

# Existe-il, dans la population générale masculine un risque plus fort de développer des délétions du chromosome Y qui entraîneraient une infertilité ?

L. QUINTANA-MURCI, C. KRAUSZ. et K. McELREAVEY

*Unité d'Immunogénétique Humaine  
INSTITUT PASTEUR 25-28 rue du Dr. Roux 75724 PARIS Cedex 15*

## RÉSUMÉ

Le rôle du chromosome Y dans la spermatogenèse reste encore un important sujet de débats en andrologie. Trois régions non-chevauchantes (AZFa, AZFb, AZFc) ont été décrites, chacune contenant plusieurs gènes candidats pour l'infertilité. Les raisons et les mécanismes qui entraîneraient la formation des microdélétions sur le chromosome Y sont inconnus. En théorie, il serait possible que certains groupes de chromosomes Y (haplogroupes), couramment présents dans la population, puissent être responsables d'un avantage ou d'un désavantage sélectif concernant la formation d'une délétion. A ce sujet, un précédent concerne la récente définition de plusieurs haplotypes du chromosome Y qui prédisposent à la pathologie d'homme 46 XX (Y+). Dans le but de déterminer s'il y a des forces sélectives qui agiraient sur le chromosome Y, nous avons défini les haplotypes du chromosome Y chez 60 patients infertiles présentant des microdélétions sur le bras long du chromosome Y en utilisant 10 marqueurs bialléliques (SRY-2627, SRY-1532, SRY-8299, 92R7, Tat, YAP, sY81, LLY22g, M9, DYS257). Une étude identique a également été réalisée sur un groupe contrôle d'hommes fertiles normospermiques appartenant à la même région géographique et à la même origine ethnique. Ici, nous discutons des possibles forces sélectives agissant sur le chromosome Y et spéculons sur les mécanismes responsables de la formation des délétions.

*Mots clés : infertilité, chromosome Y, microdélétion, haplotypes, susceptibilité*

## INTRODUCTION

Le rôle du chromosome Y dans la spermatogenèse reste encore un important sujet de débats en andrologie. Mises à part les azoospermies obstructives ou excrétoires, plusieurs régions du génome humain sont candidates pour jouer un rôle dans la spermatogenèse en raison de l'existence d'anomalies cytogénétiques (aneuploïdies, délétions, microdélétions, translocations, inversions, etc) liées à l'infertilité chez l'homme. En particulier, des anomalies génétiques sur le bras long du chromosome Y sont souvent associées à une infertilité masculine. Cette association suggère l'existence de gènes sur le chromosome Y, nécessaires à la spermatogenèse et candidats pour l'infertilité masculine d'origine génétique.

Le chromosome Y porte plusieurs gènes qui sont supposés avoir des fonctions spécifiquement masculines comme le déterminisme sexuel et la spermatogenèse. Le gène SRY, localisé sur le bras court du chromosome, est le gène responsable de la détermination du sexe chez l'homme [1]. Sa présence, détermine la

formation des testicules à l'état embryonnaire, c'est pourquoi des mutations ou des délétions de ce gène expliquent 20 % des cas de réversion du sexe chez les femmes 46 X, Y. De plus, le chromosome Y possède des fonctions liées à la croissance, à des effets anti-Turner et à l'infertilité chez l'homme [2].

Les premières relations entre le chromosome Y et l'infertilité masculine ont été établies à la fin des années 70 [3]. Ce premier travail montrait des réarrangements importants sur le bras long du chromosome Y dans le caryotype d'hommes atteints d'une azoospermie sécrétoire. Les anomalies décrites comprenaient des grandes délétions terminales du bras long du chromosome Y, qui était cytogénétiquement repérables. Ces observations conduisaient à l'hypothèse de l'existence d'un *locus*, nommé AZF pour « AZoospermia Factor », sur le bras long du chromosome Y, contenant un ou des gènes indispensables pour un correct déroulement de la spermatogenèse. Grâce au séquençage et aux progrès de la biologie moléculaire, une nouvelle carte moléculaire intégrée des marqueurs anonymes (STS) sur le chromosome Y est devenue disponible. Cette carte permet de tester la présence/absence d'un marqueur STS environ tous les 30 kb. Elle permet ainsi une analyse rapide du chromosome Y pour mettre en évidence la taille et la position des microdélétions non repérables par les techniques classiques de cytogénétique. De nombreuses équipes de généticiens et andrologues se sont intéressées à ces études, à savoir, la détection et la localisation des microdélétions chez des patients atteints d'une azoospermie ou oligozoospermie. Ainsi, l'ensemble de ces résultats a permis de changer le concept vague et préliminaire d'AZF et de dénombrer trois régions différentes non-chevauchantes sur le bras long du chromosome Y, nommées AZFa, AZFb et AZFc [4]. Ces régions sont souvent délétées chez les hommes infertiles. Chacune de ces trois régions contient plusieurs gènes candidats pour jouer un rôle dans la spermatogenèse (Figure 1).

## I. GÈNES DU CHROMOSOME Y ET SPERMATOGENÈSE

Tous les gènes du chromosome Y ont été iden-

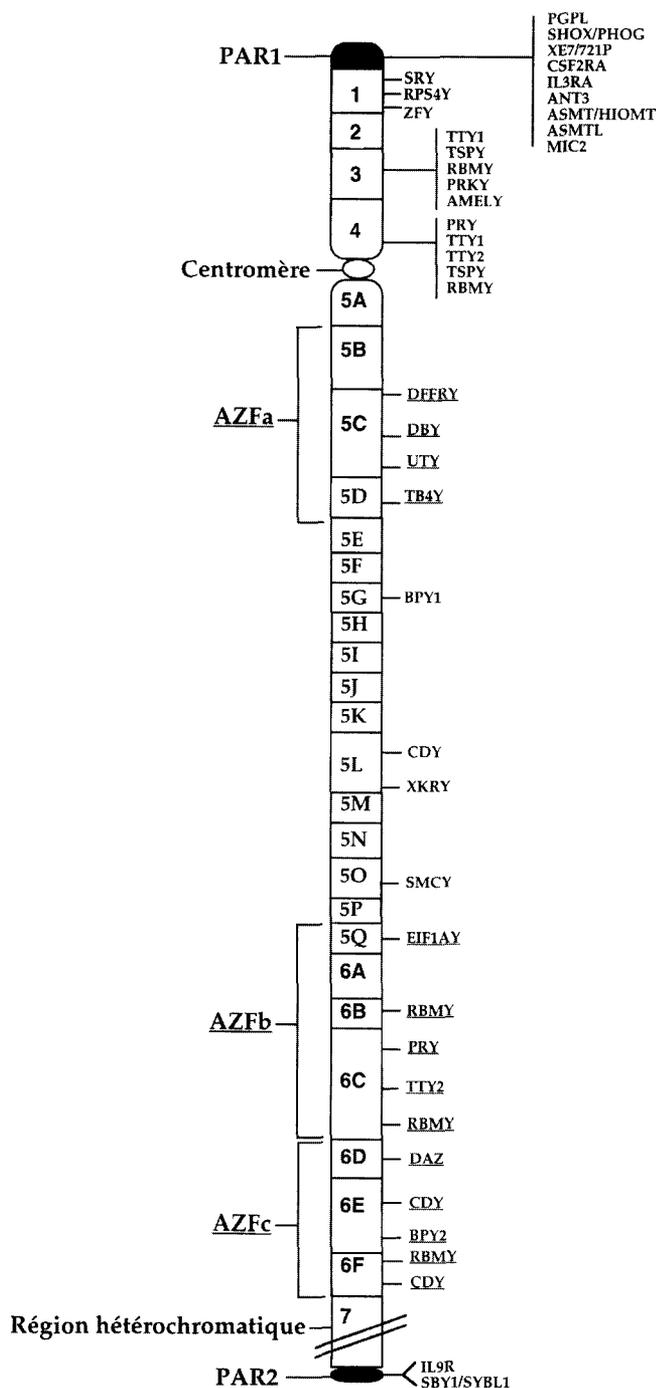
tifiés soit par clonage direct des gènes humains soit par clonage de leur homologue chez la souris. En effet, les critères utilisés pour considérer un gène comme « gène candidat » pour jouer un rôle dans la spermatogenèse sont :

1) la présence dans une des trois régions AZF, souvent délétées chez les hommes atteints d'infertilité ;

2) l'expression préférentielle dans les testicules et

3) un phénotype d'infertilité chez les souris invalidées pour les homologues de ces gènes. Bien que chaque région AZF contienne plusieurs gènes probablement impliqués dans le processus de la spermatogenèse (Figure 1), les gènes les plus candidats sont *DDFRY* (*Drosophila Fat Facets Related Y*) dans la région AZFa, *RBM* (RNA-binding Motif) en AZFb et *DAZ* (*Deleted in AZoospermia*) en AZFc. La position de ces trois gènes dans les régions AZF, leur profil d'expression et l'information sur leur homologue chez la souris (pour *DDFRY* et *DAZ*) suggèrent solidement leur implication directe ou indirecte dans le contrôle de la spermatogenèse [5]. Par exemple, le gène *DAZ* est localisé dans l'intervalle AZFc et il est considéré fortement comme candidat pour l'infertilité masculine [6]. *DAZ* est un gène qui possède plusieurs copies (six à neuf) sur le chromosome Y, et qui contiennent chacune des motifs répétés en tandem. Ce gène code une protéine spécifique du testicule, mais sa fonction biologique est inconnue. Le gène humain *DAZ* a un gène homologue chez la souris, nommé *Dazl1*, qui est localisé sur le chromosome 17 [7]. L'invalidation de ce gène entraîne une absence complète de production de gamètes dans les testicules et les ovaires. Ceci démontre que *Dazl1* est un gène essentiel pour le développement et/ou le maintien des cellules germinales chez la souris.

Cependant, tous ces gènes ne sont que des « gènes candidats », car les raisons que nous venons d'exposer sont des preuves qui ne démontrent, que d'une façon indirecte, leur implication dans le processus spermatogénétique. Récemment, le groupe de David Page vient de trouver la première mutation ponctuelle associée à un phénotype d'infertilité



**Figure 1: Carte moléculaire du chromosome Y indiquant la position des trois intervalles AZFa, AZFb et AZFc. Les gènes candidats pour l'infertilité sont soulignés.**

chez l'homme [8]. Cette mutation, présente chez un patient azoospermique et absente chez son frère fertile, touche le gène *DFFRY* (ou *USPY9*) et entraîne une azoospermie de type sécrétoire. Ceci démontre pour la première fois de façon directe le rôle d'un gène du chromosome Y dans le contrôle de la spermatogenèse et, par conséquent, dans l'infertilité chez l'homme.

## II. MICRODÉLÉTIONS DU CHROMOSOME Y ET INFERTILITÉ

Beaucoup de contradictions concernant la fréquence et la position des délétions du chromosome Y ont été relevées chez les hommes infertiles. En effet, l'incidence des microdélétions dans la population des hommes atteints d'infertilité varie de 1 % à 55 % [9]. Cette grande variation est probablement le résultat des différents critères de sélection des patients étudiés qui conduisent à l'introduction de biais dans les études. Les causes principales de variation de l'incidence des microdélétions sont :

- 1) l'absence d'une vraie séparation entre les groupes de patients atteints d'infertilités idiopathiques et d'infertilité dont la cause est déjà connue ;
- 2) le désaccord sur la définition d'infertilité idiopathique selon les auteurs ;
- 3) le nombre des patients étudiés ;
- 4) le nombre et la position des marqueurs STS analysés ;
- 5) la variabilité due à des différences entre les populations.

Malgré toutes les études et leurs résultats portant sur le rôle du chromosome Y dans l'infertilité, il reste encore des questions à résoudre : Quelles sont la fréquence, la position et l'étendue des délétions du chromosome Y dans la population ? Afin d'essayer de répondre à ces questions, nous avons étudié le bras long du chromosome Y chez 131 hommes infertiles (46 idiopathiques et 85 non-idiopathiques) [10]. 19 % des hommes avec une infertilité idiopathique portent une délétion du chromosome Y en AZF. La délétion la plus fréquemment représentée touche la région AZFc, mais les régions AZFa et AZFb sont aussi délétées. Ces délétions ont permis de redéfinir la région AZFb. Toutefois, il est surprenant d'observer que 7 % des hommes atteints d'une infertilité non-idiopathique présentent des délétions du chromosome Y pour AZFb et AZFc. Cette étude présente un intérêt médical important. L'implication la plus évidente, à l'heure actuelle, concerne les méthodes d'assistance médicale à la procréation. L'ICSI ("IntraCyttoplasmic Sperm Injection") est une technique permet-

tant d'introduire directement dans un ovocyte, un spermatozoïde prélevé dans un éjaculat ou dans le testicule. Pour les hommes infertiles, la méthode offre la possibilité de procréer et permet de surmonter de nombreux problèmes spermatogéniques. Cependant, les anomalies du chromosome Y d'un homme infertile seront transmises à toute sa descendance masculine.

La relation phénotype/génotype, à savoir la corrélation entre l'étendue et la position des microdélétions, est très confuse et n'a pas été retrouvée par la majorité des auteurs [4,11-14]. Cependant, il existe certaines relations souvent observées dans les études. En général, les délétions d'AZFa s'accompagnent d'une azoospermie par absence totale des cellules germinales dans les tubes séminifères (SCOS type I: Sertoli Cell Only Syndrome). Les délétions d'AZFb sont souvent associées à un arrêt de maturation de la spermatogenèse au niveau des spermatocytes (SGA : SpermatoGenic Arrest). En fin, les délétions d'AZFc sont les plus hétérogènes et elles sont associées à la présence de quelques cellules germinales (SCOS type II).

### III. ORIGINE DES MICRODÉLÉTIONS

Bien que de rares cas de transmission des microdélétions du chromosome Y aient été décrits, la très grande majorité des microdélétions du chromosome Y sont des événements *de novo*. L'origine méiotique des microdélétions est l'hypothèse la plus vraisemblable. La nature du mécanisme de ces pertes est encore spéculative. Une possibilité est une recombinaison inégale entre des séquences répétées entre les chromosomes X et Y, ou entre les chromatides sœurs du chromosome Y lui-même.

L'instabilité observée au chromosome Y peut être le résultat de la haute fréquence des séquences répétées qu'il contient (séquences Alu, séquences répétées en tandem, séquences hautement homologues avec le chromosome X, etc). Il est donc possible que certaines structures du chromosome Y puissent faciliter un crossing-over inégal entre les régions dupliquées ou hautement homologues. L'analyse des haplotypes du chromosome Y porteurs de microdélétions est donc une manière de répondre à la question que nous allons développer dans la section suivante.

Bien qu'il soit probable qu'il s'agisse d'une anomalie de la méiose mâle, on ne peut pas exclure que ces délétions aient aussi lieu à un stade très précoce de l'embryogenèse avec un défaut de formation des spermatogonies chez le fœtus. Cela expliquerait les rares cas de mosaïcisme des délétions du chromosome Y chez les individus infertiles porteurs de la microdélétion.

### IV. EXISTE-IL DES HAPLOTYPES DU CHROMOSOME Y QUI PRÉDISPOSENT AUX DIFFÉRENTES DÉLÉTIONS ?

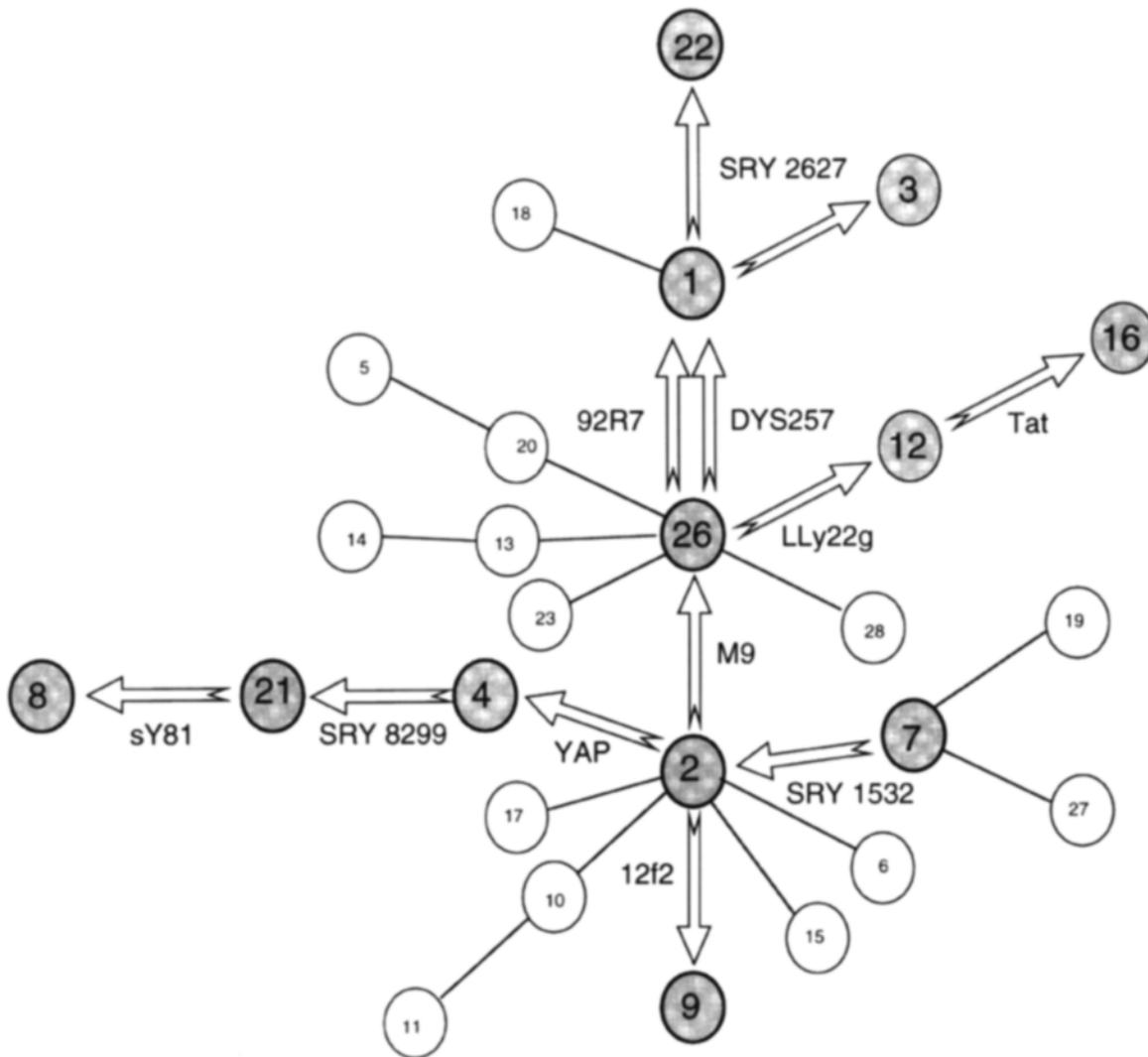
Dans le cadre des études de prédisposition génétique et du chromosome Y, nous avons récemment défini un haplotype du chromosome Y qui protège contre une forme rare d'infertilité : le syndrome d'homme 46, XX (Y+) [15]. La plupart des hommes XX sont dus à une translocation du gène SRY sur le chromosome X. Il existe un polymorphisme d'inversion du gène *PRKY* dont l'orientation faciliterait l'alignement des chromosomes X et Y et, ainsi, une translocation du morceau de chromosome Y contenant SRY. Afin de tester s'il existe des groupes de chromosomes Y plus susceptibles de subir des translocations, nous avons étudié trois marqueurs polymorphiques (MSY, 92R7 et DYS257) en Europe chez un groupe de mâles XX. Puis, nous avons comparé les fréquences de ces polymorphismes avec une population contrôle provenant d'Europe de l'Ouest. Nous avons identifié un haplogroupe du chromosome Y (MSY1-class 1 / 92R7 (T) / DYS257 (A)) qui est présent dans un tiers de la population européenne de l'Ouest. Cet haplogroupe est fortement sous-représenté chez les mâles XX provenant aussi d'Europe de l'Ouest. Ceci montre que cet haplogroupe confère un avantage sélectif par la protection contre la translocation responsable du syndrome des hommes 46 XX (Y+).

Cette même hypothèse devrait être également valide pour la prédisposition aux délétions du chromosome Y associée à une infertilité masculine. Pour répondre à cette question, nous avons organisé une collaboration avec différents groupes européens au Royaume-Uni, en Irlande, en Allemagne et au Danemark. Ainsi, le laboratoire possède une collection de chromosomes Y provenant de patients azoosper-

miques ou oligozoospermiques et portant différentes microdélétions en Yq. Afin de tester l'hypothèse que des haplotypes du chromosome Y puissent prédisposer à différentes délétions, nous avons analysé les haplotypes du chromosome Y chez 60 patients infertiles présentant des microdélétions sur le bras long du chromosome Y en utilisant 10 marqueurs bialléliques (SRY-2627, SRY-1532, SRY-8299, 92R7, Tat, YAP, sY81, LLY22g, M9, DYS257) (Figure 2). En parallèle, la même étude a été faite avec un groupe contrôle (des hommes fertiles) de la même région géographique et de la même origine ethnique. Puis, dans le but d'identifier s'il existe une distribution biaisée des haplotypes du chromosome Y chez les patients microdélétés par rapport à la population contrôle (la fré-

quence des individus microdélétés plus élevée dans un certain haplogroupe qu'attendu). Cette étude a été faite dans le cadre de « European Diversity Project ». L'objet de ce consortium international est de caractériser et de définir l'haplotype de 5 000 chromosomes Y dans 40 populations européennes différentes provenant de 26 pays différents.

Actuellement, nos données ne montrent pas de corrélation entre un (des) haplotypes (s) du chromosome Y et une prédisposition aux microdélétions du chromosome Y. Les fréquences des haplotypes entre les individus porteurs des microdélétions en Yq ne sont pas significativement différentes de celles des individus provenant de la population contrôle nor-



**Figure 2: Arbre phylogénétique montrant les marqueurs bialléliques analysés dans cette étude. Les marqueurs ombrés sont considérés par le "European Biodiversity Project" comme les plus informatifs dans les populations européennes.**

mospermique. Cependant, nous ne savons pas si cette apparente absence de corrélation entre la structure du chromosome Y (définie par un haplotype) et la prédisposition aux microdélétions est vraie ou due au fait que les marqueurs bialléliques utilisés ne sont pas suffisamment informatifs. C'est pourquoi, nous avons démarré une étude utilisant le minisatellite spécifique du chromosome Y, nommé MSY1 [16], sur les individus porteurs de microdélétions en Yq. Dans le cadre des études d'association, le minisatellite MSY1 peut être un marqueur plus informatif que les marqueurs bialléliques, car il donne une idée de la structure générale du chromosome Y étudié. Puis, nous réaliserons une analyse des associations cladistiques entre la structure du chromosome Y et les différents types de microdélétions, afin d'évaluer les effets des différences entre les chromosomes Y sur la sensibilité à produire des délétions ainsi que sur l'association entre des structures particulières et certains types de délétions (AZFa, AZFb ou AZFc)

## V. CONCLUSIONS

Une relation entre les haplotypes du chromosome Y et l'infertilité a déjà été montrée lors d'une étude récente dans la population japonaise, où les relations entre le chromosome Y, la concentration du sperme et l'infertilité ont été étudiées [17]. La population japonaise peut être divisée en quatre haplogroupes (I, II, III, IV) sur la base de trois marqueurs spécifiques du chromosome Y. Les haplogroupes I et II ont une distribution générale dans toutes les populations, alors que les haplogroupes III et IV ont une distribution spécifique en Asie de l'Est. Dans un groupe de 198 mâles fertiles d'origine japonaise, la concentration moyenne de sperme des individus appartenant à l'haplogroupe II était légèrement plus basse que celle des individus appartenant aux haplogroupes III et IV. Cependant, elle n'était pas significativement différente de celle des individus appartenant à l'haplogroupe I. De plus, les auteurs ont analysé un groupe de 106 patients azoospermiques avec des chromosomes Y sans délétion. Cette deuxième analyse a révélé, à nouveau, une corrélation importante entre l'azoospermie et l'haplogroupe II. Cette étude montre, en

conséquence, que l'haplogroupe II conférerait un désavantage sélectif aux individus appartenant à l'haplogroupe II dans la population japonaise.

Dans le but de déterminer s'il existe des forces sélectives agissantes sur le chromosome Y et donc, prédisposant à la formation des délétions, une meilleure stratégie serait d'analyser ces individus qui présentent une infertilité due à une cause provenant clairement du chromosome Y, à savoir, une microdélétion pour un ou des gènes de fertilité localisés sur le bras long du chromosome Y. L'analyse du minisatellite MSY devrait indiquer s'il existe un contexte génétique qui confère une instabilité au chromosome Y (causant des microdélétions) résultant en une manifestation clinique comme l'infertilité. En outre, ces analyses peuvent nous aider à mieux comprendre les mécanismes qui sont à la base de la formation des microdélétions du chromosome Y.

## REMERCIEMENTS

*Les auteurs remercient Stéphane Jamain pour la lecture critique du manuscrit. Nous remercions également la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) pour le financement de cette étude.*

## REFERENCES

1. SINCLAIR A.H., BERTA P., PALMER M.S., *et al.* : A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 1990, 346: 240-244.
2. MCELREAVEY K., KRAUSZ C., BISHOP C.E. : The human Y chromosome and male infertility. *Results. Probl. Cell. Differ.*, 2000, 28: 211-232.
3. TIEPOLO L., ZUFFARDI O. : Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum. Genet.*, 1976, 34: 119-124.
4. VOGT P.H., EDELMANN A., KIRSCH S., *et al.* : Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum. Mol. Genet.*, 1996, 5: 933-943.
5. MCELREAVEY K., KRAUSZ C. : Male Infertility and the Y Chromosome. *Am. J. Hum. Genet.*, 1999, 64: 928-933.

## ABSTRACT

### **Are some males in the general population at a higher risk for Y-chromosome deletions leading to male infertility ?**

L. QUINTANA-MURCI, C. KRAUSZ,  
K. MCELREAVEY

6. REIJO R., LEE T.Y., SALO P., *et al.* : Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat. Genet.*, 1995, 10: 383-393.
7. REIJO R., SELIGMAN J., DINULOS M.B., *et al.* : Mouse autosomal homolog of DAZ, a candidate male sterility gene in humans, is expressed in male germ cells before and after puberty. *Genomics*, 1996, 35: 346-352.
8. SUN C., SKALETSKY H., BIRREN B., *et al.* : An azoospermic man with a de novo point mutation in the Y-chromosomal gene USP9Y. *Nat. Genet.*, 1999, 23: 429-432.
9. KRAUSZ C., MCELREAVEY K. : Y chromosome and male infertility. *Front. Biosci.*, 1999, 15; 4: E1-8.
10. KRAUSZ C., QUINTANA-MURCI L., BARBAUX S., *et al.* : A high frequency of Y chromosome deletions in males with nonidiopathic infertility. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84: 3606-3612.
11. MULHALL J.P., REIJO R., ALAGAPPAN R., *et al.* : Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1997, 12: 503-508.
12. STUPPIA L., GATTA V., MASTROPRIMIANO G., *et al.* : Clustering of Y chromosome deletions in subinterval E of interval 6 supports the existence of an oligozoospermia critical region outside the DAZ gene. *J. Med. Genet.*, 1997, 34: 881-883.
13. GIRARDI S.K., MIELNIK A., SCHLEGEL P.N., *et al.* : Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. *Hum. Reprod.*, 1997, 18: 1635-1641.
14. SIMONI M., GROMOLL J., DWORNICZAK B., *et al.* : Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in AZoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil. Steril.*, 1997, 67: 542-547.
15. JOBLING M.A., WILLIAMS G.A., SCHIEBEL G.A. : A selective difference between human Y-chromosomal DNA haplotypes. *Curr. Biol.*, 1998, 8: 1391-1394.
16. JOBLING M.A., BOUZEKRI N., TAYLOR P.G. : Hypervariable digital DNA codes for human paternal lineages: MVR-PCR at the Y-specific minisatellite, MSY1 (DYF155S1). *Hum. Mol. Genet.*, 1998, 7:643-653.
17. KUROKI Y., IWAMOTO T., LEE J., *et al.* : Spermatogenic ability is different among males in different Y chromosome lineage. *J. Hum. Genet.*, 1999, 44: 289-292.

**The role of the Y-chromosome in spermatogenesis remains one of the hottest topics in andrology. Three non overlapping recurrently deleted regions on Yq (AZFa, AZFb, AZFc) have been defined, each of them containing several genes that are candidates for male infertility. The causes and mechanisms leading to microdeletion formation on the Y are largely unknown. Theoretically, it could be possible that some groups of Y-chromosomes (haplogroups) currently distributed in the population could confer a selective advantage/disadvantage towards deletion formation. A precedent in the field is the recent identification of a Y-chromosome haplotype that confers a selective advantage against a translocation of Yp leading to another form of male infertility, the Y+ XX-male phenotype. In order to test if selection is acting on Y-chromosome haplotype distribution, we have defined and compared Y-chromosome haplotypes in a group of around 60 individuals with Y microdeletions from North-Western Europe using 10 biallelic Y-markers (SRY-2627, SRY-1532, SRY-8299, 92R7, Tat, YAP, sY81, LLY22g, M9, DYS257). The defined haplotypes were compared to a control normospermic population of the same ethnic/geographic origin (in the framework of the European Biodiversity Project).**

**We evaluate the relationship between different Y-chromosome backgrounds and microdeletions, and to which extent selection on this chromosome could have influenced fitness of certain individuals/populations. We also discuss the selective forces that are acting on this chromosome and speculate on the mechanisms underlying deletion formation.**

**Key-words** : infertility, Y-chromosome, deletions, haplotypes, susceptibility

*NDLR* : Le lecteur pourra également se référer à la revue *ANDROLOGIE*, Vol. 9, N°3, Sept. 1999.