

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAÏD

-Tlemcen-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Écologie et Environnement

MÉMOIRE

Présenté par :

M^{lle} Rahma BELMOKHTAR

En vue de l'obtention du Diplôme de

MAGISTER en Biologie

Option: Génétique Moléculaire des Populations Humaines

Thème

LES ANOMALIES GONOSOMIQUES : CAS DE STÉRILITÉ

Soutenu le : 24/12/2014

Devant le jury :

Présidente : Mme Fawzia ATIK BEKKARA

Pr. Université de Tlemcen

Directeur : Mr Ahmed KERFOUF

Pr. Université de Sidi Bel-Abbès

Examineurs : Mr Mohamed Bey BABA HAMED

Pr. Université d'Oran

Mr Sid Tedj HEBRI

MCA. Université de Tlemcen

Année Universitaire: 2014-2015

Dédicaces

À ceux que j'aime surtout

Mes chers parents qui m'ont toujours soutenu dans mes choix et qui ont tout mis en œuvre pour que je puisse mener à bien mes études. Merci pour tout ce que vous m'avez transmis, pour votre soutien, vos encouragements et votre confiance en moi, vous êtes un exemple pour moi, je vous en serai toujours reconnaissante.

Mes frères et sœurs qui sont toujours là pour m'aider et rendre ma vie agréable.

Ma très chère sœur, ma jumelle Fayza, la personne qui comprend le plus ce que j'ai vécu pendant ces dernière années. Je t'aime beaucoup !

Tous les membres de la grande famille. Merci d'avoir savouré avec moi les victoires et de m'avoir réconfortée dans les moments difficiles. Votre soutien indéfectible, votre générosité et votre indulgence m'ont été très précieux, et signifient bien plus pour moi que je ne saurai jamais l'exprimer.

Mes meilleurs amis(es) pour leur soutien sans faille et permanent.

Toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin.

À vous tous je dédie ce modeste travail

Remerciements

Au début d'un tel travail, on doit remercier tous ceux qui, plus ou moins directement, ont contribué à le rendre possible et agréable. C'est avec mon enthousiasme le plus vif et le plus sincère que je voudrais rendre mérite à tous ceux qui à leur manière m'ont aidé à mener à bien ce mémoire. Je désire alors leur exprime ma profonde gratitude.

Tout d'abord, je souhaiterais remercier le plus sincèrement mon encadreur, Monsieur **KERFOUF Ahmed**, Professeur à l'Université Djillali-Liabès de Sidi-Bel-Abbès. Il été là pour me pousser vers la carrière scientifique. Ce fut pour moi un réel plaisir d'être dirigé par un tel promoteur avec un enthousiasme motivant. Grâce à ses conseils, j'ai pu réaliser ce travail et j'espère avoir été à la hauteur de ses attentes. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée, pour le temps que vous avez pris pour m'écouter et me comprendre, et également pour m'avoir offert l'opportunité de partager votre savoir-faire et votre passion pour la recherche. Pour tout cela et encore bien pour votre humanisme et votre bonté, je vous dis, Merci !

Un grand hommage à Madame **ATIK BEKKARA Fawzia**, Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen pour l'honneur qu'elle m'a fait d'assurer la présidence de jury de ce travail. Sa disponibilité, sa gentillesse et le degré d'humanisme dont elle fait preuve, m'ont beaucoup apporté. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie profondément Monsieur **BABA HAMED Mohamed Bey**, Professeur à l'Université d'Oran, qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury. Je vous suis reconnaissante de l'intérêt que vous avez porté sur ce travail. Merci Monsieur d'avoir pris le temps de lire et de commenter mon manuscrit. Vous trouvez ici Monsieur le témoignage de ma profonde gratitude.

J'aimerais également remercier Monsieur le docteur **HEBRI Sid Tedj**, Maître de conférences hospitalo-universitaire de classe A à l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen de m'avoir honoré par sa participation à l'examen de mon travail. Soyez assuré Monsieur de mon profond respect.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à tous les personnels du service de Maternité de l'EPH de Maghnia, d'Urologie de CHU de Tlemcen et les équipes des laboratoires d'analyses médicales: à toutes celles et ceux qui m'ont accompagné dans ce travail, m'ont encouragé et ont mis toutes leurs compétences et leur savoir à profit pour faire avancer ce travail. Merci pour leur disponibilité de tous les instants.

Enfin, je ne dois pas oublier tous les individus qui ont fait l'objet de cette étude. Je leur dis Merci pour leurs aides, leurs compréhensions et leurs indulgences dont ils ont fait preuve.

Merci à tous !

Résumé

La stérilité ou l'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples en âge de se reproduire. Dans le bilan d'infertilité du couple, le caryotype s'impose quand l'étiologie reste indéterminée. Le but de cette étude est donc, d'identifier et déterminer les mécanismes des aberrations chromosomiques des gonosomes conduisant à la stérilité humaine. L'association entre l'anomalie chromosomique et les paramètres cliniques et biologiques (spermatiques et hormonales) a été également évaluée.

Sur les 27 hommes infertiles, 2 cas azoospermiques présentent des caryotypes avec des anomalies portant essentiellement sur les gonosomes, il s'agit du syndrome de Klinefelter dans sa forme homogène (47,XXY). La forme mosaïque a été trouvée dans un seul cas avec la formule chromosomique (47,XXY/46,XY). Chez les 30 femmes infertiles étudiées, l'aneuploïdie la plus fréquente est représentée par le syndrome de Turner de formule chromosomique (45,X0), homogène dans les 2 cas caryotypés. Quant à l'exploration hormonale, on marque une élévation des gonadotrophines (FSH et LH) chez les deux sexes et une diminution du taux de testostérone chez les hommes azoospermiques de caryotypes anormales.

La présence d'anomalies chromosomiques chez les hommes et les femmes infertiles suggèrent fortement la généralisation des tests génétiques et cytogénétiques afin de rendre plus efficiente leurs prise en charge.

Mots clés: Stérilité, caryotype, anomalies gonosomiques, diagnostic, conseil génétique.

Abstract

Sterility or infertility is a major health problem that affects many couples in reproductive age. To evaluate the infertility of couple, the karyotype analysis will be needed especially, when we can not know the cause of this infertility. The aim of this study was to identify and determine the mechanisms of sex chromosomal aberrations in infertile patients. The association between chromosomal abnormalities and clinical, biological parameters (semen and hormonal data) was also evaluated.

Of the twenty-seven men, two azoospermic cases had sex chromosomal abnormalities. These were described as (47,XXY) homogeneous forms. Klinefelter syndrome with mosaic karyotype (47,XXY/46,XY) was found among one case included in this study. For the infertile women (N=30), the most common chromosome aneuploidy was represented by Turner syndrome with homogeneous (45,X0) karyotype. This abnormality was found in two women. In the other hand, a higher level of FSH and LH was noted in both sexes while the lower concentrations of testosterone were observed in azoospermic men with abnormal karyotype.

The occurrence of chromosomal abnormalities among infertile men and women strongly suggest widespread genetic and cytogenetic testing to make them more efficient care.

Key words: Sterility, karyotype, sex chromosomal abnormality, diagnosis, genetic counseling.

ملخص

العقم هو مشكلة صحية كبيرة، تؤثر على كثير من الأزواج في سن الإنجاب. يستعمل النمط النووي عادة لمعرفة سبب العقم لدى الزوجين. الهدف من هذه الدراسة هو معرفة و تحديد آليات التشوهات الكروموسومية (الصبغية) المؤدية إلى العقم خاصة كروموسومات الجنس البشري. كما تم تقييم العلاقة بين هذه التشوهات الكروموسومية و المعطيات الطبية و البيولوجية (الحيوانات المنوية و الهرمونية).

من بين 27 رجل يعانون من حالة العقم، توجد حالتين اثنتين تتميزان بالفقدان الكلي للحيوانات المنوية. النمط النووي لهذه الأخيرة يثبت وجود أكثر من صبغي واحد للجنس البشري في شكل حر و متجانس (47,XXY) والذي يميز مرض الكلينفلتير. عثر على الشكل الفسيسفائي في الصبغة الصبغية (47,XXY/46,XY) في حالة واحدة فقط. بالنسبة للنساء اللائي يعانين من العقم (n=30) ، قد تم العثور على حالتين اثنتين تتميزان بالنمط النووي في صبغة صبغية حرة و متجانسة (45,X0). نسبة الهرمونات في الدم تتميز بارتفاع مستوى FSH و LH لدى الرجال والنساء على حد سواء. أما نسبة testostérone فهي جد منخفضة لدى الرجال الذين يعانون من فقدان كلي للحيوانات المنوية و نمط نووي غير طبيعي.

وجود التشوهات الصبغية لدى الرجال و النساء الذين يعانون من العقم يفرض بقوة و جوب توسيع نطاق الاختبارات الجينية و ذلك بهدف التكفل الأمثل بهذه الفئة.

الكلمات المفتاحية: العقم، النمط النووي، تشوهات صبغيات الجنس البشري، فحص، نصيحة وراثية

Liste des Figures

Figure 1. Chromosome métaphasique.....	04
Figure 2. Types de chromosomes.....	05
Figure 3. Schéma de non disjonction chromosomique en première et en deuxième division méiotique.....	07
Figure 4. Principaux mécanismes d'apparition des remaniements chromosomiques déséquilibrés.....	10
Figure 5. Principaux mécanismes d'apparition des remaniements chromosomiques équilibrés.....	13
Figure 6. Scénario pour l'évolution des chromosomes sexuels humains.....	15
Figure 7. Structure de chromosome X et Y.....	16
Figure 8. Schéma de la structure du chromosome Y.....	17
Figure 9. Répartition des trois classes de séquence de l'euchromatine du chromosome Y..	18
Figure 10. Schéma des différentes étapes de la spermatogenèse.....	26
Figure 11. Schéma des différentes composantes de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire.....	28
Figure 12. Mécanisme de séparation prématurée des chromatides-sœurs de l'un des chromosomes homologues en méiose I.....	30
Figure 13. Représentation schématique de l'ovogénèse.....	39
Figure 14. Variations des gonadotrophines, des hormones stéroïdes sexuelles et des peptides ovariens au cours du cycle menstruel chez la femme.....	40
Figure 15. Régulation hormonale de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.....	41
Figure 16. Caryotype en bande G d'une monosomie (45, X0).....	50
Figure 17. Caryotype en bande R d'un sujet double Y (47,XYY).....	50
Figure 18. FISH d'une sonde de séquences haploïdes centromériques spécifique du chromosome X sur métaphase montrant une trisomie X.....	52
Figure 19. Analyse en FISH avec des sondes fluorescentes codant pour les gonosomes à la recherche d'une mosaïque et montrant un noyau XY et une autre XXY.....	53
Figure 20. Présentation des techniques de CGH sur chromosomes (A) et CGH array (B).....	55
Figure 21. Principe de dosage de FSH par la technique d'électrochimiluminescence (méthode de sandwich).....	58
Figure 22. Principe de dosage de testostérone par la technique d'électrochimiluminescence (méthode de compétition).....	60
Figure 23. Répartition des cas infertiles selon la tranche d'âge et le sexe.....	72
Figure 24. Répartition des cas infertiles selon le type d'infertilité et le sexe.....	72
Figure 25. Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques.....	75
Figure 26. Classement du caryotype en fonction de la taille et la position de centromère....	78
Figure 27. Caryotype masculin normal en bande R. Formule chromosomique : 46, XY (X 100).....	79

Figure 28. Caryotype féminin normal en bande R. Formule chromosomique: 46,XX (X100).....	79
Figure 29. (A) Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard par coloration simple d'un syndrome de Klinefelter homogène (47, XXY).....	80
Figure 30. (A) Chromosomes métaphasiques en bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard en bandes R d'un syndrome de Klinefelter homogène (47, XXY).....	81
Figure 31. (A) Chromosomes métaphasiques de deux noyaux cellulaires éclatés et dispersés (X 100). (B) Caryotype standard par coloration simple d'un syndrome de Klinefelter en mosaïque (47, XXY/46, XY).....	83
Figure 32. (A) Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X 100). (B) Caryotype standard normal par coloration simple d'un homme infertile (46,XY).....	84
Figure 33. (A) Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard par coloration simple d'un syndrome de Turner homogène (45, XO).....	85
Figure 34. (A) Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard en bandes R d'un syndrome de Turner homogène (45, XO).....	86

Liste des Tableaux

Tableau 1. Paramètres spermatiques définis selon les critères de l’OMS.....	22
Tableau 2. Estimation du taux de prévalence de l’infertilité primaire et secondaire chez les femmes âgées de 20-49 ans.....	36
Tableau 3. Distribution des cas infertiles selon l’âge et le sexe.....	71
Tableau 4. Comparaison des différents paramètres spermatiques chez les hommes fertiles et infertiles.....	74
Tableau 5. Comparaison des valeurs moyennes des anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez les hommes fertiles et infertiles.....	76
Tableau 6. Valeurs hormonales moyennes des hommes fertiles et infertiles.....	77
Tableau 7. Valeurs hormonales moyennes des femmes fertiles et infertiles.....	77
Tableau 8. Classification de David 1975 des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....	126

Liste des Abréviations

ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
AMH	Anti Müllerien Hormone
AMP	Assistance Médicale à la Procréation
AZF	Azoospermia Factor
BAC	Bacterial Artificial Chromosome
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
CGH	Hybridation Génomique Comparative
cM	centiMorgan
DAZ	Deleted In Azoospermia
DBCP	Dibromochloropropane
EBS	Earl Balanced Salt
FISH	Fluorescente <i>In Situ</i> Hybridization
FIV	Fécondation <i>In Vitro</i>
FSH	Follicule Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
IA	Insémination Artificielle
ICSI	Intra-Cytoplasmic Sperm Injection
idic(Y)	Isodicentric Y Chromosome
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
LH	Luteinizing Hormone
Mb	Mégabase
MSY	Male Specific Y chromosome
NB	Nombre
NOR	Organisateurs Nucléolaires
OAT	Oligo-Asthéno-Tératozoospermie
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
p	Bras court d'un chromosome
PAR	Pseudo-Autosomal Region
pb	Paires de bases
PCR	Polymerase Chain Reaction
PHA-C	Phyto-Hémato-Agglutinine-C
POF	Premature Ovarian Failure
q	Bras long d'un chromosome
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SOX3	SRY-related HMG-box gene 3
SPZ	Spermatozoïde
SRY	Sex-determining Region Y
SVF	Sérum de Veau Fœtal
XIST	X Inactivation-Specific Transcript

Table des Matières

Remerciements.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
Résumé en arabe.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	01
Partie 1 : Synthèse bibliographique	
Chapitre 1: Chromosome et anomalies chromosomiques.....	03
1.1 Notion de chromosome.....	03
1.2 Structure de chromosome.....	03
1.3 Anomalies chromosomiques.....	05
1.3.1 Anomalies de nombre.....	06
1.3.2 Anomalies de structure.....	08
1.3.2.1 Remaniements chromosomiques déséquilibrés.....	09
1.3.2.2 Remaniements chromosomiques équilibrés.....	11
1.4 Chromosomes sexuels ou gonosomes	14
1.4.1 Origine et évolution des chromosomes sexuels.....	14
1.4.2 Structure des chromosomes X et Y.....	16
1.4.3 Inactivation du chromosome X chez la femme.....	19
Chapitre 2: Stérilité masculine d'origine chromosomique.....	20
2.1 Définitions.....	20
2.2 Epidémiologie.....	20
2.3 Etiologie.....	21
2.4 Stérilité et spermatogénèse.....	24
2.4.1 Contrôle neuro-endocrinien de la fonction testiculaire.....	27
2.5 Anomalies chromosomiques induisant la stérilité masculine.....	28
2.5.1 Anomalies de nombre : Cas des gonosomes.....	29
2.5.1.1 Syndrome de Klinefelter.....	29
2.5.1.1.1 Syndrome de Klinefelter libre et homogène.....	29
2.5.1.1.2 Syndrome de Klinefelter en mosaïque.....	31
2.5.1.1.3 Syndrome de Klinefelter et stérilité.....	31
2.5.1.2 Syndrome XYY.....	31
2.5.1.3 Homme 46,XX.....	32

2.5.2 Anomalies de structure du chromosome Y.....	32
2.5.2.1 Translocation Y-autosome ou X-Y.....	32
2.5.2.2 Chromosome Y isodicentrique.....	33
2.5.2.3 Chromosome Y en anneau.....	33
2.5.2.4 Inversion du chromosome Y.....	33
2.5.2.5 Microdélétions du chromosome Y.....	34
Chapitre 3: Stérilité féminine d'origine chromosomique.....	35
3.1 Prévalence.....	35
3.2 Causes de stérilité féminine.....	36
3.3 Stérilité et l'ovogénèse.....	38
3.3.1 Régulation hormonale de la fonction ovarienne.....	39
3.4 Anomalies chromosomiques induisant la stérilité féminine.....	41
3.4.1 Anomalies de nombre.....	41
3.4.1.1 Monosomie 45, X0.....	41
3.4.1.1.1 Forme libre et homogène.....	42
3.4.1.1.2 Forme en mosaïque.....	43
3.4.1.2 Trisomie X.....	43
3.4.1.3 Femme 46, XY.....	44
3.4.2 Anomalies de structure du chromosome X.....	44
3.4.2.1 Isochromosome X.....	44
3.4.2.2 Délétion partielle du chromosome X.....	44
3.4.2.3 Translocation X-autosome.....	45
3.4.2.4 Chromosome X en anneau.....	45
3.5 Diagnostic prénatal et conseil génétique.....	45
Chapitre 4: Apport de la cytogénétique dans la détection des anomalies chromosomiques liées à la stérilité humaine.....	48
4.1 Caryotype: Technique de base.....	48
4.1.1 Caryotype standard.....	48
4.1.2 Caryotype à haute résolution.....	51
4.2 Hybridation <i>in situ</i> en fluorescence (FISH).....	51
4.2.1 Principe.....	51
4.2.2 Sondes utilisées.....	52
4.3 Hybridation Génomique Comparative (CGH).....	54
Partie 2 : Méthodologie	
Chapitre 1: Matériel et méthodes.....	56
1.1 Mode d'échantillonnage.....	56
1.2 Collecte des données.....	56

1.3 Principe et méthode.....	57
1.3.1 Examen biologique.....	57
1.3.1.1 Analyse hormonale.....	57
1.3.1.2 Spermogramme.....	60
1.3.1.3 Spermocytogramme.....	63
1.3.2 Examen cytogénétique.....	65
1.3.2.1 Technique de caryotype sur sang totale.....	65
1.3.2.1.1 Prélèvement.....	65
1.3.2.1.2 Mise en culture.....	65
1.3.2.1.3 Obtention des préparations métaphasiques.....	66
1.3.2.1.4 Dénaturation et coloration des chromosomes.....	68
1.3.2.1.5 Lecture des lames.....	69
1.3.3 Analyse statistique.....	69
Chapitre 2: Résultats.....	71
2.1 Répartition des patients selon l'âge et le sexe.....	71
2.2 Répartition des patients selon le type d'infertilité.....	72
2.3 Résultats des analyses spermatiques et hormonales.....	73
2.3.1 Analyse spermatique.....	73
2.3.1.1 Fréquence des anomalies spermatiques.....	74
2.3.1.2 Anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....	75
2.3.2 Analyse hormonale.....	76
2.3.2.1 Chez les hommes.....	76
2.3.2.2 Chez les femmes.....	77
2.4 Résultats de l'analyse cytogénétique.....	77
2.4.1 Interprétation des caryotypes.....	78
2.4.2 Présentation des caryotypes des différents cas étudiés.....	80
2.4.2.1 Pour les hommes.....	80
2.4.2.2 Pour les femmes.....	84
Discussion générale.....	87
Conclusion et perspectives.....	98
Références bibliographiques.....	100
Annexes.....	123
Glossaire.....	130

Introduction

La stérilité ou bien l'infertilité touche un nombre croissant de couples en âge de se reproduire. Dans le monde, plus de 70 millions de couples souffrent d'infertilité (Boivin et al., 2007), soit une prévalence de 9% (Boivin et al., 2007 ; Coutton et al., 2012), ce qui représente un véritable problème de santé publique. L'Algérie n'est pas épargnée par cette épidémie, on compte plus de 300.000 couples qui ne parviennent pas à concevoir un enfant, de manière naturelle. Cette statistique se traduit par, approximativement, entre 10% et 12% de la population ciblée (Hamdi, 2013).

En effet, l'infertilité est définie comme l'incapacité de concevoir après au moins douze mois de rapports sexuels non protégés (Schlosser et al., 2007). On parle d'infertilité primaire s'il n'y a jamais eu de grossesses, et d'infertilité secondaire si elle a eu lieu après une grossesse ou plus (Geidam et al., 2008).

L'infertilité est due à des facteurs féminins, masculins ou une combinaison des deux dans respectivement 30%, 20% et 40% des cas. Il reste 10% des cas de cause indéterminée ou dite « idiopathique » (Huyghe et al., 2008 ; Marcelli et al., 2009 ; Coat et al., 2011).

Elle peut être expliquée par des problèmes hormonaux, immunologiques, environnementaux ou de la structure physique des organes reproducteurs. Toutefois, dans certain nombre de cas, la cause de l'infertilité est inconnue en raison du manque de connaissance des mécanismes génétiques et moléculaires qui jouent un rôle dans le contrôle de la production de spermatozoïdes ou d'ovocytes et leurs maturations (Cameron, 2006).

Une évaluation de la fertilité chez les hommes est basée sur la concentration des spermatozoïdes dans le sperme. La production correcte de ces cellules (spermatozoïdes) a été attribuée à plus de 1666 gènes (Zhang et al., 2013). Un défaut de l'un de ces gènes peut affecter le développement des cellules germinales. En effet, les causes génétiques actuellement bien établies, on trouve les anomalies chromosomiques (autosomiques ou gonosomiques) détectées dans 1.9% à 12% des cas infertiles, les microdélétions du chromosome Y dans 8.2% des cas et les mutations du gène CFTR dans 2% des cas (Aittomaki et al., 2004 ; Coutton et al., 2012). Cependant, Les causes génétiques de la stérilité féminine peuvent atteindre soit le nombre de chromosomes comme dans les monosomies (syndrome de

Turner 45,X0), ou les polysomies, soit la structure des chromosomes, comme dans les translocations ou les délétions (Christin-Maître, 2010). On estime que 10% des femmes stériles présentent des gamètes génétiquement déséquilibrés (Layman et *al.*, 2002) induisant une mortalité précoce des embryons de plus de 8 semaines dans 50% des cas (Jacobs, 1999). La connaissance de relation génotype-phénotype représente une étape importante dans la prévention, le diagnostic et le traitement de cette pathologie.

Le but de ce travail est d'étudier des cas infertiles d'une population de l'Ouest algérien, Tlemcen, en identifiant les anomalies gonosomiques impliqués dans la stérilité humaine. Ceci a été fait en plusieurs étapes :

- 1- Identifier et mesurer la fréquence des différentes anomalies spermatiques liées aux infertilités masculines.
- 2- Déterminer l'impact des facteurs intrinsèques telle une dysfonction de l'axe hypothalamo-hypophysaire (la dérégulation hormonale).
- 3- Réaliser les analyses de la cytogénétique conventionnelle par le caryotypage standard et en bandes R, chez des cas présentant un tableau clinique d'infertilité d'origine sécrétoire (azoospermique), liées aux anomalies chromosomiques pour les hommes. Tandis que la réalisation d'un caryotype chez les femmes était pour but de rechercher un syndrome de Turner devant une anomalie de la reproduction (dysgénésie gonadique).

Ce mémoire comprend une revue bibliographique qui contient 4 chapitres. Le premier sert à décrire le chromosome et les anomalies chromosomiques d'une manière générale. Le deuxième et le troisième qui viennent ensuite présentent l'origine chromosomique de la stérilité masculine et féminine respectivement. Enfin, le quatrième chapitre décrit les différents outils cytogénétiques qui permettent de détecter les anomalies chromosomiques (gonosomiques) impliquées dans la stérilité humaine.

Une partie méthodologique détaillée a été préparée, en inclus une section de matériel et méthodes utilisés, une section de résultats obtenus, une discussion générale et une conclusion résumant ainsi l'apport de ce mémoire aux connaissances, de même que les perspectives d'avenir. Toutes les références bibliographiques citées dans ce travail sont décrites à la fin de ce document.

PARTIE1 :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre1 : Chromosome et anomalies chromosomiques

L'étude des chromosomes humains se développe énormément durant les deux dernières décennies. De telles études ont d'importantes implications biologiques et médicales, sachant que plusieurs syndromes et maladies congénitales sont reliés à des aberrations chromosomiques.

C'est Tjio et Levan qui en 1956, firent le premier pas dans le domaine de cytogénétique humaine en démontrant définitivement que le nombre diploïde vrai des chromosomes humains est de 46, dont 22 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels encore appelée gonosomes, XX chez la femme et XY chez l'homme (Tjio et Levan,1956; Rives, 2006).

1.1 Notion de chromosome

Le terme de chromosome a été inventé par Waldeyer en 1888 pour nommer des éléments nucléaires connus pour migrer de façon longitudinale lors de la méiose (Waldeyer, 1888).

Les chromosomes sont le support du matériel génétique, support de l'hérédité et de l'organisation de la vie cellulaire. Ils sont constitués d'ADN associé à des protéines formant la chromatine et sont localisés dans le noyau des cellules eucaryotes.

Leur aspect varie au cours du cycle cellulaire : ils sont moins condensés en interphase et donc non visibles individuellement au microscope. Par contre, durant la division cellulaire, ils se condensent et s'individualisent, leur identification est alors plus aisée en métaphase de la mitose.

1.2 Structure du chromosome

Chaque chromosome comporte un centromère, région qui contient le kinétochore, centre d'organisation des microtubules responsable de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. Les deux chromatides sœurs sont unies dans leur zone hétérochromatique de chaque côté du centromère.

Les segments chromosomiques situés de part et d'autre du centromère constituent les deux bras du chromosome. La position du centromère permet de distinguer un bras court ou proximal (**bras p**) et un bras long ou distal (**bras q**) (Anthony et *al.*, 2002).

Chaque bras se termine par un télomère (en pter et qter), séquence ADN répétitive hautement conservée qui empêche les fusions avec d'autres chromosomes. Ces séquences jouent également un rôle dans l'attachement des télomères à l'enveloppe nucléaire, en particulier lors de la méiose (Figure 1).

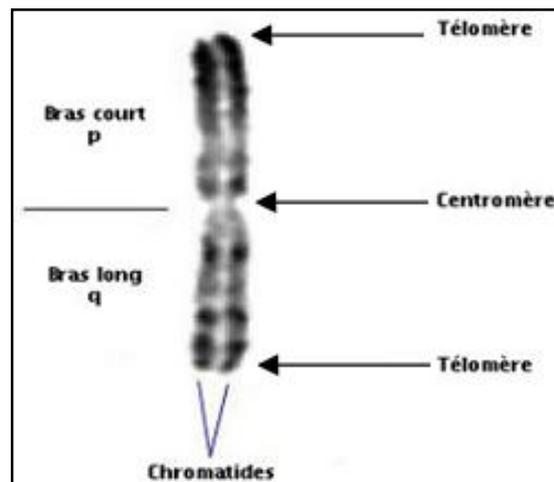


Figure 1. Chromosome métaphasique (Dupont, 2008)

Les chromosomes se classifient en trois types suivant leur forme qui est déterminée par la position du centromère (Figure 2).

- **Chromosomes métacentriques** : Le centromère est en position centrale (position médiane), ce qui lui donne des bras de longueurs à peu près égales.
- **Chromosomes sub-métacentriques** : Le centromère est presque en position centrale ; les chromatides de ce chromosome présentent des bras de longueur inégale (un petit bras "p" et un long bras "q").
- **Chromosomes acrocentriques** : Le centromère est plus proche de l'un des deux extrémités (les télomères), le bras court est très bref (Lemonde et Clement, 1983).

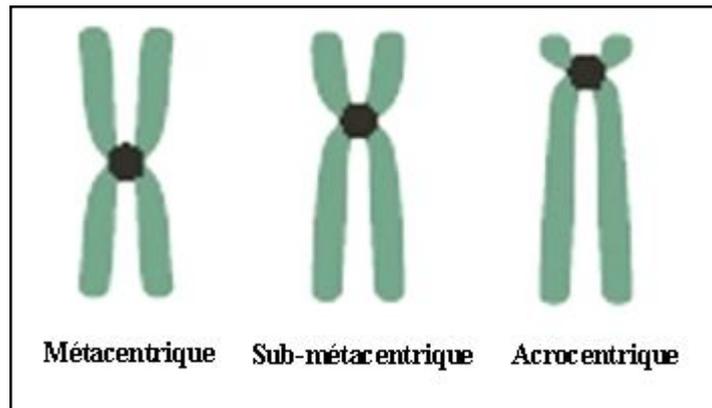


Figure 2. Types de chromosomes (Benjamin, 2005)

1.3 Anomalies chromosomiques

Depuis 1959 date de la mise en évidence de la première anomalie chromosomique chez l'homme, la trisomie 21, l'étude des chromosomes humains a permis de mettre en évidence de très nombreux remaniements chromosomiques.

Ces remaniements chromosomiques peuvent être:

- **Constitutionnels** : sont présents dès la conception ou se forment lors des premières divisions du zygote.
- **Acquis** : vont apparaître au sein d'une cellule au cours de la vie. Dans la majorité des cas, ces anomalies sont trouvées dans les cellules tumorales.

L'accident chromosomique survient le plus fréquemment avant la fécondation au cours de la méiose paternelle ou maternelle et l'anomalie chromosomique est alors présente dans l'un des gamètes. Toutes les cellules de l'individu seront porteuses de l'anomalie chromosomique qui sera dite **homogène**.

Cependant, pour une faible part, l'accident chromosomique peut avoir lieu après la fécondation au cours des divisions mitotiques des blastomères. L'anomalie ne touchera qu'une partie des cellules de l'embryon, et elle sera donc dite en **mosaïque** (Hassold et *al.*, 1996 ; Rives, 2006).

On peut distinguer les anomalies de nombre et les anomalies de structure.

1.3.1 Anomalies de nombre

Ces anomalies peuvent toucher aussi bien les chromosomes sexuels que les autosomes. Elles sont caractérisées par la perte ou le gain d'un seul ou plusieurs chromosomes.

➤ Aneuploïdies

Les aneuploïdies se traduisent par une modification du nombre total de chromosomes. Elles se caractérisent par la perte d'un chromosome entier ou la présence d'un ou plusieurs chromosomes surnuméraires.

Elles résultent d'une mal ségrégation des chromosomes au cours de la division cellulaire, les deux chromosomes d'une même paire migrant tous les deux vers la même cellule fille.

On obtient une cellule fille avec 3 copies du même chromosome (soit 47 chromosomes) et une deuxième cellule fille avec une seule copie (soit 45 chromosomes).

Ces malségrégations peuvent s'observer aussi bien au cours de la mitose que de l'une des deux divisions de la méiose (Lamoril et *al.*, 2008 ; Malan et Romana, 2012).

◆ Aneuploïdie homogène

Accident de ségrégation par la non-disjonction en méiose I et II, toutes ne sont pas compatibles avec la vie (Figure 3).

- Une non-disjonction en première division produit 4 gamètes déséquilibrés.
- Une non-disjonction en deuxième division produit 2 gamètes déséquilibrés et 2 gamètes normaux.

Après la fécondation :

Les gamètes possédant un chromosome en excès produisent un zygote trisomique : de nombreuses trisomies ne sont pas viables et s'éliminent très précocement sous forme de fausses couches spontanées (trisomie 16). D'autres sont plus au moins viables : trisomie 21, 13, 18 et 8.

Les gamètes nullosomiques produisent des monosomies. Ces dernières, bien que produites en nombre théoriquement égal aux trisomies, subissent une élimination précoce encore plus stricte surtout lorsqu'elles touchent les autosomes.

Pour les gonosomes, la viabilité est plus grande, et le phénomène de non-disjonction apparaît alors, dans la grande variété de ses conséquences : trisomie X et Y, monosomie X, tétra et pentasomie Y sont viables (Lamoril et *al.*, 2008).

◆ Aneuploïdie mosaïque

Un individu en mosaïque est constitué de deux (ou plus de deux) populations à contenu chromosomique différent, mais provenant du même zygote (une mosaïque est notée par une barre oblique entre les 2 clones décrits ; exemple : Syndrome de Klinefelter en mosaïque 46, XY/47, XXY).

L'intensité du phénotype dépend du dosage respectif de ces deux (ou plus) populations cellulaires. Les aneuploïdies en mosaïque des gonosomes sont viables vu l'inactivation du chromosome X et le faible contenu en gènes du chromosome Y (Lespinasse et Nadeau, 2005).

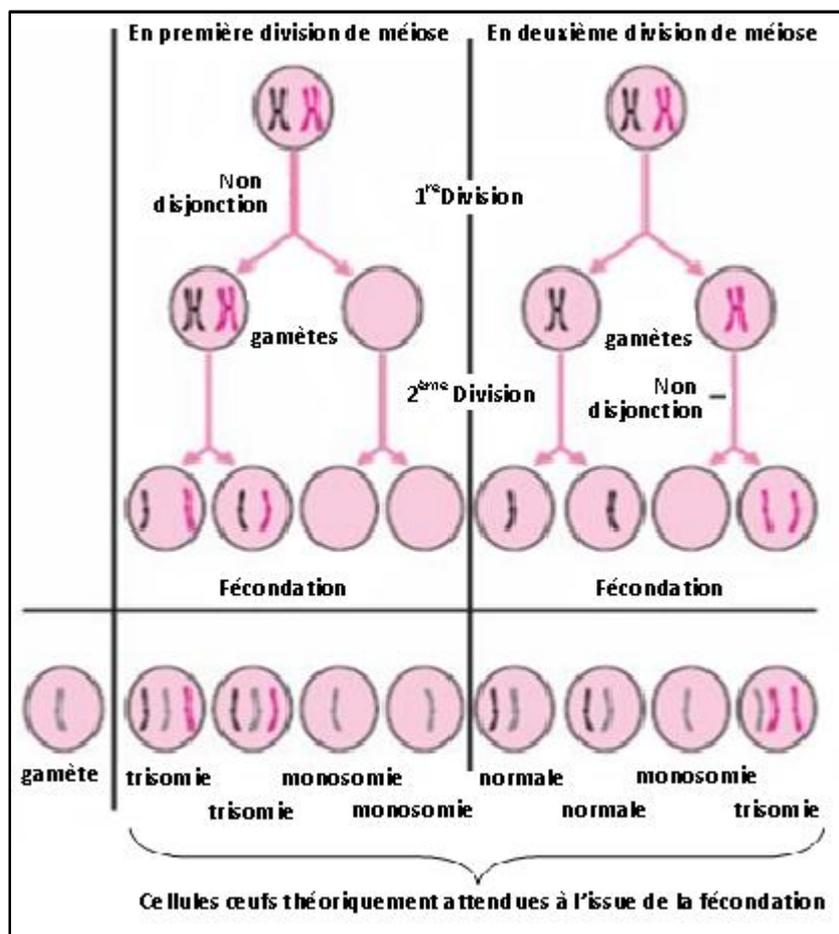


Figure 3. Schéma de non disjonction chromosomique en première et en deuxième division méiotique (Dalloneau, 2010)

➤ Polyploïdies

Une cellule polyploïde renferme un multiple lot haploïde de chromosome. C'est une anomalie qui survient à la suite de la fécondation d'un ovule par deux spermatozoïdes ou suite à la non éjection d'un globule polaire de l'ovule. Ces accidents de la fécondation sont donc banals et sont estimés de 2 à 3% des œufs fécondés (Dupont, 2008).

- Triploïdie $3N=69$ chromosomes
- Tétraploïdie $4N=92$ chromosomes

➤ Marqueur chromosomique

Elément chromosomique surnuméraire non reconnaissable. Il dérive souvent des chromosomes acrocentriques et en particulier le 15 et le 22.

Ses conséquences phénotypiques dépendent de son origine et de sa constitution génique (Douet-Guilbert et *al.*, 2008).

1.3.2 Anomalies de structure

Les aberrations chromosomiques structurales sont moins fréquentes que les anomalies de nombre. Elles sont la conséquence des cassures chromosomiques suivies par un ou plusieurs recollements anormaux.

Le remaniement est intra-chromosomique s'il intéresse un seul chromosome ou inter-chromosomique lorsque deux chromosomes ou plus sont en cause.

Ces anomalies peuvent être familiales, c'est-à-dire être héritées des parents et présentes chez d'autres membre de la fratrie. Elles peuvent aussi apparaître "de *novo*" (les parents ont un caryotype normale et l'accident survient au cours de la gamétogénèse paternelle et maternelle) (Bourrouillou et *al.*, 1992 ; Lespinasse et Nadeau , 2005).

Elles peuvent être *équilibrées*, n'entraînant généralement pas d'effets phénotypiques ou *déséquilibrées* accompagnées souvent d'un phénotype anormal.

1.3.2.1 Remaniements chromosomiques déséquilibrés

➤ Délétion

Elle résulte d'une cassure chromosomique avec perte du segment distal (*délétion terminal*) ou de deux cassures sur le même bras avec perte du segment intercalaire (*délétion interstitielle* ou *intercalaire*).

La perte de matériel est très variable, pouvant aller de quelques dizaines à plusieurs millions de paires de bases, d'où l'importance d'avoir à disposition des techniques de cytogénétique adaptées à la taille du déséquilibre recherché (Figure 4a, b).

➤ Duplication

Une duplication se définit comme la répétition une ou deux fois d'un segment de chromosome. Le segment dupliqué peut être dans la même orientation que le segment d'origine, c'est une duplication directe "*en tandem*", ou inversé par rapport au segment d'origine, c'est une duplication indirecte "*en miroir*" (Figure 4c, d).

Ce type de remaniement est rare, mais pouvant aboutir à une trisomie partielle dont l'expression phénotypique est dépend du segment dupliqué (Rives, 2006).

➤ Chromosome en anneau

Les anneaux résultent d'une cassure à chaque extrémité d'un chromosome suivie par un recollement avec perte des segments distaux (Figure 4e).

Ils sont rarement transmis à la descendance car un anneau est particulièrement instable et surviennent donc le plus souvent de *novo*. Ils se trouvent fréquemment en mosaïque. Le plus fréquemment rencontré est l'anneau du chromosome 13.

➤ Isochromosome

Un isochromosome est un chromosome anormal formé de deux bras longs ou de deux bras courts d'un même chromosome avec perte de l'autre bras. Le plus fréquemment rencontré chez l'être humain est l'isochromosome du bras long du chromosome X ($i(Xq)$) qui constitue une variante caryotypique du syndrome de Turner (Figure 4f).

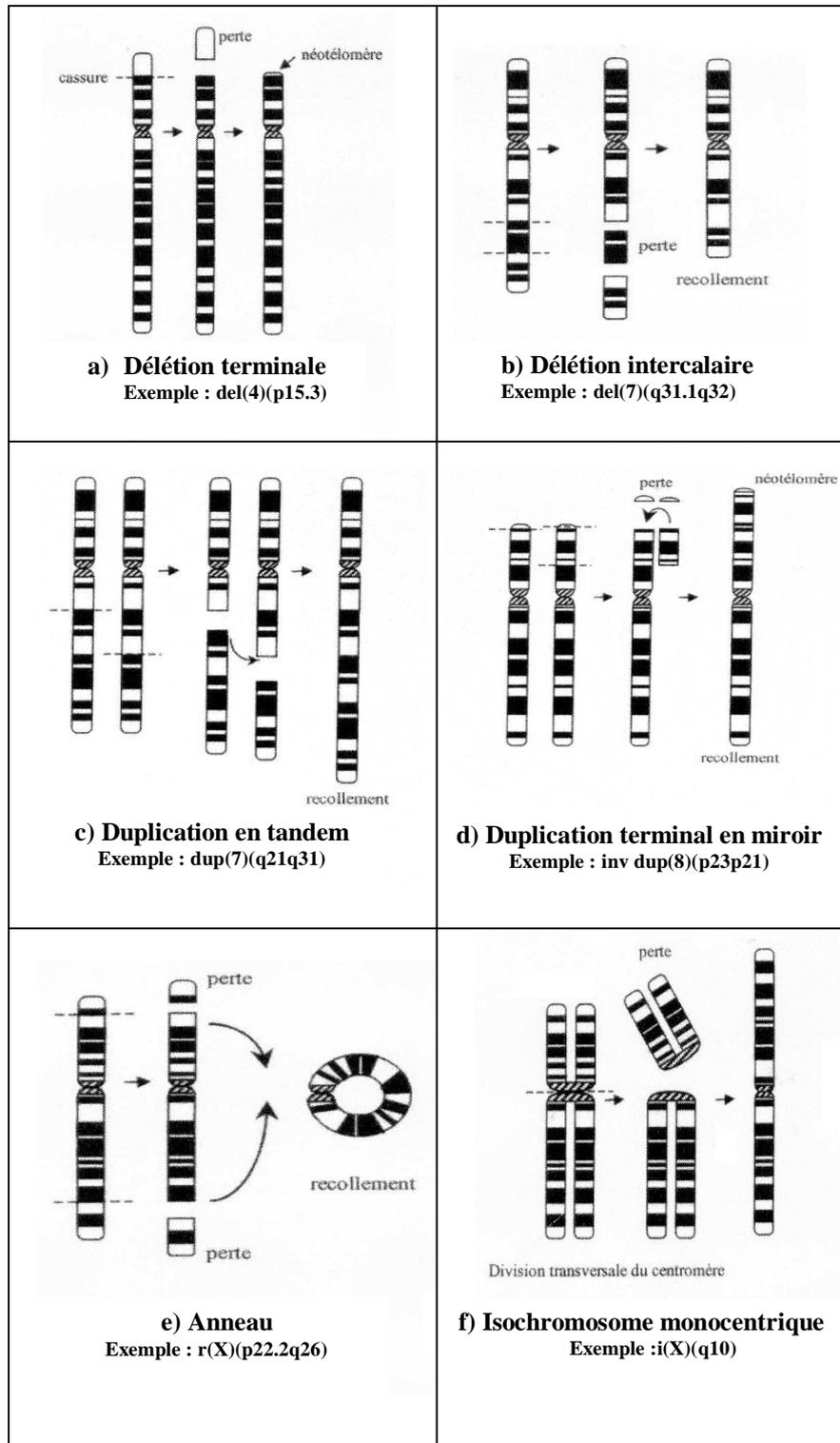


Figure 4. Principaux mécanismes d'apparition des remaniements chromosomiques déséquilibrés (Turleau et Prieur, 2000)

1.3.2.2 Remaniements chromosomiques équilibrés

➤ Inversion

Les inversions sont dues à deux cassures sur le même chromosome, suivies de recollement après retournement de 180° du segment intermédiaire. Elles sont dites *péricentriques* si le centromère est inclus dans le segment intermédiaire, et *paracentriques* si les cassures se sont produites dans le même bras (Figure 5a, b).

Le changement dans l'ordre des gènes ne provoque pas en générale d'anomalie phénotypique mais il peut aboutir à la formation de gamètes déséquilibrés, d'où un risque non négligeable de descendance anormal.

➤ Translocation

C'est la transposition d'un fragment chromosomique sur un autre chromosome suite à une cassure chromosomique. Il s'agit d'une anomalie le plus souvent équilibrée impliquant souvent deux chromosomes mais parfois complexe avec un risque de déséquilibre chez la descendance.

On distingue deux formes majeures de translocations : Les translocations *récioproques* et les translocations *robertsoniennes*.

◆ Translocation réciproque

Les translocations réciproques résultent de cassures qui surviennent classiquement au niveau des chromatides de deux chromosomes non homologues (point de cassure en dehors de la région juxta-centromérique) suivies d'un échange segmentaire réciproque entre ces deux chromosomes donnant naissance à deux dérivés (Figure 5c, d).

Elles sont responsables d'anomalie de la reproduction, de stérilité, de fausses couches spontanées à répétition ou la naissance d'un enfant polymalformé car les translocations empêchent le déroulement normal de la méiose.

◆ Translocation robertsonienne

Les translocations robertsoniennes se produisent entre deux chromosomes acrocentriques (chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22) dont le bras court de très petite taille ne code que pour des gènes répétés.

La translocation consiste en une fusion des chromosomes avec perte des bras court, sans aucune conséquence clinique directe pour le sujet porteur.

Les deux chromosomes impliqués :

- Soit ils fusionnent par leurs centromères (fusion centromérique) formant un chromosome monocentrique.
- Soit par cassures dans les régions juxta-centriques des bras courts, puis fusion entre ces deux bras courts formant ainsi un chromosome dicentrique (95% des cas).

Cette anomalie aboutit à des gamètes déséquilibrés avec des zygotes monosomiques ou trisomiques (en effet ce type de translocation responsable des formes familiaux de trisomie 13 et 21) (Skinner et Fritz, 1985).

➤ **Insertion**

Il s'agit d'un cas particulier de translocation, avec transfert d'un segment chromosomique intercalaire à l'intérieur d'un autre bras chromosomique.

Une insertion peut être *directe* si le fragment garde son orientation par rapport au centromère ou *inversée*. Cette dernière est très instable en méiose (Figure 5e).

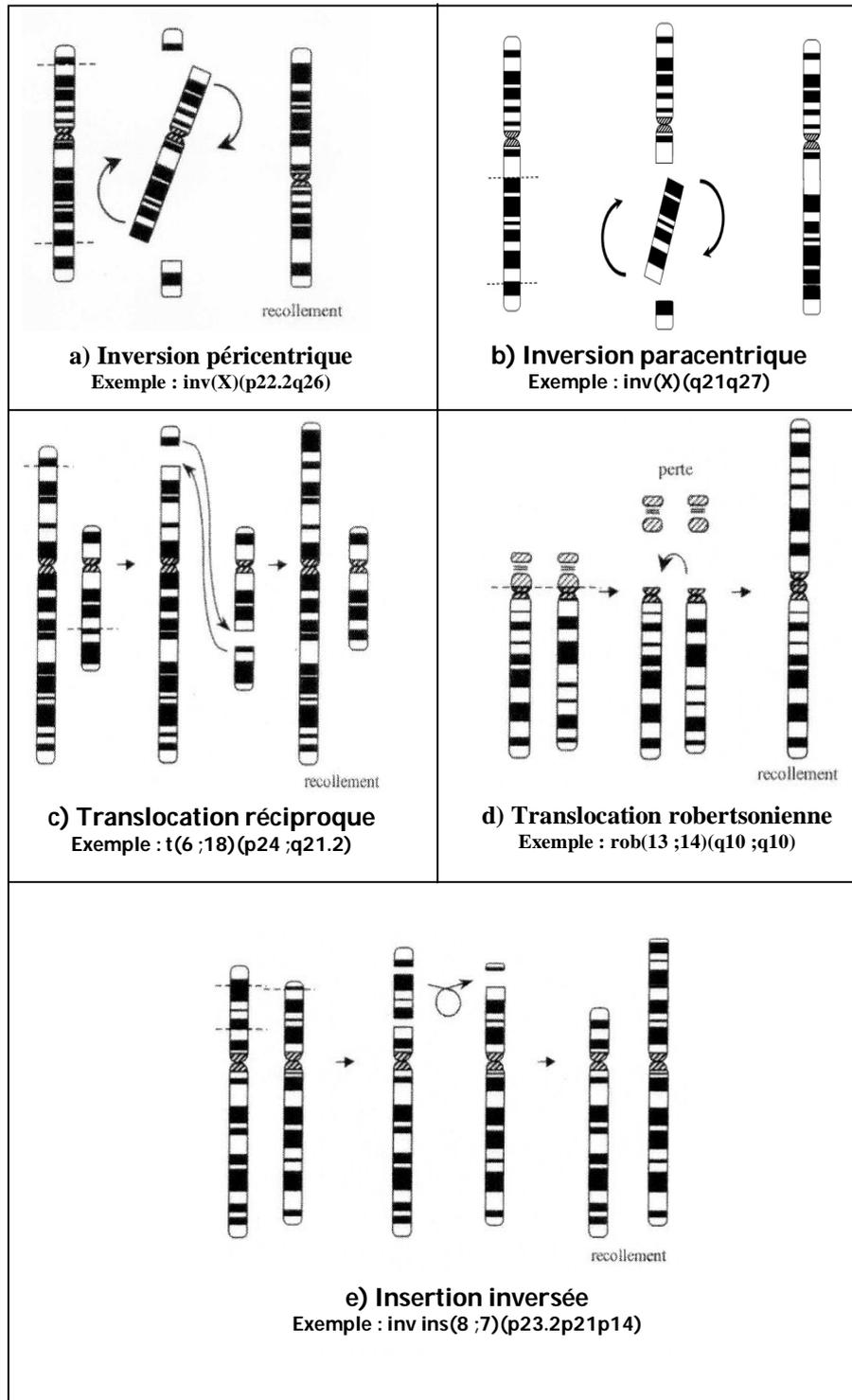


Figure 5. Principaux mécanismes d'apparition des remaniements chromosomiques équilibrés (Turleau et Prieur, 2000)

1.4 Chromosomes sexuels ou gonosomes

Les chromosomes sexuels, appelés encore *gonosomes*, sont des chromosomes à part. Ils sont le siège de nombreuses différences entre hommes et femmes via leur rôle dans la détermination et le dimorphisme sexuel.

1.4.1 Origine et évolution des chromosomes sexuels

Les chromosomes sexuels chez l'être humain, tels que nous les connaissons aujourd'hui, dérivent d'une paire d'autosomes dont l'un des deux chromosomes a subi initialement une mutation au niveau du gène SOX3 (Foster et Graves, 1994 ; Lahn et Page, 1999 ; Lahn et *al.*, 2001). Cette mutation a probablement été préservée par force sélective, ce qui a fait en sorte que les inversions, les mutations, les délétions et les additions qui ont forgé les chromosomes X et Y ont été conservés (Lahn et *al.*, 2001) (Figure 6). Ainsi, sur l'un des deux autosomes ancestraux, le proto-Y, le gène SOX3 est devenu SRY alors que le proto-X a conservé la séquence originale de SOX3. Le moment de cet événement est toutefois controversé : les publications initiales le plaçaient il ya environ 290 à 350 millions d'année (Lahn et Page, 1999), alors que les données plus récentes indiquent que cela aurait plutôt lieu il ya 165 millions d'années (Veyrunes et *al.*, 2008). Le proto-X et le proto-Y ont progressivement arrêté de recombiner pour arriver à la situation actuelle chez l'homme où le X et le Y ne recombine plus qu'au niveau de deux petites régions pseudo-autosomales PAR1 et PAR2.

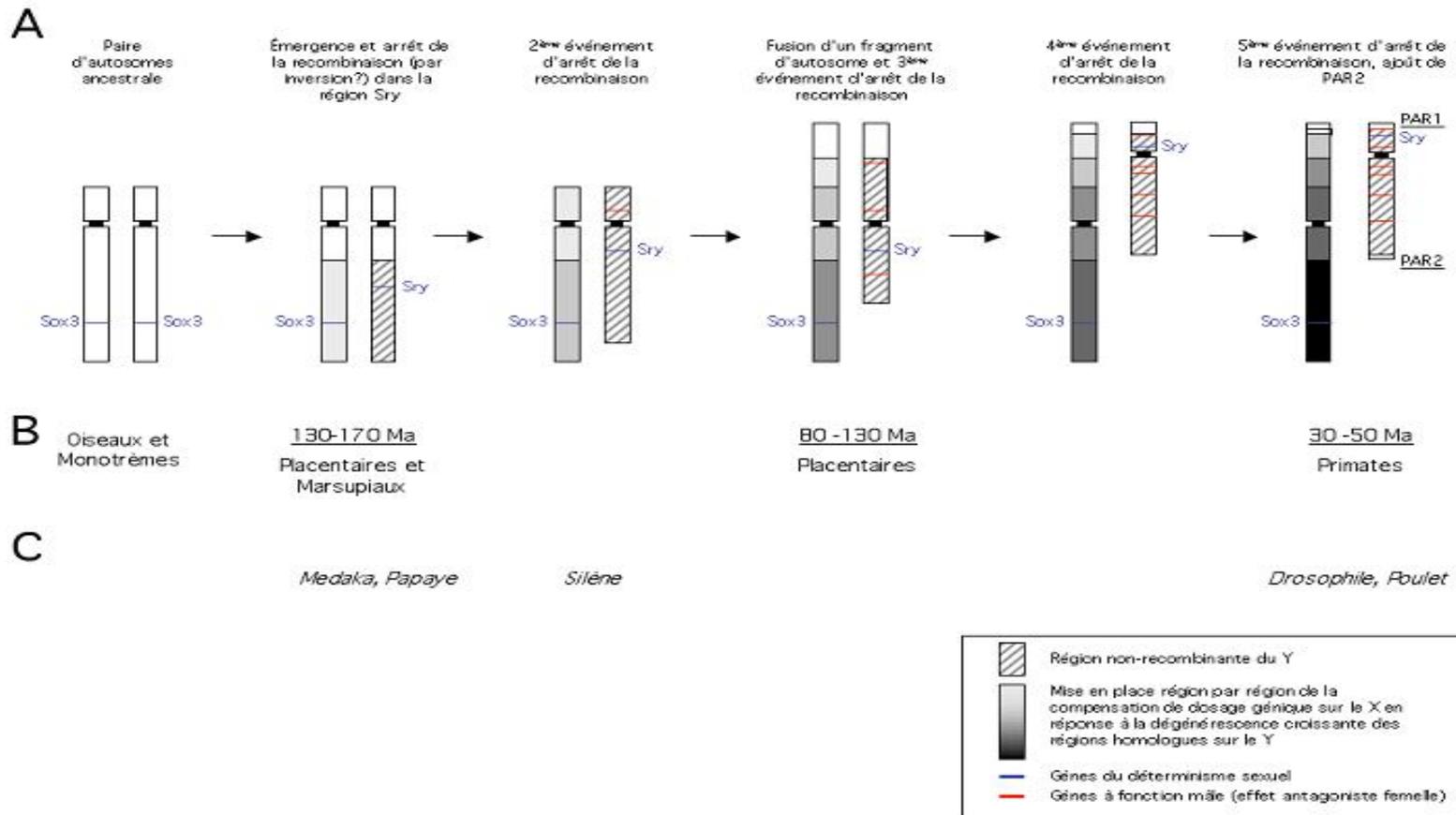


Figure 6. Scénario pour l'évolution des chromosomes sexuels humains (Marais et Duret 2009). A) Les grandes étapes de l'évolution des chromosomes sexuels. Sry -le gène du déterminisme du sexe chez l'homme- et Sox3 -son homologue sur le X- ont arrêté de recombiner en premier ce qui a amené à la formation du protoX et du protoY. La recombinaison entre ces deux chromosomes a été continuée à être supprimée sans doute à cause de l'accumulation de gènes à effets antagonistes (bénéfique pour les mâles, délétère pour les femelles) sur le Y. Les remaniements chromosomiques (inversions, insertions, délétions) qui ont fait changer la position de Sry, la position du centromère et qui ont modifié la taille du Y ne sont pas représentés. PAR = région pseudo-autosomale. B) Chronologie de l'évolution des XY humains et statut de ces chromosomes chez les mammifères et les oiseaux. C) Autres chromosomes sexuels connus et où ils se placent dans le scénario d'évolution des chromosomes sexuels.

1.4.2 Structure des chromosomes X et Y

Le chromosome Y est l'un des petits chromosomes humains (d'environ 60Mb), qui ne représente que 2 à 3% du génome humain. Il est constitué d'une grande portion d'hétérochromatine et ne comporte donc que peu de gènes, environ cent gènes traduits en protéine (Skaletsky et *al.*, 2003 ; Ross et *al.*, 2005), en plus de nombreux pseudogènes (Dunham et *al.*, 1999 ; Hattori et *al.*, 2000 ; Deloukas et *al.*, 2001).

Le chromosome X, quant à lui, compte 1098 gènes et 700 pseudogènes (Ross et *al.*, 2005). A titre de comparaison, le chromosome 2 contient 1346 gènes encodant des protéines et 1239 pseudogènes (Hillier et *al.*, 2005) ; il faut cependant noter qu'il est le deuxième plus grand chromosome chez l'humain.

Les régions d'homologie les plus connues entre les gonosomes sont situées aux extrémités de ceux-ci : ce sont les régions pseudoautosomiques (PAR) du bras court (PAR1) et du bras long (PAR2) (Cooke et *al.*, 1985 ; Kvaloy et *al.*, 1994) (Figure 7).

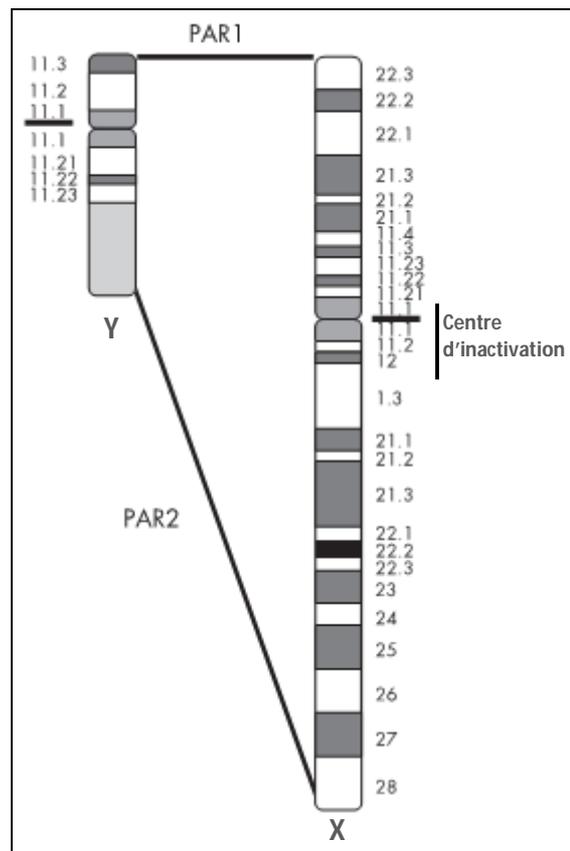


Figure 7. Structure de chromosome X et Y (Karcianas et *al.*, 2007)

Les régions PAR jouent un rôle capital lors de la méiose. En effet, c'est normalement uniquement par ces deux petites régions que les chromosomes X et Y peuvent s'apparier et se recombiner. L'appariement des gonosomes au niveau de la région PAR1 est nécessaire au bon fonctionnement de la méiose I chez l'homme puisque une délétion de cette région entraîne l'infertilité (Mohandas *et al.*, 1992).

Le chromosome Y contient une région qui lui est propre (MSY : Male Specific Y chromosome). Cette partie ne recombine jamais avec le chromosome X. Elle constitue près de 95% de la longueur du Y (Skaletsky *et al.*, 2003).

Elle est constituée d'une région euchromatique (transcriptionnellement active), d'environ 23Mb, et d'une grande région hétérochromatique (transcriptionnellement inactive), de taille variable selon les individus (environ 30Mb) (Skaletsky *et al.*, 2003 ; Ravel *et al.*, 2006 ; Li *et al.*, 2008) (Figure 8).

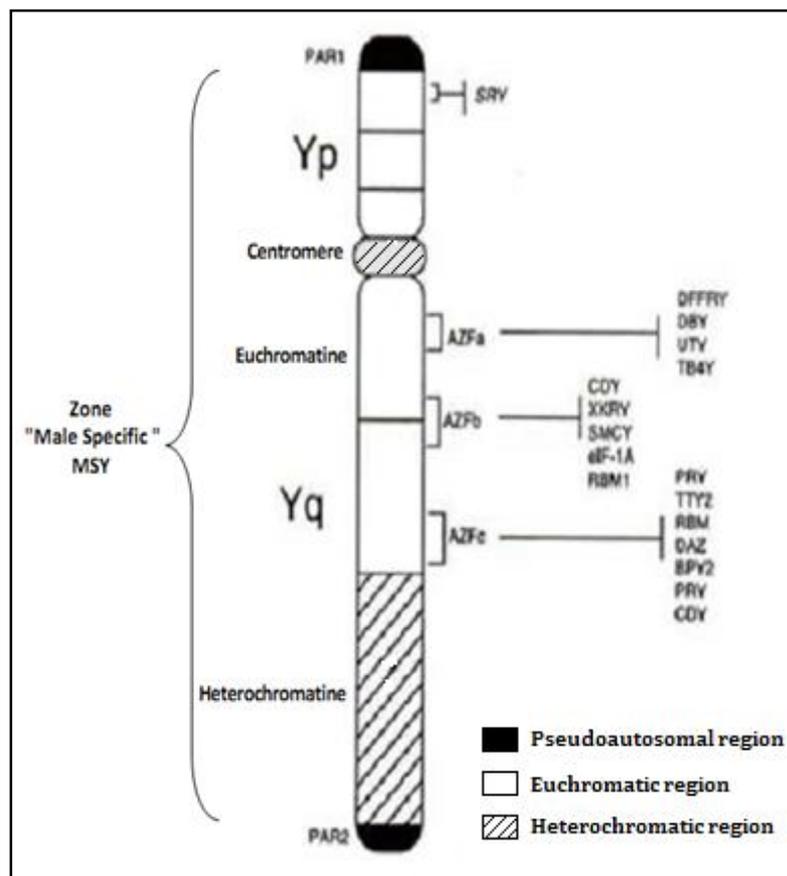


Figure 8. Schéma de la structure du chromosome Y (Krausz et McElreavey, 1999)

La région euchromatique est constituée de 3 types de séquences :

- Les séquences *X-transposées* (3.4Mb), qui représente plus de 99% d'homologie avec le chromosome X ;
- Les séquences *X-dégénérées* (8.5Mb), riches en gènes présents en copie unique sur le chromosome Y, et en pseudogènes qui possèdent des homologues sur le chromosome X ;
- Les séquences *ampliconiques* (10.2Mb), qui sont des séquences répétées de grande taille présentant plus de 99.9% d'identité intra-chromosomique (Skaletsky et *al.*, 2003 ; Ravel et Siffroi, 2009) (Figure 9).

Dans cette région, on trouve le gène SRY (Sex-determining region Y), localisé sur le bras court du chromosome Y, au niveau de la bande p11.3 (Sinclair et *al.*, 1990), qui est responsable de la différenciation testiculaire (Zenteno et *al.*, 1997).

A l'heure actuelle, 27 gènes ont été identifiés sur le chromosome Y, 9 sur le bras court et 18 sur le bras long. Parmi ces 18, 12 sont exprimés de façon spécifique dans les testicules et sont nécessaires à la production de spermatozoïdes normaux (Cram et *al.*, 2006).

La région euchromatique renferme également une région impliquée à la spermatogénèse, nommé AZF (Azoospermia factor). Elle est localisée dans la partie terminale euchromatique du chromosome Y, en Yq11.23 (Tiepolo et Zuffardi, 1976).

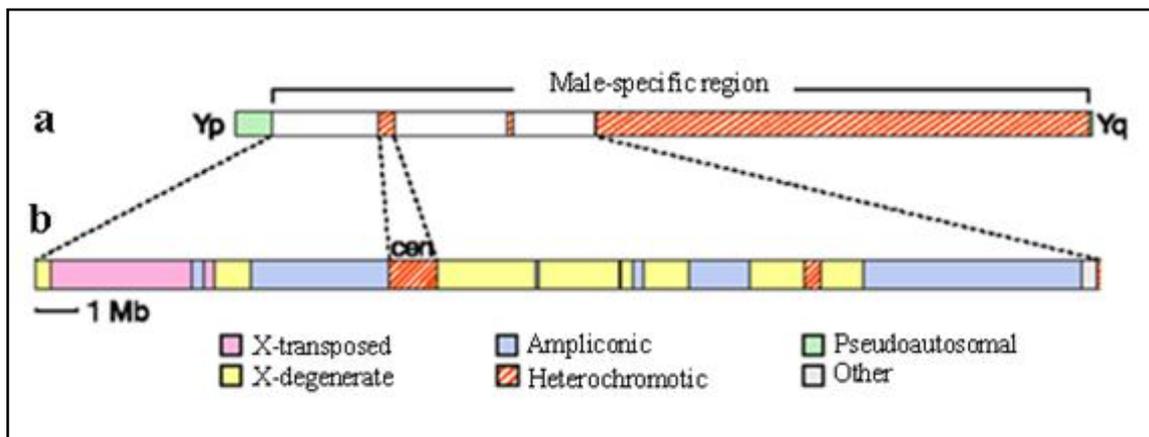


Figure 9. Répartition des trois classes de séquence de l'euchromatine du chromosome Y (Skaletsky et *al.*, 2003)

1.4.3 Inactivation du chromosome X chez la femme

En 1961, Mary Lyon émettra une hypothèse qui révolutionnera la génétique : l'inactivation, au hasard, de l'un des deux chromosomes X dans les cellules somatiques chez la femme (Lyon, 1961). La nécessité d'inactiver un chromosome X chez la femme vient du fait que les chromosomes X et Y n'ont pas le même contenu génique suite à leur évolution particulière. Sans cette inactivation, les femmes se retrouveraient avec une dose plus élevée de produits d'expression des gènes spécifiques au chromosome X comparativement aux hommes (Lyon, 1998).

L'inactivation du X (nommé corpuscule de Barr), s'effectue au hasard sur le chromosome maternel ou paternel, de sorte que l'on trouve chez la femme une proportion à peu près égale de cellules avec le X maternel inactif et de cellules avec le X paternel inactif. Le X inactif le restera pour toutes les divisions mitotiques subséquentes et ne sera réactivé que dans les cellules germinales féminines (Sugimoto et Abe, 2007). Chez l'embryon féminin, un chromosome X sera de nouveau inactivé autour du stade de 8 cellules (Van Den Berg et al., 2009).

Le gène XIST, situé dans le centre d'inactivation en Xq13, est responsable de l'inactivation du chromosome X. Ce gène non traduit en protéine reste sous forme d'ARN dans les cellules afin d'initier le processus d'inactivation, qui se propage sur toute la longueur du chromosome X à partir du centre d'inactivation (Lyon, 1998). Des modifications épigénétiques seront par la suite instaurées afin de rendre l'inactivation permanente (Jeppesen et Turner, 1993 ; Gilbert et Sharp, 1999 ; Boggs et al., 2002) (Figure 7).

Parmi les gènes du chromosome X qui doivent échapper à l'inactivation, on trouve les gènes ayant des homologues sur le chromosome Y (les gènes des régions PAR1, puisque leur dosage génique est identique chez les individus XX et XY et certains gènes dans les régions PAR2 par exemple, les gènes WASH6P et IL9R restent actifs tant sur le X inactif que sur le Y) (Ciccodicola et al., 2000). On estime qu'environ 15% du contenu génique total du chromosome X échappe à l'inactivation (Carrel et Willard, 2005).

Chapitre2 : Stérilité masculine d'origine chromosomique

La stérilité ou bien l'infertilité est un problème de couple, cette situation concerne 25% des couples souhaitant procréer et qui n'arrivent pas à concevoir un enfant au bout d'un an. 15% des couples infertiles cherchent un traitement médical à leur infertilité et moins de 5% restent sans enfant alors que les causes des infertilités masculines sont déterminées dans 30-50% des couples infertiles (Dohle et *al.*, 2007 ; Gunby et *al.*, 2009 ; Bashamboo et *al.*, 2010).

2.1 Définitions

L'infertilité est classiquement définie comme l'incapacité pour un couple d'obtenir une grossesse après au moins douze mois de rapports non protégés (Schlosser et *al.*, 2007).

Quant à la notion de « stérilité », elle correspond à une fertilité nulle ou à une incapacité totale et définitive à procréer (Levy et *al.*, 2010). Cette notion a largement évolué ces dernières années. Par exemple, les hommes azoospermes étaient considérés comme stériles jusqu'à l'apparition de méthodes de fécondation comme l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes intratesticulaires (Silber et *al.*, 1994). Le terme qui devrait être employé maintenant est celui « d'infertilité », qui recouvre donc la réalité de la pathologie des couples (De Mouzon, 2011).

Parfois, on utilise le terme « d'hypofertilité » pour décrire un couple dont l'aptitude à concevoir n'est pas optimale (De Mouzon, 2011).

La stérilité ou bien l'infertilité est dite "primaire" lorsque le couple n'a jamais conçu et "secondaire" lorsqu'il ya déjà eu une ou plusieurs grossesses à terme (Hazard et Perlemuter, 2000).

2.2 Epidémiologie

La stérilité touche un nombre croissant de couples en âge de se reproduire. On explique ce phénomène par une plus grande initiative des couples stériles à dévoiler leur stérilité et, de ce fait, à consulter un médecin et/ou par une augmentation réelle de l'incidence de cette maladie.

Dans le monde, plus de 70 millions de couples souffrent d'infertilité (Boivin *et al.*, 2007), soit une prévalence de 9% (Boivin *et al.*, 2007 ; Coutton *et al.*, 2012). Elle est due à des facteurs féminins, masculins ou une combinaison des deux dans respectivement 30%, 20% et 40% des cas. Il reste 10% des cas de cause indéterminée ou dite « idiopathique » (Huyghe *et al.*, 2008 ; Marcelli *et al.*, 2009 ; Coat *et al.*, 2011).

Le taux de la stérilité masculine varie d'une région à une autre. Il est de l'ordre de 26-32% en UK (Leke *et al.*, 1993 ; Fisch et Goluboff, 1996 ; Auger et Jouannet, 1997), 27.7% en Australie et NewZeland (Wang *et al.*, 2009), 36% en Afrique du Sud, Indonésie et Filand (Leke *et al.*, 1993 ; Fisch et Goluboff, 1996 ; Auger et Jouannet, 1997 ; Mehta *et al.*, 2006), 38.9% en Iran (Malekshah *et al.*, 2011), 42.4% à Nigeria (Ikechebelu *et al.*, 2003). En France cette prévalence est augmentée jusqu'au 59% (Thonneau *et al.*, 1991), alors qu'au Canada, elle se situe entre 30-40% (Gungy *et al.*, 2009).

Au Maghreb, les taux sont similaires. Les études maghrébines montrent que la stérilité est d'origine masculine dans environ 30% des cas (Huyghe *et al.*, 2008). Selon les enquêtes nationales menées par le ministère de la santé de la population et de la réforme hospitalière entre 1992 et 2002, l'Algérie compte plus de 300.000 couples souffrant de stérilité, soit une proportion de 10% à 12% de la population ciblée (Hamdi, 2013).

2.3 Etiologie

La stérilité masculine est multifactorielle et les étiologies peuvent être regroupées en causes génétiques et non génétiques. Cependant, dans environ 40% des cas, la cause de la stérilité reste inconnue ou idiopathique (Agata, 2010).

La stérilité masculine est diagnostiquée sur la base des paramètres spermatiques.

◆ Paramètres spermatiques

L'organisation mondiale de la santé a établi des critères pour l'évolution des paramètres du sperme des hommes infertiles basés sur la concentration du sperme, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes (Tableau1).

Tableau 1. Paramètres spermatiques définis selon les critères de l'OMS (WHO, 1999)

Type d'infertilité	Paramètres spermatiques		
	Concentration (10 ⁶ /ml)	Mobilité (%)	Morphologie normale (%)
Oligospermie	< 20	Normal	Normal
- Modérée	≥ 5 mais > 20	Normal	Normal
- Sévère	< 5 mais ≥ 1	Normal	Normal
- Très sévère	< 1	Normal	Normal
Asthénozoospermie	Normal	< 50	Normal
Tératozoospermie	Normal	Normal	< 30
OligoAsthénoTératozoospermie	< 20	< 50	< 30
Azoospermie	Pas de spermatozoïdes dans l'éjaculat		
Aspermie	Pas d'éjaculat		
Leucospermie	Présence de polynucléaires dans le sperme		
Nécrozoospermie	Altération de la vitalité des spermatozoïdes		
Paramètres spermatiques normales	≥ 20	≥ 50	≥ 30

- **Oligospermie** : Caractérisé par un nombre de spermatozoïdes inférieur à la normale (≤ 20 millions/ml) (WHO, 1999). Elle constitue l'anomalie de spermatozoïde la plus fréquente. Elle est presque toujours associée à une asthénozoospermie et tératozoospermie : on parle alors d'oligo-astheno-tératozoospermie (OAT).

- **Azoospermie** : Absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat

✓ Sécrétoire (ou non obstructive) : Pas de spermatogénèse ou incomplète.

✓ Excrétoire (ou obstructive) : Spermatogénèse conservée mais spermatozoïdes non excrétés dans le sperme à cause d'un obstacle dans les voies excrétoires (épididyme, canaux déférents, canaux éjaculateurs).

- **Asthénozoospermie** : Défaut de mobilité des spermatozoïdes (moins de 50%).

- **Nécrozoospermie** : Caractérisée par un pourcentage élevé de spermatozoïdes morts (>50%). Elle est souvent due à des infections (Hazard et Perlemuter, 2000 ; Zorn et Savale, 2005).

- **Leucozoospermie** : Plus de 1 million de leucocytes par millilitre de sperme. Il y a une auto-immunisation contre les propres spermatozoïdes de l'individu.

- **Tératozoospermie** : Définie par un taux anormalement élevé de spermatozoïdes anormaux. En dessous de 30% de formes typiques, on parle donc de tératospermie. Les anomalies peuvent intéresser toutes les parties du spermatozoïde (tête, flagelle) et sont généralement dues à un dysfonctionnement de la spermatogénèse.

- **Aspermie** : Absence d'éjaculat (éjaculation rétrograde).

◆ Causes génétiques

L'infertilité masculine d'origine génétique pourrait concerner près de 1 homme sur 40 (Tuttelman et *al.*, 2011). Parmi les causes génétiques actuellement bien établies, on trouve les anomalies chromosomiques (autosomiques ou gonosomiques) détectées dans 1.9 à 12% des cas, les microdélétions du chromosomes Y dans 8.2% des cas et les mutations du gène CFTR (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) dans 2% des cas (Aittomaki et *al.*, 2004 ; Agata, 2010 ; Coutton et *al.*, 2012).

◆ Facteurs influençant la spermatogénèse

➤ Âge paternel

Le déclin de la fertilité des hommes avec l'âge est une question encore mal comprise. Cependant, des nouvelles données laissent à penser qu'un âge supérieur à 55ans diminuerait nettement les chances d'avoir un enfant ou provoquerait un risque accru d'avoir un enfant anormal (Lansac et Guérif, 2005). Il est établi que l'âge est responsable d'une altération de la spermatogénèse (Brzakowskia et *al.*, 2009).

➤ Facteurs urologiques

Des antécédents traumatiques, de torsion testiculaire uni-ou bilatérale, une cryptorchidie opérée ou non constituent un facteur de risque d'azoospermie (x5). La présence d'une varicocèle multiplie le risque d'oligoasthénozoospermie par 4. Les antécédents d'infection sexuellement transmissible multiplient le risque d'infertilité par 2 (Thonneau et *al.*, 1992 ; Weber et *al.*, 2005).

➤ Environnement

Des effets néfastes sur la fonction reproductrice masculine ont également été reliés à une exposition professionnelle à des radiations, à des températures élevées ainsi qu'à des produits chimiques comme le plomb, le chlordécone et le dibromochloropropane (DBCP) (Thomas, 1996). La concentration en spermatozoïdes tend à diminuer dans les régions les plus industrialisées (Lopez-Teijon et *al.*, 2008). L'équipe de Zheng et *coll.* observe une diminution du nombre de spermatozoïdes par éjaculat dans la population danois nés 1950 par rapport à ceux nés avant cette date, suggérant une plus grande exposition à des facteurs environnementaux toxiques (Zheng et *al.*, 1997).

➤ **Habitudes de vie**

Plusieurs études ont démontré que le tabagisme peut altérer les paramètres du spermogramme et l'intégrité de l'acide désoxyribonucléique (ADN) des spermatozoïdes (Kunzle et *al.*, 2003 ; Ragheb et Sabanegh, 2009).

La consommation aigue ou chronique d'alcool peut aussi affecter la fertilité masculine. Il est bien documenté que l'éthanol supprime l'axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire entraînant ainsi une diminution importante des hormones essentielles à la production des spermatozoïdes (Gordon et *al.*, 1976 ; Ren et *al.*, 2005).

Le manque d'exercice et une mauvaise habitude alimentaire sont des facteurs de risque de l'obésité. Les hommes souffrant d'embonpoint ou d'obésité présentent souvent un profil altéré des hormones de la reproduction se caractérisant entre autres par un taux diminué de testostérone. Ils sont également plus à risque d'éprouver des problèmes érectiles (Chavarro et *al.*, 2010).

Certains médicaments ont une incidence directe ou indirecte sur la fertilité s'ils sont utilisés transitoirement, la perturbation est réversible le plus souvent. Certains cytotoxiques ou la radiothérapie utilisée dans les traitements des cancers ont une toxicité irréversible obligeant la cryopréservation des gamètes (Schmidt et *al.*, 1999 ; De la calle, 2001).

2.4 Stérilité et spermatogénèse

La spermatogénèse est un processus complexe et hautement coordonné dans lequel les spermatogonies diploïdes (2n) se différencient en spermatozoïdes haploïdes (1n) matures dans l'épithélium séminifère (Hartl et Jones, 2003 ; Hermo et *al.*, 2010).

Les spermatogonies subissent plusieurs divisions mitotiques et assurent ainsi la réserve de cellules souches et la production de cellules pouvant entrer dans le cycle méiotique (Hess et Renato de Franka, 2008). Donc, la spermatogénèse se produit de manière continue à la puberté jusqu'à la mort. Cette ontogénèse est fondamentale, puisqu'elle conditionne la fertilité de l'individu adulte et la masculinisation des organes génitaux (Rouiller-Fabre et *al.*, 2008).

Au moment de la puberté, des spermatogonies donnent chacune naissance à deux cellules intermédiaires, les spermatocytes I (cellules diploïdes 2n). Ce sont ces dernières qui, après réplication de leur ADN, entrent en méiose (Hess et Renato de Franka, 2008).

Les spermatocytes I répliquent leur ADN peu après leur formation et subissent une longue prophase, de 22 jours environ, pendant laquelle les modifications de la chromatine nucléaire permet d'identifier les stades pré-leptotène, leptotène, zygotène, pachytène et diplotène (Figure 10).

La première division méiotique (division réductionnelle) survient après le stade diplotène, avec formation de deux spermatocytes II (cellules haploïdes n), c'est cette étape précise de la méiose que se produit le crossing-over (Bourgeron et *al.*, 1996).

Au cours de la deuxième division méiotique (division équationnelle), les deux spermatocytes II se divisent rapidement en quatre spermatides haploïdes (n) (Poncelet et Sifer, 2011).

Les spermatides débutent alors la spermiogénèse (processus pour lequel les spermatozoïdes matures sont formés). Elle se caractérise par la condensation du noyau, la formation de l'acrosome, et le développement du flagelle et de la pièce intermédiaire (Bourgeron et *al.*, 1996 ; De Krester, 2007).

Chez l'homme, le temps nécessaire à la formation d'un spermatozoïde à partir d'une spermatogonie est environ 74 jours (Seifer et *al.*, 1999 ; França et *al.*, 2005).

Le mauvais fonctionnement d'une de ces étapes peut altérer la spermatogénèse et causer la stérilité chez l'homme (Bourgeron et *al.*, 1996).

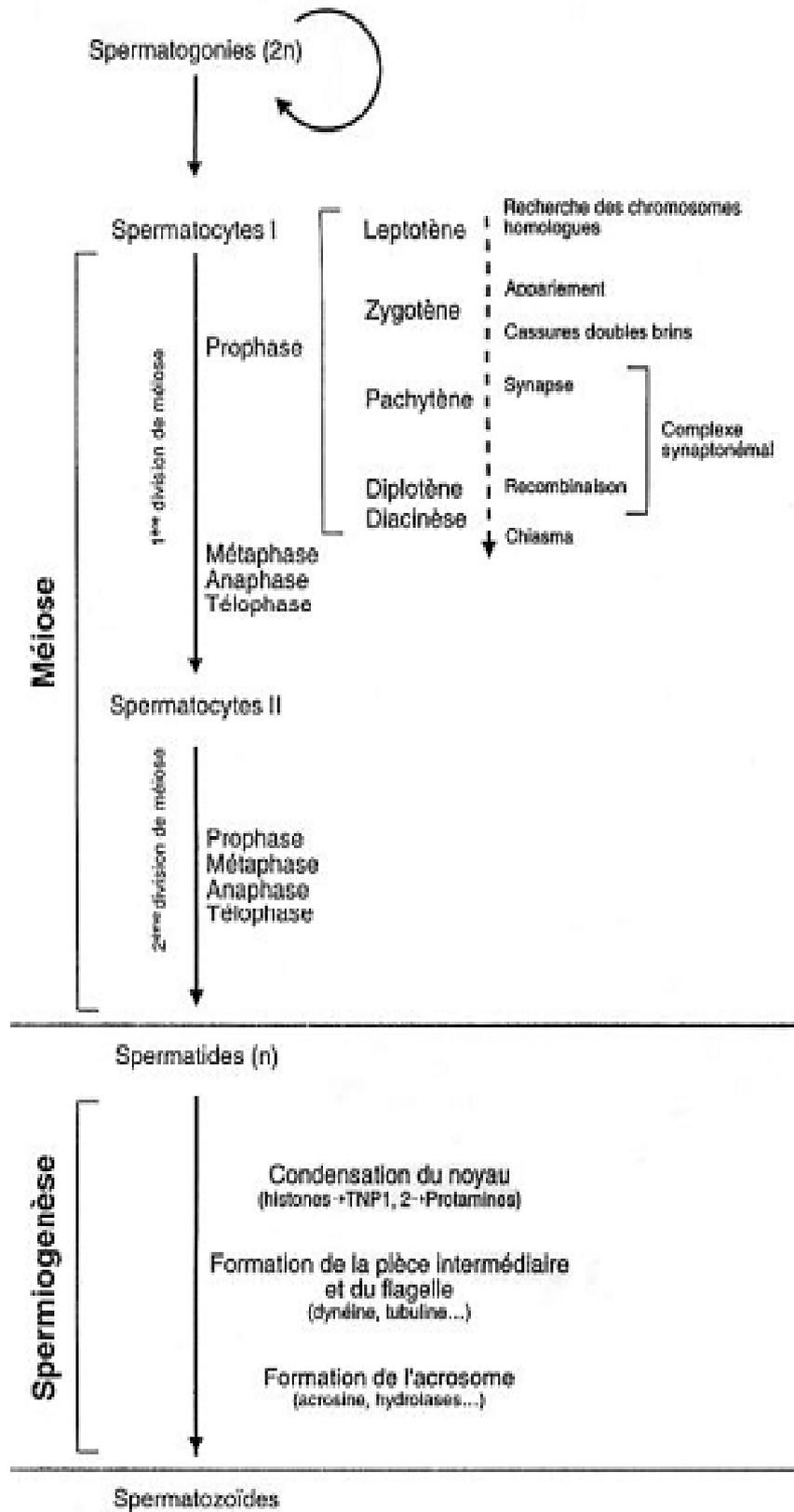


Figure 10. Schéma des différentes étapes de la spermatogenèse (Bourgeron et al., 1996)

2.4.1 Contrôle neuro-endocrinien de la fonction testiculaire

La fonction testiculaire est régulée en grande partie par l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire. L'hypothalamus libère la GnRH qui agit en se liant à des récepteurs spécifiques situés dans l'hypophyse antérieure donnant le signal de sécréter l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH).

La FSH, de concert avec la testostérone (androgène principal sécrété par les testicules), stimule le processus de la spermatogenèse. Un des nombreux effets de la FSH sur les cellules de Sertoli est d'entraîner la libération de lactate (substrat préféré au glucose par les spermatozoïdes de 1er ordre) permettant de fournir l'énergie nécessaire aux cellules germinales en développement. La LH quant à elle agit sur les cellules de Leydig pour stimuler la biosynthèse de la testostérone (Liu et Handelsman, 2003).

La testostérone assure le maintien de la spermatogenèse via son action sur les cellules de Sertoli. La présence de récepteurs fonctionnels aux androgènes sur les cellules de la lignée germinale est encore aujourd'hui controversée. Cependant, certaines études ont démontré que l'expression de ces récepteurs est spécifique à l'état de développement des cellules germinales. Des techniques comme l'immunofluorescence ont permis de détecter la présence de récepteurs aux androgènes sur les spermatozoïdes humains, ce qui porte à croire que ceux-ci pourraient jouer un rôle tôt dans la spermatogenèse (de Krester 2007 ; Wang *et al.*, 2009). La testostérone exerce également un rôle dans la boucle de rétrocontrôle en inhibant la sécrétion de LH et de GnRH par l'hypophyse et l'hypothalamus respectivement. L'inhibine, une protéine sécrétée par les cellules de Sertoli, exerce un rétrocontrôle sur les cellules de l'hypophyse antérieure pour diminuer la sécrétion de la FSH (Reznik, 2007) (Figure 11).

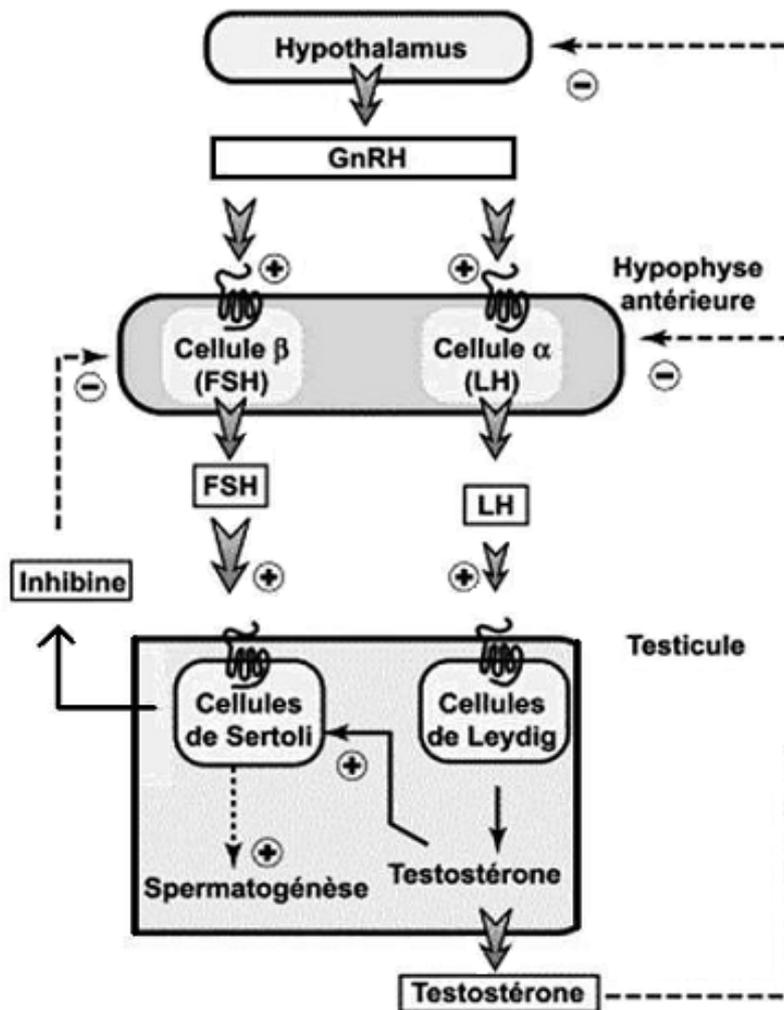


Figure 11. Schéma des différentes composantes de l'axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire (Quang Nhuan, 2002)

2.5 Anomalies chromosomiques induisant la stérilité masculine

Depuis quelques décennies, l'essor de la cytogénétique a permis de montrer que les anomalies chromosomiques constituent une cause majeure de la stérilité masculine (Martin, 2008). En effet, plusieurs équipes ont démontré que les hommes infertiles présentent 10 à 15 fois plus d'anomalies chromosomiques que la population générale (De Braekleer et Dao, 1991 ; Morel et *al.*, 2004).

Il a été montré que 10% à 20% des hommes azoospermiques et 5% à 7% des hommes oligozoospermiques ont une anomalie du caryotype (De Braekleer et Dao, 1991 ; Van Assche et *al.*, 1996 ; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine,

2008). Sur l'ensemble de la population stérile masculine, 5.8% auraient une anomalie chromosomique explicative : 80% concernant les gonosomes et 20% les autosomes (Bhasin, 2007).

2.5.1 Anomalies de nombre : Cas des gonosomes

2.5.1.1 Syndrome de Klinefelter

Le syndrome de Klinefelter appartient aux polygonosomies, anomalies par excès de matériel génétique intéressant les chromosomes sexuels. Dans ce syndrome, décrit pour la première fois en 1942 par Harry Klinefelter, il existe un ou plusieurs chromosome (s) X supplémentaire (s) qui surajoute (nt) à la formule masculine (46,XY), aboutissant dans 80% des cas à la formule (47,XXY) (Gasman et *al.*, 2001). Dans les autres cas, il s'agit d'apparentés au klinefelter sous la forme en mosaïques ou d'autres combinaisons (par exemple 48, XXXY ou 48, XXYY) (Morali et Bénézech, 2008).

Le syndrome de Klinefelter est l'aneuploïdie des gonosomes la plus fréquente chez les hommes, survenant chez environ 0.1%-0.2% des nouveaux nés de sexe masculin. La prévalence de syndrome de Klinefelter chez les hommes infertiles est très élevée, pouvant aller jusqu'à 5% en oligozoospermie sévère et 10% en azoospermie (Vialard et *al.*, 2009). La fréquence augmente avec l'âge maternel (Morali et Bénézech, 2008). Il est remarquable de noter que le diagnostic est souvent fait tardivement, voire jamais. On estime que seuls 25% des cas de syndrome de Klinefelter seraient de fait diagnostiqués (Bojesen et Gravholt, 2007).

2.5.1.1.1 Syndrome de Klinefelter libre et homogène

Le syndrome de Klinefelter est dit "homogène" lorsque toutes les cellules diploïdes de l'individu sont porteuses de l'anomalie. Le caryotype de l'individu atteint est de formule chromosomique (47,XXY) dans les cas les plus fréquemment observés (Gasman et *al.*, 2001).

L'anomalie chromosomique survient le plus souvent avant la fécondation au cours de la méiose paternelle ou maternelle. Les études suggèrent que l'erreur est survenue au cours de la méiose I maternelle dans 25% des cas, de la méiose II maternelle dans 15% des cas et de la méiose I paternelle dans 51% des cas (Hall et *al.*, 2006 ; Hassold et *al.*, 2007).

Cette aneuploïdie est causée par une non-disjonction d'un des deux chromosomes d'une même paire. Lors de la non-disjonction en méiose I, les deux chromosomes homologues migrent vers le même pôle et les gamètes formées possèdent deux ou aucun des chromosomes de cette paire. Ces gamètes donneront naissance après fécondation, à des descendants

trisomiques (le cas de syndrome de Klinefelter 47,XXY) ou monosomiques (Turleau et Vekemans, 2010). L'impact de cette non-disjonction est plus lourd puisque toutes les cellules filles seront aneuploïdes (Stefanidis et *al.*, 2011). Tandis qu'au niveau de la méiose II, la non-disjonction correspond à la non séparation des chromatides sœurs, après fécondation, les cellules seront trisomiques, disomiques (normale) ou monosomiques (Turleau et Vekemans, 2010).

La non-disjonction méiotique est associée à une diminution de la recombinaison génétique entre les chromosomes (Warren et *al.*, 1987). Cela varie considérablement d'un chromosome à l'autre. Par exemple, la réduction est très prononcée dans le syndrome de Klinefelter d'origine paternelle. En effet, dans ce cas, la carte génétique de la région pseudo-autosomique est réduite de 50 cM à 10cM (centiMorgan) (Hassold et *al.*, 1991).

Autre mécanisme peut expliquer la malségrégation méiotique est la séparation prématurée des chromatides-sœurs de l'un des chromosomes homologues. Ce mode de la non-disjonction passe souvent de façon inaperçu dans le processus méiotique humain (anaphase de la méiose I). Cette anomalie peut conduire à la formation de gamètes avec une chromatide en plus ou en moins à la fin de la méiose II (Turleau et Vekemans, 2005 ;Vialard et Pellestor, 2008) (Figure 12).

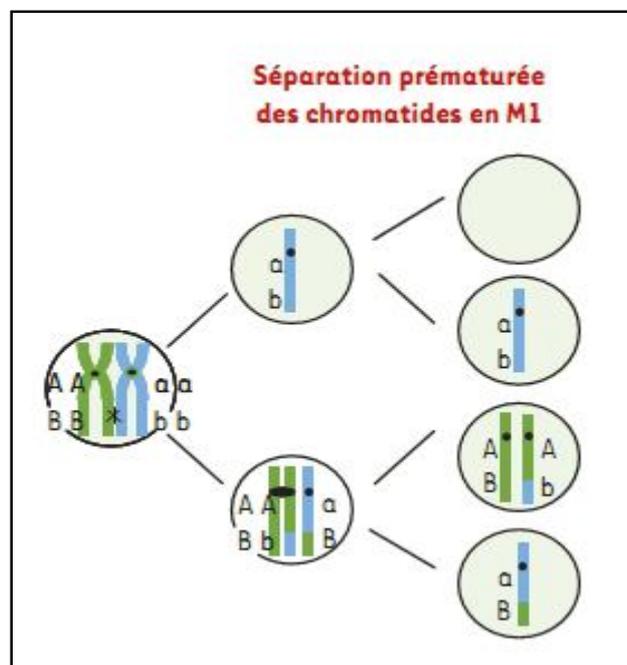


Figure 12. Mécanisme de séparation prématurée des chromatides-sœurs de l'un des chromosomes homologues en méiose I (Turleau et Vekemans, 2005)

2.5.1.1.2 Syndrome de Klinefelter en mosaïque

Le syndrome de Klinefelter est dit "en mosaïque" lorsqu'une partie seulement des cellules diploïdes sont porteuses de l'anomalie, les autres étant le plus souvent génétiquement normales ou d'une autre formule génétique (46,XY/47,XXY ou 48,XXXY) (Levy et *al.*, 2010). Cette forme du syndrome de Klinefelter résultent le plus souvent d'une non-disjonction mitotique post-zygotique dans moins de 10% des cas (Hall et *al.*, 2006 ; Hassold et *al.*, 2007).

2.5.1.1.3 Syndrome de Klinefelter et la stérilité

Les hommes avec syndrome de Klinefelter sont généralement stériles à cause d'une insuffisance testiculaire primaire. À la puberté, les testicules sont encore infantiles, il peut y avoir une gynécomastie et une obésité.

Dans 90% des cas de syndrome de Klinefelter homogène, il existe une azoospermie ou une oligozoospermie très sévère. Les sujets présentant un syndrome de Klinefelter en mosaïque (46,XY/47,XXY) peuvent produire des spermatozoïdes en quantité variable (Levy et *al.*, 2010).

Depuis le développement de l'injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI), de nombreux patients présentant un syndrome de Klinefelter ont pu concevoir des enfants avec spermatozoïdes éjaculés ou testiculaires (Friedler et *al.*, 2001 ; Komori et *al.*, 2004 ; Akashi et *al.*, 2005 ; Kyono et *al.*, 2007). Cependant, le risque de concevoir un enfant porteur d'aneuploïdie est significativement plus élevé, notamment un enfant (47,XXY) (Fiedler et *al.*, 2001 ; Ferlin et *al.*, 2006), car le nombre de spermatozoïdes porteurs d'aneuploïdie est augmenté.

2.5.1.2 Syndrome XYY

Le caryotype XYY est la deuxième aneuploïdie la plus fréquente des chromosomes sexuels. L'incidence est de 1 pour 1000 de l'ensemble des naissances vivantes de sexe masculin (Torniero et *al.*, 2011).

Les hommes porteurs sont phénotypiquement normaux, et ils sont généralement grands (plus de 2 mètres). L'origine de ce trouble est une non-disjonction paternelle à la méiose II dans 85% des cas (Robinson et Jacobs, 1999).

Les hommes (47,XYY) sont pour la plupart féconds. La perte pré-méiotique du chromosome Y surnuméraire permet la réalisation de la spermatogénèse et la production de spermatozoïdes normaux (Gabriel-Robez et *al.*, 1996 ; Rives et *al.*, 2003).

Cependant, le chromosome Y surnuméraire peut persister durant la méiose et son élimination tardive perturberait le processus méiotique, qui serait donc responsable de la déplétion en gamètes matures et expliquerait directement l'infertilité de certains hommes XYY (Rives, 2006).

2.5.1.3 Homme 46,XX

L'anomalie chromosomique (46,XX) est observée essentiellement chez les hommes azoospermiques avec une fréquence de 0.9% (environ un individu sur 20.000) (Mau-Holzmann, 2005). Le phénotype est semblable au syndrome de Klinefelter, mais avec une taille normale et une intelligence intacte.

Dans la plupart des cas (90%), le gène SRY (Sex determining region Y chromosome) est transloqué sur le chromosome X, mais ces hommes XX, SRY+ présentent systématiquement une stérilité liée à une azoospermie et à une atrophie testiculaire (Levy et *al.*, 2010).

2.5.2 Anomalies de structure du chromosome Y

Elles impliquent toutes, à des degrés divers, le chromosome Y. Malgré sa petite taille, ces anomalies ont pu être observées au caryotype et leur relation avec le phénotype d'infertilité a permis d'assigner à certaines régions du chromosome Y un rôle majeur dans la spermatogénèse.

2.5.2.1 Translocations Y-autosome ou X-Y

Le chromosome Y peut être impliqué dans des translocations avec le chromosome X, un autosome, ou un autre chromosome Y surnuméraire. La fréquence des translocations (Y-autosomes) est estimée à 1/2000 hommes (Powell, 2005). Une légère prépondérance de ces translocations a été observée dans la population des hommes oligozoospermiques (0.2%) (Mau-Holzmann, 2005). Ces translocations affectent le bras court ou le bras long du chromosome Y. Si la cassure chromosomique se produit dans la partie distale du bras long dans la région hétérochromatinienne, les hommes restent fertiles ; en revanche, si la cassure se produit dans l'euchromatine, les hommes deviendraient alors infertiles du fait de la perte ou de l'altération de gènes de la spermatogénèse (Delobel et *al.*, 1998 ; Vogt, 2005).

2.5.2.2 Chromosome Y isodicentrique

Le chromosome Y isodicentrique (idic(Y)) est l'une des anomalies de structure du chromosome Y les plus fréquemment retrouvées (Hsu, 1994). Il s'agit d'un isochromosome qui contient deux copies du centromère, séparées par un fragment de la région proximale adjacente au point de cassure. Quant au bras chromosomique, l'un des bras est dupliqué et l'autre est absent. Ces chromosomes étant instables, ils sont souvent retrouvés en association en mosaïque avec une lignée cellulaire (45,X0) (Abdelmoula et Amouri, 2005 ; Bettio *et al.*, 2006).

Des phénotypes variés d'infertilité ont été décrits avec des chromosomes Yp ou Yq isodicentriques. La prédiction des conséquences phénotypiques est souvent difficile du fait de la diversité des séquences génomiques concernées par les duplications et les délétions, de degrés variables de mosaïcisme (Levy *et al.*, 2010). Selon une étude de 78 cas de chromosome Y isodicentriques, il n'a pas été possible d'établir la corrélation génotype-phénotype (Abdelmoula et Amouri, 2005). Ces sujets sont en effet porteurs de délétions variables du bras long du chromosome Y. Quand la zone AZF est perdue, une infertilité avec azoospermie est observée (Vogt, 2005).

Les manifestations cliniques sont diverses, allant d'un phénotype féminin turnérien (présence de deux bras longs et absence de SRY) à un phénotype masculin quasi normal avec azoospermie, en passant par une ambiguïté sexuelle ou une réversion sexuelle (Abdelmoula et Amouri, 2005 ; DesGroseilliers *et al.*, 2006).

2.5.2.3 Chromosome Y en anneau

Il s'agit d'un chromosome auquel il manque au moins l'extrémité terminale des bras courts et longs, et potentiellement une portion supplémentaire en Yp et/ou Yq. La taille de ce dernier et la nature des gènes qu'il contient conditionneront ensuite le phénotype (Ravel et Siffroi, 2009).

Les hommes stériles porteurs de cette anomalie caryotypique ont un phénotype normale, car ils présentent le plus souvent une mosaïque avec une lignée cellulaire (46,XY) (Vogt *et al.*, 1995).

2.5.2.4 Inversion du chromosome Y

Les inversions du chromosome Y sont le plus souvent considérées comme des variants sans conséquence phénotypique. Il s'agit d'anomalies plus rarement retrouvées dans la

population générale mais un peu plus fréquemment chez les hommes infertiles présentant une oligozoospermie avec une prévalence de 0.3% (Mau-Holzmann, 2005).

Les inversions péricentriques du chromosome Y ($inv(Y)(p11q11)$) sont le plus souvent héritées. On estime qu'elles sont présentes à l'état de variant normal dans 0.06% des cas (Zeuthen et Nielsen, 1973). Elles entraînent une infertilité masculine lorsqu'elles sont associées à une délétion dans la région AZF.

2.5.2.5 Microdélétions du chromosome Y

Les microdélétions du chromosome Y représentent également une cause fréquente d'anomalies génétiques chez les hommes infertiles. Elles concernent 1 homme sur 2500 dans la population générale (Fellmann, 2006), soit une prévalence de 7.6%. Cela concernerait environ 10% des patients avec une azoospermie non obstructive et 6% des patients avec une oligozoospermie sévère (Reijo et *al.*, 1995 ; Simoni et *al.*, 1998 ; Stouffs et *al.*, 2008). Aucune microdélétion n'a été mise en évidence chez les normospermes (paramètres spermatiques normaux) (Kent-First et *al.*, 1996).

Les délétions impliquent les régions AZF (Azoospermia factor) du bras long de chromosome Y, qui sont subdivisées en trois locus : AZF a, b et c. Ces régions regroupent de nombreux gènes nécessaires à la spermatogénèse dont DAZ1 (Deleted in azoospermia) qui fut le premier identifié. Seule la moitié de ces gènes ont une fonction connue (Vogt, 2005). Les délétions de la région AZFc sont les plus fréquentes et sont associées à des phénotypes dont la sévérité est variable. Les délétions des autres régions sont plus rares mais généralement plus sévères (Foresta et *al.*, 2001).

Chapitre3 : Stérilité féminine d'origine chromosomique

Les aberrations chromosomiques sont à l'origine de troubles de la reproduction (infertilité, avortement précoces) (Pinton et *al.*, 2003). On estime que 10% des femmes stériles présentent de gamètes génétiquement déséquilibrés (Layman et *al.*, 2002) induisant une mortalité précoce des embryons de plus de 8 semaines dans 50% des cas. En effet, 5% des mort-nés ont un caryotype anormal et 0.5% des nouveau-nés sont porteurs d'anomalies chromosomiques (Jacobs, 1990).

3.1 Prévalence

Le nombre absolu de couples infertiles augmente avec l'accroissement de la population. Une étude menée par Mascarenhas et *coll.* en 2012 estime la prévalence de l'infertilité féminine dans différents pays du monde. Pour l'infertilité primaire, elle peut aller de 0.6% au Pérou jusqu'au 3.4% au Maroc, tant à l'infertilité secondaire, les taux varient de 8.7% au Zimbabwe jusqu'au 32.6% à l'Arménie. Les femmes inclus dans cette étude sont âgées de 20-49 ans (Mascarenhas et *al.*, 2012) (Tableau 2).

Tableau 2. Estimation du taux de prévalence de l'infertilité primaire et secondaire chez les femmes âgées de 20-49ans (Mascarenhas *et al.*, 2012)

Pays	Année	Primaire		Secondaire		Taille d'échantillon
		Prévalence (%)	Nbre des cas	Prévalence (%)	Nbre des cas	
Arménie	2005	1.3 (0.9, 1.9)	3424	32.6 (27.8, 37.8)	647	5430
Bangladesh	2004	1.7 (1.4, 2.0)	8114	20.5 (18.4, 22.8)	3610	9737
Brésil	1996	1.6 (1.3, 2.1)	5668	16.7 (14.3, 19.4)	1825	10075
Colombie	2005	1.5 (1.2, 1.8)	14159	15.9 (14.1, 17.9)	4591	31047
Egypte	2008	3.1 (2.7, 3.5)	11495	14.7 (13.2, 16.4)	4851	15891
Ethiopie	2005	1.3 (0.9, 1.7)	6617	11.7 (10.3, 13.1)	4883	10818
Guatemala	1995	1.0 (0.7, 1.4)	6384	16.6 (14.9, 18.4)	4379	9454
Inde	2005	2.7 (2.5, 2.9)	71095	24.6 (23.3, 26.0)	22740	100430
Indonésie	2007	2.1 (1.8, 2.5)	24616	17.7 (16.2, 19.3)	10479	31981
Jordanie	1997	2.5 (2.0, 3.1)	4087	9.8 (8.1, 11.7)	2591	5342
Kazakhstan	1999	1.1 (0.7, 1.7)	2410	25.9 (20.5, 32.2)	609	4022
Kenya	2003	1.0 (0.7, 1.5)	3508	11.6 (9.7, 13.8)	2241	6375
Maroc	1992	3.4 (2.7, 4.1)	4059	10.8 (9.3, 12.5)	2568	7111
Pérou	1992	0.6 (0.4, 0.8)	7052	10.8 (9.5, 12.3)	3756	12398
Philippines	2003	2.7 (2.1, 3.3)	6778	17.7 (16.0, 19.5)	3302	10987
Moldavie	2005	3.2 (2.4, 4.3)	3894	29.5 (25.0, 34.4)	708	6037
Turquie	2003	2.3 (1.7, 3.1)	3322	15.9 (12.4, 20.1)	1084	7835
Tanzanie	2004	1.8 (1.4, 2.3)	4714	16.5 (14.8, 18.3)	3511	8032
Viêt-Nam	2002	0.8 (0.6, 1.2)	4504	13.8 (10.0, 18.7)	1059	5598
Zimbabwe	2005	1.2 (0.8, 1.6)	3567	8.7 (7.0, 10.7)	2050	6777

IC à 95% est indiqué entre parenthèse

3.2 Causes de stérilité féminine

Chez la femme, les causes de stérilité se répartissent classiquement entre les causes tubaires (environ 30% des cas), l'endométriose (20%), les anovulations (30%) et les fausses couches à répétition (10%). Les autres causes (10%) sont dites idiopathiques. Les anomalies génétiques peuvent se situer à différents niveaux (Christin-Maitre, 2010). Elles peuvent atteindre soit le nombre de chromosomes comme dans les monosomies ou les polysomies, soit la structure des chromosomes, comme dans les translocations ou des délétions (Rives, 2006 ; Christin-Maitre, 2010).

➤ **Anovulations** : Ils se caractérisent par l'absence d'ovulation ou d'une dysovulation. De nombreux cas d'infertilité portent ce type d'anomalies. Ils peuvent être dus à un dysfonctionnement des ovaires eux-mêmes (origine ovarienne) ou de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Hull et Cahill, 1998).

➤ **Endométriose** : Elle se traduit par des localisations anormales de la muqueuse utérine (ovaires, trompes, cavité péritonéale). Elle entraîne une inflammation locale et crée une résistance à la progestérone (Koch et *al.*, 2012). La muqueuse utérine est impropre à la nidation.

➤ **Obstacles mécaniques** : Au niveau des trompes ou de l'utérus, ces obstacles peuvent être la conséquence d'infections génitales ou survenir à la suite de manœuvres gynécologiques (après grossesse extra-utérine, interruption volontaire de grossesse). L'obstacle utérin peut avoir aussi pour origine une malformation (Gruszka et *al.*, 2012), des polypes ou un fibrome. Ces obstacles vont empêcher la fécondation, voire la nidation.

➤ **Obstructions tubaires** : Ils sont particulièrement liés aux infections génitales (*Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*) (Paavonen et Eggert-Kruse, 1999). Le risque multiplierait par 32.1% pour une infertilité primaire et par 22% pour une infertilité secondaire (Lansac et Guérif, 2005).

➤ **Fausse couche à répétition** : Il est connu que plus de 50% des produits de fausse couche présentent une anomalie génétique (ESHRE Capri workshop group, 2008). Parmi ces 50%, les analyses montrent une répétition suivante : 9% sont une monosomie (45,X0), 30% une trisomie, 10% sont triploïdes ou tétraploïdes et 2% ont des réarrangements de structure. Cette pathologie touche environ 1% des couples qui souhaitent concevoir (Christin-Maitre, 2010).

➤ **Autres facteurs de risque** :

➤ **Facteurs hygiéno-diététiques** : Tabac et l'excès d'alcool (Berthiller et Sasco, 2005), poids extrêmes (obésité, anorexie) (Stewart et *al.*, 1990) et un régime alimentaire riche en acide gras oméga-3 et des micronutriments, comme la vitamine D ont révélé un impact sur la fertilité (Mmbaga et Luk, 2012).

➤ **Effet de l'âge maternel** : L'âge de la femme représente la cause la plus fréquente de la stérilité (Evers, 2002). En effet, la fécondité est maximale à l'âge de 25ans pour devenir presque nulle à 45ans (Lansac et Guérif, 2005). Dans la plupart des études, une corrélation positive très nette entre le vieillissement maternel et le taux aneuploïdies a été notée (Pellestor, 2004 ; Pellestor et Hamamah, 2007). Pour d'autres, le plus jeune âge est plus incriminé surtout lorsqu'il s'agit d'une monosomie (45, X0) (Amiel et Kidrai, 1996).

3.3 Stérilité et ovogénèse

Chez la femme, l'ovogénèse est un processus discontinu qui débute *in utero* par la multiplication mitotique des ovogonies (cellules primordiales à $2n$) vers la 8^{ème} semaine de grossesse (Thiry et Poncin, 2005 ; Oktem et Oktay, 2008). À la 20^{ème} semaine, le stock d'ovogonies chez les fœtus atteint environ 7 millions de cellules.

Les divisions mitotiques diminuent alors et s'arrêtent complètement à la 28^{ème} semaine de grossesse. Durant cette période de temps, de très nombreuses ovogonies sont éliminées (atrésie), et les autres commencent leur entrée en méiose (Hirshfield, 1991) pour devenir des ovocytes qui migrent dans la lumière de l'ovaire (Grier, 2000). Le processus de folliculogénèse commence à l'initiation de la méiose (Grier, 2000).

Les ovocytes I (cellule diploïde $2n$) entrent en méiose (Ravaglia et Maggese, 2003) mais restent bloqués au stade diplotène de prophase de la première division méiotique (Patiño et Sullivan, 2002), et ne reprendront qu'au moment de la puberté. Durant cette phase, l'ovocyte accumule des réserves nutritives et s'entoure d'une enveloppe folliculaire formant ainsi un follicule ovarien.

À la naissance, le pool de cellules gamétiques d'une fillette est d'environ 1 million, seulement 300.000 à 400.000 se trouvent à l'adolescence (Oktem et Oktay, 2008).

Quelques ovocytes I par cycles menstruels poursuivront ensuite leur méiose. En règle générale, un seul d'entre eux terminera la méiose I et débutera la méiose II, avant d'être bloqué une nouvelle fois au stade de métaphase II (Patiño et Sullivan, 2002).

Contrairement au mâle, la division cellulaire en méiose I n'induit pas la formation de deux cellules identiques, et cela est due par l'expulsion du premier globule polaire entraînant ainsi la réduction de la moitié du matériel chromosomique (Patiño et Sullivan, 2002).

L'ovocyte II (cellule haploïde n) ne terminera sa seconde division méiotique que s'il est fécondé par un spermatozoïde.

Chez la femme, seuls 300 à 400 ovocytes seront effectivement libérés durant sa vie, soit moins de 1% des millions de cellules germinales présentes au départ dans le fœtus (Oktem et Oktay, 2008) (Figure 13).

Une absence ou une réduction du pool d'ovocytes se traduira par une insuffisance ovarienne précoce qui dans la première situation, sera complète et se manifestera par une aménorrhée primaire sans signe de développement pubertaire et dans la deuxième situation, se traduira par une infertilité ou une aménorrhée secondaire faisant poser le diagnostic de ménopause précoce (Rives, 2006).

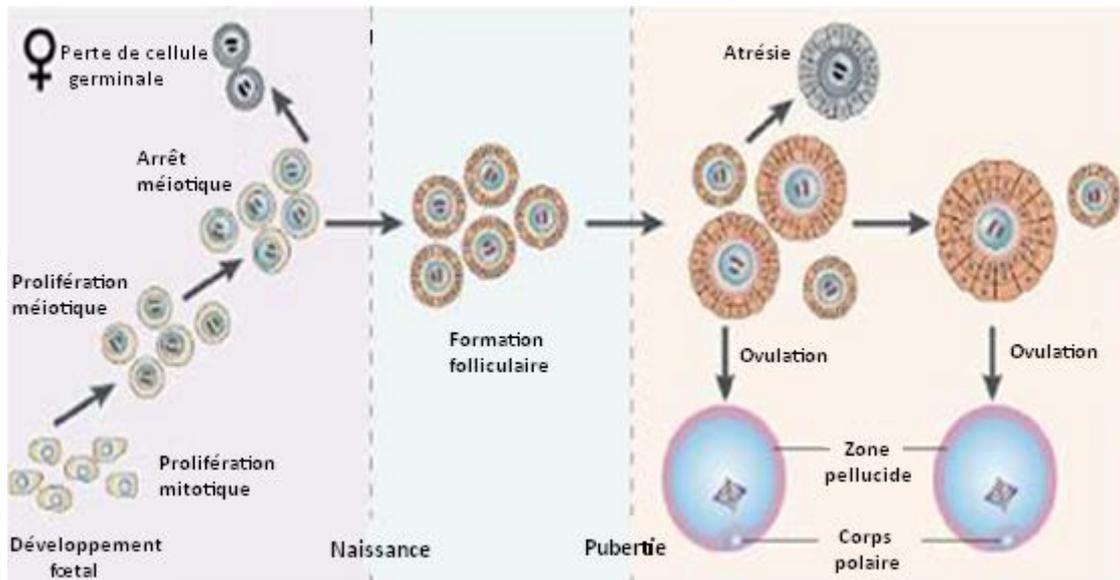


Figure 13. Représentation schématique de l'ovogénèse (Hassold et Hunt, 2001)

3.3.1 Régulation hormonale de la fonction ovarienne

La fonction ovarienne chez la femme est double, d'une part assurer, après la puberté, par cycles de 28 jours, la maturation des ovocytes et d'autre part permettre leur fécondation et leur nidation une fois fécondés. Ces deux fonctions sont régulées par deux gonadotrophines hypophysaires, la LH (hormone lutéinisante) et la FSH (hormone folliculo-stimulante) qui contrôlent la synthèse des hormones stéroïdes ovariennes, estrogène et progestérone notamment. Ces deux hormones hypophysaires sont elles-mêmes sous le contrôle d'une hormone hypothalamique, libéré de manière pulsatile, la GnRH (Beaudeau et Durand, 2008) (Figure 14).

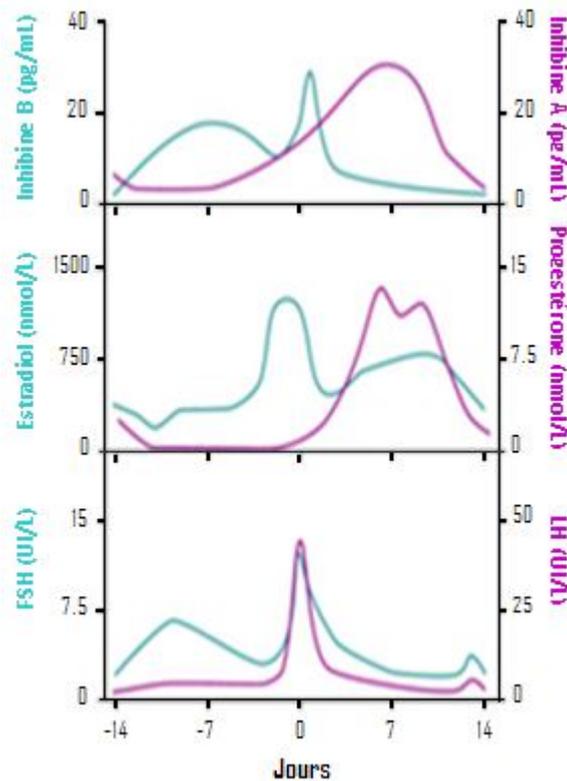


Figure 14. Variations des gonadotrophines, des hormones stéroïdes sexuelles et des peptides ovariens au cours du cycle menstruel chez la femme (Young *et al.*, 1999)

Classiquement le cycle ovarien de 28 jours est divisé en quatre phases : la phase folliculaire (J1-J13), la phase ovulatoire (J14), la phase lutéale (J14-J28) et la phase menstruelle. Au cours de ces phases on observe une variation cyclique des hormones stéroïdes et des peptides ovariens qui vont avoir un effet régulateur par rétrocontrôle sur l'axe gonadotrope (Young *et al.*, 1999).

Chez la femme, la FSH est nécessaire pour la sélection, le développement et la maturation folliculaire. Elle a un rôle prépondérant sur la production d'œstradiol par les cellules de la granulosa. Cette action est liée à une augmentation considérable de l'activité aromatasase sous contrôle de la FSH. L'aromatase est une enzyme responsable de la conversion des androgènes en estrogènes par aromatisation. Par ailleurs, la progestérone induit également l'expression du récepteur de la LH dans les follicules d'une certaine taille (>10mm) ce qui leur permettrait d'achever leur maturation en fin de phase folliculaire (Beaudeau et Durand, 2008).

Le rôle de LH est d'activer la synthèse des androgènes dans les cellules thécales de l'ovaire. L'élévation massive de la concentration de LH au milieu du cycle par les estrogènes, va déclencher l'ovulation par stimulation d'une cascade d'enzymes protéolytiques entraînant la

rupture de la lame basale du follicule. Elle va ensuite permettre le maintien du corps jaune du cycle menstruel (Blanc et Boubli, 1993 ; Beaudoux et Durand, 2008) (Figure 15).

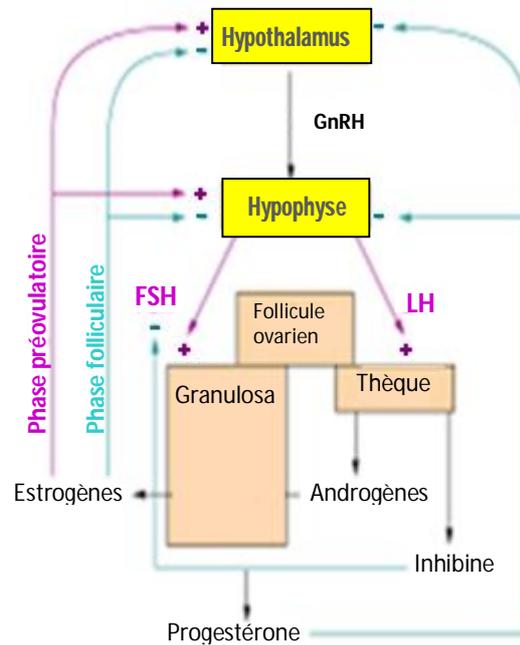


Figure 15. Régulation hormonale de l'axe hypothalamo-hypophysaire-ovarien (Beaudoux et Durand, 2008)

3.4 Anomalies chromosomiques induisant la stérilité féminine

Il s'agit principalement d'anomalies du nombre ou de structure du chromosome X.

3.4.1 Anomalies de nombre

3.4.1.1 Monosomie 45, X0

L'anomalie chromosomique la plus fréquemment retrouvée chez les femmes stériles est la monosomie X associée au syndrome de Turner dont la prévalence à la naissance est de 1 pour 2500 filles (Lun et *al.*, 2002 ; Rives, 2006). Cette faible incidence serait le résultat d'un nombre de fausses couches élevé au premier trimestre : seulement 1% des embryons (45, X0) survivraient (Van Hout et Meljac, 2001).

Dans ce syndrome, dont la formule chromosomique a été établie pour la première fois par Ford en 1959, il y a l'absence totale ou partielle de l'un des deux chromosomes X normalement présents chez la fille (Aboussair et *al.*, 2007 ; Kammoun et *al.*, 2008). Cette perte chromosomique peut être homogène dans toutes les cellules ou en mosaïque (Abir et *al.*, 2001 ; Blaschke et Rappold, 2006 ; Bondy, 2007).

3.4.1.1.1 Forme libre et homogène

Le caryotype homogène (45, X0) est la formule chromosomique la plus fréquente. Elle est retrouvée en cytogénétique classique chez environ 57% des patientes atteintes du syndrome de Turner (Minelli et Mazzola, 2006).

Plusieurs études sur l'origine de la monosomie X ont montré que, dans 80% des cas, le chromosome X conservé était d'origine maternelle (Jacobs et *al.*, 1997). Par voie de conséquence, le chromosome Y ou le chromosome X d'origine paternelle est perdu lors de la non-disjonction méiotique (méiose II) (Turleau et Vekemans, 2005).

En 1997, Jacobs et *coll* ont avancé l'hypothèse que le patron de recombinaison des chromosomes X et Y par leurs extrémités seulement pouvait être un facteur de risque conduisant à l'aneuploïdie, notamment dans le syndrome de Turner. En effet, les chiasmas générés suite à une recombinaison homologue lors de la méiose permettent de tenir ensemble les deux homologues. Une mauvaise répartition des chiasmas pourrait ainsi affecter la ségrégation des chromosomes (Lynn et *al.*, 2004). Ainsi, des chiasmas trop près des centromères pourraient causer une séparation prématurée des chromatides-sœurs de l'un des homologues (Koehler et *al.*, 1996 ; Lamb et *al.*, 1997).

Par ailleurs, on sait depuis 1960 qu'avec l'âge, les individus montrent une aneuploïdie accrue de leurs gonosomes dans leurs lymphocytes sanguins, et cela est due en partie par la perte d'un chromosome sous forme de micronoyau (Catalan et *al.*, 1998).

Les micronoyaux sont, comme leur nom l'indique, de petits noyaux qui se forment autour de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers qui n'ont pas ségrégué dans une des cellules filles lors de la division cellulaire. Ainsi, n'importe quel chromosome humain peut être expulsé dans un micronoyau s'il ne migre pas avant la fin de l'anaphase. Toutefois, les études ont démontré que les chromosomes sexuels sont surreprésentés dans les micronoyaux et que cette fréquence varie en fonction du sexe et de l'âge des individus (Catalan et *al.*, 1998). Chez les femmes de 24-29ans, 14% des micronoyaux, en moyenne, contiennent un chromosome X, comparativement à une moyenne de 24% chez les femmes de 51-58 ans (Catalan et *al.*, 1995).

La monosomie X se traduit par une dysgénésie gonadique responsable d'impubérisme et d'aménorrhée primaire. Cette insuffisance ovarienne précoce s'associe également à des signes

plus généraux (petite taille, dysmorphie crâniofaciale, malformations somatiques évocatrices...) (Rives, 2006).

3.4.1.1.2 Forme en mosaïque

Les mosaïques, comportant 2 ou 3 populations différentes (45,X0/46,XX ou 45,X0/47,XXX...), sont le résultat de la non-disjonction mitotique post-zygotique. Leur fréquence est estimée à 16% par les techniques cytogénétiques habituelles (Minelli et Mazzola, 2006). Cependant, ce chiffre dépend du nombre des cellules et de celui des types tissulaires étudiés, ainsi que des techniques mises en œuvre. Il est probablement largement sous-estimé. Finalement, on retrouve également des cas de mosaïcisme où la seconde lignée contient un chromosome Y normal ou remanié (Jacobs *et al.*, 1997 ; Sybert et McCauley, 2004). En fait, considérant que seulement 1% des grossesses avec une constitution (45,X0) survivent, une hypothèse répandue dans la littérature veut que seules les constitutions (45,X0) en mosaïque soient viables. Dans les cas où une lignée homogène (45,X0) est trouvée, une mosaïque serait présente au niveau d'autres tissus, au moins pendant une partie de l'embryogenèse (Hassold *et al.*, 1988 ; Held *et al.*, 1992).

La sévérité du phénotype dépend de la complexité de la mosaïque. Les patientes ayant un caryotype (45,X0/46,XX) ont un meilleur pronostic que celles au caryotype (45,X0) homogène. Cela est particulièrement important à considérer pour les cas découverts en prénatal (Koeberl *et al.*, 1995). Les cycles réguliers et les grossesses menées à terme chez 5% des patientes s'expliquent probablement par l'existence de mosaïques (Vekemans et Turleau, 1998).

3.4.1.2 Trisomie X

La prévalence de la trisomie X dans la population générale est de 1 pour 1000 (Rives, 2006). On rapporte que le chromosome X en excès dérive d'une erreur de la méiose I féminine dans 63% des cas, d'une erreur de la méiose II féminine dans 17% des cas, et d'une erreur mitotique post-zygotiques dans 20% des cas (Hall *et al.*, 2006 ; Hassold *et al.*, 2007). Il est généralement admis que le X surnuméraire n'a aucun effet sur le fonctionnement ovarien. Néanmoins, quelques observations rapportent la survenue d'une insuffisance ovarienne précoce chez les femmes de caryotype (47,XXX) (Rives, 2006).

3.4.1.3 Femme 46, XY

Certaines femmes ont un caryotype (46,XY) dans toutes leurs cellules ou partie seulement. Elles se caractérisent par une dysgénésie gonadique complète à l'origine d'un phénotype parfaitement féminin, avec dérivés mullériens présents (utérus et trompes), et absence de développement pubertaire (Robinson et *al.*, 1998).

La majorité des cas sont sporadiques, il n'y a pas d'antécédents familiaux, mais il existe des formes familiales touchant au moins deux enfants dans la même fratrie (Barbosa et *al.*, 1995). Une mutation du gène SRY est retrouvée dans 20% des cas (Spinola-Castro et *al.*, 2000). Pour la majorité des femmes (46, XY), aucune mutation de ce dernier n'est mise en évidence suggérant l'implication possibles d'autres gènes situés en amont ou en aval de SRY dans la cascade de la détermination testiculaire (Barbosa et *al.*, 1995 ; Robinson et *al.*, 1998 ; Toublanc et Boucekkine, 2001).

3.4.2 Anomalies de structure du chromosome X

Les anomalies de structure sont trouvées chez environ 35% des patientes et s'associent le plus souvent à une lignée (45,X0) qui pourrait résulter de l'instabilité mitotique du remaniement. L'inactivation de l'X n'est pas aléatoire, mais touche préférentiellement l'X remanié (Viot et *al.*, 1998).

3.4.2.1 Isochromosome X

L'isochromosome du bras long du chromosome X est le remaniement de structure le plus fréquemment retrouvé dans le syndrome de Turner avec une prévalence de 15% (Wolff et *al.*, 1996). Il est en général dicentrique et résulte de la cassure d'un X au niveau proximal du bras court et des chromatides sœurs. Les chromosomes X sont pour moitié d'origine paternelle, pour moitié d'origine maternelle (Cormier-Daire et Bouvattier, 2009).

Les femmes (45,X,i(Xq)) présentent rarement des cycles menstruels (Simpson et Rajkovic, 1999) et ont un phénotype comparable à celui des femmes (45,X0). Les ovaires apparaissent généralement sous la forme de bandelettes fibreuses. Mais, on peut observer de manière exceptionnelle une fonction ovarienne normale (Mau-Holzmann, 2005).

3.4.2.2 Délétion partielle du chromosome X

Les délétions sont rares, retrouvées chez environ 5% des femmes présentant un syndrome de Turner (Viot et *al.*, 1998). Elles peuvent emporter les extrémités du bras court ou du bras

long, être interstitielles ou résulter de translocation X/autosomes déséquilibrées. Le phénotype des femmes qu'elles touchent est très variable, dépendant de la taille du segment délété et de sa localisation (Viot et *al.*, 1998). Les délétions partielles du bras court (46,X,del(Xp)) surviennent le plus souvent au niveau de point de cassure Xp11 (Simpson et Rajkovic, 1999). Les femmes présentant ces délétions se caractérisent par une aménorrhée primaire et une dysgénésie gonadique dans 50% des cas (Wolff et *al.*, 1996). Des points de cassures plus distaux ont également été rapportés (Xp21.1-Xp22.1-Xp22.2) avec, chez ces patientes, des cycles menstruels spontanés plus fréquents associés cependant dans la majorité des cas à une infertilité ou à une aménorrhée secondaire (Rives, 2006).

En ce qui concerne le bras long, les délétions allant de la région Xq24 à la région Xqter seraient responsables de dysgénésie gonadique sans signes turnériens (sous réserve qu'il n'existe pas de clone 45,X0), alors que les délétions plus proximales s'accompagneraient d'un phénotype turnérien complet (Maraschio et *al.*, 1996 ; Viot et *al.*, 1998).

3.4.2.3 Translocation X-autosome

Les données concernant les translocations (X-autosomes) démontrent que la région située entre Xq13-Xq26 est une région critique pour le maintien de la fonction ovarienne normale, les points de cassure de ces remaniements de structure surviennent préférentiellement en Xq26-qter défini comme étant le locus POF1 (Premature Ovarian Failure1) et Xq13.3-Xq21.1 défini comme étant le locus POF2 (Goswami et Conway, 2005).

3.4.2.4 Chromosome X en anneau

Les anneaux sont observés dans 5% des cas. Ils entraînent le plus souvent une mosaïque (45,X0/46,Xr(X)). La majorité des anneaux est d'origine paternelle (Cormier-Daire et Bouvattier, 2009). Comme pour les délétions, le phénotype varie selon la taille de l'anneau et l'emplacement des points de cassure (Viot et *al.*, 1998).

3.5 Diagnostic prénatal et conseil génétique

Le diagnostic prénatal est de plus en plus utilisé dans les pays développés. En France près de 70.000 patientes ont un diagnostic prénatal, soit 10% environ des gestantes (Saura, 2001).

Les indications de diagnostic prénatal des aberrations chromosomiques sont : l'âge maternel, un antécédent d'un enfant porteur d'une aberration chromosomique, un parent porteur d'un remaniement chromosomique équilibré, un risque augmenté d'avoir un enfant trisomique par l'étude des facteurs sériques maternels, une anomalie échographique du

premier trimestre, du deuxième ou troisième trimestre de grossesse. Ces diagnostics permettent le plus souvent de rassurer le couple en mettant en évidence une formule chromosomique normale, mais dans 2 à 4% des cas une aberration chromosomique est diagnostiquée (Saura, 2001).

Le diagnostic prénatal repose sur l'établissement du caryotype de cellules fœtales. Les techniques de prélèvement de liquide amniotique sont multiples: amniocentèse, choriocentèse, prélèvement de sang fœtal (Ayme, 1996). Ces techniques présentent certains dangers pour la mère et le fœtus. On estime que 0.7 à 1% des pertes fœtales sont dues à des fausses couches associées à l'amniocentèse (Jouannic et *al.*, 2010).

La découverte d'une anomalie autosomique déséquilibre ou certains remaniements de structure des gonosomes conduit le corps médical à proposer une interruption médicale de grossesse (Saura, 2001). Les anomalies gonosomiques sont d'une gestion bien plus difficile. Dans le cas de syndrome de Turner, l'interruption médicale de la grossesse est habituellement proposée quand une anomalie échographique (un hygroma) est associée à une monosomie (45, X0).

Les éléments qui vont conduire le couple à prendre une décision sont variables et multiples, ce sont :

- Ses convictions personnelles ;
- Le corps médical et sa propre sensibilité ;
- La société et ses lois ;
- La religion.

La découverte d'un fœtus (45, X0) est une anomalie gonosomique spécifique qui a ses propres caractéristiques. Le conseil génétique doit absolument bien connaître ce syndrome avant de conseiller le couple pour prendre une décision de poursuivre ou non la grossesse.

Par définition, une consultation de conseil génétique a pour but de définir les causes génétiques d'une pathologie, d'en préciser le caractère sporadique ou familial et le mode de transmission d'une famille donnée et surtout, ce qui est primordial pour les patients, de préciser le risque pour la descendance (Siffroi, 2001).

Le syndrome de Turner étant classiquement associé à une stérilité, le risque pour la descendance n'existait pas jusqu'à ce que les nouvelles techniques d'aide médicale à la procréation (Fécondation *in vitro* (FIV), Injection intra-cytoplasmique d'un spermatozoïde

(ICSI), Insémination artificielle (IA)) ne viennent bouleverser cette situation en offrant la possibilité à certains sujets atteints d'avoir des enfants. Il est en effet important de noter qu'un syndrome de Turner peut être transmis d'une mère à sa fille en cas d'anomalie du chromosome X, telle qu'une délétion ou un X en anneau (Lachlan et *al.*, 2006).

Chapitre 4 : Apport de la cytogénétique dans la détection des anomalies chromosomiques liées à la stérilité humaine

Les techniques de cytogénétique ont mis en évidence le rôle essentiel des anomalies chromosomiques constitutionnelles à l'origine des handicaps mentaux, des syndromes malformatifs et d'échecs de la reproduction (Trask, 2002). Les anomalies chromosomiques sont la première cause identifiée de stérilité humaine d'origine génétique.

Depuis les premières observations de chromosomes en 1880 par Flemming, la cytogénétique est longtemps restée une science marginale, c'est pourquoi ce n'est qu'en 1956 que le nombre diploïde des chromosomes humains fut publié (Ford et Hamerton, 1956 ; Tjio et Levan, 1956). Très rapidement, les premières anomalies chromosomiques furent détectées : trisomie 21 (Lejeune et *al.*, 1959), syndrome de Klinefelter (Jacobs et Strong, 1959) et syndrome de Turner (Ford et *al.*, 1959).

A la fin des années 60, les premières techniques de marquage en bandes des chromosomes voient le jour, permettant avec d'autres critères (notamment la taille et la forme des chromosomes) de mettre en place une classification internationale des chromosomes, c'est-à-dire le caryotype standard humain (ISCN, 1985).

4.1 Caryotype : Technique de base

4.1.1 Caryotype standard

Le caryotype en bandes, qui consiste en l'étude du nombre et de la structure des chromosomes, est le seul examen d'analyse globale du génome (Romana et *al.*, 2001). Cependant, du fait de sa résolution, cette technique ne détecte pas les déséquilibres inférieurs à 5 voire 10 Mb (Mégabases) (le seuil de résolution est de 400 bandes distinctes par génome haploïde) (Béri-Dexheimer et *al.*, 2007).

Il peut être réalisé sur de nombreux types cellulaires et donc obtenu à partir de divers prélèvements biologiques comme le sang, le liquide amniotique ou les villosités choriales en prénatal mais également des prélèvements tissulaires comme la peau.

Son obtention nécessite dans la majorité des cas une culture cellulaire dont la durée varie de 72 h pour le sang à une à deux semaines pour les prélèvements réalisés en prénatal et les prélèvements cutanés. Ensuite, la technique classique consiste à bloquer les cellules en métaphase grâce à la colchicine (poison du fuseau mitotique), réalisé par un choc hypotonique pour disperser le cytoplasme puis fixer et étaler la préparation cellulaire sur une lame afin d'obtenir une bonne répartition chromosomique.

Chaque lame est traitée différemment selon le type de marquage chromosomique souhaité.

- **Technique de marquage en bandes G**

Les bandes G, utilisées en routine au laboratoire, ont été décrites pour la première fois en 1971 (Seabright, 1971).

Elles correspondent à l'alternance, le long du chromosome, en bandes transversales claires et sombres spécifique de chaque paire chromosomique.

Ces bandes sont obtenues par dénaturation enzymatique, avec la trypsine. Cette dernière digère les protéines et permet l'apparition après coloration au Giemsa d'une succession de bandes permettant de classer et analyser les chromosomes. Les bandes G correspondent aux bandes R négatives. Les bandes G marquent des régions d'ADN riches en liaison A-T (au niveau de l'euchromatine) et représentent des centres de condensation précoces pauvres en gènes actifs (Egea, 2010) (Figure 16).

- **Technique de marquage en bandes R**

Les bandes R sont obtenues par dénaturation thermique des chromosomes. Elles marquent des régions d'ADN riches en liaison G-C (l'euchromatine) (Egea, 2010), qui sont plus résistantes à la dénaturation et restent donc plus sombre après coloration (Figure17).

D'autres techniques de marquage complémentaires existent qui permettent d'analyser certaines régions particulières du génome :

- **Les bandes C :** Cette coloration au sulfate de Baryum met en évidence l'hétérochromatine constitutive, qui correspond à des régions non codantes du génome comme les régions centromériques (chromosome 1, 9, 16, Y) (Arrighi et Hsu, 1971).
- **Les bandes Q :** Obtenues après coloration par la moutarde de Quinacrine. Sous UV, les chromosomes présentent des bandes fluorescentes, de même que les bandes G. elles colorent intensément la partie distale, hétérochromatique, des bras long de

chromosome Y, certains centromères et certains bras courts des chromosomes acrocentriques (Caspersson *et al.*, 1970).

- **NOR** : Cette technique consiste en un dépôt de nitrate d'argent qui met en évidence les organisateurs nucléolaires. Ces structures correspondent aux régions du génome contenant les gènes qui codent pour les ARN ribosomiaux (Bloom et Goodpasture, 1976).

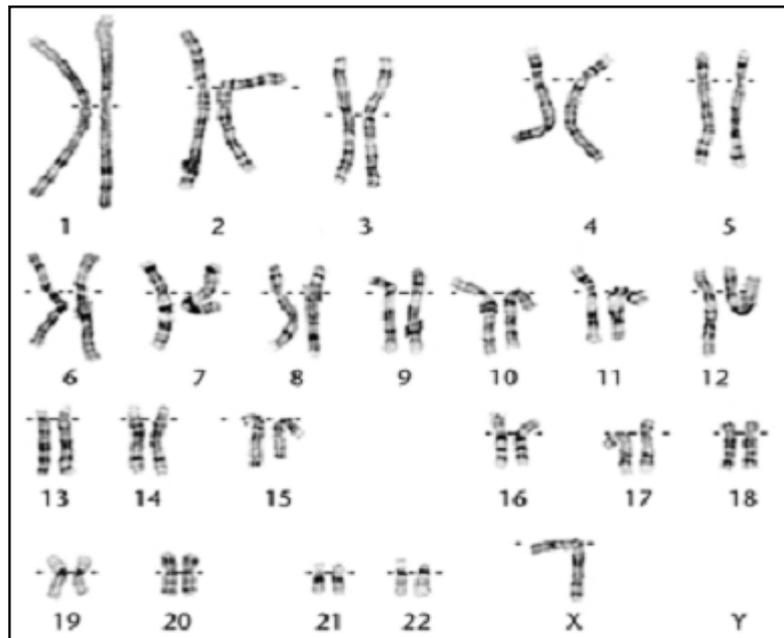


Figure 16. Caryotype en bande G d'une monosomie (45, X0) (Luthardt et Keitges, 2001)

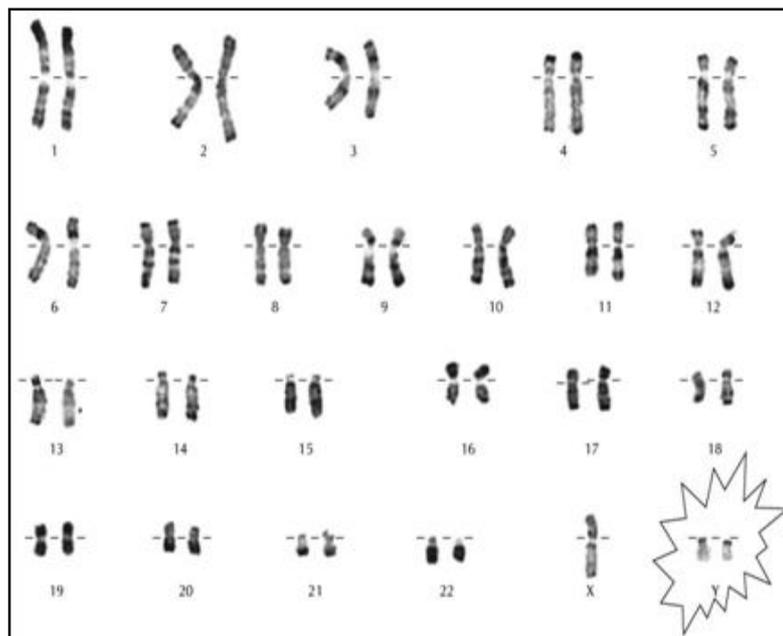


Figure 17. Caryotype en bande R d'un sujet double Y (47, XYY) (Ravel *et al.*, 2004)

4.1.2 Caryotype à haute résolution

Un caryotype dit "Haut résolution" doit avoir une résolution d'au moins 550 bandes par lot haploïde de chromosomes. L'étude des cellules en prométaphase (fin de prophase ou début de métaphase) par synchronisation des cultures, et le prétraitement de la culture lymphocytaire par du 5 bromodésoxyuridine, modifient les propriétés tinctoriales des bandes chromosomiques et permettent d'améliorer la résolution du caryotype. On peut ainsi observer jusqu'à 800 à 1000 bandes par lot haploïde de chromosomes (Berger, 2007 ; Malan et Romana, 2012). Il ne peut cependant pas détecter les réarrangements en dessous de 3 à 5 Mb selon les régions chromosomiques concernées.

C'est un examen de deuxième intention, réalisé après un caryotype standard pour préciser les points de cassure lorsqu'un remaniement a été dépisté ou pour rechercher un microremaniement quand l'examen clinique évoque très fortement l'existence d'une anomalie, alors que le caryotype standard est normal (Dupont, 2008).

4.2 Hybridation *in situ* en fluorescence (FISH)

Les techniques de biologie moléculaire ont été appliquées avec succès à la cytogénétique dans les années 1990. L'hybridation *in situ* révélée par fluorescence offre la possibilité d'aller plus loin dans le degré de résolution et l'exploration des anomalies chromosomiques au-delà des techniques classiques (Speicher et Carter, 2005).

L'application de cette technique dans les bilans génétiques dans le cadre de l'infertilité reste donc limitée soit à l'exploration fine d'un remaniement chromosomique visible au caryotype soit à celle d'une région entière du génome connu pour être impliquée dans un phénotype particulier d'infertilité comme le bras long du chromosome X dans l'insuffisance ovarienne précoce (Siffroi et Christin-Maitre, 2006).

4.2.1 Principe

Le principe de base de cette technique repose sur la propriété de l'ADN, molécule bicaténaire dont les séquences nucléotidiques sont complémentaires, de se dénaturer (séparation des deux brins complémentaires) et de se renaturer (réassociation des deux brins), dans des conditions précises de température, de salinité et de pH (Romana et *al.*, 2001).

La FISH consiste à hybrider sur des préparations chromosomiques (métaphasiques ou noyaux interphasiques) une sonde, qui est un fragment d'ADN cible que l'on veut étudier. Cette technique permet de visualiser directement un gène ou une séquence nucléotidique

spécifique d'un locus donné et de déterminer si telle séquence est délétée, dupliquée ou transloquée.

4.2.2 Sondes utilisées

De nombreuses sondes sont commercialisées et prêtes à l'emploi pour la détection de syndromes cliniques connues. Les sondes existantes dans le commerce ne couvrant qu'une petite partie du génome, il est parfois nécessaire de fabriquer des sondes à partir de BAC (Bacterial Artificial Chromosome). Ces BACs sont reçus sous la forme de cultures de bactéries recombinantes contenant la séquence ADN d'intérêt qui sera extraite et marquée.

Différents types de sondes sont utilisés :

- **Sondes de chromosomes spécifiques (centromériques ou de locus spécifiques):**

Elles sont utilisées pour rechercher des anomalies de nombre. L'avantage de ces sondes est qu'elles peuvent être utilisées en directe, avant culture. La principale indication est le diagnostic prénatal en urgence des trisomies 13, 18, 21 et des aneuploïdies gonosomiques en cas de signes d'appel échographiques évocateurs (Eiben *et al.*, 1999 ; Tepperberg *et al.*, 2001) (Figures 18,19).

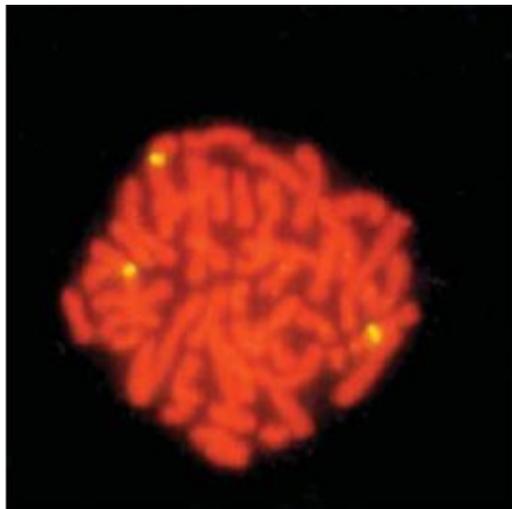


Figure 18. FISH d'une sonde de séquences haploïdes centromériques spécifique du chromosome X sur métaphase montrant une trisomie X (Bouayed, 2004).

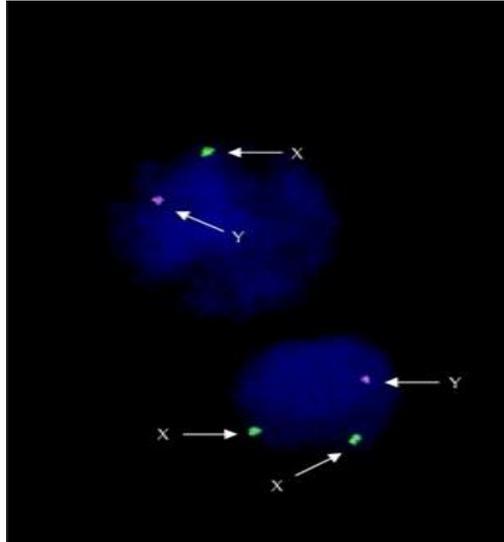


Figure 19. Analyse en FISH avec des sondes fluorescentes codant pour les gonosomes à la recherche d'une mosaïque et montrant un noyau XY et une autre XXY. La possibilité d'étudier par FISH directement les noyaux interphasiques et non plus obligatoirement les mitoses permet d'augmenter considérablement le nombre de cellules analysées (Ravel et *al.*, 2004).

- **Sondes subtélomériques :**

Elles sont utilisées pour rechercher des translocations équilibrées, dans le cadre de troubles de la reproduction essentiellement, ou déséquilibrées, dans le cadre de l'exploration de trouble du développement notamment, de petite taille, invisible au caryotype standard (Granzow et *al.*, 2000 ; Popp et *al.*, 2002 ; Novelli et *al.*, 2004). Elles sont alors regroupées en Kits permettant en une seule analyse, l'exploration des 46 extrémités subtélomériques.

- **Sondes pantélomériques :**

Elles ciblent les séquences répétées télomériques communes à toutes les extrémités des 23 paires chromosomiques. Elles sont utilisées pour la mise en évidence des chromosomes en anneaux.

- **Multi-FISH :**

Le caryotype multicolore (M-FISH), contrairement à la FISH, permet une analyse globale du génome. Cette technique nécessite l'obtention des métaphases. Elle consiste à peindre spécifiquement chaque paire chromosomique d'une couleur différente à l'aide de sondes réparties tout au long du génome. Elle permet l'identification de chromosomes dérivés ou marqueurs et des remaniements complexes (Schroch et *al.*, 1997 ; Ning et *al.*, 1999).

4.3 Hybridation Génomique Comparative (CGH)

L'hybridation génomique comparative repose sur l'hybridation compétitive entre deux ADN, celui du patient et celui d'un témoin. Ces ADN, marqués par 2 fluorochromes différents (Cyanine 5=Rouge et Cyanine 3= Vert), vont être hybridés en compétition soit sur métaphases d'un sujet normal pour la **CGH sur métaphases**, soit sur des fragments d'ADN génomique (BAC ou oligonucléotides) appelés clones pour la **CGH-array** (Figure 20A, B).

Pour la CGH sur métaphases, après la saisie et le classement d'une vingtaine de métaphases, l'acquisition des images est faite pour chaque fluorochrome. Un logiciel d'analyse d'images calcule le rapport des intensités de fluorescence pixel par pixel tout au long des chromosomes. Un profil est ainsi obtenu pour chaque chromosome et mis en regard d'un idéogramme permettant la localisation cytogénétique d'un éventuel déséquilibre (Figure 20 A).

Pour la CGH array, les lames sont lues par un scanner laser. Des logiciels permettent l'acquisition des images et l'analyse des données. Le rapport de fluorescence est calculé au niveau de chaque clone et les résultats sont rendus sous forme de graphes, ce qui facilite l'interprétation (Figure 20 B) (Fiegler et *al.*, 2003 ; Mantripragada et *al.*, 2004).

Une différence dans le nombre de copies d'une séquence d'ADN entre le génome du patient et celui de référence modifiera le rapport "fluorescence vert/fluorescence rouge".

Ces deux techniques (CGH sur métaphase et CGH array sur puce à ADN) permettent de détecter et, simultanément, de localiser sur le génome des pertes ou des gains en ADN génomique. Si une région chromosomique est délétée, elle apparaîtra en moindre nombre chez le patient par rapport au témoin. A l'inverse, si une région chromosomique est dupliquée, elle apparaîtra en plus grand nombre chez le patient par rapport au témoin (Keren et *al.*, 2010). L'avantage de ces techniques est qu'elles ne nécessitent pas l'obtention de métaphase et donc de culture cellulaire.

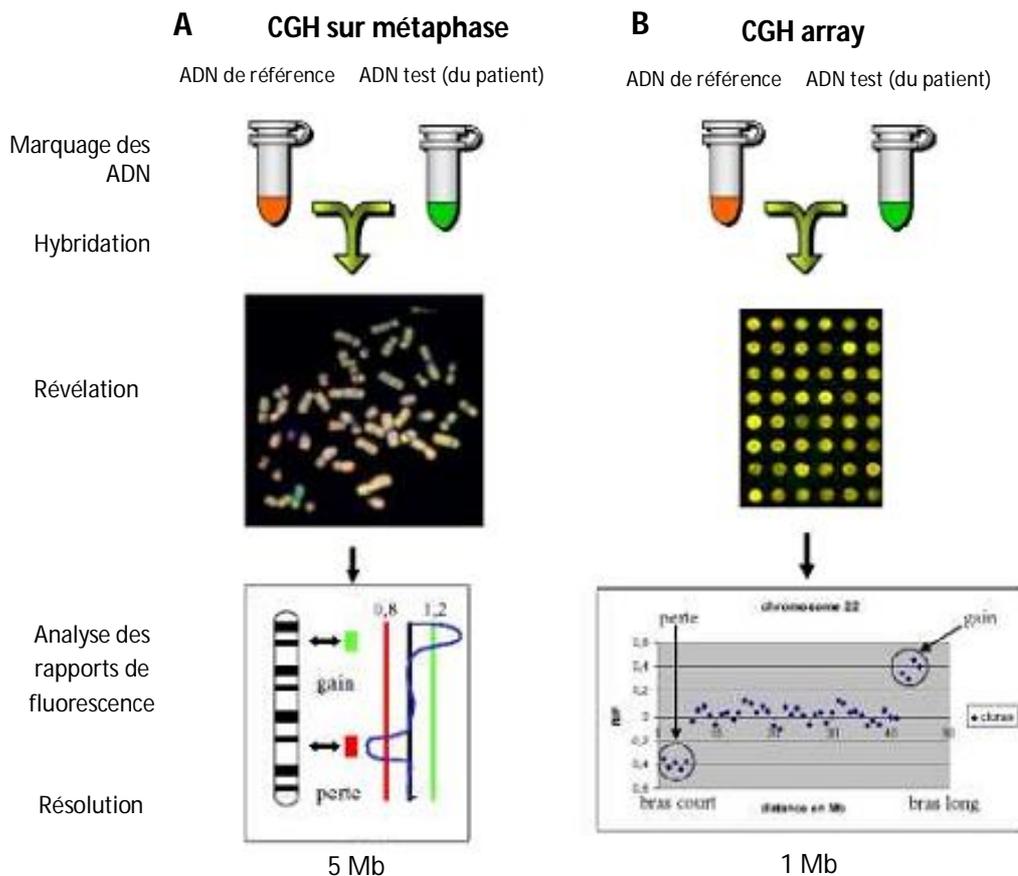


Figure 20. Présentation des techniques de CGH sur chromosomes (A) et CGH array (B) (Sanlaville et *al.*, 2005)

Actuellement, ces techniques ne sont pas encore utilisées dans l'exploration courante des infertilités. En effet, les causes génétiques des troubles de la gamétogenèse sont à rechercher plutôt vers des anomalies de la mécanique chromosomique lors de la méiose ou des mutations de gènes fondamentaux que vers des déséquilibres génomiques qui, par leur taille, s'accompagne souvent de syndromes malformatifs avec retard mental (Siffroi et Christin-Maitre, 2006). Néanmoins, les progrès croissants des techniques de cytogénétique avec celle de génétique moléculaire permettront sûrement la découverte de nouvelles causes génétiques d'infertilité dans l'espèce humaine.

PARTIE2 :

METHODOLOGIE

Chapitre1 : Matériel et méthodes

1.1 Mode d'échantillonnage

Il s'agit d'une étude prospective des patients (es) infertiles qui se présentent en consultation par les médecins du service de maternité d'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Maghnia et du service d'urologie de Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Tlemcen.

L'étude a porté sur un échantillon de 84 personnes, dont 57 cas présentant une infertilité et 27 cas témoins. Elle s'est étalée sur une période de six mois et compris trois étapes principales:

- Etudier les paramètres sociodémographiques, ainsi que ceux de la santé ;
- Etudier les paramètres biologiques par la détermination des paramètres spermatiques et hormonales ;
- Faire un examen cytogénétique par l'établissement d'un caryotype standard et R-banding pour les hommes présentant un tableau clinique d'infertilité d'origine sécrétoire (non obstructive) ou à la recherche d'un syndrome de Turner devant des troubles de la reproduction chez les femmes âgées de plus de 20 ans.

1.2 Collecte des données

La méthodologie la plus fréquemment utilisée pour se documenter sur certaines données sociodémographiques, ainsi que l'évolution et les circonstances de diagnostic de la maladie est l'enquête, par le biais d'un questionnaire et en se référant au dossier médicale.

- Dossier médical : Il sert de support à toutes les informations concernant l'histoire de la maladie, les circonstances de diagnostics ainsi que l'état biologique et clinique.
- Questionnaire : L'enquête a été réalisée auprès de chaque sujet au cours d'un entretien privé pendant au moins 30 minutes. Le questionnaire portent sur les deux guides d'entretien (annexe 1):

1. Certaines données sociodémographiques, en inclut l'identification du malade, son statut matrimonial, le nombre d'enfants ainsi que l'âge de mariage.

2. Les paramètres de la santé, la connaissance du problème d'infertilité ainsi que sa durée, le nombre de fausses couches spontanées chez la femme ou la conjointe, l'atteinte

d'une aménorrhée primaire ou secondaire et la présence ou non d'un retard statural ou pubertaire.

✓ Critères d'inclusion

Tous les patients(es) consultant pour des problèmes d'infertilité sont inclus(es) dans cette étude (la durée d'infertilité est plus de deux ans). Nous avons considéré comme atteint d'infertilité, tout sujet n'ayant jamais été l'auteur d'une grossesse (infertilité primaire) ou étant un ou plusieurs grossesse(s) à terme (infertilité secondaire). Alors qu'aux témoins, leur fertilité est prouvée avec un enfant déjà né.

✓ Critères d'exclusion

Nous avons exclu de cette étude tous patients(es) pour lesquels les données hormonales, spermatiques ou cliniques étaient insuffisamment renseignées. Ainsi que les femmes âgées de moins de 20 ans.

1.3 Principe et méthode

1.3.1 Examen biologique

Les examens biologiques inclus dans cette étude sont réalisés au niveau du laboratoire d'analyse médicale de CHU de Tlemcen, ainsi que certains laboratoires privés. Ils comportent les analyses hormonales (FSH, LH et testostérone), le spermogramme et le spermocytogramme.

1.3.1.1 Analyse hormonale

Le dosage des paramètres hormonaux : FSH (Hormone folliculo-stimulante), LH (Hormone lutéinisante) et testostérone a été effectué sur un automate de type Cobas 6000 Roche DG, Elecsys 2010.

✓ Prélèvement

Le prélèvement consiste en prise de sang veineux recueilli sur des tubes standards héparines (héparine de Lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2 ml.

On précède avec précaution après chaque prélèvement, un mélange du sang avec la solution contenue dans le tube et ceux par retournement successifs du tube en évitant une agitation brutale.

Ensuite, le sang a été immédiatement centrifugé à 4000 trs/min pendant 15 minutes.

- **Dosage de FSH**

Principe

C'est un dosage immunologique microparticulaire par électro-chimiluminescence "ECLIA". Il repose sur le principe de la technique "Sandwich" sur phase solide. Deux types d'anticorps monoclonaux ont été préparés contre deux sites antigéniques. Le premier anticorps anti-FSH spécifique biotinylé et le deuxième anticorps anti-FSH marqué au ruthénium. L'antigène à doser (FSH) est pris en sandwich entre ces deux types d'anticorps d'où l'appellation de "METHODE SANDWICH". Les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées par la suite et le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine. Une différence de potentiel appliquée déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur (Figure 21).

Valeurs de références :

Homme 1.5-12.4 (mU/ml)

Femme

Phase folliculaire : 3.5-12.5 (mU/ml)

Phase ovulatoire : 4.7-21.5 (mU/ml)

Phase lutéale : 1.7-7.7 (mU/ml)

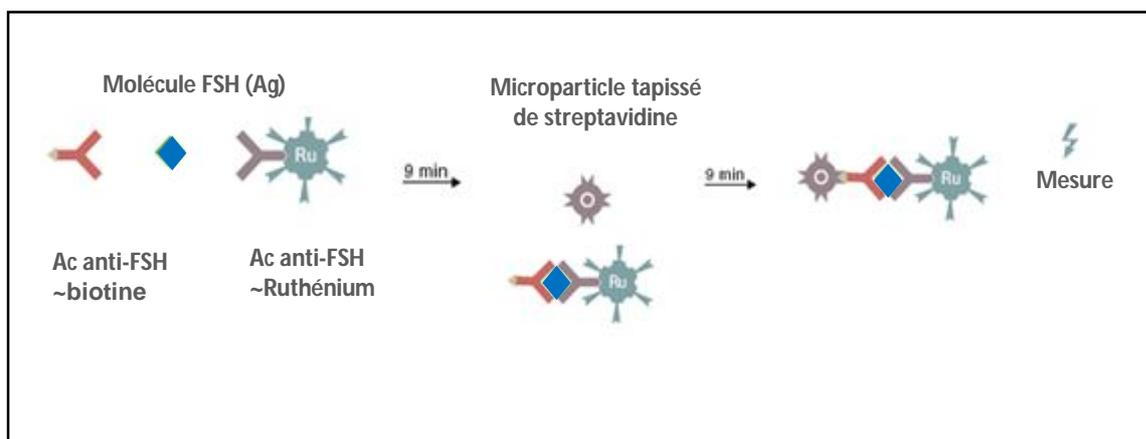


Figure 21. Principe de dosage de FSH par la technique d'électro-chimiluminescence (méthode de sandwich) (Weir, 2005)

- **Dosage de LH**

Principe

Le principe de dosage de LH est comparable à celui de FSH, par une technique immunologique électro-chimiluminescence (ECLIA) décrite ci-dessus. Les anticorps anti-FSH sont remplacés par des anti-LH spécifiques. Les valeurs de références sont décrites ci-dessous :

Homme 1.70-8.60 (mU/ml)

Femme

Phase folliculaire : 1.9-12.5 (mU/ml)

Phase ovulatoire : 8.7-76.3 (mU/ml)

Phase lutéale : 0.5-19.9 (mU/ml)

- **Dosage de testostérone**

Principe

Il s'agit d'un dosage immunologique par électro-chimiluminescence. La présente méthode utilise un seul anticorps monoclonal anti-testostérone spécifique biotinylé. L'analyte (antigène) entre en compétition avec le traceur (analyte marqué=testostérone marqué au ruthénium) vis-à-vis de l'anticorps. Le complexe formé est isolé par fixation sur une phase solide. Le signal émis sous l'influence de différence de potentiel est mesuré, il décroît quand la concentration de l'analyte augmente (Figure 22).

Valeurs de références

Homme 2.80-11.5 (ng/ml)

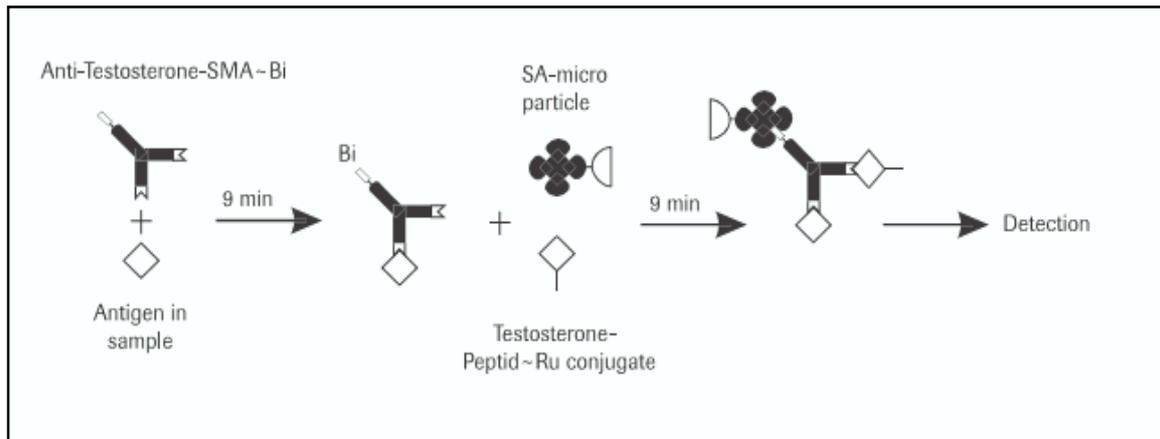


Figure 22. Principe de dosage de testostérone par la technique d'électro-chimiluminescence (méthode de compétition) (Weir, 2005)

1.3.1.2 Spermogramme

Le spermogramme est l'examen clé qui permet une appréciation quantitative et qualitative du sperme. Il permet une double analyse :

- L'évaluation de l'activité sécrétoire à travers la mesure du volume, de pH et de la viscosité ;
- La production gamétique à travers la numération, mobilité et la vitalité du sperme.

✓ Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est le volume spermatique entier recueilli chez des sujets soupçonnés infertiles ou stériles, après 3 jours d'abstinence sexuelle.

✓ Matériel et réactifs

Voir annexe 2

• Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet d'évaluer un certain nombre de paramètres :

- **Liquéfaction** : Dès sa réception, l'échantillon de sperme est déposé dans une étuve à 37°C pendant 30 minutes pour assurer sa liquéfaction. Au terme de celle-ci, l'examen est réalisé. Une liquéfaction prolongée doit être notée si l'éjaculat ne se liquéfie pas après ce délai.

- **Couleur** : L'observation de la couleur est faite à l'œil nu. Un sperme normal a un aspect homogène gris opalescent, et peut prendre une couleur brune en cas hémospémie ou jaunâtre qui témoigne une probable infection.

- **Odeur** : On utilise notre propre odorat pour déterminer ce paramètre. À l'état normal le sperme a une odeur caractéristique chlorée, alors qu'en cas d'infection l'odeur du sperme peut devenir fétide.

- **Viscosité** : Elle est évaluée en plongeant une pipette Pasteur dans le sperme, en notant la façon dont le sperme s'écoule. Un sperme d'une viscosité normale, s'écoule sous forme de gouttes bien séparées alors qu'un sperme de forte viscosité forme des filaments de plus de 2 cm entre chaque goutte.

- **Volume** : Il est estimé à l'aide d'une éprouvette graduée, la mesure est faite à 0.1 ml près. Un volume normal se situe entre 2 à 6 ml, au dessous de 2 ml on note une hypospermie et en dessus de 6 ml on parle d'une hyperspermie. En cas d'absence d'éjaculat on note une aspermie.

- **pH** : Une goutte de sperme est déposée sur une bandelette de papier pH, la couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture. Le pH est mesuré dans l'heure qui suit l'éjaculation, il est normalement compris entre 7.2 et 8.

• Examen microscopique

L'analyse microscopique est réalisée après préparation des échantillons en fonction du paramètre à apprécier.

- **Mobilité et qualité du mouvement** : Une goutte de sperme (20µl) bien homogénéisée est déposée entre une lame et une lamelle. Plusieurs champs sont observés au grossissement (40X) et le mouvement de chaque spermatozoïde rencontré est analysé puis classé selon 3 formes (Jouannet, 1977).

- ❖ Les spermatozoïdes traversant le champ microscopique suivant un trajet régulier, rapide et progressif sont considérés comme forme à mobilité normale ;
- ❖ Les spermatozoïdes ondulant sur place ou traversant lentement le champ ou présentant un trajet irrégulier sont considérés comme formes à mobilité diminuée ;
- ❖ Si aucun mouvement n'est observé, les spermatozoïdes sont considérés comme formes immobiles.

Quatre à six champs sont parcourus pour classer 100 spermatozoïdes consécutifs et calculer leur pourcentage respectif dans chacune des formes. Selon les normes plus de 50% de spermatozoïdes doivent présenter une progression rapide rectiligne. En dessous de cette valeur, on parlera d'une asthénospermie.

- **Appréciation de l'agglutination** : Sur la lame précédemment préparée, plusieurs champs microscopiques consécutifs sont parcourus pour apprécier la présence ou non d'agglutinats spontanés de spermatozoïdes entre eux par la tête, la pièce intermédiaire ou bien le flagelle. En fonction de l'appréciation, l'autoagglutination est notée à l'aide de croix, (+) nombre réduit, (++) plus ou moins important, (+++) important. Un sperme normal ne contient pas d'agglutinats spontanées de spermatozoïdes.

- **Numération des spermatozoïdes** : La numération des spermatozoïdes est évaluée en nombre de spermatozoïdes par ml compté dans un hémocytomètre après immobilisation. Dans un tube à hémolyse, le liquide spermatique est dilué au 1/10 (0.1ml de liquide spermatique et 0.9ml de solution de Ringer formolé). La solution est par la suite homogénéisée puis introduite par capillarité à l'aide d'une pipette Pasteur dans le compartiment de la cellule (entre une lamelle calibrée et le support de la cellule de Thoma). Après 10 minutes de repos, la lecture est réalisée par comptage des spermatozoïdes sur chaque grille, sous un microscope optique au grossissement (40X). Le calcul de la concentration des spermatozoïdes, exprimée en millions/ml est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Concentration} = N^{\text{bre}} \text{ de spermatozoïde} \times \text{Dilution} \times \text{Volume} \times 1000$$

- **Concentration des cellules rondes** : Elle est mesurée à l'état frais à l'aide d'un hémocytomètre. La concentration en cellules rondes d'un éjaculat normal n'excède pas 10^6 cellules/ml (inférieure à 5% de la concentration totale des spermatozoïdes).

- **Viabilité (coloration Éosine-Nigrosine)** : Le test de viabilité est évalué par la coloration Éosine-Nigrosine. Ce test permet d'estimer la nécrospermie par la recherche des spermatozoïdes morts et vivants sur des frottis spermatiques.

Une goutte de sperme est mélangée à 2 gouttes d'Éosine à 1% dans un tube à hémolyse. Après 30 secondes, on ajoute 2 gouttes de Nigrosine à 10%. Le frottis est préparé à partir d'une goutte de mélange déposée sur une lame, puis laissée sécher à l'air libre.

La lecture est faite sous un microscope optique, au grossissement (40X). Ainsi, les spermatozoïdes morts apparaissent colorés en rose, alors que les spermatozoïdes vivants sont incolores. 100 spermatozoïdes sont comptés sur plusieurs champs consécutifs et le pourcentage des spermatozoïdes morts ainsi le pourcentage des spermatozoïdes vivants sont déterminés.

Un sperme normal contient plus de 75% de formes vivantes. Au dessous de 50% de cellules vivantes, on parle d'une nécrospermie.

1.3.1.3 Spermocytogramme

Le spermocytogramme est une analyse morphologique des spermatozoïdes. Il est déterminé par une coloration simple de Papanicolaou sur un frottis spermatique (Annexe 3).

Le pourcentage des formes typiques et atypiques est dénombré selon la classification de David (1975). Un spermocytogramme est considéré normal quand il comporte plus de 50% de spermatozoïdes normaux, en dessous de cette valeur on parle d'une tératozoospermie. La préparation des frottis est décrite comme suit :

- On met 10 µl de sperme liquéfié et homogénéisé sur une lame propre ;
- On tire la goutte de sperme à l'aide d'une autre lame et laisser les frottis sécher dans l'air ;
- On fixe les frottis dans l'alcool éther pendant 5 à 15 minutes et laisser sécher à l'air ;
- On colore les lames en utilisant la méthode de coloration de Papanicolaou ;
- On monte les lames.

La lecture de la morphologie est effectuée sur 100 spermatozoïdes au grossissement à l'immersion (100X). Nous avons utilisé la classification de David établie en 1975 (annexe 4) qui recense :

❖ Sept anomalies de la tête :

- Tête allongée : le grand axe est plus long que la normale et le petit axe présente une longueur normale ;
- Tête amincie : le petit axe a une longueur plus petite que la normale et le grand axe présente une longueur normale ;
- Tête microcéphale : le grand axe et le petit axe sont plus petits que la normale ;
- Tête macrocéphale : le grand axe et le petit axe sont plus grands que la normale ;
- Tête multiple : plus d'une tête par spermatozoïdes ;

- Tête à acrosome anormal ou absent : l'acrosome normal occupe 40-70% de la surface de l'acrosome. L'acrosome normal joue un rôle important dans l'interaction des spermatozoïdes avec l'ovocyte ;
- Tête présentant une base (région post-acrosomique) anormale: cette anomalie correspond à un défaut de la morphogenèse de la tête et ou du noyau dans sa partie distale.
- ❖ Trois anomalies de la pièce intermédiaire :
 - Le reste cytoplasmique: est considéré comme anomalie s'il y a une surface supérieure au tiers de la surface d'une tête normale. Il se situe à la jonction de tête à la pièce intermédiaire ;
 - Pièce intermédiaire grêle: correspond à une gaine mitochondriale qui ne s'est pas constituée ;
 - Pièce intermédiaire enroulée: la pièce intermédiaire et l'axe de la tête forment un angle net ;
- ❖ Cinq anomalies du flagelle :
 - Flagelle absent : ou la pièce connective est rudimentaire ;
 - Flagelle court : flagelle inférieur a cinq fois la longueur de la tête ;
 - Flagelle irrégulier : quand le diamètre du flagelle est variable, présentant des rétrécissements ou élargissement ;
 - Flagelle enroulé : flagelle enroulé autour de la tête ou en dehors de la tête ;
 - Flagelle multiple : il y a plus d'un flagelle par spermatozoïde, la pièce intermédiaire étant commune ou multiple.

1.3.2 Examen cytogénétique

L'examen cytogénétique consiste à réaliser un caryotype standard sur un prélèvement sanguin, afin de mettre en évidence les anomalies chromosomiques responsables de la stérilité chez les cas étudiés.

1.3.2.1 Technique de caryotype sur sang total

✓ Matériel et réactifs

Voir l'annexe 5

1.3.2.1.1 Prélèvement

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux dans un tube contenant un anticoagulant (l'héparine de lithium). La quantité de sang nécessaire est de 2 à 5ml.

Le laboratoire doit être prévenu de l'envoi d'un échantillon, dans la mesure du possible avant son prélèvement, afin d'en optimiser les conditions de recueil.

Le sang peut être conservé à 4°C jusqu'à la certitude d'avoir obtenu une culture permettant la réalisation du caryotype (une durée maximale de 4 jours).

1.3.2.1.2 Mise en culture

Le principe est de cultiver les lymphocytes T du sang périphérique dans un milieu de culture stérile en présence de Phytohématagglutinine-C (PHA-C) pour induire leur prolifération mitotique (agent mitogène).

✓ Préparation du milieu de culture

Le RPMI est un milieu de culture fourni prêt à l'emploi (préparé avant utilisation). Il est appelé également milieu de Moore (Référence : RPMI-1640).

Sa préparation consiste à ajouter dans un flacon et sous la hotte 80ml de RPMI, 20ml de SVF (Sérum de veau fœtal), 200µl de streptomycine et pénicilline et 400µl de glutamine.

On prélève 8ml de ce milieu préparé et on le met dans un tube de type Falcon de 10ml. On ajoute 50µl de PHA-C, 16µl d'héparine et 50µl de sang. Ensuite les tubes sont rebouchés (deux tubes par patient) et les placer dans l'étuve à 37°C pendant 72h (cultures brèves plus facile à réaliser).

L'obtention des cultures sous microscope après 72h n'est pas nécessaire, les manipulations pour l'obtention du caryotype seront entamées directement.

1.3.2.1.3 Obtention des préparations métaphasiques

✓ Blocage des cellules en métaphase

Après 72h, on effectue un blocage des cellules en métaphase par l'ajout de 100µl de colcémide à 10mg/l, puis on homogénéise les tubes en les retournant doucement plusieurs fois.

On remet les tubes dans l'étuve à 37°C pendant 2h en position horizontale pour que la colcémide puisse agir.

Classiquement, c'est la colchicine qui est utilisée ou son équivalent synthétique la colcémide. C'est un poison du fuseau mitotique, qui inhibe la polymérisation des tubulines dans les microtubules nécessaires à l'édification du fuseau mitotique, et empêche ainsi l'évolution de la mitose vers l'anaphase. Les chromosomes vont rester bloqués au niveau de la plaque équatoriale.

✓ Choc hypotonique

Au bout de 2h, on centrifuge les tubes pendant 5min à 2000trs/min. On élimine le surnageant et on ajoute 1ml de KCl à 0.075M pour réaliser le choc hypotonique, bien remettre en suspension au vortex le culot dans ce volume puis ajouter le reste et homogénéiser en complétant jusqu'à 10ml.

On remet ensuite les tubes à l'étuve à 37°C pendant 30min en position horizontale.

La solution hypotonique (KCl à 0.075M) entraîne un gonflement des cellules par effet osmotique en éparpillant les chromosomes. Si on saute cette étape, les chromosomes ne seront pas bien dispersés.

✓ Fixation

On prépare la solution de fixation qui est un mélange d'éthanol et d'acide acétique (Solution de Carnoy), avec des proportions de 3 volumes d'éthanol (CH₃CH₂OH) de 100% et 1 volume d'acide acétique (CH₃-COOH) de 99-100%.

Avant la fixation, on centrifuge les tubes 5min à 2000trs/min et on élimine incomplètement le surnageant, en s'arrêtant juste au dessus des débris d'hématies.

On remet le culot en suspension par l'ajout de 1ml de fixateur tout en agitant, et on complète ensuite le tube jusqu'à 4ml (ce premier lavage ne sert qu'à éliminer le reste du KCl).

On centrifuge à 2000 trs/min pendant 5min et on verse le surnageant.

On répète l'étape de fixation, centrifugation et élimination du surnageant jusqu'à l'éclaircissement du culot. Dans ce cas, on retire le surnageant avec une pipette Pasteur en laissant comme même 0.5 à 1ml : un volume proportionnel avec la quantité du culot cellulaire. Ce paramètre aura son importance par la suite sur la détermination de la densité des lames en noyaux.

La suspension fixée peut être soit étalée immédiatement, soit conservée à 4°C, pour être étalée ultérieurement.

L'objectif de cette étape est donc, de préserver les structures internes des cellules pour pouvoir appliquer les techniques de coloration et de marquage chromosomique.

✓ **Étalement des lames**

L'étalement a pour but d'obtenir des métaphases avec des chromosomes bien séparés et non réfringents.

C'est une étape difficile à réaliser. Sa réussite dépend de plusieurs facteurs (propreté des lames, conditions d'hygrométrie et de température du laboratoire).

Tout d'abord, on précède à la phase de préparation des lames qui est comme suit :

- Les lames doivent être parfaitement propres, et surtout non hydrophobes ;
- On range les lames dans un portoir en verre et on les plonge au moins 24h dans l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 35% ;
- On rince abondamment les lames à l'eau courante dans leurs portoirs au moins pendant 30min ;
- On frotte rapidement les lames sur l'eau courante puis on les plonge verticalement dans un bûcher de 250ml d'eau distillée;
- On place les lames dans un porte lames à -20°C pendant 40min.

La préparation est alors étalée (3 lames pour chaque tube) en laissant tomber quelques gouttes (une à deux gouttes) de suspension verticalement d'une hauteur de 10cm environ sur la lame.

À chaque étalement, on fait sortir uniquement une lame du congélateur de -20°C et la placer horizontalement sur un papier filtre imbibée d'eau. Les lames étalées sont par la suite séchées à l'air libre. Elles peuvent être soit directement colorées au Giemsa ou traitées par des techniques de bandes.

1.3.2.1.4 Dénaturation et coloration des chromosomes

✓ Technique directe : coloration au Giemsa

Cette coloration consiste à déposer le colorant Giemsa sur la lame étalée jusqu'à couvrir toute sa surface. On le laisse agir pendant 10min et on rince ensuite les lames à l'eau courante.

Cette coloration basée sur le principe que le Giemsa est un mélange de molécules principalement du groupe de thiazines, chargées positivement, qui interagissent avec les groupements phosphate de l'ADN. La liaison thiazine-ADN provoque une diminution de la longueur d'onde d'absorbance du colorant qui passe de bleu pâle au bleu foncé (Hayes et *al.*, 1998).

✓ Technique de dénaturation : banding-R

Cette technique est basée sur le principe de la dénaturation thermique de l'ADN (séparation des 2 chaînes).

Elle consiste à mettre les lames étalées dans une solution physiologique saline Earl (milieu EBS) dilué à 1/10 avec de l'eau distillée pendant 75min à 87°C . Cette solution, qui peut être fourni prêt à l'emploi ou être préparée extemporanément au laboratoire, a un pH de 5.2 qui est ajusté à 6.5 par l'addition des cristaux de Na_2HPO_4 (Phosphate de sodium anhydre).

Les lames étalées le même jour sont plongées directement dans la solution de dénaturation (Earl à pH de 6.5) qui est préchauffé à 87°C au bain marie. Alors que les lames vieilles seront réhydratées dans l'eau distillée avant la dénaturation qui dure dans ce cas de 15 à 45min.

À la fin du traitement, les lames sont rincées rapidement avec de l'eau courante et colorées au Giemsa pendant 10min. On laisse les lames séchées à l'air libre après le rinçage avec de l'eau courante (Dutrillaux et Lejeune, 1971).

1.3.2.1.5 Lecture des lames

La lecture des lames se fait au microscope optique équipé d'un système d'acquisition d'image, relié à un ordinateur muni d'un système de traitement d'image (logiciel MOTIC Images plus 2.0). On utilise dans un premier temps le grossissement (x10) pour localiser les bonnes mitoses puis l'objectif (x100) à immersion. Ensuite, les chromosomes seront classés. De 15 à 20 mitoses ont été analysées pour chaque patient. En cas de mosaïsme le nombre de mitoses peut atteindre jusqu'à 100.

1.3.3 Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel Excel 2007TM et XL STATA 2010 version 12,4,01 AddinosoftTM.

Les résultats sont présentés en valeurs absolues et en pourcentage pour les variables qualitatives et par les moyennes \pm écart-types pour les variables quantitatives.

La comparaison entre les valeurs qualitatives a été réalisée à l'aide du test de χ^2 de Pearson ou Yates. Il est particulièrement utilisé comme test d'adéquation d'une loi de probabilité à un échantillon d'observations supposées indépendantes.

La formule est la suivante :

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{effectif observé} - \text{effectif théorique})^2}{\text{effectif théorique}}$$

Si $P < 0.05$, le test est dite significatif

$P > 0.05$, le test est en dehors de domaine de signification.

La comparaison des valeurs moyennes a été faite par le test T de Student dont la formule est la suivante :

$$T = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{A \sqrt{1/N_1 + 1/N_2}} \quad \text{avec} \quad A = \sqrt{\frac{N_1\sigma_1^2 + N_2\sigma_2^2}{N_1 + N_2}}$$

\bar{X}_1 et \bar{X}_2 : moyennes à comparer

σ_1^2 et σ_2^2 : variances

N_1 et N_2 : nombre des cas étudiés (malades et témoins)

Le T calculé est comparé au T théorique, de la table de Student, par un ddl= $N_1+N_2 - 2$.

Avec $\alpha = 0.05$ (5% de risque d'erreur ; $P < 0.05$ statistiquement significative) (Amotte, 1971 ; Schwartz, 1992).

Chapitre2 : Résultats

Sur une population de 84 individus, 57 présentant une infertilité ont été intégrés dans cette étude, dont 27 hommes et 30 femmes, ainsi qu'une population témoins de 27 personnes.

2.1 Répartition des patients selon l'âge et le sexe

L'âge moyen de nos patients (es) est de 34.2 ans, celui-ci étant significativement non différent entre les hommes et les femmes (34.6 ans chez les hommes versus 33.9 ans chez les femmes), $P > 0.05$ (Tableau 3).

Tableau 3. Distribution des cas infertiles selon l'âge et le sexe

	Totale (N=57)	Homme (N=27)	Femme (N=30)	P
Age moyen	34.2±5.93	34.6±5.68	33.9±6.22	0.31
Tranche d'âge				
20-29 ans	12 (21.05%)	06 (22.22%)	06 (20.00%)	0.83
30-39 ans	32 (56.14%)	14 (51.85%)	18 (60.00%)	0.53
40-49 ans	13 (22.80%)	07 (25.92%)	06 (20.00%)	0.59

La tranche d'âge de 30-39 ans était la plus représentée avec une fréquence de 51.85% pour les hommes et 60% pour les femmes. Ceci peut s'expliquer par l'âge du mariage qui est de plus en plus tardif (Figure 23).

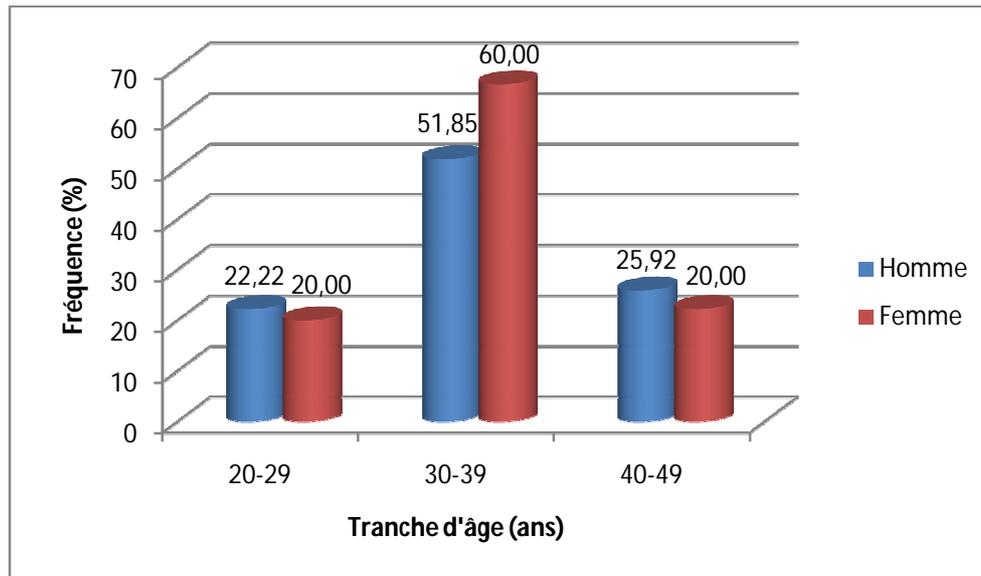


Figure 23. Répartition des cas infertiles selon la tranche d'âge et le sexe

2.2 Répartition des patients selon le type d'infertilité

Selon le motif de consultation nous avons recensé 22 hommes présentant une infertilité primaire et 05 hommes présentant une infertilité secondaire (Figure 24), soit des pourcentages respectifs de 81.48% et 18.52%.

Chez les femmes, on note une fréquence de 66.66% (20 cas) pour l'infertilité primaire et 33.34% (10 cas) pour l'infertilité secondaire.

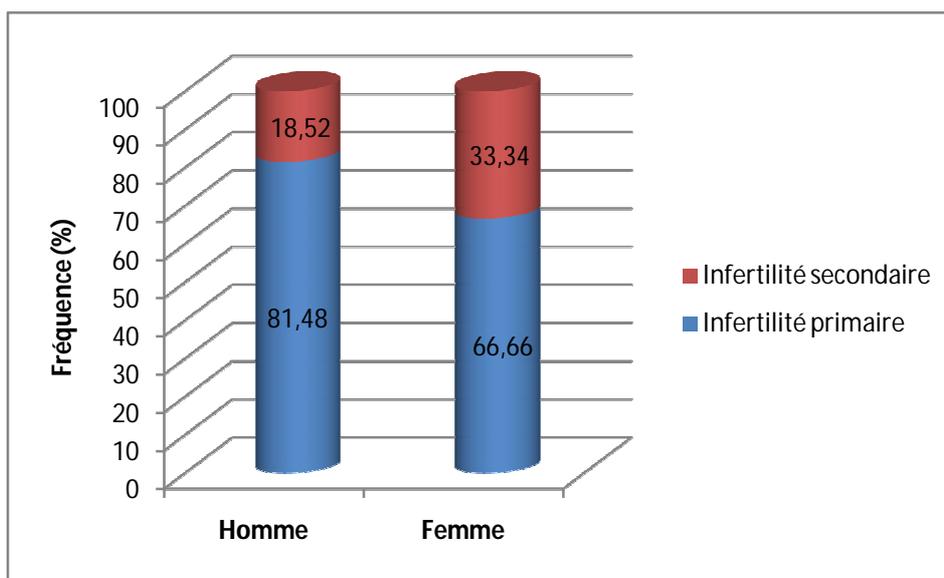


Figure 24. Répartition des cas infertiles selon le type d'infertilité et le sexe

2.3 Résultats des analyses spermatiques et hormonales

2.3.1 Analyse spermatique

Les résultats obtenus consignés dans le tableau 4, ont montré que le pH d'éjaculats moyen est normal, compris entre 7 et 8. Il est de 7.73 chez les hommes infertiles et 7.78 chez les hommes fertiles. Il n'y avait pas de différence significative, $P > 0.05$.

Le volume séminal moyen est de (3.05 ± 0.95) ml. Celui-ci étant significativement plus élevé chez les hommes fertiles que chez les hommes infertiles (3.54 ml versus 2.84 ml), $P = 0.008$.

La moyenne de la numération spermatique de (12.27 ± 8.47) millions/ml a été observée dans le groupe de patients d'hommes infertiles. Alors que chez les hommes fertiles, la moyenne est de (95.80 ± 20.3) millions/ml. La différence entre les deux groupes est hautement significative, $P < 0.001$.

L'analyse de la mobilité des spermatozoïdes montre que les formes immobiles sont les plus représentées chez les hommes infertiles avec une moyenne de $(54.5 \pm 35.9)\%$, suivie par des formes de mobilité rapide et lente, soit des moyennes respectives de 26.3% et 8.13%. Tandis que, le groupe d'hommes fertiles se caractérise par des spermatozoïdes de mobilité rapide, suivie par des formes de mobilité lente et immobile. Les moyennes respectives sont dans l'ordre de 71.25%, 15.83% et 12.08%. On note une différence hautement significative entre les deux groupes d'hommes fertiles et infertiles, $P < 0.001$.

Les fréquences des formes typiques et des formes atypiques des spermatozoïdes montrent que dans le cas des normospermies fertiles, les moyennes sont de 78.75% de formes typiques contre 21.25% de formes atypiques. Alors que dans le cas des spermocytogrammes anormaux des hommes infertiles, les moyennes des formes typiques et atypiques présentent respectivement 29.2% et 70.7%. Une différence significative a été notée entre les hommes fertiles et infertiles pour les deux formes morphologiques des spermatozoïdes, $P < 0.001$.

Tableau 4. Comparaison des différents paramètres spermatiques chez les hommes fertiles et infertiles

Paramètre spermatique	Totale (N=39)	Homme fertile (N=12)	Homme infertile (N=27)	P
pH	07.74±0.30	07.78±0.27	07.73±0.31	0.30
Volume séminal (ml)	03.05±0.95	03.54±0.68	02.84±0.98	0.008
Concentration spermatique (x10⁶ SPZ/ml)	37.98±41.17	95.80±20.30	12.27±08.47	<0.001
Mobilité				
Rapide (%)	40.12±32.72	71.25±08.29	26.30±29.80	<0.001
Lente (%)	10.50±06.30	15.83±05.97	08.13±04.90	<0.001
Immuable (%)	41.43±35.84	12.08±06.20	54.50±35.90	<0.001
Morphologie				
Typique (%)	54.22±32.40	78.75±7.91	29.20±26.90	<0.001
Atypique (%)	45.78±32.40	21.25±7.91	70.70±26.90	<0.001

SPZ : Spermatozoïde

2.3.1.1 Fréquence des anomalies spermatiques

Tel que spécifié dans les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé, la concentration, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes sont des critères les plus communément utilisés pour déterminer le type d'anomalie. Les valeurs de références sont décrites comme suit : numération ≥ 20 millions/ml, mobilité $\geq 50\%$ et morphologie normale $\geq 30\%$.

Dans notre étude, l'anomalie spermatique la plus fréquente est celui d'oligo-asthénotérazoospermie dans 25.92% (Figure 25), suivie respectivement par l'asthénotérazoospermie (14.81%), l'oligozoospermie (14.81%), l'azoospermie et l'oligo-asthénozoospermie dans 11.11%. Des anomalies à moindre fréquences sont aussi observées, tels que l'asthénozoospermie et la térazoospermie dans 7.4%. Par ailleurs, des proportions identiques sont enregistrées dans le cas de l'oligo-térazoospermie et la nécrozoospermie, ils sont de l'ordre de 3.7% des cas étudiés.

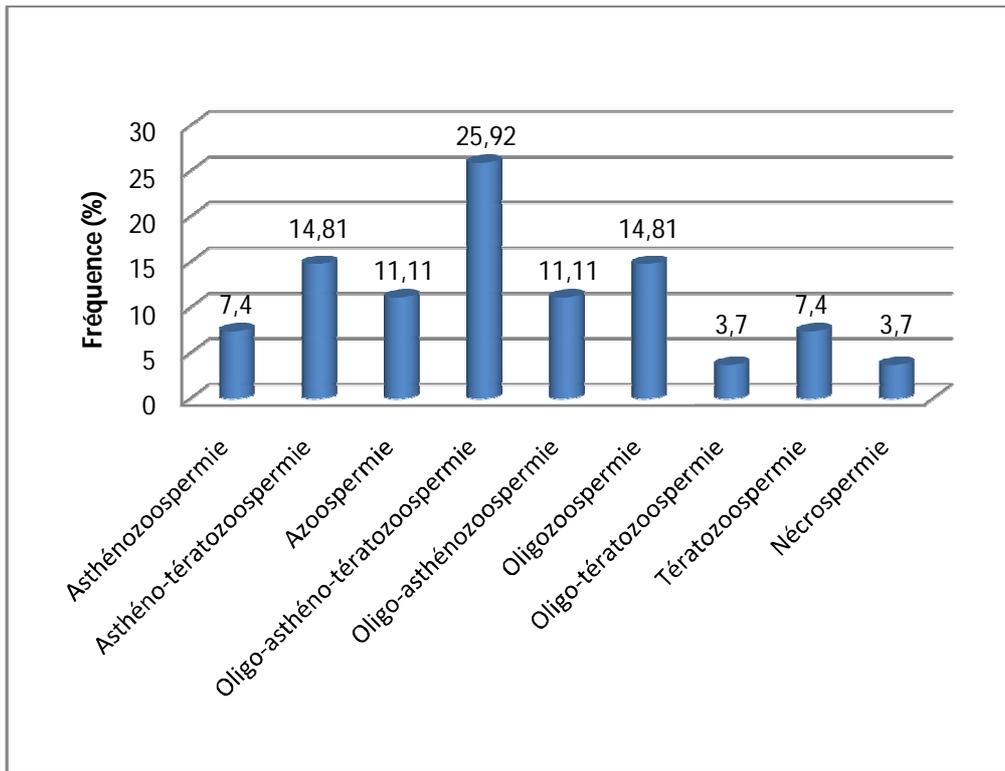


Figure 25. Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques

2.3.1.2 Anomalies morphologiques des spermatozoïdes

*L'*étude détaillée de la morphologie des spermatozoïdes chez les hommes infertiles montre que la forme irrégulière de la tête est la plus prédominante avec une valeur moyenne de $(7.07 \pm 8.02)\%$. Celle-ci étant significativement plus élevée par rapport à la valeur moyenne des formes irrégulières des hommes fertiles $(2.08 \pm 2.81)\%$, $P=0.003$.

Les formes atypiques de la pièce intermédiaire sont dominées par la forme angulée avec une fréquence moyenne de $(11.9 \pm 10.2)\%$ chez les hommes infertiles, contre $(5.92 \pm 5.81)\%$ chez les hommes fertiles. La différence est significative, $P=0.014$.

Pour les anomalies du flagelle, la forme courte et la forme enroulée sont les plus observées chez les hommes infertiles avec des valeurs moyennes de 6.21% et 6.1% respectivement. La différence est significative par rapport au groupe d'hommes fertiles (les moyennes de la forme courte et de la forme enroulée sont 1.92% et 1.83% respectivement), $P < 0.05$ (Tableau 5).

Tableau 5. Comparaison des valeurs moyennes des anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez les hommes fertiles et infertiles

Type d'anomalie	Totale (N=39)	Homme fertile (N=12)	Homme infertile (N=27)	P
Tête				
Allongée (%)	1.72±3.31	0.16±0.38	2.42±3.79	0.005
Amincée (%)	2.23±4.24	1.00±0.54	2.78±4.89	0.05
Microcéphalée (%)	1.94±5.40	1.00±2.13	2.37±6.34	0.16
Macrocéphalée (%)	2.97±7.04	1.50±2.24	3.63±8.30	0.11
Dupliquée (%)	2.44±6.50	1.58±2.78	2.81±7.62	0.23
Irrégulière (%)	5.54±7.20	2.08±2.81	7.07±8.02	0.003
En lyse (%)	0	0	0	-
Pièce intermédiaire				
Reste cytoplasmique (%)	5.95±8.22	2.00±2.41	7.70±9.27	0.002
Angulation (%)	10.03±9.45	5.92±5.81	11.9±10.2	0.014
Pièce intermédiaire grêle (%)	2.02±4.82	0.25±0.86	2.81±5.62	0.014
Flagelle				
Absent (%)	2.05±3.47	0.41±0.99	2.78±3.93	0.003
Court (%)	4.89±6.72	1.92±3.20	6.21±7.47	0.008
Enroulé (%)	4.79±8.67	1.83±2.08	6.10±10.1	0.022
Double (%)	2.76±5.98	1.17±2.59	3.48±6.91	0.069
Isolé (%)	2.20±4.81	0.41±0.99	3.00±5.60	0.014

2.3.2 Analyse hormonale

2.3.2.1 Chez les hommes

Le tableau 6 énumère les niveaux d'hormones de patients impliqués dans cette étude. Les niveaux de FSH et de LH étaient significativement plus élevés pour les hommes infertiles avec des valeurs moyennes de 13.14 (mU/ml) pour le FSH et 9.10 (mU/ml) pour le LH, $P < 0.001$. Cependant, le taux moyen de la testostérone chez les hommes infertiles est moins élevé par rapport au groupe d'hommes fertiles, 3.18 (mU/ml) et 6.15 (mU/ml) respectivement. La différence est hautement significative, $P < 0.001$.

Tableau 6. Valeurs hormonales moyennes des hommes fertiles et infertiles

Dosage hormonale	Totale (N=39)	Homme fertile (N=12)	Homme infertile (N=27)	P
FSH (mU/ml)	10.72±4.15	5.28±1.22	13.14±2.19	<0.001
LH (mU/ml)	7.74±2.61	4.69±0.79	9.10±1.89	<0.001
Testostérone (ng/l)	4.08±2.11	6.15±1.30	3.18±1.73	<0.001

2.3.2.2 Chez les femmes

L'analyse hormonale chez les femmes montre que la valeur moyenne de FSH est significativement plus élevée chez les femmes infertiles par rapport au groupe de femmes témoins (fertiles), 15.67 (mU/ml) et 10.25 (mU/ml) respectivement, $P=0.0001$. Cependant, pour le LH, il n'y avait pas de différence significative entre les moyennes des deux groupes, $P=0.23$ (Tableau 7).

Tableau 7. Valeurs hormonales moyennes des femmes fertiles et infertiles

Dosage hormonale	Totale (N=45)	Femme fertile (N=15)	Femme infertile (N=30)	P
FSH (mU/ml)	13.87±5.64	10.25±1.67	15.67±6.06	0.0001
LH (mU/ml)	09.92±2.87	09.51±2.32	10.13±3.13	0.23

2.4 Résultats de l'analyse cytogénétique

❖ Choix des cas infertiles

Nous avons choisi de présenter les résultats de l'analyse cytogénétique pour 6 cas infertiles dont 4 hommes et 2 femmes. Ce choix s'effectue en fonction de :

- La présence de tous les signes cliniques et biologiques d'une atteinte testiculaire ou ovarienne d'origine génétique ;
- L'existence d'anomalies cytogénétiques associées à la pathologie en question.

2.4.1 Interprétation des caryotypes

L'étude des caryotypes se fait sur plusieurs mitoses de lames différentes. Un minimum de 20 mitoses sera observé et 5 classements réalisés pour chaque malade, les meilleurs résultats pour chaque patient seront présentés.

Les chromosomes colorés uniformément ne peuvent être distingués que par leurs tailles et la position de leurs centromères. On peut distinguer 7 groupes de chromosomes (Figure 26):

- Le groupe A : Chromosomes 1, 2 et 3, chromosomes longs et métacentriques ;
- Le groupe B : Chromosomes 4 et 5, chromosomes longs et submétacentriques ;
- Le groupe C : Chromosomes 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et X, chromosomes moyens et submétacentriques ;
- Le groupe D : Chromosomes 13, 14 et 15, chromosomes longs et acrocentriques ;
- Le groupe E : Chromosomes 16, 17 et 18, chromosomes petits et submétacentriques ;
- Le groupe F : Chromosomes 19 et 20, chromosomes petits et métacentriques ;
- Le groupe G : Chromosomes 21, 22 et Y, chromosomes petits et acrocentriques.

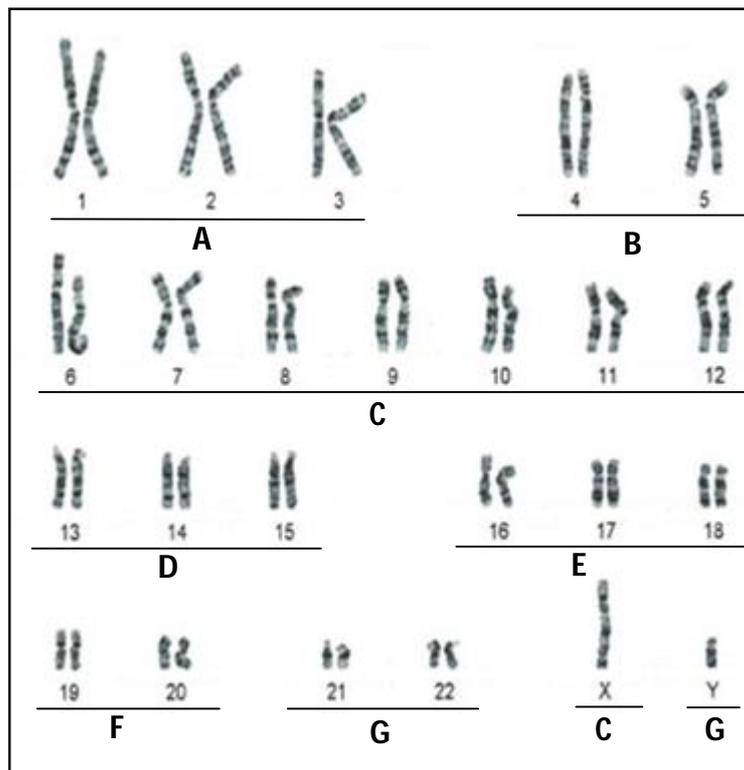


Figure 26. Classement du caryotype en fonction de la taille et la position de centromère (Harper et *al.*, 1999)

La formule chromosomique est établie selon la nomenclature internationale en vigueur (ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature, 1985). Chez l'individu normal, la formule chromosomique s'écrira 46, XY pour l'homme et 46, XX pour la femme (Figures 27 et 28).

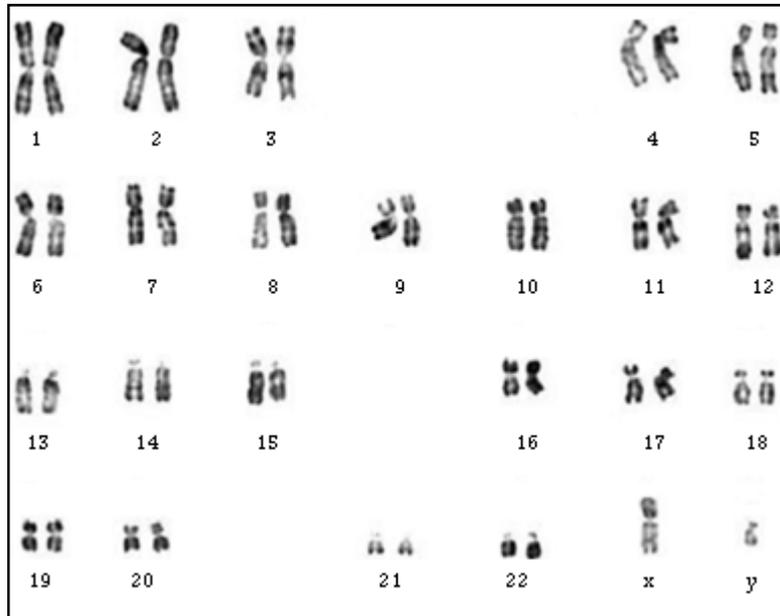


Figure 27. Caryotype masculin normal en bande R. Formule chromosomique : 46,XY.

(X 100) (Hayes et *al.*, 1998)

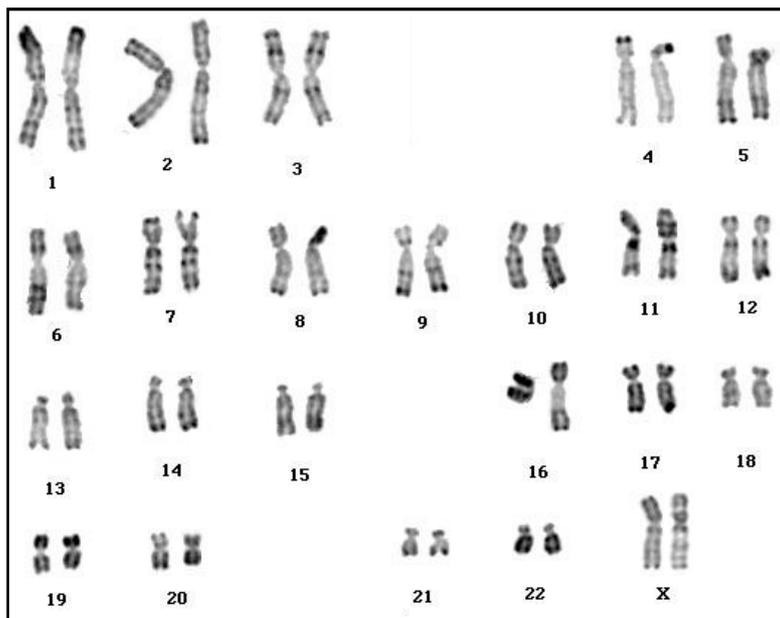


Figure 28. Caryotype féminin normal en bande R. Formule chromosomique : 46,XX.

(X 100) (Hayes et *al.*, 1998)

2.4.2 Présentation des caryotypes des différents cas étudiés

2.4.2.1 Pour les hommes

❖ Cas n° 1

Il s'agit d'un homme âgé de 49 ans dont le spermogramme révèle une azoospermie totale, avec des taux de FSH et LH élevés tandis que, la testostérone est basse.

Les résultats présentés ci-dessous (Figure 29) sont obtenus après réalisation du caryotype standard. Les lames étaient de richesse moyenne avec de bonnes mitoses. Après l'étude de 25 mitoses, le caryotype était de type aneuploïde, avec la présence d'un chromosome X surnuméraire. Il s'agit donc d'un syndrome de Klinefelter typique homogène de la formule chromosomique (47, XXY).

Les résultats observés sur le spermogramme, les analyses hormonales et cytogénétique confirment le type d'infertilité masculine à savoir le syndrome de Klinefelter, ce qui traduit l'hypogonadisme hyper-gonadotrope avec FSH et LH élevés.

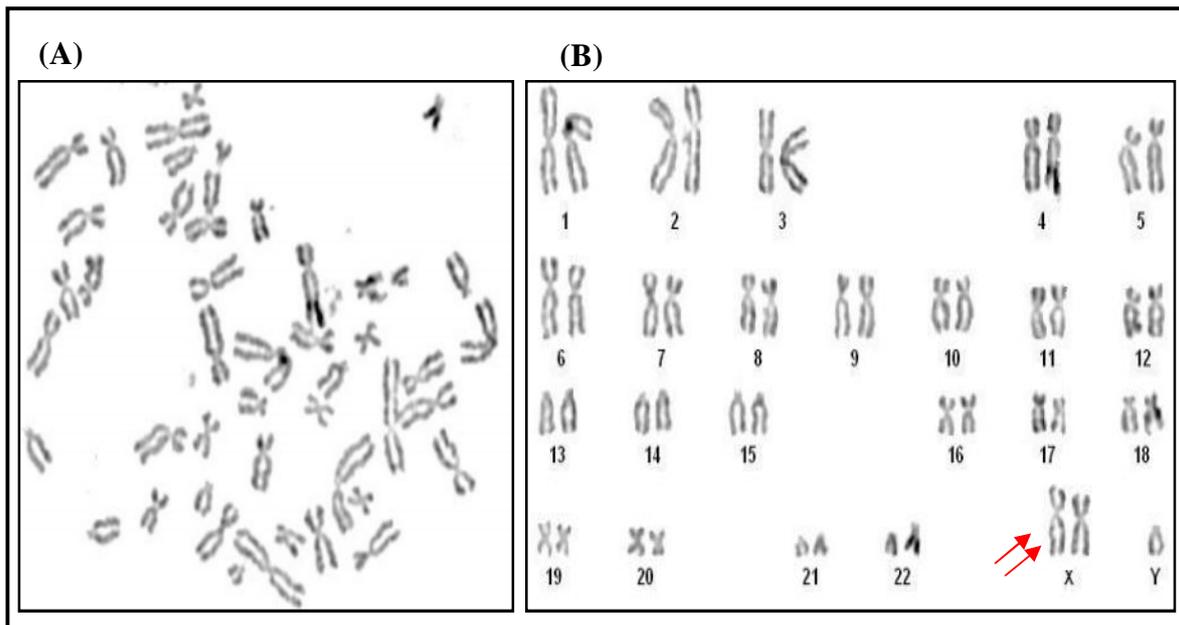


Figure 29. (A) Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard par coloration simple d'un syndrome de Klinefelter homogène (47,XXY)

❖ Cas n° 2

L'homme est de 35 ans. Il présente une azoospermie totale avec un taux de testostérone baisse et de FSH et LH élevé.

Les résultats présentés dans la figure 30 sont obtenus après la dénaturation thermique des préparations métaphasiques ou le R-banding. Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Le marquage en bande montre une anomalie de nombre des chromosomes sexuels pour lesquelles nous observons un chromosome X surnuméraire. Ce résultat a été confirmé après l'étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements. Il s'agit d'un syndrome de Klinefelter homogène (47,XXY).

Ces résultats nous ont amené à conclure le type d'infertilité masculine à savoir le syndrome de Klinefelter, qui est associé à un hypogonadisme hyper-gonadotrope avec des taux de FSH et LH élevés.

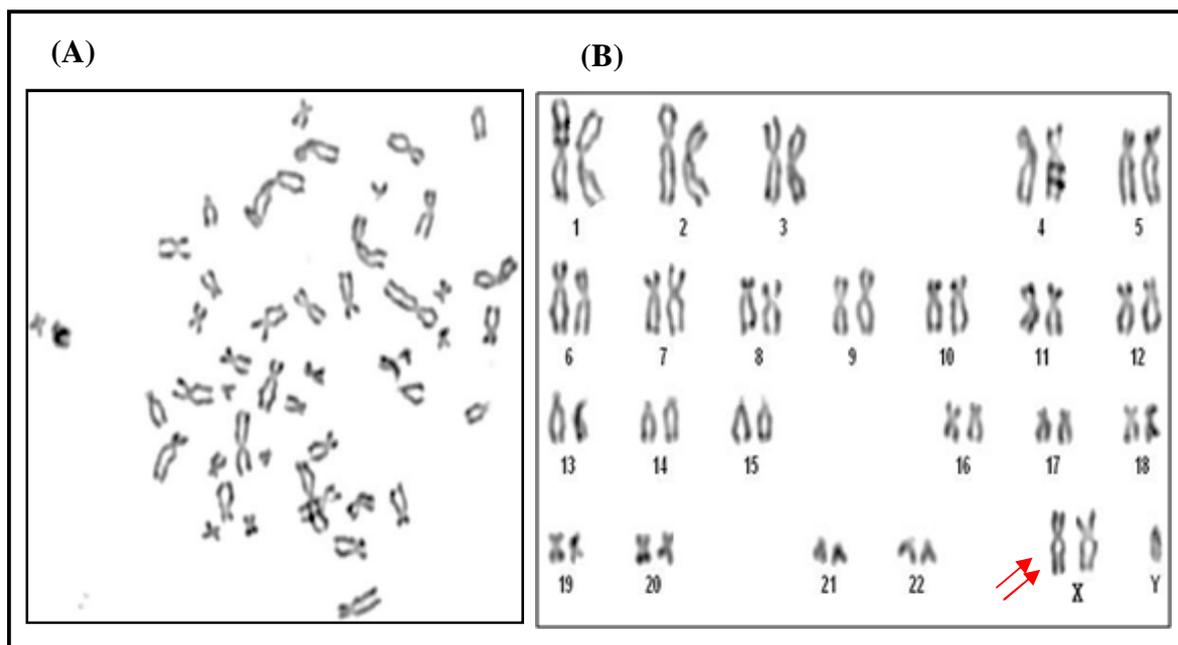


Figure 30. (A) Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard en bandes R d'un syndrome de Klinefelter homogène (47,XXY)

❖ Cas n° 3

L'homme âgé de 32 ans avec une azoospermie. L'examen clinique révèle une hypotrophie testiculaire gauche. L'analyse hormonale montre une élévation du taux de FSH, LH et une normalité du taux de la testostérone.

Les résultats ont été obtenus après la réalisation d'un caryotype standard par coloration simple-Giemsa. Les métaphases sont présentées dans la figure 31. Après l'étude de 30 mitoses, nous avons constaté l'existence de 2 sous-populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

- La première sous-population montre un caryotype aneuploïde, présentant une anomalie de nombre avec un chromosome X surnuméraire. Elle est de type 47,XXY.
- La deuxième sous-population se caractérise par un caryotype euploïdie (normale), ne présentant aucune anomalie de nombre. Elle est de type 46, XY.

Ce caryotype correspond à une mosaïque, bien que le nombre de mitoses étudiées ait été insuffisant pour confirmer l'existence de ce type d'anomalies (le mosaïcisme étant normalement confirmé après l'étude de 100 mitoses selon les recommandations de l'ISCN).

Étant donné la répartition et le pourcentage relevé dans ce mosaïcisme 47,XXY (10%)/46,XY (90%), cela traduit l'hypogonadisme hyper-gonadotrope (FSH, LH élevés), résultats observés dans les paramètres hormonaux.

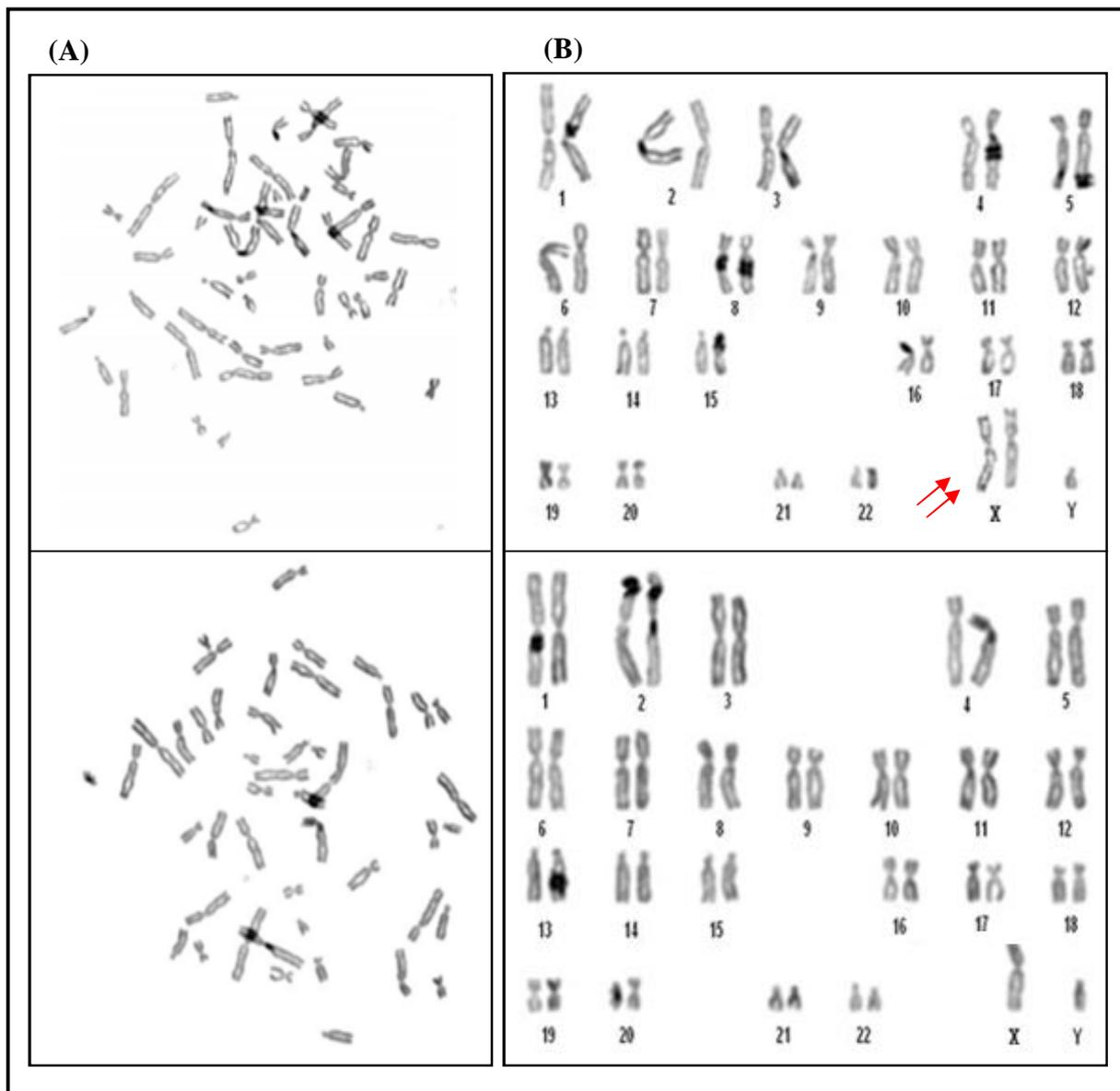


Figure 31. (A) Chromosomes métaphasiques de deux noyaux cellulaires éclatés et dispersés (X 100). (B) Caryotype standard par coloration simple d'un syndrome de Klinefelter en mosaïque (47,XXY/46,XY)

❖ Cas n°4

Il s'agit d'un homme infertile de 42 ans dont la biopsie testiculaire révèle des spermatozoïdes bloqués au stade de spermatides, avec des taux d'hormones FSH et LH élevés.

Les résultats ont été obtenus après la réalisation d'un caryotype standard simple-Giemsa. Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre, malgré le diagnostic posé. Ces résultats ont été confirmés après l'étude de 30 mitoses et la réalisation de 5 classements.

La présence des caryotypes normaux chez les patients avec une infertilité avérée pourrait être due à des mutations diverses qui serait intéressant de prospector du point de vue moléculaire en particulier au niveau des microdélétions du chromosome Y.

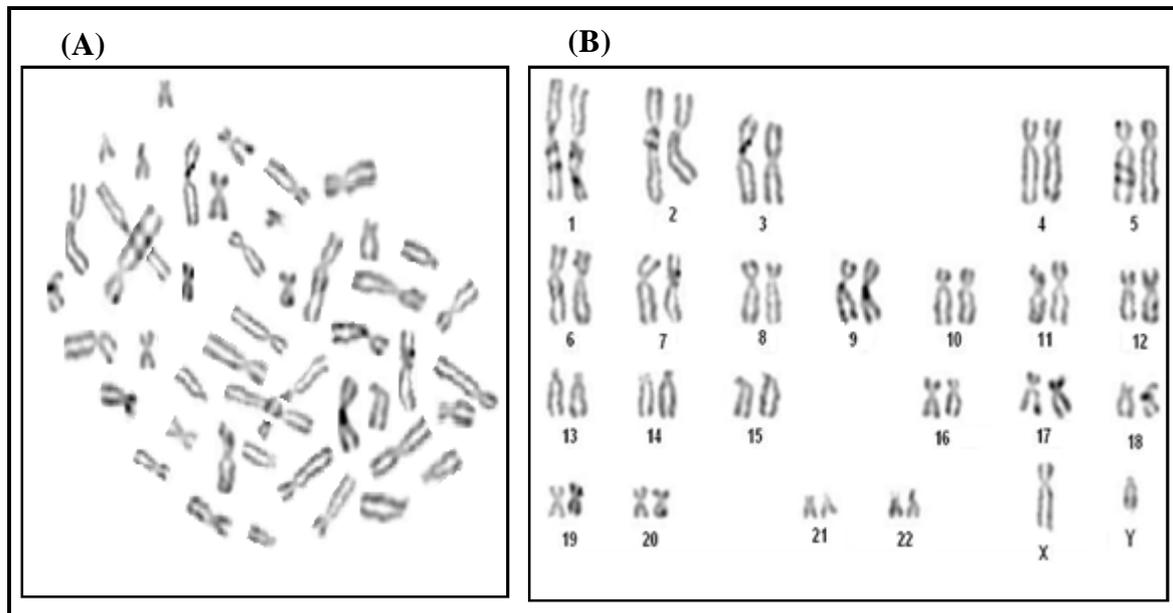


Figure 32. (A) Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X 100). (B) Caryotype standard normal par coloration simple d'un homme infertile (46,XY)

2.4.2.2 Pour les femmes

❖ Cas n° 1

Il s'agit d'une femme âgée de 24 ans avec une dysgénésie gonadique. Cette femme est phénotypiquement de petite taille (approximativement 1.50 mètres) avec une surcharge pondérale. Les taux de FSH et LH sont élevés.

Les résultats présentés dans la figure 32 sont obtenus après réalisation d'un caryotype standard. Les lames étaient de richesse moyenne avec de bonnes mitoses. Après l'étude de 30 mitoses, nous avons constaté la présence d'une anomalie numérique des chromosomes sexuels, avec l'absence totale d'un chromosome X. Il s'agit d'un syndrome de Turner homogène (45, X0).

Ces résultats nous ont amené à conclure le type d'infertilité féminine à savoir le syndrome de Turner, qui est associé à un hypogonadisme hyper-gonadotrope avec un taux FSH/LH élevé.

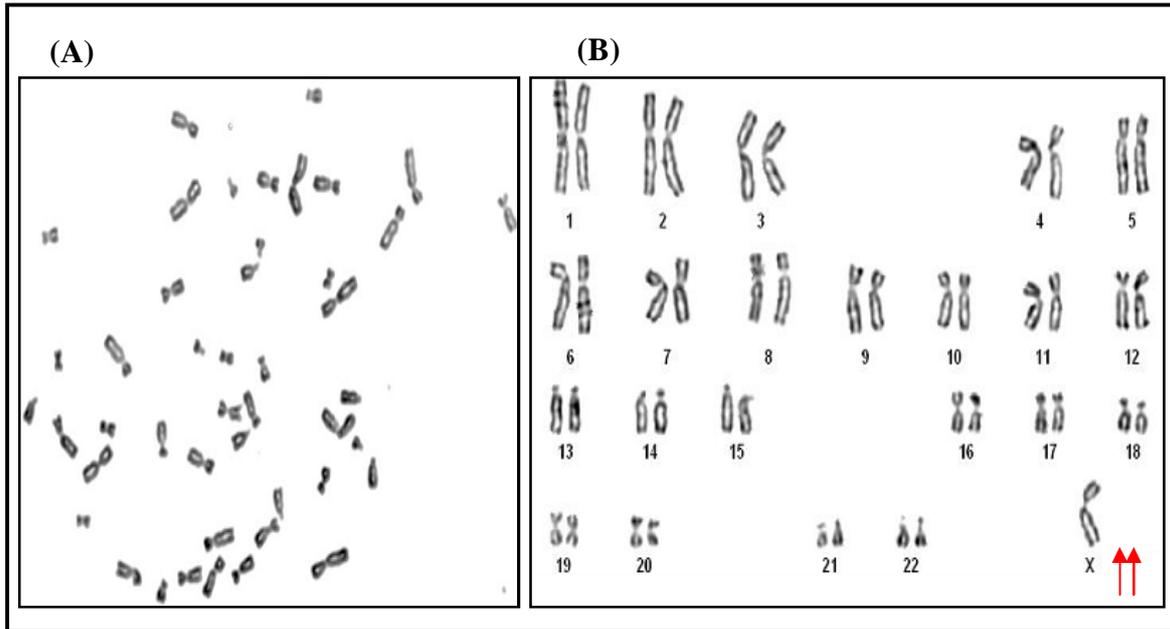


Figure 33. (A) Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard par coloration simple d'un syndrome de Turner homogène (45, XO)

❖ Cas n° 2

Une femme âgée de 28 ans. L'examen clinique révèle une dysgénésie gonadique avec une impubérisme et une aménorrhée primaire. Le taux FSH/LH élevé.

Les résultats présentés ci-dessous (Figure 33) sont obtenus après un marquage en bande R. Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Après l'analyse de 30 mitoses et 5 classements, le caryotype obtenu était de type aneuploïde, avec l'absence d'un chromosome X. Il s'agit d'une monosomie homogène (45, XO).

Le bilan hormonal et l'analyse cytogénétique confirment le type d'infertilité féminine à savoir le syndrome de Turner, ce qui traduit l'hypogonadisme hypergonadotrope avec FSH et LH élevés.

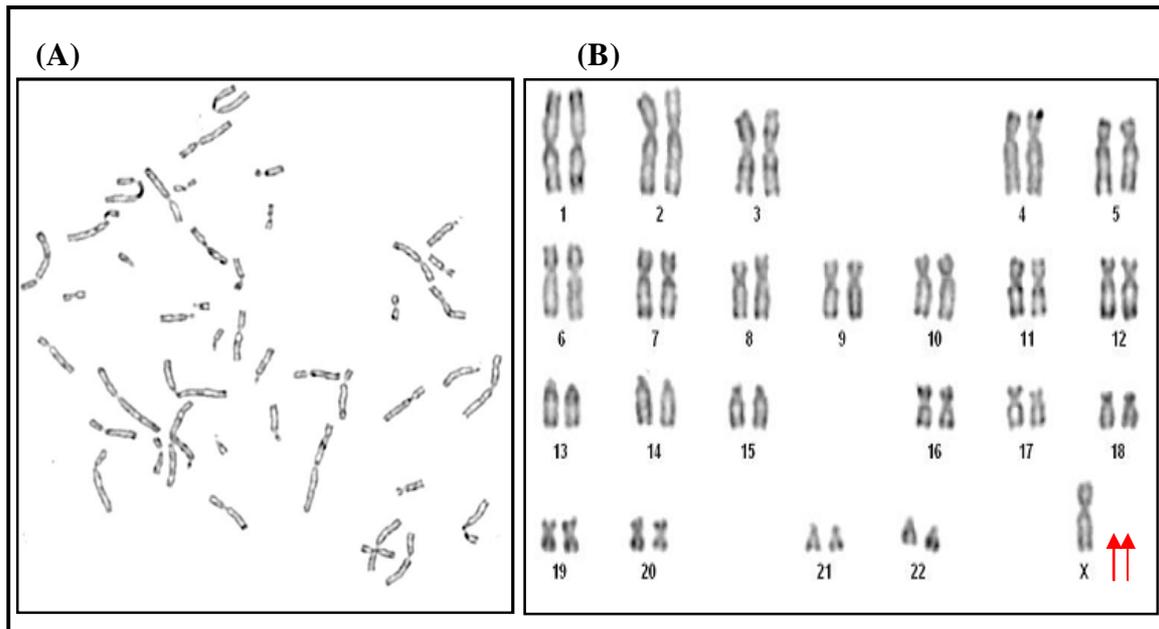


Figure 34. (A) Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (X100). (B) Caryotype standard en bandes R d'un syndrome de Turner homogène (45, XO)

Discussion générale

Au cours de ce travail, différents aspects génétiques de l'infertilité masculine et féminine ont été étudiés. Ainsi, plusieurs facteurs de risque potentiels, pouvant contribuer à une gamétogénèse défectueuse analysés à plusieurs niveaux : biologique et cytogénétique.

❖ Aspect générale de la population étudiée

L'infertilité est une pathologie relativement fréquente. Dans notre étude 57 cas ont consulté pour des problèmes d'infertilité, soit une proportion de 67.85% de l'ensemble de la population étudiée. Cette fréquence élevée des consultations pour désir d'enfants démontre l'importance accordée à la procréation des enfants dans notre société. En France, la prévalence de l'infertilité est estimée à 15%, ce qui signifie qu'un couple sur six consulte au moins une fois dans sa vie pour une difficulté à procréer (Belaisch-Allart, 2011). Quand en l'Algérie, plus de 300.000 couples mariés ne parviennent pas à concevoir un enfant. Cette statistique se traduit par, approximativement, entre 10% et 12% de la population ciblée (Hamdi, 2013).

Le problème d'infertilité touche autant de femmes que d'hommes. Dans notre étude 35.71% des cas sont des femmes et 32.14% sont des hommes, ces résultats rejoignent ce qui a été trouvé dans la littérature. Selon une étude menée par Knuth et coll. (1987), l'homme est responsable de la stérilité du couple dans 30% des cas et la femme aussi dans 30% des cas. Alors qu'au Maghreb, l'infertilité féminine touche 30% des cas et l'infertilité masculine touche seulement 20% des cas (Huyghe et al., 2008 ; Marcelli et al., 2009 ; Coat et al., 2011). Ces différences peuvent s'expliquer par le fait que dans notre société la femme était le plus souvent tenue pour responsable de la stérilité du couple, alors que la responsabilité masculine existe et ne cesse de croître (Cohen-Bacrie et al., 2007). Toutefois c'est souvent au cours d'un bilan de stérilité de couple que la responsabilité masculine sera découverte. Malgré la découverte des spermatozoïdes par Anton Van Leeuwenhoek en 1679, et la reconnaissance en 1850 de l'azoospermie comme cause d'infécondité ; la participation masculine à la stérilité conjugale reste niée, refusée ou difficilement acceptée par l'homme et le reste de la société (Seguy et Martin, 1977).

L'âge est connu pour avoir une influence sur la fertilité (Bah et *al.*, 2007). Dans notre étude 60% des femmes infertiles sont âgées entre 30-39 ans, avec un âge moyen de 33.9ans. Par ailleurs, pour les hommes infertiles, on note une fréquence de 51.85% dans la même tranche d'âge 30-39ans. Ceci peut être expliqué par l'âge de mariage qui est de plus en plus tardif et l'âge des couples désirant un enfant. L'âge moyen de la première naissance pour une femme était de 26.7ans en 1977 et est passé à 29.5ans en 2000. Or on sait qu'après 35ans, la fertilité de la femme décline fortement. Le déclin de la fertilité de l'homme avec l'âge est question encore mal comprise. Cependant, de nouvelles données laissent à penser qu'un âge supérieur à 35ans provoquerait une augmentation du nombre de fausses couches et qu'un âge supérieur à 45ans diminuerait nettement les chances d'avoir un enfant. Il est établi que l'âge est responsable d'une altération de la spermatogénèse (Brzakowskia et *al.*, 2009).

Le taux élevé des cas consultants(es) pour une infertilité primaire (81.48% pour les hommes et 66.66% pour les femmes) par rapport au taux des infertilités secondaires (18.52% pour les hommes et 33.34% pour les femmes) peut s'expliquer par le contexte social et la tendance qu'auraient les couples n'ayant pas d'enfant à consulter plus souvent que les autres pour traiter leur infertilité.

❖ Analyse spermatique

Le diagnostic d'infertilité de l'homme repose avant tout sur l'analyse du sperme. Le spermogramme est un examen apparemment très simple à réaliser mais qui nécessite une méthodologie d'autant plus standardisée, précise et rigoureuse que l'analyse est souvent subjective comme pour l'évaluation de la mobilité et de la morphologie spermatique. En outre, son interprétation doit être prudente car les résultats peuvent beaucoup varier d'un éjaculat à l'autre chez un même homme et peuvent être influencés par des facteurs de confusion comme l'âge et la durée d'abstinence sexuelle ayant précédé le recueil de sperme.

Les résultats liés aux anomalies macroscopiques des spermogrammes indiquent que le pH d'éjaculats moyen de nos patients se situe dans l'intervalle de la normalité. Ces résultats sont différents de ceux de Sakandé et *al.* (2012), qui ont trouvé que 65% de la population d'homme infertile avaient un liquide séminal basique. Le pH basique reflète une atteinte prostatique et le pH acide évoque une insuffisance des vésicules séminales (Oliver, 1974 ; Jouannet, 1979).

Quant à la mesure de volume spermatique moyenne nous avons observé une différence significative entre les deux groupes d'hommes fertiles et infertiles (3.54 vs 2.84 ml). Ces

résultats se diffèrent de celui d'Aleisa (2013) qui a trouvé une différence non significative entre le groupe d'hommes fertiles et infertiles, les valeurs moyennes sont respectivement 2.50 et 2.75 ml. Par contre, si on compare les valeurs moyennes de volume séminal d'hommes infertiles de notre série et celui d'Aleisa (2013), on trouve qu'il y'a une similarité. Le cas n'est pas le même pour Andolz *et al.* (1999), qui ont trouvé un volume spermatique moyen de 1.4 ± 1.8 ml chez 20 411 hommes infertiles. La valeur moyenne de volume spermatique de notre patients est normale compris entre 2-6 ml. En dessous de 2 ml, on parle d'une hypospermie. Cette diminution peut s'expliquer par une perte d'une partie de l'éjaculat (Girod et Gzyba, 1969), ou d'une éjaculat incomplète (Jouannet, 1979 ; Robin *et al.*, 2008), ou bien à l'insuffisance des sécrétions de l'une ou l'autre des glandes annexes (situation pouvant correspondre à une prostatite ou à une vésiculite), ou exclusion des vésicules séminales (congénitale ou acquise) où on sera en présence d'une azoospermie et le volume sera généralement inférieur à 1 ml (Guérin, 1993). Tandis que, l'hyerspermie se définit par un volume séminal supérieur à 6 ml. Elle évoque la présence de lésions infectieuses des glandes annexes et en particulier les vésicules séminales : elle peut être due aussi à une abstinence sexuelle trop longue (Marmor, 2007).

Dans le groupe d'hommes infertiles, une moyenne de la concentration spermatique de 12.27×10^6 SPZ/ml a été observée. Pour le groupe témoin (hommes fertiles), elle était de 95.80×10^6 SPZ/ml. La différence est hautement significative. Nos résultats sont en accord avec ceux publiés par Aleisa (2013) qui a trouvé également une différence significative dans les valeurs moyennes de la concentration des spermatozoïdes entre 49 hommes fertiles et 160 hommes infertiles saoudiens. Les valeurs moyennes sont respectivement 98.6×10^6 SPZ/ml, et 14.5×10^6 SPZ/ml, $p < 0.001$.

L'analyse de la mobilité des spermatozoïdes montre que les formes immobiles sont les plus représentées avec une moyenne de 54.5% chez les hommes infertiles. Alors que les formes de spermatozoïdes de mobilité lente ou rapide sont les moins représentées, les moyennes sont respectivement 8.13% et 26.30%. Les résultats rejoignent ce qui a été trouvé dans la littérature. Selon Andolz *et al.* (1999), la mobilité moyenne des spermatozoïdes n'atteint que 32.4%. Tant à Aleisa (2013), les formes mobiles des spermatozoïdes représentent une moyenne de 40% chez les hommes infertiles et 58% chez les hommes fertiles, une différence a été notée.

La fréquence moyenne des formes typiques de spermatozoïdes chez les hommes infertiles est de l'ordre de 29.2%. Ce chiffre reste avoisinant de celui trouvé par Saïdi et *al.* (2008) lors de sa comparaison des moyennes des paramètres spermatiques entre les groupes d'hommes fertiles et infertiles, les moyennes des formes typiques sont respectivement 56.34% et 26.54%. D'autres chercheurs ont également étudiés la morphologie des spermatozoïdes chez les hommes fertiles et infertiles dans différents pays du monde. Guzick et *al.* (2001) ont trouvé une valeur moyenne des formes normales de spermatozoïde de 11% chez les hommes infertiles. Ce résultat semble être inférieur à la notre. Aleisa (2013) a montré que les formes anormales de spermatozoïdes présentent une valeur moyenne de 75% chez les hommes infertiles. Ce résultat semble être comparable de ce que nous avons trouvé dans notre étude.

- **Fréquence des anomalies spermatiques**

L'analyse de la distribution des fréquences de différentes anomalies spermatiques montre que l'oligo-astheno-tératozoospermie est la plus rencontrée avec une fréquence de 25.92%. Ce résultat se proche de celle de Thonneau et *al.* (1991) qui ont montré que l'oligo-astheno-tératospermie était l'anomalie spermatique prédominante chez les hommes consultants pour une infertilité en France, la fréquence était de l'ordre de 21%. Par ailleurs, l'azoospermie occupe également une part importante dans l'infertilité masculine avec 11.11% de fréquence dans notre étude. Cette valeur est proche de celle de Sakande et *al.* (2012) à Ouagadougou avec 10.5%, Locko et *al.* (1989), au Congo Brazzaville (8%), Nguema et *al.* (1986) au Gabon (13.4%), alors que, Thonneau et *al.* (1991) en France ont rapporté une fréquence de 6% d'azoospermie sécrétoire et 3% d'azoospermie excrétoire.

L'oligozoospermie présente une fréquence de 14.81%. Le faible nombre de spermatozoïdes peut avoir plusieurs étiologies d'origine sécrétoire ou excrétoire (obstruction unilatérale sur le tractus). Un problème d'éjaculation (incomplète ou rétrograde), les infections et les inflammations du tractus accompagnées ou non de leucospermie, la présence d'auto-anticorps dans le plasma séminal ou sur la membrane plasmique des spermatozoïdes (Barthélemy et Hammamah, 1997).

La nécrospermie présente un taux de 3.7%. Avec une incidence rapportée dans la littérature de 0.2% à 0.4%, la nécrospermie est encore mal documenté comme cause d'infertilité masculine (Chavez-Badiola et *al.*, 2008). Elle est souvent liée à un problème infectieux (Marmor, 2007) ou à la présence d'un facteur toxique, une abstinence prolongée ou à la présence d'auto-anticorps anti-spermatozoïdes (Jouannet, 1979).

L'asthénospermie dans notre étude présente un taux moins élevé que celui de certains auteurs (Thonneau *et al.*, 1991 ; Sakande *et al.*, 2012) qui ont trouvé respectivement 17% et 25%. L'asthénospermie est due à un phénomène infectieux, une auto-immunisation par un anticorps ou encore à une anomalie de plasma séminal, notamment une hyperviscosité due à des troubles de la liquéfaction (Barthélemy et Hammamah, 1997). Pourtant, Cavallini *et al.* (2008) ont trouvé une relation significative et positive entre la concentration et la mobilité. Par ailleurs, ils n'ont pas trouvé une relation significative entre la morphologie et la mobilité. Alors que Cranz *et al.* (1981) ont montré que la mobilité est fortement réduite dans les spermatozoïdes à forte tératospermie et à oligospermie sévère.

- **Anomalies morphologiques des spermatozoïdes**

La morphologie du spermatozoïde constitue un paramètre important dans l'exploration de la qualité du sperme d'un homme infertile (Saïdi *et al.*, 2008). Un éjaculat normal contient des spermatozoïdes présentant des variations importantes de la taille et de la forme de la tête, de l'acrosome, de la pièce intermédiaire et de flagelle.

La présence de spermatozoïdes morphologiquement anormaux rend compte de la tératozoospermie, dont les causes de survenue sont multiples. Il a été démontré l'évidente sensibilité des fonctions testiculaire et épидидymaire à la chaleur (Thonneau *et al.*, 1998), ainsi qu'une association avec la varicocèle (Templeton, 2003). Le tabac a été aussi associé aux anomalies morphologiques et à la mobilité des spermatozoïdes (Zitzmann *et al.*, 2003).

En faisant l'étude détaillée de la morphologie des spermatozoïdes, la forme irrégulière de la tête est la plus fréquente avec une valeur moyenne de 7.07%. Cet résultat rejoint ce qui a été trouvé dans la littérature (Roussel, 1983 ; Spira et Ducot, 1985 ; Ammar-Keskest *et al.*, 1998 ; Jouannet *et al.*, 1998).

Les irrégularités de la tête des spermatozoïdes sont très fréquents chez les hommes infertiles, elles correspondent le plus souvent à des acrosomes malformés ou absents (Patrat *et al.*, 2000). L'absence de l'acrosome est due à une perturbation de la spermiogénèse, empêchant la fécondation, elle se caractérise par des spermatozoïdes microcéphales à têtes rondes et denses (Eggert-Kruse *et al.*, 1995). Il a été noté que l'acrosome possède une substance protéolytique qui permet aux spermatozoïdes d'accéder à la zone pellucide de l'ovocyte, c'est pourquoi il est un des facteurs déterminants dans l'expression du pouvoir fécondant du sperme. Ceci a été déterminé à travers plusieurs études dans la littérature (Liu et Baker, 1994 ; Barthélemy et Hammamah, 1997).

Au niveau de la pièce intermédiaire des spermatozoïdes, on note une prédominance de la forme angulée avec une fréquence de 11.9% chez les hommes infertiles. Ce résultat se proche de celle d'Ammar –Keskeset et *al.* (1998), qui ont trouvé une valeur de 11.8%. Ainsi que Jouannet et *al.* (1988) ont montré que 12.9% des spermatozoïdes présentent des formes angulées.

Les atypiques de la pièce intermédiaire avec des restes cytoplasmiques représentent une fréquence moyenne de 7.70% chez les hommes infertiles. Cette valeur se proche de celle d'Ammar-Keskeset et *al.* (1998) et Roussel et *al.* (1983) qui ont trouvé respectivement 7.3% et 8.7%. Les spermatozoïdes avec restes cytoplasmiques, souvent dénommés spermatozoïdes immatures ont été associés à l'inefficacité de la spermiogénèse qui implique moins d'étapes conduisant à un contrôle moins rigoureux de la qualité (Thonneau et *al.*, 1991 ; Laudat et *al.*, 1998 ; Robin et *al.*, 2010). L'excès de la présence de résidus cytoplasmiques dans les spermatozoïdes des hommes stériles suggère que le contrôle de la spermiogénèse est encore moins efficace que celle observée dans des conditions normales (Jezek et *al.*, 1998 ; Aziz et *al.*, 2004).

Une pièce intermédiaire bien formée possède une forte concentration de mitochondries qui constituent une véritable petite usine d'énergie sous forme d'ATP. Cette énergie est nécessaire au mouvement flagellaire.

Pour les anomalies du flagelle, on note une prédominance des deux formes courtes et enroulées avec des valeurs moyens de 6.21% et 6.10% respectivement. Ces résultats se concordent avec ceux rapportées dans la littérature (Spira et *al.*, 1985 ; Roussel et *al.*, 1993 ; Ammar-Keskeset et *al.*, 1998). Le flagelle normal a un mouvement oscillatoire qui permet aux spermatozoïdes d'avoir une bonne mobilité. Il est nécessaire pour le parcourt de spermatozoïdes vers l'ovocyte.

❖ Analyse hormonale

Les dosages hormonaux constituent en général un index suffisant pour affirmer ou infirmer un déficit androgénique. Les gonadotrophines FSH et LH constituent un dosage de seconde ligne, demandé par le clinicien devant un abaissement de la testostérone plasmatique dans le but de distinguer son origine secondaire (déficit hypothalamo-hypophysaire ou hypogonadotrope) ou primaire (déficit testiculaire ou hypergonadotrope), ou devant une anomalie du sperme (Reznik, 2007). Tant chez les femmes, les dosages de FSH et LH jouent un rôle prédominant dans les mécanismes d'ovulation (Straub, 2005). Le FSH est nécessaire

pour la sélection, le développement et la maturation folliculaire, alors que le LH, son fonction principale est d'activer la synthèse des androgènes dans les cellules thécales de l'ovaire (Beaudeau et Durand, 2008). Ces androgènes seront utilisés comme précurseurs par les cellules de la granulosa pour synthétiser les œstrogènes (Straub, 2005 ; Beaudeau et Durand, 2008). Le LH stimule aussi la synthèse de la progestérone.

Les niveaux de FSH, LH et de la testostérone chez les hommes infertiles étaient significativement plus élevés que ceux chez les hommes fertiles ($P < 0.001$). Ces résultats se concordent avec ceux rapportés dans la littérature (Balkan et *al.*, 2008 ; Koçar et *al.*, 2010 ; Wang et *al.*, 2010). Les études réalisées à ce jour font état d'un rôle important de la FSH (Souza et *al.*, 2003 ; Tsujimura et *al.*, 2004). Sa concentration serait inversement proportionnelle à la population de spermatogonies et associée à l'azoospermie non obstructive (Kretser et *al.*, 1974). Une diminution de la testostérone avec une augmentation des gonadotrophines (FSH, LH) signent une résistance périphérique aux gonadotrophines (Guerin, 2001).

La concentration de base de l'hormone folliculostimulante (FSH) chez les femmes infertiles est significativement plus élevée que celui des femmes fertiles ($P = 0.0001$). Ce résultat est comparable à celui de Moltz et *al.* (1991) qui ont trouvé que le taux de FSH est anormal dans 11.5% des cas de stérilité féminine présentant un cycle menstruel normal. Sharif et *al.* (1998) ont observé que le taux élevé de FSH est proportionnellement inversé au nombre des ovocytes collectées chez les femmes infertiles suivies d'AMP (Assistance Médicale à la Procréation).

Par ailleurs, la concentration moyenne de LH est significativement non différente entre les deux groupes de femmes fertiles et infertiles ($P = 0.23$). Ce résultat se concorde avec celui de Lenton et *al.* (1982) qui ont montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les taux moyennes de LH des femmes infertiles et de groupe témoins.

Le bilan hormonal (gonadotrophine) réalisée au 3^{ème} jour du cycle présente un intérêt à la fois diagnostique quant à l'étiologie de l'infertilité et un intérêt prédictif quant aux chances de succès d'une éventuelle prise en charge du couple en AMP (Straub, 2005). Une élévation franche des gonadotrophines plasmatiques peut être à l'origine d'une insuffisance ovarienne. Les marqueurs informatifs seront la concentration de FSH, qui sera augmentée, et les concentrations d'inhibine β et d'AMH (hormone antimüllérienne), qui seront diminuées, la

LH pouvant être normale ou augmenté et l'E2 normal, augmenté ou diminué (Beaudeau et Durand, 2008).

❖ Analyse cytogénétique

Les facteurs génétiques les plus fréquemment liés à l'infertilité sont dues à des anomalies dans les cellules somatiques. Ces anomalies peuvent être numériques ou structurales et peuvent impliquer les chromosomes sexuels ou les autosomes.

Bien que ces anomalies aient été reconnues comme étroitement associées à l'infertilité masculine, peu d'étude dans la littérature ont accordé une attention particulière à leur prévalence. L'incidence de ces anomalies dans la population masculine infertile est d'environ 10% à 23.62% (Pina-Neto et *al.*, 2006 ; Zhang et *al.*, 2012), et cette fréquence augmente à mesure que la concentration des spermatozoïdes dans l'éjaculat diminue (Rosenbush, 2010). Dans la présente étude, nous avons trouvé une fréquence de 11.11% (3/27 patients) d'hommes infertiles ayant une anomalie chromosomique somatique. Cette fréquence élevée peut s'expliquer par le faible nombre de patients infertiles analysés.

En comparant avec les autres études, Mau-Holzman (2005) a rapporté un pourcentage de caryotypes masculins anormaux allant de 2.1 à 8.0% (n=6595). De Braekeleer et *al.* (2006) ont donné un taux moyen de caryotypes anormaux de 3.6%, en se basant sur un plus grand nombre de patients (n=10 726). Par ailleurs, la fréquence des aberrations dans certaines études récemment publiées varie de 2.2-5.2% (Kayed et *al.*, 2006 ; Marchina et *al.*, 2007 ; Riccaboni et *al.*, 2008).

Dans d'autre part, les patients caryotypés dans notre étude ne montrent que des anomalies chromosomiques gonosomiques (47,XXY; 47,XXY/46,XY). Le syndrome de Klinefelter a été trouvé chez trois patients azoospermiques, deux avec la formule chromosomique homogène et un patient avec un caryotype en mosaïque. De nombreuses études d'infertilité ont rapportés que le syndrome de Klinefelter est l'anomalie chromosomique dont l'incidence est la plus élevée chez les hommes infertiles souffrant d'une atteinte testiculaire d'origine chromosomique et que ce type d'anomalie est associé à une azoospermie totale (Seshagiri, 2001 ; Alkhalef et *al.*, 2002 ; Nagvenkar et *al.*, 2005 ; Mohammed et *al.*, 2007 ; Akgul et *al.*, 2009).

La pertinence des anomalies chromosomiques chez les patients qui sont par ailleurs phénotypiquement normaux, réside dans leurs possible effets néfastes sur la fécondité et/ou la transmission des aberrations génétiques pour la descendance.

Cependant, bien que le caryotype 47,XXY est presque inévitablement associé à une azoospermie, l'existence d'une spermatogénèse testiculaire focale ne peut être exclue avec certitude (Tachdjian et *al.*, 2003). Avant l'introduction de l'ICSI (Injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde), les perspectives de fécondité pour la grande majorité des patients de syndrome de Klinefelter était sans espoir. A ce jour 54 enfants normaux sont nés à partir de 122 hommes atteints de syndrome de Klinefelter par ICSI avec des spermatozoïdes testiculaires (48 enfants de 118 patients) ou éjaculés (6 enfants de 4 patients). Bien que, la grande majorité des enfants nés de pères avec syndrome de Klinefelter sont chromosomiquement normaux, le risque de produire une descendance avec aneuploïdies chromosomiques est significatif, en particulier le risque d'engendrer un 47,XXY ou un enfant 47,XXX (Rosenbush, 2010).

De l'autre côté, il a été montré que les patients atteints de syndrome de Klinefelter en mosaïque 47,XXY/46,XY sont plus susceptibles de montrer une spermatogénèse résiduelle avec oligozoospermie, mais, le risque génétique chez la progéniture reste encore inconnu (Rosenbush, 2012). En effet, la surexpression d'un chromosome X surnuméraire dans certains lots cellulaires est responsable des modifications apoptotiques des cellules de sertoli, d'où azoospermie et infertilité. Ce lot coexiste avec des cellules normales qui pourraient préserver partiellement la spermatogénèse, mais des dégâts se produisent au cours de la gamétogénèse. Ils seraient à l'origine des pertes fœtales récurrentes (Frikha et *al.*, 2012).

L'origine de ces aneuploïdies (47,XXY ; 47,XXY/46,XY) est une non disjonction à la première division de la méiose maternelle dans 25% des cas, à la deuxième division de la méiose maternelle dans 15% des cas, à la première division de la méiose paternelle dans 51% des cas et plus rarement à une erreur mitotique post-zygotique (Hall et *al.*, 2006 ; Hassold et *al.*, 2007).

Par ailleurs, les patients de la présente étude porteurs d'anomalies chromosomiques présentaient des taux plus élevés de FSH et/ou de LH, et des niveaux faibles de testostérone.

Plusieurs études ont montré que les taux sériques de FSH étaient significativement supérieurs à la valeur moyenne chez les patients azoospermiques ayant une anomalie chromosomique, ainsi que chez les patients ayant des microdélétions de la région AZF

(Azoospermia Factor) du bras long du chromosome Y (Kransz et *al.*, 2003 ; Lammarrone et *al.*, 2003 ; Luddi et *al.*, 2009 ; Mirfakhraie et *al.*, 2010 ; Wang et *al.*, 2011).

Compte tenu de la présence d'un caryotype normal parmi les patients, il est fort probable que ce patient porte des microdélétions concernant l'une des régions AZF. Ce qui peut traduire le phénotype normal de ces patients ainsi que la perturbation des taux d'hormones FSH et LH et la présence d'azoospermie totale ou l'oligospermie sévère idiopathiques.

Touchant des régions différentes du chromosome Y, les délétions affectent de nombreux gènes et aboutissent à des atteintes testiculaires variables. En cas des délétions de la région AZFa, il n'ya en règle générale aucune cellule germinale dans les tubes séminifères. La délétion d'AZFb est associée à un arrêt de la spermatogénèse au stade spermatocyte. Des phénotypes très variables peuvent être observés en cas de délétion de la région AZFc qui contient notamment plusieurs copies du gène DAZ (Deleted in Azoospermia) (Luddi et *al.*, 2009).

Il est bien établi qu'il peut y avoir une relation de cause à effet entre la présence d'une anomalie chromosomique chez un patient et son infertilité. Notre étude a montré la présence des anomalies chromosomiques chez la femme infertile et démontrent qu'elles participent à l'infertilité du couple. En effet, les anomalies chromosomiques féminines étaient principalement retrouvées quand les conjoints n'avaient aucune cause d'infertilité.

Les anomalies chromosomiques responsables d'une altération de l'ovogénèse font intervenir essentiellement le chromosome X qu'il s'agisse d'une anomalie de nombre ou de structure (Rives, 2006). Dans notre étude, les patientes caryotypées ne montrent que des anomalies chromosomiques libres et homogènes (45,X0). De nombreuses études d'infertilité ont rapporté que le syndrome de Turner est l'anomalie chromosomique la plus fréquente chez les femmes infertiles souffrant d'une dysgénésie ovarienne (Kleczowska et *al.*, 1990 ; Sybert et *al.*, 2004 ; Goswami et Conway, 2005 ; Aboussair et *al.*, 2007 ; Borgström et *al.*, 2009).

La monosomie du chromosome X (45,X0) ne résume pas la totalité des cas de syndrome de Turner. Dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'une mosaïque (46,XX/45,X0) et/ou d'une anomalie de l'X (délétion, isochromosome X, chromosome dicentrique) (Hallab et *al.*, 2012).

En effet, la perte du chromosome X est responsable d'une agénésie précoce des cellules germinales qui résultent dans l'insuffisance ovarienne précoce, d'où infertilité primaire. En revanche, la présence d'un lot de cellules normales préserve la capacité reproductive, mais

partiellement seulement. Elle serait à l'origine d'aneuploïdies fœtales, causes potentielles d'avortement spontané (Frikha et *al.*, 2012).

L'origine de cette aneuploïdie est paternelle dans 80% des cas selon plusieurs études cytogénétiques et moléculaires. La non-disjonction méiotique survient le plus souvent en méiose II (division équationnelle) (Jacobs et *al.*, 1997 ; Turleau et Vekemans, 2005).

Dans la majorité des cas de Turner décrits dans la littérature, les gonadotrophines sont élevées (Reyss et Christin-Maitre, 2006 ; Hallab et *al.*, 2012 ; Nelson et *al.*, 2012). Ces résultats sont en accord avec les notre, les taux de FSH et LH sont aussi élevés, témoignant l'insuffisance ovarienne périphérique.

Après l'émergence de l'injection intra-cytoplasmique du sperme (ICSI) et don d'ovocytes, il est possible aux femmes infertiles avec des anomalies chromosomiques (monosomie 45,X0 ; mosaïque 46,XX/45,X0) d'avoir des enfants (Foudila et *al.*, 1999; Abir et *al.*, 2001 ; Birkebaek et *al.*, 2002). Cependant, le risque d'avortement spontané est élevé ainsi que la possibilité d'une syndrome de Turner transmis de la mère à la fille (Abir et *al.*, 2001 ; Waelken's, 2004).

En conclusion, il est très clair que divers anomalies chromosomiques structurales et numériques peuvent causer une déficience ovogénique à divers points, ayant pour résultat une stérilité d'origine chromosomique. Toutes ces conclusions soutiennent fortement la recommandation d'un criblage des patientes stériles pendant l'évaluation et avant l'inscription dans les programmes de procréation médicalement assistée.

Conclusion et perspectives

La génétique de l'infertilité ou de la stérilité est un nouveau champ de recherche qui prendra sans aucun doute de l'importance dans un proche avenir.

Notre travail de recherche avait pour but d'étudier les cas infertiles dans la région de Tlemcen. Il est basé sur la détermination de l'aspect cytologique du sperme à travers la réalisation de spermogramme et spermocytogramme, l'aspect biochimique à travers le dosage hormonale et l'exploration cytogénétique du génome somatique chez des patients atteints d'un trouble sévère de la gamétogénèse, en utilisant les techniques de caryotype simple et R-banding.

Sur un totale de 57 patients, les hommes soupçonnés d'infertilité (n=27) présentent un taux élevé de cas pathologiques dus aux différentes anomalies dont la plus fréquente est oligo-asthéo-tératozoospermie avec 25.92%. Les résultats relatifs aux spermo-cytogrammes révèlent une prédominance des atypies de la pièce intermédiaire avec la forme angulée, la forme irrégulière pour les anomalies de la tête et les formes courtes et enroulées pour les anomalies du flagelle.

Concernant l'exploration hormonale, une diminution de la testostérone avec une augmentation des taux de FSH et LH chez les hommes infertiles a été notée. Ainsi que les femmes infertiles présentent des taux élevés de gonadotrophines (Le LH peut être élevé ou normale). Selon ces données, une prospection des taux des hormones est recommandée pour une évaluation du degré de sévérité de l'infertilité dans ces groupes de patients.

Pour les analyses cytogénétiques, les anomalies chromosomiques ont été trouvées chez les patients caryotypés (03/27 hommes, 02/30 femmes). Une relation entre l'anomalie chromosomique et l'infertilité a été démontrée. Cette anomalie peut altérer la fonction de la reproduction de l'homme ou de la femme par une action spécifique sur la méiose ou sur la différenciation des cellules germinales. Cependant, son retentissement sur la fonction de reproduction présente une extrême variabilité dans son expression, de la subfertilité à la stérilité primaire.

Ainsi, la recherche des causes génétiques de la stérilité présente de multiples intérêts :

- L'identification d'anomalie chromosomique responsable d'altération de la gamétogénèse et de la production des gamètes génétiquement déséquilibrées.
- Eviter de nombreux examens inutiles, voire des traitements illusoires.
- Fournir au couple et à leur famille un conseil génétique expliquant le risque de transmission de l'anomalie à la descendance, et de les orienter vers la solution la plus adaptée à leur problème.
- Cette recherche débouche sur une meilleure connaissance fondamentale des chromosomes et des gènes impliqués et de leur mode d'action. Un tel travail nécessitera des rapports étroits entre les biologistes et les cliniciens.

Il est donc fortement recommandé d'examiner ces patients avant l'inscription dans les programmes de procréation médicalement assistée. D'ailleurs, le diagnostic prénatal dans le cas de ces anomalies est d'une très grande importance. De telles investigations sont nécessaires pour réduire au minimum le risque de propagation de ces anomalies chromosomiques dans la génération suivante.

Les limites de la présente étude correspondent pour l'essentiel aux modalités d'échantillonnage et de prospection. Ainsi afin d'approfondir et compléter ce travail, il faudrait étendre l'étude sur un nombre de patients plus conséquent permettant un traitement statistique des données afin de dégager des corrélations entre les paramètres mis en cause et les différentes pathologies suspectées. L'utilisation des techniques de la cytogénétique classique dans la recherche des causes génétiques responsables de l'infertilité reste limitée à la résolution de banding. Par conséquent, plusieurs mutations non détectables par des techniques de caryotype ne soient identifiables que s'il y a un assemblage entre ces techniques et celles de la biologie moléculaire, dont essentiellement la technique de RT-PCR qui étudie le produit même de la cytogénétique et place donc la détection à un niveau moléculaire.

Références bibliographiques

- Abdelmoula NB, Amouri A.** Dicentric Y chromosome. *Ann Biol Clin (Paris)* 2005;63:363-75.
- Abir R, Fisch B, Nahum R, Orvieto R, Nitke S, and Ben Rafael Z.** Turner's syndrome and infertility: current status and possible putative prospects. *Human Reproduction Update* 2001;7(6):603-610.
- Aboussair N, Cherkaoui S, Natiq A, Hajji S, Sefiani AA.** Aspects cytogénétiques du syndrome de Turner. A propos de 66 cas. *Médecine du Maghreb* 2007;150:17-24.
- Agata M.** DNA methylation at imprinted and non-imprinted genes in the sperm of men affected by severe male factor infertility. Thesis in Reproductive and Developmental Sciences. Columbia: The University of British Columbia. 2010;199 p.
- Aittomaki K, Wennerholm UB, Bergh C, Selbing A, Hazekamp J, Nygren KG.** Safety issues in assisted reproduction technology: should ICSI patients have genetic testing before treatment? A practical proposition to help patient information. *Hum Reprod* 2004;19:472-6.
- Akashi T, Fuse H, Kojima Y, Hayashi M, Honda S.** Birth after intracytoplasmic sperm injection of ejaculated spermatozoa from a man with mosaic Klinefelter's syndrome. *Asian J Androl* 2005;7:217-20.
- Akgul M, Ozkinay F, Ercal D, Cogulu O, Dogan O, Altay B, Tavmergen E, Gunduz C and Ozkinay C.** Cytogenetic abnormalities in 179 cases with male infertility in Western Region of Turkey: Report and review. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:119-122.
- Aleisa NAS.** Semen characteristics of fertile and subfertile men in a fertility clinic and correlation with age. *Journal of King Saud University-Science* 2013;25(1):63-71.
- Alkhalaf M, Verghese L, Muharib N.** A cytogenetic study of Kuwaiti couples with infertility and reproductive disorders: short arm deletion of chromosome 21 is associated with male infertility. *Ann Genet* 2002;45:147-149.
- Amiel A, Kidrai I.** Are all phenotypically-normal Turner's syndrome mosaics. *Prenatal diagnosis* 1996;16(9):791-795
- Ammar-Keskeset L, Kallel N, Bouzid F, Rekik S, Rbai T.** Caractéristiques cytomorphologiques du sperme chez les hommes consultant pour infertilité du couple dans la région de Sfax. *Andrologie* 1998;8(3):281-301.
- Amotte M.** Initiation aux méthodes statistiques en biologie. Paris : 2ème Ed. Masson et Cie, 1971.

- Andolz P, Bielsa MA, and Vila J.** Evolution of semen quality in North-eastern Spain: a study in 22759 infertile men over a 36 year period. *Human Reproduction* 1999;14(3):731-735.
- Anthony Griffiths JF, David Suzuki T, Chrystelle S.** Introduction à l'analyse génétique. Paris: De Boeck Université,2002;p 87.
- Arrighi FE and Hsu TC.** Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 1971;10:81-86.
- Auger J and Jouannet P.** Evidence for regional differences of semen quality among fertile French men. Federation Francaise des Centres d'Etude et de Conservation des Oeufs et du Sperme humains. *Hum Reprod* 1997;12:740-5.
- Ayme S.** Value of registries in decision making in public health: the example of trisomy 21. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1996;44:S82-9.
- Aziz N, Saleh RA, Sharma RK., Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas AJ et Agarwal A.** Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morpho-logical defects, and the sperm deformity index. *Fertility and Sterility* 2004;2(81):349-354.
- Bah OR, Diallo AB, Diallo A, Guirassy S, Bah I, Barry M, Diallo MB.** Infertilité masculine: fréquence et aspects étiologiques au service d'Urologie-Andrologie de CHU de Conakry. *Andrologie* 2007;17(3):241-245.
- Balkan M, Tekes S, Gedik A.** Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with Oligozoospermia and Azoospermia in Southeast Turkey. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:559-565.
- Barbosa AS, Ferraz-Costa TE, Semer M, Liberman B, Moreira-Filho CA.** XY gonadal dysgenesis and gonadoblastoma: a study in two sisters with a cryptic deletion of the Y chromosome involving the SRY gene. *Hum Genet* 1995;95:63-66.
- Barthélemy C et Hamamah S.** Spermogramme et tests de fécondance : intérêt et limites. Les XXIIIe JTA Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie ; 1997.
- Bashamboo A, Ferraz-de-Souza B, Lourenco D, Lin L, Sebire NJ, Montjean De, et al.** Human Male Infertility Associated with Mutations in NR5A1 Encoding Steroidogenic Factor 1. *The American Journal of Human Genetics* 2010;87:505-512.
- Beaudeau JL et Durand G.** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. Paris: Lavoisier France, 2008; pp505-511.
- Belaish-Allart J.** Chapitre 9: Épidémiologie de la fertilité féminine. In Poncelet, et al. Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. France, Paris: Ed. Springer-Verlag, 2011.

- Benjamin P.** Genetics: A Conceptual Approach. 2nd ed. New York: W. H. Freeman, 2005.
- Berger R.** Cytogénétique humaine. De 1956 à 2006. *Pathologie Biologie* 2007;55:1-12.
- Béri-Dexheimer M, Bonnet C, Chambon P, Brochet K, Grégoire MJ, Jonveaux P.** L'hybridation génomique comparative sur microréseau d'ADN (puces à ADN) en pathologie chromosomique constitutionnelle. *Pathologie Biologie* 2007;55:13-18.
- Berthiller J, et Sasco AJ.** Smoking (active or passive) in relation to fertility, medically assisted procreation and pregnancy. *J Gynecol Obstet Reprod* 2005;34(Spec1):3S47-54.
- Bettio D, Venci A, Rizzi N, Negri L, Setti PL.** Clinical and molecular cytogenetic studies in three infertile patients with mosaic rearranged Y chromosomes. *Hum Reprod* 2006;21:972-5.
- Bhasin S.** Approach to the infertile man. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1995-2004.
- Birkebaek NH, Cruger D, Hansen J, Nielsen J, Bruun-Petersen G.** Fertility pregnancy outcome in Danish women with Turner Syndrome. *Clin Genet* 2002;61:35-9.
- Blanc C, Boubli L.** Gynécologie - 2ème éd. - Paris : Pradel, 1993.
- Blaschke RJ, Rappold G.** The pseudoautosomal regions, SHOX and disease. *Curr Opin Genet Dev* 2006;16:233-239.
- Bloom SE and Goodpasture C.** An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. *Hum Genet* 1976;34:199-206.
- Boggs BA, Cheung P, Heard E, Spector DL, Chinault AC, et al.** Differentially methylated forms of histone H3 show unique association patterns with inactive human X chromosomes. *Nat Genet* 2002;30:73-76.
- Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG.** International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction* 2007;22:1506-12.
- Bojesen A, Gravholt CH.** Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 2007;4:192-204.
- Bondy CA.** Care of girls and women with Turner syndrome: A guideline of the Turner syndrome study group. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(1):10-25.
- Borgström B, Hreinsson J, Rasmussen C, et al.** Fertility preservation in girls with Turner syndrome: prognostic signs of the presence of ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:74-80.
- Bouayed AN.** Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques. *Ann Biol Clin* 2004;62:629-37.

- Bourgeron T, Barboux S, McElreavey K, Fellous M.** La génétique de la stérilité masculine. *Société Française de Génétique* 1996 ;12(11):1-8.
- Bourrouillou G, Bujan L, Calvas P, Colombies P, Mansat A, Pontonnier F.** Place et apports du caryotype en infertilité masculine. *Progrès en Urologie* 1992;2:185-191.
- Brzakowskia M, Lourdela E, Cabryb R et al.** Épidémiologie du couple infertile. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2009;38 < Hors<série1– F3– F7.
- Bushnik T, Cook JL, Yuzpe AA, Tough S, and Collins J.** Estimating the prevalence of infertility in Canada. *Human Reproduction* 2012;27(3):738-746.
- Cameron Sprague DC.** Structure and function of the deleted in azoospermia gene. These medicines. Texas: Saint Edward's University. 2006; 198 p.
- Carrel L, Willard HF.** X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature* 2005;434:400-404.
- Caspersson T, Simonsson E, Zech L.** UV-absorption and quinacrine mustard fluorescence patterns for chromosome aberration study in Chinese hamster. *Exp Cell Res* 1970;63:243-244.
- Catalán J, Autio K, Wessman M, Lindholm C, Knuutila S, et coll.** Age-associated micronuclei containing centromeres and the X chromosome in lymphocytes of women. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 68: 11-16.
- Catalán J, Autio K, Kuosma E, Norppa H.** Age-dependant inclusion of sex chromosomes in lymphocyte micronuclei of man. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1464-1472.
- Cavallini G, Crippa A, Cristina Magli M, Cavallini N, Ferraretti AP et Gianaroli L.** A study to sustain the hypothesis of the multiple genesis of oligo-astheno-teratospermia in human idiopathic infertile males by The Society for the Study of Reproduction; 2008.
- Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R.** Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and Sterility* 2010;93(7):2222-2231.
- Chavez-Badiola A, Drakeley AJ, Finney V, Sajjad Y, Lewis-Jones DI.** Necrospemia, antisperm antibodies, and vasectomy. *Fertil Steril* 2008 Mar;89(3):723.e5-7. Epub 2007 Jul 5.
- Christin-Maître S.** À la recherche d'une étiologie génétique de l'infertilité féminine. *Mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie* 2010;12(1):12-7.
- Ciccodicola A, D'Esposito M, Esposito T, Gianfrancesco F, Migliaccio C, et al.** Differentially regulated and evolved genes in the fully sequenced Xq/Yq pseudoautosomal region. *Hum Mol Genet* 2000;9:395-401.

- Coat C, Perrin A, Talagas M, Teteftort R, Amice J, Valéri A, De Braekeleer M, Amice V.** Azoospermie : prise en charge et résultats. À propos de 90 cas. *Progrès en Urologie* 2011;21:946-954.
- Cohen-Bacrie P, Hazout A et Hamamah S.** Explorations et traitements de l'homme infertile : du nouveau ? Les XXIII^e Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie, 2007.
- Cooke HJ, Brown WRA, Rappold GA.** Hypervariable telomeric sequences from the human sex chromosomes are pseudoautosomal. *Nature* 1985;317:687-692.
- Cormier-Daire V et Bouvattier C.** Syndrome de Turner : corrélations entre phénotypes et défauts cytogénétiques du chromosome X. In : Pienkowski C, Tauber M. Le syndrome de Turner. France : Ed. Springer-Verlag, 2009;p38.
- Coutton C, Satre V, Arnoult C, Ray P.** Génétique de l'infertilité masculine. Les nouveaux acteurs. *médecine/sciences* 2012;28:497-502.
- Cram DS, Osborne E and McLachlan RI.** Y chromosome microdeletions: implications for assisted conception. *Med J Aust* 2006;185(8):433-4.
- Cranz C, Mantagnon D, Brun B et Clavert A.** Interprétation des asthénospermies en fonction des paramètres du spermogramme. *J Gyn Obst Biol Repr* 1981;10:137-140.
- Dalloneau E.** Identification de gènes à effet de dose impliqués dans la pathophysiologie des aneuploïdies associées au chromosome 21. Thèse Doctorat. Université d'Orléans 2010 ;188p.
- De Braekeleer M, Douet-Guilbert N, Le Bris MJ, Amice V, Amice J et Morel F.** Chromosomal abnormalities in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. In Cytogenetics and infertility (ed. M. De Braekeleer). Transworld Research Network. 2006; 113–129.
- De Braekeleer M and Dao TN.** Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum Reprod* 1991;6(2):245-50.
- De Krester DM.** Endocrinology of the Male Reproductive System. Chapter 1, 2007 Endotext.com.
- De la calle JEV, Rachou E, Le martelation MT, Ducot B, Multigner L, Thorineau PF.** Male infertility risk factors in a french military population. *Hum reprod* 2001;16:481-486.
- De Mouzon J.** Chapitre10: Epidémiologie de l'infertilité. In Poncelet, et al. Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Paris : Ed. Springer-Verlag, 2011;pp123-129.
- Delobel B, Djlelati R, Gabriel-Robez O, et al.** Y-autosome translocation and infertility: usefulness of molecular, cytogenetic and meiotic studies. *Hum Genet* 1998;102:98-102.

- Deloukas P, Matthews LH, Ashurst J, Burton J, Gilbert JGR, et al.** The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 20. *Nature* 2001;414:865-871.
- DesGroseilliers M, Beaulieu Bergeron M, Brochu P, Lemyre E, Lemieux N.** Phenotypic variability in isodicentric Y patients: study of nine cases. *Clin Genet* 2006;70:145-50.
- Dohle GR, Jungwirth A, Colpi G, Giwe rman A, Diemer T and Hargreave TB.** Guidelines on Male Infertility. Editions: *European Association of Urology* 2007;70pp.Doi : 10.1016/j.ando.2008.01.007.
- Douet-Guilber N, Basinko A, Le Bris MJ, Herry A, Morel F, De Braekeleer M.** Stratégies d'identification des marqueurs chromosomiques surnuméraires en cytogénétique constitutionnelle. *Pathologie Biologie* 2008;56:362-367.
- Dunham I, Hunt AR, Collins J, Bruskiewich R, Beare DM, et al.** The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* 1999;402:489-495.
- Dupont JM.** Ultrastructure du chromosome. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* June 2008. URL <http://AtlasGeneticsOncology.org/Educ/StrucChromID30063FS.html>.
- Dutrillaux B, Lejeune J.** Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *CR Acad Sci Paris* 1971;272:2638-2640.
- Egea G.** Caractérisation de 10 marqueurs chromosomiques Surnuméraires (MCS): Apport de l'hybridation génomique comparative sur Microreseau (CGH-array). Thèse Pharmacie. Grenoble. Université Joseph Fourier. 2010; 125 p.
- Eggert- Kruse W, Reimann-Adersen J, Rohr G et al.** Clinical relevance of sperm morphology assessment using strict criteria and relationship with sperm- mucus interaction in vitro and vivo. *Fertil Steril* 1995;42(1):612-624.
- Eiben B, Trawicki W, Hammans W, Goebel R, Pruggmayer M, Epplen JT.** Rapid prenatal diagnosis of aneuploidies in uncultured amniocytes by fluorescence *in situ* hybridization. Evaluation of >3,000 cases. *Fetal Diagn Ther* 1999;14(4):193-7.
- ESHRE Capri Workshop Group.** Genetic aspects of female reproduction. *Human Reproduction Update* 2008; 14:(4)293-307.doi:10.1093/humupd/dmn009.
- Evers JL.** Female subfertility. *Lancet* 2002;360(9327):151-159.
- Fellmann F.** Délétion de l'Y. 2006 <http://www.orpha.net>.
- Ferlin A, Arredi B, Foresta C.** Genetic causes of male infertility. *Reprod Toxicol* 2006;22: 133-41.
- Fiegler H, Carr P, Douglas EJ, Burford DC, Hunt S, Scott CE, et al.** DNA microarrays for comparative genomic hybridization based on DOP-PCR amplification of BAC and PAC clones. *Genes Chromosomes Cancer* 2003;36(4):361-74.

- Fisch H and Goluboff ET.** Geographic variations in sperm counts: a potential cause of bias in studies of semen quality. *Fertil Steril* 1996;65:1009-14.
- Ford CE, Jones KW, Polani PE, De Almeida JC, Briggs JH.** A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet* 1959;1:711-713.
- Ford CE, Hamerton JL.** The chromosomes of man. *Nature* 1956;178:1020-1023.
- Foresta C, Moro E, Ferlin A.** Prognostic value of Y deletion analysis. The role of current methods. *Hum Reprod* 2001;16:1543-7.
- Foster JW and Graves JAM.** An SRY related sequence on the marsupial X chromosome: Implications for the evolution of the mammalian testis-determining gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1927-1931.
- Foudila T, Soderstrom-Anttila V, Hovatta O.** Turner's syndrome and pregnancies after oocyte donation. *Hum Reprod* 1999;14:532-5.
- França LR, Avelar GF, Almeida FF.** Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology* 2005;63:300-318.
- Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Bern O, Ron-El R.** Outcome of ICSI using fresh and cryopreserved-thawed testicular spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2001;16:2616-20.
- Frikha R, Abdelmoula Bouayed N, Rebai T.** Prévalence des anomalies cytogénétiques parentales au cours de l'avortement spontané récurrent: à propos de 168 couples. *Immuno-analyse et biologie spécialisés* 2012;27:223-232.
- Gabriel-Robez O, Delobel B, Croquette MF, Rigot JM, Djelati R, Rumpler Y.** Synaptic behaviour of sex chromosome in two XYY men. *Annales de Génétiques* 1996; 39:129-132.
- Gasman I, Rouyer V, Borentain S.** Profil cognitive et troubles psychiatriques dans le syndrome de Klinefelter. *Revue Française de Psychiatrie et de Psychologie Médicale* 2001;5:21-2.
- Geidam AD, Yawe KDT, Adebayo AEA, Idrisa A.** Hormonal profile of men investigated for infertility at the University of Maiduguri in northern Nigeria. *Singapore Med J* 2008; 49: 538.
- Gilbert SL, Sharp PA.** Promoter-specific hypoacetylation of X-inactivated genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:13825-13830.
- Girod J, et Czyba J-C.** Cours sur la biologie de la reproduction. Fascicule1.Les appareils génitaux. Editions SIMEP, 1969; 252pp.

- Gordon GG, Altman K, Southren AL, Rubin E, Lieber CS.** Effect of alcohol (ethanol) administration on sex-hormone metabolism in normal men. *New England Journal of Medicine* 1976;295(15):793-797.
- Goswami D, Conway GS.** Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update* 2005;11: 391-410.
- Granzow M, Popp S, Keller M, Holtgreve-Grez H, Brough M, Schoell B, et al.** Multiplex FISH telomere integrity assay identifies an unbalanced cryptic translocation der(5)t(3;5)(q27;p15.3) in a family with three mentally retarded individuals. *Hum Genet* 2000;107(1):51-7.
- Grier HJ.** Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centrapomus undecimalis* (Teleostei: Centrapomidae). *J Morphol* 2000;243:265-281.
- Gruszka M, Wilczyński J, et Nowakowska D.** Prevalence of uterine malformations and their impact on fertility. *Ginekol Pol* 2012;83:517-521.
- Guerin J-F.** Bilan raisonnable devant une infertilité masculine. Journées Pyrénéennes de Gynécologie - Tarbes France, 2001.
- Gunby J, Bissonnette F, Librach C, Cowan L.** Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2006 results from the Canadian ART Register. *Fertility and Sterility* 2009; Epub ahead of print.
- Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, et al.** Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 2001;345(19):1388-1393.
- Hall H, Hunt P, Hassold T.** Meiosis and sex chromosome aneuploidy: How meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Curr Opin Genet Devel* 2006;16: 323-329.
- Hallab L, Gaouzi A, Chadli A, El Ghomari H.** Analyse génétique du syndrome de Turner chez 35 cas pédiatriques. *Médecine du Maghreb* 2012;201:44-50.
- Hamdi R.** Stérilité et procréation médicalement assistée: le taux de réussite, en Algérie, est proche de celui mondial. *Santé-MAG* Juin 2013;19.
- Harper A, Kerr DJ, Gescher A, Chipman JK.** Antioxidant effects of isoflavonoids and lignans, and protection against DNA oxidation. *Free Radic Res* 1999;31:149-160.
- Hartl DL, Jones EW.** Les bases chromosomiques de l'hérédité. Génétique : les grands principes. Paris: 3 Ed. Dunod, 2003;pp 73-119.
- Hassold T, Abruzzo M, Adkins K, et al.** Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Env Mol Mut* 1996;28:167-75.

- Hassold T, Benham F, Leppert M.** Cytogenetic and molecular analysis of sex-chromosome monosomy. *Am J Hum Genet* 1988; 42: 534-541.
- Hassold T, Hall H, Hunt P.** The origin of human aneuploidy: Where we have been, where we are going. *Hum Mol Genet* 2007;16:203-208.
- Hassold T, Hunt P.** To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2001;2:280-291.
- Hassold TJ, Sherman SL, Pettay D, et al.** XY chromosome non disjunction in man in associated with diminished recombination in the pseudoautosomal region. *Am J Hum Genet* 1991;49:253-60.
- Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, et al.** The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 2000;405:311-319.
- Hayes H, et al.** Techniques de cytogénétique animale. Institut National de Recherche Agronomique (France). Ed. Qual 1998;260p.
- Hazard J et Perlemuter L.** Abrégé d'endocrinologie. Paris: 4ème Ed. Masson, 2000; pp362-411.
- Held KR, Kerber S, Kaminsky E, Singh S, Goetz P, et coll.** Mosaicism in 45,X Turner syndrome: Does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosomes? *Hum Genet* 1992; 88: 288-294.
- Hermo L, Pelletier RM, Cyr DG, Smith CE.** Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part 1: background to spermatogenesis, spermatogonia, and spermatocytes. *Microsc Res Tech* 2010;73:241-278.
- Hess RA and Renato de Franca L.** Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. *Adv Exp Med Biol* 2008;636:1-15. doi: 10.1007/978-0-387-09597-4_1.
- Hillier LW, Graves TA, Fulton RS, Fulton LA, Pepin KH, et al.** Generation and annotation of the DNA sequences of human chromosomes 2 and 4. *Nature* 2005;434:724-731.
- Hirshfield AN.** Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol* 1991; 124:43-101.
- Hsu LY.** Phenotype/karyotype correlations of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am J Med Genet* 1994;53:108-40.
- Hull MGR, Cahill DJ.** Female infertility. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 1998;27:851-876.
- Huyghe E, Izard V, Rigot JM, Pariente JL, Tostain J.** Evaluation de l'homme infertile : recommandations AFU 2007. *Prog Urol* 2008;18;95-101.

- Ikechebelu JI, Adinma JIB, Orié EF and Ikegwuonu SO.** High prevalence of male infertility in southeastern Nigeria. *Gynaecology* 2003;23(6):657-659.
- ISCN:** An International System for Human Cytogenetic Nomenclature: ISCN 1985. Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1985;21:1-117.
- Jabobs P, Dalton P, James R, Mosse K, Power M, et coll.** Turner syndrome: A cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet* 1997; 61: 471-483.
- Jacobs PA, Strong JA.** A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959;183:302-303.
- Jacobs PA.** The role of chromosomal abnormalities in reproduction failure. *Reprod Nutr Dev* 1990, S1,63-74
- Jeppesen P, Turner BM.** The inactive X chromosome in female mammals is distinguished by a lack of histone H4 acetylation, a cytogenetic maker for gene expression. *Cell* 1993;74:281-289.
- Jezek D, Knuth UA, Schulze W.** Successful testicular sperm extraction (TESE) in spite of high serum follicle stimulating hormone and azoospermia: correlation between testicular morphology, TESE results, semen analysis and serum hormone values in 103 infertile men. *Hum Reprod* 1998;13(5):1230-4.
- Jouannet P.** Le laboratoire face à la clinique: L'examen du sperme. *Le technicien biologiste* 1977;(4):153-157.
- Jouannet P.** Comment interpréter un spermogramme. *Rev Prat* 1979;29(32):2602-2604.
- Jouannet P, Ducot B, Feneux D, Spira A.** Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile couples. I. Study of sperm characteristics. *Int J Androl* 1988;11:379-384.
- Jouannic JM, Rosenblatt J, Bénifla JL.** Amniocentèse: le revers de la médaille des tests génétiques. *Mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie* 2010;12(1):33-6.
- Kammoun I, Chaabouni M, Trabelsi M, Ouertani I, Kraoua L, Chelly I, M'rad R, Ben Jemaa L, Maâzoul F, Chaabouni H.** Analyse génétique du syndrome de Turner : étude tunisienne de 89 cas. *Annales d'Endocrinologie* 2008;69(5):440-445.
- Karcianas AC, Ichimura K, Mitchell MJ, Sargent CA, Affara NA.** Analysis of sex chromosome abnormalities using X and Y chromosome DNA tiling path arrays. *J Med Genet* 2007;44:429-436.
- Kayed HF, Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Amer AE, Abdrazik A.** Screening for chromosomal abnormalities in 2650 infertile couples undergoing ICSI. *Reprod Biomed Online* 2006;12:359-370.

- Kent-First MG, Kol S, Muallem A, Ofir R, Manor D, Blazer S, First N and Itskovitz-Eldor J.** The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. *Mol Hum Reprod* 1996; 2(12):943-50.
- Keren B, Schluth-Bolard C, Egea G, Sanlaville D.** Nouvelles méthodes d'analyse globale du génome humain. *Archives de pédiatrie* 2010;17:1605-1608.
- Klecowska A, Dmoch E, Kubien E, Fryns JP.** Cytogenetics findings in a consecutive serie of 478 patients with Turner syndrome. The leuven experience 1965-1989. *Gent Counsel* 1990;1:227-33.
- Knuth U, Honigl W, Schleicher G, Neischlag E.** Treatment of severe oligospermia with human chorionic gonadotropin / human menopausal gonadotropin: a placebo controlled, double blind trial. *Endocrinol Metab* 1987;65:1082-6.
- Koch J, Rowan K, Rombauts L, Yazdani A, Chapman M, et Johnson N.** Endometriosis and Infertility - a consensus statement from ACCEPT (Australasian CREI Consensus Expert Panel on Trial evidence), *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2012;52(6):513-522.
- Koeberl DD, McGillivray B, and Sybert VP.** Prenatal diagnosis of 45X/46XX mosaicism and 45X implications for postnatal outcome. *Am J Hum Genet* 1995; 57(3): 661-666
- Koehler KE, Boulton CL, Collins HE, French RL, Herman KC, et coll.** Spontaneous X chromosome MI and MII non disjunction events in *Drosophila melanogaster* oocytes have different recombinational histories. *Nat Genet* 1996; 14:406-414.
- Komori S, Horiuchi I, Hamada Y, et al.** Birth of healthy neonates after intracytoplasmic injection of ejaculated or testicular spermatozoa from men with non mosaic Klinefelter's syndrome: a report of 2 cases. *J Reprod Med* 2004;49:126-30.
- Koşar PA, Özçelik N, Koşar A.** Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2010;27: 17-21.
- Krausz C, and McElreavey K.** Y chromosome and male infertility. *Frontiers in Bioscience* 1999; 4:1-8.
- Krausz C, Forti G, Mc Elreavey K.** The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J Androl* 2003;26:70-75.
- Krausz C, Siffroi J-P, Souleyreau-Therville N, Bourgeron T, McElreavey K, Fellous M.** Contrôle génétique de la spermatogenèse : chromosome Y et infertilité masculine. *Annales de Biologie Clinique* 1999;57(3):309-17.
- Kretser DM, Burger HG, Hudson B.** The relationship between germinal cells and serum FSH levels in males with infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;38:787-93.

- Kunzle R, Mueller MD, Hanggi W, Birkhäuser MH, Drescher H, Bersinger NA.** Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples. *Fertility and Sterility* 2003; 79(2):287-291.
- Kvaloy K, Galvagni F, Brown WR.** The sequence organization of the long arm pseudoautosomal region of the human sex chromosomes. *Hum Mol Genet* 1994;3:771-778.
- Kyono K, Uto H, Nakajo Y, Kumagai S, Araki Y, Kanto S.** Seven pregnancies and deliveries from non-mosaic Klinefelter syndrome patients using fresh and frozen testicular sperm. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:47-51.
- Lachlan KL, Youings S, Costa T, Jacobs PA, Thomas NS.** A clinical and molecular study of 26 females with Xp deletions with special emphasis on inherited deletions. *Hum Genet* 2006;118:640-51.
- Lahn BT and Page DC.** Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science* 1999; 286: 964-967.
- Lahn BT, Pearson NM, Jegalian K.** The human Y chromosome in the light of evolution. *Nat Rev Genet* 2001;2:207-206.
- Lamb NE, Feingold E, Savage A, Avramopoulos D, Freeman S, et coll.** Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1391-1399.
- Lammarrone E, Balet R, Lower AM, Gillott C, Grudzinskas JG.** Male infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17:211-229.
- Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M.** Notions de génétique moléculaire pour comprendre l'hérédité. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* December 2008;23(6) :331-352.
- Lansac J, et Guérif F.** AMP: l'assistance médicale à la procréation en pratique. Paris : Ed. Elsevier Masson, 2005.
- Laudat A, Guehot J et Palluel AM.** Seminal androgen concentrations and residual sperm cytoplasm. *Clinica Chimica Acta* 1998;276:11-18.
- Layman C, Lissens W et al.** The genetic basis of female and male infertility. In: Emery and Rimoin. Principales and practice of medical genetics. London: 4th ed. Churchill Livingstone, 2002; Vol1, pp947-81.
- Lejeune J, Gautier M, Turpin R.** Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children. *CR Hebd Seances Acad Sci* 1959; 248:1721-1722.
- Leke RJ, Oduma JA, Bassol-Mayagoitia S, Bacha AM, Grigor KM.** Regional and geographical variations in infertility: effects of environmental, cultural, and socioeconomic factors. *Environ Health Perspect* 1993;101Suppl2:73-80.

- Lemonde A et Clément D.** Biologie cellulaire et moléculaire. Paris: Presses Université Laval, 1983;p 396-398.
- Lenton EA, Sulaiman R, Sobowale O and Cooke D.** The human menstrual cycle: plasma concentrations of prolactin, LH, FSH, oestradiol and progesterone in conceiving and non-conceiving women. *J Reprod Fert* 1982; 65:131-139.
- Lespinasse J et Nadeau G.** Apport de la génétique chromosomique moléculaire au diagnostic prénatal et périnatal des anomalies chromosomiques et des maladies géniques. *La Presse Médicale* October 2005;34(17):1257-1263.
- Levy R, Sermondade N, Hafhouf E, Dupont C, Enzacken BB, Akinin-Seifer I.** À la recherche d'une étiologie génétique chez les hommes infertiles. *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie* 2010;12(1):4-11.
- Li Z, Haines CJ and Han Y.** Microdeletions of the human Y chromosome and their relationship with male infertility. *J Genet Genomics* 2008;35(4):193-9.
- Liu DY and Baker HW.** Acrosome status and morphology of human spermatozoa bound to the zona pellucida and oolemma determined using oocytes that failed to fertilize in vitro. *Hum. Reprod* 1994;9:673-679.
- Liu DY, Baker HW.** High frequency of defective sperm-zona pellucida interaction in oligozoospermic infertile men. *Hum Reprod* 2004;19:228-33.
- Liu PY et Handelsman DJ.** The present and future state of hormonal treatment for male infertility. *Human Reproduction Update* 2003;9(1):9-23.
- Locko C, Mafouta G, Malonga F, Diafouka F.** La stérilité masculine à Brazzaville (à propos de 100 cas). *Médecine d'Afrique Noire* 1989;36(4):326-330.
- Lopez-Teijon M, Elbaile M and Alvarez JG.** Geographical differences in semen quality in a population of young healthy volunteers from the different regions of Spain. *Andrologia* 2008;40(5):318-28.
- Luddi A, Margollicci M, Gambera L, Serafini F, Cioni M, De Leo V, Balestri P, Piomboni P.** Spermatogenesis in a man with complete deletion of USP9Y. *N Engl J Med* 2009;360:881-885.
- Lun H-JJ, Kim Y-JJ, Yang J-HH, Kim E-JJ.** Amniotic fluid inter phase fluorescence in situ hybridization (FISH) for detection of aneuploidy (experiences in 130 prenatal cases). *J Korean Med Sci* 2002;17:586-592.
- Luthardt FW, and Keitges E.** Chromosomal Syndromes and Genetic Disease. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester 2001. <http://www.els.net> [doi: 10.1038/npg.els.0001446].
- Lynn A, Ashley T, Hassold T.** Variation in human meiotic recombination. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2004;5:317-349.

- Lyon MF.** X-chromosome inactivation: A repeat hypothesis. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 80:133-137.
- Malan V et Romana S.** Diagnostic des anomalies chromosomiques par CGH array en pathologie constitutionnelle : la fin du caryotype en première intention. *Archives de Pédiatrie* April 2012;19(4):437-442.
- Malekshah AK, Moghaddam AE, Moslemizadeh N, Peivandi S, Barzegarnejad A, Musanejad N, Jursarayee G.** Infertility in Mazandaran province - north of Iran: an etiological study. *Iranian J of Repro Med* 2011;9(1):21-24.
- Mansat A, et Bennet P.** Techniques d'examen du sperme. Stage de formation. Toulouse, France : Edition Laboratoire de biologie de reproduction du CECOS Midi-Pyrénées, 1986.
- Mantripragada KK, Buckley PG, De Ståhl TD, Dumanski JP.** Genomic microarrays in the spotlight. *Trends Genet* 2004; 20(2):87-94.
- Marais G et Duret L.** L'évolution des chromosomes sexuels humains. *Biofutur* 2009;304:40-41.
- Maraschio P, Tupler R, Barbierato L, et al.** An analysis of Xq deletions. *Hum Genet* 1996;97:375-381
- Marcelli F, Robin G, Rigot JM.** Prise en charge de l'infertilité masculine. *Prog urol* 2009;19:260-4.
- Marchina E, Imperadori L, Speziani M, Omodei U, Tombesi S, Barlati S.** Chromosome abnormalities and Yq microdeletions in infertile Italian couples referred for assisted reproductive technique. *Sex Dev* 2007;1:347-352.
- Marmor D.** Comprendre le spermogramme, le liquide séminal: volume, pH, viscosité. *Abstract Gynécologie* 2007;320:6-7.
- Martin RH.** Cytogenetic determinants of male fertility. *Hum Reprod Update* 2008;14(4): 379-90.
- Mascarenhas MN, Cheung H, Mathers CD, Stevens GA.** Measuring infertility in populations: constructing a standard definition for use with demographic and reproductive health surveys. *Population Health Metrics* 2012;10:1-170.
- Mau-Holzmann UA.** Somatic chromosomal abnormalities in infertile men and women. *Cytogenet Genome Res* 2005;11:317-336.
- Mehta RH, Makwana S, Ranga GM, Srinivasa RG, Virk SS.** Prevalences of oligozoospermia and azoospermia in male partners of infertile couples from different parts of India. *Asian J Androl* 2006;8(1):89-93. DOI: 10.1111/j.1745-7262.2006.00050.x.

- Minelli E, Mazzol D.** Apport de laboratoire de génétique dans le diagnostic de l'infertilité de couple. *Unilabs* mars-2006.
- Mirfakhraie R, Mirzajani F, Kalantar MS, Montazeri M, Salsabili N, Pourmand GR, Houshmand M.** High prevalence of AZFb microdeletion in Iranian patients with idiopathic non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res* 2010;132:265-270.
- Mmbaga N, et Luk J.** The impact of preconceptual diet on the outcome of reproductive treatments. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2012; 24:127-131.
- Mohammed F, Al-Yatama F, Al-Bader M, Tayel SM, Gouda S, Naguib KK.** Primary male infertility in Kuwaiti: a cytogenetic and molecular study of 289 infertile Kuwaiti patients. *Andrologia* 2007;39:87-92.
- Mohandas TK, Speed RM, Passage MB, Yen PH, Chandley AC, et al.** Role of the pseudoautosomal region in sex-chromosome pairing during male meiosis: Meiotic studies in a man with a deletion of distal Xp. *Am J Hum Genet* 1992;51:526-533.
- Moltz L, Leidenberger F, Weise C.** Rational hormonal diagnosis in normocyclic functional sterility. *Journal of infertility* 1991;51(9):756-68.
- Morali A, Bénézech M.** Syndrome de Klinefelter, érotomanie délirante et harcèlement sexuel : l'influence du traitement hormonal. À propos d'une observation originale. *Annales medio-psychologiques* 2008.doi:10.1016/j.amp.2010.05.004.
- Morel F, Douet-Guilbert N, Le Bris MJ, Amice V, Le Martelot MT, Roche S, Valeri A, Derrien V, Amice J and De Braekeleer M.** Chromosomal abnormalities in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. A study of 370 couples and review of the literature. *Int J Androl* 2004;27(3): 178-82.
- N'Guema E, Mavoungou D, Gass R, Roth MC, Jouannet P.** Comparaison des paramètres spermiologiques d'un groupe fécond et d'un groupe infécond. *Chirf-Gabon* 1986;2(28):28-33.
- Nagvenkar P, Desai K, Hinduja I and Zaveri K.** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res* 2005;122:34-42.
- Nelson SM, Anderson RA, Broekmans FJ, Raine-Fenning N, Fleming R, La Marca A.** Anti-Müllerian hormone: clairvoyance or crystal clear? *Hum Reprod* 2012;27:631-636.
- Ning Y, Laundon CH, Schröck E, Buchanan P, Ried T.** Prenatal diagnosis of a mosaic extra structurally abnormal chromosome by spectral karyotyping. *Prenat Diagn* 1999; 19(5):480-2.
- Novelli A, Ceccarini C, Bernardini L, Zuccarello D, Caputo V, Digilio MC, et al.** High frequency of subtelomeric rearrangements in a cohort of 92 patients with severe mental retardation and dysmorphism. *Clin Genet* 2004;66(1):30-8.

- Oktem O, Oktay K.** The ovary: anatomy and function throughout human life. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1127:1-9.
- Olivier HR.** Traite de biologie appliquée. Tome VI .fascicule A. Edition : Maloine 1974 ; 245p-293p.
- Paavonen J, et Eggert-Kruse W.** Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction. *Hum. Reprod. Update* 1999;5:433-447.
- Patiño R, Sullivan CV.** Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiol. Biochem* 2000;26: 57-70.
- Patrat C, Serres C, Jouannet P.** The acrosome reaction in human spermatozoa. *Biol Cell* 2000;92(3-4):255-266.
- Pellestor F, Hamamah S.** Anomalies chromosomiques de l'ovocyte humain : formation, étiologie et détection. *Mt médecine de la reproduction* 2007;9(6):369-80.
- Pellestor F.** Âge maternel et anomalies chromosomiques dans les ovocytes humains. *Medecine/Sciences* 2004;20:691-6.
- Pina-Neto JM, Carrara RCV, Bisinella R, Mazzucatto LF, Martins MD, Sartoratto E, Yamasaki R.** Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2006;39:555-561.
- Pinton A, ducos A, Yerle M.** Estimation du taux de gamètes génétiquement déséquilibrés dans la semence de verrats porteurs d'anomalies chromosomiques par la technique de « SpermFISH ». *Journées Recherche Porcine* 2003;35:317-322.
- Poncelet C et Sifer CH.** Physiologie, Pathologie et Thérapie de la reproduction chez l'humain. Paris: Springer Verlag France, 2011; 691 p.
- Popp S, Schulze B, Granzow M, Keller M, Holtgreve-Grez H, Schoell B, et al.** Study of 30 patients with unexplained developmental delay and dysmorphic features or congenital abnormalities using conventional cytogenetics and multiplex FISH telomere (M-TEL) integrity assay. *Hum Genet* 2002;111(1):31-9.
- Powell CM.** Sex chromosomes and sex chromosomes abnormalities. In: The principles of clinical cytogenetics. Snd edition, HP Inc, Editor, New Jersey: Towota, 2005;pp 207-46.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine.** Evaluation of the azoospermic male. *Fertil Steril* 2008;90(5 Suppl):S74-7.
- Quang Nhuan T.** À propos de l'exploration de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. *Immuno-analyse & Biologie specialise* 2003;18:35-40.
- Ragheb A, Sabanegh E.** Smoking and male fertility: a contemporary review. *Arch Med Sci* 2009;5(1A):S13-9.

- Ravaglia MA, Maggese MC.** Ovarian follicle ultrastructure in the teleost *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795), with special reference to the vitelline envelope development. *Tissue Cell* 2003;33: 9-17.
- Raval C, Chantot-Bastarud S, Siffroi JP.** Chromosomes et infertilité masculine. Médecine Thérapeutique. *Endocrinologie & Reproduction* 2004;6(4):225-36.
- Ravel C et Siffroi JP.** Anomalies de structure du chromosome Y et syndrome de Turner. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2009;37:511-518.
- Ravel C, Chantot-Bastarud S, McElreavey K and Siffroi JF.** Molecular anomalies of the Y chromosome: Consequences on male fertility. *Gynecol Obstet Fertil* 2006;34(10):885-93.
- Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, et al.** Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet* 1995;10(4):383-93.
- Ren JC, Banan A, Keshavarzian A, Zhu Q, LaPaglia N, McNulty J, Emanuele NV, Emanuele MA.** Exposure to ethanol induces oxidative damage in the pituitary gland. *Alcohol* 2005;35:91-101.
- Reyss AC, Christin-Maitre S.** Les gènes et l'insuffisance ovarienne prématurée. *Mt médecine de la reproduction* 2006;8(3):225-231.
- Reznik Y.** Évaluation hormonale de la fonction testiculaire chez l'adulte jeune. *Mt médecine de la reproduction* 2007;9(5):284-292.
- Riccaboni A, Lalatta F, Caliari I, Bonetti S, Somigliana E, Ragni G.** Genetic screening in 2,710 infertile candidate couples for assisted reproductive techniques: results of application of Italian guidelines for the appropriate use of genetic tests. *Fertil Steril* 2008;89:800-808.
- Rives N, Siméon N, Milazzo JP, Barthélémy C, Macé B.** Meiotic segregation of sex chromosomes in mosaic and non-mosaic XYY males: case reports and review of the literature. *Int J Androl* 2003;26:242-9.
- Rives N.** Conséquences des anomalies chromosomiques sur la gamétogenèse. *Mt médecine de la reproduction* mai-juin 2006 ;8(3):169-178.
- Robin G, Boitrelle F, Leroy X, Peers MC, Marcelli F, Rigot JM, Mitchell V.** Bilan d'une azoospermie et évaluation histologique de la spermatogenèse. *Annales de Pathologie* 2010 Jun;30(3):182-195.
- Robin G, Marcelli F, Mitchell V, Marchetti C, Lemaitre L, Dewailly D, Le roy Billiard M et Rigot J-M.** Pourquoi et comment réaliser un bilan d'hypospermie ? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2008;36:1035-1042.

- Robinson A, Linden MG, Bender BG.** Prenatal diagnosis of sex chromosome abnormalities. In: Milunsky A. Genetic disorders and the fetus. 4d Ed. New York Plenum Press, 1998. P249.
- Robinson DO, Jacobs PA.** The origin of the extra Y chromosome in males with a 47,XXY karyotype. *Hum Mol Genet* 1999;8:2205-2209.
- Romana SP, Gosset P, Elghezal H, Le Lorc'h M, Ozilou C, Lapierre JM, Sanlaville D, et al.,** Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic pré et postnatal des anomalies chromosomiques. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2001;30(suppl au n°1):75-79.
- Rosenbusch B.** Somatic chromosomal abnormalities in couples undergoing infertility treatment by intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Genetics* 2010; 89: 105-108.
- Ross MT, Grafham DV, Coffey AJ, Scherer S, McLay K, et al.** The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature* 2005;434:325-337.
- Rouiller-Fabre V, Lambrot R, Muczynski V, Coffigny H, L'écureuil C, Pairault C, et al.** Ontogenèse et régulations des fonctions testiculaires chez le fœtus humain. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2008;36:898-907.
- Roussel F, Bastit P, Delaville A, et al.** Paramètres morphologiques du sperme. *J Gyn Obst Biol Reprod* 1983;12:363-371.
- Saïdi R, Rives N, Gruel E, Mazurier S, Mousset-Siémon N et Macé B.** Nouvelle classification du spermocytogramme à fort grossissement. *Mt médecine de la reproduction, gynécologie Endocrinologie* 2008;10(5):315-24.
- Sakandé J, Kabré E, Ekue-Ligan A, Ouédraogo HA et Sawadogo M.** Relation entre les anomalies du spermogramme et les constituants biochimiques du liquide séminal de sujets consultant pour hypofertilité masculine à Ouagadougou. *Int J Biol Chem Sci* 2012 ; 6(3):1167-1178.
- Sanlaville D, Lapierre JM, Coquin A, Turleau C, Vermeesch J, Colleaux L, Borck G, Vekemans M, Aurias A, Romana SP.** Microarray CGH: principe and use for constitutional disorders. *Arch Pediatr* 2005;12:1515-1520.
- Saura R.** Syndrome Klinefelter et diagnostic prénatal. *Andrologie* 2001;11(3) :149 154.
- Schlosser J, Nakib I, Carré-Pigeon F et Staerman F.** Infertilité masculine: définition et physiopathologie. *Annales d'Urologie* 2007;(41):127-133.
- Schmidt TE, Xu W, Adler LD.** Detection of aneuploidy by multicolour FISH in mouse sperm after in vivo treatment with acrylamide, colchicines, diazepam or thiabendazole. *Mutagenesis*1999;14:173-9.

- Schröck E, Veldman T, Padilla-Nash H, Ning Y, Spurbeck J, Jalal S, et al.** Spectral karyotyping refines cytogenetic diagnostics of constitutional chromosomal abnormalities. *Hum Genet* 1997;101(3):255-62.
- Schwartz D.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris: 3eme Ed. Flammarion medecine-Sciences,1992.
- Seabright M.** A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971;2:971-972.
- Seguy B et Martin N.** Physiologie de la reproduction. MANUEL de *Gynecol Practic* 1977; pp371 – 398.
- Seifer I, Fellous M, Bignon YJ.** Causes génétiques de l'infertilité masculine. *Annales de Biologie Clinique* Mai-juin 1999;57(3) :301-8.
- Seshagiri PB.** Molecular insight into the causes of male infertility. *J Biosci* 2001;24(supp) 429–435.
- Sharif K, Elgendy M, Lashen H, Afnan M.** Age basal follicle stimulating hormone as predictors of in vitro fertilisation outcome. *British journal of Obstetrics and Gynaecology* 1998;105:107-112.
- Siffroi JP et Christin-Maitre S.** Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine: des chromosomes aux gènes.mt médecine de la reproduction. *Mt médecine de la reproduction* 2006;8(5):311-319.
- Siffroi JP.** Syndrome de Klinefelter et conseil génétique. *Andrologie* 2001;11(1):9-14.
- Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, Godoy H, Devroey P and Van Steirteghem AC.** Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. *Hum Reprod* 1994;9(9):1705-9.
- Simoni M, Kamischke A and Nieschlag E.** Current status of the molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions in the work-up of male infertility. Initiative for international quality control. *Hum Reprod* 1998;13(7):1764-8.
- Simpson JL, Rajkovic A.** Ovarian differentiation and gonadal failure. *Am J Med Genet* 1999;89:186-200.
- Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, et al.** A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990;346:240-4.
- Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, et al.** The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003;423:825-837.
- Skinner MK and Fritz IB.** Testicular peritubular cells secrete a protein under androgen control that modulates Sertoli cell function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:114-118.

- Souza CA, Cunha Filho JS, Santos D, Gratão AA, Filippon L, Tedesco C, Freitas F, Passos EP.** Follicle stimulating hormone as predictor of mobile spermatozoa in testicular biopsy of azoospermic patients. *Rev Assoc Med Bras* 2003;49(2):167-72.
- Speicher MR et Carter NP.** The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet* 2005;6:782-92.
- Spinola-Castro A, Barbosa AS, Costa TEF.** XY gonadal dysgenesis and dysmorphic features: clinical and molecular studies. *Horm Res* 2000;53(suppl 2) : 90.
- Spira A and Ducot B.** Variation physiologique du spermogramme. *Ann Biol Clin* 1985;43: 55-61.
- Stefanidis K, Belitsos P, Fotinos A, Makris N, Loutradis D, Antsaklis A.** Causes of infertility in men with Down syndrome. *Andrologia* 2011;43(5):353-357.
- Stewart DE, Robinson E, Goldbloom DS, et Wright C.** Infertility and eating disorders. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1196-1199.
- Stouffs K, Tournaye H, Van der Elst J, Haentjens P, Liebaers I and Lissens W.** Do we need to search for gr/gr deletions in infertile men in a clinical setting? *Hum Reprod* 2008;23(5):1193-9.
- Straub B.** Exploration hormonologique chez la femme infertile. *Bio Tribune Magazine* 2005; 14(1):17-20.
- Sugimoto M, Abe K.** X chromosome reactivation initiates in nascent primordial germ cells in mice. *PLoS Genetics* 2007;3:e116 disponible au www.plosgenetics.org/article/info:doi/10.1371/journal.pgen.0030116
- Sybert VP, McCauley E.** Turner's syndrome. *N Engl J Med* 2004; 351:1227-1238.
- Tachdjian G, Frydman N, Morichon-Delvallez N, Dû AL, Fanchin R, Vekemans M, Frydman R.** Reproductive genetic counselling in non-mosaic 47,XXY patients: implications for preimplantation or prenatal diagnosis: Case report and review. *Hum Reprod* 2003;18: 271-275.
- Templeton A.** Varicocele and infertility. *The Lancet* 2003;361(9372):1838-1839.
- Tepperberg J, Pettenati MJ, Rao PN, Lese CM, Rita D, Wyandt H, et al.** Prenatal diagnosis using interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): 2-year multicenter retrospective study and review of the literature. *Prenat Diagn* 2001;21(4):293-301.
- Thiry M, Poncin P.** Morphological changes of the nucleolus during oogenesis in oviparous teleost fish, *Barbus barbus*. *J Struct Biol* 2005;152:1-13.
- Thomas JA.** Toxic responses of the reproductive system, Casarett and Doull's Toxicology-the basic science of poisons, 5^e edition, édité par CD. Klaassen, New York, McGraw-Hill, 1996, p547-582.

- Thonneau P, Bujan L, Multigner L, and Mieusset R.** Occupational heat exposure and male fertility: a review. *Hum Reprod* 1998;13:2122-2125.
- Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al.** Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod* 1991;6:811-16.
- Thonneau P, Quesnot S, Ducot B, et al.** Risk factors for female and male infertility: results of a case-control study. *Hum Reprod* 1992;7(1):55-8.
- Tiepolo L and Zuffardi O.** Localization of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34(2):119-24.
- Tjio JH and Levan A.** The chromosome number of man. *Hereditas* 1956;42:1-6.
- Torniero C, Dalla-Bernardina B, Fontana E, Darra F, Danesino C, Elia M.** Electroclinical findings in four patients with karyotype 47, XYY. *Brain and Development* 2011;33:384-389.
- Toublanc JE, Boucekkine C.** Les phénotypes en rapport avec les anomalies du gène SRY. *Médecine Thérapeutique Endocrinologie & Reproduction* 2001;3(4):295-303.
- Trask BJ.** Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Genet* 2002;3:769-78.
- Tsujimura A, Matsumiya K, Miyagawa Y, et al.** Prediction of successful outcome of microdissection testicular sperm extraction in men with idiopathic nonobstructive azoospermia. *J Urol.* 2004;172:1944-7.
- Turleau C et Prieur M.** Types, fréquences et mécanismes de formation des anomalies chromosomiques. Service de cytogénétique Necker Enfants Malades, Novembre 2000.
- Turleau C et Vekemans M.** Nouvelles données en génétique chromosomique. *Medecine/Sciences* 2005;21:940-6.
- Turleau C, Vekemans M.** Trisomie 21 : 50 ans entre médecine et science. *Medecine/Sciences* 2010;26:267-72.
- Tuttelmann F, Simoni M, Kliesch S, et al.** Copy number variants in patients with severe oligozoospermia and Sertoli-cell-only syndrome. *PLoS One* 2011;6:e19426.
- Van Den Berg IM, Laven JSE, Stevens M, Jonkers I, Galjaard RJ, et al.** X chromosome inactivation is initiated in human preimplantation embryos. *Am J Hum Genet* 2009;84:771-779.
- Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, et al.** Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 1996;11 Suppl 4:1-24.

- Van Hout A et Meljac C.** Troubles du calcul et dyscalculies chez l'enfant. Paris: Ed. Masson, 2001 ; p255.
- Veyrunes F, Waters PD, Miethke P, Rens W, McMillan D, et al.** Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Res* 2008;18:965-973.
- Vialard F, Mandon-Pépin B, Pellestor F, Ziyat A, Albert M, Molina-Gomes D, Selva J, Fellous M.** Anomalies génétiques et infertilité masculine. *Androl* 2009;19:2-16.
- Vialard F, Pellestor F.** Benefit of human gamete cytogenetic: results and perspectives. *Pathol Biol (Paris)* 2008;56(6):388-99.
- Viot G, Burglen L, Vekemans M, Turleau C.** Aspects génétiques. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie* 1998;1(4):311-4.
- Vogt PH, Edelmann A, Hirschmann P, Kohler MR.** The azoospermia factor (AZF) of the human Y chromosome in Yq11: function and analysis in spermatogenesis. *Reprod Fertil Dev* 1995;7:685-93.
- Vogt PH.** Azoospermia factor (AZF) in Yq11: towards a molecular understanding of its function for human male fertility and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online* 2005;10:81-93.
- Waelken's JJ.** Turner's Syndrome in mother and daughter. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148:1208-10.
- Waldeyer W.** Über Karyokinese und ihre Beziehung zu den Befruchtungsvorgängen. *Arch Mikr Anat* 1888;32:1-122.
- Wang RX, Fu C, Yang YP, Han RR, Dong Y, Dai RL, Liu RZ.** Male infertility in China: laboratory finding for AZF microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile men from Northeastern China. *J Assist Reprod Genet* 2010;27:391-396.
- Wang XQ, Zhang HY, Qi QW, Zhao J, Xu L.** Relationship between follicle stimulating hormone and AZF microdeletion on Y chromosome in patients with azoospermia or severe oligozoospermia. *Chinese journal of medical genetics* 2011;28(5):559-561.
- Wang YA, Chambers GM, Dieng M, Sullivan EA.** Assisted reproductive technology in Australia and New Zeland 2007. *Assisted Reproduction Technology Series* 2009; no. 13 Cat. no. PER47. Caberra: AIHW.
- Warren AC, Chakravarti A, Wong C, et al.** Evidence for reduced recombination on the non-disjoined chromosomes 21 in Down Syndrome. *Science* 1987;237:652-4.
- Weber RF, Dohle GR, Romijn JC.** Clinical laboratory evaluation of male subfertility. *Advances in clinical chemistry* 2005;40:317-64.

- Weir DM.** Elecsys 2010 Operators Manual. Ed. Roche Diagnostics, 2005.
- WHO** Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. WHO Laborhandbuch zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermien-Zervikalschleim-Interaktion. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1999;S 1–138.
- Wolff DJ, Miller AP, Van Dyke DL, Schwartz S, Willard HF.** Molecular definition of breakpoints associated with human Xq isochromosomes: implications for mechanisms of formation. *Am J Hum Genet* 1996;58:154-60.
- Young J, Rey R, Couzinet B, Chanson P, Josso N and Schaison G.** Antimüllerian hormone in patients with hypogonadotropic hypogonadism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999;84(8):2696-2699.
- Zenteno JC, Lopez M, Vera C, Mendez JP and Kofman-Alfaro S.** Two SRY-negative XX male brothers without genital ambiguity. *Hum Genet* 1997;100(5-6):606-10.
- Zeuthen E, Nielsen J.** Pericentric Y inversion in the general population. *Human genetic* 1973;19:265-70.
- Zhang Y, Zhong L, Xu B, Yang Y, Ban R, Zhu J, Cooke HJ, Hao Q, Shi Q.** Spermatogenesis Online 1.0: a resource for spermatogenesis based on manual literature curation and genome-wide data mining. *Nucleic Acids Res* 2013; 41 (Database issue).
- Zhang ZB, Jiang YT, Yun X, Yang X, Wang RX, Dai RL, Liu RZ.** Male infertility in Northeast China: a cytogenetic study of 135 patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2012;29:83-87.
- Zheng Y, Bonde JP, Ernst E, Mortensen JT and Egense J.** Is semen quality related to the year of birth among Danish infertility clients? *Int J Epidemiol* 1997;26(6):1289-97.
- Zitzmann M, Rolf C, Nordhoff V, Schrader G, Rickert-Fohring M, et al.** Male smokers have a decrease success rate for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2003;79(3):1550-1554.
- Zorn JR et Savale M.** Stérilité du couple. Paris : Ed. Elsevier Masson, 2005.

Annexes

Annexe 1: Questionnaire (Fiche d'enquête)

Code :

Date :

Nom et Prénom :

Adresse :

2.1 Données sociodémographiques

Age :

Sexe : 1. Masculin 2. Féminin

Statut matrimonial : 1. Célibataire 2. Mari(e)

Profession :

Nombre d'enfants :

Age de mariage :

Age de mariage du patient (e) et du conjoint :

2.2 Paramètres de la santé

Durée de l'infertilité :

Age de conception de premier enfant :

Nombre de fausses couches :

Utilisation des contraceptifs pour les femmes : 1. Oui 2. Non

Stress : 1. Oui 2. Non

Examen clinique :

Autres maladies :

2.3 Analyse spermatique

Volume (ml) :

NB de SPZ (millions/ml) :

Vitalité (%) :

Mobilité (%) :

Morphologie (%) :

Classification :

2.4 Analyse hormonale

FSH (Hormone folliculo-stimulante) (mU/ml):

LH (Hormone lutéinisante) (mU/ml) :

Testostérone (ng/ml) :

2.5 Examen cytogénétique

- Caryotype :

1. Anomalie numérique
2. Anomalie structurale

Consentement du Patient(e)

Je déclare avoir été informé(e), oralement et par écrit, des objectifs et du déroulement de l'étude sur la stérilité, et j'autorise l'utilisation de ces informations dans cette fiche d'enquête au profil de cette étude.

Lieu, date

Signature du patient(e)

Annexe 2 : Spermogramme

2.1 Matériel

- Réceptacle à sperme à usage unique
- Etuve 37°C
- Microscope photonique
- Papier Johnson
- Eprouvette graduée de 10 ml
- Tubes à hémolyse de 5 ml
- Micropipette 100µl
- Pipette graduée 1ml
- Pipettes Pasteur
- Embouts de pipettes en polypropylène jaune 5-100µl
- Lames en verre
- Lamelles couvre objets en verre (22X32 mm)
- Papier pH réactif colorimétrique
- Cellule de THOMA

2.2 Réactifs

- Solution de Ringer formolé (solution de travail) :

Liquide de Ringer	1 L
Formol à 40%	10 ml

- Solution à Eosine 1% :

Eosine "yellowish"	1g
NaCl 9 ‰	100 ml

- Solution de Nigrosine à 10% :

Nigrosine	10g
NaCl 9 ‰	100 ml

Annexe 3 : Spermocytogramme

3.1 Matériel et réactifs :

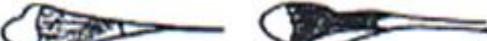
- Microscope photonique (G100X)
- Etuve 37°C
- Lames en verre
- Lamelles couvre objets en verre (24X40 mm)
- Graveur pour lames
- Porte lames
- Huile à immersion
- Mélange alcool éther
- Baume de Canada pour montage des lamelles de recouvrement
- Bacs à coloration de Papanicolaou (réactifs RAL.France)

3.2 Coloration de Papanicolaou

- Après préparation des frottis, les lames sont directement plongées dans deux bains d'alcool à 70° et 80°, 15 seconde pour chacun, puis dans plusieurs bains d'eau distillée ;
- Colorer avec Hématoxyline de Harris (30sec) ;
- Rincer à l'eau distillée pendant 1 min ;
- Plonger les lames dans la solution d'eau amoniacale (1min) ;
- Rincer couramment à l'eau distillée ;
- Passer rapidement dans deux bains d'alcool à 70°, un bain d'alcool à 80° et un bain d'alcool à 95° (10 fois pour chacun) ;
- Colorer les lames par la solution d'Orange G6 (5min) ;
- Passer rapidement (10 fois) dans deux bains d'alcool à 95° ;
- Colorer les lames par la solution polychrome EA50 (5min) ;
- Passer rapidement (10 fois) dans deux bains d'alcool à 95°, puis dans un bain d'alcool absolu ;
- Passer les lames (10 fois) dans un bain de xylène ;
- Monter les lames.

Annexe 4 : Classification des anomalies morphologiques des spermatozoïdes

Tableau 8. Classification de David 1975 des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (Mansat et Bennet, 1986)

• Les anomalies de la tête	
Formes allongées	
Simple	
Base amincie	
Battant de cloche	
Effilé	
Formes amincies	
Microcéphales	
Macrocéphales	
Dupliquées	
Formes irréguliers	
Contour irrégulier	
Acrosome mal formé	
Sans acrosome	
Forme en lyse	
• Les anomalies de la pièce intermédiaire	
Restes cytoplasmiques	
Angulation	
• Les anomalies du flagelle	
Flagelle absents	
Flagelles courts	
Flagelles enroulés	
Flagelles doubles	

Annexe 5 : Technique de caryotype sur sang totale

5.1 Matériel

- Incubateur pour culture cellulaire (étuve) avec une pression de CO₂ modulable
- Hotte à flux laminaire vertical
- Centrifugeuse à grande vitesse
- Bain marie thermostaté à 100°C
- Réfrigérateurs à 4°C, un congélateur à -20°C
- Agitateur magnétique
- Balance électrique
- Vortex
- Microscope optique
- Ordinateur

5.2 Réactifs

- ✓ **Réactifs de milieu de culture**
 - RPMI 1640 sans bicarbonate, sans L-Glutamine
 - Streptomycine (antifongique)
 - Pénicilline (antibiotique)
 - L-Glutamine (acide aminé) à 200mM
 - SVF : Sérum de veau fœtal
- ✓ **Réactifs d'établissement de caryotype**
 - PHA-C (Phytohémagglutinine-C)
 - Héparine de lithium
 - Colcémide à 10mg/l
 - KCl (Chlorure de potassium) à 0.075M
 - Ethanol (CH₃CH₂OH) à 100%
 - Acide acétique (CH₃-COOH) à 99-100%
 - Acide sulfurique (H₂SO₄) à 35%
 - Eau distillée
 - Solution de Giemsa

- Phosphate de sodium anhydre (Na_2HPO_4)
- Milieu EBS (Earl Balanced Salt)
- Huile à immersion

5.3 Préparation des solutions

- Pour préparer une solution de 30ml de KCl à 0.075M, il faut :
 - 1.5ml de KCl 0.75M
 - 28.5ml de l'eau distillée

- Pour préparer une solution de Carnoy, il faut :
 - 3 volumes d'éthanol à 100%
 - 1 volume d'acide acétique à 99-100%

- Pour diluer la solution Earl à 1/10, il faut :
 - 1ml de solution Earl
 - 9ml de l'eau distillée

Glossaire

Allèles : Versions alternatives d'un même gène différent par leur séquence nucléotidique. Par extension désignent les variantes du DNA non codant en un locus.

Ambiguïté sexuelle : C'est l'état d'un être humain dont les organes génitaux sont difficiles ou impossibles à définir comme mâles ou comme femelles selon les standards habituels.

Amniocentèse : C'est une procédure médicale invasive utilisée pour un diagnostic prénatal, dans laquelle 20 ml de liquide amniotique sont extraits de la cavité amniotique (l'amnios est une des trois enveloppes de l'œuf) dans laquelle se trouve le fœtus.

Anticorps : Une protéine fabriquée par un organisme en réponse à la présence d'un antigène qui peut s'unir spécifiquement à celui-ci.

Antigène : Substance étrangère qui, introduite dans un organisme, déclenche la formation d'anticorps.

Atrophie testiculaire : L'atrophie testiculaire est une pathologie qui se traduit par une taille diminuée des testicules par rapport à la normale. L'atrophie des testicules peut réduire voire stopper leur fonctionnement normal et entraîner des troubles de la fertilité, parfois la stérilité du patient.

Biopsie : Prélèvement de tissu pour analyse.

Carte génétique : Représentation graphique de la position des gènes les uns par rapport aux autres dans le génome.

Carte génique : C'est un alignement linéaire des gènes sur un chromosome, basé sur les fréquences de recombinaison. Son unité de distance est le centiMorgan (cM).

Caryotype : Etude de l'ensemble des chromosomes d'une cellule, selon leur nombre et leur aspect morphologique.

CentiMorgan (cM) : L'unité de mesure de distance entre deux gènes liés. Il représente la fréquence de recombinaison lors de la méiose, entre deux gènes dont les locus sont sur un même chromosome et dont les allèles présents sur chaque chromosome définissent pour chacun d'eux, un haplotype. 1cM = 1 % de recombinaison.

Centromère : Région du chromosome par laquelle le chromosome s'attache au fuseau achromatique.

Chiasmats : Zones d'échange entre chromatides appariées, observées en prophase méiotique I, conséquence de la survenue de crossing-over.

Chlordécone : C'est un produit phytosanitaire, pesticide organochloré de la famille des bishomocubanes comme le mirex et le *Kelevan*.

Choriocentèse : Ou "biopsie du trophoblaste", consiste à prélever par aspiration du tissu trophoblastique du fœtus. On prélève des cellules chorioniques (cellules du futur placenta), on parle également de prélèvement des villosités choriales.

Cryptorchidie : C'est l'arrêt de la migration du testicule en un point quelconque de son trajet normal entre la région lombaire où il se forme et le scrotum où il doit se trouver à la naissance. C'est une cause majeure d'altération de la spermatogenèse. Elle peut être unilatérale ou bilatérale.

Dysgénésie gonadique : C'est une anomalie du développement sexuel associée à un développement anormal des gonades, qui se traduit par la présence d'organes génitaux féminins ou masculins malgré le caryotypes masculin 46,XY ou féminin 46,XX respectivement.

Euchromatine : Matériel chromosomique faiblement coloré par certains colorants. On croit qu'elle représente les domaines chromosomiques qui sont riches en gènes, puisque l'ADN de ces régions est moins condensé que celui des régions riches en ADN répétitif - c'est-à-dire l'hétérochromatine.

Fluorochromes : Une substance chimique capable d'émettre de la lumière de fluorescence après excitation.

Fratricie : Ensemble des germains.

Gène : Unité de transmission héréditaire de l'information génétique. Un gène est un segment d'ADN (ou d'ARN chez virus), situé à un locus précis sur un chromosome, qui comprend la séquence codant pour une protéine, et les séquences qui en permettent et régulent l'expression.

Génome : Ensemble des informations génétiques constituant le patrimoine génétique de l'espèce. Inclut la totalité des séquences nucléotidiques codantes et non codantes, géniques et inter géniques, uniques ou répétée.

Gynécomastie : La gynécomastie désigne l'augmentation unilatérale (d'un seul côté) ou bilatérale (des deux côtés) du volume des glandes mammaires chez l'homme.

Hétérochromatine : Régions des chromosomes qui restent contractées durant l'interphase et par conséquent sont intensément colorées dans les préparations cytologiques. Ces régions sont constituées en grande partie d'ADN répétitif et contiennent un petit nombre de gènes. Elles sont ainsi pour la plus grande partie génétiquement inactives.

Hygroma : C'est l'augmentation pathologique d'une bourse séreuse (espace de glissement normalement « virtuel », se remplit d'un liquide et la tuméfaction apparaît).

Locus : Terme exclusivement topographique. Emplacement d'un segment de DNA sur un chromosome défini par son contenu informationnel (gène) ou sa séquence qu'elle soit polymorphe ou non.

Microsatellites (ou STR, Short Tandem Repeat): Segments de DNA contenant des répétitions en tandem de courts motifs dinucléotidiques CA/GT (VNDR, Variable Number of Dinucleotide Repeats), tri ou tétranucléotidiques. Le polymorphisme, qui dépend du nombre de répétitions des motifs, est un polymorphisme de taille. Les microsatellites sont très nombreux et dispersés sur tout le génome.

Mutation : Toute modification du génotype par altération de la séquence d'un fragment d'ADN allant de la modification d'une seule paire de nucléotides au réarrangement ou à la perte d'un morceau de chromosome détectable à l'observation cytologique. Si elle n'est pas létale, elle est héréditaire.

Non-disjonction : Migration accidentelle des deux chromosomes homologues vers le même pôle du fuseau de division au lieu de migration vers les deux pôles opposés.

Phénotype : Manifestation apparente de la constitution du génome sous la forme d'un trait morphologique, d'un syndrome clinique, d'une variation qualitative ou quantitative du produit final d'expression d'un gène.

Phytohémagglutinine (PHA) : Substance polysaccharidique extraite des haricots capable d'agglutiner les hématies et les séparer des leucocytes. Elle a la capacité de stimuler la prolifération et la transformation blastique des lymphocytes. Cette propriété est utile dans les études cytogénétiques réalisées sur les lymphocytes en culture, leur division étant stimulée par la phytohémagglutinine.

Pseudogène : Gene apparenté à un gène normal mais non fonctionnel, issu probablement de duplication puis de dérive par rapport au gène fonctionnel.

Recombinaison génétique : Tout processus permettant d'obtenir un assemblage nouveau d'informations génétiques à partir d'ensembles différents. La répartition aléatoire des chromosomes homologues dans les cellules filles lors de la première division méiotique est une recombinaison (interchromosomique). Le crossing-over provoque une recombinaison (intrachromosomique).

Varicocèle : Elle est caractérisée par une dilatation des veines spermatiques, qui s'accompagne souvent, mais pas toujours, d'une altération de la spermatogenèse. Les varicocèles sont généralement asymptomatiques.

Résumé

La stérilité ou l'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples en âge de se reproduire. Dans le bilan d'infertilité du couple, le caryotype s'impose quand l'étiologie reste indéterminée. Le but de cette étude est donc, d'identifier et déterminer les mécanismes des aberrations chromosomiques des gonosomes conduisant à la stérilité humaine. L'association entre l'anomalie chromosomique et les paramètres cliniques et biologiques (spermatiques et hormonales) a été également évaluée.

Sur les 27 hommes infertiles, 2 cas azoospermiques présentent des caryotypes avec anomalies portant essentiellement sur les gonosomes, il s'agit de syndrome de Klinefelter dans sa forme homogène (47,XXY). La forme mosaïque a été trouvée dans un seul cas avec la formule chromosomique (47,XXY/46,XY). Chez les 30 femmes infertiles étudiées, l'aneuploïdie la plus fréquente est représentée par le syndrome de Turner de formule chromosomique 45,X0, homogène dans les 2 cas caryotypés. Quant à l'exploration hormonale, on marque une élévation des gonadotrophines (FSH et LH) chez les deux sexes et une diminution du taux de testostérone chez les hommes azoospermiques de caryotypes anormales.

La présence d'anomalies chromosomiques chez les hommes et les femmes infertiles suggèrent fortement la généralisation des tests génétiques et cytogénétiques afin de rendre plus efficiente leurs prise en charge.

Mots clés: Stérilité, caryotype, anomalies gonosomiques, diagnostic, conseil génétique.

Abstract

Sterility or infertility is a major health problem that affects many couples in reproductive age. To evaluate the infertility of couple, the karyotype analysis will be needed especially, when we can not know the cause of this infertility. The aim of this study was to identify and determine the mechanisms of sex chromosomal aberrations in infertile patients. The association between chromosomal abnormalities and clinical, biological parameters (semen and hormonal data) was also evaluated.

Of the twenty-seven men, two azoospermic cases had sex chromosomal abnormalities. These were described as (47,XXY) homogeneous forms. Klinefelter syndrome with mosaic karyotype (47,XXY/46,XY) was found among one case included in this study. For the infertile women (N=30), the most common chromosome aneuploidy was represented by Turner syndrome with homogeneous (45,X0) karyotype. This abnormality was found in two women. In the other hand, a higher level of FSH and LH was noted in both sexes while the lower concentrations of testosterone were observed in azoospermic men with abnormal karyotype.

The occurrence of chromosomal abnormalities among infertile men and women strongly suggest widespread genetic and cytogenetic testing to make them more efficient care.

Key words: Sterility, karyotype, sex chromosomal abnormality, diagnosis, genetic counseling.

ملخص

العقم هو مشكلة صحية كبيرة، تؤثر على كثير من الأزواج في سن الإنجاب. يستعمل النمط النووي عادة لمعرفة سبب العقم لدى الزوجين. الهدف من هذه الدراسة هو معرفة وتحديد آليات التشوهات الكروموسومية (الصغيرة) المؤدية إلى العقم خاصة كروموسومات الجنس البشري. كما تم تقييم العلاقة بين هذه التشوهات الكروموسومية والمعطيات الطبية والبيولوجية (الحيوانات المنوية والهرمونية).

من بين 27 رجل يعانون من حالة العقم، توجد حالتين اثنتين تتميزان بالفقدان الكلي للحيوانات المنوية. النمط النووي لهذه الأخيرة يثبت وجود أكثر من صبغي واحد للجنس البشري في شكل حر و متجانس (47,XXY) والذي يميز داء الكلينفيلتر. عشر على الشكل الفسيفسائي في الصيغة الصغيرة (47,XXY/46,XY) في حالة واحدة فقط. بالنسبة للنساء اللائي يعانين من العقم (n=30)، قد تم العثور على حالتين اثنتين تتميزان بالنمط النووي في صيغة صغيرة حرة و متجانسة (45,X0). نسبة الهرمونات في الدم تتميز بارتفاع مستوى FSH و LH لدى الرجال والنساء على حد سواء. أما نسبة testosterone فهي جد منخفضة لدى الرجال الذين يعانون من فقدان كلي للحيوانات المنوية و نمط نووي غير طبيعي.

وجود التشوهات الصغيرة لدى الرجال و النساء الذين يعانون من العقم يفرض بقوة وجوب توسيع نطاق الاختبارات الجينية و ذلك بهدف التكفل الأمثل بهذه الفئة.

الكلمات المفتاحية: العقم، النمط النووي، تشوهات صبغيات الجنس البشري، فحص، نصيحة وراثية