

Titre : Contribution à la caractérisation de nouveaux gènes impliqués dans les hypogonadismes hypogonadotropes : caractérisation des mécanismes moléculaires et cellulaires

Mots clés : hypogonadisme, Kallmann, GnRH, kisspeptine, caractérisation fonctionnelle, génétique

Résumé : Les **hypogonadismes hypogonadotropes congénitaux (CHH)** sont des maladies héréditaires caractérisées par un déficit de sécrétion des gonadotrophines par l'hypophyse, à l'origine d'une infertilité ou d'une absence complète de puberté. On distingue les formes isolées avec olfaction normale (nCHH) et les formes syndromiques associant au déficit gonadotrope d'autres signes, tel qu'un défaut d'olfaction dans le cas du syndrome de Kallmann (SK), la forme plus fréquente de CHH. Les gènes identifiés dans le SK participent au développement embryonnaire et les gènes des nCHH sont impliqués dans la régulation de la sécrétion de la GnRH ou de son action. A ce stade, deux populations de neurones hypothalamiques gonadotropes sont connues, le neurone à GnRH et le neurone KNDy, sécrétant les Kisspeptines et la Neurokinine B. On estimait que l'ensemble des gènes identifiés couvraient moins de 20% des étiologies génétiques. **L'objectif de ce doctorat** était d'étudier prévalences et mécanismes

physiopathologiques des gènes connus et d'identifier de nouvelles étiologies génétiques de CHH. **Dans la première partie**, nous avons caractérisé la fonctionnalité de tous les variants identifiés sur les gènes *KISS1R*, *TACR3* et *TAC3*. Cela a permis de préciser les prévalences chez 600 patients, d'identifier un profil neuroendocrinien propre à l'altération de la signalisation Neurokinine B et de démontrer l'implication des Kisspeptines au cours de la vie embryonnaire. Enfin, nous proposons un modèle d'interaction entre le neurone à GnRH et le neurone KNDy. **Dans la seconde partie**, nous avons identifié deux nouveaux gènes, *SEMA3A* dans une forme familiale de SK et *PNPLA6* dans une forme familiale rare de CHH syndromique. **En conclusion**, notre connaissance accrue des formes génétiques de CHH, a permis de développer un panel d'exome ciblé dédié au diagnostic par séquençage nouvelle génération permettant l'analyse simultanée de gènes candidats et de gènes connus.

Title : Contribution to the characterization of new genes involved in the hypogonadotropic hypogonadism: characterization of molecular and cellular mechanisms

Keywords : hypogonadism, Kallmann, GnRH, kisspeptine, functional characterization, genetics

Abstract : **Congenital hypogonadotropic hypogonadism (CHH)** is characterized by deficient or absent pubertal development due to deficient or absent secretion of the pituitary gonadotropins. The many known genetic causes are generally classified into distinct nosological groups. One comprises abnormalities that affect the pre-natal development or migration of GnRH neurons, the paradigm of which is Kallmann syndrome. The other encompasses molecular abnormalities that only affect hypothalamic GnRH synthesis, GnRH release or GnRH signaling at pituitary level. At this stage, two populations of hypothalamic neurons implicated in a gonadotrop function are identified, GnRH neurons and KNDy neurons secreting kisspeptins and neurokinin B. All of the identified genes would represent less than 20% of genetic etiologies. **The aim of this PhD** was to study the prevalence and pathophysiology mechanisms of

known genes and to identify new genetic etiologies of CHH. **In the first part**, we characterized the function of all molecular events identified on *KISS1R*, *TACR3* and *TAC3* genes. Prevalences were estimated in 600 patients. A particular neuroendocrine profile was identified in patients presenting an alteration of neurokinin B signaling. Importance of Kisspeptins during embryonic life was validated. According to these data, a model of interaction between GnRH and KNDy neurons was proposed. **In the second part**, we identified two new CHH genes using various molecular genetics approaches. *SEMA3A* was identified in a familial form of Kallmann syndrome and *PNPLA6* in a rare familial form of CHH. **Finally**, our increased knowledge of the various genetic forms of CHH allows proposing a new genetic approach based on next generation sequencing to test together all known and several candidate genes.