THÈSE

Thomas Karaouzene

Résumé

L'infertilité masculine est définie comme étant l'incapacité d'aboutir à une grossesse après 12 mois ou plus de rapports sexuels réguliers non protégés. Dix à quinze pourcents des couples font face à des problèmes d'infertilité soit plus de 70 millions de personnes dans le monde faisant de cette pathologie un véritable enjeux de santé publique. Bien que multifactorielle, l’infertilité masculine a une composante génétique importante et encore peu explorée. L'objectif de mon travail a été à la fois de poursuivre les investigations génétiques et moléculaires mené au sein de laboratoire sur le phénotype de globozoospermie, mais aussi de mettre en place un pipeline d'analyse pour les données de séquençage haut-débit obtenues dans le cadre d'étude portant sur des patients présentant divers phénotype d'infertilité.

Ainsi, j'ai d'abord contribué à la caractérisation du gène *DPY19L2* dont la délétion homozygote est responsable du majeure partie des cas de globozoospermie, une teratozoospermie caractérisée entre autre par la présence de spermatozoïdes à têtes rondes et dépourvu d'acrosome dans l’éjaculât. Après avoir contribué à caractériser les mécaniques responsables de cette délétion récurrente, j'ai pu réaliser une étude comparatives des transcriptomes testiculaires de souris sauvage *Dpy19l2*+/+ et de souris KO \* Dpy19l2*-/-, présentant le même phénotype que l'humain, sur puce à ADN. L'objectif de cette étude ayant pour but principal de mettre en évidence des dérégulations transcriptomiques chez les souris KO pouvant notamment expliquer le faible taux de réussite des fécondations* in vitro\* effectuées avec des spermatozoïdes globozoocéphales, même dans les cas où celles-ci sont effectuées par *intra cytoplasmic sperm injection* (ICSI). Cette étude a ainsi permise de mettre en évidence la dérégulation de 76 gènes chez la souris KO parmi lesquels 70 été retrouvé sur-exprimés et 6 sous exprimés. Parmi ceux-ci, 23 étaient impliqués dans la liaison d'acide nucléique et de protéine pouvant ainsi expliquer les défauts d'ancrage de l'acrosome au noyau chez les spermatozoïdes globozoocéphales.

Dans un second temps, l'émergence du séquençage nouvelle génération (NGS) ayant, de part la masse des données générées, totalement bouleversé les enjeux ainsi que les méthodes d'analyse des données en génétique, j'ai pu au cours de ma thèse mettre en place un pipeline d'analyse des données de séquençage exomique prenant en compte l'ensemble des étapes depuis l'alignement des séquences jusqu'à la priorisation des variants. Celui-ci a ensuite pu être appliqué à la fois pour l'analyse de duo ou trio familiaux présentant des phénotypes différents mais aussi sur une large cohorte de patients non apparentés présentant tous un phénotype MMAF. Ainsi, les analyses familiales nous ont permises de mettre en évidence une mutation homozygote dans le gène *SPINK2* responsable du phénotype d'infertilité de deux frères azoospermes, une une mutation homozygote dans le gène *PLC* de deux autres frères présentant des échecs de fécondation ainsi qu'une mutation homozygote dans le gène *DNAH1* de deux autres patient souffrant d'un syndrome MMAF. L'analyse de la cohorte MMAF nous a permise, entre autre, de mettre en évidence plusieurs mutations différentes dans les gènes *CFPAP43*, *CFAP44* et *PATL2*.