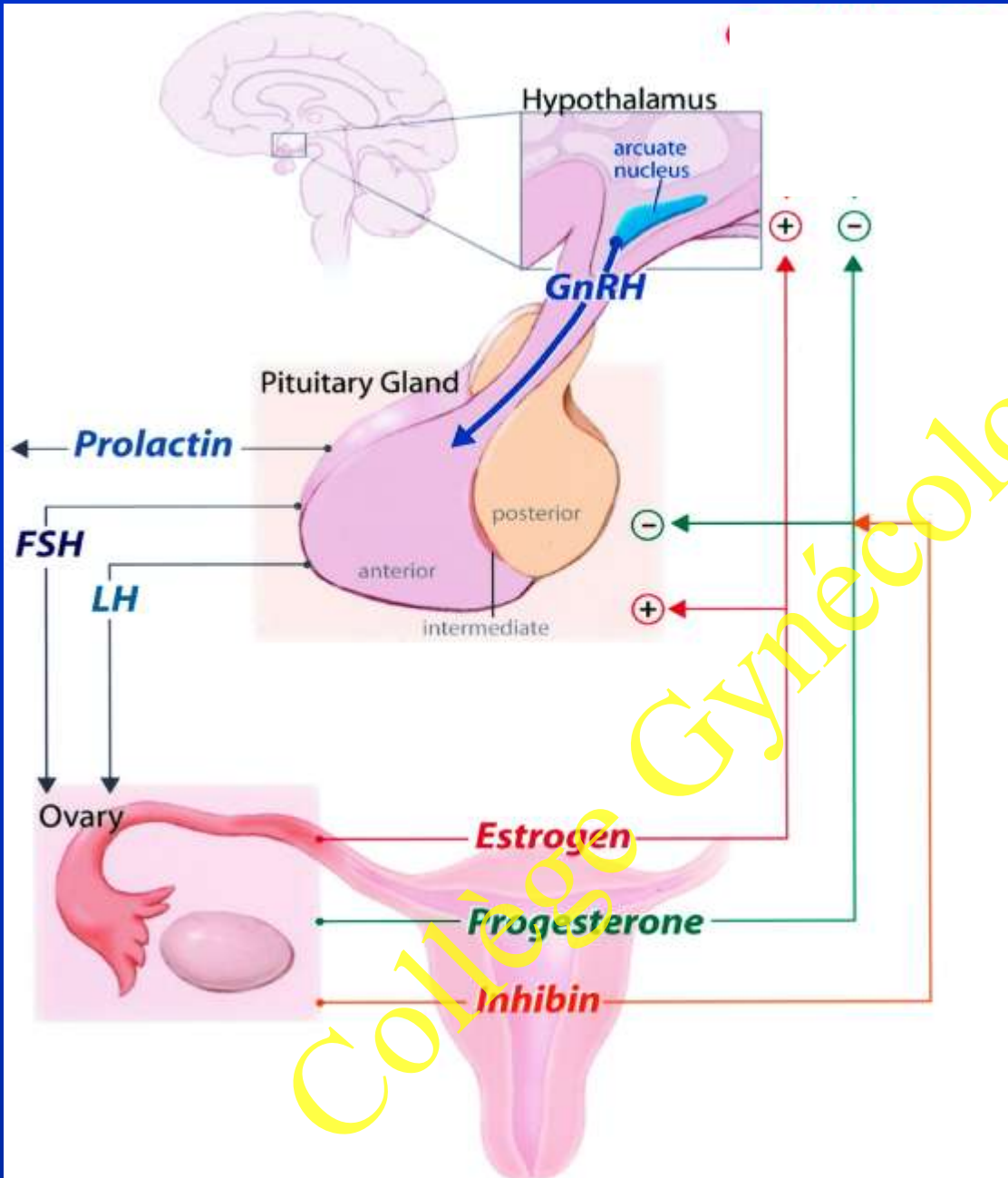
Colège Gynécologue CVL

# Etiologies des IOP

- Gènes localisés sur des Autosomes

- *FSHR*
- *LHR*
- *FOXL2*
- *GDF9*
- *ATM*
- *AIRE*
- *NOBOX*
- *GALT*
- *EIF2B*
- *NSB1*
- *DMC1*
- Parathyroid responsive B1 gene
- *FIGLA*
- Progesterone receptor membrane component-1 (*PGRMC1*)
- *SF1*.....

**MUTATIONS OU POLYMORPHISMES??**



# Hypogonadisme congénital

Surrénalienne

Ovariennne

# L'hypogonadisme congénital

- Y penser devant :

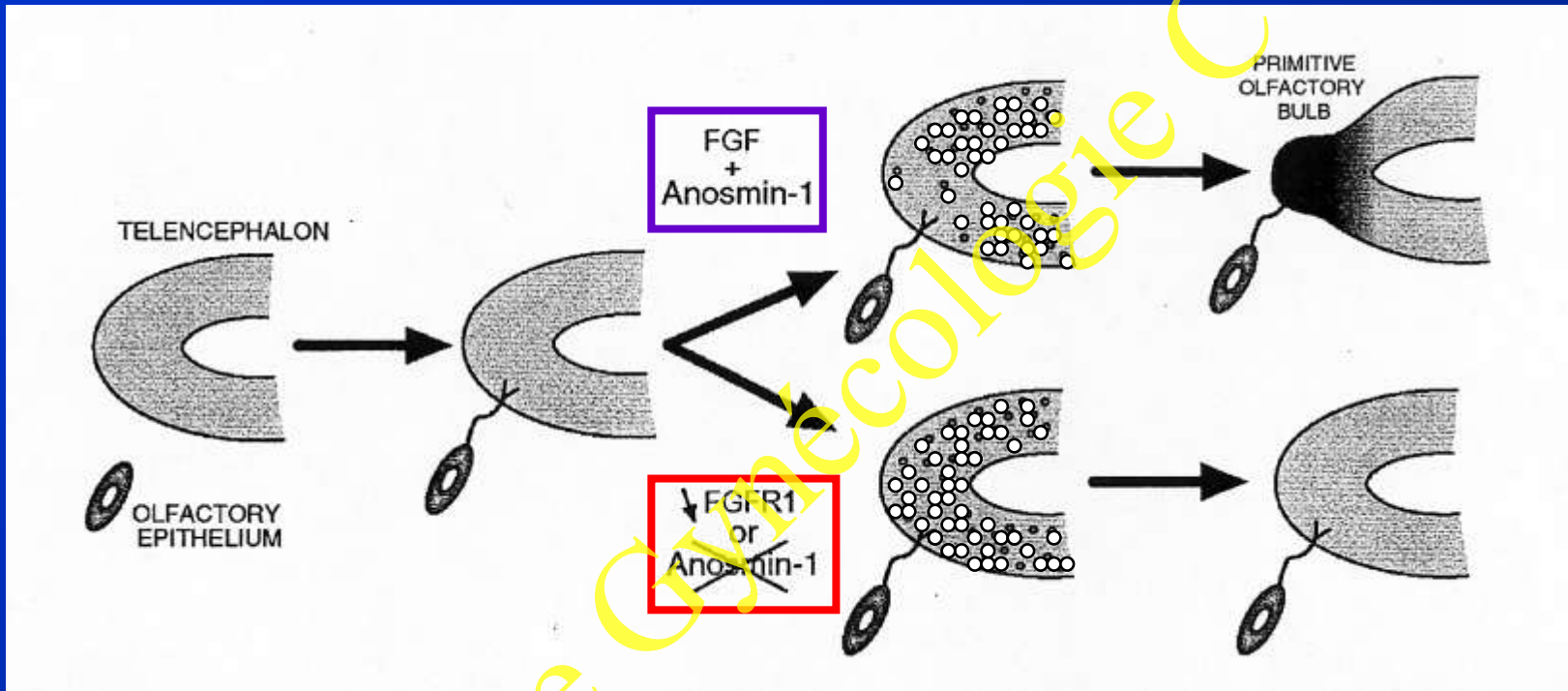
- Cas familiaux de retard pubertaire
- Absence de développement mammaire
- Aménorrhée primaire ou primo-secondaire

Avec FSH, LH, estradiol bas et  
IRM hypophysaire normale

# Hypogonadisme congénital

- Avec une anosmie : syndrome de Kallmann de Morsier
  - [KAL1 : anosmine (forme liée à l'X)]
  - KAL2 : récepteur du FGF de type 1 = FGFR1  
(forme autosomique dominant)

# Rôle de la signalisation FGF dans la morphogenèse du bulbe olfactif



*© Dodé Nat Genet 2003; 33: 463*

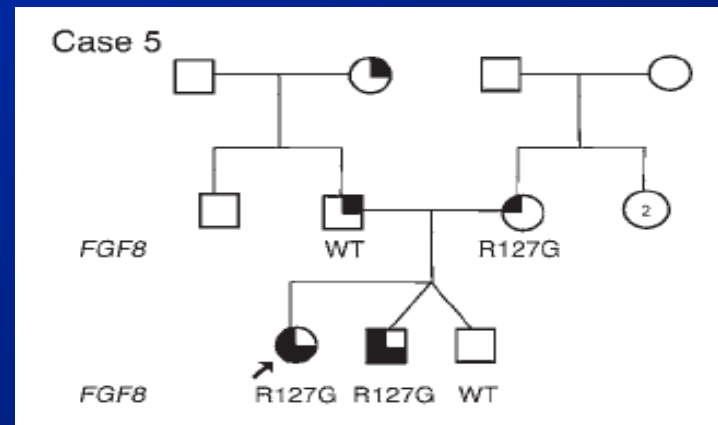
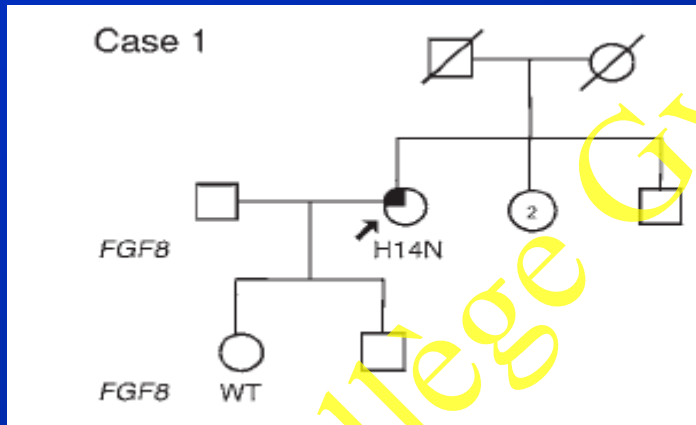
# Hypogonadisme congénital

- Avec une anosmie : syndrome de Kallmann de Morsier
  - KAL1
  - KAL2 : récepteur du FGF de type 1 = FGFR1
  - KAL3 et KAL4 : récepteur de la prokinéticine et la prokinéticine
  - FGF8



# Decreased FGF8 signaling causes deficiency of gonadotropin-releasing hormone in humans and mice

John Falardeau,<sup>1</sup> Wilson C.J. Chung,<sup>2</sup> Andrew Beenken,<sup>3</sup> Taneli Paivio,<sup>1</sup> Lacey Plummer,<sup>1</sup> Yisrael Sidis,<sup>1</sup> Elka E. Jacobson-Dickman,<sup>1</sup> Anna V. Eliseenkova,<sup>3</sup> Jinghong Ma,<sup>3</sup> Andrew Dwyer,<sup>1</sup> Richard Quinton,<sup>4,5</sup> Sandra Na,<sup>1</sup> Janet E. Hall,<sup>1</sup> Celine Huot,<sup>6</sup> Natalie Alois,<sup>6</sup> Simon H.S. Pearce,<sup>4</sup> Lindsay W. Cole,<sup>1</sup> Virginia Hughes,<sup>1</sup> Moosa Mohammadi,<sup>3</sup> Pei Tsai,<sup>2</sup> and Nelly Pitteloud<sup>1</sup>



Legend for clinical features:

- IHH (hatched square)
- Anosmia (square with top-left corner shaded)
- cleft palate (square with top-right corner shaded)
- Delayed puberty (square with bottom-left corner shaded)
- Kallmann syndrome (square with bottom-right corner shaded)

# Hypogonadisme congénital

- Avec une anosmie : syndrome de Kallmann de Morsier
  - KAL1
  - KAL2 : récepteur du FGF de type 1 = FGFR1
  - KAL3 et KAL4 : récepteur de la prokinéticine et la prokinéticine
  - FGF8
  - CHD7
  - TAC3 et récepteur de TAC3

## Mutations in *CHD7*, Encoding a Chromatin-Remodeling Protein, Cause Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism and Kallmann Syndrome

Hyung-Goo Kim,<sup>1,13</sup> Ingo Kurth,<sup>2</sup> Fei Lan,<sup>3,14</sup> Irene Melicani,<sup>4,15</sup> Wolfgang Wenzel,<sup>5</sup> Soo Hyun Eom,<sup>6</sup> Gil Bu Kang,<sup>6</sup> Georg Rosenberger,<sup>2</sup> Mustafa Tekin,<sup>7</sup> Metin Ozata,<sup>8</sup> David P. Bick,<sup>9</sup> Richard J. Sherins,<sup>10</sup> Steven L. Walker,<sup>11,12</sup> Yang Shi,<sup>3</sup> James F. Gusella,<sup>1</sup> and Lawrence C. Layman<sup>11,12,\*</sup>

The American Journal of Human Genetics 83, 511–519, October 10, 2008 511

Syndrom de CHARGE : autosomique dominant  
retard staturoponderal, colobome, atrésie des choanes,  
Anomalies cardiaques, anomalies auditives

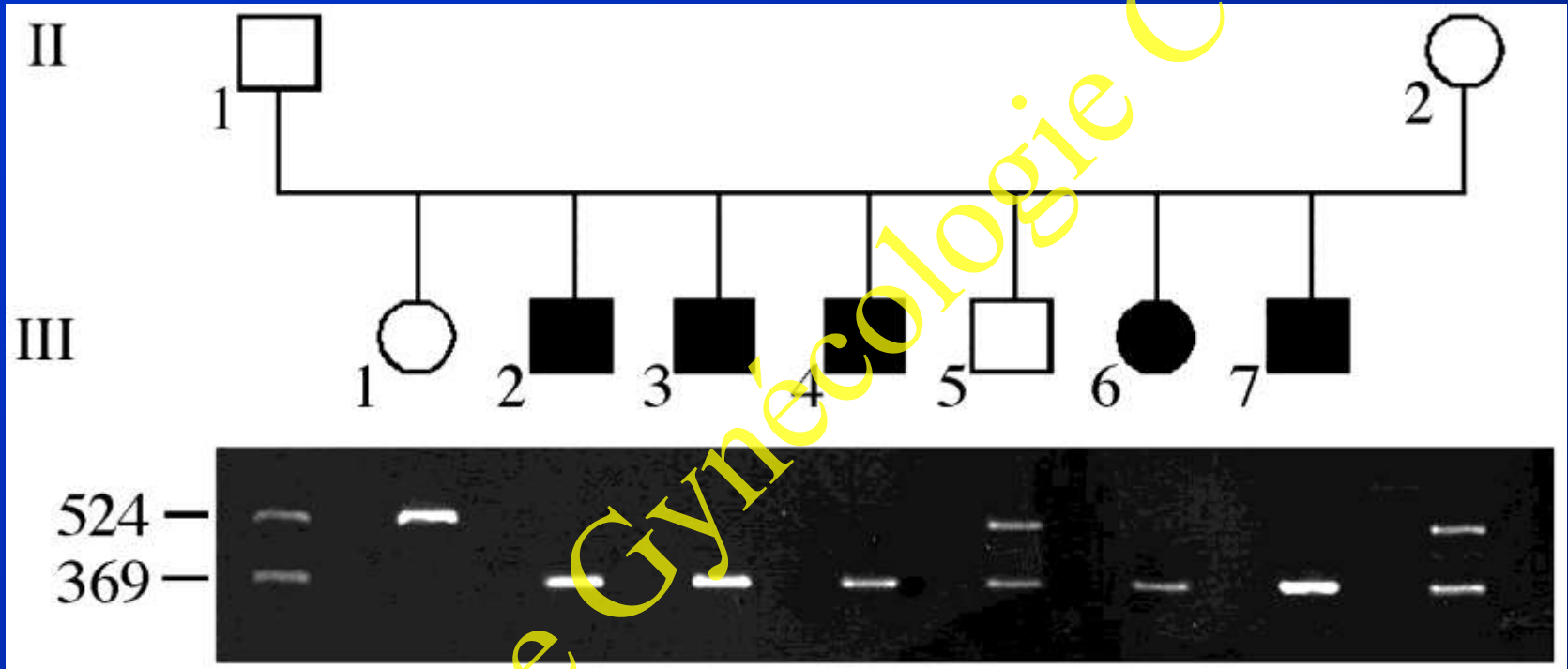
# Hypogonadisme congénital

- Avec une anosmie : syndrome de Kallmann de Morsier
  - KAL1
  - KAL2 : récepteur du FGF de type 1 = FGFR1
  - KAL3 et KAL4 : récepteur de la prokinéticine et la prokinéticine
  - FGF8
  - CHD7
  - TAC3 et récepteur de TAC3
- Sans anosmie
  - Récepteur de la GnRH

# Hypogonadisme congénital

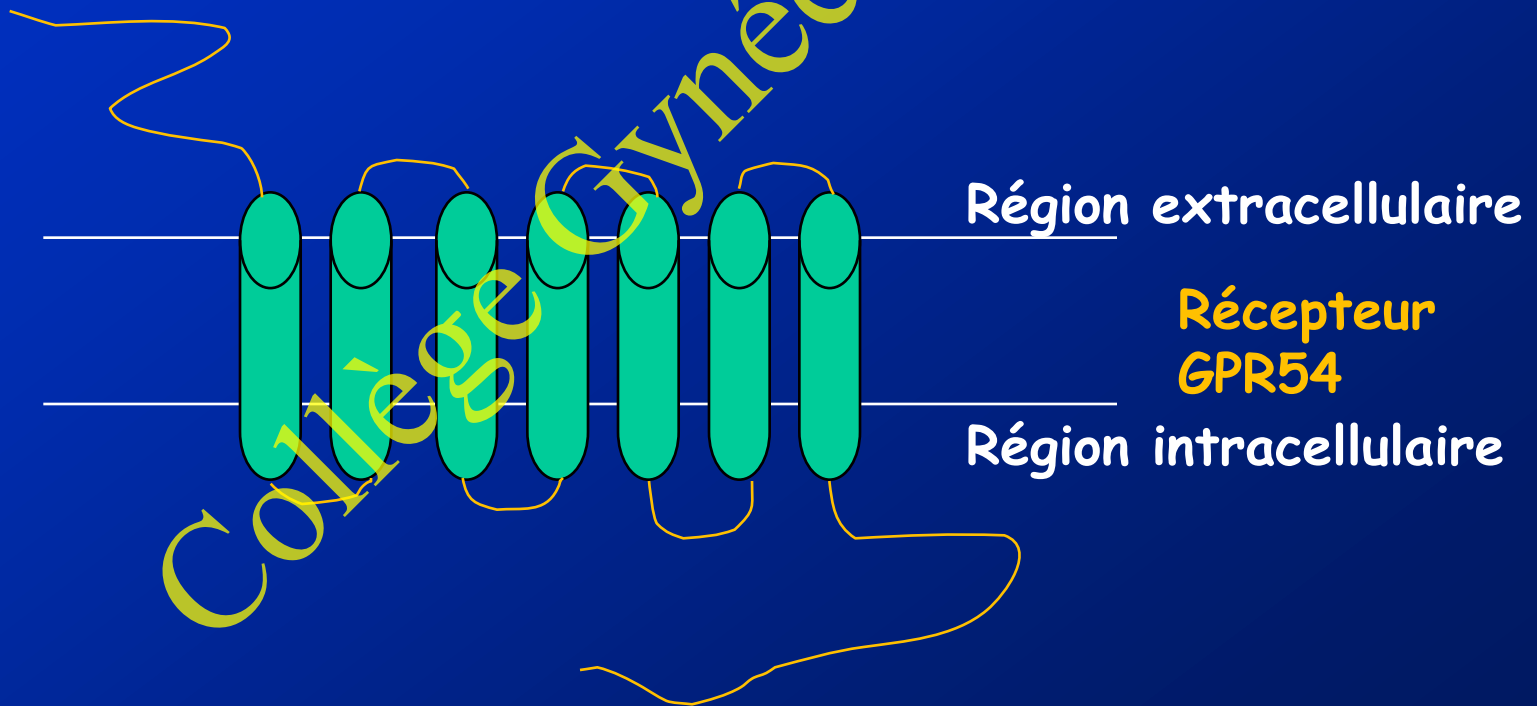
- Avec une anosmie : syndrome de Kallmann de Morsier
  - KAL1
  - KAL2 : récepteur du FGF de type 1 = FGFR1
  - KAL3 et KAL4 : récepteur de la prokinéticine et la prokinéticine
    - FGF8
    - CHD7
  - TAC3 et récepteur de TAC3
- Sans anosmie
  - Récepteur de la GnRH
  - GPR54 et Kiss

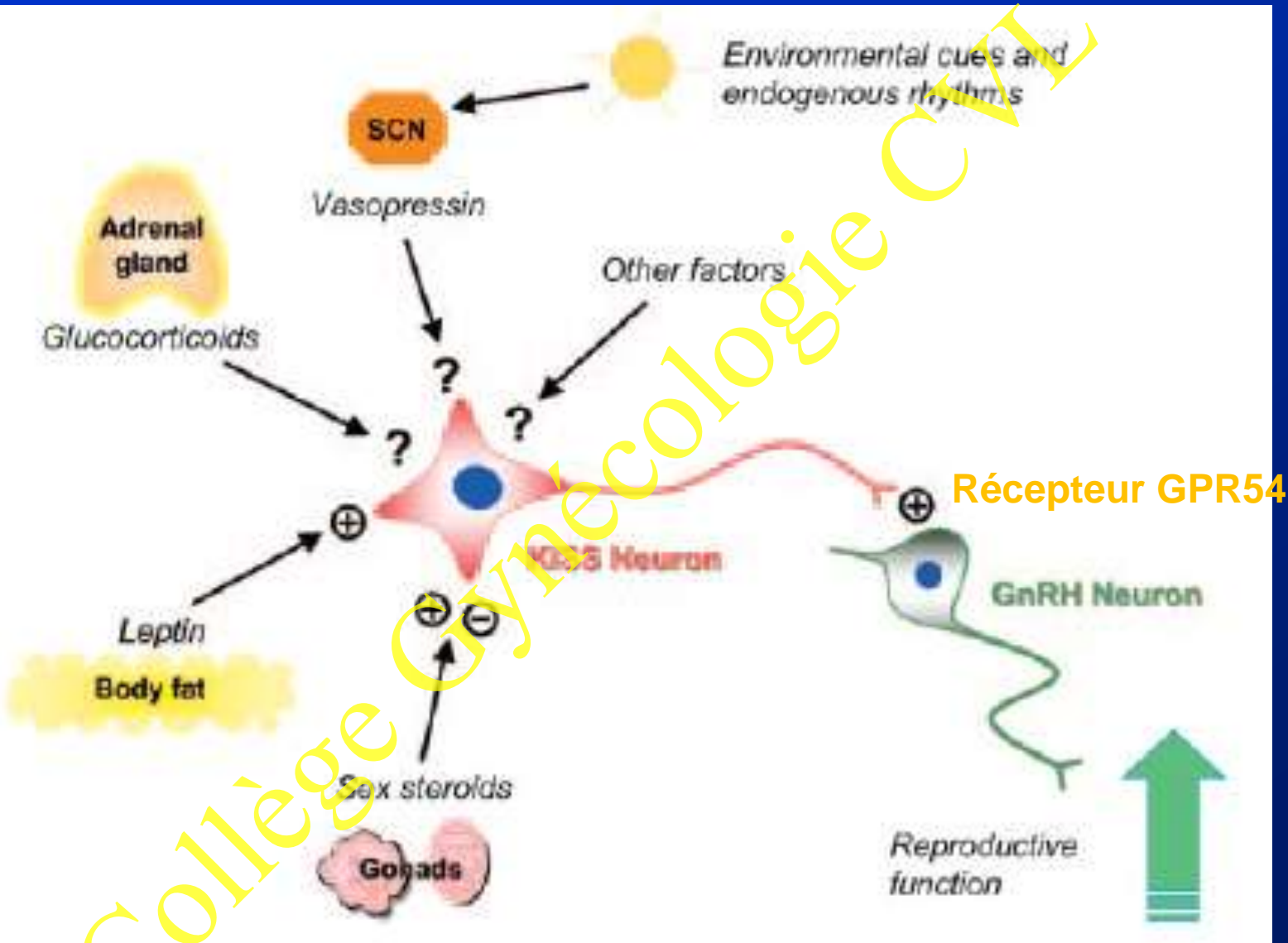
# GPR54



*N de Roux Proc N Ac Sci 2003; 100; 10972*

*Seminara NEJM 2003; 349: 1614*









Collège Gynécologie CVL

# Spermogramme - Spermocytogramme

**TABLE 1**

Semen analysis: reference values.

**On at least two occasions:**

Ejaculate volume	1.5–5.0 ml
PH	>7.2
Sperm concentration	>20 million/ml
Total sperm number	>40 million/ejaculate
Percent motility	>50%
Forward progression	>2 (scale 0–4)
Normal morphology	>50% normal*
	>30% normal**
	>14% normal***

**And:**

Sperm agglutination	< 2 (Scale 0–3)
Viscosity	<3 (Scale 0–4)

\* World Health Organization, 1987.

\*\*World Health Organization, 1992.

\*\*\*Kruger (Tygerberg) Strict Criteria, World Health Organization, 1999.

# Azoospermie

## ● Sécrétoire

- Syndrome de Kallmann de Morsier
- Hypogonadismes congénitaux sans anosmie
- Syndrome de Prader-Willi
- Hémochromatose
- DAX
  
- Syndrome d'insensibilité aux androgènes
- Mutation inactivatrice du récepteur de la LH
  
- Syndrome de Klinefelter +++

Collège Gynécologie CVL

# SD Klinefelter: clinique

- 1/600 hommes
- 47, XXY
- Azoospermie
- Gynécomastie
- Atrophie testiculaire
- Hypogonadisme de degré variable
- Grande taille

Syndrome de Klinefelter homogène  
47,XXY

Syndrome de Klinefelter en  
mosaïque 47,XXY/46,X

Azoospermie

Oligozoospermie

Fécondité naturelle?

IAD

Biopsie testiculaire

ICSI

Risque pour la  
descendance?

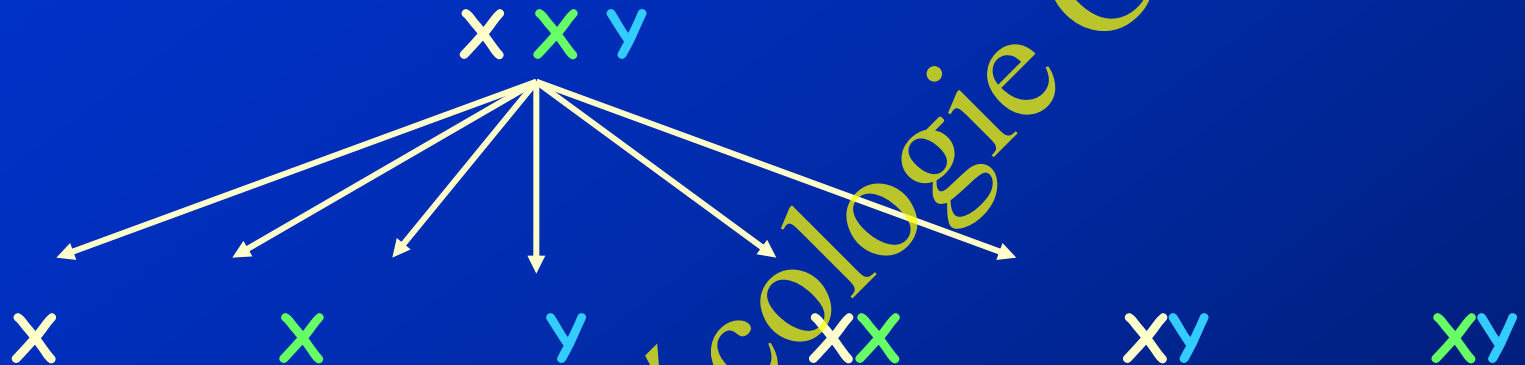
Négative

Positive

IAD

Collège Gynécologie

# Ségrégation théorique des gonosomes dans les gamètes



2 fois plus de spz 28, X que de 23, Y

Autant de formes normales que de disomiques

Formes disomiques 24, XY > 24, XX

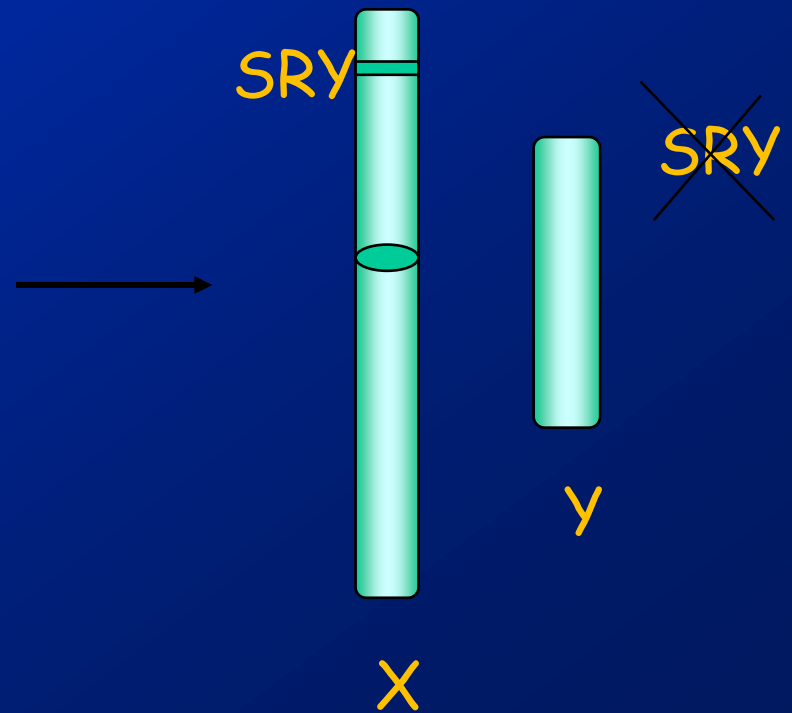
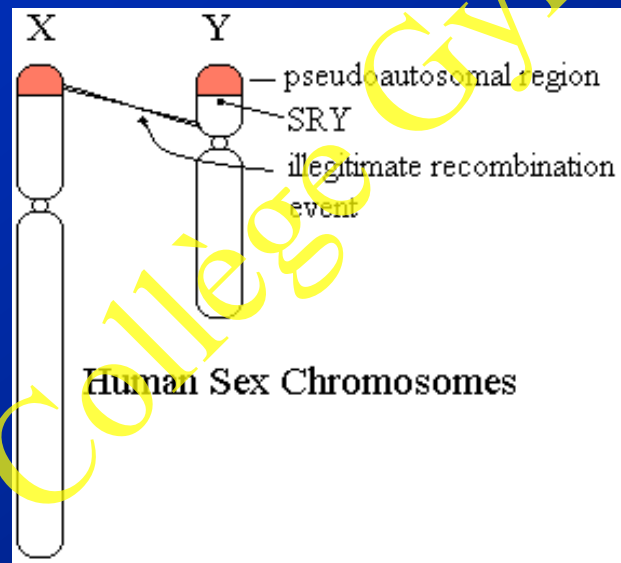
En fait, les formes disomiques ne dépassent pas les quelques %  
et des spz 24, YY sont retrouvés

# HOMMES XX

1/20 000 naissances

+ / ambiguïtés sexuelles

Stériles



# Azoospermie

- Sécrétoire
- Excrétoire
  - Anomalies de CFTR

Collège Gynécologie CVL



# Mucoviscidose et mutations du gène *CFTR*

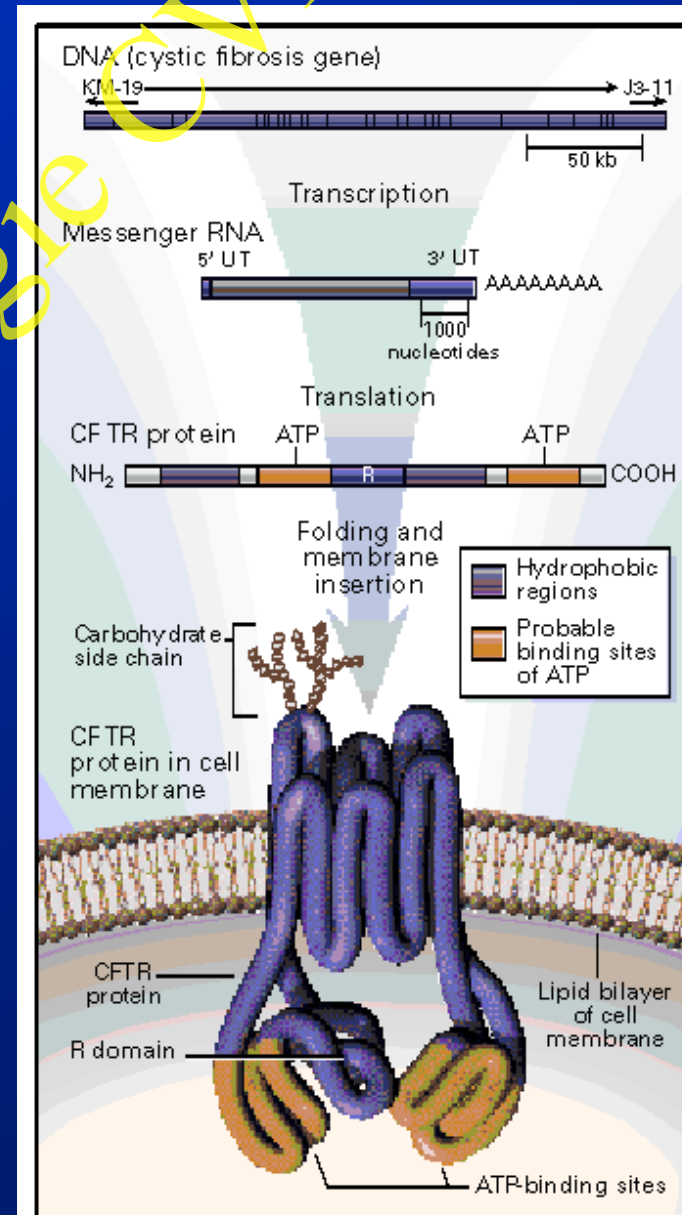
- Maladie récessive autosomique sévère
- La plus répandue dans la pop. européenne
- Affecte 1 nouveau né sur 2500
- 1/25 personne hétérozygote dans la population générale

*96% des hommes atteints sont azoospermes par agénésie des canaux déférents*

# Gène *CFTR*

(Cystic Fibrosis Transmembrane-Conductance Regulator)

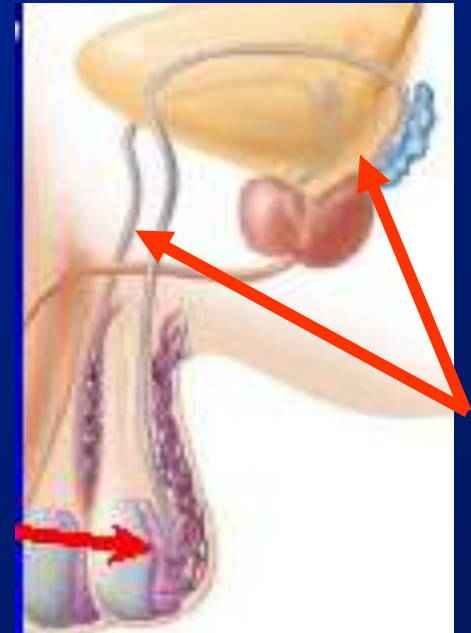
- chromosome 7
- Code pour une protéine transmembranaire
- Intervient dans la régulation du transport des ions chlore.



Collège Gynécologie

# Absence Bilatérale Congénitale des Déférents (ABCD)

- anomalie du développement des canaux de Wolff la plus fréquente
- touchant 1 à 2% des hommes infertiles
- 25% des azoospermies excrétoires
- diagnostic:examen clinique et échographique.



# Analyse spermatique++

Azoospermie

hypospermie,

pH du liquide séminal acide

Bioch. séminale perturbée  
(effondrement du fructose)

Collège Gynécologie

HOPITAL TENON  
Laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique  
4 rue de la Chine  
75970 Paris Cedex 20  
Tel : 01 56 01 78 01

- Nom : T.
- Dossier : 765932
- Examen du : 15/03/06

## BIOCHIMIE DU SPERME

NUMERATION : AZOOSPERMIE

VOLUME : 0.2 ml

pH: 6,5

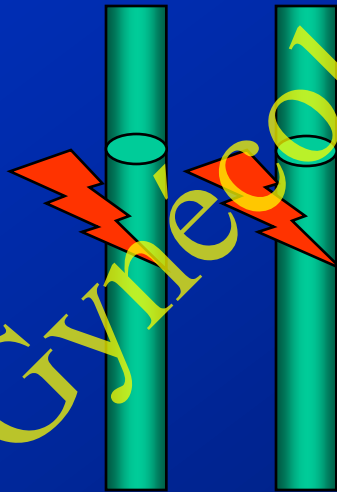
Résultats par éjaculat		Normes laboratoire	
• <b>FRUCTOSE</b>	1.1 $\mu\text{mol}$ (Vésicules séminales)	< 15 :	abaissé
		> 21 :	normal
• <b>ACIDE CITRIQUE</b>	92,3 $\mu\text{mol}$ (Prostate)	< 35 :	abaissé
		> 47 :	normal
• <b>ALPHA-GLUCOSIDASE</b>	5,7 $\mu\text{mol}$ (Epididymes)	< 70 :	abaissé
		> 70 :	normal
• <b>L-CARNITINE</b>	18,9 $\mu\text{mol}$ (Epididymes)	< 250 :	abaissé
		> 350 :	normal

# Mucoviscidose

## maladie récessive autosomique

$\Delta F508$

4% population générale  
est hétérozygote



La plus fréquente : 70% des malades,  
délétion d'un acide aminé:  
une phénylalanine en position 508  
( mutation portant sur le 10ème exon ).

Mutation sévère    Mutation sévère

Collège Gynécologie

# ABCD

50% hommes ABCD: mut  $\Delta F508$

$\Delta F508$

Mutation sévère

Mutation modérée

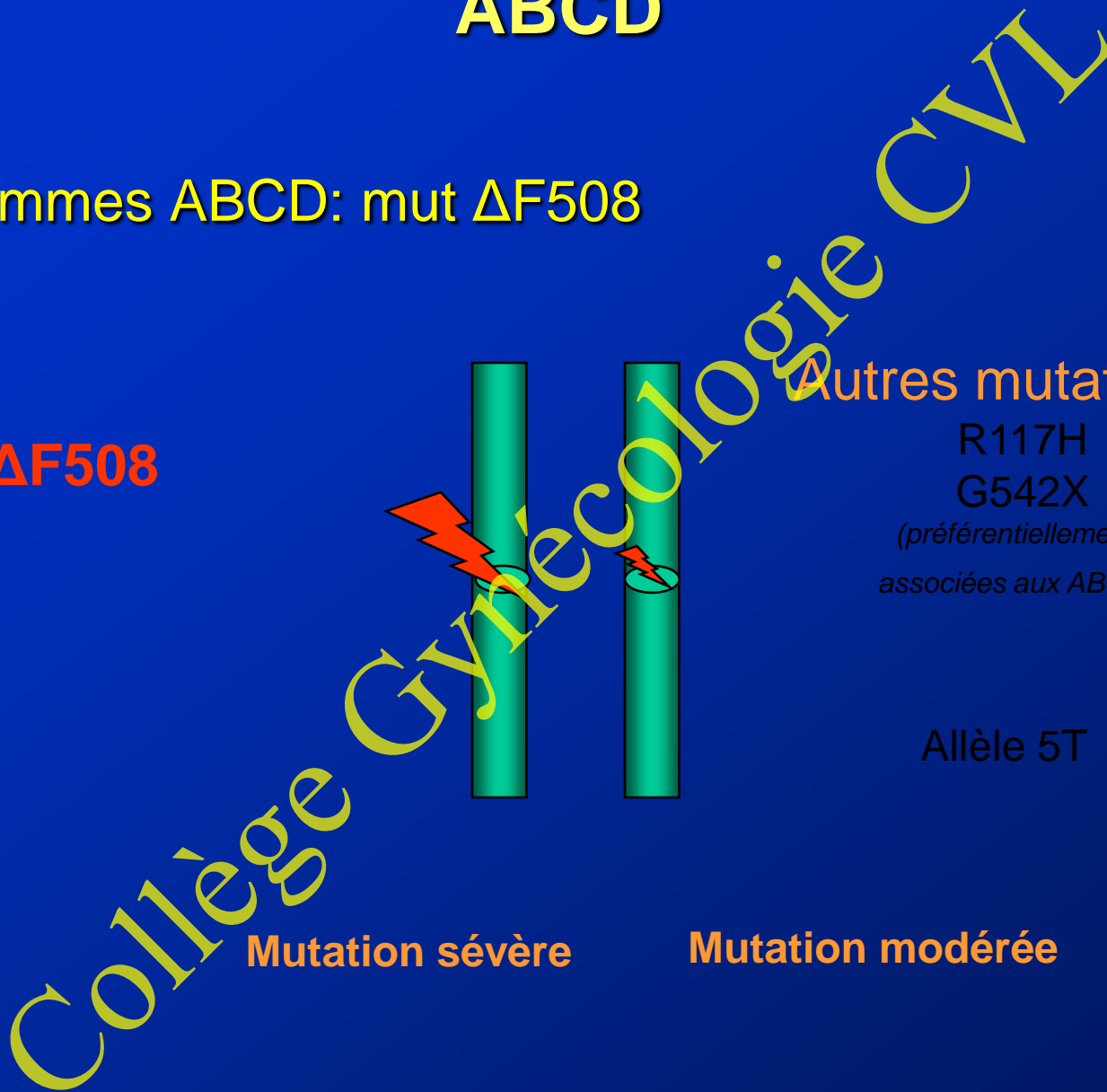
Autres mutations:

R117H

G542X

*(préférentiellement  
associées aux ABCD)*

Allèle 5T



Dans tous les cas, la spermatogenèse est conservée



spermatozoïdes ++  
lors d'une ponction de l'épididyme.

# Conseil génétique

- Objectifs:
- Évaluer le risque pour le COUPLE d'avoir un enfant atteint de MCV
- Informer sur la maladie
- Possibilité de diagnostic prénatal (risques)





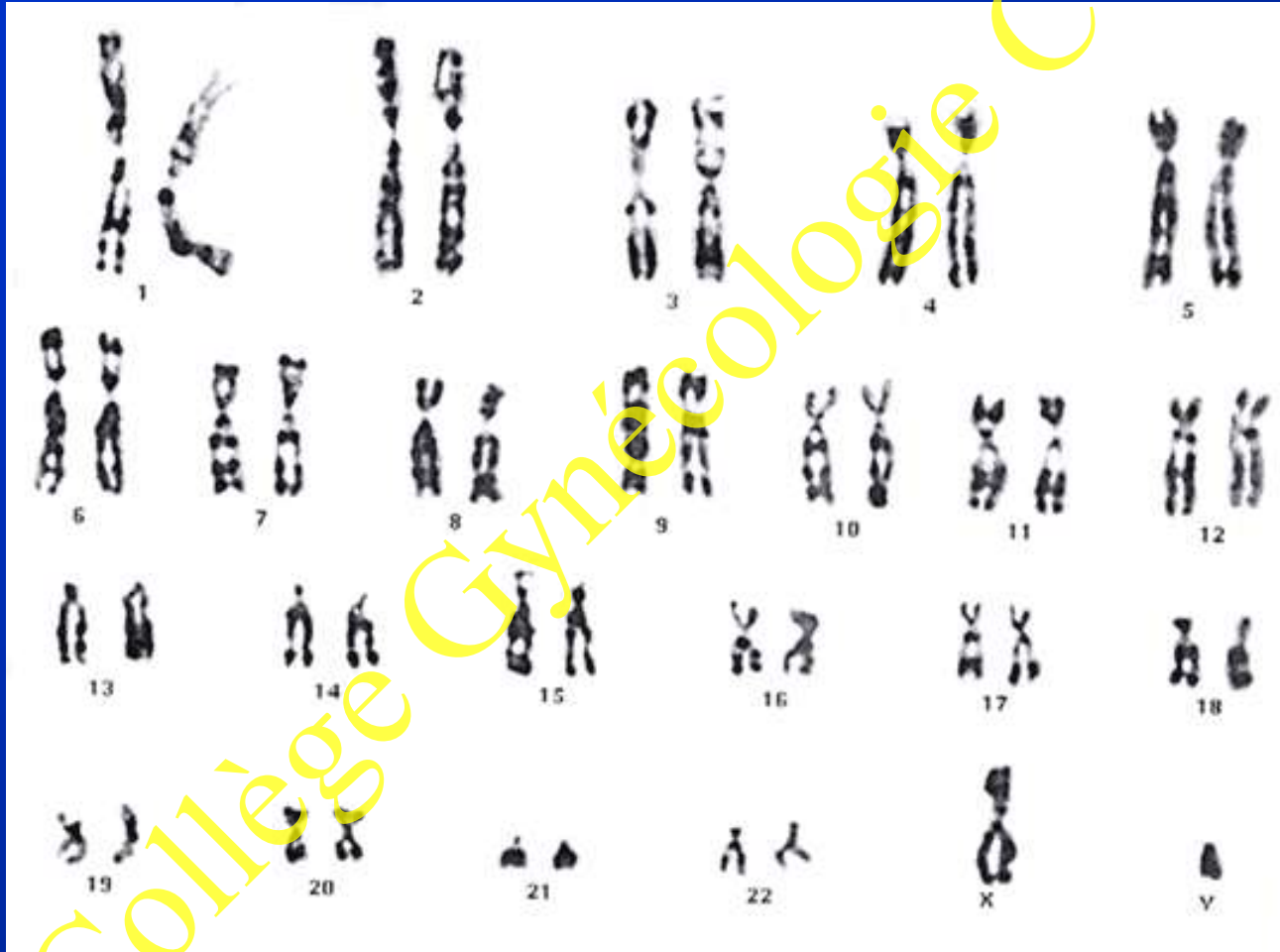
ARTICLE

## Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders – updated European recommendations

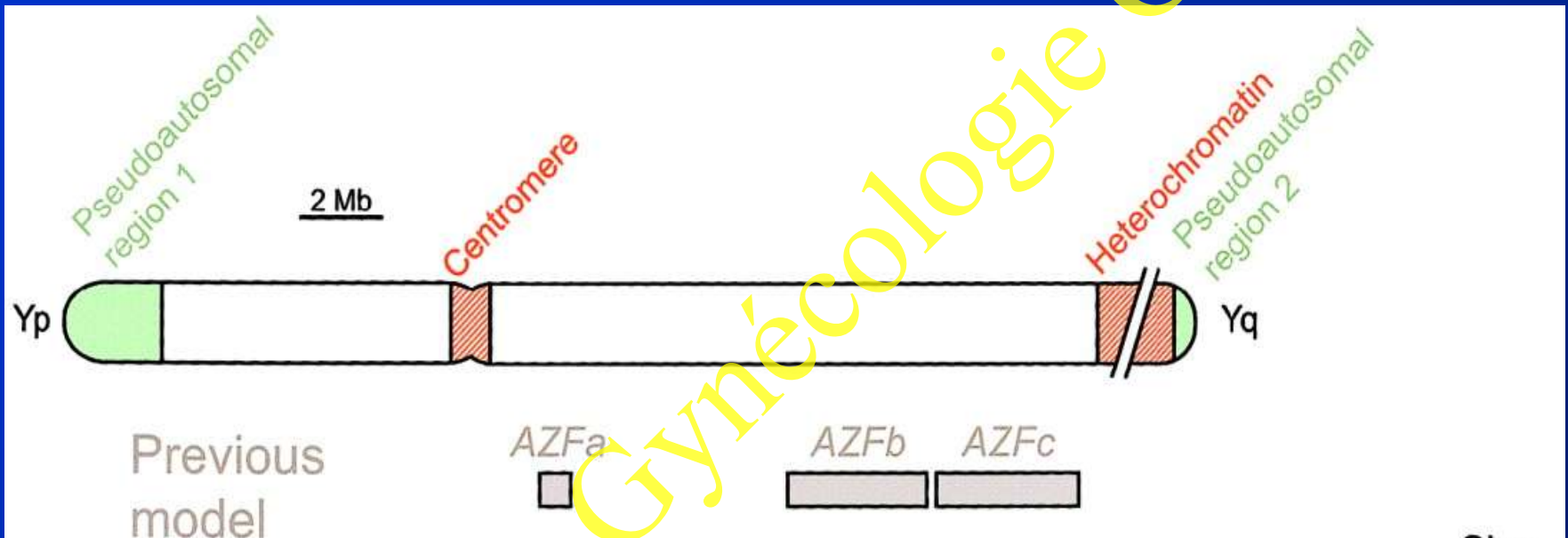
Els Dequeker<sup>1</sup>, Manfred Stuhmann<sup>2</sup>, Michael A Morris<sup>3</sup>, Teresa Casals<sup>4</sup>, Carlo Castellani<sup>5</sup>, Mireille Claustres<sup>6</sup>, Harry Cuppens<sup>1</sup>, Marie des Georges<sup>6</sup>, Claude Ferec<sup>7</sup>, Milan Macek<sup>8</sup>, Pier-Franco Pignatti<sup>9</sup>, Hans Scheffer<sup>10</sup>, Marianne Schwartz<sup>11</sup>, Michal Witt<sup>12</sup>, Martin Schwarz<sup>13</sup> and Emmanuelle Girodon<sup>\*,14</sup>

Collège

# Le chromosome Y

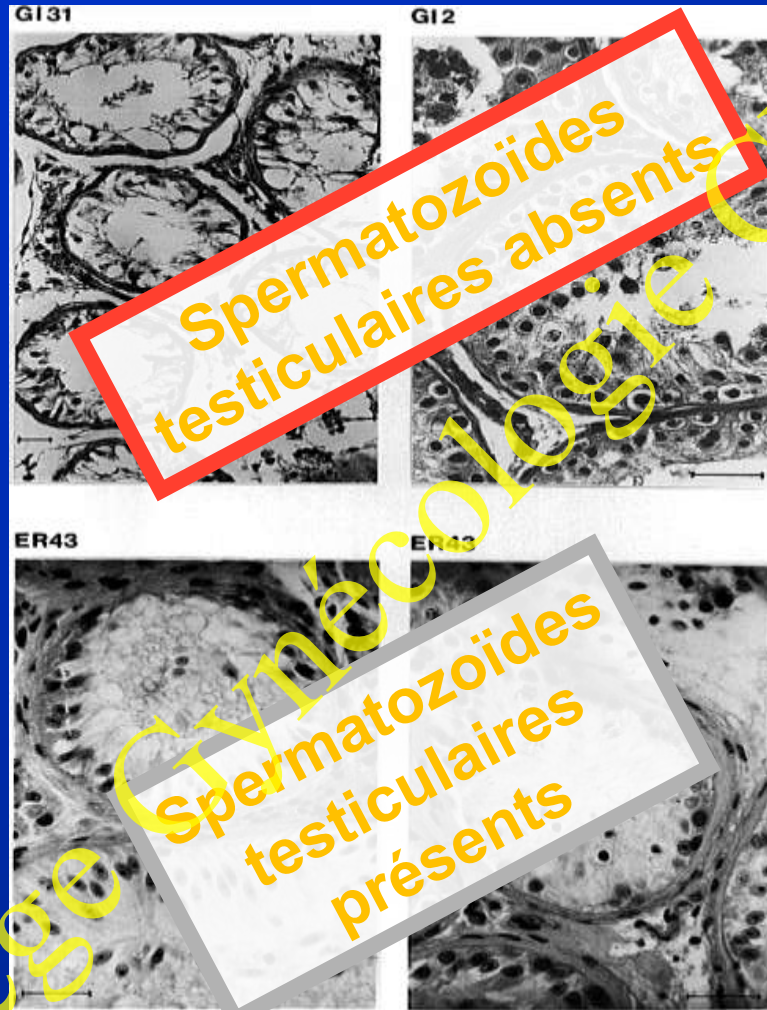


# Microdélétions du chromosome Y



Azoospermia factor locus

*AZF<sub>a</sub>* - SCOS  
Sertoli cell only



*AZF<sub>b</sub>*  
Arrêt méiotique

*AZF<sub>c</sub>* - SCOS  
Sertoli cell only

*AZF<sub>c</sub>*  
↓ spz

Vogt et al. (1996) Hum. Mol. Genet. 5: 933

*AZF* - Phénotype testiculaire

# AZF

- Microdélétions détectées chez 5-18% des hommes avec une azoospermie ou oligospermie sévère

**Table 2** Results of AZFc specific STS analysis in infertile azoo-oligospermic men

	gr/gr del	b2/b3 del	b3/b4 del	Total partial AZFc deletions
Azoospermia	3/73 (4.1%)	0	0	3/73 (4.1%)
Severe oligospermia	10/193 (5.2%)	1/193 (0.5%)	0	11/193 (5.7%)
Moderate oligospermia	3/71 (4.2%)	0	1/71 (1.4%)	4/71 (5.6%)

Azoospermia: no sperm in ejaculate; severe oligospermia: sperm count <5 million/ml; moderate oligozoospermia: sperm count 5–20 million/ml.

# AZF

- Risque de transmission?
- Rôle exact dans l'infertilité?

**TABLE 3**  
Partial AZFc deletions and associated phenotypes.

Partial AZFc class	Deleted genes	Infertile (Hg)	Fertile/normospermic (Hg)
I	<i>DAZ1/2, CDY1a</i>	Y549 (R1a1), Y583 (P(xR1a1)), Y592 (E3a), Y728 (E3a)	H2 (E3b2), Y248* (E3a), Y315 (P(xR1a1)), Y516 (P(xR1a1))
II	<i>DAZ3/4, CDY1a</i>	Y206 (E3b2), Y324 (E3b2), Y455 (E3b2), Y612 (E3b 2)	N5 (E3b2), Y574 (I)
III	<i>DAZ1/2, CDY1b</i>	D1 (I), O7 (I), S6 (I), Y117 (K(xP)), Y389 (P(xR1a1))	Y359 (E3b2), Y602 (J)
IV	<i>DAZ3/4, CDY1a</i>	Y454 (I)	T4 (E3b2), N9 (R1a1), C77 (E3b2), C83 (E3b2), C93 (E3b2)
V (b2/b3)	<i>DAZ1/2, CDY1a</i>	—	—
VI (b2/b3)	<i>DAZ3/4, CDY1a</i>	—	—
VII	<i>DAZ1/2</i>	Y566* (E3b2)	—
VIII (b2/b3)	<i>DAZ3/4, CDY1b</i>	Y446 (N3)	—
IX (b2/b3)	<i>DAZ1/2, CDY1b</i>	Y595 (E3b2), Y252 (E3b2)	Y529 (E3b2)

Notes: Genes that are absent as a consequence of the deletions deduced by single-nucleotide variant analysis are indicated. The associated phenotypes with Y-chromosome haplogroups are indicated.  
Denotes four *DAZ* copies.

*Reel. AZFc architecture and male fertility. Fertil Steril 2008.*

- Deletions in *AZFa* on the human Y chromosome and, more specifically, in the region that encompasses the ubiquitin-specific peptidase 9, Y-linked gene *USP9Y* have been implicated in infertility associated with oligospermia and azoospermia.
- We have characterized in detail a deletion in *AZFa* that results in an absence of *USP9Y* in a normospermic man and his brother and father. The association of this large deletion with normal fertility shows that *USP9Y*, hitherto considered a candidate gene for infertility and azoospermia, does not have a key role in male reproduction. These results suggest that it may not be necessary to consider *USP9Y* when screening the Y chromosome of infertile or subfertile men for microdeletions
- *NEJM* 26 fevrier 2009



# CONCLUSIONS

- Endométriose : pas de test génétique actuel
- SOPK : pas de test génétique actuel sauf si insulino-résistance importante : recherche de mutation de la lamina
- Bloc en 21 hydroxylase : recherche de mutations de *CYP21*
- IOP : caryotype, prémutation de *FMR1*
- Hypogonadisme hypogonadotrophique congénital : mutations de *KAL2,3,4, FGF8, GnRHR, GPR54 +++*



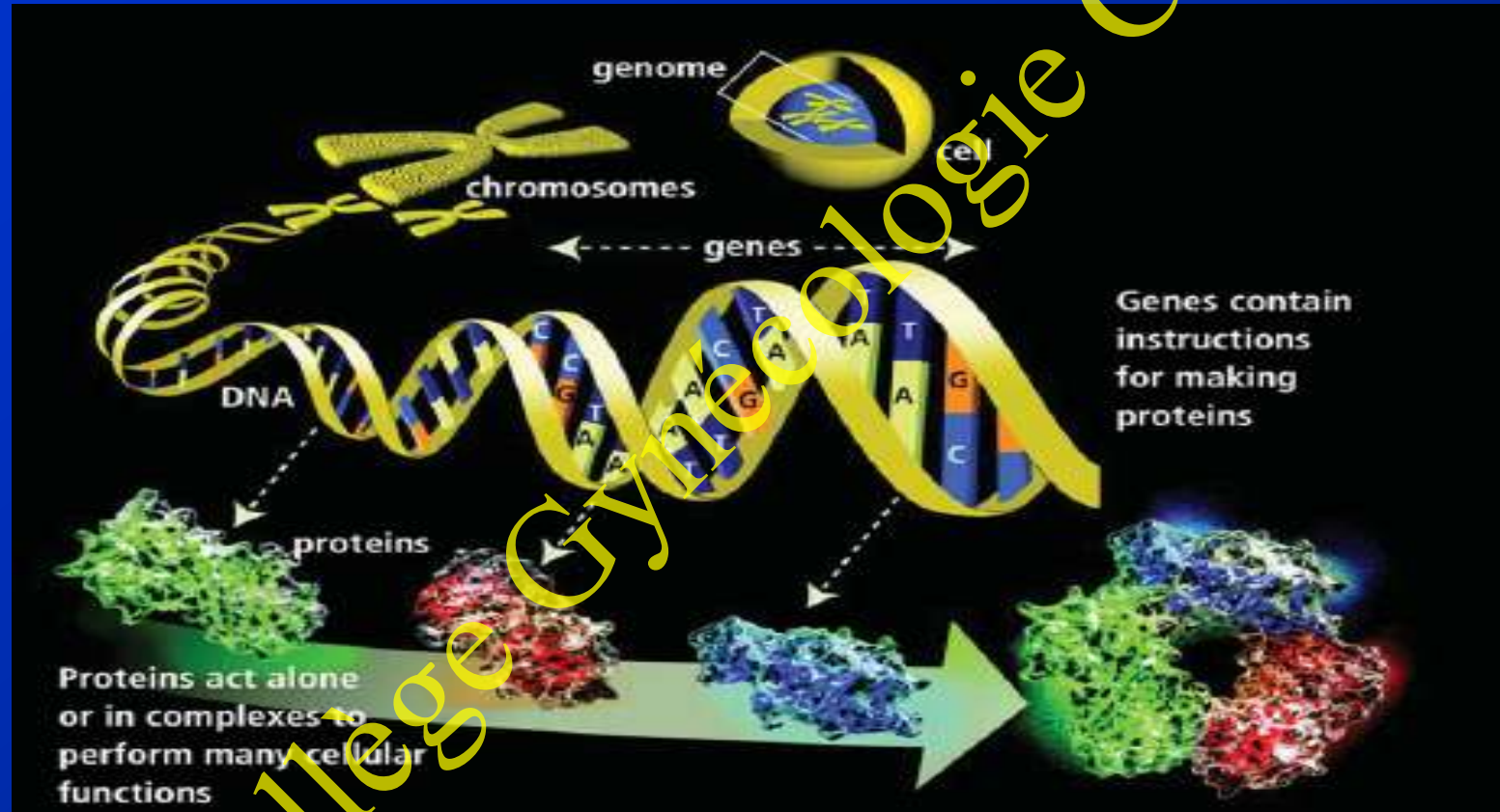


# CONCLUSIONS

- Si nombre de spermatozoïdes  $< 5$  millions/ml
  - $\Rightarrow$  caryotype
    - anomalies de nombre ou de structure
- Si nombre de spermatozoïdes  $< 1$  million/ml
  - $\Rightarrow$  recherche de microdélétions de l'Y
- Si azoospermie excrétoire : CFTR ++

Colège Gynécologie CVL

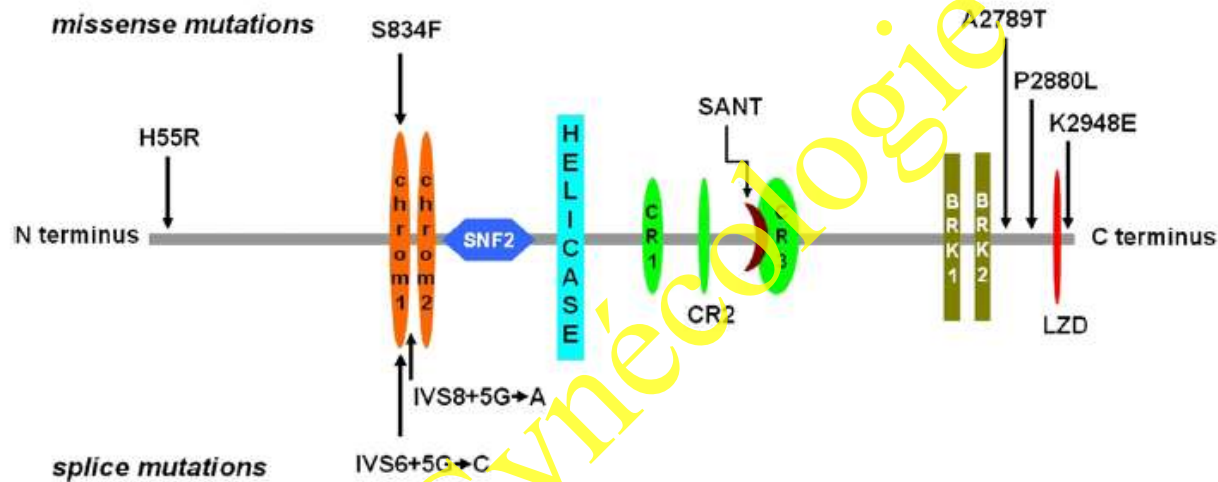
# CONCLUSIONS



46 chromosomes, 2 mètres d'ADN, 20 000 gènes

# FAUSSE COUCHE A REPETITION

- Au moins 3 épisodes FCS
- 1% des couples
- Risque mutation facteur V Leiden ou mutation de la prothrombine G20210A, environ 10% des cas +++
- Polymorphisme C677T MHTFR risque légèrement élevé
- Translocation équilibrée dans 3% des couples
- Translocation déséquilibrée dans 1-5% des couples



**Figure 1. CHD7 Domains and Positions of Mutations**

CHD7 structure with functional domains and the positions of five missense mutations and two splice-donor site mutations identified in IHH and KS patients are shown. The following abbreviations are used: chrom1, chromodomain 1; chrom2, chromodomain 2; SANT, SANT DNA binding domain; and LZD, leucine zipper domain. The function of CR1-CR3 and BRK domains are unknown. Three mutations affect chromodomains. Relative sizes and locations of domains are to scale.