

Le MSOME permet-il d'améliorer le choix des spermatozoïdes euploïdes

Mohamed Hassen CHELLI

François VIALARD

Introduction (1)

Infertilités masculines sévères

Caryotype anormal

(2 à 14% des sujets infertiles)

- ✓ Production de spermatozoïdes porteurs de déséquilibres chromosomiques.
- ✓ Risque de transmission d'un déséquilibre chromosomique au conceptus

Caryotype normal

- ✓ Augmentation des aneuploïdies spermatiques:
 - dans les oligo et/ou térotozoospermies sévères
 - chez les patients des couples en échec d'implantation et/ou ayant des fausses couches à répétition

ICSI (risque chromosomique accru)

Introduction (2)

→ les spermatozoïdes aneuploïdes sont-ils reconnaissables morphologiquement en ICSI ?

Introduction (3)

En ICSI classique les spermatozoïdes aneuploïdes ne sont pas repérables mais:

- ✓ Nouvelle technique d'observation fine : **MSOME** (*Bartoov et al, 2002*)

MSOME efficace dans les échecs d'implantation (*Berkovitz et al, 2005; Hazout et al, 2006*) , **agirait-il en sélectionnant les anomalies chromosomiques?**

Ces anomalies sont elles le signe d'une aneuploïdie



Introduction (4)

Objectif de l'étude :

intérêt du MSOME pour la sélection des spermatozoïdes euploïdes ?

le MSOME permet-il de sélectionner différents types de ségrégations ?

Population étudiée : patients ayant une proportion très augmentée de spermatozoïdes aneuploïdes

Matériels (1)

Groupe 1 (n=2), Patients à caryotype normal ayant **plus de 5%** d'aneuploidie spermatique sur sperme entier pour les chromosomes X, Y et 18 (< 1% chez les patients témoins fertiles):

- ✓ **Patient 1: Echec d'implantation, 96% macrocéphalie spermatique, 99% des spermatozoïdes aneuploïdes sur sperme entier.**
- ✓ **Patient 2: 94% macrocéphalie spermatique, 99.7% de spermatozoïdes aneuploïdes sur sperme entier.**

Les spermatozoïdes macrocéphales :

- méiose bloquée mais spermiogenèse conservée
- taille de la tête, reflet imparfait de la ploïdie
- certains patients homozygotes pour une mutation du gène AURKC



Matériels (2)

Groupe 2 (n=12), Patients à caryotype anormal :

✓ 6 cas de **translocations réciproques équilibrées**

46,XY,t(10;13)(q11;q34)

46,XY,t(5;8)(p15.1;q22.1)

46,XY,t(4;11)(p15.2;q21)

46,XY,t(5;21)(q15;q22.2)

46,XY,t(8;9)(q21.1;q22.2)

46,XY,t(6;10)(p23.q11.2)

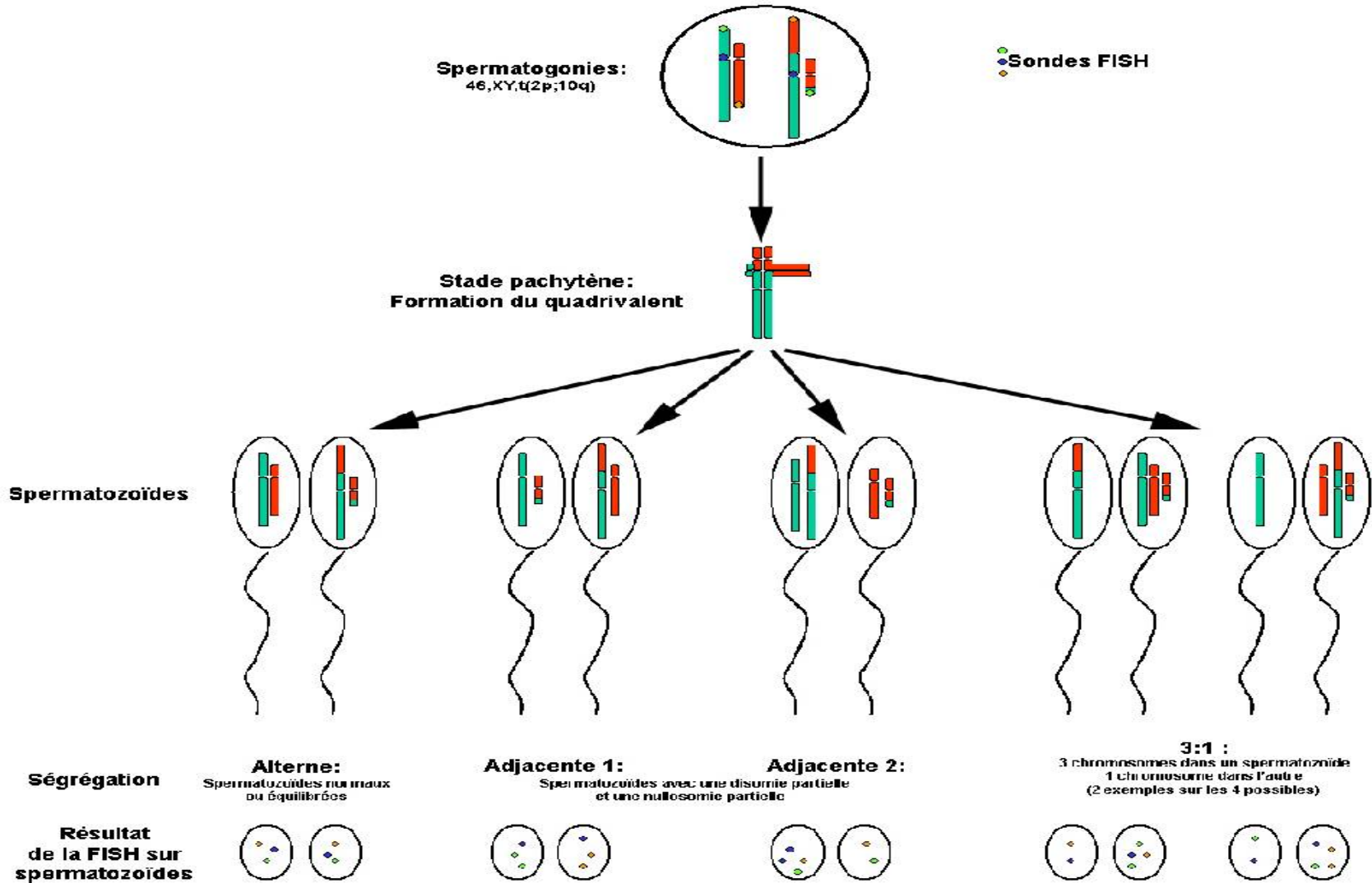
✓ 5 cas de **translocations robertsonniennes**

3 45,XY,rob(13;14)

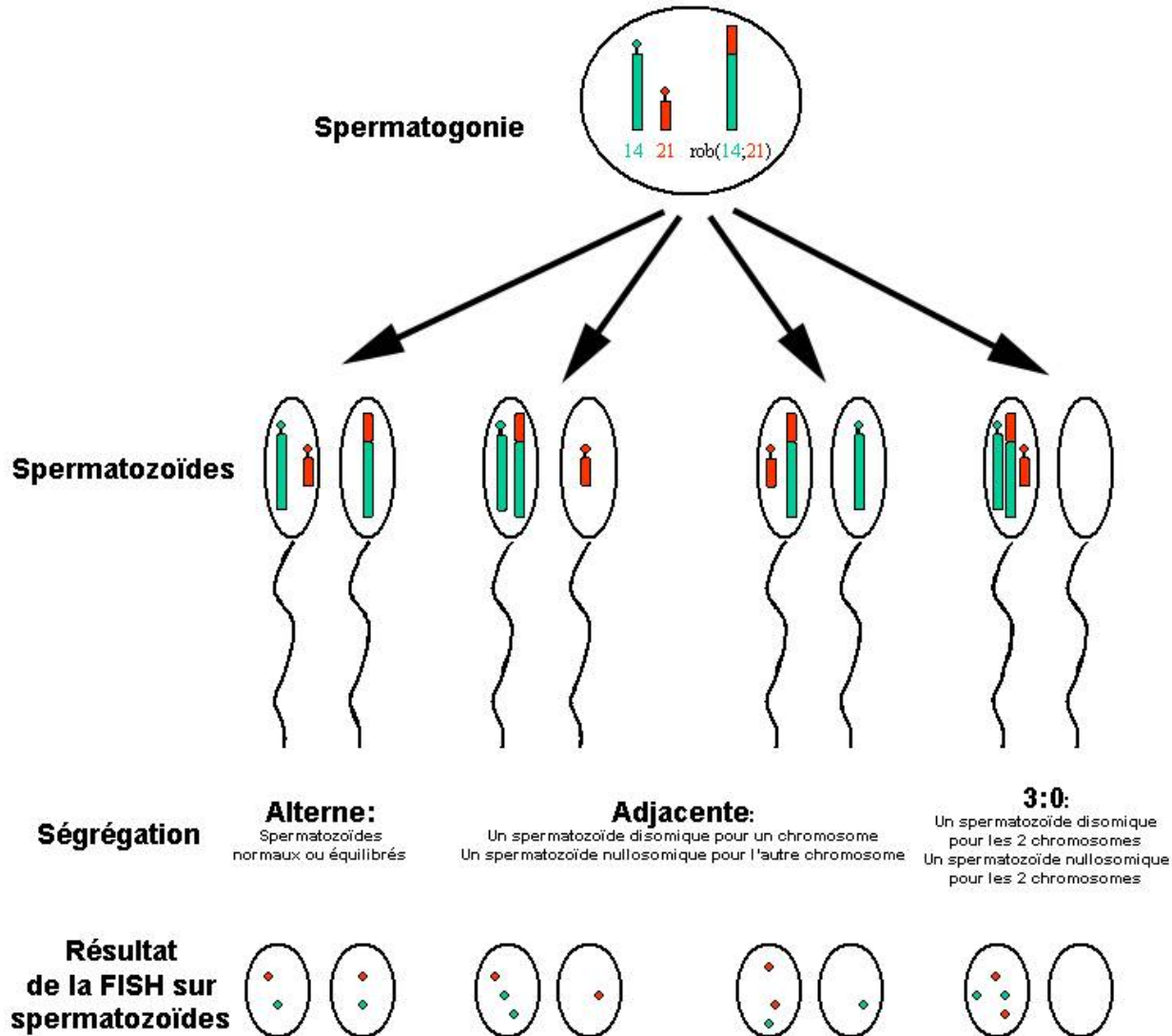
45,XY,rob(15;21)

45,XY,rob(13;15)

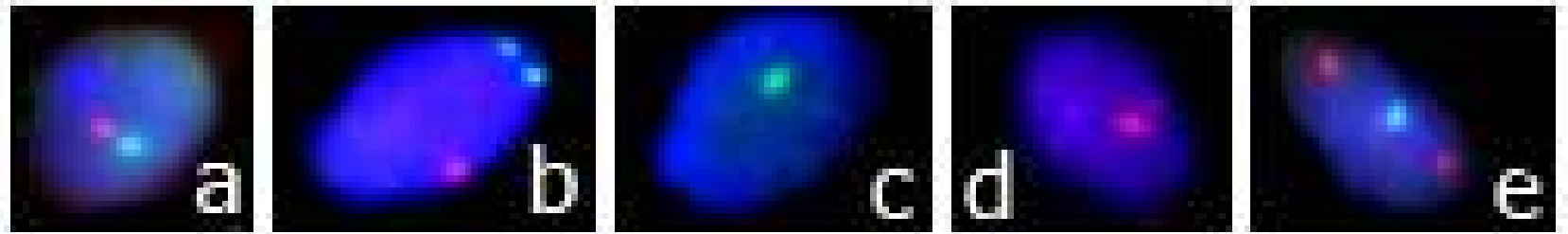
Ségrégation d'une translocation réciproque



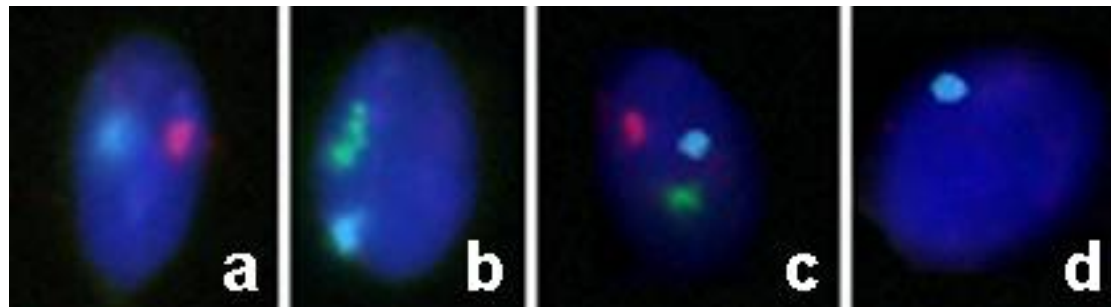
Ségrégation d'une translocation robertsonnienne



Ségrégation d'une translocation robertsonnienne



Ségrégation des gonosomes



Méthodes (1)

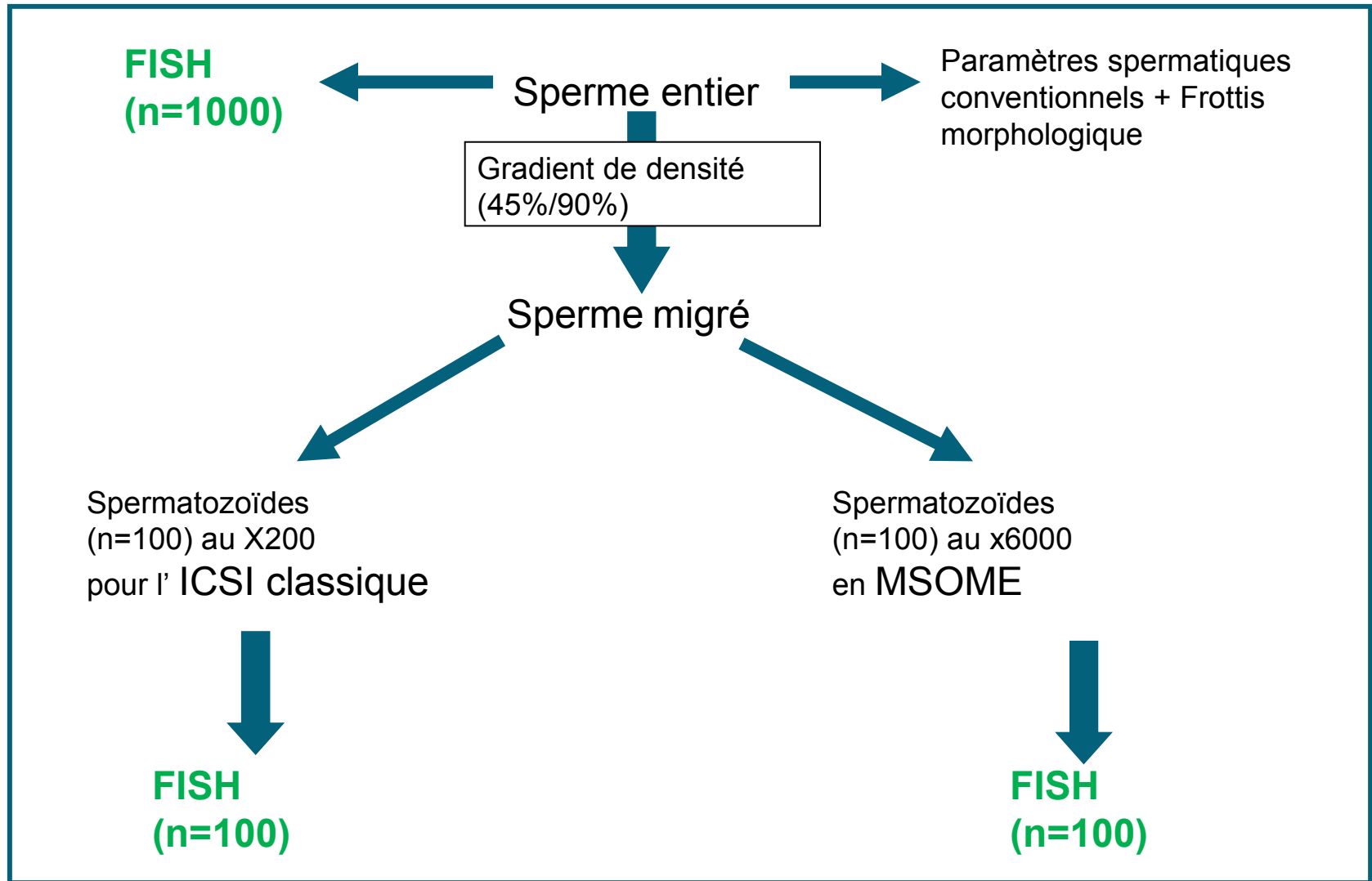


Photo1 : Localisation du spermatozoïde en bord de goutte (x6000)



Photo2 : Mise à plat et observation de la morphologie spermatique (x6000)

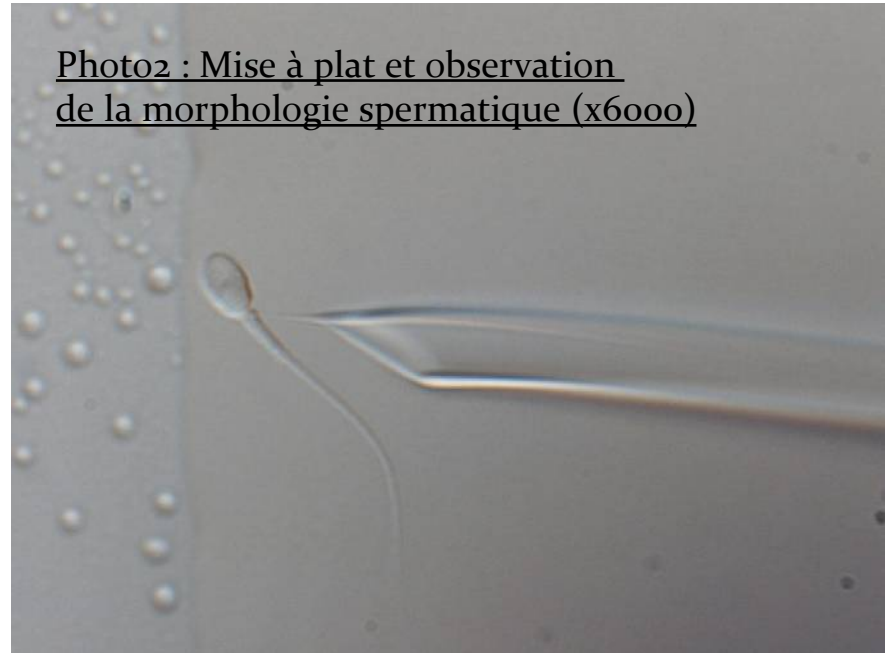


Photo3 : Aspiration du spermatozoïde par le flagelle (x6000)

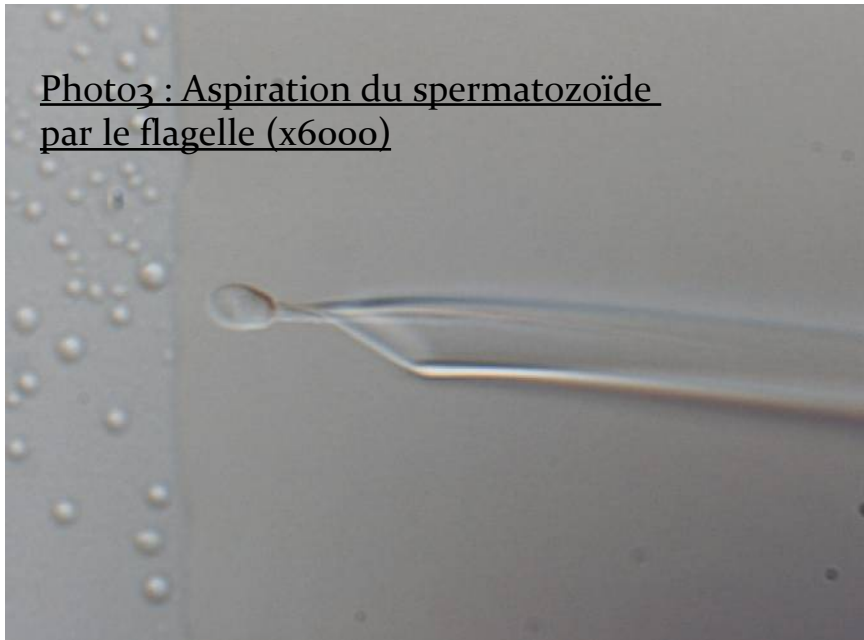
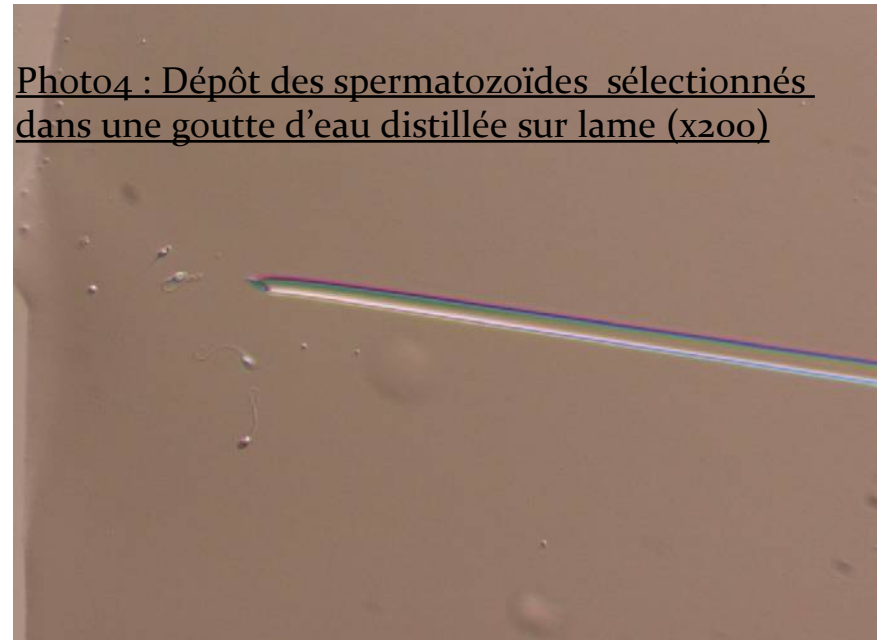


Photo4 : Dépôt des spermatozoïdes sélectionnés dans une goutte d'eau distillée sur lame (x200)

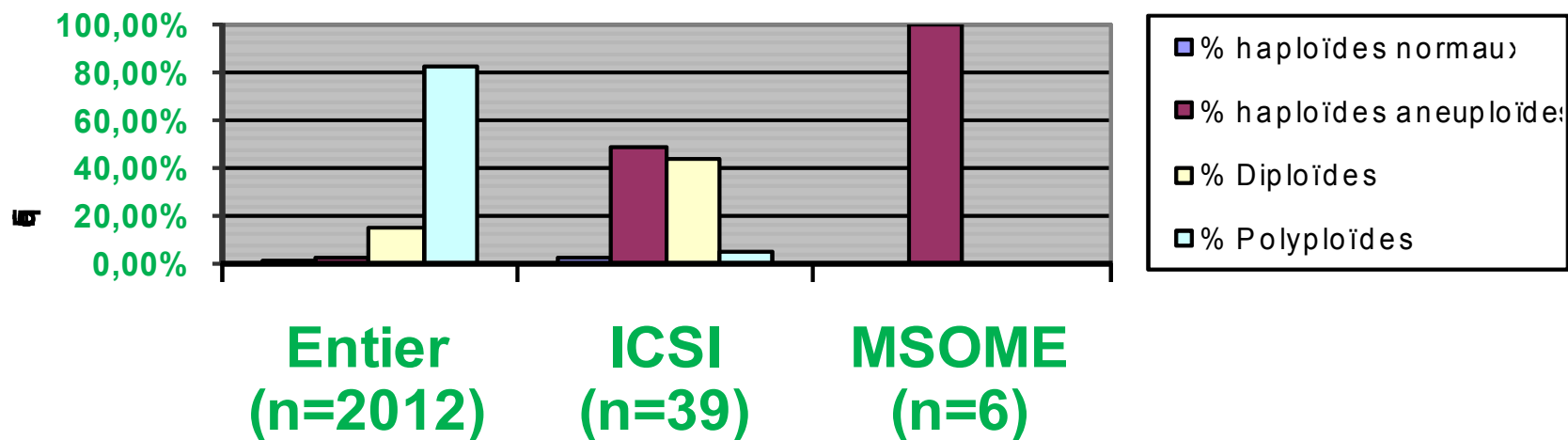


Méthodes (2)

- ✓ **Fixation du spermatozoïde sélectionné** : adaptée de la fixation du 1^{er} Globule Polaire au cours du Diagnostic Pré Conceptionnel.
- ✓ **FISH** : validée en double lecture
Pour tous les patients, **analyse des chromosomes X, Y et 18.**
Pour les patients porteurs de translocation, **analyse des chromosomes impliqués.**

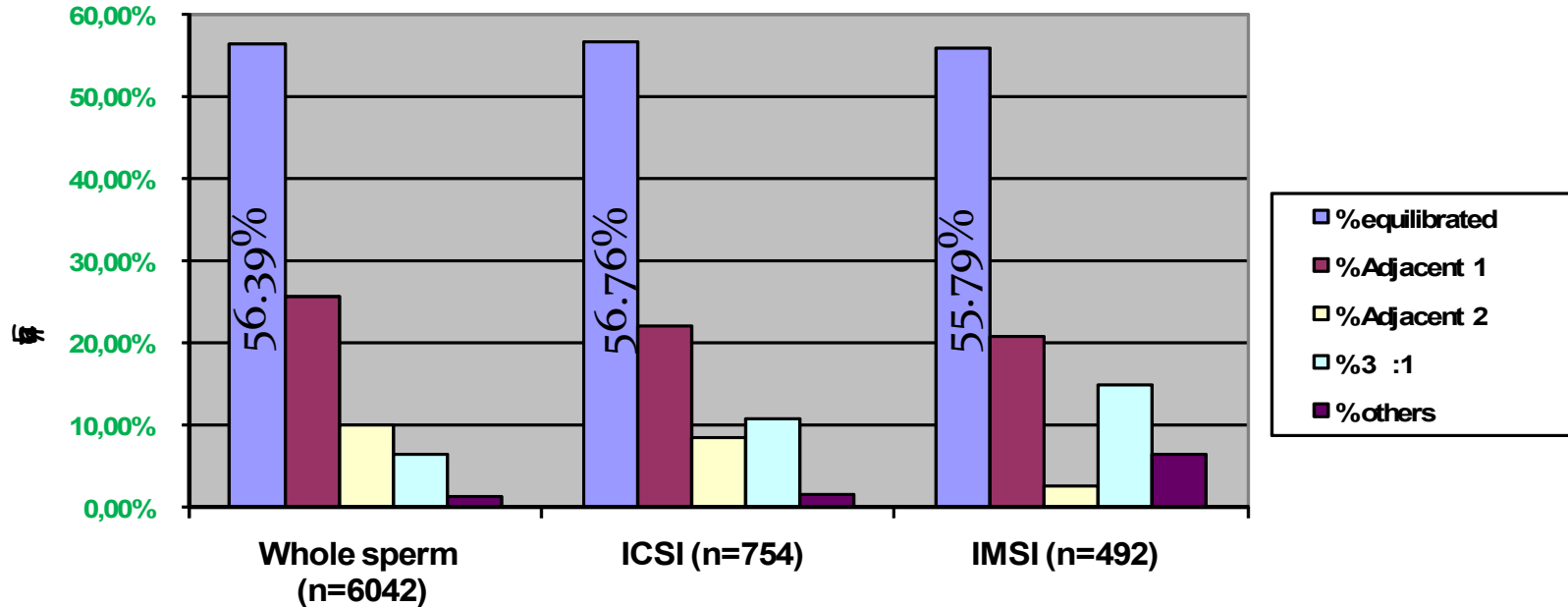
Patients ayant une macrocéphalie spermatique

Chelli et al, 2009



Elimination des spermatozoïdes polyploïdes
et diploïdes

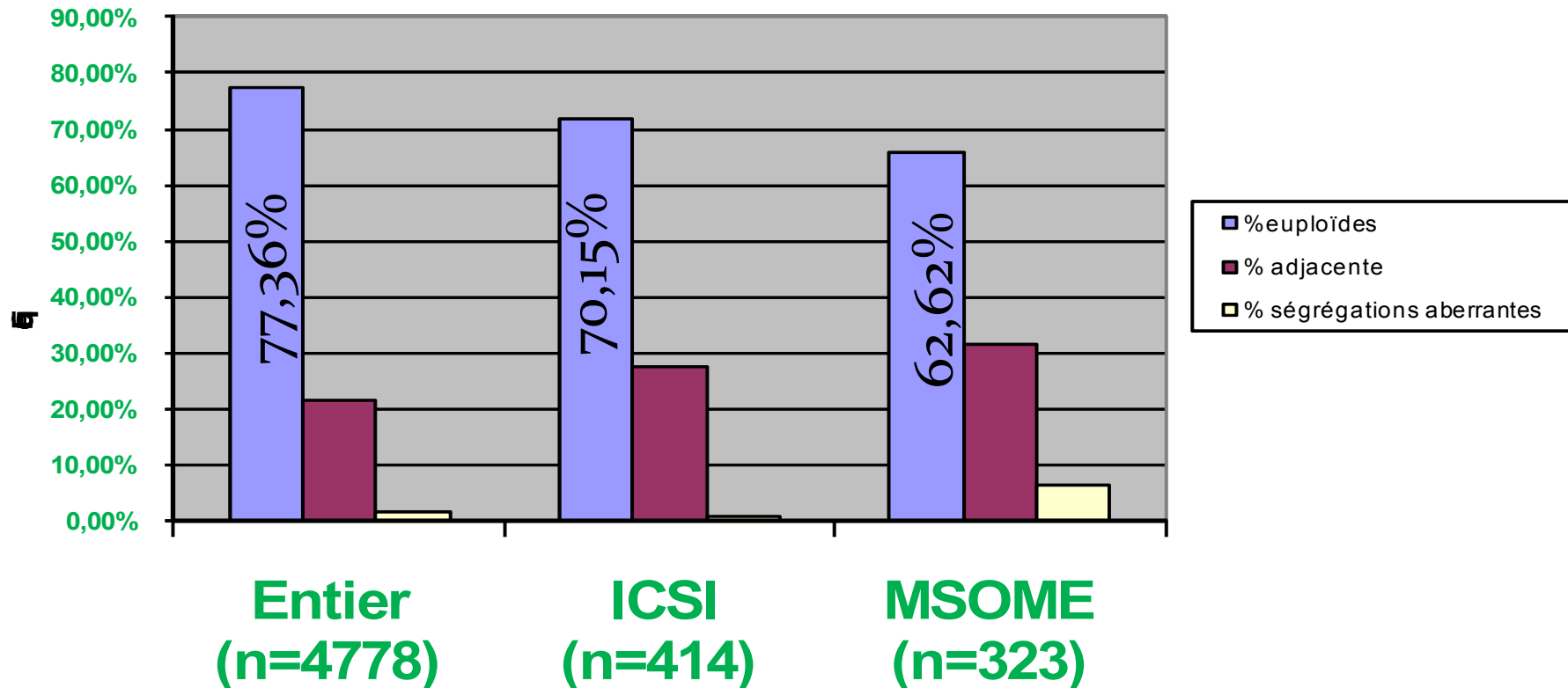
Patients porteurs d'une translocation réciproque



Pas d'influence de la sélection sur les taux d'aneuploïdies spermatiques

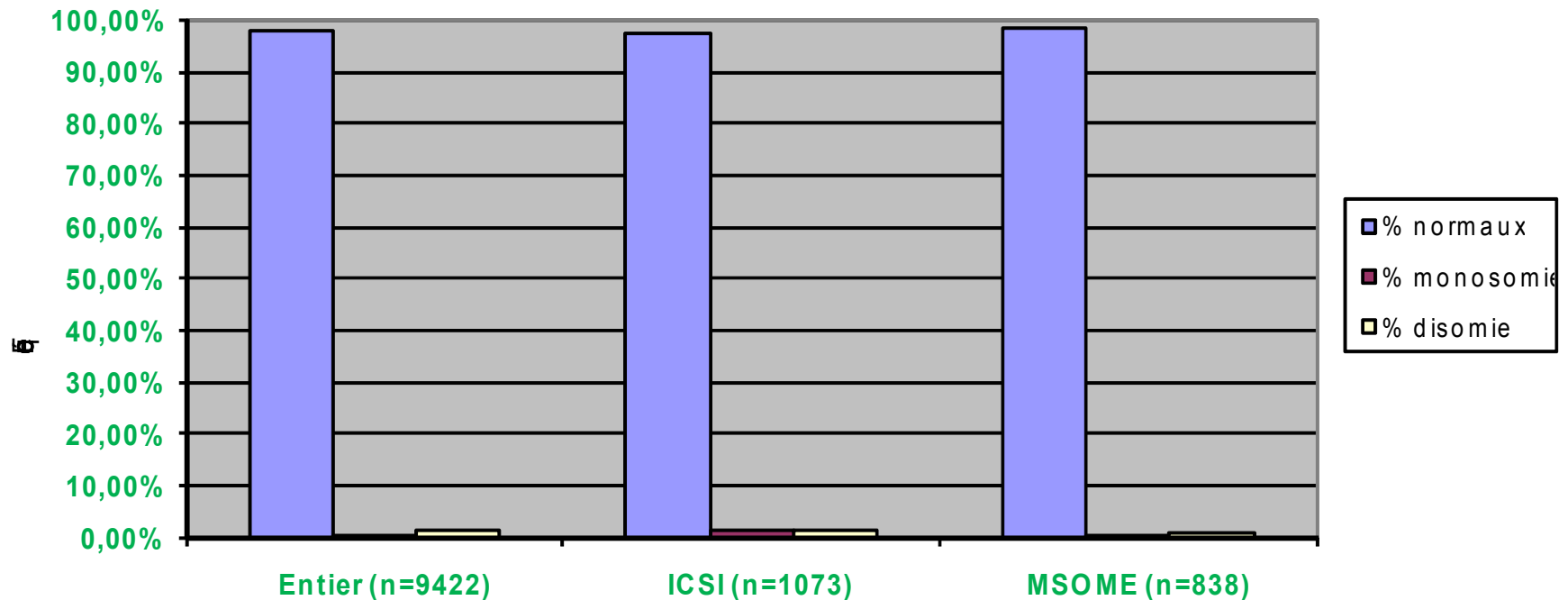
- ↘ Adjacent 1
- ↘ Adjacent 2
- ↗ 3:1 segregation

Patients porteurs d'une translocation robertsonnienne



Les aneuploïdies spermatiques semblent augmentées par la sélection IMSI ($p=0.02$)

Taux d'aneuploïdie (X,Y,18) chez les patients porteurs de translocation



✓ De même, pas d'influence de la méthode de sélection sur le taux d'aneuploïdie (X,Y,18) pour les spermatozoides

Discussion (1)

MSOME et chromosomes (X,Y,18):

- ✓ Elimination des spermatozoïdes polyploïdes et diploïdes en cas de macrocéphalie spermatique mais pas de sélection des spermatozoïdes euploïdes chez tous les patients.

MSOME et translocations robertsonniennes:

- ✓ Pas de sélection des spermatozoïdes euploïdes

Nullo-somie ou Disomie d'un chromosome entier X Y 18 ou acrocentrique non visible en MSOME?

Discussion (2)

MSOME et translocations réciproques:

- ✓ **Pas de sélection** des spermatozoïdes **euploïdes** mais certains types de malségrégations paraissent éliminés

Nullo-somie ou Disomie partielles (adjacente 1 et 2)
altèrent la structure nucléaire donc visibles au
MSOME ?

→ Structure de la chromatine altérée?

Conclusion

MSOME

Ne permet pas de sélectionner les spermatozoïdes ayant un contenu chromosomique normal mais permettrait d'éliminer certaines anomalies chromosomiques (polyploïdes, adjacente 1 et 2) qui altèreraient la structure nucléaire?

EA 2493 UVSQ - CHI Poissy St Germain

Pr P. de Mazancourt, Pr J. Selva

Cytogénétique

L. Allard
F. Bru
L Carton
A. Escalona
F Ferfour
M Henault
A. Martin
D. Molina Gomes
MJ. Petit
F. Vialard

Gynécologie

A. Fauconnier
R. Wainer
M. Bailly
S. Salama
A. Balladur
A. Torre
B. Paillusson

Laboratoire AMP

M. Albert
M. Bergere
H Chelli*
F Boitrelle
P. Cavelot
V. Delabroye
M. Gombault
C. Le Roux

Biologie Moléculaire

R Boudjenah, V Serazin, C Le Sciellour

Laboratoire

Clément
P. Clement
C Frainais
ML Maurin
M. Minz

CHR Dreux

B Guthauser
M Dolley

CH de Mantes

A Delanete
V Madinier

U895 Nice

C. Mauduit
M. Benahmed

IM Montsouris

I Hammoud