

Bilan des examens chromosomiques de 277 couples candidats à l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde

D. HOCQUET, C. ROUX, M.-A. COLLONGE-RAME, F. FELLMANN, J.L. BRESSON

Service de Cytogénétique, Immunocytologie, Biologie du Développement et de la Reproduction, Centre Hospitalier Universitaire - Saint-Jacques, 25030 BESANCON CEDEX.

RESUME

Ce travail a pour objet d'évaluer la fréquence des anomalies chromosomiques chez 277 couples candidats à l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI). Sept anomalies ont pu être identifiées, soit 1,3% par individu et 2,6% par couple : deux translocations réciproques, deux translocations robertsoniennes, une inversion péricentrique, une mosaïque gonosomique et un marqueur excédentaire. Curieusement, 71% (5/7) de ces anomalies sont retrouvées chez les conjointes, alors que les indications d'ICSI sont masculines. Ces données confirment la plus grande incidence des anomalies chromosomiques chez ces couples par rapport à la population générale et justifient l'intérêt de la pratique systématique du caryotype chez les deux membres du couple candidat à l'ICSI.

Mots clés : Injection intracytoplasmique de spermatozoïde - anomalies chromosomiques - conseil génétique - infertilité masculine - infertilité féminine

INTRODUCTION

L'association entre les perturbations du spermogramme et les anomalies du caryotype est établie depuis plusieurs années. Elle concerne principalement les hommes présentant une azoospermie ou une oligospermie sévère [2].

Des études récentes ont montré que la fréquence des anomalies du caryotype est plus élevée chez les patients inclus en ICSI que dans la population générale [3, 10]. De plus, certaines études sont en faveur d'un taux d'anomalies chez les conjointes égal, voire supérieur à celui des conjoints [11, 14].

Ce travail présente le bilan des examens chromosomiques de 277 couples candidats à l'ICSI, au centre de Fécondation In Vitro du CHU de Besançon, entre janvier 1996 et juillet 1998.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Couples candidats à l'ICSI

Les couples ont été inclus en protocole d'ICSI soit sur indication masculine (n=271) ou après échec de FIV (n=6).

Les indications masculines d'ICSI ont été posées sur les données cliniques et les résultats des examens spermologiques : 2 spermogrammes réalisés selon les recommandations de l'OMS de 1994 [16], et/ou l'insuffisance du rendement des techniques classiques de préparation des spermatozoïdes (migration ascendante, centrifugation en gradient de densité).

Parmi les 271 indications masculines, sont retrouvées :

29 (10,7%) azoospermies dont 11 agénésies bilatérales des canaux déférents (37,9%),

182 (67,2%) oligoasthénospermies, ou oligoas-

- thénotératospermies sévères,
- 21 (7,7%) asthénospermies,
- 17 (6,3%) asthénotératospermies,
- 17 (6,3%) oligospermies isolées,
- 5 (1,8%) oligotératospermies.

Dans les 6 cas d'échec de FIV, le spermogramme était normal.

1. Examen cytogénétique

Pour les 277 couples relevant d'une indication d'ICSI, le caryotype a été réalisé chez 272 hommes et 266 femmes.

L'examen chromosomique a été pratiqué sur cultures de lymphocytes de sang périphérique par la technique des bandes G. Au moins 16 mitoses ont été observées, et 4 classées. En cas de suspicion de mosaïque, 100 métaphases ont été analysées. Les résultats ont été exprimés conformément à la nomenclature ISCN [6].

2. Analyse statistique

La répartition des paramètres spermatiques des patients des couples avec et sans anomalies chromosomiques sera comparée grâce au test du Chi-Deux au risque de 5%.

II. RÉSULTATS

Parmi les 277 couples, 7 anomalies ont été retrouvées : elles concernent 2 hommes (2/272 ; 0,7%) et 5 femmes (5/266 ; 1,9%). Aucun couple n'a présenté de double anomalie, à la fois masculine et féminine (tableau I). Six sont des anomalies autosomales et 1 anomalie concerne les chromosomes sexuels. Parmi les anomalies autosomales, nous avons trouvé 2 translocations réciproques, 2 translocations robertsoniennes, 1 inversion péricentrique et 1 marqueur excédentaire non identifié.

Il est à noter qu'à 10 reprises, l'examen caryotypique a montré un nombre très minoritaire (1 mitose dans 7 cas, 2 mitoses dans 3 cas) de mitoses avec anomalie numérique des gonosomes. Cette constatation a été notée compte tenu de l'indication d'ICSI ; elle concerne le caryotype de l'homme dans 6 cas (6/272 ; 2,2%) et celui de la femme dans 4 cas (4/266 ; 1,5%) (tableau II).

Les paramètres spermatiques ne montrent pas de différence, que les patients soient porteurs ou non d'une anomalie constitutionnelle du caryotype (tableau III).

Les anomalies du caryotype chez les patientes ne s'accompagnent pas de particularité du tableau clinique, seul un cas d'insuffisance de la réserve ovarienne a été noté (tableau IV).

III. DISCUSSION

1. Bilan des caryotypes masculins

Ce travail évalue à 0,7% (2/272) le taux des anomalies du caryotype chez les hommes. A nombre de couples concernés comparable, ce taux est plus faible que ceux relevés par d'autres équipes (tableau V).

Une anomalie morphologique (une translocation robertsonienne) et une mosaïque Klinefelter ont été identifiées.

2. Bilan des caryotypes féminins

Une augmentation de l'incidence des anomalies chromosomiques parmi les patientes incluses en ICSI par rapport à la population générale a déjà été rapportée [3, 4]. Cinq anomalies du caryotype ont été retrouvées (5/266 ; 1,9%) dans notre population féminine, ce sont 5 anomalies morphologiques, aucune anomalie gonosomique numérique n'a été mise en évidence.

3. Les anomalies morphologiques

a) Translocations

Nous diagnostiquons 4 translocations (4/538 ; 0,74%) dans notre échantillon. Cette fréquence est plus élevée que dans la population générale (0,2%)[15], mais en-deça de celles estimées dans les séries étudiées récemment (1,04% - 1,31%)[4,14].

La fréquence des translocations autosomiques réciproques dans la population générale est estimée à environ 0,085% [15], avec un risque élevé pour ces personnes d'avoir un enfant à caryotype déséquilibré [5]. Avec une incidence de 0,4% (2/538), la fréquence de ce type de translocation serait 4 fois plus importante que

Tableau I : Caryotypes anormaux découverts

Type d'anomalie	Sexe (a)	Caryotype
Translocations réciproques	f	46,XX,t(5;16) (q12;q12.1)
	f	46,XX,t(2;17) (p11.1;p11.1)
Translocations robertsoniennes	f	45,XX,der(13;14) (q10;q10)
	m	45,XY,der(14;21) (q10;q10)
Inversions	f	46,XX,inv (1) (p34.3;q32.3)
Mosaïques gonosomiques	m	47,XXY/46,XY 63:27
Marqueurs supplémentaires	f	46,XX/47,XX, +mar 6:10

(a) m : masculin, f : féminin

Tableau II : Caryotypes montrant un nombre très minoritaire de mitoses avec une anomalie numérique des gonosomes

Sexe (a)	Caryotype
m	46,XY/47,XXY 100:1
f	46,XX/45,X/47,XXX 98:1:1
f	46,XX/47,XXX 100:2
f	46,XX/45,X 100:1
f	46,XX/45,X/48,XXXX 33:1:1

(a) m : masculin, f : féminin

Tableau III : Comparaison des données du spermogramme chez les patients inclus en protocole d'ICSI.

	Caractéristiques des spermogrammes		
	< 5 millions spz/ml	< 20 % de f. normales	< 20 % de mob. initiale
Caryotype normal (n=264)	154 (n=264; 58,3%)	104 (n=220; 47,3%)	212 (n=227; 93,4%)
Caryotype anormal (n=8)(a)	5 (n=8; 52,5%)	2 (n=6; 33,3%)	7 (n=7; 100,0%)
	p : ns	p : ns	p : ns

Spz : spermatozoïdes, f. : formes, mob. : mobilité.

(a) sont inclus également les patients porteurs de caryotype montrant un nombre très minoritaire de mitoses avec une anomalie numérique des gonosomes

Tableau IV : Informations concernant le membre du couple porteur de l'anomalie chromosomique

N° du couple	Sexe du porteur (a)	Caryotype	Indication d'ICSI (a)	Porteur de l'anomalie chromosomique
1	m	45,XY,der(14;21) (q10;q10)	m	Asthénotératospermie
2	f	46,XX,t(5;16) (q12;q12.1)	m	Aucune pathologie gynécologique connue
3	f	46,XX,t(2;17) (p11.1;p11.1)	m	Aucune pathologie gynécologique connue
4	f	45,XX,der(13;14) (q10;q10)	m	Aucune pathologie gynécologique connue
5	f	46,XX,inv (1) (p34.3;q32.3)	m	Aucune pathologie gynécologique connue
6	m	47,XXY/46,XY 63:27	m	Oligoasthénospermie
7	f	46,XX/47,XX, +mar 6:10	m	Réserve ovarienne insuffisante

(a) m : masculin(e), f : féminin(e).

Tableau V : Comparaison de nos données aux études récentes.

	Caryotypes masculins		Caryotypes féminins		
	Réalisés (n)	Anormaux (n) (%)	Réalisés (n)	Anormaux (n) (%)	Par couple (%)
Scholtes <i>et al.</i> (1998) (11)	1 116	42 (a)(3,8)	1 164	102 (a)(8,8)	7,2
Meshede <i>et al.</i> (1998) (4)	432	7 (1,6)	436	5 (1,4)	3,0
Van der Ven <i>et al.</i> (1998) (14)	305	10 (3,3)	305	10 (3,3)	5,9
Pauer <i>et al.</i> (1997) (9)	128	9 (7,0)	122	1 (0,8)	7,8
Montag <i>et al.</i> (1997) (7)	434	-	-	-	3,7
Mau <i>et al.</i> (1997) (3)	150	12 (8,0)	150	3 (2,0)	10,6
Testart <i>et al.</i> (1996) (12)	261	11 (4,2)	261	3 (1,2)	5,4
Baschat <i>et al.</i> (1996) (1)	32 2	(6,3)	-	-	-
Peschka <i>et al.</i> (1996) (10)	200	6 (3,0)	200	6 (3,0)	6,0
Présente étude	272	2 (0,7)	266	5 (1,9)	2,6

(a) Les mosaïques montrant une proportion > 1% de cellules aneuploïdes sont dénombrées.

dans la population générale, mais inférieure aux estimations faites pour des populations similaires (0,7% - 0,8%)[4, 11, 14].

Chez les hommes, la fréquence des translocations réciproques varie dans les études récentes de 0,5 à 3,1% [1, 3, 4, 9, 14], alors que nous n'en avons pas observé chez nos patients.

La fréquence des translocations réciproques dans notre population féminine est de 0,8% (2/266), ce taux est comparable à ceux retrouvés dans d'autres études : de 0,7% à 1,3% [3, 4, 14].

La fréquence des translocations robertsoniennes est estimée à 1/1000 chez les nouveau-nés [15]. Ces translocations peuvent être jusqu'à 10 fois plus fréquentes chez les patients ayant des antécédents d'infertilité [2], mais des études récentes rapportent des taux plus faibles (0,3% - 0,5%)[14, 4]. Les translocations (13;14) sont rencontrées par certains auteurs [9, 11, 12] à des taux importants, allant jusqu'à 1,3% [3] et le plus souvent chez les partenaires masculins.

Parmi les 277 couples, 2 translocations robertsoniennes ont été identifiées, une (13;14) chez une femme (0,4%) et une (14;21) chez un homme (0,4%).

b) Inversions

Notre étude montre une inversion (1/538 ; 0,2%). Dans la population générale, la fréquence des inversions est d'environ 0,013% [15]. Notre résultat ne peut être interprété mais Van der Ven et Mau concluent à une augmentation de l'incidence des inversions chez les candidats à l'ICSI (0,5% - 1,0%)(3/610 et 3/300).

On note enfin une incidence d'inversion du chromosome 9 de 0,9% (5/538) comparable à celle de la population générale [3].

c) Les anomalies gonosomiques

Une seule mosaïque Klinefelter 47,XXY/46,XY 63:27 a été diagnostiquée. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la plupart des hommes porteurs de cette anomalie n'ont pas recours à l'ICSI, soit parce que les chances de réussite ou de faisabilité de ce type d'AMP sont trop réduites, soit parce que le couple a décidé de

s'orienter vers une autre solution, don de sperme ou adoption.

A titre indicatif, pendant la période de l'étude et dans le même service, 5 diagnostics de Klinefelter 47,XXY ont été posés chez des hommes adultes consultant pour infécondité. L'inclusion éventuelle de certains de ces patients aurait doublé voire triplé la fréquence des anomalies chromosomiques (de 2 à 7/272).

L'étude de Pauer *et al.* rapporte un caryotype 47,XXY [9] et celle de Van der Ven *et al.* un caryotype 47,XXY/46,XY/48,XXX 91,8:6,1:2,1 [14].

Aucune mosaïque gonosomique mineure (<10%) n'a été décelée dans notre échantillon. Meshede *et al.* signalent 0,5% de ce type d'anomalie chez les hommes et 4,1% chez les femmes [4]. Elles pourraient être une cause fréquente et sous-estimée d'échec en procréation médicalement assistée [13], en étant impliquées dans la diminution du taux d'implantation des embryons obtenus par ICSI [11] et dans l'augmentation de la fréquence des avortements spontanés [8].

Caryotypes montrant un nombre très minoritaire de mitoses avec une anomalie numérique des gonosomes

Six fois chez des hommes (6/272 ; 2,2%) et 4 fois chez des femmes (4/266 ; 1,5%), 1 ou 2 mitoses aneuploïdes ont été observées sans que l'existence d'une mosaïque puisse être établie. Comme ces constatations ne sont pas systématiquement notées lors de la réalisation des caryotypes constitutionnels et que les données sur l'incidence de ce type de constatation dans la population générale sont peu nombreuses, il est difficile d'effectuer des comparaisons.

Au total, nous trouvons un taux d'anomalie par couple de 2,6%. Ce taux est parmi les plus faibles de ceux publiés récemment (tableau V). Ceci pourrait être expliqué par la quasi-absence des patients Klinefelter de notre cohorte. Ces données confirment toutefois la notion d'une plus grande fréquence des anomalies chromosomiques chez les couples hypofertiles, avec 3 fois plus d'anomalies caryotypiques que dans la population générale [15] ; Par ailleurs, malgré le recrutement essentiellement mascu-

lin de l'ICSI, 71% (5/7) des anomalies repérées l'ont été chez des femmes.

Ces résultats confirment l'intérêt de la pratique systématique du caryotype chez les deux membres des couples candidats à l'ICSI. Ils imposent d'évaluer, chez les couples porteurs d'anomalie, le devenir des tentatives d'assistance médicale à la procréation tant par le résultat intermédiaire de leurs tentatives que par le statut chromosomique de leurs enfants. Ces données seront essentielles à l'ajustement du conseil génétique et de la conduite à tenir.

RÉFÉRENCES

1. BASCHAT, A.A., KÜPKER, W., EL HASANI, S., et al. : Results of cytogenetic analysis in men with severe subfertility prior to intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1996, 11 : 330-333.
2. DE BRAEKELEER, M. AND DAO, T.M. : Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum. Reprod.*, 1991, 6 : 245-250.
3. MAU, U.A., BÄCKERT, I.T., KAISER, P. et al. : Chromosomal finding in 150 couples referred for genetic counselling prior to intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 930-937.
4. MESHEDE, D., LEMCKE, B., EXELER, J.R. et al. : Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection-prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. *Hum. Reprod.*, 1998, 13 : 576-582.
5. MIDRO, A.T., STENGEL-RUTKOWSKI, S. AND STENE, J. : Experience with risk estimates for carriers of chromosomal reciprocal translocations. *Clin. Genet.*, 1992, 41 : 113-122.
6. MITELMAN, F. (ed.) *ISCN 1995 - An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Karger, Basel, 1995, 114 pp.
7. MONTAG, M., VAN DER VEN, K., VED, S. et al. : Success of intracytoplasmic sperm injection in couples with male and/or female chromosome aberrations. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 2635-2640.
8. OSTROWSKI, R.S., GRASS, F., NORTON, J. et al. : Evaluation of X chromosomal mosaicism by fluorescent in situ hybridization in women who have recurrent spontaneous pregnancy losses. *Am. J. Hum. Genet.*, 1993, 53 : Abstract 587.
9. PAUER H.U., HINNEY, B., MICHELMANN, H.W. et al. : Relevance of genetic counselling in couples prior to intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 1909-1912.
10. PESCHKA, B., SCHWANITZ, G., VAN DER VEN, K. et al. : Type and frequency of constitutional chromosome aberrations in couples undergoing ICSI. *Hum. Reprod.*, 1996, 11 : 224-225.

11. SCHOLTES, M.C., BEHREND, C., DIETZEL-DAHMEN, J. et al. : Chromosomes aberrations in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection: influence on implantation and ongoing pregnancy rates. *Fertil. Steril.*, 1998, 70 : 933-937.
12. TESTART, J., GAUTIER, E., BRAMI, C. et al. : Intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with structural chromosome abnormalities. *Hum. Reprod.*, 1996, 12 : 2609-2612.
13. TONCHEVA, D., ILIEVA, P. AND MAVRUDIEVA, M. : Detection of low level sex-chromosomal mosaicism. *Genet. Couns.*, 1994, 5 : 363-367.
14. VAN DER VEN, K., PESCHKA, B., MONTAG, M. et al. : Increased frequency of congenital aberration in female partner of couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1998, 13 : 48-54.
15. VOGEL, F., AND MOTULSKI, A.G. : *Human genetics*, 3rd Edn, Springer-Verlag, 1997, Berlin, pp. 386-397.
16. World Health Organization : *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction*, 4th Edn, Cambridge University Press, 1994, New York.

ABSTRACT

Chromosome abnormalities in 277 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection

D. HOCQUET, C. ROUX, M.-A. COLLONGE-RAME, F. FELLMANN, J.L. BRESSON

In these study the frequency of congenital chromosomal aberrations was assessed in a sample of 277 couples included in a intracytoplasmic sperm injection (ICSI) program. A total of 7 aberrant karyotypes were diagnosed, corresponding to an abnormality rate of 1.3% per individual and 2.6% per couple. The following types of abnormalities were observed: reciprocal translocations (n=2), Robertsonian translocations (n=2), pericentral inversion (n=1), sex chromosomal mosaicism (n=1), marker chromosome (n=1). Surprisingly, 71% (5/7) of all abnormal karyotypes were contributed by the female partner of ICSI patients. These data confirm the higher incidence of chromosomal aberration in infertile couples compared with the baseline population risk. It also confirms that not only the male, but also the female should be routinely karyotyped prior to ICSI, and then receive appropriate genetic counselling.

Key-words: *Intracytoplasmic sperm injection / chromosome abnormalities / genetic counselling / male infertility / female infertility*