

L'Équipement chromosomique du spermatozoïde

SELE Bernard

*Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, DRED JE 118 -
Université Joseph Fourier - Grenoble I, Faculté de Médecine, la Tronche*

RESUME

Les études cytogénétiques de spermatozoïdes entreprises depuis une dizaine d'années ont permis d'explorer le sperme de sujets normaux et de patients porteurs de remaniements chromosomiques variés. Environ 10% des spermatozoïdes de sujets normaux comportent une anomalie le plus souvent structurale, qui n'affecte en rien le pouvoir fécondant. L'apport majeur de la technique est constitué par la possibilité d'analyser directement un grand nombre de ségrégations pour un même sujet. Il apparaît ainsi que les translocations présentent souvent un taux de déséquilibre supérieur à 50%, avec un profil de ségrégation relativement stéréotypé.

Mots clés : Spermatozoïdes, Chromosomes, Ségrégations, Translocations, Fécondation, Méiose.

UNE CYTOGENETIQUE SINGULIERE

Le noyau spermatique représente la contribution paternelle à la constitution génétique du zygote. Chaque spermatozoïde a un contenu génétique qui le caractérise, résultant des crossing-over méiotiques et de la ségrégation aléatoire des paires chromosomiques. Au niveau cytogénétique son caryotype haploïde lui est également propre ; il n'existe que 2 formules normales possibles, 23 X et 23 Y, assorties d'une grande variété d'anomalies, résultant d'accidents de la méiose. De cette notion d'entité résulte une démarche d'identifica-

tion chromosomique singulière, à la différence du caryotype somatique qui est établi par la comparaison de dizaines de métaphases qui ont toutes une formule identique. Il en résulte l'impossibilité d'exploiter les spermatozoïdes dont l'identification chromosomique est douteuse, d'où une exigence particulière de qualité.

L'étude du contenu cytogénétique du spermatozoïde est restée longtemps limitée du fait de l'impossibilité d'obtenir des divisions spermatiques *in vitro*, et par conséquent des chromosomes métaphasiques. L'analyse cytogénétique des spermatozoïdes humains n'est possible que sur les pronoyaux mâles après fécondation *in vitro*. Elle est fondée sur un modèle original de fécondation hétérospécifique homme-hamster qui n'est limitée ni par le nombre de spermatozoïdes que comporte un éjaculat, ni par celui des ovocytes de hamster disponibles, et qui permet d'éviter la destruction d'œufs fécondés humains.

La majorité des anomalies chromosomiques étant d'origine méiotique, les études cytogénétiques directes des gamètes mûrs se sont avérées très informatives sur la genèse, l'étiologie et la transmission des anomalies chromosomiques. Il s'agit cependant de techniques difficiles à mettre en oeuvre [32], maîtrisées par moins d'une dizaine de laboratoires dans le monde.

UNE RETOMBEE DE LA FECONDA- TION IN VITRO HETEROSPECIFIQUE

Avant que la Fécondation *In Vitro* n'ait été pratiquée dans l'espèce humaine, divers

systèmes croisés de Fécondation In Vitro avaient été testés dans le but d'établir un modèle expérimental d'étude de la fécondation. Cette démarche à caractère empirique devait conduire à la constatation que le hamster doré est la seule espèce dont les ovocytes dépellucidés sont fécondables par des spermatozoïdes humains [38]. Les œufs fécondés ainsi obtenus devaient par la suite être cultivés in vitro, puis faire l'objet d'une technique cytogénétique consistant en un étalement sur lame et une fixation concomittante, selon la méthode mise au point par Tarkowski en 1966 pour l'étude de la méiose. Ainsi furent décrits les premiers caryotypes de spermatozoïdes humains [31], mais il fallu attendre plusieurs années pour que des échantillons de tailles significatives soient rapportés, et dont la compilation fournit de précieux renseignements sur la mécanique de la méiose mâle humaine [5, 12, 25].

LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES PRODUITES DE NOVO CHEZ LE SUJET A CARYOTYPE NORMAL

Dans l'espèce humaine les anomalies chromosomiques viables et par conséquent diagnostiquées à la naissance sont relativement rares. Les études cytogénétiques de produits d'avortements ont démontré que d'autres anomalies existent, plus diverses et plus fréquentes, mais qu'elles sont éliminées naturellement au cours de la gestation. On a ainsi été conduit à formuler l'hypothèse que l'espèce humaine présentait un taux de mutation chromosomique élevé par comparaison avec les espèces animales.

Etant donné que les accidents de la méiose sont à la source de la majorité de ces mutations, il devenait évident que l'étude des gamètes mûrs permettrait d'en découvrir la fréquence et la richesse. L'accès au gamète femelle, possible depuis la pratique de la Fécondation In Vitro, n'a permis de fournir que des données rudimentaires étant donné la rareté du matériau disponible et le fait que ses chromosomes, en métaphase de

méiose II, ne soient pas accessibles aux techniques de diagrammes de bandes. En revanche le gamète mâle, disponible en grand nombre, permet lorsqu'il est impliqué dans une fécondation, d'observer des chromosomes d'aspect somatique (1^{ère} division de segmentation) aisément identifiables.

Deux catégories d'anomalies doivent être distinguées, selon qu'elles concernent le nombre de chromosomes présents dans la cellule ou la structure de ceux-ci. On peut aujourd'hui considérer comme établi que la méiose mâle humaine est responsable d'un taux global de mutation de 10%. Les anomalies qui en résultent se répartissent en 3,5% d'anomalies numériques et 6,5% d'anomalies structurales.

Cette prédominance des anomalies structurales, qui ne s'observe pas dans le gamète femelle, est conforme avec le fait que plus de 80% des anomalies structurales de novo observées chez les nouveaux nés, sont d'origine paternelle [7]. Les anomalies retenues consistent en des cassures chromosomiques c'est-à-dire affectant les deux chromatides-soeurs au même niveau, ce qui témoigne de leur préexistence dans le spermatozoïde. Les cassures n'affectant qu'une seule chromatide ne doivent pas être prises en compte puisqu'elles sont survenues postérieurement à la duplication de l'ADN, c'est-à-dire *in vitro* au niveau de l'oeuf fécondé.

Les anomalies numériques se répartissent en anomalies par excès (hyperhaploïdies par disomies) et anomalies par défaut (hypohaploïdies par nullosomies), attendues en proportions égales puisqu'une malségrégation est supposée produire chacune des deux catégories de gamètes. En fait, les résultats observés ne sont pas conformes à ce principe, et toutes les études s'accordent pour constater un excès d'hypohaploïdies [14]. Lorsque ces dernières sont analysées dans le détail il apparaît que ce sont les chromosomes de petite taille les plus souvent absents et par conséquent responsables de ce déséquilibre. On en admet généralement l'origine artéfactuelle, liée à

l'utilisation d'ovocytes dépellucidés et par conséquent fragilisés, fixés simultanément et dont la manipulation peut entraîner la perte de petits chromosomes. Ceci justifie le recours à une estimation dite conservative du taux de mutation, basée exclusivement sur le taux d'hyperhaploïdie que l'on multiplie par 2.

En revanche il n'existe toujours pas de consensus sur la question très fondamentale du risque d'accident encouru par chacune des paires chromosomiques au cours de la méiose mâle. Ceci tient pour partie au choix des échantillons jugés exploitables pour une compilation. Ainsi deux études générales, rapportées simultanément [21, 28], aboutissent à des conclusions différentes. D'après la première les chromosomes n° 1 et 21, et les gonosomes seraient plus sujets aux accidents de malségrégations. Selon la seconde tous les chromosomes seraient affectés avec la même fréquence. Il n'en reste pas moins qu'au niveau spermatique s'observent toutes les variétés possibles d'anomalies et que cette diversité disparaît dans la période post-zygotique, puis au fil de la gestation. C'est donc au niveau des interactions entre l'oeuf fécondé et l'organisme maternel qu'il faut voir l'expression d'une élimination naturelle sélective de ces anomalies. Toutefois, sur ces seules données, se trouve aussi posé le problème d'une éventuelle sélection des spermatozoïdes porteurs d'anomalies chromosomiques par une diminution de leur pouvoir fécondant. D'autres constatations, détaillées plus loin permettront d'argumenter sur cette question fondamentale.

Enfin le délai d'abstinence sexuelle a été mis en cause comme facteur hypothétique d'induction des anomalies chromosomiques. Une enquête a rapporté l'existence d'une relation entre la diminution de la fréquence des rapports sexuels et l'incidence de la trisomie 21, indépendamment de l'âge maternel. De plus deux études expérimentales conduites chez la souris ont contribué à renforcer cette hypothèse. Afin de la tester

nous avons procédé à l'établissement de caryotypes de spermatozoïdes chez quatre sujets normaux dont les délais d'abstinence ont varié de 2 à 15 jours. Nous n'avons constaté aucune variation de fréquence des anomalies chromosomiques au niveau des spermatozoïdes[29].

LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES INDUITES IN VIVO PAR LES RADIATIONS IONISANTES

Si l'on dispose chez l'animal d'études méiotiques de ces effets, en revanche pour l'espèce humaine les données jusqu'à présent disponibles sont fragmentaires et ne permettent qu'une évaluation approximative ou très indirecte des risques encourus par la descendance des sujets irradiés. Ainsi la cytogénétique des lymphocytes n'offre qu'une mauvaise appréciation de la fonction méiotique, car ces cellules présentent une radiosensibilité propre, et les territoires d'exposition sont différents. D'où l'intérêt d'étudier directement les gamètes mûrs de ces sujets.

Pour des raisons évidentes, ceci n'est possible que chez le mâle, d'où la difficulté d'obtenir des résultats étant donné l'atteinte fréquente de la spermatogénèse ; celle-ci retentit sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes ce qui limite les possibilités d'exploration cytogénétique puisque la technique implique le recours préalable à une FIV.

Nous nous sommes intéressés à l'étude de la période précoce qui suit immédiatement l'irradiation alors que la spermatogénèse n'est pas encore altérée, chez des sujets ayant subi une irradiation pour maladie de Hodgkin [30].

Il est surprenant de constater que l'on peut observer des anomalies chromosomiques multiples, alors que la condition pour observer les chromosomes est que le spermatozoïde soit apte à la fécondation. D'importants dégâts chromosomiques ne sont donc pas un obstacle au bon déroulement d'une FIV.

Cependant, beaucoup de ces spermatozoïdes sont incapables d'activer l'ovocyte comme en témoigne l'observation concomitante de fréquentes méioses II hamster.

Ces anomalies chromosomiques radio induites sont différentes de celles des lymphocytes : il s'agit beaucoup plus d'anomalies de type chromatidien que de type chromosomique. Il s'y ajoute des anomalies dans la cinétique de la condensation chromosomique. Leur apparition précède l'altération de la spermatogénèse. Il semble bien qu'elles soient dose-dépendantes.

On peut rapprocher ces anomalies de celles rencontrées dans les spermatozoïdes micro-injectés dans les ovocytes de hamster [17]. En effet ces dernières sont à imputer à la sonication qui précède la micro-injection, beaucoup plus qu'à la micromanipulation en elle-même, dont les effets propres restent encore à tester.

LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES TRANSMISES CHEZ LES SUJETS A CARYOTYPES ANEUPLOIDES

Dans l'espèce humaine les anomalies chromosomiques portant sur le nombre de chromosomes sont peu variées car si invalidantes qu'elles conduisent soit à un tableau polymalformatif soit à une léthalité embryonnaire. Les rares anomalies viables chez le mâle comportent le plus souvent une altération profonde de sa fonction spermatogénétique. Ainsi en est-il de la plupart des anomalies gonosomiques, en particulier du syndrome de Klinefelter. Il existe cependant des exceptions lorsque l'anomalie siège en mosaïque à côté d'un clone normal. Ces sujets peuvent être fertiles et leur descendance est le plus souvent normale, de même que leur méiose étudiée à partir de biopsies testiculaires, mais il est généralement admis que c'est le clone de cellules souches à caryotype normal qui est le seul à être apte à franchir les deux méioses.

Nous avons eu l'opportunité d'étudier les chromosomes de spermatozoïdes d'un sujet fertile présentant un syndrome de Klinefel-

ter en mosaïque 46XY/47XXY en proportion 60 : 40 [9]. Au total 543 caryotypes de spermatozoïdes ont été établis pour ce sujet, chez lequel l'incidence des anomalies autosomiques est comparable à celle des témoins. En revanche on observe une augmentation très significative du taux de disomies gonosomiques qui sont toujours de même nature, à savoir de formule 24XY à l'exclusion des formules 24XX ou 24YY. Ce taux est de 0,9% contre 0,06% chez les témoins.

Ce type de formule peut théoriquement résulter d'une non-disjonction affectant une cellule souche normale 46XY, mais une telle augmentation de fréquence peut s'interpréter comme le résultat de ségrégations régulières s'opérant à partir de cellules souches anormales 47XXY. D'où la suggestion que ces cellules sont capables d'achever la méiose et de produire des spermatozoïdes viables. De plus l'absence des autres types de formules permet de proposer l'hypothèse d'un schéma général d'organisation des 3 gonosomes dans les cellules souches présentant une hyperploïdie gonosomique, à savoir un bivalent homologue XX coexistant avec un univalent Y.

Cette hypothèse serait à vérifier par l'étude de grands échantillons de spermatozoïdes de sujets 47XYY qui sont le plus souvent fertiles [3]. L'augmentation d'incidence des disomies gonosomiques devrait s'exprimer majoritairement sous la forme de spermatozoïdes 24XY plutôt que sous celle de spermatozoïdes 24YY.

LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES TRANSMISES CHEZ LES SUJETS PORTEURS DE TRANSLOCATIONS EQUILIBREES

Dans l'espèce humaine il existe une infinie variété de translocations chromosomiques ; ce sont des remaniements de structure qui, lorsqu'ils sont à l'état équilibré, se traduisent par une modification de la répartition cartographique de segments de chromosomes (ou de chromosomes entiers s'il s'agit

d'acrocentriques) sans excès, ni défaut de matériel génétique. En conséquence ils n'ont en principe aucun effet phénotypique.

Cependant, lorsqu'un homme est porteur d'un tel remaniement, sa fonction spermatogénétique peut être perturbée pour des raisons mal élucidées qui tiennent probablement à la mécanique méiotique. L'exploration cytogénétique des spermatozoïdes de tels sujets n'est pas possible puisque leur pouvoir fécondant dans le système hamster est insuffisant. En revanche il existe des translocations qui ne s'accompagnent pas d'infertilité, dont les explorations cytogénétiques spermatiques ont fourni des données originales sous trois aspects : l'effet interchromosomique, le pouvoir fécondant et l'analyse de ségrégation.

1. L'effet interchromosomique

Toutes les études à partir d'individus porteurs de translocations, s'accordent pour trouver dans le sperme un taux de base d'anomalies sans rapport avec les translocations, identique à celui de 10% observé chez les sujets témoins à caryotype normal.

Ces résultats mettent en défaut, du moins pour ce qui concerne la méiose mâle, l'hypothèse de l'effet interchromosomique qui avait été formulée pour expliquer par exemple les observations de trisomies 21 dans la descendance de sujets porteurs de translocations n'impliquant pas le chromosome 21. Il semble donc bien qu'au contraire, chez le sujet fertile porteur d'une translocation, celle-ci ne soit pas en mesure de perturber la ségrégation des autres chromosomes [33].

2. Pouvoir fécondant et contenu génétique du spermatozoïde

Chez ces mêmes sujets, s'additionne à cet échantillon de spermatozoïdes anormaux, un fort contingent de spermatozoïdes ayant hérité de la translocation à l'état déséquilibré selon différents modes de ségrégation. Ce contingent supplémentaire d'anomalies varie de 4% à 28% des caryotypes sperma-

tiques chez les porteurs de translocations robertsoniennes [1, 15, 24, 27, 33], et de 20% à 80% chez les porteurs de translocations réciproques [1, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 20, 22, 26, 34, 36, 37].

Certains spermatozoïdes présentent donc plus de 90% de caryotypes anormaux. Or les spermatozoïdes dont les caryotypes sont établis ont nécessairement été féconds, du moins vis-à-vis d'ovocytes dépellucidés de hamster. Le différentiel d'anomalies observées entre ces sujets et ceux à caryotype normal suffit donc à conclure qu'un équipement chromosomique anormal ne perturbe pas le pouvoir fécondant d'un spermatozoïde dans le système hétérosécifique. Aucune hypothèse fondée ne permet d'ailleurs d'envisager une propriété différente lors de la fécondation d'ovocytes humains, à moins d'imaginer un mécanisme sélectif dont seraient dotées les structures péri-ovocytaires.

3. Analyse de ségrégation des translocations

Il s'agit par excellence de la principale application de l'étude cytogénétique des spermatozoïdes étant donné son originalité et son pouvoir discriminant. La méthode classique d'analyse de ségrégation est nécessairement limitée, puisqu'elle porte sur l'observation de descendances comportant des fratries de faible taille, ce qui est le propre de l'espèce humaine. L'étude cytogénétique du sperme, qui implique le recours à un nombre illimité de fécondations, revient à analyser le génome paternel d'un grand nombre de descendants pour le même sujet. C'est donc un outil de choix, ce qui explique l'abondance des publications dans ce domaine, qui ont permis un progrès important dans la connaissance des risques encourus par les porteurs de translocations. En effet jusqu'alors ce risque n'avait pu être établi qu'approximativement à partir de données rétrospectives fournies par les généalogies de familles porteuses de translocations toutes différentes.

La proportion de descendants à caryotype anormal étant de l'ordre de 10%, on pouvait s'attendre à ce que la méiose parentale produise un même taux de déséquilibres chromosomiques. Or les études cytogénétiques du sperme de ces patients démontrent qu'en moyenne, la proportion de spermatozoïdes porteurs de ces translocations à l'état déséquilibré est supérieure à 50%. Une telle différence ne peut s'expliquer que par l'existence d'une très forte pression sélective s'opérant dans la période post-zygotique. De plus les études épidémiologiques des généalogies avaient montré que chaque translocation présentait une prédisposition à un mode précis de déséquilibre. Cette prédisposition ne peut être imputée qu'à la sélection naturelle post-zygotique car il semble bien exister, lors de la méiose mâle, une loi générale de ségrégation valable pour toutes les translocations réciproques, avec une prédominance très nette de déséquilibres qualifiés de type adjacent 1 au niveau des spermatozoïdes [26]. Cette notion fondamentale constitue un apport majeur de la cytogénétique des spermatozoïdes [18].

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ces études cytogénétiques de spermatozoïdes ont permis d'explorer un nombre conséquent de translocations, mais ne permettent pas encore d'établir avec certitude une loi générale de ségrégation pour les différentes catégories d'anomalies de structure. Elles présentent en effet une limite, liée au faible rendement de la technique (moins de 10 caryotypes obtenus pour 100 ovocytes inséminés) qui ne permet pas d'analyser un nombre élevé de gamètes pour un même sujet. Dans le meilleur des cas, quelques centaines de caryotypes représentent une année de travail pour deux opérateurs entraînés. De plus, toute anomalie chromosomique s'accompagnant d'une altération de la spermatogénèse, échappe par définition à ce type d'investigation puisque le protocole passe par une fécondation in vitro. On pourrait attendre une application plus large de

l'analyse cytogénétique des spermatozoïdes, des progrès réalisés dans le domaine de la fécondation in vitro avec des spermés déficients, tels que l'utilisation des techniques de micro-injection. Mais outre qu'il faudrait micromanipuler des nombres élevés d'ovocytes de hamster, ces techniques encore balbutiantes n'ont permis à ce jour de produire aucun caryotype de spermatozoïdes micro-injectés sous la pellucide de l'ovocyte de hamster (SUZI), même chez des sujets fertiles.

Une autre orientation plus prometteuse est celle qui consiste à faire appel à des techniques de cytogénétique moléculaire interphasique, qui permettraient de s'affranchir de l'usage de la fécondation in vitro. Ces techniques, actuellement en plein développement sur les cellules somatiques, commencent à être appliquées aux gamètes. Ainsi l'utilisation de l'hybridation in situ avec sondes fluorescentes (FISH) a permis la détection de certaines aneuploïdies dans les spermatozoïdes humains en interphase [11, 23]. Chez les sujets à caryotype normal les taux d'anomalies chromosomiques numériques observés dans les spermatozoïdes en interphase, hybridés avec des sondes centromériques alphasatellites spécifiques de certains chromosomes, sont comparables à ceux provenant de la compilation des études précédentes.

Ces méthodes qui n'autorisent pas l'analyse instantanée de la totalité du génome d'un spermatozoïde, pourraient en revanche s'avérer utiles au repérage de la ségrégation de certains segments de chromosomes ou de chromosomes entiers. Elles auraient surtout l'avantage de permettre une analyse statistique sur des nombres élevés de spermatozoïdes d'un même sujet.

REFERENCES

1. BALKAN W. AND MARTIN R.H. : Chromosome segregation into the spermatozoa of two men heterozygous for different reciprocal translocations. Hum. Genet., 1983a, 89 : 425-429.

2. BALKAN W. AND MARTIN R.H. : Segregation of chromosomes into the spermatozoa of a man heterozygous for a 14 ; 21 Robertsonian translocation. *Am. J. Med. Genet.*, 1983b, 16 : 169-172.
3. BENET J., MARTIN R.H. : Sperm chromosome complements in a 47, XYY man. *Hum. Genet.* 1988, 78 : 313-315.
4. BENET J., NAVARRO J. GENESCA A., EGOZCUE J., TEMPLADO C. : Chromosome abnormalities in human spermatozoa after albumin or test-yolk capacitation. *Hum. Reprod.* 1991, 6 : 369-375.
5. BRANDRIFF B., GORDON L., ASHWORTH L. ET AL. : Chromosomes of human sperm : variability among normal individuals. *Hum. Genet.* 1985, 70 : 18-24.
6. BRANDRIFF B., GORDON L., ASHWORTH L., LITTMAN V., WATCHMAKER G. AND CARRANO A. V. : Cytogenetics of human sperm : meiotic segregation in two translocation carriers. *Am. J. Hum. Genet.*, 1986, 38 : 197-208.
7. BRANDRIFF B., GORDON L. A., MOORE II D., CARRANO A.V. : An analysis of structural aberrations in human sperm chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.*, 1988, 47 : 29-36.
8. BURNS J., KODURU P., ALSONO M. AND CHAGANTI R. : Analysis of meiotic segregation in a man heterozygous for two reciprocal translocations using the hamster in vitro penetration system. *Am. J. Hum. Genet.*, 1986, 38 : 954-964.
9. COZZI J., CHEVRET E., ROUSSEAU S., PELLETIER R., BENITZ V., JALBERT H. AND SELE B. : Achievement of meiosis in XXY germ cells : study of 543 sperm karyotypes from an XY/XXY mosaic patient. *Hum. Genet.* 1994, 93 : 32-34.
10. ESTOP A.M., LEVINSON F., CIEPLY K., VAN-KIRK V. : The segregation of a translocation t(1;4) in two males carriers heterozygous for the translocation. *Hum. Genet.*, 1992, 89 : 425-429.
11. HOLMES J.M., MARTIN R.H. : Aneuploidy detection of human sperm nuclei using fluorescence in situ hybridization. *Hum. Genet.*, 1993, 91 : 20-24.
12. MARTIN R.H., BALKAN W., BURNS K., RADEMAKER A.W., LIN C.C. AND RUDD N.L. : The chromosome constitution of 1000 human spermatozoa. *Hum. Genet.*, 1983, 63 : 305-309.
13. MARTIN R.H. : Analysis of human sperm chromosome complements from a male heterozygous for a reciprocal translocation t(11;22) (q23 ; q11). *Clin. Genet.*, 1984, 25 : 357-361.
14. MARTIN R.H., RADEMAKER A., HILDEBRAND K., LONG-SIMPSON L., PETERSON D. AND YAMAMOTO D. : Variation in the frequency and type of sperm chromosomal abnormalities among normal men. *Hum. Genet.*, 1987, 77 : 108-114.
15. MARTIN R.H. : Cytogenetic analysis of sperm from a male heterozygous for a 13 ; 14 Robertsonian translocation. *Hum. Genet.*, 1988a, 80 : 357-361.
16. MARTIN R.H. : Meiotic segregation of human sperm chromosomes in translocation heterozygotes : report of a t(9;10) (q34 ; q11) and a review of literature. *Cytogenet. Cell Genet.*, 1988b, 47 : 48-51.
17. MARTIN R.H., KO E. and RADEMAKER A. : Human sperm chromosome complements after micro-injection of hamster eggs. *J. Reprod. Fert.*, 1988c, 84 : 179-186.
18. MARTIN R.H. : Invited Editorial : Segregation Analysis of Translocations by the Study of Human Sperm Chromosome Complements. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44 : 461-463.
19. MARTIN R.H., BARCLAY L., HILDEBRAND K., KO E. and FOWLOW S. : Cytogenetic analysis of 400 sperm from three translocation heterozygotes. *Hum. Genet.*, 1990a, 86 : 33-39.
20. MARTIN R.H., MC GILLIVRAY B., BARCLAY L., HILDEBRAND K. and KO E. : Sperm chromosome analysis in a man heterozygous for a reciprocal translocation 46, XY, t(12;20) (q24.3 ; q11). *Hum. Reprod.*, 1990b, 5 : 606-609.
21. MARTIN R.H., KO E., RADEMAKER A. : Distribution of aneuploidy in human gametes : comparison between human sperm and oocytes. *Am. J. Med. Genet.*, 1991, 39 : 321-331.
22. MARTIN R. H. : Sperm chromosome analysis of two men heterozygous for reciprocal translocations : t(1 ; 9) (q22 ; q31) and t(16 ; 19) (q11.1 ; q13.3). *Cytogenet. Cell Genet.*, 1992, 60 : 18-21.
23. MARTIN R.H., KO E. and CHAN K. : Detection of aneuploidy in human interphase spermatozoa by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Cytogenet. Cell Genet.*, 1993, 64 : 23-26.
24. PELLESTOR F., SELE B., JALBERT H. : Chromosome analysis of spermatozoa from a male heterozygous for a 13-14 robertsonian translocation. *Genet.*, 1987, 76 : 116-120.
25. PELLESTOR F., SELE B. : Etude cytogénétique du sperme humain. *MS - Méd. Sci.*, 1989, 5 : 244-251.
26. PELLESTOR F., SELE B., JALBERT H., JALBERT P. : Direct segregation analysis of reciprocal translocations. A study of 283 sperm karyotypes from 4 carriers. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44 : 464-473.
27. PELLESTOR F. : Analysis of meiotic segregation in a man heterozygous for a (13 ; 15) Robertsonian translocation and a review of the literature. *Hum. Genet.*, 1990, 85 : 49-54.
28. PELLESTOR F. : Fréquences et distributions de l'aneuploidie dans les gamètes humains : différences en fonction du sexe. *Ann. Génét.*, 1991, 34 : 70-75.

29. PELLESTOR F., SELE B. : Relationship between sexual abstinence of men and chromosomally abnormal spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 1991, 91 : 65-71.
30. ROUSSEAU S., SELE B., COZZI J. and CHEVRET E. : Immediate rearrangements of human sperm chromosomes following in vivo irradiation. *Hum. Reprod.*, 1993, 8 : 903-907.
31. RUDAK E., JACOBS P.A., YANAGIMACHI R. : Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa. *Nature*, 1978, 274 : 911-913.
32. SELE B., PELLESTOR F., ESTRADA C. ET AL. : Mise en évidence des chromosomes de spermatozoïdes humains dans un système hétérospécifique : difficultés techniques. *Path. Biol.*, 1985, 33 : 875-880.
33. SYME R.M., MARTIN R.H. : Meiotic segregation of a 21 ; 22 Robertsonian translocation. *Hum. Reprod.*, 1992, 7 : 825-829.
34. SPRIGGS E.L., MARTIN R.H., HULTEN M. : Sperm chromosome complements from two human reciprocal translocation heterozygotes. *Hum. Genet.*, 1992, 88 : 447-452.
35. TARKOWSKI A.K. : An air-drying method for chromosome preparations from mouse eggs. *Cytogenetics*, 1966, 5 : 394-400.
36. TEMPLADO C., NAVARRO J., BENET J., GENESCA A., PEREZ M.M., EGOZCUE J. : Human sperm chromosome studies in a reciprocal translocation t(2 ; 5). *Hum. Genet.*, 1988, 79 : 24-28.
37. TEMPLADO C., NAVARRO J., REQUENA R., BENET J., BALLESTA F. and EGOZCUE J. : Meiotic and sperm chromosome studies in a reciprocal translocation t(1 ; 2) (q32 ; q36). *Hum. Genet.*, 1990, 84 : 159-162.
38. YANAGIMACHI R., YANAGIMACHI H., ROGERS B.J. : The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 1976, 15 : 471-476.

ABSTRACT

Sperm chromosomal constitution

Bernard SELE

*Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, DRED JE 118-
Université Joseph Fourier - Grenoble
Faculté de Médecine, La Tronche*

Cytogenetics of human sperm chromosomes has been developed by few laboratories during the last decade, in order to investigate dysfunctions of meiosis in normal men and in carriers of chromosomal abnormalities. On the basis of pooled data, it can be established that normal men produce almost 10% of abnormal spermatozoa, including a majority of structural aberrations (6.5%). Frequency of hyperhaploidies, resulting from chromosome malsegregations, seems to be equally distributed among all chromosome groups. A study of in vivo recently irradiated patients demonstrates that despite a high incidence of multiple rearrangements, the sperm fertilizing ability is not reduced. Segregation of additional chromosomes can also be studied in fertile carriers ; such a study has demonstrated that, in a mosaic patient, 47 XXY germ cells are able to complete meiosis. Finally the major application of the technique consists in direct segregation analysis of structural chromosome rearrangements. The sperm of such carriers exhibits a higher proportion of unbalanced spermatozoa than generally expected in offsprings.

Keywords : human sperm chromosomes, meiotic segregation, chromosomal translocations, Klinefelter, irradiation, in vitro fertilization.