



HAL
open science

Résultats de l'AMP intraconjugale chez les hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y

Julian Poquet

► **To cite this version:**

Julian Poquet. Résultats de l'AMP intraconjugale chez les hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03202339

HAL Id: dumas-03202339

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03202339>

Submitted on 19 Apr 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R. DES SCIENCES MÉDICALES

Année 2021

Thèse n° 3004

THÈSE POUR L'OBTENTION DU

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement par

Julian POQUET

Né le 11/10/1991 à Brive-la-Gaillarde

Le vendredi 26 février 2021

**Résultats de l'AMP intraconjugale chez les hommes infertiles
porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré ou d'une
microdélétion du chromosome Y**

Sous la direction du Docteur Hélène LHEUREUX

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Clément JIMENEZ
Madame le Docteur Lucie CHANSEL-DEBORDEAUX
Madame le Professeur Bérénice DORAY
Monsieur le Docteur Jérôme TOUTAIN
Monsieur le Docteur Joffrey MONS

Président
Rapporteur
Examinateur
Examinateur
Examinateur

U.F.R. DES SCIENCES MÉDICALES

Année 2021

Thèse n°3004

THÈSE POUR L'OBTENTION DU

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement par

Julian POQUET

Né le 11/10/1991 à Brive-la-Gaillarde

Le vendredi 26 février 2021

Résultats de l'AMP intraconjugale chez les hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y

Sous la direction du Docteur Hélène LHEUREUX

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Clément JIMENEZ
Madame le Docteur Lucie CHANSEL-DEBORDEAUX
Madame le Professeur Bérénice DORAY
Monsieur le Docteur Jérôme TOUTAIN
Monsieur le Docteur Joffrey MONS

Président
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur

Remerciements

Aux membres du jury,

Monsieur le Professeur Clément JIMENEZ, vous me faites l'honneur de présider cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Madame le Docteur Lucie CHANSEL-DEBORDEAUX, merci d'avoir pris du temps pour m'aider à recueillir les données bordelaises de cette thèse et d'avoir accepté d'en être le rapporteur. Merci pour tes corrections. J'ai beaucoup appris à tes côtés lors de mon semestre de BDR à Pellegrin. Ta rigueur et ton sens des responsabilités, ainsi que tes qualités humaines, sont un exemple pour nous tous. Je te prie de trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Madame le Professeur Bérénice DORAY, merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. J'ai eu la chance d'assister à vos consultations et de bénéficier de vos connaissances et de vos compétences pédagogiques. J'ai pu également me rendre compte de l'empathie et de la disponibilité que vous montrez constamment à l'égard de vos patients, et j'en suis admiratif. Je vous prie de trouver ici l'expression de mon plus profond respect.

Monsieur le Docteur Jérôme TOUTAIN, merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. J'ai découvert la cytogénétique grâce au stage d'initiation à la recherche effectué dans ton service, et l'intérêt que tu portes à ta discipline a été communicatif. Ton expertise et tes conseils ont été précieux dans l'élaboration de cette thèse. Je te prie de trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Joffrey MONS, merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Tu as joué un rôle déterminant dans ma formation. Le fait de travailler à tes côtés a été très enrichissant sur le plan scientifique, mais aussi en ce qui concerne tous les aspects pratiques de notre métier. Ta spontanéité et ton professionnalisme sont particulièrement inspirants. Je te prie de croire à ma sincère reconnaissance et à mon profond respect.

À ma directrice de thèse,

Madame le Docteur Hélène LHEUREUX, merci d'avoir accepté de diriger ce travail. J'ai bénéficié de tes connaissances et de ton expérience au cours de mes deux semestres de BDR à Saint-Pierre. Ta méticulosité et ton sens de l'organisation sont des exemples à suivre pour ma pratique future. Je te prie de trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

À Madame le Docteur Frédérique PAYET,

Merci de m'avoir fait découvrir ta spécialité, de m'avoir transmis une partie de ton savoir et de m'avoir permis d'acquérir des compétences élémentaires en cytogénétique. Tu as apporté une contribution significative à ce travail ainsi qu'à ma formation médicale de façon générale. Ton exigence et ta bonne humeur m'ont permis de progresser dans les meilleures conditions. Je te prie de croire à toute ma reconnaissance et à mon profond respect.

À l'équipe du centre d'AMP du CHU de Bordeaux,

Merci au Docteur Aline Papaxanthos, au Docteur Volcy Soula, à tous les techniciens et particulièrement à Carole, merci à Marianne et Anna, pour m'avoir fait découvrir la biologie de la reproduction. Si je m'apprête aujourd'hui à exercer cette spécialité passionnante, c'est en partie grâce à vous.

À l'équipe du centre d'AMP du CHU de la Réunion,

Merci aux techniciennes, celles qui ont partagé mon quotidien professionnel pendant deux semestres, qui ont toujours fait preuve de patience et de bienveillance à mon égard, qui m'ont donné les meilleurs conseils et qui prouvent chaque jour à quel point elles sont indispensables : Annie, Catherine, Eva et Karin. Je mesure la chance qui est la mienne d'avoir travaillé avec vous. Merci aux Docteurs Flye, Fontaine, Garrain, Jourdain, Bécart et Gabriele pour m'avoir transmis quelques rudiments de gynécologie, je ne garderai que des bons souvenirs de notre collaboration. Merci aux sages-femmes Sophie Rambelo, Sophie TKS, Nadège et Julie pour votre efficacité et votre enthousiasme. Merci également aux secrétaires Violetta, Muriel et Flavia, ainsi qu'à Yolaine, pour votre disponibilité.

À l'équipe du service de génétique du CHU de la Réunion,

Merci aux Docteurs Berg et Gueguen, à Pauline, à Susie, à tous les techniciens, aux secrétaires et à Joëlle, de m'avoir accueilli avec gentillesse et de m'avoir permis de découvrir votre univers.

À mes parents, sans qui rien n'aurait été possible,

Vous m'avez toujours apporté tout ce dont j'avais besoin, et pas seulement sur le plan matériel. Vous avez accompagné ma progression sans jamais m'obliger à quoi que ce soit et sans jamais m'empêcher d'atteindre mes objectifs. Vous m'avez fait confiance. Si j'ai toujours dû travailler et faire la preuve de mon mérite pour en arriver là, le destin m'a tout de même octroyé un privilège exceptionnel : celui d'être votre fils. Vous pourrez toujours compter sur moi.

À ma petite sœur,

Tu m'accompagnes depuis très longtemps et la vie serait beaucoup moins pétillante sans toi. Toujours en avance sur les autres, tu as su trouver ta voie et y réussir brillamment. Tu es aussi une personne généreuse et très attachante, qui fait preuve d'une aisance relationnelle et sociale dont j'aurais tout intérêt à m'inspirer ! On est très différents mais on est complémentaires. Je suis fier de toi. Je serai toujours là pour toi.

À mes amis,

Julie, pour les moments essentiels que nous partageons depuis de nombreuses années. Il est difficile d'envisager la suite sans toi, alors je souhaite que ça ne s'arrête pas et que je puisse continuer à recevoir les doses de bonheur, de rire et d'aventure que tu me procures sans modération et dont je suis dépendant. L'avenir est incertain mais si tu fais partie du mien, j'avancerai avec sérénité. Je veillerai toujours sur toi.

Louis, mon copain. Il n'est pas nécessaire de se répandre en émotions, notre condition d'hommes virils nous l'interdit et on nous prendrait pour de viles et souffreuses ménagères, ce qui nuirait considérablement à notre réputation. Rappelons plutôt ici notre inclination pour les joyeuses tavernes aux effluves de cervoise fraîche et mousseuse, où l'on s'autorise, après avoir rudement guerroyé, à mirer quelques donzelles de moyenne vertu (mais à la croupe généreuse) chalouper au son des cornemuses. Les meilleurs instants ne se racontent pas, ils se vivent. Tu es le plus souvent associé aux moments les plus heureux et les plus inoubliables que j'ai vécus ces dernières années. La complicité que nous avons forgée est inestimable, et je souhaite que l'avenir nous permette de la renforcer encore.

Didou, il se dit de l'amitié véritable qu'elle est imperméable au temps et aux circonstances. Lorsque je pense à tout ce que l'on a vécu, je ne peux qu'approuver cet adage. Ton indépendance et ton ouverture d'esprit t'ont permis de devenir le brillant self-made-man que nous connaissons aujourd'hui ! J'ai toujours été impressionné, parfois réconforté, par ton optimisme à toute épreuve. Je suis sûr que beaucoup de bons moments nous attendent.

Pierre et Mélissa, Albert et Audrey, Christo et Anaïs, Caza et Clara, Bruno, Toto, Tristan, Charles, May, Brune et tous les autres, merci pour les jours heureux et les nuits non moins mémorables passés ensemble. Il y en aura d'autres.

Table des matières

Table des illustrations.....	11
Table des tableaux.....	13
Liste des abréviations.....	14
Introduction.....	16
1. Généralités.....	18
1.1. Gonade masculine.....	18
1.1.1. Embryologie.....	18
1.1.2. Structure et histologie du testicule.....	19
1.1.3. Spermatogenèse.....	20
1.1.4. Spécificités de la méiose.....	22
1.1.5. Régulation hormonale de la spermatogenèse.....	25
1.2. Bilan de l'infertilité masculine d'origine génétique.....	26
1.2.1. Indications du bilan génétique.....	27
1.2.2. Moyens d'exploration.....	28
1.2.2.1. Caryotype.....	28
1.2.2.2. Recherche de microdélétions du chromosome Y.....	29
1.2.2.3. FISH sur spermatozoïdes.....	30
1.3. Anomalies chromosomiques à l'origine de l'infertilité masculine.....	32
1.3.1. Anomalies numériques des gonosomes (dysgonosomies).....	32
1.3.1.1. Syndrome de Klinefelter.....	32
1.3.1.2. Syndrome 47,XYY.....	35
1.3.2. Réarrangements structuraux du chromosome Y.....	35
1.3.3. Anomalies autosomiques structurales.....	36
1.3.3.1. Translocations réciproques.....	37
1.3.3.2. Translocations robertsoniennes.....	39
1.3.3.3. Inversions.....	41
1.3.3.4. Mécanismes à l'origine des troubles de la spermatogenèse chez les patients porteurs de translocations.....	44
1.3.3.5. Effet interchromosomique (ICE).....	45
1.3.3.6. Fausses-couches à répétition (FCR).....	45
1.4. Microdélétions du chromosome Y.....	46
1.5. Identification des gènes de l'infertilité.....	49
1.5.1. Analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA).....	49
1.5.2. Séquençage nouvelle génération (NGS).....	50

1.5.3. Exemple du gène <i>TEX11</i>	51
1.6. Prise en charge de l'infertilité masculine d'origine génétique.....	52
1.6.1. Conseil génétique.....	52
1.6.2. Biopsie testiculaire.....	54
1.6.3. ICSI	59
1.6.4. Diagnostic pré-implantatoire (DPI).....	60
1.6.5. Diagnostic prénatal (DPN).....	62
1.6.6. Prise en charge psychologique.....	63
2. Étude rétrospective.....	64
2.1. Objectifs	64
2.2. Matériels et méthodes.....	65
2.2.1. Population étudiée.....	65
2.2.2. Réalisation du caryotype	66
2.2.3. Recherche des microdélétions du chromosome Y	66
2.2.4. Recueil et utilisation des données	67
2.2.5. Analyse statistique.....	67
2.3. Résultats	68
2.3.1. Données épidémiologiques	68
2.3.2. Résultats de la biopsie testiculaire	72
2.3.3. Étude des paramètres hormonaux chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y	73
2.3.4. Résultats de l'AMP chez les patients porteurs de remaniements chromosomiques équilibrés.....	75
2.3.5. Résultats de l'AMP chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y	79
2.3.6. Résultats du DPN	82
3. Discussion	83
3.1. Résultats de l'AMP intraconjugale	83
3.2. Données épidémiologiques.....	88
3.3. Biopsie testiculaire	90
3.4. Limites.....	91
Conclusion.....	92
Références	93

Table des illustrations

Figure 1 : Anatomie du testicule, d'après Skinner (9).....	19
Figure 2 : Préparation histologique d'une section à travers un tube séminifère contourné chez un adulte, d'après le site <i>embryologie.ch</i> (7).....	20
Figure 3 : La spermatogenèse, d'après C. Pax (10).....	22
Figure 4 : Représentation d'un complexe synaptonémal à partir d'une observation au microscope électronique, d'après Dunne et Davies (12).....	24
Figure 5 : Régulation hormonale de la spermatogenèse, d'après Brehm et Steger (13).....	26
Figure 6 : Exemple de caryotype masculin en bandes G, d'après Gersen et Keagle (19).....	29
Figure 7 : Exemple de FISH sur spermatozoïdes, d'après Hwang <i>et al.</i> (20).....	31
Figure 8 : Représentation des points de cassure d'une translocation t(1;10)(p22.1;q22.3) et de la position des sondes utilisées en FISH pour caractériser l'anomalie, d'après Hummelen <i>et al.</i> (21).....	31
Figure 9 : Coupes histologiques d'un patient porteur d'un syndrome de Klinefelter homogène, d'après Ravel <i>et al.</i> (23).....	34
Figure 10 : Ségrégation théorique des gamètes chez un homme porteur d'un caryotype 47,XXY, d'après Ravel <i>et al.</i> (23).....	34
Figure 11 : Ségrégation méiotique en cas de translocation réciproque, d'après Benet <i>et al.</i> (31).....	38
Figure 12 : Ségrégation méiotique à partir d'un trivalent en cas de translocation robertsonienne, d'après Godo <i>et al.</i> (36).....	40
Figure 13 : FISH double couleur sur noyaux spermatiques avec des sondes spécifiques des chromosomes 13 (vert) et 14 (rouge) chez un patient porteur d'une translocation robertsonienne der(13 ;14), d'après Du <i>et al.</i> (39).....	41
Figure 14 : Ségrégation méiotique en cas d'inversion paracentrique, d'après Yapan <i>et al.</i> (40).....	43
Figure 15 : Ségrégation méiotique en cas d'inversion péricentrique, d'après Griffiths <i>et al.</i> (42).....	43
Figure 16 : Structure du chromosome Y humain, d'après Colaco et Modi (14).....	48

Figure 17 : Organisation schématique des régions AZFb et AZFc, d'après Colaco et Modi (14)	48
Figure 18 : Hybridation génomique comparative sur puce à ADN	50
Figure 19 : Les étapes du NGS	51
Figure 20 : Biopsie testiculaire d'un patient porteur de la mutation du gène <i>TEX11</i> : arrêt de maturation	52
Figure 21 : Taux de réussite de la biopsie testiculaire en fonction de l'âge chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter, d'après Rohayem <i>et al.</i> (53)	56
Figure 22 : Biopsie testiculaire : mise en évidence d'un arrêt de maturation, d'après Robin <i>et al.</i> (55)	57
Figure 23 : Biopsie testiculaire : mise en évidence d'une spermatogenèse incomplète et d'un SCOS, d'après Robin <i>et al.</i> (55)	58
Figure 24 : A : Ovocyte entouré de la corona radiata; B : micro-injection d'un ovocyte décoronisé, d'après le site <i>gfmer.ch</i> (57)	59
Figure 25 : Les différents stades du développement embryonnaire, d'après Ogilvie <i>et al.</i> (58)	61
Figure 26 : Biopsie de blastomère, d'après Ogilvie <i>et al.</i> (58)	62
Figure 27 : Exemple de résultat de recherche de microdélétions du chromosome Y	67
Figure 28 : Répartition des différentes anomalies chromosomiques	69
Figure 29 : Répartition des microdélétions du chromosome Y	72
Figure 30 : Indications de la prise en charge en AMP pour les groupes « anomalies chromosomiques » et « contrôle »	76
Figure 31 : Indications de la prise en charge en AMP pour les groupes « microdélétions du Y » et « contrôle »	79
Figure 32 : Graphique en forêt montrant qu'il y a globalement plus de grossesses chez les patients porteurs de translocations qui ont recours au DPI que chez ceux qui n'y ont pas recours, d'après Mahdavi <i>et al.</i> (67)	86

Table des tableaux

Tableau 1 : Formules correspondant aux différents types d'anomalies chromosomiques	70
Tableau 2 : Résultats du spermogramme en fonction du type d'anomalie	71
Tableau 3 : Étude de l'âge et des paramètres hormonaux en fonction du résultat de la BT chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter (KS)*	73
Tableau 4 : Comparaison des paramètres hormonaux entre les patients porteurs de microdélétions AZFc complètes ou partielles et les patients porteurs d'autres microdélétions*	74
Tableau 5 : Comparaison des paramètres hormonaux entre les patients porteurs de microdélétions présentant une azoospermie et ceux présentant une cryptozoospermie ou une oligospermie sévère*	74
Tableau 6 : Formules chromosomiques des patients porteurs d'anomalies structurales équilibrées pris en charge en AMP	75
Tableau 7 : Comparaison des critères du groupe « anomalies chromosomiques » par rapport à ceux du groupe « contrôle »*	77
Tableau 8 : Résultats de l'AMP chez les patients porteurs d'anomalies chromosomiques équilibrées ^a	78
Tableau 9 : Comparaison des critères du groupe « microdélétions du chromosome Y » par rapport à ceux du groupe « contrôle »*	80
Tableau 10 : Résultats de l'AMP chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y ^a	81
Tableau 11 : Résultats du DPN chez les patients porteurs d'anomalies chromosomiques équilibrées	82

Liste des abréviations

Par ordre d'apparition dans le texte

- OMS : Organisation mondiale de la Santé
- ICSI : intracytoplasmic sperm injection
- BT : biopsie testiculaire
- DPI : diagnostic pré-implantatoire
- DPN : diagnostic prénatal
- AMP : assistance médicale à la procréation
- ADN : acide désoxyribonucléique
- PAR : pseudoautosomal region
- CS : complexe synaptonémal
- GnRH : gonadotropin-releasing hormone
- LH : luteinizing hormone
- FSH : follicle stimulating hormone
- ABP : androgen-binding protein
- mL : millilitres
- AUA : American Urological Association
- ASRM : American Society for Reproductive Medicine
- EAA : European Academy of Andrology
- AFU : Association Française d'Urologie
- SALF : Société d'Andrologie de Langue Française
- FISH : fluorescence *in situ* hybridization
- Mb : mégabases
- AZF : azoospermia factor
- Kb : kilobases
- PCR : polymerase chain reaction
- STS : sequence tagged sites
- SCA : sex chromosomes aneuploidies
- OMIM : Online Mendelian Inheritance in Man
- ICE : interchromosomal effect
- FCR : fausses-couches à répétition

- DAZ : deleted in azoospermia
- ARN : acide ribonucléique
- ACPA : analyse chromosomique sur puce à ADN
- NGS : next generation sequencing
- CNV : copy number variation
- PZD : partial zona dissection
- SUZI : subzonal insemination
- CPDPN : centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal

Introduction

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), l'infertilité correspond à l'impossibilité d'obtenir une grossesse après au moins douze mois de rapports sexuels réguliers non protégés au sein d'un même couple (1). Elle affecte environ 15% des couples qui essaient de concevoir (2). Les facteurs masculins sont impliqués dans la moitié des cas environ (de façon isolée ou en association avec des facteurs féminins) et jusqu'à 30% des cas d'infertilité masculine surviendraient en raison d'une anomalie génétique pouvant causer des troubles de la spermatogenèse (3). Les anomalies de la spermatogenèse peuvent entraîner une oligospermie (numération des spermatozoïdes diminuée), voire une azoospermie dite non obstructive (absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat). Les anomalies chromosomiques (numériques ou structurales) et les microdélétions du chromosome Y figurent parmi les étiologies génétiques principales d'oligospermie et d'azoospermie non obstructive. Le développement de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) et de la biopsie testiculaire (BT) dans les années 1990 a permis d'offrir une alternative à l'insémination avec sperme de donneur et de maintenir la filiation biologique chez les hommes infertiles.

Les anomalies chromosomiques structurales équilibrées sont associées à une plus haute probabilité de fausse-couche et de naissance d'enfants porteurs de handicap (4). Lorsqu'une telle anomalie est diagnostiquée, il est possible de recourir au diagnostic pré-implantatoire (DPI) afin de réduire le risque de fausse-couche et d'éviter la transmission d'une anomalie déséquilibrée à la descendance. Cependant, le DPI ne peut pas être réalisé en routine pour tous les patients porteurs d'anomalies structurales, notamment en raison du coût important et de la disponibilité limitée de la technique. Par ailleurs, cette procédure n'est pas très performante pour détecter les anomalies en mosaïque : c'est pourquoi il reste nécessaire de recourir au diagnostic prénatal (DPN) afin d'éliminer avec certitude une anomalie déséquilibrée chez le fœtus. Alors qu'il existe de nombreuses études sur les résultats de l'assistance médicale à la procréation (AMP) après DPI chez les patients porteurs d'anomalies structurales, les données sont plus limitées en cas de prise en charge sans DPI (5).

Cette étude a pour objectif d'analyser les résultats de l'AMP intraconjugale chez les hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré qui n'ont

pas eu recours au DPI, afin de déterminer si ce type d'anomalie peut avoir un impact sur les chances de grossesse. Cette démarche pourrait permettre d'apporter des informations supplémentaires aux hommes infertiles porteurs d'une anomalie structurale équilibrée dans le cadre du conseil génétique.

La problématique est différente en ce qui concerne les microdélétions du chromosome Y. En effet, les hommes porteurs de cette anomalie la transmettent obligatoirement à leur descendance masculine, ce qui implique que les garçons hériteront de l'infertilité de leur père. En dehors de cette particularité, il a été montré que les chromosomes Y délétés étaient instables au cours des divisions cellulaires et que cette instabilité pouvait se manifester dès les tout premiers stades du développement embryonnaire (6). Il est donc pertinent de questionner l'impact des microdélétions du chromosome Y sur les résultats de l'AMP.

1. Généralités

1.1. Gonade masculine

1.1.1. Embryologie

D'après embryologie.ch (7)

Les cellules germinales primordiales constituent l'origine commune des spermatozoïdes et des ovocytes. Elles peuvent être mises en évidence dès la deuxième semaine de développement embryonnaire. Après avoir migré le long de la paroi de la vésicule vitelline et traversé le mésentère dorsal, les cellules germinales primordiales colonisent la crête génitale vers la sixième semaine et se multiplient par mitose, pendant que se forment les cordons sexuels. La crête génitale constitue alors l'ébauche gonadique primitive. À ce stade du développement embryonnaire, on ne peut pas encore différencier l'ébauche gonadique mâle et femelle, c'est pourquoi on parle également d'ébauche gonadique indifférenciée.

Le gène *SRY* (sex determining region of the Y chromosome) est le gène majeur du processus de différenciation sexuelle. Il s'exprime dans les cellules somatiques des crêtes génitales masculines. En son absence, le développement est celui d'un phénotype féminin.

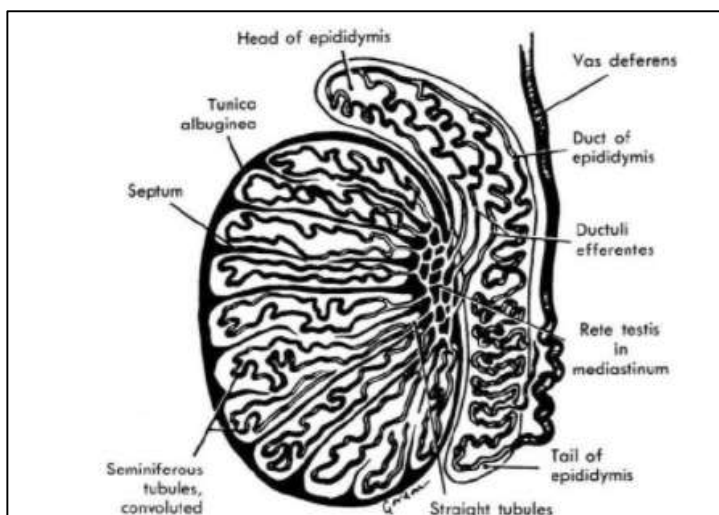
Sous l'influence du gène *SRY* et d'autres gènes, les cordons sexuels prolifèrent, croissent en profondeur et deviennent des cordons séminifères. Jusqu'à la puberté, les cordons séminifères sont pleins. Ce n'est qu'à partir de ce stade qu'ils se creusent, qu'apparaît une lumière et que les cellules germinales primordiales deviennent des spermatogonies.

Au moment de sa formation, le testicule est amarré en haut au diaphragme et en bas à la région inguinale. Il restera intra-abdominal jusqu'à la fin du sixième mois de vie intra-embryonnaire et atteindra le scrotum au cours du huitième mois (8).

1.1.2. Structure et histologie du testicule

D'après Mauvais-Jarvis (8)

Le testicule est formé par le tissu testiculaire, lui-même enveloppé par l'albuginée (figure 1). À la partie antérieure du bord supérieur, l'albuginée s'épaissit et s'enfonce comme un coin triangulaire dans la profondeur du testicule, formant le corps de Highmore. Le tissu est essentiellement constitué de tubes séminifères groupés en lobules et séparés par des cloisons inter-lobulaires. Chaque lobule communique avec ceux qui l'avoisinent. Les tubes séminifères sont disposés en rayons, de la face interne de l'albuginée vers le corps de Highmore. Ils sont au nombre de 850 environ, longs et fins, fortement circonvolus et pelotonnés sur eux-mêmes. D'un diamètre moyen de 300 à 400 μm , ces tubules sont de longueur variable, pouvant atteindre 80 à 100 cm. Ils ont une ou plusieurs connexions avec un réseau de canaux appelé *rete testis*, qui permet d'acheminer les spermatozoïdes des tubes séminifères vers les canaux efférents (*ductuli efferentes*) et le canal épидидymaire, situés à l'extérieur du testicule. Les cellules de Sertoli sont localisées dans l'épithélium séminifère dont elles occupent toute l'épaisseur (figure 2). Elles sont en relation étroite avec les cellules germinales et jouent un rôle prépondérant dans leur différenciation en spermatozoïdes. Elles contribuent également à la formation de la barrière hémato-testiculaire.



- *Vas deferens* : canal déférent
- Duct of epididymis : canal épидидymaire
- *Ductuli efferentes* : canaux efférents
- Tail of epididymis : queue de l'épididyme
- Straight tubules : tubes droits
- Seminiferous tubules convoluted : tubes séminifères contournés
- Tunica albuginea : albuginée
- Head of epididymis : tête de l'épididyme

Figure 1 : Anatomie du testicule, d'après Skinner (9)

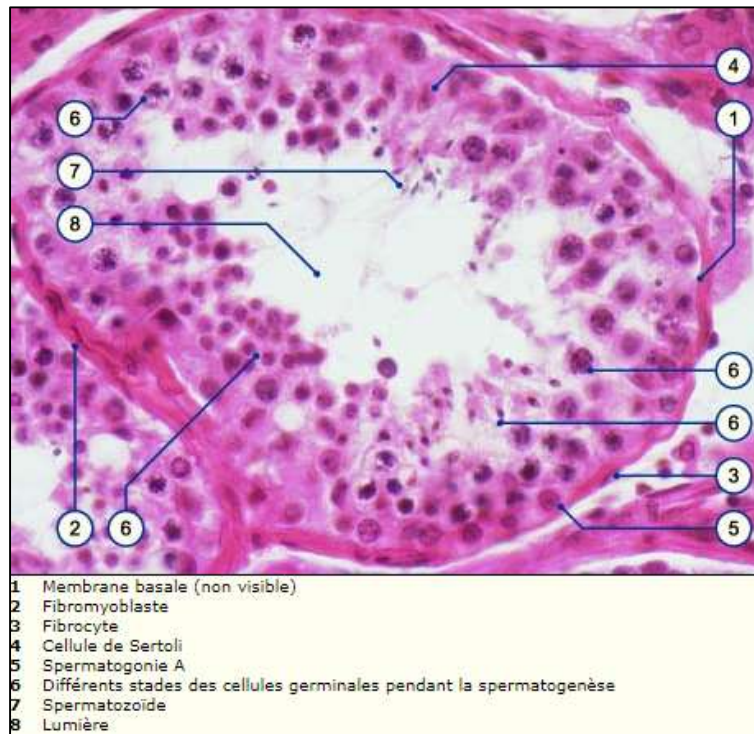


Figure 2 : Préparation histologique d'une section à travers un tube séminifère contourné chez un adulte, d'après le site embryologie.ch (7)

1.1.3. Spermatogenèse

D'après Mauvais-Jarvis (8)

La spermatogenèse est le processus de différenciation cellulaire qui aboutit à la formation des spermatozoïdes. C'est un phénomène long et complexe qui se déroule dans les tubes séminifères où les cellules germinales, associées aux cellules de Sertoli, forment un épithélium spécifique. Trois types de cellules germinales sont impliqués dans ce processus : les spermatogonies, les spermatocytes et les spermatides. À chacun de ces types cellulaires correspond une phase de la spermatogenèse. Ainsi, dans une première phase (mitose), les spermatogonies se renouvellent et donnent simultanément naissance aux spermatocytes. Au cours de la deuxième phase (méiose), les spermatocytes se divisent en spermatides, qui au cours de la troisième phase se métamorphosent en spermatozoïdes (figure 3).

Il existe plusieurs types de spermatogonies : Ad, Ap et B. Toutes sont diploïdes, c'est-à-dire qu'elles contiennent deux exemplaires de chaque chromosome. Les spermatogonies de type A constituent des cellules souches dites « de renouvellement ». Les spermatogonies de type B sont à l'origine des spermatocytes 1

qui vont entrer dans la première division méiotique, dite réductionnelle car elle permet le passage d'une cellule diploïde à deux cellules haploïdes contenant chacune 23 chromosomes. Les cellules haploïdes ainsi obtenues sont appelées spermatocytes 2. Ces derniers vont s'engager dans la deuxième division méiotique, dite équationnelle. Ce processus permet le passage d'une cellule à 23 chromosomes à deux cellules à 23 chromatides appelées spermatides. Puis, au cours du processus de spermiogénèse, chaque spermatide donne naissance à un spermatozoïde sous l'effet de différentes modifications (condensation du noyau, formation de la pièce intermédiaire et du flagelle, formation de l'acrosome). Chaque spermatogonie de type B permet la formation de huit spermatozoïdes.

La durée de la spermatogénèse est constante pour une espèce donnée. Chez l'homme, elle est d'environ 74 jours et la production de spermatozoïdes est permanente de la puberté jusqu'à un âge avancé. On estime que les spermatogonies entrent en division de façon périodique tous les 16 jours. Ainsi, dans un même tube séminifère, différentes générations de spermatogénèse évoluent en même temps, enroulées en spirale les unes sur les autres et se dirigeant de la paroi vers la lumière. Ce phénomène est observable sur des sections de tubes séminifères.

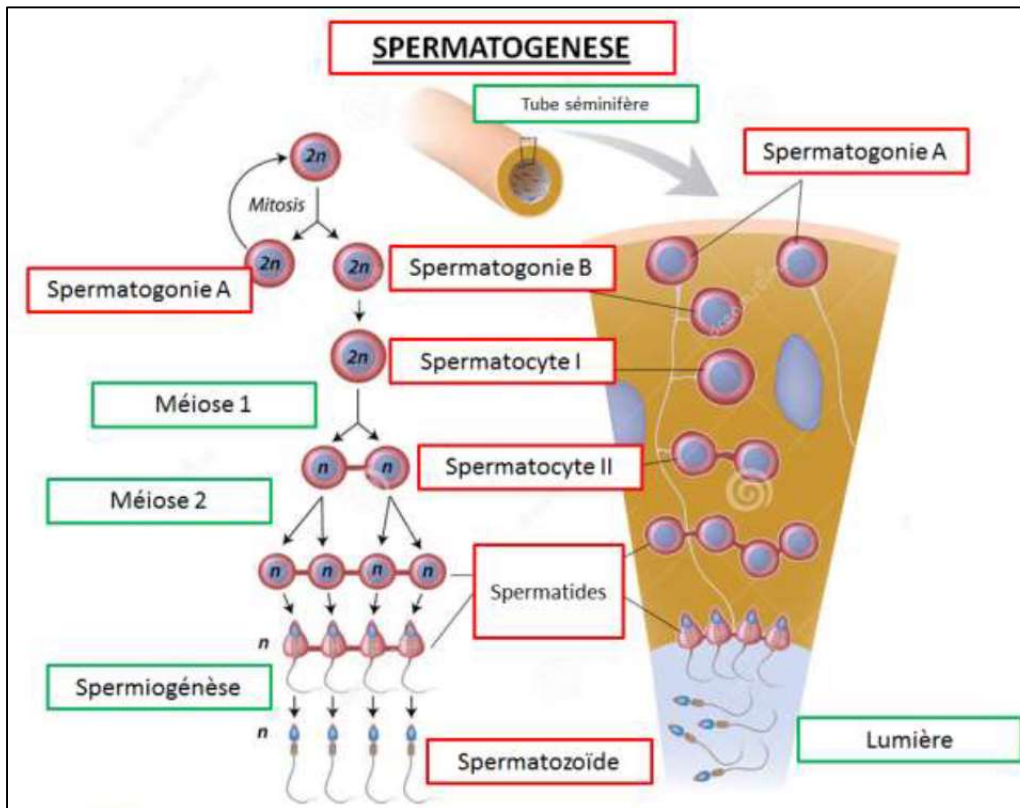


Figure 3 : La spermatogenèse, d'après C. Pax (10)

1.1.4. Spécificités de la méiose

D'après Ghalamoun et Guichaoua (11)

Alors que la méiose comprend deux divisions successives, il ne se produit au total qu'une seule répllication de l'ADN. Cette répllication se caractérise par une durée plus longue que celle qui est observée lors de la mitose. Cette particularité est en partie liée au fait que les cassures double brins qui initient la recombinaison génétique se produisent vraisemblablement à la fin de la répllication. Cette étape qui précède le début de la méiose porte le nom de stade pré-leptotène. La prophase de la première division méiotique débute par l'individualisation des chromosomes attachés par leurs télomères à la surface interne de la membrane nucléaire : c'est le stade leptotène. Au cours du stade suivant, appelé zygotène, les chromosomes homologues s'apparient sous forme de bivalents, en commençant par les extrémités. Le stade suivant, pachytène, correspond à l'appariement complet des chromosomes, excepté les chromosomes X et Y. Puis, au stade diplotène, les chromosomes homologues se séparent, excepté au niveau des chiasmats, qui sont les témoins des événements de

recombinaison génétique. La prophase de la première division méiotique s'achève par la diacinèse, au cours de laquelle les bivalents se condensent et se détachent de la membrane nucléaire.

L'appariement des chromosomes au cours de la prophase 1 de la méiose est rendu possible grâce à la formation de structures protéiques sur lesquelles se fixent les homologues. Chacune de ces structures porte le nom de complexe synaptonémal (CS). Il existe un CS pour chaque bivalent autosomique, ainsi que pour la paire XX chez la femme, qui s'étend sur toute la longueur des chromosomes. Chez l'homme, il existe un petit complexe pour les chromosomes sexuels sur lequel s'apparient les régions pseudo-autosomiques (PAR) des chromosomes X et Y. Le CS a la forme d'un rail comprenant un élément central et deux éléments latéraux sur lesquels se fixent les chromosomes homologues (figure 4). Les chromatides sœurs de chaque homologue sont maintenues jointes par des protéines appelées cohésines. Les éléments latéraux des CS apparaissent au stade leptotène sous la forme d'éléments axiaux discontinus.

La recombinaison génétique méiotique est un ensemble d'événements extrêmement complexes qui débute par des cassures double brins et s'achève par la résolution des crossing-over à la transition métaphase 1 – anaphase 1. Dans un grand nombre d'espèces, dont l'Homme, la recombinaison génétique et l'appariement des homologues sont deux événements étroitement liés, et l'altération de l'un de ces phénomènes peut entraîner des conséquences telles que l'absence d'appariement (asynapsis) ou la fragmentation des bivalents.

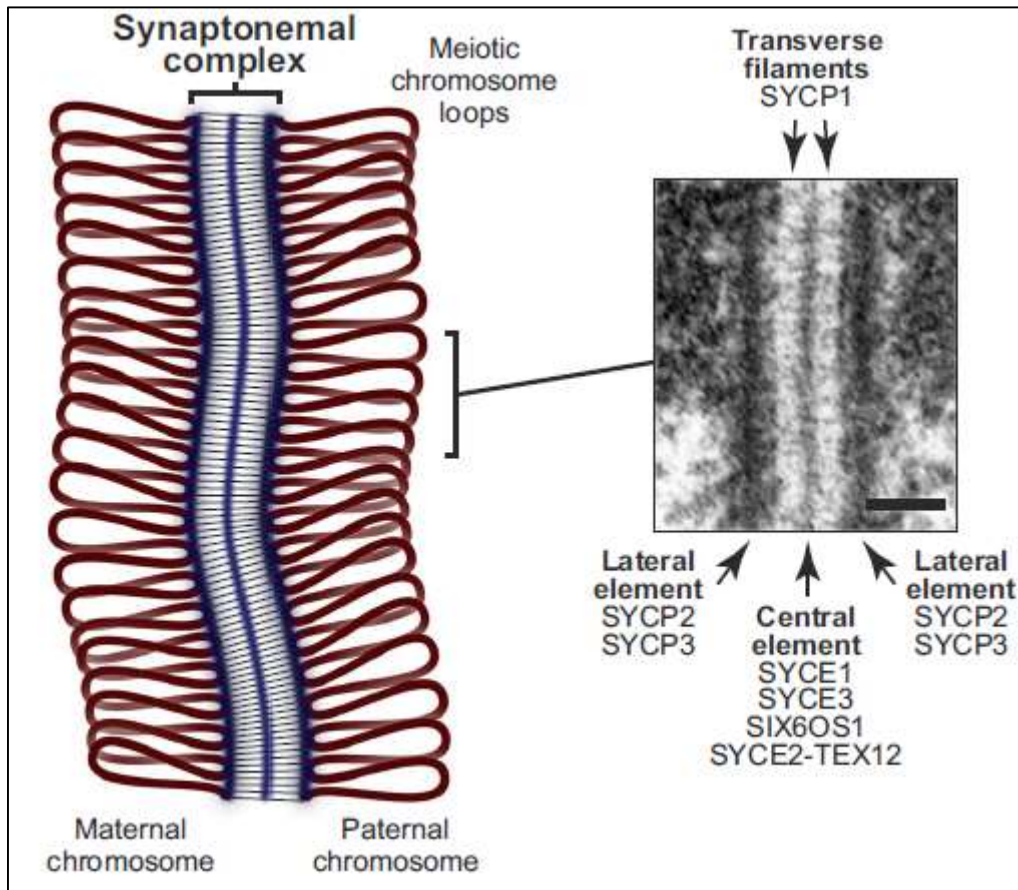


Figure 4 : Représentation d'un complexe synaptonémal à partir d'une observation au microscope électronique, d'après Dunne et Davies (12)

SYCP : synaptonemal complex protein ; *SYCE* : synaptonemal complex element ; *SIX6OS1* : six 6 opposite strand transcript 1 ; *SYCE2-TEX12* : synaptonemal complex element 2 – testis expressed 12

- Synaptonemal complex : complexe synaptonémal
- Meiotic chromosome loops : boucles chromosomiques méiotiques
- Maternal chromosome : chromosome maternel
- Paternal chromosome : chromosome paternel
- Transverse filaments : filaments transverses
- Lateral element : élément latéral
- Central element : élément central

1.1.5. Régulation hormonale de la spermatogenèse

D'après Brehm et Steger (13)

La régulation hormonale de la spermatogenèse est organisée comme un circuit de contrôle avec un mécanisme de rétrocontrôle négatif impliquant l'hypothalamus, l'hypophyse et les testicules (figure 5). Des neurones spécifiques localisés dans l'hypothalamus synthétisent la GnRH (gonadotropin-releasing hormone), qui induit la production de deux hormones par l'hypophyse : la LH (luteinizing hormone) et la FSH (follicle stimulating hormone). Une fréquence de pulsation élevée de GnRH (une impulsion par heure) induit une production de LH tandis qu'une fréquence de pulsation basse (une impulsion toutes les deux heures) induit une production de FSH. Au niveau testiculaire, la LH induit la synthèse de testostérone par les cellules de Leydig, ce qui génère un rétrocontrôle négatif de la synthèse des hormones hypothalamo-hypophysaires. La FSH, quant à elle, agit sur les cellules de Sertoli en induisant la production d'ABP (androgen-binding protein) grâce à laquelle la testostérone peut franchir les jonctions complexes entre cellules de Sertoli, mais aussi la synthèse d'activine et d'inhibine B, qui vont exercer des effets opposés sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (respectivement un rétro-contrôle positif et négatif).

Le testicule produit 95% de la testostérone plasmatique, les 5% restants provenant de la conversion périphérique de l'androstènedione surrénalienne. Il existe un cycle circadien de la testostérone chez l'homme adulte, les valeurs matinales étant 20 à 30% supérieures aux valeurs vespérales. Des facteurs tels que le sommeil, les saisons, le stress ou encore l'effort physique sont susceptibles d'influencer le taux plasmatique des androgènes. Le rythme circadien, caractérisé par une élévation nocturne de la testostérone chez le garçon et l'adulte jeune, disparaît avec l'âge.

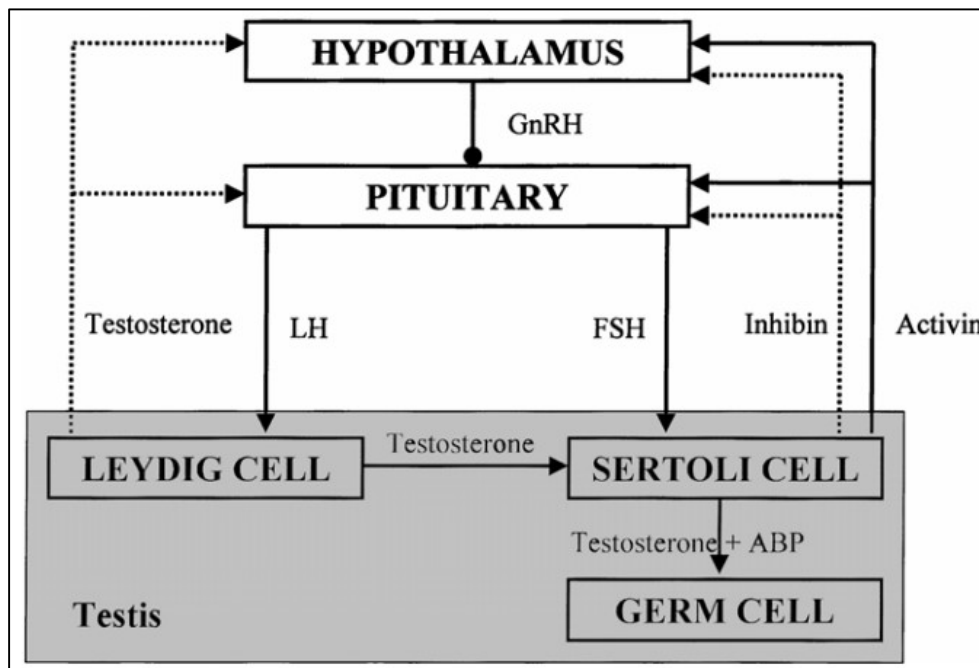


Figure 5 : Régulation hormonale de la spermatogénèse, d'après Brehm et Steger (13)

- Pituitary : hypophyse
- Leydig cell : cellule de Leydig
- Testis : testicule
- Sertoli cell : cellule de Sertoli
- Germ cell : cellule germinale

1.2. Bilan de l'infertilité masculine d'origine génétique

Les anomalies génétiques sont susceptibles de perturber le développement des gonades et du tractus uro-génital, de provoquer l'arrêt de production des gamètes et/ou d'entraîner la production de spermatozoïdes non fonctionnels. Ces anomalies peuvent être divisées en deux catégories : les anomalies chromosomiques comprenant les anomalies numériques et structurales d'une part et les anomalies affectant un gène spécifique d'autre part. Parmi les différents facteurs génétiques, les anomalies chromosomiques et les microdélétions du chromosome Y sont les principales causes d'infertilité masculine (14). Elles sont notamment à l'origine d'une diminution de la numération (nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat) et de la concentration (nombre de spermatozoïdes par mL de sperme) spermatiques. Ces paramètres peuvent être étudiés grâce au spermogramme, examen de première ligne dans la prise en charge de l'homme infertile. Selon l'OMS, l'oligospermie se définit par une numération inférieure à 39 millions ou une concentration inférieure à 15

millions/mL ; l'oligospermie est sévère si la concentration est inférieure à 5 millions/mL. La cryptozoospermie correspond à la situation dans laquelle aucun spermatozoïde n'est vu à l'examen direct alors qu'il est possible d'en observer dans le culot de centrifugation du prélèvement. L'azoospermie, quant à elle, se définit par l'absence de spermatozoïdes à l'examen direct ainsi qu'à l'examen de la totalité du culot de centrifugation. En raison de la variabilité des paramètres spermatiques liée à l'enchaînement permanent des cycles de spermatogenèse, chacun de ces diagnostics doit être confirmé sur au moins deux prélèvements réalisés à trois mois d'intervalle.

1.2.1. Indications du bilan génétique

Les explorations génétiques sont demandées en cas d'oligospermie ou d'azoospermie confirmée. Les examens réalisés en première intention (après exclusion d'une cause obstructive) sont le caryotype et la recherche de microdélétions du chromosome Y.

La réalisation du caryotype est recommandée par l'American Urological Association (AUA), l'American Society for Reproductive Medicine (ASRM) et l'European Academy of Andrology (EAA) chez tous les hommes infertiles présentant une concentration spermatique inférieure ou égale à 5 millions/mL (15,16). L'Association Française d'Urologie (AFU) et la Société d'Andrologie de Langue Française (SALF) recommandent quant à elles la réalisation du caryotype chez les hommes infertiles dont la concentration spermatique est inférieure ou égale à 10 millions/mL (17).

Il n'existe pas de véritable consensus concernant la recherche de microdélétions du chromosome Y. Sur la base d'études réalisées sur des milliers de patients, il est aujourd'hui établi que ces microdélétions sont retrouvées en forte proportion dans les cas d'azoospermie non obstructive et d'oligospermie sévère alors qu'elles sont beaucoup plus rares chez les patients infertiles dont la concentration spermatique est supérieure à 5 millions/mL (14). C'est pourquoi l'AUA, l'ASRM et l'EAA recommandent la recherche de microdélétions du chromosome Y chez tous les patients avec azoospermie non obstructive ou oligospermie sévère, en même temps que la réalisation du caryotype (15,16). Okutman *et al.* proposent de réaliser cette analyse pour les mêmes indications, mais uniquement si le caryotype, réalisé seul en première

intention, est normal (18). Pour l'AFU et la SALF, il est préférable de mener la recherche de microdélétions chez les patients dont la concentration spermatique est inférieure ou égale à 1 million/mL (17).

En deuxième intention, d'autres examens peuvent être préconisés. En cas d'anomalie structurale par exemple, une FISH (fluorescence *in situ* hybridization) sur spermatozoïdes peut être réalisée afin d'étudier la ségrégation méiotique et d'estimer le taux de gamètes déséquilibrés.

1.2.2. Moyens d'exploration

1.2.2.1. Caryotype

Le caryotype (figure 6) est réalisé à partir de l'analyse des noyaux de lymphocytes qui ont été mis en culture. L'observation des chromosomes se fait sur des métaphases obtenues après blocage des divisions cellulaires. La coloration et la mise en évidence des bandes chromosomiques permet de compter et classer les chromosomes. Le caryotype permet donc à la fois de détecter les aneuploïdies et les anomalies de structure, qu'elles soient équilibrées ou déséquilibrées. La principale limite de cet examen est sa résolution, les anomalies inférieures à 5 ou 10 mégabases (Mb) n'étant pas détectables.

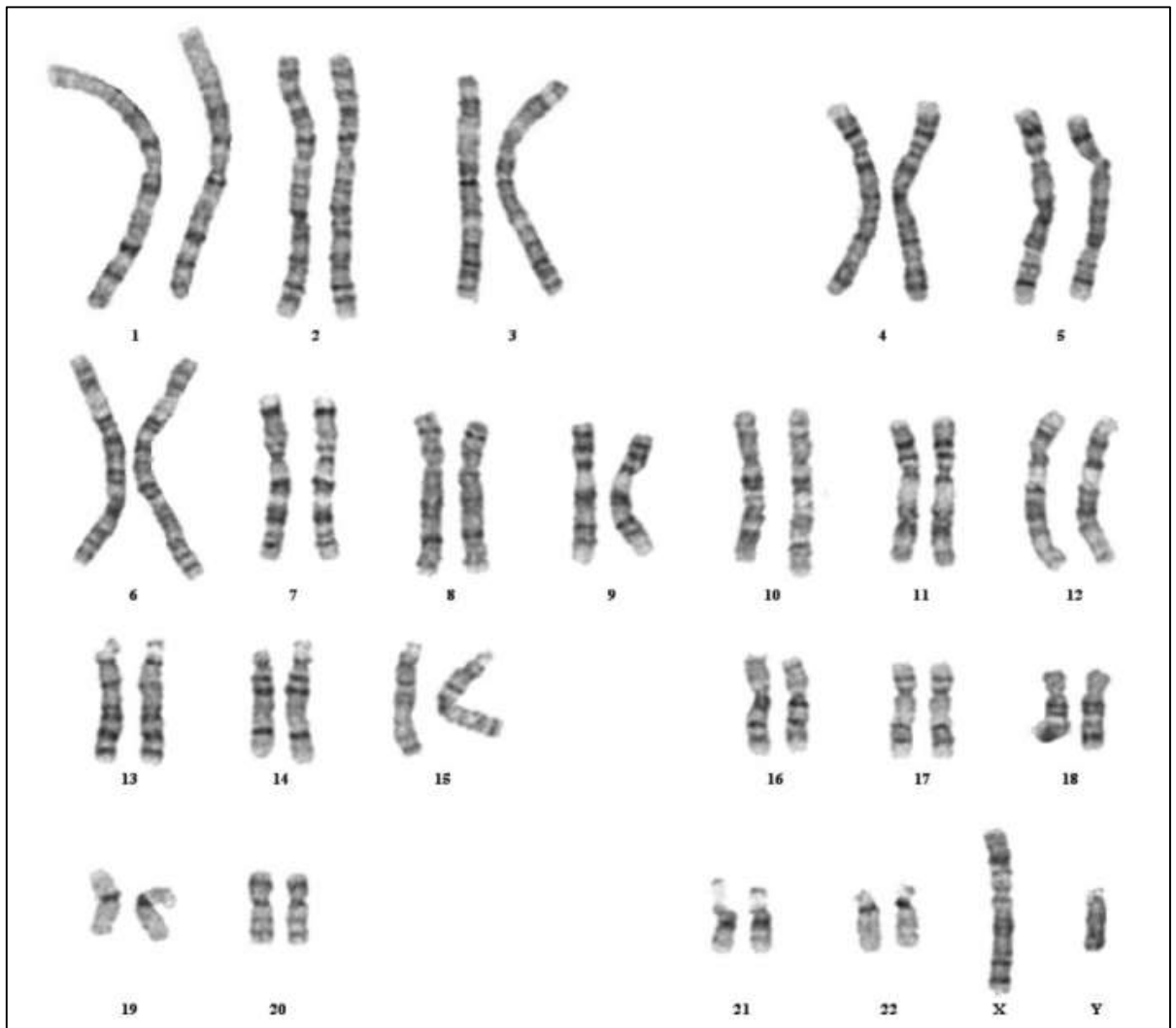


Figure 6 : Exemple de caryotype masculin en bandes G, d'après Gersen et Keagle (19)

1.2.2.2. Recherche de microdélétions du chromosome Y

Le bras long du chromosome Y comporte trois régions différentes nommées « azoospermia factor » ou AZF, qui peuvent être le siège de délétions chez les patients infertiles. La région AZFa, localisée au niveau proximal, a une taille d'environ 800 kilobases (Kb). La taille de la région AZFb est estimée entre 1 et 3 Mb et la région AZFc a une taille approximative de 1,4 Mb. La recherche de microdélétions du chromosome Y consiste à caractériser la présence ou l'absence de marqueurs cibles localisés au niveau des 3 loci AZF. L'information est obtenue par PCR multiplex de marqueurs spécifiques STS (sequence tagged sites) présents dans ces trois zones et par comparaison avec des échantillons normaux ou présentant des délétions. La technique permet de préciser si les délétions sont complètes ou partielles.

1.2.2.3. FISH sur spermatozoïdes

La FISH permet notamment d'étudier le taux d'aneuploïdie des gamètes grâce à des sondes d'hybridation fluorescentes. Conventionnellement, des sondes spécifiques des chromosomes X, Y, 13, 18 et 21 sont utilisées car ces chromosomes sont impliqués dans les aneuploïdies viables : les syndromes de Klinefelter et de Turner d'une part et les trisomies 13, 18 et 21 d'autre part (figure 7). Avant l'apparition et le développement de cette technique dans les années 1990, des ovocytes de hamster étaient inséminés avec des spermatozoïdes de patients infertiles afin d'étudier la ségrégation méiotique après décondensation des noyaux. Cependant, on ne pouvait observer qu'un nombre limité de métaphases. La FISH permet l'analyse rapide de milliers de noyaux, ce qui augmente la puissance statistique. Toutefois, l'utilisation d'une sonde spécifique par chromosome ne permet pas d'identifier les anomalies structurales. Pour étudier la ségrégation méiotique d'un patient porteur de translocation par exemple, il est nécessaire de connaître les points de cassure du remaniement et d'utiliser des sondes adaptées pour l'étude des gamètes (figures 8). En réalisant une FISH trois couleurs sur les noyaux spermatiques, il est ainsi possible de déterminer le taux de gamètes déséquilibrés générés lors de la méiose.

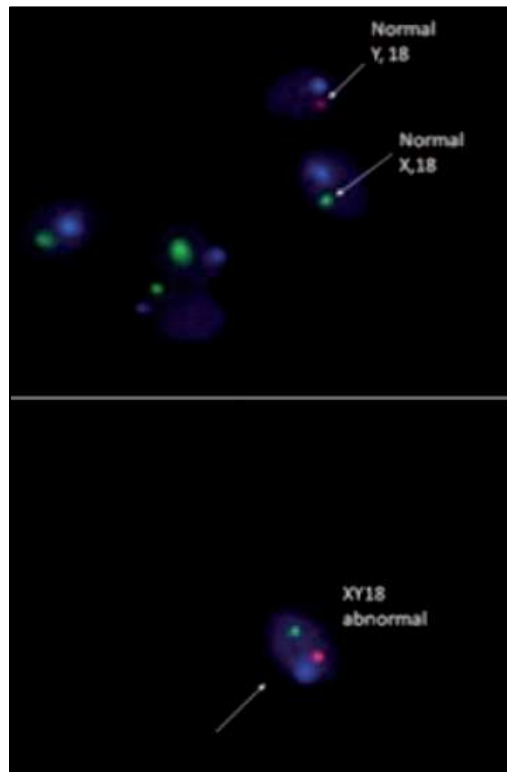


Figure 7 : Exemple de FISH sur spermatozoïdes, d'après Hwang et al. (20)

En haut : deux noyaux normaux contenant un chromosome sexuel (Y en rouge et X en vert) et un chromosome 18 (en bleu) ; en bas : mise en évidence d'une disomie XY

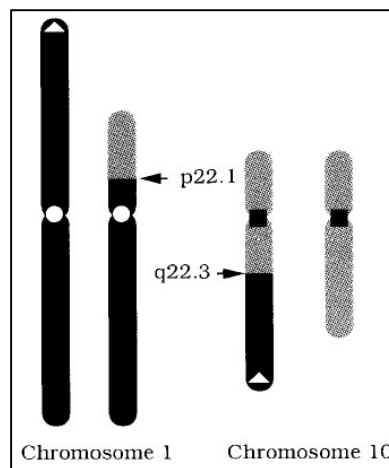


Figure 8 : Représentation des points de cassure d'une translocation $t(1;10)(p22.1;q22.3)$ et de la position des sondes utilisées en FISH pour caractériser l'anomalie, d'après Hummelen et al. (21)

Les ronds blancs correspondent à des sondes centromériques du chromosome 1 ; les triangles blancs correspondent à des sondes télomériques du bras court du chromosome 1 ; les carrés noirs correspondent à des sondes centromériques du chromosome 10. Ces trois sondes peuvent être utilisées sur les noyaux spermatiques du patient porteur de cette translocation afin d'étudier la ségrégation méiotique et déterminer le pourcentage de gamètes déséquilibrés.

1.3. Anomalies chromosomiques à l'origine de l'infertilité masculine

Les anomalies chromosomiques ont émergé comme l'une des causes majeures d'infertilité masculine d'origine génétique (18). Elles impliquent la perte ou le gain d'un chromosome (anomalies numériques), ou bien des réarrangements chromosomiques de structure (anomalies structurales). Elles peuvent concerner les gonosomes, les autosomes ou les deux et peuvent se combiner. Selon un rapport de l'AUA et de l'ASRM, la fréquence des anomalies chromosomiques visibles sur le caryotype est d'environ 7% chez les hommes infertiles alors qu'elle est estimée à 1% chez les sujets normospermiques (15). Les auteurs de ce rapport notent également que la fréquence des anomalies chromosomiques est inversement proportionnelle à la concentration spermatique. En effet, celles-ci sont observées chez 10 à 15% des patients azospermiques alors que leur fréquence ne dépasse pas 5% chez les patients oligospermiques. Par ailleurs, certaines anomalies sont héritées tandis que d'autres surviennent *de novo*.

1.3.1. Anomalies numériques des gonosomes (dysgonosomies)

Les SCA (sex chromosome aneuploidies) concernent une naissance sur 420 (22). Elles comprennent notamment le syndrome de Klinefelter et le syndrome 47,XYY.

1.3.1.1. Syndrome de Klinefelter

Il a été décrit pour la première fois en 1942 par l'endocrinologue américain Harry F. Klinefelter. Il se caractérise par la présence d'un chromosome X surnuméraire et représente la plus fréquente des anomalies gonosomiques chez l'homme (23). Sa prévalence est d'environ 1/600 hommes dans la population générale (24) et va de 5% chez les individus oligospermiques à 10% chez les patients azospermiques (23). Cette dysgonosomie résulte communément d'une non-disjonction lors de la gaméto-genèse parentale paternelle ou maternelle. Plus rarement, l'anomalie est causée par une erreur de division post-zygotique à l'origine d'un mosaïcisme. Le syndrome est homogène dans 90% des cas environ (25). Par ailleurs, 90% des patients porteurs sont azospermiques (26).

Physiologiquement, entre 4 et 10 semaines de vie, le niveau des gonadotrophines commence à augmenter pour atteindre un pic aux alentours de 6 mois. Ce phénomène permet l'expansion et la différenciation des spermatogonies : on

parle alors de mini-puberté. Après cette période, l'activité cellulaire des testicules reste quiescente jusqu'au début de la puberté, qui correspond à la stimulation de l'hypophyse par l'hypothalamus et à la sécrétion de LH et de FSH (25). En cas de syndrome de Klinefelter, l'augmentation à la puberté du taux sérique de testostérone s'accompagne d'une accélération du déclin des cellules germinales, d'une hyalinisation des tubes séminifères, d'une dégénérescence des cellules de Sertoli et d'une hyperplasie du tissu interstitiel comprenant les cellules de Leydig (23) (figure 9). Ces modifications entraînent une diminution du volume testiculaire et une perturbation des sécrétions hormonales avec une FSH élevée et une inhibine B très basse voire indétectable, témoins de l'altération de la spermatogenèse (27).

Le taux d'aneuploïdie est augmenté dans les spermatozoïdes des hommes 47,XXY. Théoriquement, 50% des gamètes devraient présenter une aneuploïdie, mais le taux réel est bien inférieur (figure 10). La FISH a permis de montrer que la fréquence d'aneuploïdie pour les chromosomes sexuels variait entre 1,5% et 7,5% en cas de mosaïque et entre 2% et 50% en cas de syndrome homogène (23). Cette discordance pourrait être liée à l'incapacité des cellules germinales anormales à réaliser une division cellulaire en raison de la présence de deux chromosomes X. En effet, la spermatogenèse étant particulièrement sensible au déséquilibre gonosomique, la présence d'un gonosome supplémentaire entraînerait l'apoptose et la mort de la cellule germinale. Les spermatozoïdes retrouvés chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter seraient ainsi probablement issus de lignées germinales normales (23). À l'intérieur du testicule, la spermatogenèse se déroule donc de façon hétérogène, au niveau des foyers de spermatogenèse (spermatogenèse focale).

Le phénotype est très variable et les symptômes sont plus discrets en cas de mosaïque. Typiquement, les patients présentent une atrophie testiculaire et une infertilité. Une gynécomastie et une diminution de la libido peuvent aussi être observées en raison d'un déficit en testostérone. En raison de cette variabilité clinique, le diagnostic n'est le plus souvent suspecté qu'à l'âge adulte, dans un contexte de prise en charge de l'infertilité. À ce jour, il n'existe pas de paramètre clinique ou biologique fiable pour prédire le niveau d'atteinte de la spermatogenèse chez les hommes porteurs du syndrome de Klinefelter.

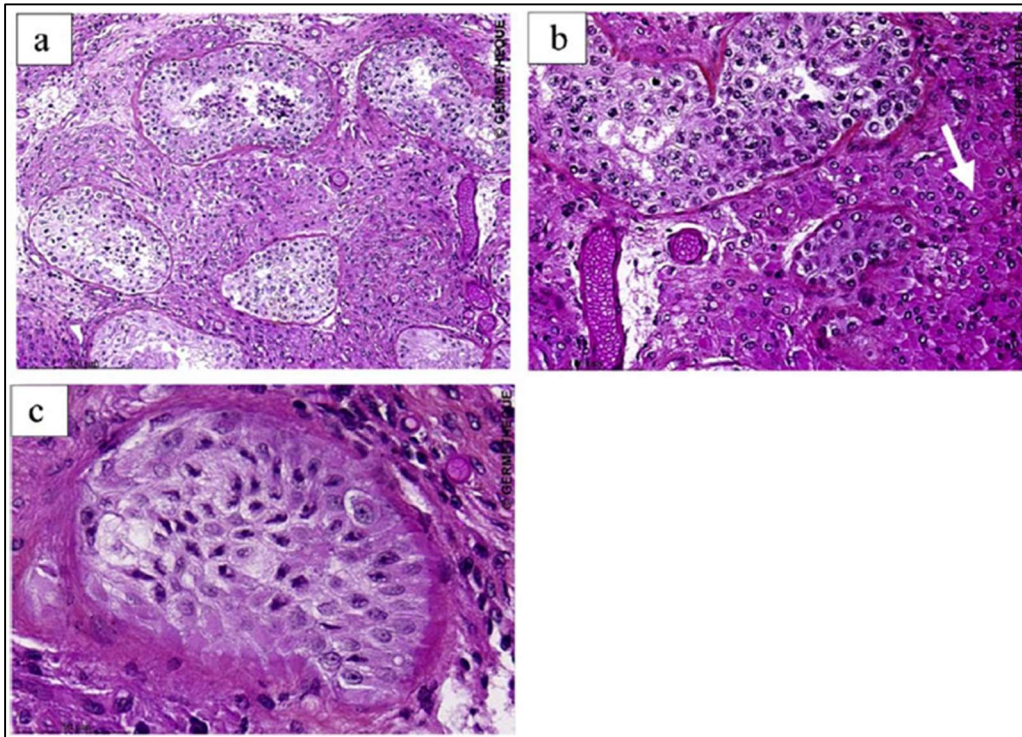


Figure 9 : Coupes histologiques d'un patient porteur d'un syndrome de Klinefelter homogène, d'après Ravel et al. (23)

a-c : Le parenchyme testiculaire est composé de tubes séminifères hétérogènes dont certains ne comportent que des cellules de Sertoli tandis que d'autres contiennent des cellules germinales. La flèche indique une cellule de Leydig hyperplasique.

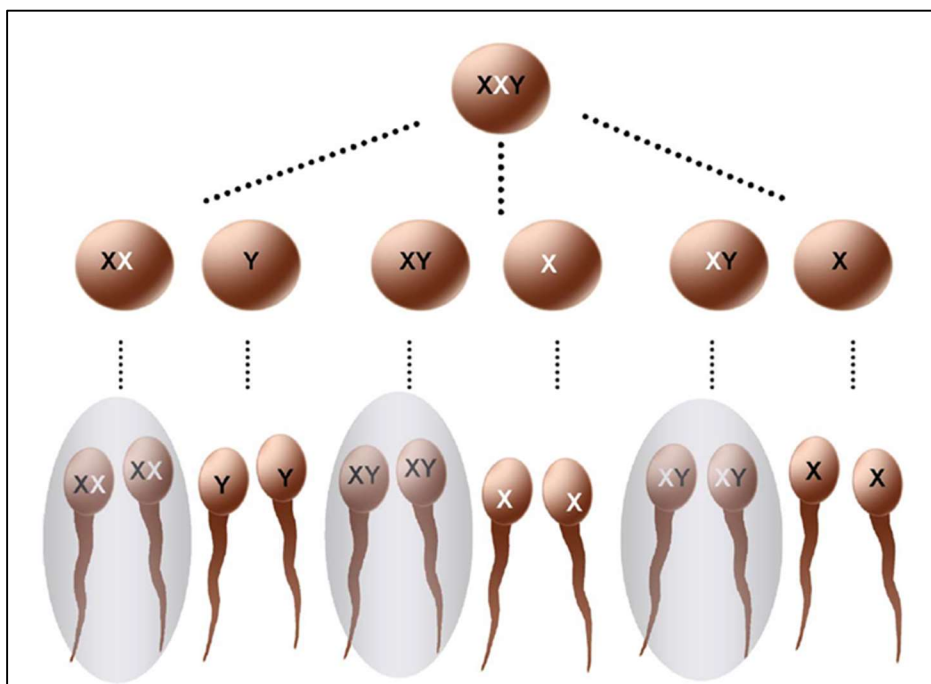


Figure 10 : Ségrégation théorique des gamètes chez un homme porteur d'un caryotype 47,XXY, d'après Ravel et al. (23)

50% des gamètes produits sont porteurs d'un gonosome supplémentaire (gris).

1.3.1.2. Syndrome 47,XYY

Sa fréquence est d'environ 1 sur 1000 naissances de garçons (22). Le phénotype variable et la pénétrance incomplète rendent le diagnostic difficile. Dans la première décennie de vie, ce diagnostic peut être établi en raison d'un retard de développement du langage et de la parole, de troubles du comportement inconstants ou encore d'une grande taille. D'après Bardsley *et al.*, des caractéristiques morphologiques telles que l'hypertélorisme, le pied plat (*pes planus*) ou encore l'adiposité centrale sont associées au syndrome 47,XYY (28). Les mêmes auteurs signalent également une prévalence augmentée de l'épilepsie, des anomalies odontologiques, des tremblements et de l'asthme.

Le risque de présenter une infertilité en cas de syndrome 47,XYY est 4 fois plus élevé que chez les hommes avec un caryotype normal (22). Une partie des patients sont donc diagnostiqués lorsqu'ils consultent pour des difficultés à obtenir une grossesse. En raison de la variabilité phénotypique du syndrome 47,XYY, la plupart des descriptions cliniques sont en partie biaisées car elles ne prennent en compte que les patients les plus symptomatiques. Afin d'éviter ce biais, certaines études ont été réalisées à partir de groupes de patients diagnostiqués par dépistage néonatal. Cependant, peu de programmes de dépistage incluent la réalisation systématique d'un caryotype à la naissance et il est donc difficile d'obtenir des résultats fiables.

1.3.2. Réarrangements structuraux du chromosome Y

D'après Faure et al. (29)

La plupart des réarrangements structuraux du Y se présentent sous forme de mosaïque, généralement en association avec une lignée cellulaire 45,X. Cela rend compte de l'instabilité du chromosome remanié, qui peut être perdu au cours des divisions cellulaires. La proportion de cellules 45,X est très variable entre les individus et peut également varier chez un même individu en fonction des lignées cellulaires. Ces mosaïques sont associées à un large spectre de phénotypes cliniques, allant de l'infertilité avec caractères sexuels normaux au phénotype féminin avec un syndrome de Turner typique ou atypique, en passant par les anomalies de différenciation des organes génitaux externes. L'infertilité qui résulte fréquemment de ces réarrangements est liée aux délétions des régions AZF sur le bras long du

chromosome Y. De surcroît, l'instabilité du chromosome Y réarrangé peut conduire à l'extension de la délétion initiale au cours des divisions cellulaires successives, et donc potentiellement à la transmission d'une délétion plus large à la génération suivante.

Parmi les anomalies cytogénétiques du chromosome Y, l'isodicentrique idic(Y) est la plus commune. Ce chromosome remanié résulte d'une cassure siégeant au niveau de la région juxtacentromérique suivie d'une duplication du fragment contenant le centromère. Les isodicentriques du Y sont parfois classés par erreur comme des chromosomes Y normaux sur le caryotype conventionnel en raison de leur taille proche de celle du chromosome Y normal.

L'anneau du chromosome Y, r(Y), peut également être associé à l'infertilité. Il résulte de la fusion des deux bras longs et des deux bras courts cassés du chromosome Y, lequel prend alors une configuration circulaire. La fréquence de la mosaïque 45,X/46,X,r(Y) est estimée à 1,5 pour 10000 naissances (30).

1.3.3. Anomalies autosomiques structurales

Ces anomalies comprennent notamment les translocations réciproques et les translocations robertsoniennes. Contrairement aux aneuploïdies, la plupart des anomalies structurales ne surviennent pas *de novo*, mais sont transmises par un parent porteur (31). Le chromosome transmis est soit identique au réarrangement parental, soit dérivé de ce réarrangement. Les translocations chromosomiques sont les réarrangements structuraux les plus courants dans l'espèce humaine avec une fréquence de 1,23 pour 1000 individus dans la population générale (32). Elles peuvent être découvertes dans différentes circonstances : un bilan de fausses-couches à répétition, la naissance d'un enfant porteur d'un syndrome malformatif ou encore un bilan d'infertilité chez un patient phénotypiquement normal (33). Les sujets porteurs de translocations sont 8 fois plus nombreux parmi les hommes infertiles que dans la population générale (31).

1.3.3.1. Translocations réciproques

Elles sont présentes chez 0,6% des hommes infertiles (33), et consistent en des échanges de matériel chromosomique entre différents chromosomes. Pendant la méiose 1, les chromosomes anormaux issus d'une translocation s'organisent entre homologues en formant un quadrivalent et se séparent en anaphase 1 selon différents modes de ségrégation : alterne, adjacent 1, adjacent 2, 3:1 ou, beaucoup plus rarement, 4:0 (figure 11). Ce processus peut générer chez le patient porteur de la translocation un pourcentage élevé de gamètes déséquilibrés, ce qui explique l'infertilité et augmente le risque de transmettre une anomalie chromosomique à la descendance (31). Ces déséquilibres sont souvent incompatibles avec la vie, et lorsqu'ils n'empêchent pas la grossesse d'être menée à son terme, ils sont en règle générale à l'origine de troubles neuro-développementaux, d'un syndrome dysmorphique et/ou malformatif (4).

La FISH a permis de montrer que, de façon générale, les patients porteurs de translocations réciproques produisent plus de gamètes déséquilibrés que de gamètes normaux ou équilibrés (34). Bien que le risque de transmission d'une anomalie soit théoriquement de 50%, les gamètes déséquilibrés représentent en réalité entre 11 et 82% des produits de méiose (35). En effet, il a été établi que la ségrégation méiotique n'est pas un processus aléatoire conduisant à une distribution équiprobable de tous les types de déséquilibres chromosomiques mais qu'elle dépend notamment des chromosomes impliqués, de la taille des segments transloqués, de la position des points de cassure et de la distribution et du nombre de chiasmas pendant la métaphase. La plupart des translocations réciproques sont ainsi uniques et spécifiques à chaque famille. Il n'existe donc pas de données empiriques sur le risque de transmettre un déséquilibre, contrairement aux translocations robertsoniennes. Le risque doit être estimé pour chaque couple.

La récente étude de Mayeur *et al.* a permis de mettre en évidence 4 régions chromosomiques associées de façon récurrente à une pauvre qualité spermatique lorsqu'elles sont impliquées dans des translocations : 1q21, 6p21, 16q21, 17q11.2 (32). Sur l'ensemble de ces 4 régions, 419 gènes sont référencés, dont 324 listés sur la base de données OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). Un total de 171 gènes a été identifié au point de cassure 1q21, dont 4 déjà décrits dans la littérature pour détenir un rôle dans la spermatogenèse, la capacitation et la mobilité des

spermatozoïdes. Le point de cassure 6p21 contient 87 gènes identifiés dont 2 impliqués dans la mobilité spermatique et la prolifération des spermatogonies. Sur les 29 gènes identifiés au point de cassure 16q21, un seul a été décrit dans la littérature. Il serait moins exprimé dans le liquide séminal chez les patients présentant une asthénospermie (altération de la mobilité des spermatozoïdes). Enfin, 59 gènes ont été mis en évidence au point de cassure 17q11.2, dont deux impliqués dans la régulation de l'apoptose des cellules germinales et de la fonction acrosomique (32).

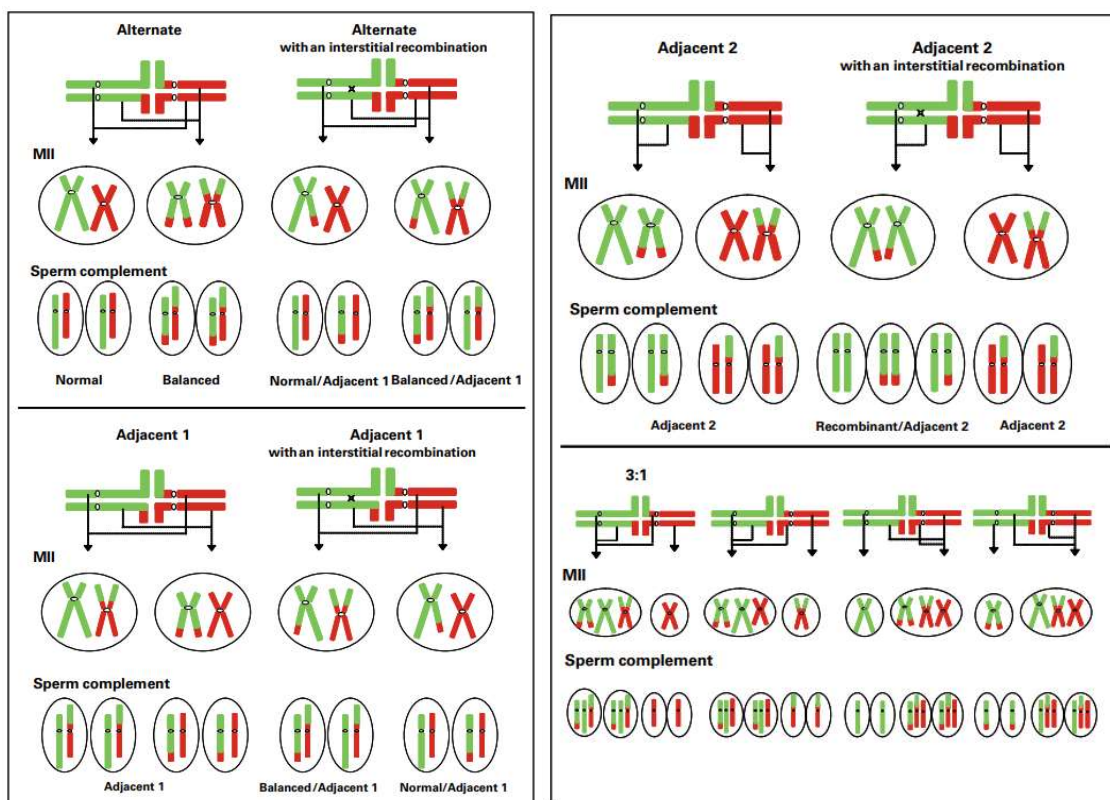


Figure 11 : Ségrégation méiotique en cas de translocation réciproque, d'après Benet *et al.* (31)

- Alternate : alterne
- With an interstitial recombination : avec une recombinaison interstitielle
- Sperm complement : contenu spermatique
- Balanced : équilibré

1.3.3.2. *Translocations robertsoniennes*

Elles correspondent à la fusion des bras longs de deux chromosomes acrocentriques (chromosomes 13,14,15,21,22). Les bras courts sont généralement perdus, de sorte que les patients présentent un caryotype équilibré à 45 chromosomes. La fréquence des translocations robertsoniennes dans la population générale est de 1 sur 1000 environ alors qu'elle est de 0,9% chez les hommes infertiles (36). Les patients porteurs ne sont généralement pas affectés sur le plan phénotypique et la plupart d'entre eux sont diagnostiqués lorsqu'ils consultent pour des difficultés à obtenir une grossesse. L'hypofertilité des hommes porteurs de translocations robertsoniennes est en partie liée à la formation de spermatozoïdes anormaux en raison d'une perturbation de la ségrégation des chromosomes acrocentriques au stade pachytène. Le chromosome dérivé et les deux homologues normaux forment un trivalent afin de permettre un appariement complet. La ségrégation peut générer 8 possibilités différentes : un gamète normal et un gamète équilibré (ségrégation alterne) ainsi que 6 gamètes déséquilibrés (ségrégation adjacente et 3:0) (figures 12 et 13). Contrairement aux translocations réciproques, les translocations robertsoniennes conduisent à une distribution de gamètes quasi similaire quel que soit le chromosome impliqué, avec une prédominance du mode alterne (environ 85%) sur le mode adjacent (environ 14%) (37). La ségrégation de type 3:0 est quant à elle beaucoup plus rare. La plupart des spermatozoïdes sont donc normaux ou équilibrés.

La fréquence des déséquilibres au DPN chez les patients porteurs de translocations robertsoniennes qui n'ont pas eu recours au DPI est inférieure à la fréquence des gamètes déséquilibrés pour une anomalie donnée. Cette observation est en faveur de l'existence d'une forte sélection visant à éliminer les déséquilibres chromosomiques constitutionnels aux stades précoces de l'embryogenèse (38).

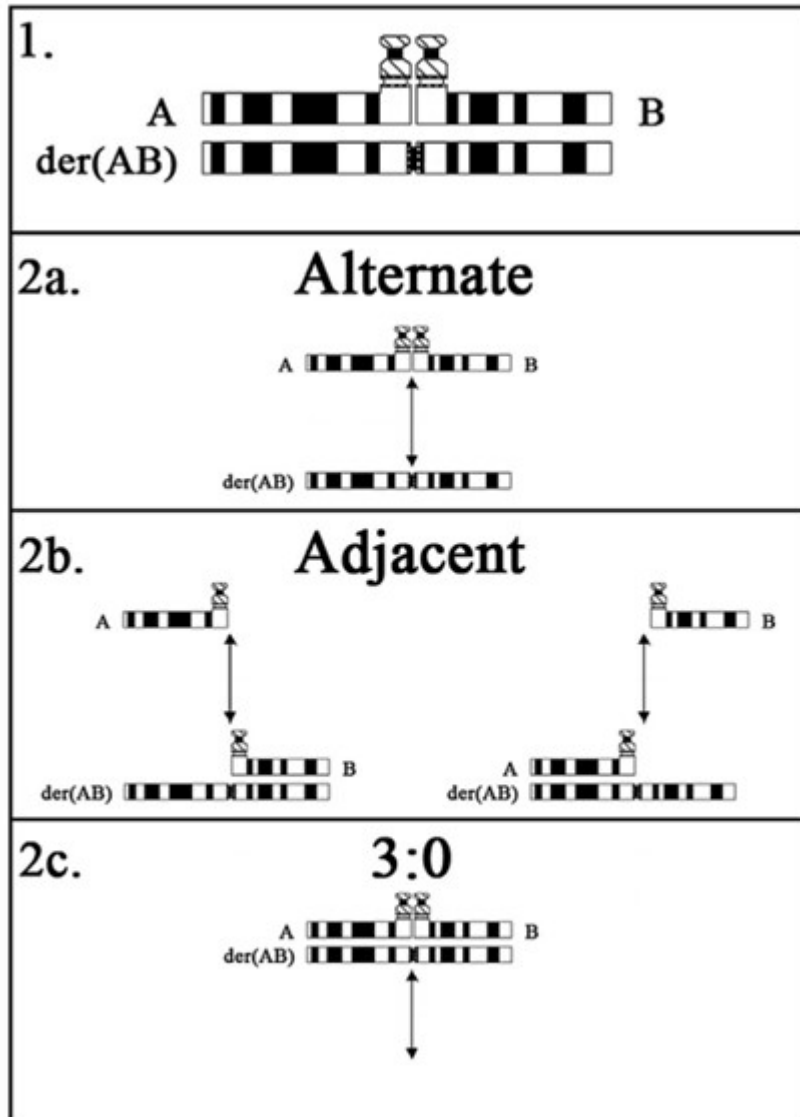


Figure 12 : Ségrégation méiotique à partir d'un trivalent en cas de translocation robertsonienne, d'après Godo *et al.* (36)

- Alternate : alterne
- der(AB) : chromosome dérivé issu de la fusion des chromosomes acrocentriques A et B

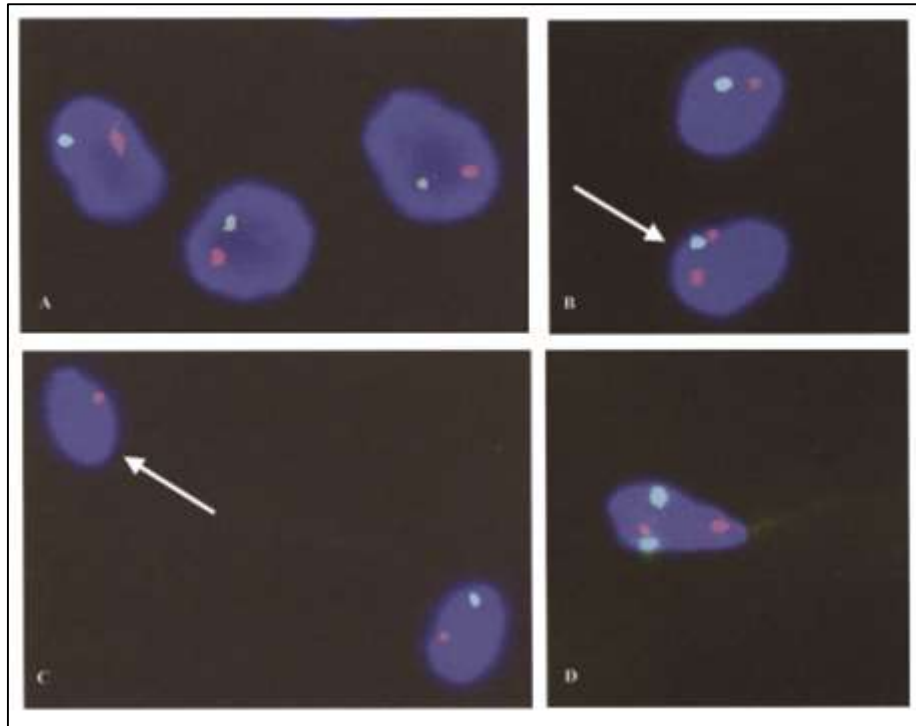


Figure 13 : FISH double couleur sur noyaux spermiques avec des sondes spécifiques des chromosomes 13 (vert) et 14 (rouge) chez un patient porteur d'une translocation robertsonienne der(13 ;14), d'après Du et al. (39)

- A : spermatozoïdes équilibrés
- B : la flèche indique une disomie 14 (déséquilibre)
- C : la flèche indique une nullisomie 13 (déséquilibre)
- D : disomie 13 et 14 (déséquilibre)

1.3.3.3. Inversions

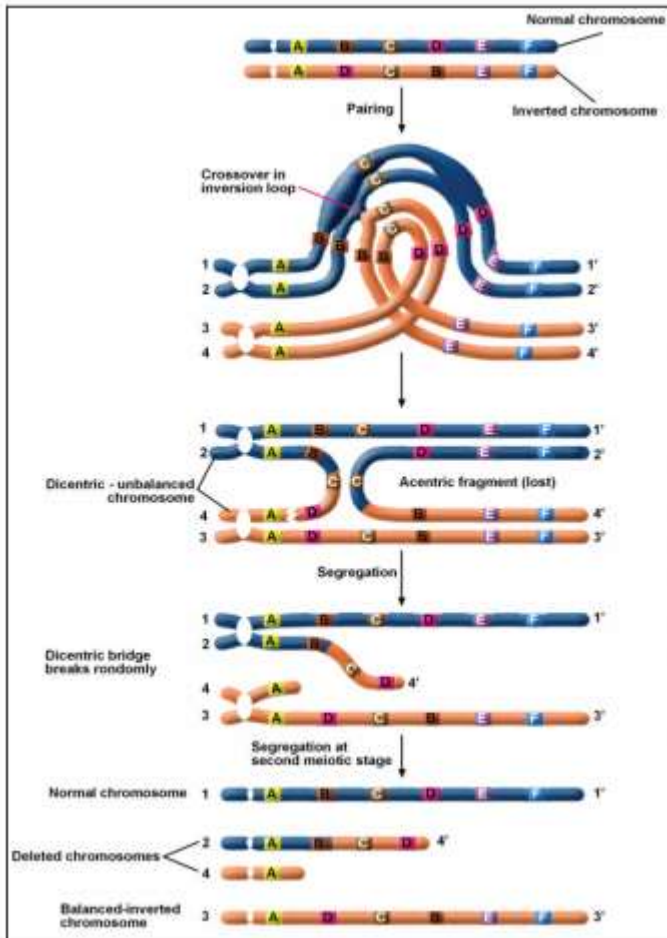
Elles surviennent lorsque deux points de cassure se forment sur le même chromosome et qu'il se produit une rotation de 180° du segment lors de la réparation. Les inversions sont en général sans conséquence pour le patient porteur. Cependant, si un point de cassure siège au niveau d'un gène critique, un phénotype anormal peut en résulter. Il existe deux types d'inversions : paracentrique et péricentrique.

Dans les inversions paracentriques, les cassures sont localisées sur le même bras chromosomique. Lors de la méiose, une boucle d'inversion se met en place pour permettre un appariement correct des chromosomes homologues (figure 14). Si un crossing-over a lieu dans cette boucle, cela conduit à la formation d'un chromosome dicentrique et d'un fragment acentrique. Au moment de la ségrégation, le fragment acentrique est perdu et le chromosome dicentrique se casse de façon aléatoire. En fin de méiose, quatre types de gamètes sont donc présents : un gamète normal, deux

gamètes porteurs d'une délétion issue de la cassure du chromosome dicentrique et un gamète porteur de l'inversion initiale. Chez les sujets porteurs d'inversions paracentriques, le taux de gamètes déséquilibrés varie entre 0% et 12,6% et ces recombinants sont très rarement à l'origine d'un zygote viable (40).

Les inversions péricentriques se forment lorsque les cassures se produisent de part et d'autre du centromère (figure 15). Leur fréquence dans la population générale est estimée entre 1 et 2% (41). L'appariement lors de la méiose nécessite également la formation d'une boucle d'inversion. Les crossing-over qui se forment dans cette boucle sont à l'origine de chromosomes recombinés avec un segment dupliqué ou un segment délété sur chaque bras (dup q/del p ou del q/dup p).

Dans les deux cas, la probabilité de crossing-over le long du segment inversé dépend du chromosome concerné, de la longueur du segment et de la localisation des points de cassure. Si le segment inversé a une taille supérieure à 30% de celle du chromosome, les crossing-over se forment plus fréquemment dans la boucle d'inversion et des gamètes recombinés sont produits en plus grand nombre (40,41).



- Inverted chromosome : chromosome inversé
- Pairing : appariement
- Crossover in inversion loop : crossing-over dans la boucle d'inversion
- Dicentric-unbalanced chromosome : chromosome dicentrique déséquilibré
- Acentric fragment (lost) : fragment acentrique (perdu)
- Dicentric bridge breaks randomly : cassure aléatoire du chromosome dicentrique
- Second meiotic stage : deuxième division méiotique

Figure 14 : Ségrégation méiotique en cas d'inversion paracentrique, d'après Yapan *et al.* (40)

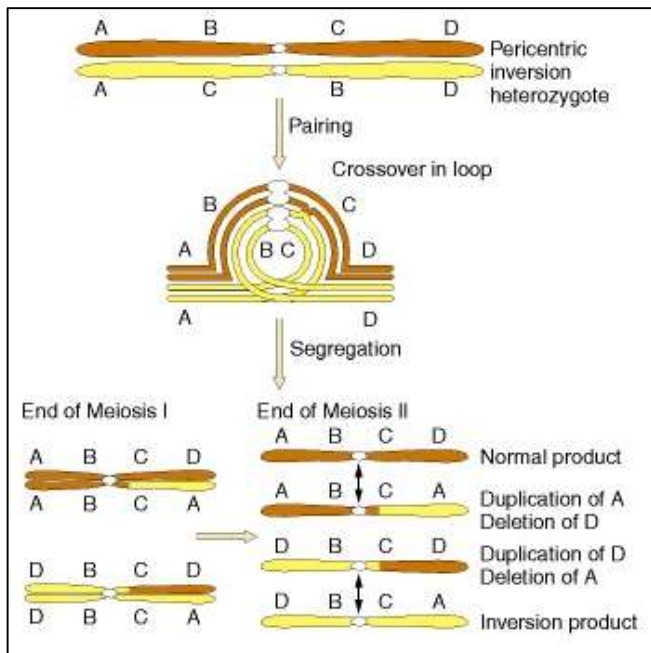


Figure 15 : Ségrégation méiotique en cas d'inversion péricentrique, d'après Griffiths *et al.* (42)

1.3.3.4. Mécanismes à l'origine des troubles de la spermatogenèse chez les patients porteurs de translocations

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de l'altération de la spermatogenèse chez les patients porteurs de translocations, dont l'association des trivalents ou des tétravalents à la vésicule sexuelle d'une part, et l'apoptose d'autre part.

La vésicule sexuelle est une structure facilement identifiable chez l'homme au stade pachytène. Elle comprend les deux chromosomes sexuels qui sont alors partiellement appariés et surtout inactivés. En cas de translocation des autosomes, il existe de nombreuses zones d'asynapsis au niveau des trivalents ou des quadrivalents et il a été observé que ces structures comprenant les chromosomes transloqués sont souvent associées à la vésicule sexuelle (6). En raison de cette association anormale, certains segments autosomiques sont inclus dans la vésicule et sont alors également soumis à une inactivation, à l'origine d'une diminution considérable, voire d'une abolition, de leur niveau de transcription génique. Ce phénomène interrompt la méiose et entraîne un blocage de la spermatogenèse. Cependant, selon Siffroi *et al.*, cela ne pourrait se produire que dans un pourcentage variable de cellules, ce qui expliquerait une atteinte testiculaire parfois modérée chez certains patients et les différences observées entre sujets porteurs d'un même remaniement chromosomique (6).

L'apoptose se traduit au niveau cellulaire par l'activation d'une cascade enzymatique qui génère des fragments d'ADN double brin (39). L'apoptose dans le sperme humain peut ainsi être étudiée par la détection des fragments de l'ADN spermatique. Du *et al.* ont étudié cette fragmentation de l'ADN chez des patients porteurs de translocations robertsoniennes der(13;14) et ont ainsi démontré qu'il existe une augmentation significative de l'apoptose des spermatozoïdes par rapport à des hommes dont le caryotype est normal (39).

1.3.3.5. Effet interchromosomique (ICE)

En détectant une augmentation de la fréquence des sujets porteurs de translocations réciproques parmi les pères d'enfants atteints de trisomie 21, Jérôme Lejeune a été le premier à postuler l'existence de l'effet interchromosomique (ICE) (33). Les translocations peuvent perturber la disjonction méiotique des paires chromosomiques non impliquées dans le réarrangement. Ainsi, des anomalies numériques additionnelles peuvent survenir dans les gamètes. Dans une étude publiée en 2018, Hajlaoui *et al.* ont montré une augmentation significative de l'aneuploïdie spermatique pour les chromosomes X,Y,18,21,22 chez des patients porteurs de translocations robertsoniennes grâce à la FISH (33).

Ce phénomène peut s'expliquer par la présence d'asynapsie ou d'hétérosynapsie en méiose. Ces anomalies peuvent interférer avec le déroulement correct des crossing-over. Or, l'altération de la distribution des chiasmas peut conduire à un mauvais alignement des chromosomes sur la plaque métaphasique et ainsi être à l'origine de non-disjonctions en anaphase 1.

1.3.3.6. Fausses-couches à répétition (FCR)

Les fausses-couches à répétition se définissent par au moins trois fausses-couches spontanées au cours du premier trimestre de grossesse (43), elles concernent environ 1% des femmes (44). On distingue les fausses-couches précoces (avant 14 semaines d'aménorrhée) et les fausses-couches tardives (entre 14 et 22 semaines d'aménorrhée). Elles peuvent être causées par de nombreux facteurs : endocrinologiques, anatomiques, infectieux, auto-immuns, systémiques et génétiques (45). Néanmoins, elles restent inexplicables dans 50% des cas environ (46). Parmi les couples avec antécédents de FCR, les anomalies cytogénétiques parentales sont en cause dans 1 à 4% des cas (45). L'un des deux partenaires est porteur d'une anomalie chromosomique structurale, le plus souvent une translocation réciproque équilibrée ou une translocation robertsonienne (44), et les gamètes déséquilibrés qui en résultent favorisent la récurrence des fausses-couches.

L'étiologie des fausses-couches du premier trimestre est en général difficile à déterminer avec précision. Il est estimé qu'environ la moitié de ces avortements spontanés est due à des anomalies chromosomiques (47). En cas de grossesse menée à terme, le risque est de donner naissance à des enfants porteurs d'anomalies

congénitales, de malformations ou de déficits intellectuels liés à un réarrangement chromosomique déséquilibré.

Chez les couples avec antécédents de FCR, l'histoire familiale des deux conjoints doit être explorée afin de recenser des indices sur la présence d'un réarrangement chromosomique familial. Des antécédents familiaux d'anomalies congénitales, de déficience intellectuelle, de fausses-couches spontanées, de mort périnatale ou encore d'infertilité sont significatifs et doivent mener à des investigations génétiques. Ces dernières peuvent débuter dès la deuxième fausse-couche (47).

1.4. Microdélétions du chromosome Y

D'après Colaco et Modi (14)

Chez les mammifères, les chromosomes sexuels ont dérivé des autosomes il y a au moins 180 millions d'années. La première étape dans la différenciation du chromosome Y fut l'acquisition d'un gène déterminant les gonades masculines. Par la suite, des inversions à grande échelle se produisirent et furent à l'origine de la suppression séquentielle de la recombinaison avec le chromosome X, de façon très progressive.

Lors de la méiose, les chromosomes X et Y ne s'apparient que sur des distances très limitées au niveau de leurs deux régions d'homologie appelées régions pseudo-autosomiques : PAR1 et PAR2 (figure 16). La région PAR1 s'étend sur plus de 2,6 Mb à l'extrémité des bras courts des chromosomes X et Y. Elle est le siège d'un crossing-over obligatoire indispensable à la ségrégation normale des deux chromosomes sexuels en anaphase 1. La région PAR2, beaucoup plus courte, s'étend sur environ 320 Kb à l'extrémité des bras longs et n'est pas le siège de recombinaisons méiotiques (48).

En 1976, Tiepolo et Zuffardi ont identifié une délétion à la partie distale de la bande q11 du chromosome Y chez 6 patients parmi 1170 hommes infertiles (49). Sur la base de ces résultats, les auteurs ont proposé l'existence d'un facteur de la spermatogenèse appelé « azoospermia factor » ou AZF, au niveau du locus Yq identifié. Suite à ces travaux précurseurs, 3 sub-régions (proximale, centrale et distale) ont été définies sur le locus Yq11 et désignées respectivement AZFa, AZFb et AZFc (figure 17). Le gène *DAZ* (deleted in azoospermia) a été le premier gène candidat à

être isolé sur le locus AZFc et a été identifié comme fréquemment délété sur le chromosome Y des hommes infertiles. Plus tard, il a été montré que la région AZFc comportait des duplications palindromiques de *DAZ* organisées en deux clusters comprenant 4 gènes : *DAZ1*, 2, 3 et 4. Ces 4 copies du gène *DAZ* sont exprimées dans les spermatogonies où elles codent pour une protéine de liaison à l'ARN importante pour la spermatogenèse. Ainsi, les hommes présentant une perte des copies du gène *DAZ* sont hautement prédisposés à l'azoospermie ou l'oligospermie sévère.

Les microdélétions du chromosome Y sont des microdélétions interstitielles à la partie proximale d'Yq qui impactent la région AZF de façon totale ou partielle. À de très rares exceptions près, elles sont détectées exclusivement chez des hommes présentant un spermogramme anormal. Néanmoins, il existe des cas rapportés d'hommes infertiles dont les pères étaient porteurs de la délétion, ce qui remet en doute le fait que ces délétions soient suffisantes à elles seules pour causer l'infertilité. Il se pourrait que d'autres anomalies du génome soient nécessaires pour déclencher le phénotype.

Les microdélétions du chromosome Y sont présentes chez 1 homme sur 4000 dans la population générale, tandis que la prévalence globale chez les hommes infertiles est estimée à 7%. Il est important de noter qu'il existe des variabilités géographiques. La prévalence des microdélétions AZF en Europe (3%) et en Australie (5,3%) est inférieure à la moyenne dans le reste du monde (entre 8 et 9%). De plus, il existe également des différences liées à l'origine ethnique. Au sein de la population asiatique par exemple, la prévalence est supérieure à l'Est et au Sud-Est de l'Asie par rapport au Sud. Ces disparités sont à ce jour difficiles à expliquer.

La microdélétion AZFc est la plus représentée chez les hommes infertiles avec une fréquence comprise entre 60 et 70%, suivie par AZFa (entre 0,5 et 4%), AZFb (entre 1 et 5%) et AZFb+c (entre 1 et 3%). Ces fréquences varient également en fonction des populations.

La région AZFc est plus vulnérable aux délétions car elle est composée de séquences répétées et de palindromes. Une délétion complète d'AZFc inclut la région b2/b4 qui contient 12 gènes et unités transcriptionnelles en copies multiples. En dehors de cette délétion complète, le locus AZFc peut être le siège de délétions partielles incluant b1/b3, b2/b3 et gr/gr. Aucune de ces délétions partielles n'élimine complètement une famille de gènes, à l'exception de la délétion b1/b3 qui correspond

à une perte des 6 copies du gène *RBMY1* et des deux copies fonctionnelles du gène *PRY*. La délétion *gr/gr* correspond à la perte de 2 des 4 gènes *DAZ*.

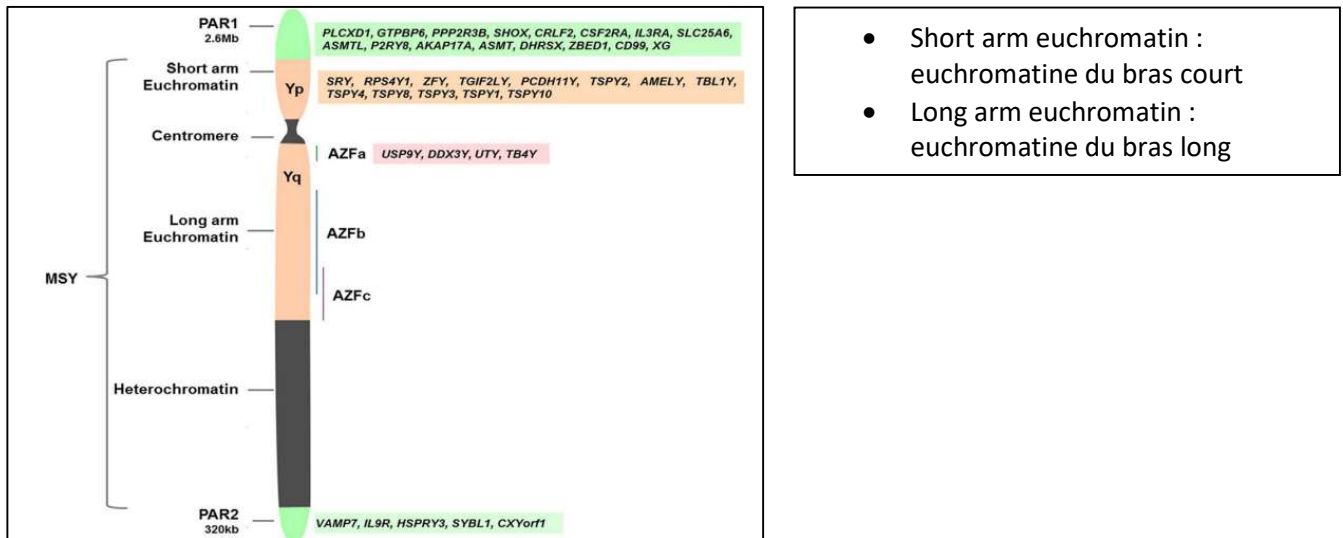


Figure 16 : Structure du chromosome Y humain, d'après Colaco et Modi (14)

La partie du chromosome située entre PAR1 et PAR2 est appelée MSY pour Male Specific Région on Y.

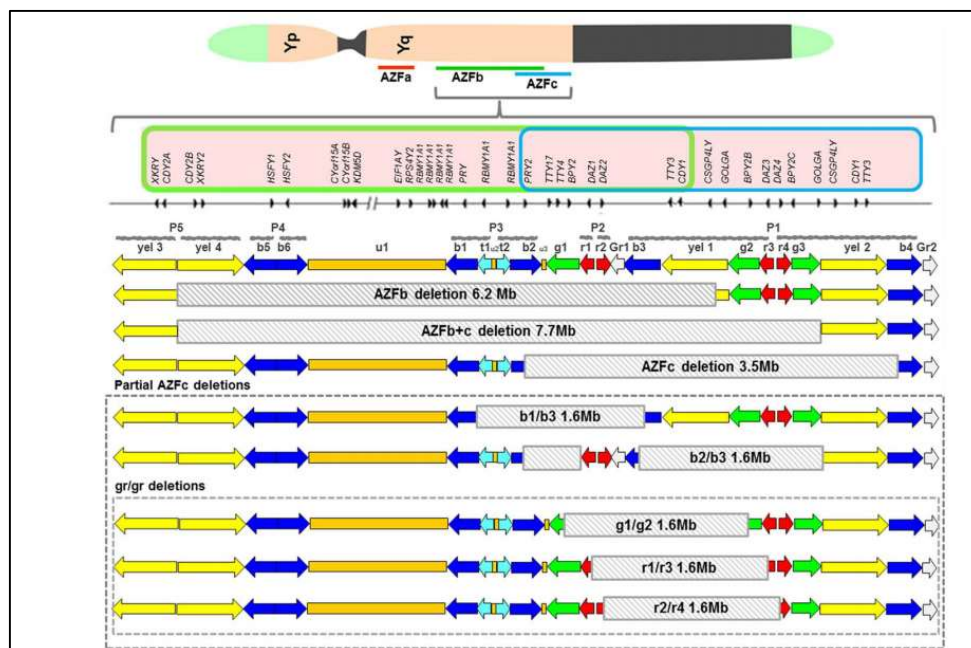


Figure 17 : Organisation schématique des régions AZFb et AZFc, d'après Colaco et Modi (14)

1.5. Identification des gènes de l'infertilité

Ces dix dernières années, la recherche sur les causes génétiques de l'infertilité a beaucoup évolué. De nouvelles techniques ont conduit à l'identification d'un nombre croissant de mutations à l'origine de phénotypes spécifiques de l'infertilité. Ces techniques s'ajoutent à l'étude longue et aléatoire des gènes candidats, qui consiste à étudier sur des modèles animaux l'impact de la mutation d'un gène dont on connaît la fonction et dont on postule qu'il peut être lié au phénotype observé chez certains patients. Les approches « génome entier », plus sensibles, comprennent notamment l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) et le séquençage haut débit ou nouvelle génération (NGS).

1.5.1. Analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

L'ACPA est une technique quantitative pan-génomique comparative. Si différentes méthodes sont décrites, toutes reposent sur le principe de comparaison de l'ADN d'un patient à un ADN témoin ou à une base de données informatique (figure 18). Cette technique présente une résolution bien supérieure à celle du caryotype, communément 100 fois plus. Il existe cependant des limites analytiques. Tout d'abord, l'ACPA ne permet pas de déceler les anomalies de structure équilibrées, sans perte ni gain de matériel chromosomique. Elle ne détecte pas non plus les mosaïques en faible proportion. Par ailleurs, il est difficile d'établir un lien entre une anomalie détectée en ACPA (« CNV » pour copy number variation) et le phénotype du patient, et il est possible de découvrir fortuitement des variants à pénétrance incomplète ou expressivité variable. Les conclusions de l'analyse doivent donc être rendues avec précaution, confrontation clinico-biologique, étude de la ségrégation familiale et vérification des bases de données et de la littérature.

En ce qui concerne l'infertilité masculine, la prévalence des CNV pathogènes est faible dans les anomalies spermatiques quantitatives (azoospermie ou oligospermie) et élevée dans certains phénotypes rares de tératospermie, c'est-à-dire d'altération de la morphologie des spermatozoïdes. L'intérêt de l'ACPA en diagnostic de routine reste donc limité pour les hommes infertiles.

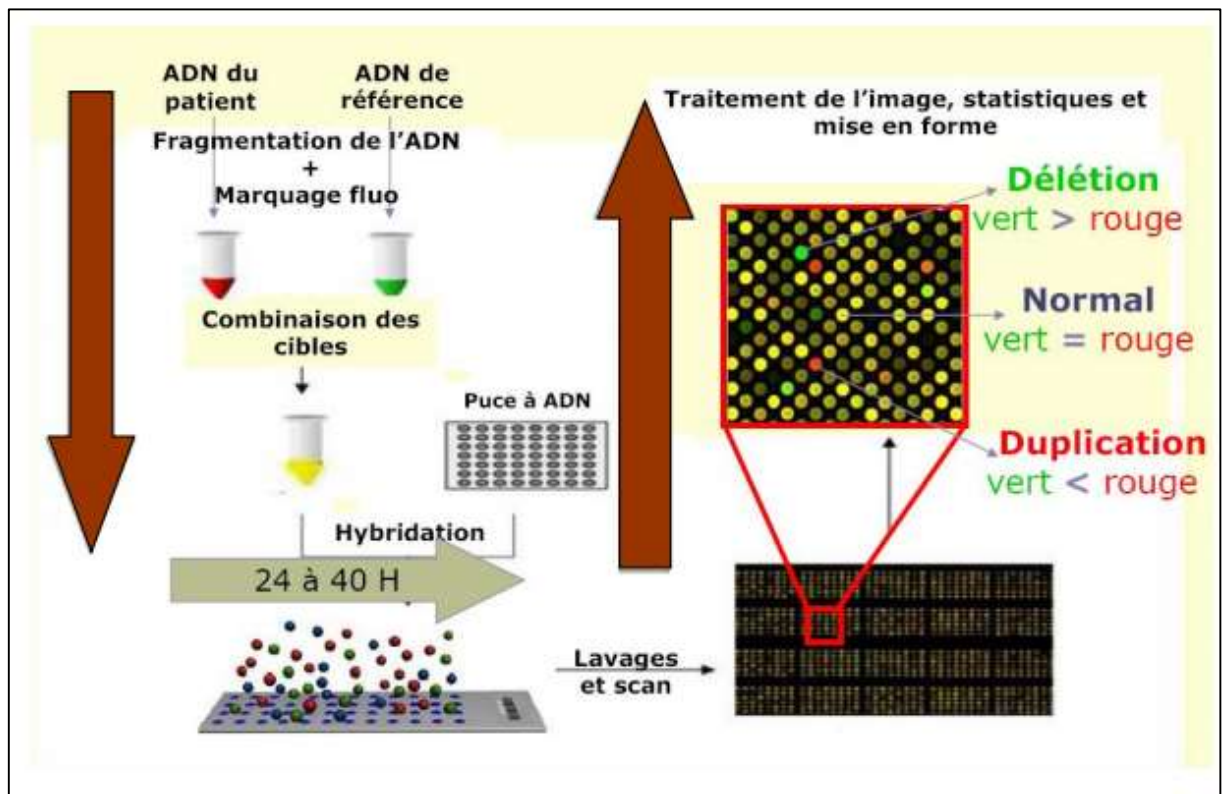


Figure 18 : Hybridation génomique comparative sur puce à ADN

D'après le cours du Professeur Charles Coutton « La place des nouvelles technologies d'analyse du génome dans la prise en charge de l'infertilité en AMP » (Master 2 « biologie de la reproduction humaine » 2018-2019, Université Paris-Descartes)

1.5.2. Séquençage nouvelle génération (NGS)

Le NGS nécessite une première étape de fragmentation de l'ADN. Les fragments obtenus sont ensuite amplifiés et séquencés en parallèle (figure 19). Il est possible de séquencer le génome entier (soit environ 3 milliards de paires de bases) ou de sélectionner l'ensemble des exons (exome). L'exome ne représente que 2% du génome (environ 60 millions de paires de bases) mais il contient 85% des gènes dont la mutation entraîne une pathologie connue. Lorsqu'on recherche une anomalie pour un groupe spécifique de pathologies, il est possible de limiter l'analyse à un panel ciblé de gènes (pathologies neuromusculaires par exemple).

Il existe environ 30 000 variants différents par exome. L'analyse des résultats est donc très complexe et nécessite une expertise médicale, biologique et bioinformatique (analyse et stockage des données). Les variants mis en évidence peuvent être bénins ou pathogènes. S'ils sont pathogènes, une corrélation avec le phénotype du patient doit être recherchée. Si un variant inconnu est identifié, il est

important d'analyser les parents du patient pour savoir si ce variant est hérité ou s'il est apparu *de novo*. Comme pour l'ACPA, des variants à pénétrance incomplète ou expressivité variable peuvent être découverts lors de l'étude familiale.

Concernant les hommes infertiles avec oligospermie ou azoospermie, l'exome est intéressant dans la démarche diagnostique puisqu'il existe de nombreux gènes impliqués dans la spermatogenèse, qui sont à l'origine d'un large spectre phénotypique. Le caractère non spécifique des manifestations cliniques ne permet donc pas de recourir à un séquençage ciblé dans la mesure où il n'est pas possible d'orienter précisément la recherche vers un seul ou quelques gène(s).

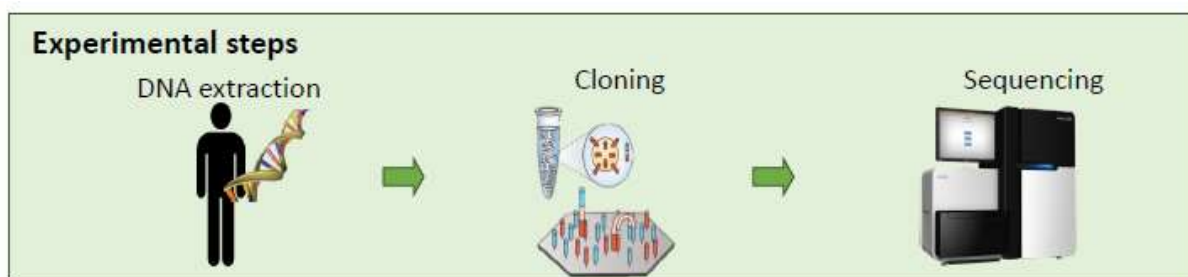


Figure 19 : Les étapes du NGS

D'après le cours du Professeur Charles Coutton « La place des nouvelles technologies d'analyse du génome dans la prise en charge de l'infertilité en AMP » (Master 2 « biologie de la reproduction humaine » 2018-2019, Université Paris-Descartes)

- Experimental steps : étapes analytiques
- DNA extraction : extraction de l'ADN
- Cloning : amplification
- Sequencing : séquençage

1.5.3. Exemple du gène *TEX11*

Chez la souris mâle, l'inactivation du gène *Tex11* entraîne des défauts d'appariement et de recombinaison à l'origine d'un arrêt de la méiose et/ou de l'élimination de spermatocytes, principalement au stade pachytène (50). Yang *et al.* ont montré que la mutation *TEX11* était présente chez environ 1% des hommes présentant une azoospermie (50). Cette proportion est hautement significative étant donné le nombre très important de gènes liés à la spermatogenèse. Cependant, une telle fréquence n'est pas totalement inattendue. En effet, le gène *TEX11* est lié à l'X, de sorte que toute mutation héritée ou survenant *de novo* dans cette région essentielle

pour le bon déroulement de la spermatogenèse se manifestera phénotypiquement par une infertilité.

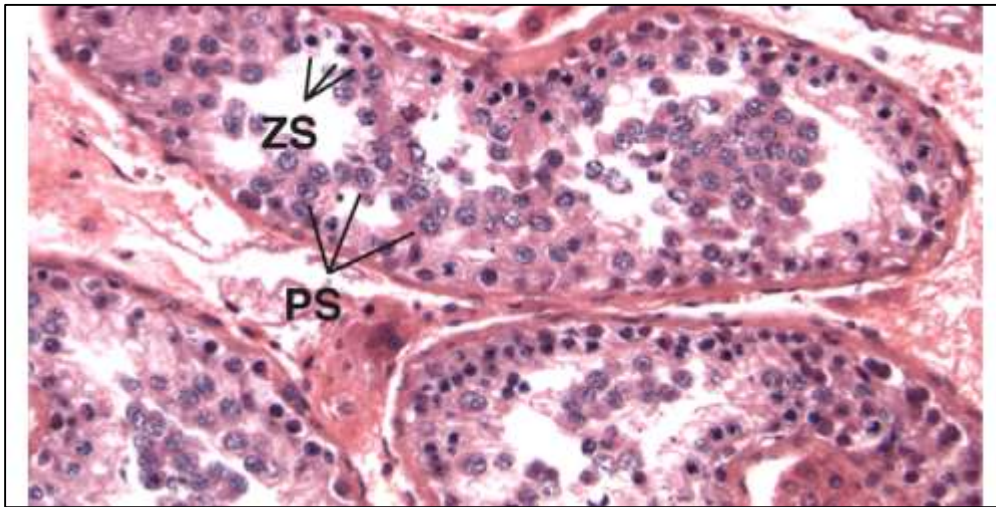


Figure 20 : Biopsie testiculaire d'un patient porteur de la mutation du gène *TEX11* : arrêt de maturation

Les tubes séminifères contiennent des cellules germinales au stade zygotène (ZS) et des spermatocytes au stade pachytène (PS) mais aucune cellule post-méiotique de type spermatozoïde n'est visible.

D'après le cours du Professeur Charles Coutton « La place des nouvelles technologies d'analyse du génome dans la prise en charge de l'infertilité en AMP » (Master 2 « biologie de la reproduction humaine » 2018-2019, Université Paris-Descartes)

1.6. Prise en charge de l'infertilité masculine d'origine génétique

1.6.1. Conseil génétique

Le conseil génétique est indispensable en cas d'anomalie chromosomique et de microdélétion du chromosome Y afin d'informer les patients de la possibilité de transmission d'une anomalie à la descendance.

Chez les rares patients porteurs du syndrome de Klinefelter qui produisent des spermatozoïdes, les gamètes sont en général normaux. La descendance hérite donc le plus souvent d'un caryotype normal.

Concernant les translocations réciproques, chaque situation doit être étudiée de façon indépendante. Afin d'améliorer le diagnostic et la précision de l'information délivrée, la FISH sur noyaux spermatiques peut être intéressante, ainsi que la consultation de bases de données permettant d'identifier la présence d'un éventuel

gène critique de la spermatogenèse au niveau des points de cassure. Dans tous les cas, le DPN est préconisé.

Pour les translocations robertsoniennes, le risque de transmission d'une anomalie déséquilibrée en cas de translocation paternelle est relativement faible et plus prévisible que pour les translocations réciproques. Néanmoins, la gravité des conséquences potentielles doit amener à informer les couples et à les orienter vers le DPN, y compris lors de la prise en charge en AMP. En effet, des trisomies 13 ont déjà été identifiées chez la descendance de pères porteurs d'une translocation robertsonienne à la suite d'une ICSI (4).

Le risque génétique lié à l'existence des microdélétions de l'Y concerne exclusivement la fertilité. Le conseil génétique avant AMP doit donc informer les couples que tous les garçons conçus par cette méthode connaîtront eux-mêmes des problèmes de reproduction à l'âge adulte (6). La sévérité des troubles de la spermatogenèse chez la descendance étant imprévisible, il est recommandé de proposer à ces garçons, si c'est possible, une cryoconservation de sperme à un âge relativement jeune (51). Par ailleurs, la question de l'instabilité mitotique des chromosomes Y délétés doit également être abordée en conseil génétique. En effet, il a été montré, grâce à la FISH sur noyaux spermatiques, que les hommes porteurs de microdélétions du chromosome Y génèrent davantage de gamètes nullisomiques pour les gonosomes (51). Il existe donc théoriquement un risque augmenté de transmettre un syndrome de Turner à la descendance. Lorsque le Y délété est transmis, Siffroi *et al.* rappellent que son caractère instable est susceptible d'entraîner l'apparition d'une mosaïque 45,X/46,Xdel(Y) chez l'embryon, ce qui peut théoriquement conduire à la naissance d'enfants présentant des troubles de la différenciation sexuelle (6). Cependant, en pratique, Liu *et al.* précisent que l'ICSI chez les hommes porteurs de microdélétions du chromosome Y n'entraîne pas de risque augmenté d'anomalies somatiques chez les enfants (52). Il n'y a donc pas d'indication à recourir au DPI pour prévenir la transmission de telles anomalies.

1.6.2. Biopsie testiculaire

Elle est proposée en cas d'azoospermie ou de cryptozoospermie dans l'espoir de recueillir des spermatozoïdes directement à l'intérieur du tissu testiculaire. Son pronostic est variable en fonction de l'étiologie.

Comme nous l'avons vu précédemment, environ 90% des patients porteurs du syndrome de Klinefelter présentent une azoospermie. Dans ce contexte, la biopsie se révèle positive dans 50% des cas environ (26). Il est difficile de se prononcer sur les résultats de la biopsie testiculaire dans le cas du syndrome de Klinefelter car il existe peu de facteurs prédictifs fiables. Les taux de gonadotrophines, de testostérone ou d'inhibine B n'ont pas montré une bonne valeur prédictive, de même que le volume testiculaire. Le seul facteur pronostique significatif mis en évidence dans plusieurs études est l'âge du patient au moment de l'intervention, avec de meilleures chances de réussite avant l'âge de 35 ans (27). Pour Royahem *et al.*, la BT pratiquée entre 15 et 19 ans donnerait de meilleures chances de réussite que celle qui est réalisée après l'âge de 20 ans (53) (figure 21). Cependant, aucun consensus n'a pour l'instant été obtenu sur l'âge optimal de réalisation du prélèvement testiculaire. En revanche, au regard des données actuelles, il n'est pas recommandé de pratiquer la BT en période pré-pubertaire et de façon générale avant l'âge de 15 ou 16 ans.

Concernant les microdélétions du chromosome Y, le rendement de la BT dépend du type de délétion. Le phénotype est très variable chez les hommes porteurs de microdélétions AZFc, pouvant aller de l'oligospermie modérée à l'azoospermie. Dans ce contexte, il est donc possible de recueillir des spermatozoïdes lors d'une BT. Le plus souvent, la spermatogenèse est complète, mais quantitativement diminuée. Il existe de rares cas d'hommes porteurs de la microdélétion AZFc ayant conçu naturellement à plusieurs reprises mais dans tous les cas rapportés, les fils de ces hommes étaient infertiles (14). En cas d'oligospermie, un déclin progressif de la concentration spermatique pouvant conduire à l'azoospermie est observé, témoignant d'une détérioration de la spermatogenèse au cours du temps. Dans cette situation, il est donc recommandé de proposer une cryoconservation de sperme afin d'éviter de recourir à la BT.

Les gènes présents sur le locus AZFb interviennent dans la croissance et la maturité des spermatozoïdes et sont considérés comme critiques pour le déroulement de la méiose. Les patients porteurs de cette délétion ont un phénotype histologique de

type arrêt de maturation, fréquemment au stade spermatocyte, avec absence de cellules post-méiotiques dans la majorité des tubes séminifères (14) (figure 22). Il existe une corrélation claire entre l'étendue de la délétion et les observations histologiques de la biopsie testiculaire. Les patients porteurs de la microdélétion AZFb sont le plus souvent azoospermiques et les probabilités de recueillir des spermatozoïdes matures par BT sont négligeables.

En règle générale, les microdélétions AZFa se traduisent par un « Sertoli Cell Only Syndrome » (SCOS) et une azoospermie (14) (figure 23). Les gènes présents sur le locus AZFa s'expriment au niveau des cellules germinales primordiales. L'absence de ces gènes pourrait donc conduire à l'apoptose des spermatogonies, ce qui expliquerait le SCOS. Il est théoriquement impossible de retrouver des spermatozoïdes en cas de microdélétion AZFa mais en pratique, dans certains cas, des gamètes peuvent tout de même être produits si la région n'a pas été intégralement délétée. Gonçalves *et al.* ont par exemple rapporté le cas d'un patient avec une microdélétion isolée du gène *DBY* (DEAD-box Y RNA helicase) localisé sur le locus AZFa, qui présentait une hypospermatogénèse (54). Avec une prise en charge en AMP, ce patient a eu des jumeaux. Cependant, ce cas de figure est tellement rare qu'il n'est pas recommandé, en pratique courante, de recourir à la BT chez les patients porteurs de microdélétions AZFa.

La BT peut également être indiquée en cas d'anomalies chromosomiques structurales, dont la prévalence est augmentée chez les hommes avec altération des paramètres spermatiques. Néanmoins, ces anomalies de structure sont bien plus souvent responsables d'oligospermie que d'azoospermie et conduisent donc rarement au prélèvement testiculaire.

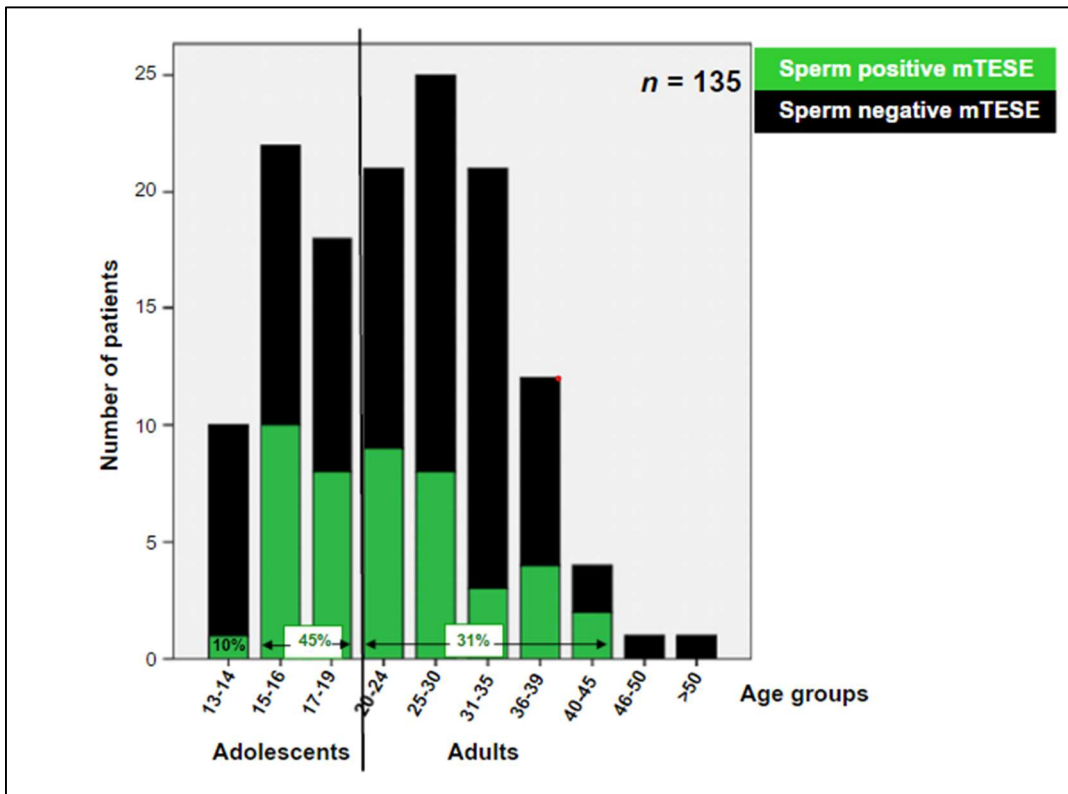


Figure 21 : Taux de réussite de la biopsie testiculaire en fonction de l'âge chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter, d'après Rohayem *et al.* (53)

- Sperm positive mTESE : BT positive
- Sperm negative mTESE : BT négative

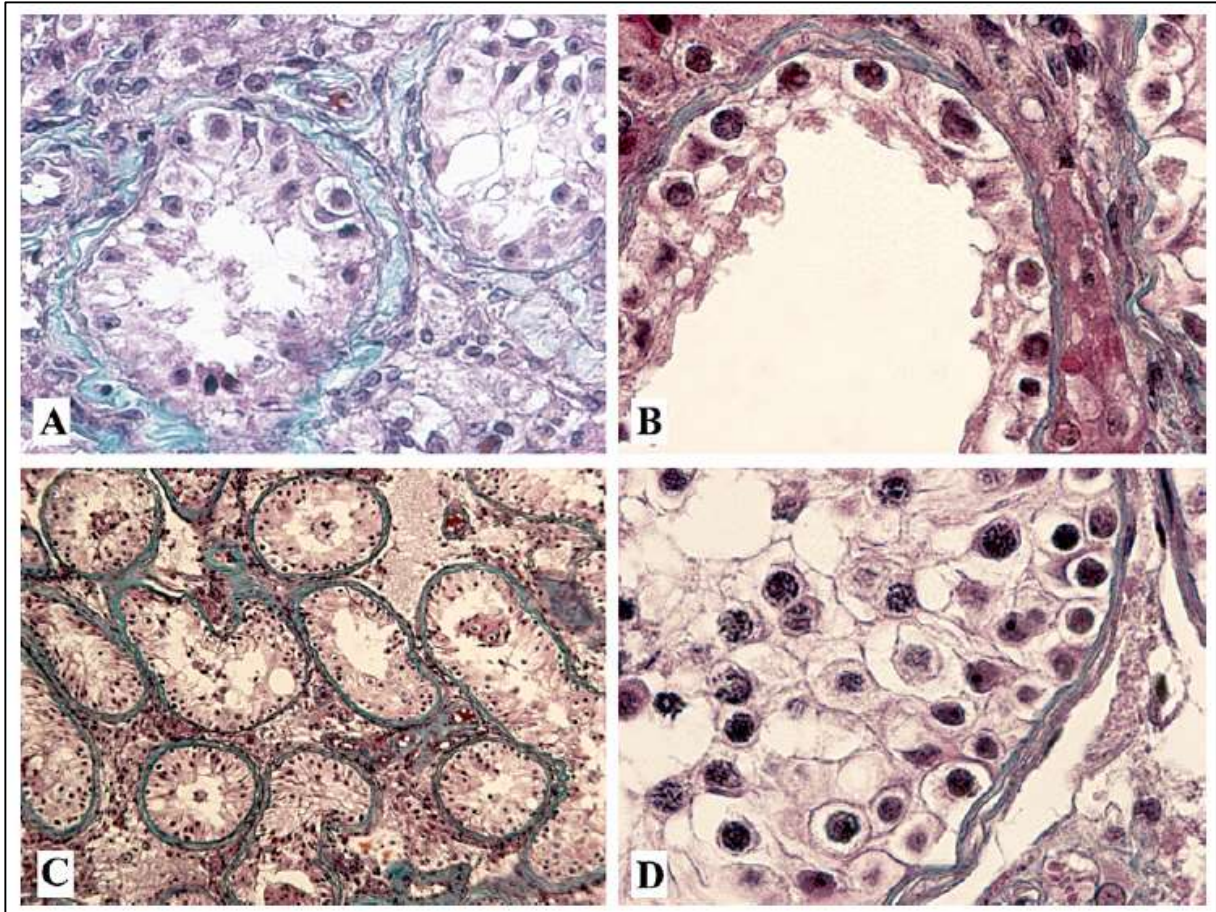


Figure 22 : Biopsie testiculaire : mise en évidence d'un arrêt de maturation, d'après Robin et al. (55)

A : Le diamètre des tubes séminifères est diminué, la gaine péritubulaire épaissie et quelques spermatogonies sont observées contre la gaine péritubulaire. ; B : détail d'un tube séminifère montrant des spermatogonies et l'absence de cellules germinales plus matures ; C : vue d'ensemble d'une BT avec arrêt de maturation ; D : détail de l'épithélium germinal. La spermatogenèse est quantitativement normale mais arrêtée au stade spermatocyte.

Les biopsies testiculaires sont fixées dans le liquide de Bouin et colorées par l'hématoxyline-éosine-vert FCF. Grossissements : A×400 ; B×630 ; C×250 ; D×630.

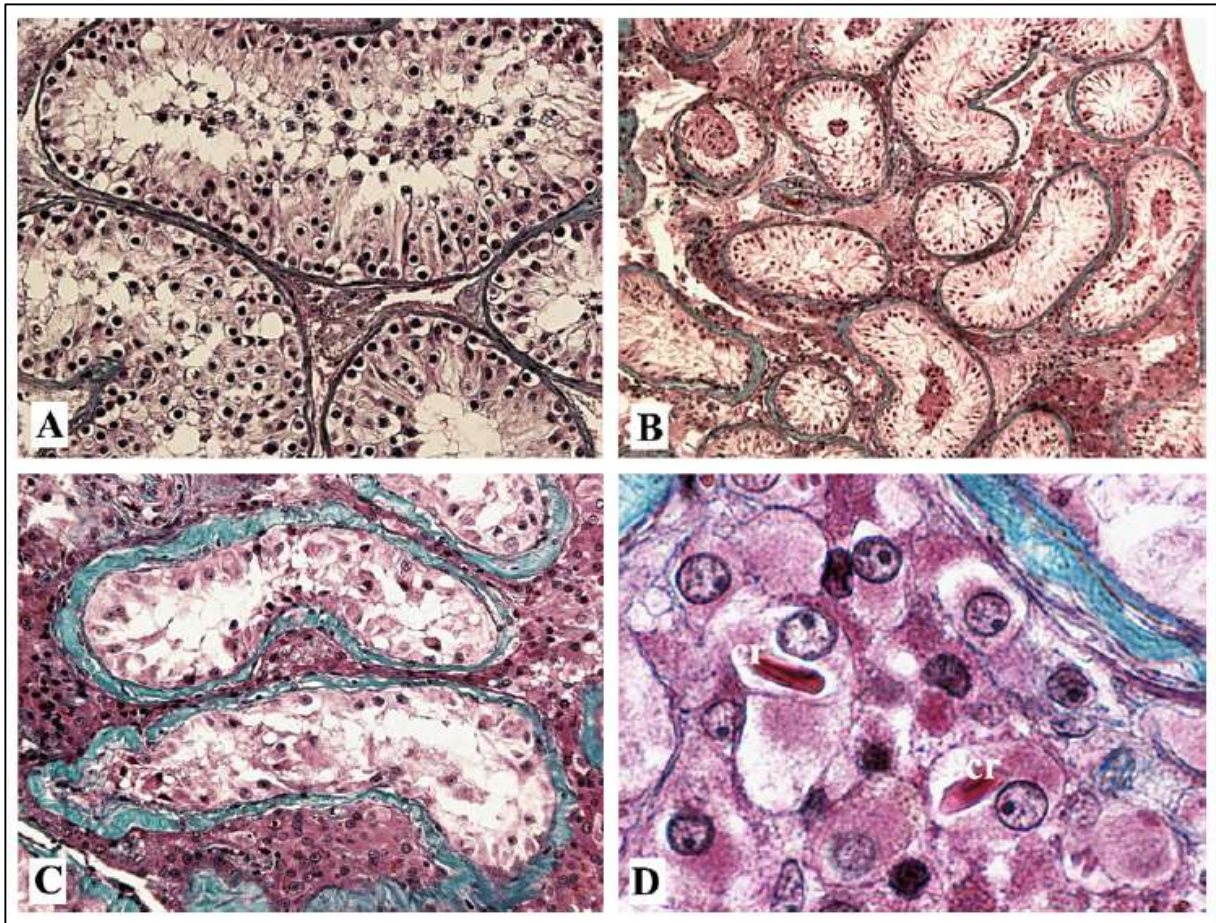


Figure 23 : Biopsie testiculaire : mise en évidence d'une spermatogenèse incomplète et d'un SCOS, d'après Robin et al. (55)

A : hypospermatogenèse : tubes séminifères présentant des cellules germinales en nombre diminué au stade spermatogonie, spermatocyte et spermatide. Les spermatozoïdes sont exceptionnels. ; B : plusieurs tubes séminifères de diamètre diminué sans cellule germinale et avec des cellules de Sertoli (SCOS) ; C : détail de deux tubes séminifères avec des cellules de Sertoli et sans cellule germinale ; D : amas de cellules de Leydig au noyau rond et nucléolé et cristaalloïdes de Reinke (cr).

Les biopsies testiculaires sont fixées dans le liquide de Bouin et colorées par l'hématoxyline-éosine-vert FCF. Grossissements : A×400 ; B×630 ; C×250 ; D×630.

1.6.3. ICSI

La première étude rapportant des grossesses obtenues grâce à l'ICSI a été publiée dans le Lancet par une équipe belge en 1992 (56). Il s'agit d'une micro-manipulation qui consiste à injecter un spermatozoïde dans le cytoplasme d'un ovocyte. Depuis le début des années 1990, l'ICSI a succédé à la PZD (partial zona dissection) et à la SUZI (subzonal insemination). Cette technique nécessite la décoronisation enzymatique puis mécanique des ovocytes afin d'éliminer les cellules du cumulus et la corona radiata. Seuls les ovocytes intacts ayant expulsé le premier globule polaire peuvent être retenus pour la micro-injection. L'usage d'une pipette d'injection est nécessaire pour sélectionner un spermatozoïde, percer la zone pellucide puis la membrane plasmique de l'ovocyte (maintenu par une pipette de contention) et enfin injecter le spermatozoïde dans le cytoplasme (figure 24). La fécondation peut être constatée 16 à 18 heures après la manipulation. L'ICSI est très utile en cas d'altération importante des paramètres spermatiques (oligospermie sévère ou cryptozoospermie) et permet l'utilisation des spermatozoïdes recueillis par BT.

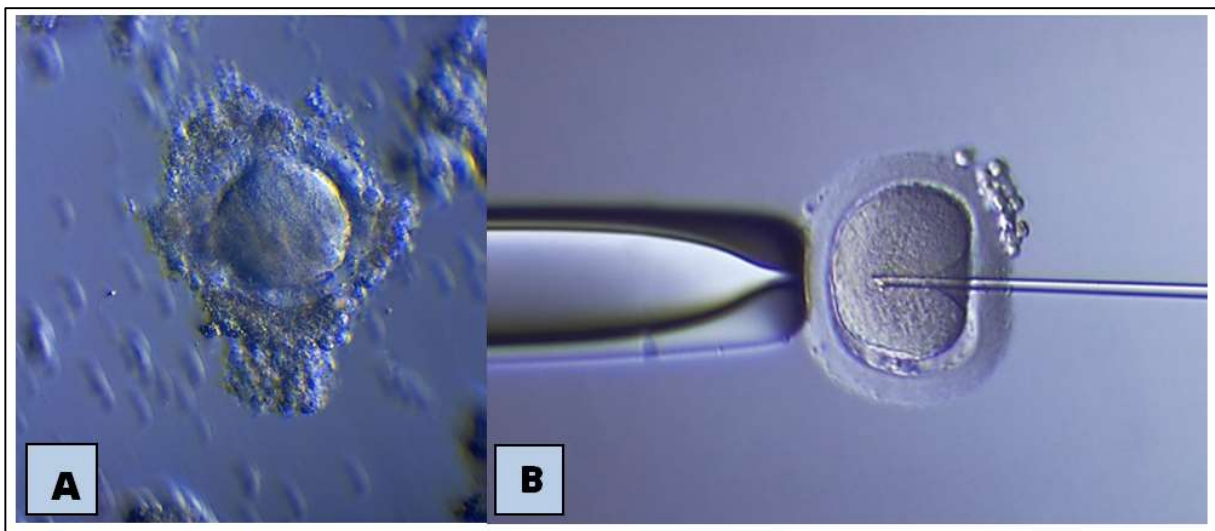


Figure 24 : A : Ovocyte entouré de la corona radiata; B : micro-injection d'un ovocyte décoronisé, d'après le site gfmer.ch (57)

1.6.4. Diagnostic pré-implantatoire (DPI)

La réalisation du DPI nécessite l'identification au préalable *chez l'un des parents ou l'un de ses ascendants immédiats dans le cas d'une maladie gravement invalidante, à révélation tardive et mettant prématurément en jeu le pronostic vital, de l'anomalie ou des anomalies responsables d'une telle maladie* (Article L2131-4 du Code de la santé publique). Le DPI est autorisé depuis 1999 en France. Il peut être indiqué lorsqu'il existe un risque de transmettre une maladie monogénique, une maladie liée à l'X ou encore une anomalie chromosomique déséquilibrée. Différentes techniques diagnostiques sont utilisées : cytogénétique conventionnelle et moléculaire et biologie moléculaire. Pour réaliser un DPI, il est nécessaire d'avoir recours à l'AMP afin d'obtenir des embryons *in vitro*. L'objectif est de prélever des cellules embryonnaires (blastomères) afin d'analyser leur contenu génétique et ainsi sélectionner les embryons indemnes de l'anomalie recherchée. Le prélèvement des cellules peut être réalisé au stade d'embryon clivé, ou un peu plus tard au stade blastocyste (figures 25 et 26). Il est aussi possible de réaliser l'analyse sur les globules polaires (58). En raison de l'étude d'un nombre très limité de cellules, le DPI n'est pas sensible pour détecter les mosaïques, ce qui peut faire discuter un éventuel DPN de contrôle.

Lorsqu'il existe un risque de transmettre une anomalie chromosomique déséquilibrée, le DPI consiste à sélectionner les embryons euploïdes ou équilibrés dans l'optique d'optimiser les chances de grossesse et de réduire le risque de naissance d'enfants porteurs d'un syndrome polymalformatif et/ou d'une déficience intellectuelle. Selon Harper *et al.*, les anomalies chromosomiques représentent environ 16% des indications de DPI (59). Alors que la génétique mendélienne permet généralement d'estimer le risque de transmission des anomalies monogéniques, il est beaucoup moins évident de prédire le nombre d'embryons transférables que l'on pourrait théoriquement attendre en cas d'anomalie chromosomique structurale. En effet, le pourcentage d'embryons normaux sur le plan chromosomique varie en fonction du type de remaniement : il est par exemple plus élevé en cas de translocation robertsonienne qu'en cas de translocation réciproque (59). Par ailleurs, si la taille des segments transloqués influence le taux de gamètes déséquilibrés produits lors de la méiose, Dul *et al.* ont aussi montré que le pourcentage d'embryons déséquilibrés obtenus dans le cadre du DPI augmentait lorsque la différence de taille entre les deux segments transloqués était très importante (60).

En outre, le DPI ne garantit pas aux couples qui en bénéficient d'obtenir une grossesse. Les chances de grossesse dépendent notamment du nombre d'ovocytes recueillis après stimulation hormonale, du taux de fécondation des ovocytes ou encore de la qualité du développement embryonnaire. Si ces facteurs sont défavorables et que la prise en charge ne permet pas une procréation intraconjugale, il est important d'informer les couples sur la possibilité de recourir à des solutions alternatives telles que le don de gamètes ou l'adoption.

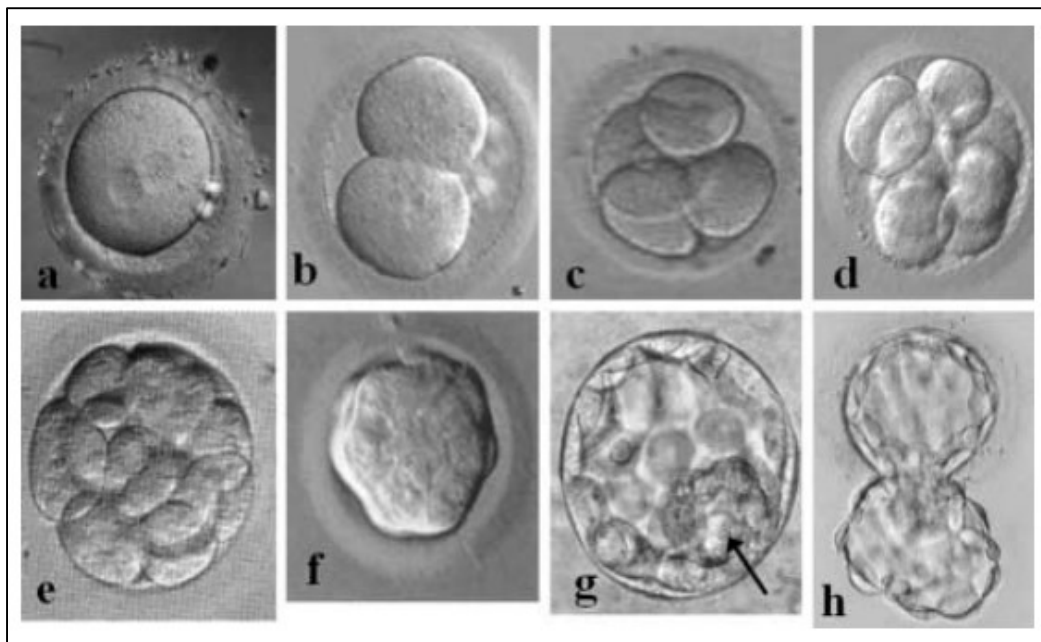


Figure 25 : Les différents stades du développement embryonnaire, d'après Ogilvie *et al.* (58)

a : zygote ; *b* : stade 2 cellules (J1) ; *c* : stade 4 cellules (J2) ; *d* : stade 8 cellules (J3) ; *e* : stade 16 cellules ; *f* : stade morula (J4) ; *g* : stade blastocyste (J5) ; *h* : blastocyste éclos

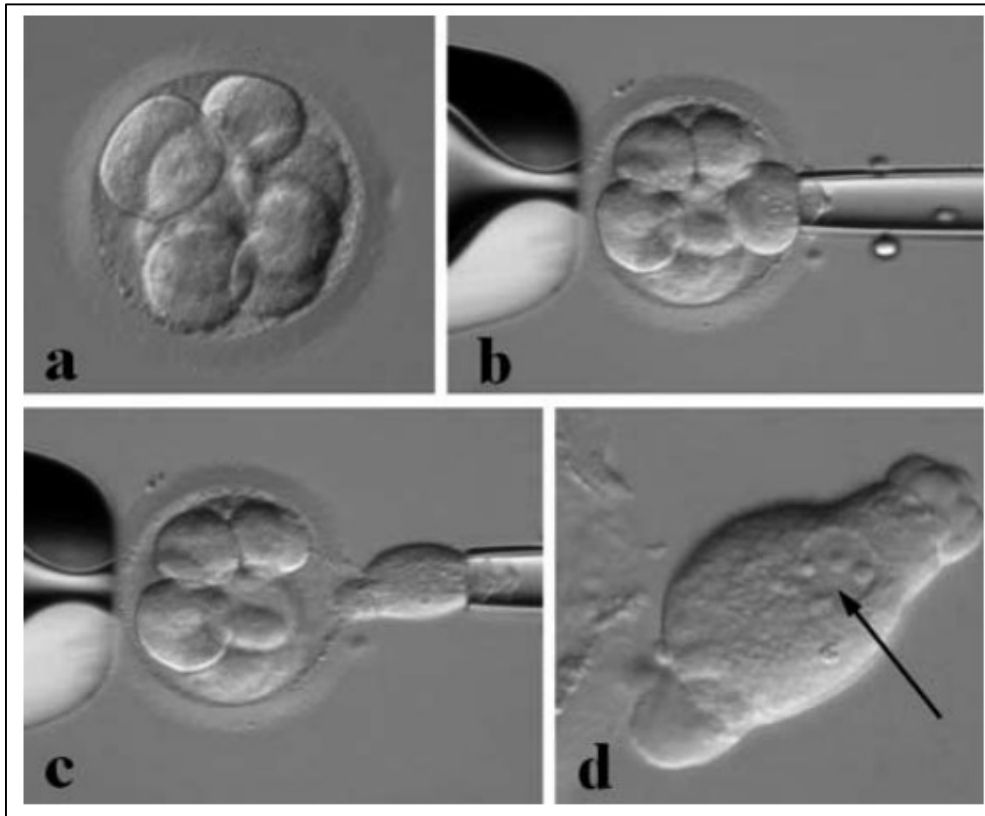


Figure 26 : Biopsie de blastomère, d'après Ogilvie et al. (58)

a : embryon stade 8 cellules (J3) ; b : ouverture de la zone pellucide pour accéder aux blastomères ; c : biopsie d'un blastomère par aspiration ; d : La flèche indique le noyau du blastomère biopsié sur lequel seront réalisés les tests génétiques.

1.6.5. Diagnostic prénatal (DPN)

D'après Brun et al. (61)

En France, le DPN est défini par l'article L2131-1 du Code de la santé publique, issu de la loi de bioéthique de 2011 énonçant que *le diagnostic prénatal s'entend des pratiques médicales, y compris l'échographie obstétricale et fœtale, ayant pour but de détecter « in utero » chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité incurable au moment du diagnostic*, par exemple une anomalie génétique ou une malformation congénitale. La loi stipule que la femme enceinte doit recevoir une information loyale, claire et adaptée à sa situation sur la possibilité de recourir, à sa demande, à des examens de biologie médicale et d'imagerie permettant d'évaluer le risque que l'embryon ou le fœtus présente une affection susceptible de modifier le déroulement ou le suivi de la grossesse.

L'Agence de Biomédecine veille à l'application de cette loi afin de garantir la qualité et la sécurité des soins via les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN). Leur rôle est d'accompagner les couples dans leur parcours de soins en confirmant les indications et en délivrant des avis et conseils (diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques) de cliniciens et de biologistes en cas de suspicion d'affection d'un embryon ou d'un fœtus.

Le but est de détecter *in utero* une affection grave afin de donner aux futurs parents le choix de poursuivre ou non la grossesse et de permettre une meilleure prise en charge médicale de la pathologie si la grossesse est poursuivie. Le DPN est guidé par un éventail de techniques d'imagerie (échographie, IRM, TDM), de dosages biologiques (marqueurs sériques hormonaux) et d'examens génétiques.

En cas de signe d'appel biologique ou échographique, ou d'antécédents familiaux, le CPDPN peut proposer un DPN qui nécessite le recueil de matériel génétique d'origine fœtale, par prélèvement de villosités choriales ou amniocentèse le plus souvent et, dans de rares cas, par ponction de sang fœtal. Les principales complications liées à ces méthodes invasives sont les fausses-couches et les accouchements prématurés. Aujourd'hui, le risque de survenue de ces complications est faible (environ 0,1%).

Comme pour le DPI, les examens génétiques incluent les techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire ainsi que les techniques de biologie moléculaires (NGS).

1.6.6. Prise en charge psychologique

Les taux d'anxiété et de dépression chez les couples infertiles sont supérieurs à ceux observés dans la population générale (62). De plus, la frustration liée à l'infertilité entraîne également des effets négatifs sur la relation de couple. Les hommes infertiles peuvent présenter une estime de soi diminuée et manifestent davantage de symptômes somatiques que les hommes fertiles (maux de tête, prurit) (63). Ils acceptent plus facilement les informations orales que les informations écrites et préfèrent recevoir un soutien de la part de spécialistes de l'infertilité plutôt que de la part de spécialistes de la santé mentale, de groupes de soutien ou d'amis (62).

2. Étude rétrospective

Les patients infertiles porteurs d'anomalies chromosomiques doivent recevoir, lors du conseil génétique, des informations claires et actualisées dans le cadre de leur prise en charge thérapeutique. Certaines de ces anomalies sont responsables d'une altération de la spermatogenèse nécessitant le recours à l'AMP, et leurs éventuelles conséquences sur les chances de grossesse doivent être évaluées. Dans le but d'obtenir des éléments de réponse à cette problématique, nous avons réalisé une étude rétrospective de type cas-témoins.

2.1. Objectifs

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les résultats de l'AMP des couples dont l'homme était porteur d'un remaniement chromosomique structural équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y dans le cadre d'une prise en charge intraconjugale conventionnelle. Le critère de jugement principal était le taux de grossesse clinique, défini comme le ratio entre le nombre de grossesses cliniques (embryons avec activité cardiaque) et le nombre de transferts embryonnaires.

Il y avait de multiples objectifs secondaires :

- Rapporter différentes données épidémiologiques concernant les anomalies chromosomiques et les microdélétions du chromosome Y des hommes infertiles pris en charge dans les centres d'AMP du CHU de Bordeaux et de la Réunion ;
- Étudier la relation entre l'âge et les paramètres du bilan hormonal d'infertilité d'une part, et les résultats de la biopsie testiculaire d'autre part, chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter ;
- Étudier les paramètres hormonaux chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y, en fonction du type de microdélétion et en fonction du phénotype spermatique ;
- Présenter une synthèse sur les résultats du DPN pour les couples dont l'homme était porteur d'un remaniement chromosomique équilibré.

2.2. Matériels et méthodes

2.2.1. Population étudiée

Cette étude a été menée dans les services de biologie de la reproduction du CHU de Bordeaux et du CHU de la Réunion (site Sud). Deux groupes de cas ont été comparés à un groupe « contrôle ». Les couples de chaque groupe de cas et du groupe « contrôle » ont été sélectionnés parmi ceux qui avaient bénéficié d'une prise en charge en AMP intraconjugale et dont l'homme présentait une oligospermie sévère (concentration spermatique inférieure à 5 millions/mL), une cryptozoospermie ou une azoospermie. Pour chaque couple, au moins un transfert d'embryon frais ou vitrifié a été réalisé. Le premier groupe de cas incluait six hommes porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré et le deuxième groupe de cas incluait sept hommes porteurs d'une microdélétion du chromosome Y. Le groupe « contrôle » était composé de 14 couples dont les conjoints ne présentaient aucune de ces anomalies génétiques. Les groupes de cas ont été appariés avec le groupe « contrôle » sur les critères suivants : âge de l'homme, âge de la femme, nombre de tentatives par couple, nombre d'ovocytes ponctionnés par tentative, nombre total d'embryons transférés par couple. Les données clinico-biologiques suivantes ont été comparées: nombre d'ovocytes injectés, nombre d'embryons obtenus, nombre d'embryons frais transférés, nombre d'embryons par transfert, nombre d'embryons congelés, taux de grossesse biochimique, taux de grossesse clinique, taux de grossesse gémellaire, taux de fausse-couche précoce, taux de fausse-couche tardive, taux de naissance vivante. Les indications de la prise en charge en AMP ont été rapportées pour les cas et les témoins.

Les données épidémiologiques portaient sur l'ensemble des hommes infertiles pris en charge en AMP et pour lesquels un caryotype a été prescrit, y compris ceux qui n'ont pas bénéficié d'une prise en charge thérapeutique de l'infertilité.

2.2.2. Réalisation du caryotype

Les caryotypes ont été réalisés au CHU de Bordeaux ou de la Réunion à partir de la culture de lymphocytes obtenus par prélèvement sanguin sur tube hépariné et après consentement écrit des patients. À la fin de la culture, les mitoses ont été bloquées par ajout de colcémide. Un choc hypotonique a ensuite été induit afin de lyser la membrane plasmique et de libérer le contenu des noyaux. Puis, une solution de fixation a été ajoutée avant centrifugation et obtention d'un culot lymphocytaire. Après remise en suspension, des gouttes de culot ont été étalées sur des lames et ces dernières ont été stockées avant coloration. Une fois la coloration effectuée, les métaphases ont été recherchées au microscope et capturées à l'aide d'un logiciel spécifique avant analyse.

2.2.3. Recherche des microdélétions du chromosome Y

Après consentement écrit des patients, un prélèvement de sang total sur EDTA a été réalisé pour la recherche des microdélétions du chromosome Y. Cette analyse a été effectuée par PCR multiplex de marqueurs spécifiques STS (sequence tagged sites) présents dans les trois zones AZFa, AZFb et AZFc (figure 27). Les analyses ont été réalisées au CHU de Bordeaux, à l'hôpital Cochin ou par le laboratoire Biomnis.

Marqueurs chromosome Y	Résultats
SRY	Présent
AZFa (sY84;sY86)	Présent
AZFb (sY121;sYPR3;sY124)	Présent
AZFb (sY127;sY128;sY130)	Présent
AZFb (sY133;sY134)	Présent
AZFc/AZFd (sY145;sY152)	Présent
AZFc (sY242;sY208)	Présent
AZFc (sY254;sY255)	Présent

sY1191	Présent
sY1197	Présent
sY1291	Absent

Figure 27 : Exemple de résultat de recherche de microdélétions du chromosome Y

L'étude par PCR multiplex de 17 marqueurs STS localisés sur le bras long du chromosome Y n'a pas permis de mettre en évidence une microdélétion affectant les régions AZFa-b-c. L'analyse complémentaire de 3 marqueurs STS localisés dans la région AZFc a permis de mettre en évidence une délétion partielle de type gr/gr (absence de marqueur sY1291).

2.2.4. Recueil et utilisation des données

Les données ont été extraites des logiciels Jfiv® (CHU de Bordeaux) et MédiFirst® (CHU de la Réunion). Elles ont été recueillies rétrospectivement de 2005 à 2020, utilisées dans un cadre strictement confidentiel et anonymisées. L'évolution des techniques et des performances en AMP au cours de cette période a été prise en compte lors de la sélection du groupe témoin.

2.2.5. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été réalisée grâce au logiciel BiostaTGV®. Étant donné les faibles effectifs de cette étude, un test non paramétrique de Wilcoxon - Mann Whitney a été utilisé pour comparer les médianes (intervalles [Q1 ; Q3]) entre les échantillons. Un test exact de Fisher a été appliqué pour comparer les proportions. Les différences étaient considérées comme significatives lorsque la valeur de p était inférieure à 5%.

2.3. Résultats

2.3.1. Données épidémiologiques

Sur les 942 caryotypes réalisés, 84 étaient anormaux (8,9%) (figure 28) (tableau 1). Parmi les 84 patients porteurs d'une anomalie chromosomique, 63 présentaient une azoospermie (75%), 4 présentaient une cryptozoospermie (4,7%), 14 présentaient une oligospermie sévère (16,7%) et 3 présentaient une oligospermie modérée (3,6%) (tableau 2). L'azoospermie était plus fréquente chez les sujets porteurs d'anomalies des gonosomes (dysgonosomies et anomalies structurales impliquant les gonosomes) tandis que les patients porteurs de translocations présentaient le plus souvent une oligospermie.

Les dysgonosomies représentaient les anomalies chromosomiques les plus fréquentes (75%). La proportion du syndrome de Klinefelter parmi les hommes infertiles était de 6,1% (57/942) et cette anomalie était très largement majoritaire parmi les dysgonosomies (90,5%). Parmi les 57 patients 47,XXY, 56 présentaient un syndrome homogène (98,3%) et un patient présentait une mosaïque (1,7%). Cette mosaïque particulière était composée d'une lignée 46,XX. Parmi les 56 patients porteurs d'un syndrome de Klinefelter homogène, 53 présentaient une azoospermie au diagnostic (94,6%) et 3 présentaient une cryptozoospermie (5,4%). Le patient porteur de la mosaïque présentait une azoospermie.

Parmi les patients porteurs du syndrome homogène, un patient avait la particularité de porter une translocation réciproque apparemment équilibrée entre le chromosome 6 et le chromosome Y en plus d'un chromosome X surnuméraire.

Les anomalies structurales équilibrées des autosomes mises en évidence étaient au nombre de 12, dont 6 translocations robertsoniennes, 5 translocations réciproques et une inversion, ce qui représentait une proportion parmi les hommes infertiles de 0,64%, 0,53% et 0,11% respectivement.

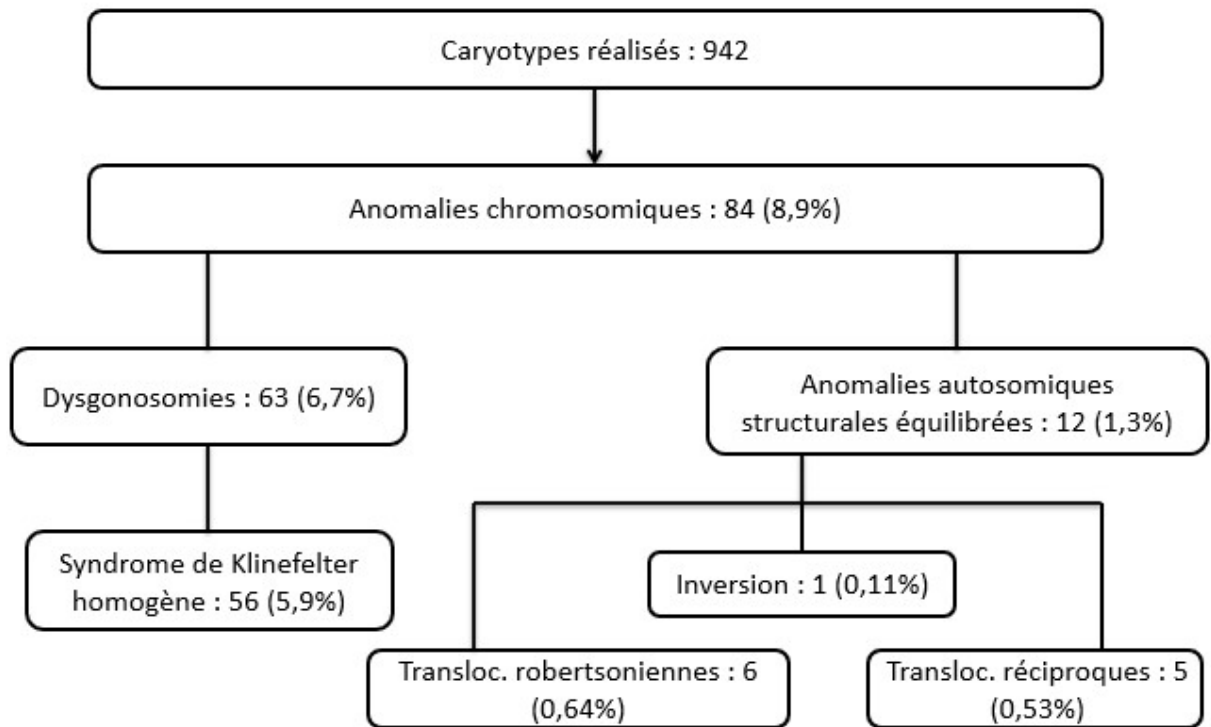


Figure 28 : Répartition des différentes anomalies chromosomiques

Tableau 1 : Formules correspondant aux différents types d'anomalies chromosomiques

Anomalies chromosomiques (N=84)	Formules
Dysgonosomies (n=63)	<p>47,XXY (55)</p> <p>47,XX,t(6;Y)(q25;q12) (1)</p> <p>mos 47,XXY[8]/46,XX[22] (1)</p> <p>47,XYY (2)</p> <p>mos 45,X/46,XY (1)^a</p> <p>mos 45,X/46XY,r(Y) (1)^b</p> <p>mos 46,X,dic r(Y)(p11.31q12)[19]/ 46,X,r(Y)(p11.31q12)[13]/ 46,X,idic(Y)(p11.2)[6]/45,X[12] (1)</p> <p>46,X,psu idic(Y)(q11.22)[21]/45,X[9] (1)</p>
Anomalies de structure impliquant les gonosomes (n=5)	<p>46,Y,der(X)t(X;Y)(p22.3;q11.22) (1)</p> <p>46,X,?i(Y)(p10).ish idic(Y)(q11) (1)</p> <p>45,X,add(14)(p1?2).ish psu dic(Y;14)(p13;p10) (1)</p> <p>46,X,inv(Y)(p11q12) (1)</p> <p>46,XY,der(22)t(Y;22)(q12;p11.2) (1)</p>
Translocations robertsoniennes (n=6)	<p>45,XY,der(13;14)(q10;q10) (3)</p> <p>45,XY,der(14;21)(q10;q10) (2)</p> <p>45,XY,der(14;15)(q10;q10) (1)</p>
Translocations réciproques (n=5)	<p>46,XY,t(1;4) (1)^c</p> <p>46,XY,t(16;19)(p11.2;q13.4) (1)</p> <p>46,XY,t(4;12)(q33;q21.2) (1)</p> <p>46,XY,t(2;9)(p13;q34) (1)</p> <p>46,XY,t(1;16)(p13;q12) (1)</p>
Autres anomalies (n=5)	<p>46,XX (2)</p> <p>47,XY,+inv dup(22)(q11.1) (1)</p> <p>47,XY + mar (1)</p> <p>46,XY,inv(19)(p13.2q12) (1)</p>

a- La lignée 45,X représentait 6% des métaphases observées.

b- Le pourcentage de cellules 45,X n'a pas pu être récupéré.

c- La formule complète avec les points de cassure n'a pas pu être récupérée.

Tableau 2 : Résultats du spermogramme en fonction du type d'anomalie

Type d'anomalie	Azoo. (n=63)	Cryptozoo. (n=4)	Oligo. sévère (n=14)	Oligo. modérée (n=3)
Dysgonosomies	56	4	3	0
Anomalies structurales des gonosomes	4	0	1	0
Translocations robertsoniennes	0	0	4	2
Translocations réciproques	1	0	3	1
Autres	2	0	3	0

Il a été recensé 20 patients porteurs de microdélétions du chromosome Y parmi les 590 pour lesquels la recherche a été effectuée, soit une proportion de 3,4% (figure 29). Les microdélétions AZFc complètes, retrouvées chez 13 patients (65%), étaient les plus fréquentes. Il y avait par ailleurs trois patients porteurs de microdélétions AZFb+c (15%) et deux patients porteurs de microdélétions AZFc partielles gr/gr (10%). La microdélétion AZFa+b+c résultait de la présence d'un chromosome pseudocentrique psu dic(14;Y) à l'origine d'un caryotype déséquilibré et d'une disparition de toutes les régions AZF. L'une des trois microdélétions AZFb+c s'expliquait par la présence d'un chromosome Y isocentrique idic(Y). Pour l'un des patients porteurs de microdélétions, les données permettant d'identifier le type de microdélétion en cause n'ont pas été retrouvées. Parmi les 20 patients porteurs de microdélétions du chromosome Y, 11 présentaient une azoospermie (55%). Tous les patients qui avaient des spermatozoïdes dans l'éjaculat étaient porteurs d'une microdélétion AZFc complète ou AZFc partielle. Parmi les 15 patients porteurs d'une microdélétion AZFc complète ou partielle, 6 étaient azoospermiques (40%).

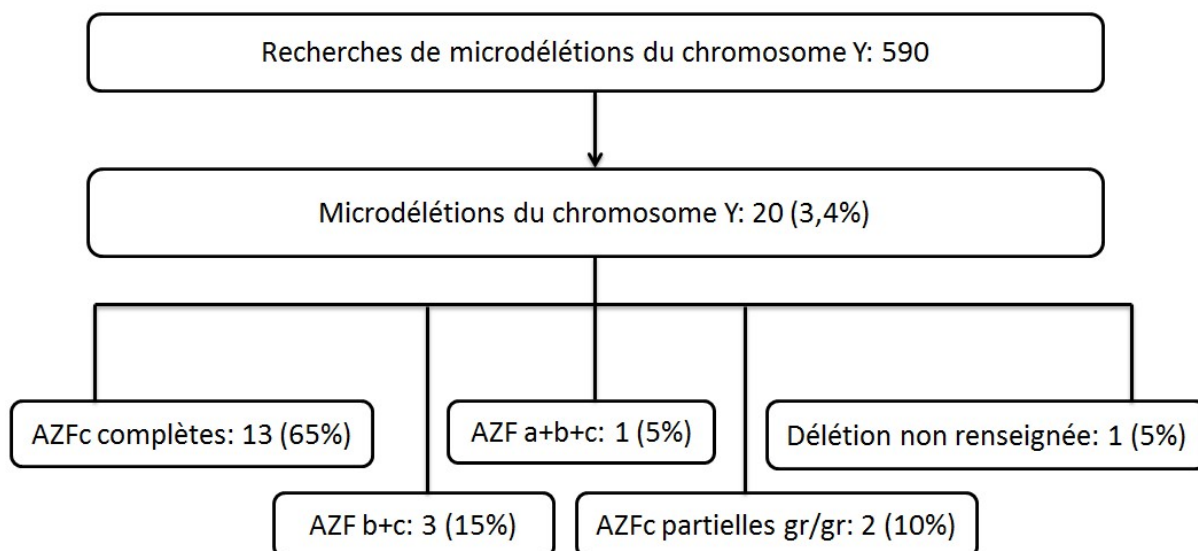


Figure 29 : Répartition des microdélétions du chromosome Y

2.3.2. Résultats de la biopsie testiculaire

Parmi les 57 patients porteurs du syndrome de Klinefelter, 14 ont bénéficié d'une biopsie testiculaire (24,6%), pour 4 résultats positifs (28,6%). Il n'y avait pas de différence significative entre l'âge médian (au moment de la BT) des patients avec BT positive et celui des patients avec BT négative, qui était de 31,5 ans et de 32,5 ans respectivement (tableau 3). Par ailleurs, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre ces deux mêmes groupes concernant les taux de FSH, de LH et de testostérone.

Parmi les patients porteurs du syndrome de Klinefelter, trois ont suivi une prise en charge en AMP intraconjugale. Parmi ces trois patients, deux présentaient une cryptozoospermie permettant l'utilisation de sperme frais pour l'ICSI. Dans le troisième cas, les spermatozoïdes utilisés provenaient d'un prélèvement de BT préalablement congelé. Aucune de ces prises en charge n'a donné lieu à une grossesse.

Tableau 3 : Étude de l'âge et des paramètres hormonaux en fonction du résultat de la BT chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter (KS)*

Paramètre	Groupe « KS BT positive » (n=4)	Groupe « KS BT négative » (n=10)	p-value
Âge	31,5 [24 ; 32]	32,5 [30 ; 36]	0,32
FSH (UI/L)	26 [17 ; 55]	45 [33 ; 53]	0,65
LH (UI/L)	11,4 [7,3 ; 23,3]	28,2 [15,6 ; 31]	0,40
Testostérone (µg/L)	3,1 [2,5 ; 7,3]	4,9 [3,6 ; 6,1]	0,37

* Les valeurs sont données en médianes [Q1 ; Q3].

Note : Tous les paramètres hormonaux n'ont pas été systématiquement dosés pour chaque patient. Le nombre d'observations dans chaque groupe était donc différent selon le paramètre étudié.

L'indication de BT a été retenue pour 5 des 20 patients porteurs de microdélétions du chromosome Y (25%) : 3 patients porteurs de la microdélétion AZFc complète, un patient porteur de la microdélétion AZFb+c et un patient porteur d'une microdélétion AZFc partielle gr/gr. Aucune de ces biopsies ne s'est révélée positive.

2.3.3. Étude des paramètres hormonaux chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y

Les paramètres hormonaux (FSH, LH, testostérone et inhibine B) n'étaient pas différents statistiquement entre les patients porteurs de microdélétions AZFc complètes ou partielles et ceux porteurs d'autres microdélétions (tableau 4). Par ailleurs, ces mêmes paramètres ne variaient pas significativement entre les patients porteurs de microdélétions (tous types confondus) présentant une azoospermie et ceux présentant une cryptozoospermie ou une oligospermie sévère (tableau 5). On peut cependant noter que l'inhibine B avait tendance à être plus élevée en cas de microdélétion AZFc ainsi que chez les patients non azoospermiques.

Tableau 4 : Comparaison des paramètres hormonaux entre les patients porteurs de microdélétions AZFc complètes ou partielles et les patients porteurs d'autres microdélétions*

Paramètre hormonal	Groupe « AZFc » (n=15)	Groupe « autres microdélétions » (n=5)	p-value
FSH (UI/L)	12,9 [8,4 ; 18,4]	15,1 [10,4 ; 16,8]	1,00
LH (UI/L)	5,2 [4,4 ; 6,3]	5,3 [4,8 ; 6,2]	0,84
Inhibine B (ng/L)	79,2 [31,1 ; 93]	43,9 [40,8 ; 47]	0,64
Testostérone (µg/L)	4,2 [2,8 ; 5,2]	3,9 [3,2 ; 7,8]	1,00

* Les valeurs sont données en médianes [Q1 ; Q3].

Note : Tous les paramètres hormonaux n'ont pas été systématiquement dosés pour chaque patient. Le nombre d'observations dans chaque groupe était donc différent selon le paramètre étudié.

Tableau 5 : Comparaison des paramètres hormonaux entre les patients porteurs de microdélétions présentant une azoospermie et ceux présentant une cryptozoospermie ou une oligospermie sévère*

Paramètre hormonal	Groupe « azoo. » (n=11)	Groupe « non azoo. » (n=9)	p-value
FSH (UI/L)	15 [8,4 ; 18,9]	11,2 [6,7 ; 17,7]	0,76
LH (UI/L)	5,4 [4,8 ; 6,2]	4,8 [4 ; 9,1]	0,71
Inhibine B (ng/L)	43,9 [35,5 ; 70]	79,2 [51,3 ; 123,5]	0,49
Testostérone (µg/L)	3,9 [3 ; 4,4]	3,6 [3,2 ; 5,2]	0,79

* Les valeurs sont données en médianes [Q1 ; Q3].

Note : Tous les paramètres hormonaux n'ont pas été systématiquement dosés pour chaque patient. Le nombre d'observations dans chaque groupe était donc différent selon le paramètre étudié.

2.3.4. Résultats de l'AMP chez les patients porteurs de remaniements chromosomiques équilibrés

Parmi les hommes porteurs d'anomalies structurales équilibrées, six ont été pris en charge en AMP intraconjugale conventionnelle. L'anomalie chromosomique a été découverte dans le cadre du bilan de l'infertilité du couple et tous ces hommes avaient un phénotype normal. Tous les patients présentaient une oligospermie sévère ou une cryptozoospermie. Ils ont bénéficié d'une prise en charge en ICSI, réalisée avec du sperme frais ou du sperme éjaculé congelé. Le caryotype effectué pour chacun des six patients a mis en évidence deux translocations robertsoniennes, trois translocations réciproques et une inversion péricentrique. Le détail des formules est donné dans le tableau 6 et les indications de la prise en charge en AMP pour chaque groupe sont rapportées dans la figure 30.

Tableau 6 : Formules chromosomiques des patients porteurs d'anomalies structurales équilibrées pris en charge en AMP

Couple	Formule chromosomique du conjoint
1	45,XY,der(13;14)(q10;q10)
2	45,XY,der(13;14)(q10;q10)
3	46,XY,t(16;19)(p11.2;q13.4)
4	46,XY,t(2;9)(p13;q34)
5	46,XY,t(1;4)*
6	46,XY,inv(19)(p13.2q12)

* La formule complète avec les points de cassure n'a pas pu être récupérée.

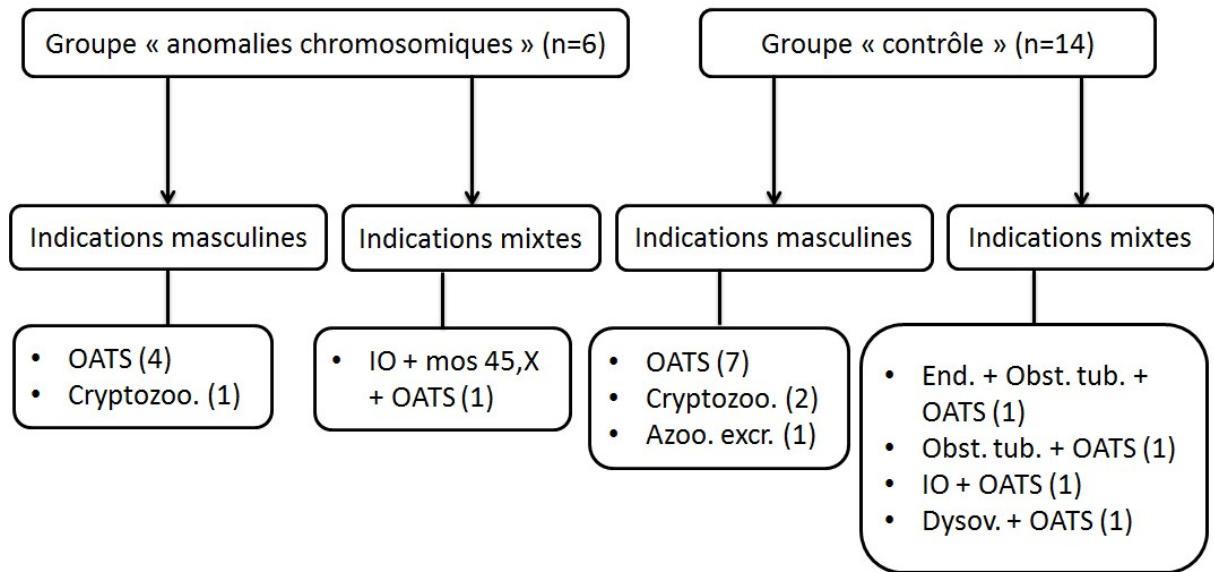


Figure 30 : Indications de la prise en charge en AMP pour les groupes « anomalies chromosomiques » et « contrôle »

- *OATS* : oligoasthénotéatospermie
- *Cryptozoo.* : cryptozoospermie
- *IO* : insuffisance ovarienne
- *mos 45,X* : syndrome de Turner en mosaïque chez la conjointe
- *Azoo. excr.* : azoospermie excrétoire
- *End.* : endométriose
- *Obst. tub.* : obstruction tubaire
- *Dysov.* : dysoovulation

Le tableau 7 expose les critères et les résultats de l'appariement des couples du groupe « anomalies chromosomiques » et du groupe « contrôle ».

Tableau 7 : Comparaison des critères du groupe « anomalies chromosomiques » par rapport à ceux du groupe « contrôle »*

Critère	Groupe « anomalies chromosomiques» (n=6)	Groupe « contrôle» (n=14)	p-value
Âge de l'homme	30 [26 ; 41]	31,5 [27 ; 37]	0,90
Âge de la femme	29 [23 ; 38]	29,5 [27 ; 32]	0,87
Nombre de tentatives/couple	1 [1 ; 3]	1 [1 ; 2]	0,82
Nombres d'ovocytes ponctionnés/tentative	9,5 [6,8 ; 17,3]	11 [8 ; 14]	0,71
Nombre total d'embryons transférés/couple	4 [1 ; 8]	2,5 [1 ; 5]	0,61

* Les valeurs sont données en médianes [Q1 ; Q3].

. Le taux de grossesse clinique chez les cas et les témoins était de 27,8% et 23,7% respectivement (différence non significative). Les taux de grossesse biochimique, de fausse-couche précoce et de naissance vivante n'étaient pas statistiquement différents entre les deux groupes. Les résultats de la comparaison entre les différents indicateurs clinico-biologiques étudiés sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Résultats de l'AMP chez les patients porteurs d'anomalies chromosomiques équilibrées^a

Indicateur	Groupe « anomalies chromosomiques » (n=6)	Groupe « contrôle » (n=14)	p- value
Nombre de tentatives	10	27	/
Nombre d'ovocytes ponctionnés	118	290	/
Nombre d'ovocytes injectés	11,5 [7 ; 22]	11,5 [9 ; 19]	0,84
Nombre d'embryons obtenus	8,5 [3 ; 14]	7,5 [5 ; 10]	0,80
Nombre d'embryons frais transférés	1,5 [1 ; 2]	1 [1 ; 3]	0,68
Nombre d'embryons transférés	30	51	/
Nombre de transferts	18	38	/
Nombre d'embryon par transfert	1,25 [1 ; 2]	1 [1 ; 1,25]	0,29
Nombre d'embryons congelés	1,5 [0 ; 4]	3 [1 ; 4]	0,59
Taux de grossesse biochimique ^b	33,3 (6/18)	26,3 (10/38)	0,75
Taux de grossesse clinique ^c	27,8 (5/18)	23,7 (9/38)	0,75
Taux de grossesse gémellaire ^d	20 (1/5)	0	1,00
Taux de fausse-couche précoce ^e	16,7 (1/6)	10 (1/10)	1,00
Taux de fausse-couche tardive ^f	0	0	1,00
Taux de naissance vivante ^g	20 (6/30)	15,7 (8/51)	0,76

a- Les valeurs sont données en nombres pour chaque groupe, médianes [Q1 ; Q3] pour chaque couple ou pourcentages (nombre/total).

b- Ratio entre le nombre de grossesses biochimiques (β -hCG > 100 UI/L) et le nombre de transferts

c- Ratio entre le nombre de grossesses cliniques (embryons avec activité cardiaque) et le nombre de transferts

d- Ratio entre le nombre de grossesses gémellaires et le nombre de grossesses cliniques

e- Ratio entre le nombre de fausses-couches survenues avant 14 SA et le nombre de grossesses biochimiques

f- Ratio entre le nombre de fausses-couches survenues entre 14 SA et 22 SA et le nombre de grossesses biochimiques

g- Ratio entre le nombre de naissances vivantes et le nombre d'embryons transférés

2.3.5. Résultats de l'AMP chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y

Parmi les hommes infertiles pris en charge en AMP intraconjugale, sept étaient porteurs de microdélétions du chromosome Y. Ces sept patients étaient tous porteurs d'une microdélétion AZFc complète et présentaient une oligospermie sévère ou une cryptozoospermie. Comme pour les patients porteurs d'anomalies structurales équilibrées, une fécondation *in vitro* de type ICSI avec du sperme frais ou du sperme éjaculé congelé a été réalisée. Le tableau 9 montre la comparabilité des cas et des témoins sur les différents critères d'appariement retenus. Les indications de la prise en charge en AMP pour chaque groupe sont rapportées dans la figure 31.

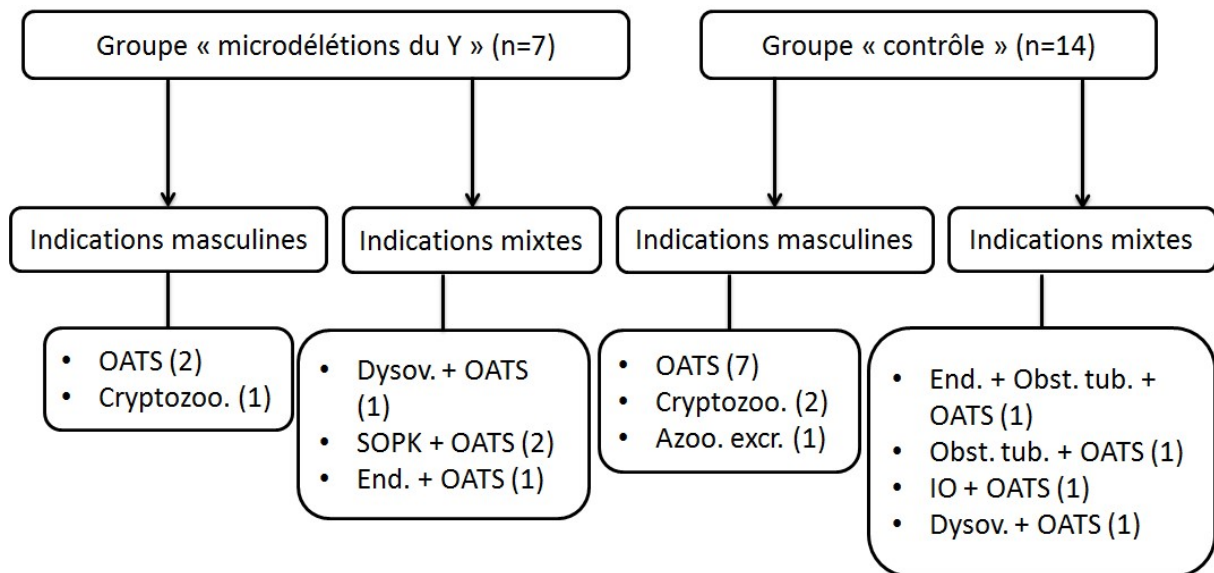


Figure 31 : Indications de la prise en charge en AMP pour les groupes « microdélétions du Y » et « contrôle »

- OATS : oligoasthénospermie
- Cryptozoo. : cryptozoospermie
- Dysov. : dysovulation
- SOPK : syndrome des ovaires polykystiques
- End. : endométriose
- Azoo. excr. : azoospermie excrétoire
- Obst. tub. : obstruction tubaire
- IO : insuffisance ovarienne

Tableau 9 : Comparaison des critères du groupe « microdélétions du chromosome Y » par rapport à ceux du groupe « contrôle »*

Critère	Groupe « microdel Y » (n=7)	Groupe « contrôle » (n=14)	p-value
Âge de l'homme	35 [27 ; 39]	31,5 [27 ; 37]	0,48
Âge de la femme	29 [27 ; 36]	29,5 [27 ; 32]	0,63
Nombre de tentatives/couple	1 [1 ; 2]	1 [1 ; 2]	0,41
Nombres d'ovocytes ponctionnés/tentative	7 [5 ; 14]	11 [8 ; 14]	0,70
Nombre total d'embryons transférés/couple	2 [1 ; 4]	2,5 [1 ; 5]	0,70

* Les valeurs sont données en médianes [Q1 ; Q3].

Le taux de grossesse clinique chez les cas et les témoins était de 42,9% et 23,7% respectivement (différence non significative). Les taux de grossesse biochimique, de fausses-couches précoce et tardive et de naissance vivante n'étaient pas statistiquement différents entre les deux groupes. Les résultats de la comparaison entre les différents indicateurs clinico-biologiques étudiés sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Résultats de l'AMP chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y^a

Indicateur	Groupe « microdel Y » (n=7)	Groupe « contrôle » (n=14)	p- value
Nombre de tentatives	9	27	/
Nombre d'ovocytes ponctionnés	80	290	/
Nombre d'ovocytes injectés	9 [5 ; 14]	11,5 [9 ; 19]	0,25
Nombre d'embryons obtenus	4 [3 ; 10]	7,5 [5 ; 10]	0,22
Nombre d'embryons frais transférés	2 [1 ; 2]	1 [1 ; 3]	0,69
Nombre d'embryons transférés	18	51	/
Nombre de transferts	14	38	/
Nombre d'embryon par transfert	1,2 [1 ; 2]	1 [1 ; 1,25]	0,28
Nombre d'embryons congelés	1 [0 ; 4]	3 [1 ; 4]	0,29
Taux de grossesse biochimique ^b	42,9 (6/14)	26,3 (10/38)	0,32
Taux de grossesse clinique ^c	42,9 (6/14)	23,7 (9/38)	0,19
Taux de grossesse gémellaire ^d	16,7 (1/6)	0	1,00
Taux de fausse-couche précoce ^e	0	10 (1/10)	1,00
Taux de fausse-couche tardive ^f	16,7 (1/6)	0	1,00
Taux de naissance vivante ^g	33,3 (6/18)	15,7 (8/51)	0,17

a- Les valeurs sont données en nombres pour chaque groupe, médianes [Q1 ; Q3] pour chaque couple ou pourcentages (nombre/total).

b- Ratio entre le nombre de grossesses biochimiques (β -hCG > 100 UI/L) et le nombre de transferts

c- Ratio entre le nombre de grossesses cliniques (embryons avec activité cardiaque) et le nombre de transferts

d- Ratio entre le nombre de grossesses gémellaires et le nombre de grossesses cliniques

e- Ratio entre le nombre de fausses-couches survenues avant 14 SA et le nombre de grossesses biochimiques

f- Ratio entre le nombre de fausses-couches survenues entre 14 SA et 22 SA et le nombre de grossesses biochimiques

g- Ratio entre le nombre de naissances vivantes et le nombre d'embryons transférés

2.3.6. Résultats du DPN

Parmi les six couples porteurs de remaniements chromosomiques équilibrés qui ont été pris en charge en AMP intraconjugale, un couple a eu trois enfants (couple 6), trois couples ont eu un enfant (couples 1, 3 et 4) et deux couples n'ont pas eu d'enfant (couples 2 et 5). Les couples 1, 3 et 4 ont eu recours au DPN. Les trois enfants de ces couples étaient des garçons, tous porteurs de l'anomalie équilibrée transmise par leur père. Ils étaient tous en bonne santé (tableau 11).

Le couple 6 n'a pas eu recours au DPN pour des raisons qui n'ont pas pu être déterminées. La conjointe de ce couple a donné naissance à trois enfants dont deux jumeaux, tous en bonne santé.

Parmi les deux couples qui n'ont pas eu d'enfant suite à leur prise en charge, une fausse-couche précoce a été observée (couple 2) et l'autre couple, quant à lui, n'a pas eu de grossesse (couple 5).

Tableau 11 : Résultats du DPN chez les patients porteurs d'anomalies chromosomiques équilibrées

Couple	Formule chromosomique du conjoint	Résultat du DPN
1	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	45,XY,der(13;14)(q10;q10) (naissance en 2008)
2	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	Pas de DPN (1 FC précoce en 2017)
3	46,XY,t(16;19)(p11.2;q13.4)	46,XY,t(16;19)(p11.2;q13.4) (naissance en 2016)
4	46,XY,t(2;9)(p13;q34)	46,XY,t(2;9)(p13;q34) (naissance en 2019)
5	46,XY,t(1;4)*	Pas de grossesse
6	46,XY,inv(19)(p13.2q12)	Pas de DPN : 2 grossesses et naissance de 3 enfants (en 2006 et 2009)

* La formule complète avec les points de cassure n'a pas pu être récupérée.

3. Discussion

3.1. Résultats de l'AMP intraconjugale

Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence une différence sur le taux de grossesse clinique après AMP intraconjugale entre le groupe des patients porteurs d'anomalies chromosomiques équilibrées (27,8%) et le groupe « contrôle » (23,7%).

Testart *et al.* ont réalisé le même type d'étude en comparant le taux de grossesse clinique par transfert en ICSI entre 11 couples dont les hommes étaient porteurs d'anomalies chromosomiques et 247 couples dont les caryotypes étaient normaux (64). Sur les 11 cas rapportés, 10 étaient porteurs d'anomalies structurales équilibrées (6 translocations robertsoniennes der(13;14), 2 translocations réciproques et 2 inversions péricentriques). Le taux de grossesse clinique dans ce groupe était de 30,8% et n'était pas statistiquement différent de celui observé chez les témoins (28,7%). Ces résultats sont en accord avec les nôtres. Les auteurs de cette étude ont également rapporté le nombre de fœtus par embryon transféré, qui était de 16,1% chez les cas et de 15,9% chez les témoins (différence non significative). Ces proportions sont proches des taux de naissance vivante par embryon transféré que nous avons mis en évidence, qui étaient de 20% dans le groupe « anomalies chromosomiques » et de 15,7% dans le groupe « contrôle ».

Parmi les 11 patients porteurs d'anomalies chromosomiques présentés par Testart *et al.*, il y avait 6 patients porteurs de translocations robertsoniennes der(13;14), soit plus de la moitié. Cette observation n'est pas surprenante car, comme le précisent Mayeur *et al.*, les translocations der(13;14) représentent, avec les translocations der(14;21), 85% des translocations robertsoniennes dans la population générale (32).

Dans une étude publiée en 2016, Yin *et al.* ont étudié les résultats de l'AMP de sujets porteurs de translocations réciproques, hommes et femmes confondus, qui n'ont pas eu recours au DPI (5). Au total, 41 patients ont été inclus, dont 23 hommes et 18 femmes. Le sexe du patient porteur de la translocation et la technique utilisée (fécondation *in vitro* classique ou ICSI) n'avaient pas d'influence sur les résultats. Le taux de grossesse clinique par cycle était de 46,3% chez les cas alors qu'il était de 54,3% chez les témoins, cette différence n'était pas significative.

Yin *et al.* ont également renseigné un taux de fausse-couche précoce de 21,1% chez les patients porteurs de translocations réciproques et de 12,4% chez les témoins (différence non significative). On pourrait pourtant s'attendre à ce que cet indicateur soit significativement augmenté chez les patients porteurs d'anomalies structurales. En effet, le lien entre ces anomalies et les fausses-couches est aujourd'hui bien établi. Priya *et al.* estiment que les couples porteurs d'une translocation équilibrée ont 50% de risque d'avoir des fausses-couches à répétition (44). Les mêmes auteurs indiquent qu'au sein des couples avec antécédents de fausses-couches à répétition, les translocations réciproques sont le plus souvent diagnostiquées chez les femmes. Cette particularité pourrait être notamment liée au comportement des gonosomes lors de la méiose, qui diffère entre l'homme et la femme. Alors que la méiose spermatocytaire comprend la formation d'une vésicule sexuelle pour permettre un appariement spécifique des chromosomes X et Y au niveau des régions PAR, aucun élément ne distingue le bivalent XX des bivalents autosomiques lors du pachytène ovocytaire. En effet, les deux chromosomes X s'apparient sur toute leur longueur. De plus, le chromosome X, initialement inactif dans les cellules germinales, est réactivé lors de l'arrêt de la prolifération mitotique des ovogonies. L'ovocyte I qui entre en méiose contient donc deux chromosomes X actifs (48). Ainsi, le phénomène d'inactivation des autosomes transloqués par association à la vésicule sexuelle observé chez l'homme ne peut pas se produire chez la femme. Ces éléments expliquent en partie pourquoi les anomalies structurales sont préférentiellement associées aux troubles de la gamétogenèse chez l'homme plutôt que chez la femme (6).

Les taux de naissance vivante par cycle ont également été calculés par Yin *et al.*, et ils n'étaient pas statistiquement différents entre les patients porteurs de translocations réciproques et les patients du groupe témoin (36,6% et 47,6% respectivement). Au regard de l'ensemble des résultats qu'ils ont obtenus, les auteurs ont conclu que les patients porteurs de translocations réciproques avaient des résultats satisfaisants en AMP conventionnelle par rapport au groupe témoin.

Jesus *et al.* ont publié une étude cas-témoins à propos des résultats de l'AMP chez les couples porteurs d'anomalies chromosomiques (65). Là encore, les hommes et les femmes étaient regroupés mais les observations portaient sur différents types d'anomalies, qui ont été étudiés de façon indépendante: inversions, translocations (réciproques et robertsoniennes), anomalies des chromosomes sexuels et mosaïques.

Ce travail est intéressant car les auteurs ont pu inclure 233 couples porteurs d'anomalies chromosomiques, ce qui représente une cohorte importante. Le critère de jugement principal était le « baby take home rate », soit le taux de naissance d'enfant sain. Les auteurs ont montré que ce taux n'était pas significativement différent entre les cas et les témoins, bien qu'il soit légèrement plus bas chez les porteurs d'anomalies chromosomiques (45,96% vs 49,82%). De façon intéressante, Jesus *et al.* ont aussi comparé le succès de l'AMP chez les porteurs d'anomalies en fonction du sexe du porteur et pour les différents types d'anomalies. Ils ont montré que les résultats avaient tendance à être meilleurs lorsque le porteur de l'anomalie était une femme en cas d'inversion, de translocation ou de mosaïque (65). Toutefois, la différence observée dans chaque cas n'était pas significative.

Maiburg *et al.* se sont interrogés à propos de l'impact des anomalies génétiques masculines sur les résultats de l'ICSI (66). Ils n'ont pas montré de différence concernant le taux de grossesse clinique par cycle d'ICSI (33% vs 37%) et le taux d'accouchement par cycle d'ICSI (25% vs 35%) entre les hommes porteurs d'anomalies chromosomiques et les hommes présentant une infertilité idiopathique. Cependant, l'ensemble des anomalies étudiées dépassait le cadre des remaniements structuraux équilibrés et comprenait des anomalies des chromosomes sexuels, des mosaïques et des marqueurs chromosomiques surnuméraires. Par ailleurs, les auteurs ont étudié les résultats de l'ICSI chez les hommes avec antécédents familiaux pouvant être liés à une anomalie génétique : fausses-couches spontanées, mort néonatale, malformations congénitales, déficit intellectuel, infertilité. Il n'y avait pas de différence significative entre ce groupe et le groupe « infertilité idiopathique ». D'autres sous-groupes représentant différentes étiologies d'infertilité masculine ont été étudiés dans le travail de Maiburg *et al.* et finalement, aucune différence n'a été montrée sur le taux de grossesse et le taux d'accouchement entre les cas et les témoins, de même qu'entre les différents sous-groupes. D'après ces observations, il n'y aurait donc pas de corrélation entre le succès de l'ICSI et la cause de l'infertilité masculine, dans la limite des sous-groupes étudiés.

L'intérêt principal du DPI chez les patients porteurs de translocations est la diminution des fausses-couches et, de ce fait, l'augmentation du taux de naissance vivante. En revanche, les données récentes montrent des résultats contrastés concernant le taux de grossesse après DPI, par rapport à l'AMP conventionnelle. Afin d'obtenir des données plus robustes à ce sujet, Mahdavi *et al.* ont réalisé une méta-

analyse regroupant 6 études comparatives dont l'objet principal était les chances de grossesse chez les couples porteurs de translocations ayant recours au DPI (67). Globalement, les auteurs ont montré que le recours au DPI permettait d'augmenter significativement les chances de grossesse chez les patients porteurs de translocations (figure 32), et que la survenue d'une grossesse ne dépendait ni du sexe du porteur de l'anomalie ni du type de chromosome transloqué (autosome ou gonosome). Cette méta-analyse est intéressante mais présente tout de même quelques limites. Tout d'abord, les données n'ont pas été ajustées sur certains facteurs importants, notamment l'âge des couples pris en charge. De plus, les indications et les techniques du DPI varient en fonction du pays où la procédure est appliquée, les résultats doivent donc être interprétés avec prudence en raison de l'hétérogénéité géographique des études retenues pour l'analyse. Les auteurs eux-mêmes indiquent dans leur conclusion que des études à plus grande échelle sont nécessaires afin de consolider ces résultats.

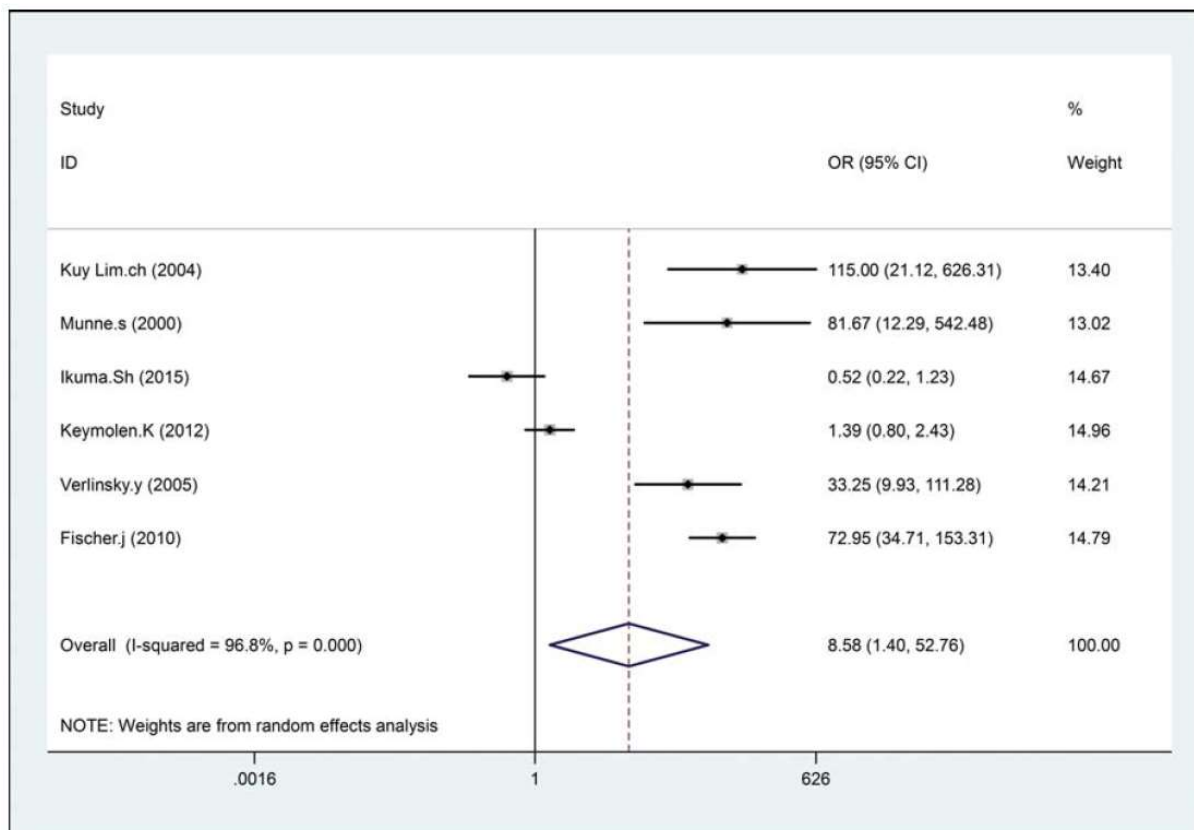


Figure 32 : Graphique en forêt montrant qu'il y a globalement plus de grossesses chez les patients porteurs de translocations qui ont recours au DPI que chez ceux qui n'y ont pas recours, d'après Mahdavi *et al.* (67)

Les résultats de l'AMP intraconjugale des patients porteurs de microdélétions du chromosome Y n'étaient pas statistiquement différents par rapport au groupe « contrôle » dans notre étude. Les travaux d'Abur *et al.* n'ont pas montré d'influence de la microdélétion AZFc sur les taux de grossesse clinique et de naissance vivante, ce qui rejoint nos conclusions (68). Liu *et al.* se sont intéressés à la même problématique et ont montré que le taux de grossesse clinique, le taux de fausse-couche précoce et le taux d'accouchement chez les patients porteurs de microdélétions AZFc (respectivement 32,7%, 8,3% et 26,4%) n'étaient pas significativement différents par rapport à des patients témoins, chez lesquels ces mêmes taux étaient de 33,3%, 10,3% et 25,6% (69). Ces auteurs ont également constaté que les enfants des patients porteurs de l'anomalie ne naissaient pas plus prématurément (qu'il s'agisse de grossesses singleton ou gémellaires) et n'avaient pas plus fréquemment un petit poids de naissance.

Toutefois, d'autres critères pourraient être influencés par la présence d'une microdélétion du chromosome Y chez le père dans le cadre de l'AMP. Liu *et al.* ont constaté, comme d'autres équipes avant eux, que le taux de fécondation des ovocytes était statistiquement inférieur chez les sujets porteurs de microdélétions AZFc alors que le taux d'embryon clivé était augmenté (69). Les auteurs suggèrent que les spermatozoïdes porteurs d'une délétion de la région AZFc pourraient présenter une capacité de fécondation réduite conduisant à l'impossibilité de déclencher l'activation ovocytaire. En revanche, lorsque la fécondation s'est correctement déroulée, il semblerait que la microdélétion n'interfère pas avec le développement embryonnaire, qui serait donc de bonne qualité en l'absence d'autre cause d'infertilité. Dans notre étude, le nombre médian d'embryons clivés était inférieur dans le groupe « microdélétions AZF », mais cette différence n'était pas significative.

Dans la mesure où les microdélétions AZF n'engendrent pas d'affection grave dans la descendance, il n'est pas indiqué de recourir au DPI dans le but d'éviter la transmission d'une maladie somatique. En revanche, la question de l'infertilité chez les garçons doit être discutée. Cette pathologie peut en effet être considérée comme relativement grave au regard des conséquences psychologiques qu'elle peut engendrer et des nombreux obstacles à surmonter pour devenir père. La question de proposer un DPI dans le but de sélectionner les embryons féminins est ainsi posée.

3.2. Données épidémiologiques

Dans notre étude, la proportion des anomalies chromosomiques identifiées au caryotype était de 8,9%. Ce résultat est proche des valeurs comprises entre 7,1% et 10,6% rapportées par certains auteurs (68,70–72). D'autres auteurs ont mis en évidence des résultats plus élevés, qui pouvaient aller jusqu'à 22,8% (30,73,74). La diversité des chiffres retrouvés dans la littérature pourrait s'expliquer par plusieurs éléments : zones géographiques et types d'anomalies étudiés variables, tailles des cohortes et critères d'inclusions différents. Dans un rapport conjoint, l'AUA et l'ASRM ont considéré que les anomalies chromosomiques pouvaient être observées au niveau du caryotype chez 7% des hommes infertiles environ (15) tandis que Colaco et Modi estiment cette proportion aux environs de 10% (14). De façon générale, il est admis que la prévalence des anomalies chromosomiques atteint environ 1% chez les hommes sans anomalie des paramètres spermatiques alors qu'elle peut aller jusqu'à 15% chez les hommes infertiles.

La proportion du syndrome de Klinefelter dans notre population d'étude était de 6,1%. Cette observation n'est pas très éloignée des conclusions de Arafa *et al.* (72) et Akbari *et al.* (73), qui ont respectivement rapporté un taux de 3,7% et 9,5% au sein de populations d'hommes infertiles présentant une altération de la concentration spermatique de type oligospermie sévère ou azoospermie. Dans ces deux travaux, plus de 90% des patients porteurs du syndrome de Klinefelter présentaient une azoospermie, ce qui est en accord avec nos résultats (94,6%). Par ailleurs, nous avons mis en évidence 98,3% de syndromes homogènes. Franik *et al.* rappellent que de façon globale, le caryotype est homogène dans 90% des cas (26).

Les anomalies autosomiques structurales équilibrées étaient retrouvées chez 1,3% des hommes infertiles. Ce résultat semble cohérent par rapport au taux d'anomalies structurales de 1,8% parmi les hommes infertiles donné par Akbari *et al.* (73). Parmi les anomalies autosomiques que nous avons identifiées, la proportion des translocations robertsoniennes et réciproques était respectivement de 0,64% et 0,53%. Ces deux valeurs sont légèrement inférieures à ce qui est classiquement retrouvé dans la littérature. Hajlaoui *et al.* (33) et Godo *et al.* (36) indiquent que les translocations robertsoniennes sont observées chez 0,9% des hommes infertiles. La proportion des translocations réciproques est légèrement plus basse et se trouve plutôt aux alentours de 0,6% (33). Dans tous les cas, ces valeurs sont nettement supérieures

à celles que l'on retrouve dans la population générale. Lledo *et al.* signalent en effet que les translocations équilibrées ne sont identifiées que dans 0,2% des naissances au sein de la population générale (75).

Nous n'avons décelé qu'une inversion parmi les 942 caryotypes réalisés, ce qui représentait une proportion de 0,11%. Sur l'ensemble des 84 anomalies chromosomiques, cela représentait une proportion de 1,2%. Guo *et al.* ont observé que les inversions représentaient 2,1% des anomalies chromosomiques mises en évidence parmi une population de 234 cas reçus en consultation d'andrologie (71). Cette discordance par rapport à nos résultats est probablement liée au fait que notre effectif était quantitativement limité.

Le syndrome 47,XYY a été observé à deux reprises dans notre population d'étude, ce qui équivaut à une proportion de 0.2% parmi les hommes infertiles, similaire à celle évoquée par Abur *et al.* en 2019 (68). Contrairement aux patients porteurs du syndrome de Klinefelter, les paramètres spermatiques des hommes porteurs du syndrome 47,XYY sont très variables et peuvent être normaux.

Les microdélétions du chromosome Y ont été détectées chez 3,4% des 590 hommes pour lesquels la recherche a été effectuée. Les chiffres retrouvés dans la littérature sont variables et oscillent entre 2,5 et 6,4% (68,72,76). Comme nous l'avons rappelé en préambule, il existe des variations géographiques pouvant expliquer l'hétérogénéité des chiffres. Bien que notre étude ait été menée dans deux centres situés sur deux continents différents, la majeure partie de notre effectif était issue du CHU de Bordeaux ; or, Colaco et Modi ont précisé dans leurs travaux que la prévalence des microdélétions du chromosome Y en Europe était environ de 3% (14), ce qui est cohérent avec nos résultats. La proportion de microdélétions AZFc parmi l'ensemble des microdélétions est plus homogène, même s'il peut exister des variations inter-populationnelles. Au niveau mondial, elle se situe entre 60 et 70% (14), ce qui correspond à notre résultat de 65%. Xie *et al.* arrivent à peu près aux mêmes conclusions avec une proportion de 66,9% (2). D'autres auteurs ont rapporté des résultats différents, notamment Abur *et al.* (68) et Ng *et al.* (76) qui donnent des taux de 50% et de 73,7% respectivement. Par ailleurs, parmi les 13 patients de notre étude porteurs de microdélétions AZFc complètes, 5 étaient azoospermiques (38,5%). Stouffs *et al.* indiquent que de façon générale, on peut retrouver des spermatozoïdes dans l'éjaculat des porteurs de microdélétions AZFc dans 50% des cas environ (77).

De façon étonnante, nous n'avons pas identifié de microdélétion AZFa isolée, alors qu'elle constitue pourtant la deuxième microdélétion en fréquence après la prédominante microdélétion AZFc. Il n'en demeure pas moins que cette anomalie reste rare : il est donc tout à fait possible de ne pas la retrouver au sein d'une population de 590 patients.

3.3. Biopsie testiculaire

L'étude du lien entre l'âge et le résultat de la BT chez les patients porteurs du syndrome de Klinefelter n'a pas montré de tendance significative, même si les patients dont la BT était négative étaient en moyenne un peu plus âgés. Concernant les paramètres hormonaux, aucun facteur prédictif ne se dégage de notre étude, même si la LH avait tendance à être plus élevée chez les patients dont la BT était négative. Bien que la plupart des études réalisées sur les facteurs prédictifs de réussite de la BT chez les patients atteints du syndrome de Klinefelter concluent à l'absence de facteur prédictif fiable, Rohayem *et al.* ont montré qu'une LH normale à modérément élevée (inférieure ou égale à 17,5 UI/L) combinée à une testostérone supérieure à 7,5 nmol/L donnait de meilleures chances de réussite (53).

Dans notre étude, aucune BT réalisée chez les patients porteurs de microdélétions du chromosome Y ne s'est révélée positive, alors que la plupart d'entre eux étaient porteurs d'une microdélétion AZFc complète ou partielle. La BT s'est révélée positive chez 59% des patients porteurs de la microdélétion AZFc dans l'étude publiée par Stouffs *et al.* (77). En outre, Gonçalves *et al.* ont montré que chez les porteurs de microdélétions AZFc, la FSH était significativement plus élevée chez les patients dont la BT était négative (54).

3.4. Limites

La limite principale de notre étude est la faiblesse de l'effectif, de sorte que les résultats ne peuvent pas être généralisés. Cette difficulté n'est pas spécifique à notre travail, mais s'impose à la plupart des auteurs souhaitant aborder la problématique des réarrangements structuraux et des microdélétions du chromosome Y en AMP, notamment en raison de la relative rareté de ces anomalies, de l'impossibilité de recourir à une prise en charge intraconjugale en cas d'azoospermie avec BT négative, et des limites techniques de la fécondation *in vitro*.

De plus, même si elle permet d'inclure un nombre plus important de patients, la méthode multicentrique induit obligatoirement un biais de type « effet centre ». Ce biais doit toutefois être nuancé en raison de l'harmonisation des pratiques et de l'évaluation externe de la qualité des laboratoires.

Par ailleurs, le caractère rétrospectif de ce travail ne nous a pas permis de recueillir des données exhaustives, ce qui peut influencer les résultats et doit conduire à porter un regard critique sur certains d'entre eux au vu de l'état actuel des connaissances (proportion des différentes microdélétions de l'Y, résultats de la BT). On pouvait en effet s'attendre à disposer d'un effectif plus large compte tenu de la période relativement longue sur laquelle les données ont été recueillies. Toutefois, ce biais d'information n'est probablement pas majeur car une importante partie des résultats obtenus à partir de notre population d'étude tendent à s'accorder avec les conclusions d'autres auteurs.

Conclusion

Les données que nous avons recueillies ont permis d'obtenir des éléments de réponse à la problématique des résultats de l'AMP intraconjugale conventionnelle chez les hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y.

Les anomalies structurales équilibrées ne semblent pas altérer les résultats de l'AMP intraconjugale. Nos données émanent toutefois d'un effectif très restreint, aussi ne représentent-elles qu'une étape préalable à la réalisation d'études plus larges et statistiquement plus puissantes. Par ailleurs, une démarche monocentrique et prospective serait à l'évidence préférable afin de limiter le biais de type « effet centre » et surtout d'optimiser le recueil des données. Il serait également intéressant d'inclure un groupe expérimental de patients porteurs d'anomalies chromosomiques ayant recours au DPI. Les informations issues de ce type d'étude pourraient enrichir le contenu du conseil génétique, notamment pour les patients porteurs de translocations.

En ce qui concerne les microdélétions du chromosome Y, nos résultats, même s'ils doivent être interprétés avec précaution, tendent à s'accorder avec les données de la littérature montrant que ces anomalies n'impactent pas les résultats de l'AMP. Cet élément, qui doit être délivré lors du conseil génétique, s'ajoute au fait que, contrairement aux remaniements chromosomiques structuraux, la descendance des hommes porteurs de microdélétions AZF ne risque pas d'être gravement affectée sur le plan développemental somatique en raison de cette anomalie. Il est donc pertinent de se poser la question du recours au DPI dans ce contexte, étant donné le coût important et la complexité organisationnelle et technique de cette procédure.

L'avènement du séquençage nouvelle génération laisse entrevoir la possibilité d'élargir nos connaissances sur la physiopathologie de l'infertilité masculine grâce à l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la spermatogenèse. Ces progrès sur le plan diagnostique pourraient permettre d'élaborer, dans les années futures, des approches thérapeutiques plus individualisées et donc plus performantes.

Références

1. Weltgesundheitsorganisation, éditeur. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010. 271 p.
2. Xie C, Chen X, Liu Y, Wu Z, Ping P. Multicenter study of genetic abnormalities associated with severe oligospermia and non-obstructive azoospermia. *J Int Med Res.* janv 2018;46(1):107-14.
3. Xi Q, Zhang Z, Wang R, Li L, Li L, Zhu H, et al. Obstetric and perinatal outcomes of intracytoplasmic sperm injection for infertile men with Y chromosome microdeletions. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 11 oct 2019 [cité 30 juin 2020];98(41). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6799377/>
4. Martin RH. Cytogenetic determinants of male fertility. *Hum Reprod Update.* 2008;14(4):379-90.
5. Yin B, Zhu Y, Wu T, Shen S, Zeng Y, Liang D. Clinical outcomes for couples containing a reciprocal chromosome translocation carrier without preimplantation genetic diagnosis. *Int J Gynecol Obstet.* 2017;136(3):304-8.
6. Siffroi JP, Chantot-Bastarud S, Ravel C. Origines géniques et chromosomiques des anomalies de la spermatogenèse : aspects cliniques et rapports avec les modèles animaux. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 1 juin 2003;31(6):504-15.
7. La détermination du sexe, Ebauche des gonades mâles, Ebauche des gonades femelles [Internet]. 2020 [cité 13 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.embryology.ch/francais/cgametogen/determ01.html>
8. P. Mauvais-Jarvis. Médecine de la reproduction masculine. Chevilly-Larue: Flammarion; 1984.
9. Skinner M. Encyclopedia of Reproduction Ed. 2 [Internet]. Elsevier Science; 2018 [cité 14 sept 2020]. Disponible sur: <https://u-bordeaux-scholarvox-com.docelec.u-bordeaux.fr/book/88864328>
10. Pax C. Biopsie testiculaire et fécondation in vitro en ICSI au centre hospitalo-universitaire de Strasbourg [biologie médicale]. [(France)]: Strasbourg; 2017.
11. Ghalamoun-Slaimi R, Guichaoua M-R. Histologie testiculaire et études méiotiques dans les stérilités de type non obstructif. :8.

12. Dunne OM, Davies OR. Molecular structure of human synaptonemal complex protein SYCE1. *Chromosoma*. 1 sept 2019;128(3):223-36.
13. Brehm R, Steger K. Regulation of Sertoli cell and germ cell differentiation. Berlin: Springer; 2005. 97 p. (Advances in anatomy, embryology and cell biology).
14. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reprod Biol Endocrinol RBE* [Internet]. 17 févr 2018 [cité 19 mai 2020];16. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5816366/>
15. American Urological Association, American Society for Reproductive Medicine. Report on optimal evaluation of the infertile male. *Fertil Steril*. nov 2006;86(5):S202-9.
16. Colpi GM, Francavilla S, Haidl G, Link K, Behre HM, Goulis DG, et al. European Academy of Andrology guideline Management of oligo-astheno-teratozoospermia. *Andrology*. 2018;6(4):513-24.
17. Huyghe E, Boitrelle F, Methorst C, Mieusset R, Ray PF, Akakpo W, et al. Recommandations de l'AFU et de la SALF concernant l'évaluation de l'homme infertile. *Prog En Urol* [Internet]. 9 déc 2020 [cité 24 janv 2021]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S116670872030587X>
18. Okutman O, Rhouma MB, Benkhalifa M, Muller J, Viville S. Genetic evaluation of patients with non-syndromic male infertility. *J Assist Reprod Genet*. nov 2018;35(11):1939-51.
19. Gersen SL, Keagle MB, éditeurs. *The Principles of Clinical Cytogenetics* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2013 [cité 15 sept 2020]. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-1688-4>
20. Hwang K, Weedon JW, Lamb DJ. The use of fluorescent in situ hybridization in male infertility. *Ther Adv Urol*. août 2010;2(4):157-69.
21. Hummelen PV, Manchester D, Lowe X, Wyrobek AJ. Meiotic Segregation, Recombination, and Gamete Aneuploidy Assessed in a t(1;10)(p22.1;q22.3) Reciprocal Translocation Carrier by Three- and Four-Probe Multicolor FISH in Sperm. *Am J Hum Genet*. 1 sept 1997;61(3):651-9.
22. Zhang X, Liu X, Xi Q, Zhu H, Li L, Liu R, et al. Reproductive outcomes of 3 infertile males with XYY syndrome: Retrospective case series and literature review. *Medicine (Baltimore)*. févr 2020;99(9):e19375.

23. Ravel C, Chantot-Bastaraud S, Cretet J, Roynard P, Sibony M, Maurin N, et al. Syndrome de Klinefelter : qualité des gamètes et spermatogénèse. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 1 sept 2011;39(9):525-8.
24. Hotaling J, Carrell DT. Clinical genetic testing for male factor infertility: current applications and future directions. *Andrology.* 2014;2(3):339-50.
25. Bearely P, Oates R. Recent advances in managing and understanding Klinefelter syndrome. *F1000Research* [Internet]. 28 janv 2019 [cité 30 juin 2020];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6352920/>
26. Franik S, Hoeijmakers Y, D'Hauwers K, Braat DDM, Nelen WLM, Smeets D, et al. Klinefelter syndrome and fertility: sperm preservation should not be offered to children with Klinefelter syndrome. *Hum Reprod.* sept 2016;31(9):1952-9.
27. Plotton I, d'Estaing SG, Cuzin B, Brosse A, Benchaib M, Lornage J, et al. Preliminary Results of a Prospective Study of Testicular Sperm Extraction in Young Versus Adult Patients With Nonmosaic 47,XXY Klinefelter Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* mars 2015;100(3):961-7.
28. Bardsley MZ, Kowal K, Levy C, Gosek A, Ayari N, Tartaglia N, et al. 47,XXY Syndrome: Clinical Phenotype and Timing of Ascertainment. *J Pediatr.* oct 2013;163(4):1085-94.
29. Faure AK, Aknin-Seifer I, Satre V, Amblard F, Devillard F, Hennebicq S, et al. Fine mapping of re-arranged Y chromosome in three infertile patients with non-obstructive azoospermia/cryptozoospermia. *Hum Reprod.* 1 juill 2007;22(7):1854-60.
30. Li L, Zhang H, Yang Y, Zhang H, Wang R, Jiang Y, et al. High frequency of Y chromosome microdeletions in male infertility patients with 45,X/46,XY mosaicism. *Braz J Med Biol Res.* 2020;53(3):e8980.
31. Benet J, Oliver-Bonet M, Cifuentes P, Templado C, Navarro J. Segregation of chromosomes in sperm of reciprocal translocation carriers: a review. *Cytogenet Genome Res.* 2005;111(3-4):281-90.
32. Mayeur A, Ahdad N, Hesters L, Brisset S, Romana S, Tosca L, et al. Chromosomal translocations and semen quality: A study on 144 male translocation carriers. *Reprod Biomed Online.* janv 2019;38(1):46-55.
33. Hajlaoui A, Slimani W, Kammoun M, Sallem A, Braham S, Bibi M, et al. Sperm fluorescent in situ hybridisation study of interchromosomal effect in six Tunisian

carriers of reciprocal and Robertsonian translocations. *Andrologia*. 2018;50(4):e12949.

34. Moretti E, Pascarelli NA, Giannerini V, Geminiani M, Anichini C, Collodel G. 18, X, Y aneuploidies and transmission electron microscopy studies in spermatozoa from five carriers of different reciprocal translocations. *Asian J Androl*. avr 2009;11(3):325-32.

35. Yakut T, Ercelen N, Acar H, Kimya Y, Egeli U. Meiotic segregation analysis of reciprocal translocations both in sperms and blastomeres. *Am J Med Genet A*. 2006;140A(10):1074-82.

36. Godo A, Blanco J, Vidal F, Sandalinas M, Garcia-Guixé E, Anton E. Altered segregation pattern and numerical chromosome abnormalities interrelate in spermatozoa from Robertsonian translocation carriers. *Reprod Biomed Online*. juill 2015;31(1):79-88.

37. Ogur G, Van Assche E, Vegetti W, Verheyen G, Tournaye H, Bonduelle M, et al. Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers. *MHR Basic Sci Reprod Med*. 1 mars 2006;12(3):209-15.

38. Frydman N. Assisting reproduction of infertile men carrying a Robertsonian translocation. *Hum Reprod*. 1 nov 2001;16(11):2274-7.

39. Du AL, Lelorc'h M, Frydman N, Benkhalifa M, Romana S, Vekemans M, et al. Apoptose et ségrégation méiotique dans les spermatozoïdes d'hommes porteurs de translocations. *Andrologie*. juin 2004;14(2):186-92.

40. Yapan C, Beyazyurek C, Ekmekci C, Kahraman S. The Largest Paracentric Inversion, the Highest Rate of Recombinant Spermatozoa. Case Report: 46,XY, inv(2)(q21.2q37.3) and Literature Review. *Balk J Med Genet*. 11 déc 2014;17(1):55-62.

41. Morel F, Laudier B, Guérif F, Couet ML, Royère D, Roux C, et al. Meiotic segregation analysis in spermatozoa of pericentric inversion carriers using fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod*. janv 2007;22(1):136-41.

42. Griffiths A, Miller J, Suzuki D. *An introduction to Genetic Analysis*, 7th edition. New York, NY; 2000.

43. Esquerré-Lamare C, Walschaerts M, Chansel Debordeaux L, Moreau J, Bretelle F, Isus F, et al. Sperm aneuploidy and DNA fragmentation in unexplained recurrent pregnancy loss: a multicenter case-control study. *Basic Clin Androl [Internet]*. 2 avr

- 2018 [cité 26 sept 2019];28. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5879915/>
44. Priya PK, Mishra VV, Roy P, Patel H. A Study on Balanced Chromosomal Translocations in Couples with Recurrent Pregnancy Loss. *J Hum Reprod Sci.* 2018;11(4):337-42.
 45. Dai R, Pan Y, Fu Y, Liu Q, Han W, Liu R. Role of male genetic factors in recurrent pregnancy loss in Northeast China. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* mai 2018;224:6-11.
 46. Flynn H, Yan J, Saravelos SH, Li T-C. Comparison of reproductive outcome, including the pattern of loss, between couples with chromosomal abnormalities and those with unexplained repeated miscarriages. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014;40(1):109-16.
 47. Kochhar PK, Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013;39(1):113-20.
 48. Guichaoua M-R, Geoffroy-Siraudin C, Tassistro V, Ghalamoun-Slaimi R, Perrin J, Metzler-Guillemain C. Chromosomes sexuels et méiose. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 1 nov 2009;37(11):895-900.
 49. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human y chromosome long arm. *Hum Genet.* 1976;34(2):119-24.
 50. Yang F, Silber S, Leu NA, Oates RD, Marszalek JD, Skaletsky H, et al. TEX11 is mutated in infertile men with azoospermia and regulates genome-wide recombination rates in mouse. *EMBO Mol Med.* sept 2015;7(9):1198-210.
 51. Ferlin A, Arredi B, Speltra E, Cazzadore C, Selice R, Garolla A, et al. Molecular and Clinical Characterization of Y Chromosome Microdeletions in Infertile Men: A 10-Year Experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 mars 2007;92(3):762-70.
 52. Liu X-Y, Wang R-X, Fu Y, Luo L-L, Guo W, Liu R-Z. Outcomes of intracytoplasmic sperm injection in oligozoospermic men with Y chromosome AZFb or AZFc microdeletions. *Andrologia.* 2017;49(1):e12602.
 53. Rohayem J, Fricke R, Czeloth K, Mallidis C, Wistuba J, Krallmann C, et al. Age and markers of Leydig cell function, but not of Sertoli cell function predict the success

of sperm retrieval in adolescents and adults with Klinefelter's syndrome. *Andrology*. 2015;3(5):868-75.

54. Gonçalves C, Cunha M, Rocha E, Fernandes S, Silva J, Ferraz L, et al. Y-chromosome microdeletions in nonobstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *Asian J Androl*. 2017;19(3):338-45.

55. Robin G, Boitrelle F, Leroy X, Peers M-C, Marcelli F, Rigot J-M, et al. Bilan d'une azoospermie et évaluation histologique de la spermatogenèse. *Ann Pathol*. 1 juin 2010;30(3):182-95.

56. Palermo et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet*. 4 juill 1992;340(8810):17-8.

57. Fécondation in vitro et ICSI [Internet]. [cité 20 janv 2021]. Disponible sur: https://www.gfmer.ch/Livres/FIV_atlas/FIV_ICSI.htm

58. Ogilvie CM, Braude PR, Scriven PN. Preimplantation Genetic Diagnosis—An Overview. *J Histochem Cytochem*. 1 mars 2005;53(3):255-60.

59. Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J, Goossens V, Moutou C, SenGupta SB, et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum Reprod Update*. 1 mai 2012;18(3):234-47.

60. Dul E, van Echten-Arends J, Groen H, Kastrop P, Amory-van Wissen L, Engelen J, et al. Can Characteristics of Reciprocal Translocations Predict the Chance of Transferable Embryos in PGD Cycles? *J Clin Med*. 2 avr 2014;3(2):348-58.

61. Brun S, Lacombe D, Rooryck Thambo C, Dallay D, Le Caignec C, Vayssière C, et al. Techniques d'exploration chromosomique en prénatal: mises au point et applications [Internet]. [(France)]: Bordeaux; 2019 [cité 11 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2019BORD0184/document>

62. Wang HL, Wu B, Guo KM, Tian RH. Psychological characteristics of and counseling for carriers of structural chromosome abnormalities. *Genet Mol Res* [Internet]. 2016 [cité 12 juin 2020];15(2). Disponible sur: <http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2016/vol15-2/pdf/gmr8159.pdf>

63. Kedem P, Mikulincer M, Nathanson YE, Bartoov B. Psychological aspects of male infertility. *Br J Med Psychol*. 1990;63(1):73-80.

64. Testart J, Gautier E, Brami C, Rolet F, Sedbon E, Thebault A. Genetics: Intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with structural chromosome abnormalities. *Hum Reprod*. 1 déc 1996;11(12):2609-12.

65. Jesus AR, Silva-Soares S, Silva J, Severo M, Barros A, Dória S. Reproductive success of assisted reproductive technology in couples with chromosomal abnormalities. *J Assist Reprod Genet.* juill 2019;36(7):1471-9.
66. Maiburg M, Alizadeh B, Kastrop P, Lock M, Lans S, Giltay J. Does the genetic and familial background of males undertaking ICSI affect the outcome? *J Assist Reprod Genet.* juin 2009;26(6):297-303.
67. Mahdavi M, Sharafi SM, Daniali SS, Riahi R, Kheirollahi M. The Clinical Effectiveness of Preimplantation Genetic Diagnosis for Chromosomal Translocation Carriers: A Meta-analysis. *Glob Med Genet.* juin 2020;7(1):14-21.
68. Abur U, Gunes S, Ascı R, Altundag E, Akar OS, Ayas B, et al. Chromosomal and Y-chromosome microdeletion analysis in 1,300 infertile males and the fertility outcome of patients with AZFc microdeletions. *Andrologia.* 2019;51(11):e13402.
69. Liu X, Qiao J, Li R, Yan L, Chen L. Y chromosome AZFc microdeletion may not affect the outcomes of ICSI for infertile males with fresh ejaculated sperm. *J Assist Reprod Genet.* juin 2013;30(6):813-9.
70. Retief AE, Van Zyl JA, Menkveld R, Fox MF, Kotzè GM, Brusnický J. Chromosome studies in 496 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Hum Genet.* 1 avr 1984;66(2):162-4.
71. Guo KM, Wu B, Wang HB, Tian RH. Reproductive outcome of male carriers of chromosomal abnormalities: multidisciplinary approach for genetic counseling and its implications. *Genet Mol Res [Internet].* 2016 [cité 10 juin 2020];15(4). Disponible sur: <http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2016/vol15-4/pdf/gmr-15-04-gmr.15048963.pdf>
72. Arafa MM, Majzoub A, AISaid SS, El Ansari W, Al Ansari A, Elbardisi Y, et al. Chromosomal abnormalities in infertile men with azoospermia and severe oligozoospermia in Qatar and their association with sperm retrieval intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Arab J Urol.* 23 déc 2017;16(1):132-9.
73. Akbari MT, Behjati F, Pourmand GR, Asbagh FA, Kachoui MA. Cytogenetic abnormalities in 222 infertile men with azoospermia and oligospermia in Iran: Report and review. *Indian J Hum Genet.* 2012;18(2):198-203.
74. Zhao P, Gu X, Wu H, Deng X. Molecular and cytogenetic analysis of infertile Hakka men with azoospermia and severe oligozoospermia in southern China. *J Int Med Res.* 1 mars 2019;47(3):1114-23.

75. Lledo B, Ortiz JA, Morales R, Ten J, de la Fuente PE, Garcia-Ochoa C, et al. The paternal effect of chromosome translocation carriers observed from meiotic segregation in embryos. *Hum Reprod.* 1 juill 2010;25(7):1843-8.
76. Ng PP, Tang MH, Lau ET, Ng LK, Ng EH, Tam P, et al. Chromosomal anomalies and Y-microdeletions among Chinese subfertile men in Hong Kong. 2009;15(1):8.
77. Stouffs K, Lissens W, Tournaye H, Van Steirteghem A, Liebaers I. The choice and outcome of the fertility treatment of 38 couples in whom the male partner has a Yq microdeletion. *Hum Reprod.* 1 juill 2005;20(7):1887-96.

Auteur : Julian Poquet

Discipline : Biologie de la reproduction

Année : 2021

U.F.R. des sciences médicales, Université de Bordeaux

Résumé

Titre : Résultats de l'AMP intraconjugale chez les hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y

Objectif principal : L'objectif principal était d'évaluer les résultats de l'AMP intraconjugale chez des hommes infertiles porteurs d'un remaniement chromosomique structural équilibré ou d'une microdélétion du chromosome Y, par rapport à ceux d'un groupe de témoins. Le critère de jugement principal était le taux de grossesse clinique.

Méthodes : Une étude rétrospective cas-témoins a été menée dans les services de biologie de la reproduction du CHU de Bordeaux et du CHU de la Réunion (site Sud). Les résultats des caryotypes et des recherches de microdélétions du chromosome Y des hommes infertiles présentant une concentration spermatique inférieure à 5 millions/mL ont été extraits des logiciels Jfiv® (Bordeaux) et MédiFirst® (la Réunion).

Résultats : Le taux de grossesse clinique chez les patients porteurs de remaniements chromosomiques équilibrés et de microdélétions du chromosome Y était de 27,8% et de 42,9% respectivement. Le taux de grossesse clinique observé chez les témoins était de 23,7% (différence non significative).

Conclusion : D'après cette étude, les remaniements chromosomiques équilibrés et les microdélétions du chromosome Y n'ont pas d'impact sur le taux de grossesse en AMP intraconjugale conventionnelle. Des travaux à plus grande échelle sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

Mots-clés : AMP, infertilité masculine, remaniement chromosomique, microdélétion du chromosome Y

Abstract

Title: ART outcomes of infertile men carriers of a balanced structural chromosomal rearrangement or a Y-chromosome microdeletion

Purpose: The aim of this study was to evaluate the ART outcomes for infertile males carrying a balanced structural chromosomal rearrangement or a Y-chromosome microdeletion, and to compare the results with a control group. The primary outcome was the clinical pregnancy rate.

Methods: A retrospective case-control study has been carried out in the ART departments of the university hospitals of Bordeaux and la Réunion (South side). Results of karyotypes and Y-chromosome microdeletions analysis of infertile men with sperm concentration lower than 5 millions/mL have been extracted from the softwares Jfiv® (Bordeaux) and MédiFirst® (la Réunion).

Results: The clinical pregnancy rate for carriers of balanced chromosomal rearrangements and Y-chromosome microdeletions was 27,8% and 42.9% respectively. The clinical pregnancy rate for the controls was 23.7% (non-significant difference).

Conclusion: According to this study, balanced chromosomal rearrangements and Y-chromosome microdeletions are not found to affect the clinical pregnancy rate in conventional ART. Further larger scale studies are required to confirm these results.

Keywords: ART, male infertility, chromosomal rearrangement, Y-chromosome microdeletion