

## Étude cytogénétique de l'ovocyte humain

Le développement des techniques de fécondation *in vitro* a permis d'effectuer un grand nombre d'analyses cytogénétiques des ovocytes humains. Le pourcentage global d'anomalies chromosomiques, chromosomes sur-numéraires ou sous-numéraires le plus souvent, s'élève à 24 %, soit beaucoup plus qu'au niveau des spermatozoïdes. Certains groupes de chromosomes semblent plus fréquemment affectés que d'autres par des phénomènes de non-disjonction. Des études complémentaires restent indispensables pour évaluer l'influence éventuelle des traitements hormonaux, de la culture *in vitro* des ovocytes et de l'âge des femmes sur la fréquence, voire sur le type des anomalies chromosomiques.

---

Franck Pellestor

---

**L**a dernière décennie a vu l'avènement d'un nouveau domaine d'investigations cytogénétiques qui est l'étude chromosomique des gamètes humains.

Les anomalies chromosomiques constituent la cause principale des échecs de fécondation, tant *in vivo* qu'*in vitro* [1]. Exception faite des erreurs de fécondation proprement dites, ayant pour résultat la constitution de zygotes polyploïdes, l'ensemble des aberrations chromosomiques de l'œuf humain fécondé est d'origine méiotique. Le caryotype méiotique a longtemps été l'unique source d'information [2]. Cependant, les données recueillies à partir de l'examen de biopsies testiculaires ou d'ovaires fœtaux restent ponctuelles et ne permettent pas une analyse synthétique du processus de malségrégation méiotique puisque seules les étapes pro-

phasiques I et métaphasiques I, c'est-à-dire les étapes précédant le phénomène de ségrégation des chromosomes, sont accessibles grâce à cette technique. Aussi, la connaissance du contenu génétique des gamètes mûrs est essentielle pour expliquer la formation, voir la transmission de ces anomalies et préciser la part respective des contributions maternelle et paternelle à leur genèse.

Paradoxalement, c'est la cytogénétique du sperme qui, jusqu'à présent, a connu le développement le plus remarquable. En effet, le spermatozoïde, du fait de son caractère amitotique, n'est pas accessible en tant que tel à l'analyse cytogénétique ; mais la mise au point, en 1976, d'un système original de fécondation *in vitro* homme-hamster [3] a permis l'amorce de l'étude chromosomique des spermatozoïdes humains. Depuis, de nombreux résultats ont été acquis concernant la fréquence, la variété et

---

### ADRESSE

---

F. Pellestor : docteur en biologie de l'université Joseph-Fourier, Grenoble I. Laboratoire de biologie de la reproduction, faculté de médecine de Montpellier, 2, rue École-de-Médecine, 34059 Montpellier, France.

l'étiologie des anomalies chromosomiques dans le sperme de sujets normaux [4, 5] ou porteurs de divers remaniements chromosomiques [6]. Le gamète femelle humain constitue un domaine d'investigation resté longtemps inexploré pour des raisons évidentes d'ordre éthique et du fait de la rareté du matériel expérimental. Cependant, toutes les études épidémiologiques ont souligné le rôle essentiel de la lignée germinale femelle en matière de mutagenèse chromosomique. Les données les plus significatives concernent la trisomie 21 : chez 80 % des sujets atteints, le chromosome surnuméraire provient de la mère et l'anomalie résulte le plus souvent d'une malségrégation lors de la première division méiotique [7]. Ainsi, bien qu'un rôle majeur ait été attribué au sexe féminin dans la genèse des anomalies chromosomiques de l'œuf fécondé, la contribution maternelle n'avait jamais été directement évaluée.

### L'apport des techniques de fécondation *in vitro*

L'étude cytogénétique du gamète femelle est désormais possible grâce au développement des techniques de fécondation *in vitro* (FIV) humaine, qui, dans l'ensemble, a largement contribué au regain d'intérêt suscité par l'étude des anomalies de la fécondation.

La principale source d'informations est l'ovocyte II ayant fait l'objet d'un échec de fécondation *in vitro*. En effet, 30 % des ovocytes pré-ovulatoires recueillis lors des techniques de FIV restent infécondés. Ces cellules intactes et généralement bloquées en métaphase de deuxième division méiotique constituent un matériel de choix pour une analyse chromosomique directe.

Le suivi, au microscope, de la fécondation *in vitro* permet de juger de l'échec de fécondation sur la base de deux critères qui sont l'absence des pronucléi mâle et femelle dans le cytoplasme de l'ovocyte dix-sept heures après la mise en contact des gamètes, et la non-segmentation ultérieure de cet œuf. Parallèlement, la présence ou l'absence du premier globule polaire dans l'espace périvitellin de l'œuf non fécondé nous ren-

seigne sur son état de maturité nucléaire.

La manipulation cytogénétique des ovocytes non fécondés a lieu dans la foulée de cette deuxième observation microscopique confirmant l'échec de fécondation, soit 40 à 45 heures après le recueil des ovocytes. La technique usuelle de fixation s'inspire de la méthode présentée en 1966 par Tarkowsky [8]. En premier lieu, chaque ovocyte fait l'objet d'un choc hypotonique de 3 à 5 minutes dans une solution de citrate de sodium à 1 %, ayant pour but de faciliter la désagrégation de la cellule et l'étalement de ses chromosomes. L'œuf est ensuite prélevé à la micro-pipette et déposé sur une lame parfaitement dégraissée placée sous une loupe binoculaire. Trois à quatre gouttes de fixateur (mélange 1:3 d'acide acétique et d'éthanol à 95 %) projetées sur l'œuf suffisent alors à provoquer l'éclatement de l'ovocyte et la fixation des chromosomes. La lame est aussitôt observée au microscope à contraste de phase et les chromoso-

mes sont repérés. Une variante de la technique consiste en une fixation graduelle des ovocytes [9] permettant l'étalement de la métaphase sans rupture de la membrane cytoplasmique de l'ovocyte, donc sans risque d'éparpillement des chromosomes sur la lame.

Enfin, la révélation des chromosomes se fait généralement par le biais d'une simple coloration au Giemsa. Divers protocoles de marquage chromosomique [10, 11] ont cependant été expérimentés sur les métaphases d'ovocytes afin de faciliter l'identification des chromosomes ; mais, compte tenu de l'aspect extrêmement condensé des chromosomes d'ovocytes (*figure 1*), les marquages obtenus restent aléatoires et peu reproductibles.

### Un taux élevé d'anomalies chromosomiques

Sur la base des 14 études publiées à ce jour (*Tableau I*, p. 969), il s'avère que le rendement de cette analyse

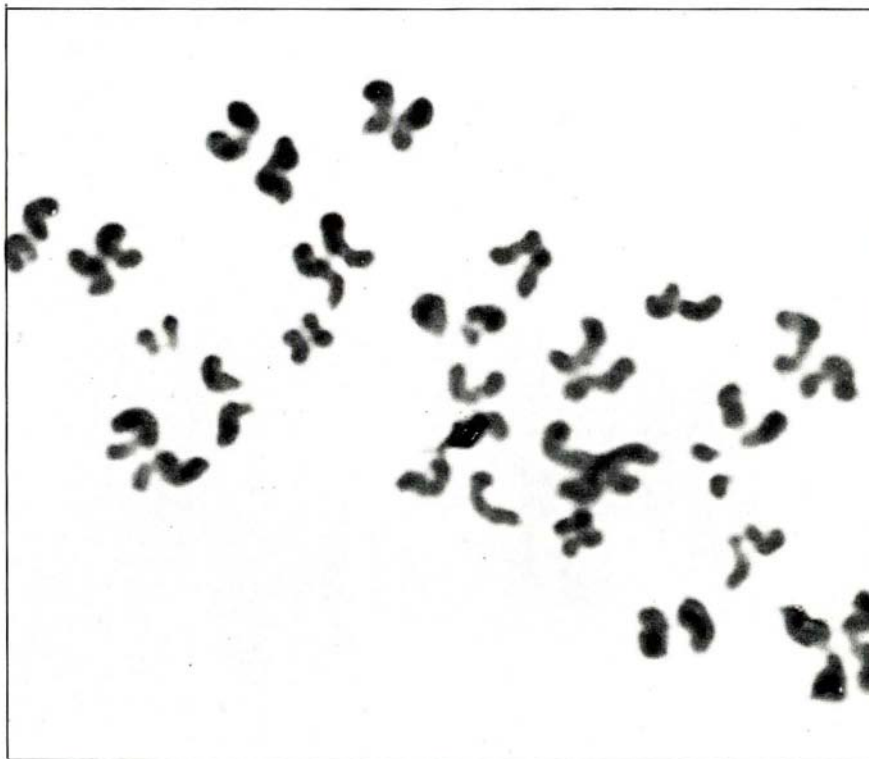


Figure 1. **Métaphase haploïde d'un ovocyte II normal ( $n = 23$  chromosomes).** A noter l'aspect particulier des chromosomes dû à leur important degré de condensation et à la séparation des chromatides sœurs amorcée dès le stade métaphasique.

## RÉFÉRENCES

1. Edwards RG. Causes of early embryonic loss in human pregnancy. *Hum Reprod* 1986 ; 1 : 185-98.
  2. Hulten M, Luciani JM, Kirton V, Devictor-Vuillet M. The use and limitations of chiasma scoring with reference to human genetic mapping. *Cytogenet Cell Genet* 1978 ; 22 : 37-58.
  3. Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ. The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 1976 ; 15 : 471-6.
  4. Martin RH, Rademaker AW, Hildebrand K, Long-Simpson L, Peterson D, Yamamoto J. Variation in the frequency and type of sperm chromosomal abnormalities among normal men. *Hum Genet* 1987 ; 77 : 108-14.
  5. Pellestor F, Sèle B. Étude cytogénétique du sperme humain. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 244-51.
  6. Pellestor F, Sèle B, Jalbert H, Jalbert P. Direct segregation analysis of reciprocal translocations : a study of 283 sperm karyotypes from four carriers. *Am J Hum Genet* 1989 ; 44 : 464-73.
  7. Juberg RC, Mowrey PN. Origin of non-disjonction in trisomy 21 syndrome : all studies compiled, parental age analysis and international comparisons. *Am J Med Genet* 1983 ; 16 : 111-6.
  8. Tarkowsky AK. An air-drying method for chromosome preparations from mouse eggs. *Cytogenetics* 1966 ; 5 : 394-400.
  9. Wrambsy H, Liedholm P. A gradual fixation method for chromosome preparations of human oocytes. *Fertil Steril* 1984 ; 41 : 736-8.
  10. Martin RH, Mahadevan MM, Taylor PJ, et al. Chromosomal analysis of unfertilized human oocytes. *J Reprod Fertil* 1986 ; 78 : 673-8.
  11. Pellestor F, Sèle B. Assessment of aneuploidy in the human female by using cytogenetics of IVF failures. *Am J Hum Genet* 1988 ; 42 : 274-83.
  12. Bongso A, Chye NS, Ratman S, Sathanathan H, Wong PC. Chromosome anomalies in human oocytes failing to fertilize after insemination *in vitro*. *Hum Reprod* 1988 ; 3 : 645-9.
  13. Plachot M, Veiga A, Montagut J, et al. Are clinical and biological IVF parameters correlated with chromosomal disorders in early life : a multicentric study. *Hum Reprod* 1988 ; 3 : 627-35.
  14. Pellestor F, Sèle B, Raymond L. Human oocytes chromosome analysis. *Am J Hum Genet* 1989 ; 45 (suppl) : A104.
  15. Pieters MHEC, Geraedts JPM, Dumoulin JCM, et al. Cytogenetic analysis of *in vitro* fertilization (IVF) failures. *Hum Genet* 1989 ; 81 : 367-70.
  16. Speed RM. The possible role of meiotic pairing anomalies in the atresia of human fetal oocytes. *Hum Genet* 1988 ; 78 : 260-6.
  17. Ford JH, Lester P. Factors affecting the displacement of chromosomes from the metaphase plate. *Cytogenet Cell Genet* 1982 ; 33 : 327-32.
- cytogénétique est de l'ordre de 40 à 50 % : environ 3 500 ovocytes non fécondés ont été analysés pour un total de 1 700 caryotypes rapportés. En fait, un grand nombre de cellules recueillies ne permettent pas une analyse cytogénétique, soit qu'il s'agisse d'ovocytes nucléairement immatures ou d'ovocytes atrétiques, soit qu'un mauvais étalement des chromosomes sur la lame empêche un examen cytogénétique correct.
- Dans une minorité de cas (7 %), on observe des métaphases diploïdes dont le nombre de chromosomes égale ou avoisine 46. Généralement, lorsque l'immaturité nucléaire de l'ovocyte a préalablement été constatée par l'absence du premier globule polaire, l'observation d'un lot chromosomique diploïde apporte la preuve cytogénétique de cette immaturité et la métaphase en question correspond au stade diacinèse (prométaphase I) de la première division méiotique. Une autre interprétation cytologique consiste en l'achèvement de la méiose sans expulsion du globule polaire, du fait de la localisation trop profonde du fuseau de division dans le cytoplasme ovocytaire ; d'où la non-ségrégation des chromosomes et l'interprétation du double lot chromosomique observé comme étant une métaphase II diploïde.
- Toutefois, la majorité des caryotypes établis (1 559) provient de métaphases II (Tableau I), donc d'ovocytes matures. Sur cet échantillon, le taux global d'anomalies chromosomiques est de 24 %, répartis en 22,8 % d'anomalies numériques et seulement 1,2 % d'anomalies structurales. De la comparaison des résultats publiés (Tableau I), il ressort d'importants écarts dans l'estimation de ce taux d'anomalies (de 3 à 57,1 %). La taille relativement modeste de certains échantillons peut expliquer de telles variations, et il est à noter que les trois plus larges études rapportent des fréquences d'anomalies similaires, de l'ordre de 25 % [12-14]. Bien qu'élevée, cette valeur n'est qu'une sous-estimation de l'incidence globale d'anomalies chromosomiques dans le sexe féminin puisque l'étude cytogénétique des ovocytes II ne permet pas de comptabiliser les éventuelles malségrégations de la deuxième division méiotique. Il n'en reste pas
- moins que cette estimation partielle est d'un grand intérêt, même si on ne saurait trop insister sur le caractère très particulier des échantillons analysés, constitués, pour l'essentiel (voir la légende du Tableau I), d'ovocytes ayant fait l'objet d'un échec de fécondation.
- Comparée aux 10 % d'anomalies chromosomiques observés dans le sperme des sujets normaux [4, 5], cette valeur globale de 24 % confirme, à la suite de nombreux travaux épidémiologiques [7], le rôle majeur de la méiose féminine dans la genèse des anomalies chromosomiques du zygote. La majorité des anomalies identifiées sont des anomalies numériques. Théoriquement, le processus de non-disjonction méiotique doit aboutir à un nombre égal d'anomalies surnuméraires (hyperhaploïdies) et d'anomalies sous-numéraires (hypohaploïdies). Si tel est le cas dans le sperme humain, où les anomalies numériques restent minoritaires, l'ensemble des études cytogénétiques d'ovocytes humains font état d'une forte prédominance des hypohaploïdies. Les gamètes hypohaploïdes présentent souvent un déficit de plus d'un chromosome ; aussi, compte tenu de la possibilité de perte artéfactuelle de chromosomes lors de la fixation de l'ovocyte, certains auteurs [10, 13, 15] ont recours à une estimation conservatrice du taux d'aneuploïdies en doublant la fréquence d'hyperhaploïdies. Or, plusieurs mécanismes biologiques ont été décrits qui peuvent rendre compte de l'excès d'hypohaploïdies, et par là-même de l'incidence élevée d'anomalies chromosomiques dans les gamètes féminins. Dans une récente étude microscopique de 1 200 ovocytes humains fœtaux, Speed [16] fait état d'un taux élevé d'appariements chromosomiques anormaux, susceptibles de se répercuter sur le processus de ségrégation méiotique. Ford et Lester [17] ont observé le déplacement des chromosomes de petite taille hors de la plaque métaphasique. Enfin, les travaux de Mikamo et Kamiguchi [18] et de Martin [19] sur le hamster suggèrent la possibilité de pertes anaphasiques de chromosomes lorsque s'opère la division entre ovocytes et globules polaires.
- Une autre donnée intéressante rela-

Tableau I				
RÉCAPITULATIF DES ÉTUDES CYTOGÉNÉTIQUES D'OVOCYTES II HUMAINS NON FÉCONDÉS <i>IN VITRO</i>				
Auteurs	Age des patientes	Nombre total de caryotypes	Taux d'anomalies numériques (%)	Taux d'anomalies structurales (%)
Wramsby et Liedholm (1984)	?	8	25,0	—
Michelmann et Mettler (1985)	22-42	33	3,0	—
Martin <i>et al.</i> (1986)	24-35	50	30,0	4,0
Wramsby et Fredga (1987)	22-38	52	50,0	1,9
Veiga <i>et al.</i> (1987)	?	102	10,8	4,9
Wramsby <i>et al.</i> (1987)	25-38	21	57,1	—
Plachot <i>et al.</i> (1988)	25-42	316	24,0	—
Bongso <i>et al.</i> (1988)	27-42	251	21,1	0,4
Van Blerkom et Henry (1988)	32-40	135	8,1	—
Djalali <i>et al.</i> (1988)	24-39	96	27,1	—
Papadopoulos <i>et al.</i> (1989)	?	25	24,0	24,0
Ma <i>et al.</i> (1989)	24-39	65	26,1	—
Pieters <i>et al.</i> (1989)	?	28	21,4	—
Pellestor <i>et al.</i> (1989)	22-40	377	27,0	0,5
<b>Données cumulées</b>		<b>1 559</b>	<b>22,8</b>	<b>1,2</b>

Il est à noter que les études de Martin *et al.* (1986) et de Wramsby *et al.* (1987) ne portent pas sur des ovocytes ayant fait l'objet d'un échec de fécondation *in vitro*, mais sur des ovocytes non sélectionnés obtenus après stimulation ovarienne de patientes volontaires.

tive aux gamètes femelles concerne la distribution des anomalies numériques parmi les différents groupes chromosomiques. La prédominance de certains types d'aneuploïdie observés à terme (trisomies 21, 13) ou dans les produits d'avortements spontanés (trisomie 16) a longtemps alimenté l'hypothèse que certains groupes chromosomiques, en particulier les groupes D et G, étaient plus enclins aux non-disjonctions méiotiques. Les analyses de répartition des anomalies réalisées sur le sperme ont infirmé cette hypothèse et apporté la preuve, tout au moins pour le sexe masculin, de l'équiprobabilité des non-disjonctions. Pareil résultat était attendu pour le sexe féminin. Or, l'analyse que nous avons menée sur l'ensemble des non-disjonctions observées chez l'ovocyte (*Tableau II, p. 970*) indique un excès significatif des trisomies et des monosomies pour les groupes D et G. Par ailleurs, les groupes A et C présentent des fréquences d'aneuploïdies nettement inférieures aux valeurs calculées dans l'hypothèse d'une répartition équitable des non-disjonctions. Cette sur-représentation des anomalies numériques dans le groupe G pourrait

expliquer le fait qu'à terme, 80 % des cas de trisomie 21 soient d'origine maternelle.

Une telle disproportion dans la survenue des non-disjonctions indique que le processus de malségrégation méiotique n'est pas un processus aléatoire dans le sexe féminin.

### **Influence des paramètres techniques FIV sur le taux d'anomalies chromosomiques**

Compte tenu de l'origine et du cheminement *in vitro* des ovocytes analysés, il était légitime de se demander si les données obtenues *in vitro* étaient représentatives de l'incidence d'anomalies chromosomiques *in vivo* et, par conséquent, si certains paramètres techniques ne pouvaient pas être à l'origine d'une augmentation de la fréquence des anomalies.

L'un des principaux facteurs mis en cause est le protocole de stimulation hormonale. L'induction de l'ovulation a été suspectée d'augmenter le taux d'anomalies chromosomiques du zygote, mais cette notion n'a jamais été confortée par les expérimentations animales et la cytogénétique des

ovocytes humains. Chez la souris [20] et le rat [21], l'emploi de gonadotrophines peut conduire à une augmentation de la fréquence des embryons polyploïdes, mais cette polyploïdie est généralement due à une polyspermie. Chez la femme, aucun des traitements hormonaux utilisés (*Tableau III, p. 971*) n'est corrélié à une augmentation significative du taux d'anomalies des ovocytes non fécondés [13, 14]. En fait, une analyse précise de l'effet des traitements hormonaux nécessiterait l'étude cytogénétique comparée d'ovocytes issus de cycles stimulés et d'ovocytes produits au cours de cycles spontanés. Toutefois, une telle étude semble difficilement réalisable puisque les tentatives de FIV sans stimulation préalable ne sont quasiment plus pratiquées.

Outre le problème de l'induction hormonale, la question s'est posée de savoir si le temps passé en culture par les ovocytes analysés pouvait être responsable d'une surestimation du taux d'anomalies. Le principal effet du vieillissement *in vitro* des ovocytes consiste en une déstabilisation du fuseau de division pouvant conduire à une dispersion des chromosomes.

## RÉFÉRENCES

18. Mikamo I, Kamiguchi Y. Primary incidences of spontaneous chromosomal anomalies and their origins and causal mechanisms in the Chinese hamster. *Mutat Res* 1983 ; 108 : 265-78.
19. Martin RH. Comparison of chromosomal abnormalities in hamster eggs and human sperm pronuclei. *Biol Reprod* 1984 ; 31 : 819-25.
20. Takagi N, Sasaki M. Digynic triploidy after superovulation in mice. *Nature* 1976 ; 264 : 278-81.
21. Fujimoto S, Pahlavan N, Duke-low WR. Chromosome abnormalities in rabbit pre-implantation blastocysts induced by superovulation. *J Reprod Fertil* 1974 ; 40 : 177-81.
22. Edwards GG, Purdy JM, Steptoe PC, Walters DE. The growth of human pre-implantation embryos *in vitro*. *Am J Obstet Gynecol* 1981 ; 141 : 404-16.
23. Ortiz ME, Salvatierra AM, Lopel J, Fernandez E, Croxatto HB. Post-ovulatory aging of human ova : light microscopic observations. *Gam Res* 1982 ; 6 : 11-7.
24. Gifford DJ, Fleetham JA, Mahadevan MM, Taylor PJ, Schultz GA. Protein synthesis in mature human oocytes. *Gam Res* 1987 ; 18 : 97-107.
25. Moutschen J, Demoulin A, Gilot-Delhalle J, Richelle M, Lambotte R. Low doses of pulsed ultrasound and chromosomal abnormalities in male mouse germ cells. *Hum Reprod* 1986 ; 1 : 427-32.
26. Djalali M, Rosenbusch B, Wolf M, Sterzik K. Cytogenetics of unfertilized human oocytes. *J Reprod Fert* 1988 ; 84 : 647-52.
27. Michelmann HW, Mettler L. Cytogenetic investigations on human oocytes and early human embryonic stages. *Fertil Steril* 1985 ; 43 : 320-2.
28. Wramsby H, Fredga K. Chromosome analysis of human oocytes failing to cleave after insemination *in vitro*. *Hum Reprod* 1987 ; 2 : 137-42.
29. Veiga A, Calderon G, Santalo J, Barri PN, Egozcue J. Chromosome studies in oocytes and zygotes from an IVF programme. *Hum Reprod* 1987 ; 2 : 425-30.
30. Wramsby H, Fredga K, Liedholm P. Chromosome analysis of human oocytes recovered from preovulatory follicles in stimulated cycles. *N Engl J Med* 1987 ; 316 : 121-4.
31. Van Blerkom J, Henry GI. Cytogenetic analysis of living human oocytes : cellular basis and developmental consequences of perturbations in chromosomal organization and complement. *Hum Reprod* 1988 ; 3 : 777-90.
32. Papadopoulos G, Randall J, Templeton AA. The frequency of chromosome anomalies in human unfertilized oocytes and uncleaved zygotes after insemination *in vitro*. *Hum Reprod* 1989 ; 4 : 568-73.
33. Ma S, Kalousek DK, Zouves C, Yuen BH, Gomel V, Moon YS. Chromosome analysis of human oocytes failing to fertilize *in vitro*. *Fertil Steril* 1989 ; 51 : 992-7.

Mais il a été vérifié que le fuseau de l'ovocyte humain reste stable deux à trois jours en milieu de culture [22] et, par ailleurs, que l'intégrité morphologique et métabolique de l'ovocyte est maintenue durant le même laps de temps [23, 24].

Dans ces conditions, il paraît licite de considérer que les données cytogénétiques recueillies à partir de ces ovocytes sont représentatives de l'incidence des anomalies chromosomiques dans le sexe féminin ; mais ces résultats doivent être interprétés avec prudence car, compte tenu de la diversité des paramètres des techniques de FIV, on ne peut nullement affirmer que ces manipulations présentent une totale innocuité à l'égard du patrimoine génétique de l'ovocyte. La preuve en est que, récemment, le contrôle ultrasonique de la croissance folliculaire a été mis en cause en tant que générateur de non-disjonctions chromosomiques dans les ovocytes [25].

### L'effet de l'âge maternel

De tous les facteurs étiologiques, l'âge maternel est celui dont l'effet

est le mieux connu. Il est clairement établi que le risque de trisomie 21 à la naissance s'accroît avec l'âge maternel, et que la fréquence des avortements spontanés du premier trimestre de gestation est aussi directement liée au vieillissement maternel. Étant donné que la majeure partie des anomalies chromosomiques d'origine maternelle a pour cause une non-disjonction lors de la première division méiotique, il a été recherché une étiologie qui puisse rendre compte du rapport existant entre l'âge maternel et l'aneuploïdie. L'hypothèse la plus souvent formulée est fondée sur le fait que l'ovogénèse débute par une très longue prophase méiotique. Elle suppose que les ovocytes produits à la fin de la vie génitale comportent une proportion plus élevée d'anomalies chromosomiques. Une deuxième hypothèse suggère que l'âge maternel n'influe pas tant sur le processus de malsegrégation chromosomique que sur la nidation et la survie *in utero* des fœtus aneuploïdes ; par conséquent, la corrélation observée entre le vieillissement maternel et l'aneuploïdie résulterait d'une diminution de l'efficacité

Tableau II

#### DISTRIBUTION DES ANOMALIES NUMÉRIQUES PARMIS LES SEPT GROUPES CHROMOSOMIQUES

Groupes chromosomiques	Taux d'aneuploïdies observées	Taux d'aneuploïdies estimées	Taux d'aneuploïdies attendues
A*	4,9 %	7,1 %	13,0 %
B	5,2 %	6,3 %	8,7 %
C*	21,1 %	15,8 %	34,9 %
D*	22,0 %	19,8 %	13,0 %
E	13,0 %	11,1 %	13,0 %
F	8,9 %	5,5 %	8,7 %
G*	24,9 %	34,1 %	8,7 %

\* Différences significatives ( $| \epsilon | > 1,96$  ;  $P < 0,05$ ) entre les valeurs attendues et les valeurs observées et estimées.

Dans ce système de classification, le chromosome sexuel X est rattaché au groupe C. Les pourcentages observés correspondent aux sommes des taux d'hypohaploïdies et d'hyperhaploïdies enregistrés dans chaque groupe. Compte tenu du risque de pertes artéfactuelles de chromosomes, il est courant d'établir une estimation conservatrice du taux d'aneuploïdies en doublant le taux d'hyperhaploïdies observé. Les valeurs obtenues correspondent aux taux d'aneuploïdies estimés. Enfin, les pourcentages attendus résultent du calcul théorique des taux d'aneuploïdies dans l'hypothèse d'une répartition équitable des non-disjonctions parmi les 7 groupes chromosomiques.

Tableau III		
TAUX D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES EN FONCTION DU MODE DE STIMULATION OVARIEN		
Mode de stimulation	Nombre de caryotypes	Taux d'anomalies chromosomiques
Clomiphène/HMG**	115	24,3 %
HMG*	98	24,0 %
FSH*	10	20,0 %
Analogues LHRH/HMG** (protocole court)	50	24,0 %
Analogues LHRH/HMG** (protocole long)	133	31,3 %

Sources : \* Plachot et al., 1988 ; \*\* Pellestor et al., 1989.

du mécanisme de sélection intra-utérine à l'égard des concepts anormaux.

Dans un tel contexte, les données tirées de l'analyse cytogénétique des ovocytes humains constituent un élément de discussion fondamental. Or, force est de constater que les premiers résultats rapportés sont totalement contradictoires. Alors que Plachot *et al.* [13] font état d'une augmentation du taux d'anomalies chromosomiques pour les ovocytes des femmes âgées de plus de 35 ans, d'autres études [11, 14, 26], après classement des ovocytes par tranches d'âge de 5 ans, n'indiquent aucune augmentation significative du taux d'anomalies ; la fréquence d'anomalies reste élevée, quelle que soit la classe d'âge considérée.

Certes, ces données relancent le débat sur l'effet de l'âge maternel, mais plusieurs facteurs en limitent la portée. D'une part, nous ne disposons que de très peu de résultats concernant les ovocytes des femmes âgées de plus de 40 ans ; d'autre part, ces analyses portent sur l'ensemble des non-disjonctions, simples et multiples confondues, d'où une marge d'incertitude accrue dans leur interprétation. Pour être indiscutables et parfaitement juxtaposables aux enquêtes épidémiologiques, ces études ne devraient porter que sur les disomies, voire uniquement sur les cas d'aneuploidie les plus fréquents telles les trisomies 21 et 13. Une analyse de ce type nécessite la mani-

pulation et l'investigation d'un échantillon de plusieurs milliers de caryotypes ovocytaires. Compte tenu de l'importance de ce problème étiologique, la réalisation de cette étude constitue désormais l'un des principaux objectifs de la cytogénétique des ovocytes humains.

### Conclusion

Ces résultats préliminaires, et parfois contradictoires, soulignent la nécessité de poursuivre l'investigation chromosomique des ovocytes humains. Grâce à l'approche directe du processus de ségrégation méiotique qu'autorise ce type d'analyse, d'importants problèmes d'ordre génétique (fréquence et distribution des anomalies) et étiologique (effets du mode de stimulation, de l'âge maternel) ont pu être abordés. Mais il s'avère que leur résolution demande l'analyse d'échantillons beaucoup plus vastes de caryotypes ovocytaires, ainsi qu'un examen cytogénétique souvent plus rigoureux. D'autres questions fondamentales restent encore à aborder, telles que les rapports entre le contenu génétique, la maturation et la fécondabilité de l'ovocyte, pour lesquelles l'analyse chromosomique pourrait fournir des éléments de réponse essentiels. Enfin, cette recherche cytogénétique se doit d'accompagner, voire de devancer, le développement de techniques annexes de la fécondation *in vitro* humaine comme la congélation des ovocytes ■

## Summary

### Cytogenetics of human oocyte

The development of *in vitro* fertilization (IVF) programs has made available human oocytes which have offered the opportunity to start cytogenetic investigations on *in vitro* unfertilized eggs. It is a new and important way of study because most chromosomal abnormalities originate from female meiotic disorders. During the past 6 years, 14 cytogenetic studies on human oocytes have been published. The overall frequency of abnormalities in mature oocytes is 24 % with a large majority of aneuploidies (22,8 %) over structural aberrations (1,2 %). The analysis of the distribution of non-disjunction indicates that there is a significant difference between observed non-disjunction and frequencies expected from an equal partitioning of non-disjunction among all chromosomes, especially in the D and G groups. Such a variability suggests that non-disjunction is not a random event in female meiosis. The reasons for the high incidence of non-disjunction in female gamete are discussed with respect to the meiotic development of the oocyte and technical parameters of the IVF process. Thus, no correlation are found between both hormonal stimulation and the *in vitro* aging of oocytes, and aneuploidy rate. On the other hand, investigations on the relationship between aneuploidy and maternal age have reported contradictory results.

### TIRÉS A PART

F. Pellestor.