




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

www.em-consulte.com



TRAVAIL ORIGINAL

Confirmation de la forte prévalence au Maroc de la mutation homozygote c.144delC du gène *aurora kinase C* (*AURKC*) dans les tératozoospermies avec spermatozoïdes macrocéphales

Confirmation of the high prevalence in Morocco of the homozygous mutation c.144delC in the aurora kinase C gene (AURKC) in the teratozoospermia with large-headed spermatozoa

F. El Kerch^a, A. Lamzouri^{a,*}, F.Z. Laarabi^a, M. Zahi^b,
B. Ben Amar^b, A. Sefiani^{a,c}

^a Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, 27, avenue Ibn Batouta, BP 769, Rabat, Maroc

^b Centre de PMA, Rabat, Maroc

^c Centre de génomique humaine, faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc

Reçu le 10 mai 2010 ; avis du comité de lecture le 9 septembre 2010 ; définitivement accepté le 16 septembre 2010
Disponible sur Internet le 24 février 2011

MOTS CLÉS

Infertilité masculine ;
Spermatozoïdes
macrocéphales ;
AURKC

Resume

But. – Confirmer le caractère récurrent de la mutation c.144delC du gène *aurora kinase C* (*AURKC*) au Maroc et déterminer l'indication et l'intérêt de la recherche de cette anomalie.

Patients et méthodes. – Nous avons recherché la mutation c.144delC du gène *AURKC* chez 18 patients marocains infertiles qui ont été vus en consultation de génétique médicale dans le cadre du bilan préparatoire à une PMA. L'ADN génomique a été extrait à partir de 5 mL de sang total prélevé sur EDTA. L'exon 3 du gène *AURKC* a été amplifié par PCR puis séquencé en utilisant le kit Big-Dye terminator V3.1 et le séquenceur ABI 310 (Applied Biosystems).

Résultats. – Tous les patients présentant le phénotype typique avec un taux élevé de spermatozoïdes macrocéphales étaient homozygotes pour la mutation c.144delC du gène *AURKC*.

Conclusion. – Nous confirmons par cette étude l'intérêt de réaliser une recherche de la mutation récurrente c.144delC du gène *AURKC* dans l'infertilité masculine avec un pourcentage

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : lamzouriafaf@hotmail.com (A. Lamzouri).

KEYWORDS

Male infertility;
Large-headed
spermatozoa;
AURKC

élevé de spermatozoïdes macrocéphales. Cette analyse moléculaire permet d'épargner à de nombreux couples infertiles des dépenses inutiles et la succession d'échecs en cas de recours à la procréation médicalement assistée (PMA).

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary

Objectives. – To confirm the recurrent character of the mutation c.144delC in the *aurora kinase C* (*AURKC*) gene in Morocco and determine the indication and the interest of the research of this anomaly.

Patients and methods. – We looked for the mutation c.144delC in the *AURKC* gene in 18 infertile Moroccan patients. They were seen in medical genetic consultation within the framework of the preparatory assessment for medically-assisted procreation. Genomic DNA was extracted from 5 ml of EDTA-blood. The gene *AURKC* exon 3 was amplified by PCR then sequenced by using the Big-Dye Terminator V3.1 kit and an ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Results. – All the patients who had a typical phenotype with high rates of large-headed spermatozoa were homozygous for the mutation c.144delC in the *AURKC* gene.

Conclusion. – We confirm in this study the research interest of the recurrent mutation c.144delC in the gene *AURKC* in male infertility with high rates of large-headed spermatozoa. This molecular analysis avoids to many infertile couples unnecessary expenses and succession failures in case of use of medically-assisted procreation (MAP).

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

L'infertilité, définie selon l'Organisation mondiale de la santé par l'absence de conception après au moins 12 mois de rapports sexuels non protégés [1], concerne plus de 70 millions de couples dans le monde [2]. Il est maintenant admis qu'une origine masculine de l'infertilité est aussi fréquente qu'une origine féminine [3].

Les causes d'infertilité masculine sont variées et souvent multifactorielles, se traduisant dans 61% des cas par une anomalie quantitative et/ou qualitative du sperme [1]. L'identification de l'étiologie de l'infertilité est une étape fondamentale dans la prise en charge des couples car le pronostic et les options thérapeutiques en dépendent.

Parmi les causes des infertilités du couple les plus sévères, certaines sont d'origine génétique. Elles concernent les anomalies chromosomiques du nombre, comme le syndrome de Klinefelter (47, XXY), ou de structure à l'état équilibré, qui sont retrouvées chez 5,8% des patients infertiles [4]. Les anomalies génétiques peuvent être des mutations de gènes impliqués dans des pathologies connues (mucoviscidose, noonan, dyskinésie ciliaire primitive, dystrophie myotonique de steinert...) ou qui jouent un rôle important dans le processus de la spermatogénèse. Parmi les premières anomalies moléculaires associées à une infertilité masculine, les microdélétions du chromosome Y, découvertes dans les années 1970 [5] et qui représentent 7 à 10% des origines génétiques diagnostiquées des anomalies de la spermatogénèse [6]. Ces microdélétions touchent les zones AZF a, b et principalement, la zone c (70% des cas) [6], et les troubles qui en découlent peuvent parfois être contournés par l'*intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) [7]. Parmi l'ensemble des gènes décrits dans ces régions, seul le gène *USP9Y*, présent dans la région AZFa, a été clairement impliqué comme jouant un rôle direct dans la spermatogénèse. D'autres gènes impliqués dans ce processus ont été identifiés et leurs mutations ont été rapportées chez les hommes infertiles, certains ont été plus souvent cités que d'autres,

comme le gène du récepteur aux androgènes localisé sur le bras long du chromosome X (Xp11-12), qui a été incriminé dès 1979 comme cause d'infertilité masculine [8].

Plus récemment, en 2007, une étude menée sur 14 patients nord-africains présentant une tératozoospermie particulière avec une proportion importante de spermatozoïdes macrocéphales et multiflagelles a montré une mutation homozygote c.144delC du gène *aurora kinase C* (*AURKC*) [9,10]. Dans la même période, une mutation du gène *SPATA16* a été décrite chez des hommes porteurs de globozoospermie [11].

Des nouvelles avancées dans la compréhension des mécanismes à l'origine des infertilités masculines, il ressort que certains tests génétiques devraient faire partie, au même titre que le caryotype, du bilan étiologique des infertilités masculines.

Nous rapportons dans ce travail, les premiers résultats de la recherche de la mutation récurrente c.144delC du gène *AURKC* dans une série de 18 patients marocains infertiles, dont 11 présentent une tératozoospermie sévère faite particulièrement de spermatozoïdes macrocéphales et parfois multiflagelles.

Patients et méthodes**Patients**

Les patients, au nombre de 18, qui ont fait l'objet de cette étude ont été vus à notre consultation de génétique médicale dans le cadre du bilan préparatoire à une procréation médicalement assistée (PMA) (16 patients) ou après échec d'au moins deux tentatives de fécondation in vitro (deux patients). L'âge moyen de ces hommes le jour de la consultation était de 40 ans et sept sur 18 étaient issus de mariages consanguins. L'infertilité était un problème familial (frères ou oncles suivis pour infertilité du couple) chez dix patients. L'arbre généalogique de la Fig. 1 illustre un exemple de ces

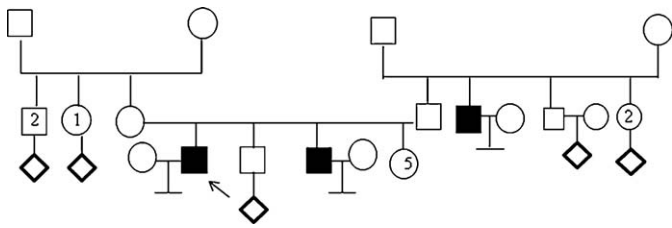


Figure 1 Arbre généalogique du patient 17 illustrant une forme familiale d'infertilité masculine.

Pedigree of patient 17 showing a family male infertility form.

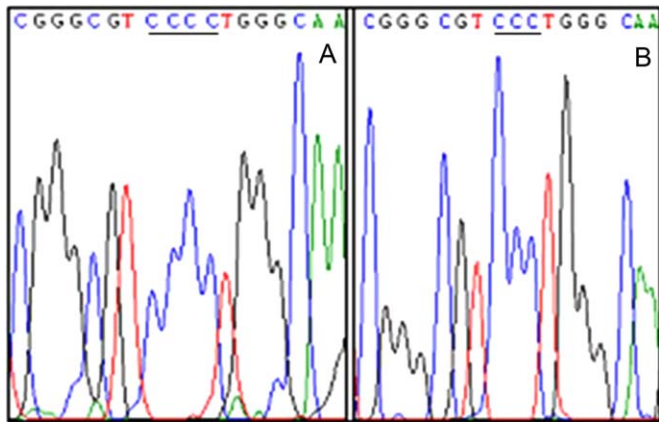


Figure 2 A. Séquence normale de l'exon 3 du gène *aurora kinase C*. B. Séquence avec la mutation c.144delC du gène *aurora kinase C* à l'état homozygote.

A. Normal sequence of the gene *aurora kinase C* exon 3.
B. Sequence with the mutation c.144delC in the *aurora kinase C* gene in the homozygous state.

formes héréditaires. Le spermocytogramme montre chez la plupart des cas une tératozoospermie très importante, avec un pourcentage élevé de spermatozoïdes macrocéphales, associés parfois à des flagelles multiples. Le reste du bilan hormonal et le caryotype sanguin lorsqu'il a été réalisé étaient normaux (Tableau 1).

Méthodes

L'ADN génomique a été extrait, après consentement des patients, à partir de 5 mL de sang total prélevé sur EDTA selon les procédures habituelles. L'exon 3 du gène *AURKC* a été amplifié par PCR en utilisant les amorces (F: 5' TCCCAAGCTGAGGCTTTTTC 3'; R: 3' TTCCTTTTCATCTTGACGT 5'), puis séquencé en utilisant le kit Big-Dye terminator cycle sequencing V3.1 (Applied Biosystems), par électrophorèse capillaire sur un séquenceur ABI 310.

Résultats

La mutation c.144delC du gène *AURKC* a été retrouvée à l'état homozygote chez 11 patients (Fig. 2). Six patients porteurs de cette mutation étaient consanguins et huit avaient des cas d'infertilité masculine dans la famille.

Tous les patients ayant la délétion c.144delC avaient le phénotype particulier caractérisé par un taux de sperma-

tozoïdes macrocéphales compris entre 70 et 100% sur le spermocytogramme. Les sept patients non porteurs de la mutation avaient une absence de spermatozoïdes macrocéphales ou un pourcentage abaissé (0–38%) (Tableau 1).

Discussion

Il est probable qu'une proportion importante de cas d'infertilité masculine est due à des causes génétiques et on estime à quelques centaines le nombre de gènes nécessaires au déroulement normal de la spermatogenèse [3]. Chez l'homme, et malgré cette hétérogénéité génétique, peu de gènes ont jusqu'à présent pu être directement incriminés dans des phénotypes d'infertilité masculine isolée et ne rentrant pas dans le cadre de pathologies héréditaires complexes [10]. L'*AURKC* est un des premiers gènes dont les mutations ont été associées à des anomalies de la spermatogenèse [9]. Ce gène localisé au niveau du chromosome 19 (locus: 19q13.3-qter) comporte sept exons qui s'étendent sur 4540 pb et code pour la protéine *AURKC*. Celle-ci s'exprime préférentiellement dans les testicules et joue un rôle essentiel dans la méiose [12]. La mutation récurrente c.144delC du gène *AURKC* entraîne, à l'état homozygote, un décalage du cadre de lecture avec un arrêt prématuré de la traduction et la production d'une protéine non fonctionnelle tronquée de son domaine kinase, qui conduit à un blocage de la spermatogénèse avant la première division méiotique [12]. Les patients homozygotes pour cette mutation souffrent ainsi d'une infertilité caractérisée par des spermatozoïdes tétraploïdes macrocéphales et parfois multiflagelles [3].

Notre travail confirme le caractère récurrent de cette mutation au Maroc, tous nos patients présentant le phénotype typique avec des spermatozoïdes macrocéphales et multiflagelles se sont révélés homozygotes pour la mutation c.144delC, à l'exception des sept patients dont le taux de spermatozoïdes macrocéphales ne dépassaient pas les 38%. Ce résultat est en accord avec l'article princeps de K. Dieterich et al. avec 14 cas décrits [9,10] et l'étude de R. Harbuz et al., ayant identifiées 34 cas homozygotes pour cette mutation et présentant un phénotype typique avec un taux de spermatozoïdes macrocéphales compris entre 60 et 100% contre 28 patients non porteurs de cette délétion et présentant un phénotype modéré avec un taux de spermatozoïdes macrocéphales compris entre 5 et 75% [3]. Ces résultats montrent que la recherche de la mutation récurrente c.144delC du gène *AURKC* doit être limitée aux patients infertiles ayant un taux élevé de spermatozoïdes macrocéphales, dépassant les 60%.

Parmi les 11 patients homozygotes pour la mutation c.144delC, six sont issus de mariages consanguins (54%), ce qui est en accord avec l'étude de Jaouad et al. sur le taux de consanguinité dans les maladies autosomiques récessives [13].

Par ailleurs, cinq patients sont issus de parents non consanguins, ce qui confirme la relative fréquence de cette mutation dans la population marocaine. Cela rejoint l'étude de R. Harbuz et al. qui a déterminé que la fréquence d'hétérozygotie de la mutation c.144delC dans la population générale nord-africaine était de 1/50, ce qui suggère qu'environ une personne maghrébine sur 10 000 serait homo-

Tableau 1 Caractéristiques et résultats de la recherche de la mutation c.144delC du gène *aurora kinase C* chez les patients étudiés.*Characteristics and research results of the mutation c.144delC in the aurora kinase C gene of our patients.*

Patients	Consanguinité	Cas familiaux	Spermocytogramme	Mutation c.144delC
1	Oui	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 90 % Spermatozoïdes multiflagelles 76 %	Muté
2	Non	Non	Oligotératozoospermie++ Spermatozoïdes macrocéphales 0 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
3	Non	Non	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 7 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
4	Non	Oui	Oligotératozoospermie++ Spermatozoïdes macrocéphales 0 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
5	Oui	Non	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 2 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
6	Non	Non	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 14 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
7	Non	Oui	Tératozoospermie 98 % Spermatozoïdes macrocéphales 98 % Spermatozoïdes multiflagelles 4 %	Muté
8	Non	Non	Tératozoospermie 100 % Spermatozoïdes macrocéphales 81 % Spermatozoïdes multiflagelles 24 %	Muté
9	Non	Non	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 38 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
10	Non	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 71 % Spermatozoïdes multiflagelles 19 %	Muté
11	Non	Non	Oligotératozoospermie++ Spermatozoïdes macrocéphales 0 % Spermatozoïdes multiflagelles 0 %	Non muté
12	Non	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 99 % Spermatozoïdes multiflagelles 23 %	Muté
13	Non	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 100 % Spermatozoïdes multiflagelles 100 %	Muté
14	Oui	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 92 % Spermatozoïdes multiflagelles 85 %	Muté
15	Oui	Non	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 94 % Spermatozoïdes multiflagelles 94 %	Muté
16	Oui	Non	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 100 % Spermatozoïdes multiflagelles 100 %	Muté
17	Oui	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 99 % Spermatozoïdes multiflagellés 32 %	Muté
18	Oui	Oui	Tératozoospermie sévère Spermatozoïdes macrocéphales 98 % Spermatozoïdes multiflagelles 25 %	Muté

zygote pour cette mutation : un homme sur 5000 souffrirait de cette forme d'infertilité, la pénétrance chez les femmes étant nulle [3]. Cette fréquence est comparable à celle des microdélétions du chromosome Y qui étaient jusqu'alors les seules anomalies génétiques récurrentes connues bloquant la spermatogenèse [3]. La mise en évidence de la mutation récurrente c.144delC du gène *AURKC* chez un mari infertile doit formellement écarter le couple du processus de PMA. Comme le don de gamète est interdit au Maroc, la seule possibilité qui reste pour ce type de couple est l'adoption d'un enfant.

Conclusion

Très peu de travaux se sont intéressés à la recherche des mutations du gène *AURKC* chez les hommes infertiles dans les différentes populations. Au Maroc, nous confirmons par cette étude l'intérêt de réaliser une recherche de la mutation récurrente c.144delC dans les infertilités masculines avec un pourcentage élevé de spermatozoïdes macrocéphales dépassant les 60%.

Il s'agit d'une analyse moléculaire simple, fiable, rapide et peu coûteuse, qui permet d'épargner à de nombreux couples infertiles des dépenses inutiles et la succession d'échecs en cas de recours à la PMA.

Conflit d'intérêt

Aucun.

Références

- [1] Schlossera J, Nakibb I, Carré-Pigeonb F, Staermana F. Infertilité masculine : définition et physiopathologie. *Ann Urol* 2007;41:127–33.
- [2] Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod* 2007;22:1506–12.
- [3] Harbuz R, Zouari R, Dieterich K, Nikas Y, Lunardi J, Hennebicq S, et al. Function of *aurora kinase C (AURKC)* in human reproduction. *Gynecol Obstet Fertil* 2009;37:546–51.
- [4] Wallerand H, Bernardini S, Chabannes E, Bittard H. Infertilité masculine de cause génétique et biologie moléculaire. *Prog Urol* 2003;13:560–3.
- [5] Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34:119–24.
- [6] Clément P, Lohmann L, Minz M. Recherche des microdélétions du chromosome Y en assistance médicale à la procréation. *Gynecol Obstet Fertil* 2008;36:318–24.
- [7] Patrat C, Bienvenu T, Janny L, Faure AK, Fauque P, Aknin-Seifer I, et al. Clinical data and parenthood of 63 infertile and Y-microdeleted men. *Fertil Steril* 2010;93:822–32 [Epub 2008 Dec 4].
- [8] Aiman J, Griffin JE, Gazak JM, Wilson JD, Mc Donald PC. Androgen insensitivity as a cause of infertility in otherwise normal men. *N Engl J Med* 1979;300:223–7.
- [9] Dieterich K, Soto Rifo R, Faure AK, et al. Homozygous mutation of *AURKC* yields large-headed polyploid spermatozoa and cause male infertility. *Nat Genet* 2007;39:661–5.
- [10] Dieterich K, Zouari R, Harbuz R, et al. The *aurora kinase C c.144delC* mutation causes meiosis I arrest in men and is frequent in the North African population. *Hum Mol Genet* 2009;18:1301–9.
- [11] Dam AH, Kosciński I, Kremer JA, et al. Homozygous mutation in *SPATA16* is associated with male infertility in human globozoospermia. *Am J Hum Genet* 2007;81:813–20.
- [12] Ray PF. Causes masculines des échecs prévisibles en fécondation in vitro (FIV) avec injection spermatique intracytoplasmique. *Gynecol Obstet Fertil* 2010;38:114–8.
- [13] Jaouad IC, Chafaï Elalaoui S, Sbiti A, Elkerch F, Belmahi L, Sefiani A. Consanguineous marriages in Morocco and the consequence on the incidence of autosomal recessive disorders. *J Biosoc Sci* 2009;41:575–81.