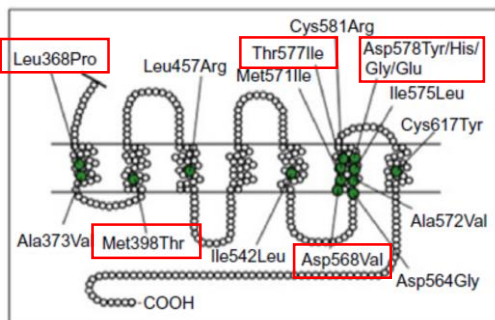


O. Vieira Pinto^{*a}, F. Magnin^a, N. Binart^a, J. Young^{a,b}, I. Beau^a^a INSERM U1185, Le Kremlin Bicêtre, FRANCE^b Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, FRANCE

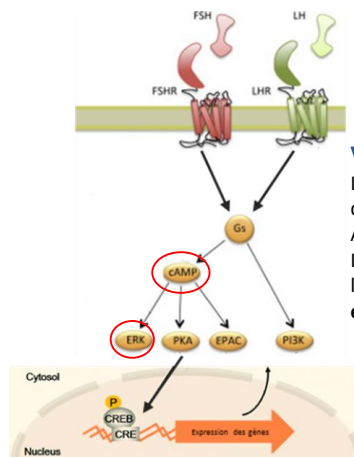
Contexte et objectifs

Des mutations activatrices rares du récepteur de la LH (LHCGR) causent **une forme familiale de puberté précoce décrite seulement chez les garçons**.¹ A ce jour, aucun phénotype n'a été observé chez les femmes porteuses de ces mutations (mères ou sœurs de patients atteints) mais très peu d'explorations ont été réalisées chez ces patientes.^{2,3}



Mutations activatrices du LHCGR

Les mutations activatrices encadrées en rouge sont présentes à l'état hétérozygote les mères ou les sœurs des garçons présentant une puberté précoce.



Voies de signalisation du LHCGR

Liaison de la LH sur son récepteur : activation des protéines Gs et de la voie canonique Adenylate Cyclase/AMPC/PKA.

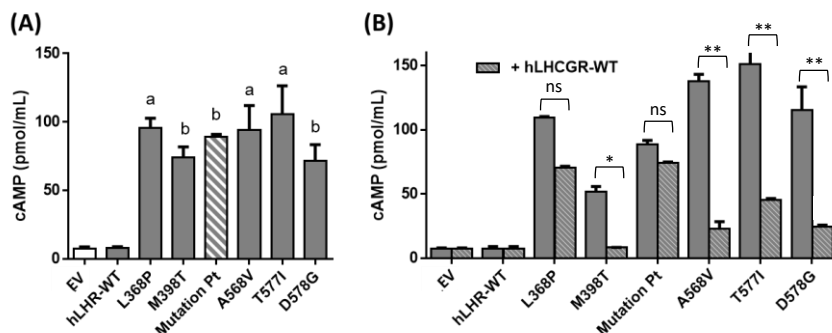
Les voies cAMP/PKA et ERK1/2 contribuent à la **régulation de la maturation des ovocytes et des follicules**.

Pour la première fois, nous avons découvert une **mutation activatrice hétérozygote du LHCGR chez une patiente (mutation Pt) présentant une hyperandrogénie sévère post-pubertaire et une anovulation**.

L'objectif de notre étude est de comprendre pourquoi et comment cette mutation activatrice est responsable de l'apparition d'un phénotype chez cette femme. Une **étude fonctionnelle comparative** de toutes les mutations activatrices naturelles publiées du LHCGR identifiées chez des garçons atteints de puberté précoce et sans phénotype chez les filles porteuses a été réalisée dans un même système.

Résultats

Voie de l'AMPC



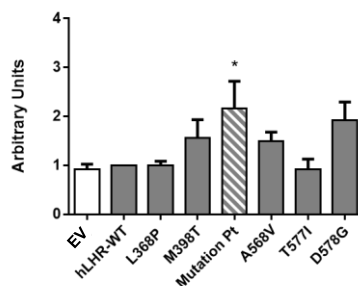
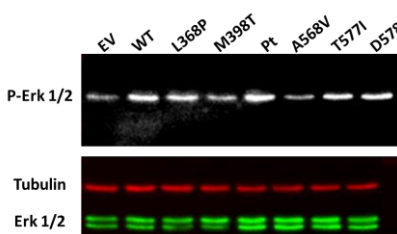
Accumulation intracellulaire d'AMPC dans les cellules exprimant les hLHCGR sauvage ou/et mutés

Les cellules AD-293 ont été transfectées avec les vecteurs d'expression codant le LHCGR humain sauvage (WT) ou/et muté. La concentration d'AMPC intracellulaire a été déterminée.

(A) a: ****P<0.0001 et b : ***P<0.001 par le test ANOVA. (B) ** P<0.01, *P<0.05 et ns : non significatif par le test ANOVA.

- Tous les variants ont une **activité constitutive équivalente** : la production d'AMPC est augmentée de 7 à 8 fois/récepteur sauvage.
- Quand les variants sont co-exprimés avec le LHCGR sauvage (pour mimer l'hétérozygotie), la production d'AMPC est diminuée **SAUF** pour le variant L368P et celui de notre patiente : **effet dominant positif**

Voie des MAP-kinases



Etude de la phosphorylation de Erk1/2 par Western Blot.

Les cellules AD-293 ont été transfectées avec un vecteur vide (EV) ou pcDNA3-HA-hLHCGR sauvage (WT) ou muté. L'expression de phospho-Erk1/2 (P-Erk1/2), de Erk1/2 et de la tubuline a été analysée par Western Blot. *P<0.05 par le test ANOVA, n = 5.

- Le variant de la patiente a une **activité constitutive significative sur la voie des MAP-kinases**.

Conclusion

- **Signalisation exacerbée de la voie AMPC en « homozygote » et « hétérozygote »**
- **Effet dominant positif** : capacité de **dimérisation** du LHCGR
- **Activité constitutive sur la voie des MAP-kinases (Erk 1/2)**

¹ Huhtaniemi I et al, Book chapter, The Ovary, 2019

² Latronico AC et al, Clin Endocrinol, 2000

³ Rosenthal I et al, J Clin Endocrinol Metab, 1996