médecine/sciences 1998 ; 14 : 203-5

Les tribulations méiotiques du vieil ovule

La méiose féminine est sujette à des accidents chromosomiques dont la fréquence croît avec l'âge des femmes. Durant longtemps, il fut impossible de vérifier les hypothèses étayées sur des observations faites chez l'animal et proposées pour expliquer les malségrégations de certaines paires chromosomiques responsables des nombreuses anomalies – elles avoisinent 5 % – observées dans les produits de conception humains. Puisque la durée de la première division méiotique, ou méiose I*, est dépendante de l'âge des femmes (les ovocytes humains étant maintenus en prophase I jusqu'à ce que se produise la ponte ovulaire), il était logique de supposer que les disjonctions anormales chez la femme âgée seraient liées à cette longue période d'attente. Les deux homologues d'une même paire qui, normalement, auraient dû se séparer, l'un restant dans l'ovocyte et l'autre étant expulsé dans le premier globule polaire (GP1), migreraient ensemble. Une telle non-disjonction a pour conséquence des produits de fécondation trisomiques ou monosomiques qui, on le sait depuis des décennies, sont plus fréquents chez les femmes au-delà de 35 ans.

A partir du moment où les marqueurs polymorphes devinrent assez nombreux, ils furent utilisés non seulement pour vérifier l'origine maternelle du chromosome surnuméraire, mais surtout pour observer les échanges (ou *crossing over*) et déterminer le stade de la méiose au cours duquel l'accident se produisait : méiose I si l'hétérozygotie des marqueurs maternels étaient retrouvés, en particulier aux alentours du centromère, ou méiose II si les marqueurs étaient identiques.

Grâce à ces études moléculaires réalisées au cours des dernières années, il fut possible de confirmer que la non-disjonction se produisait dans 75 % des cas en méiose I, en particulier pour les paires 21 [1] et 16 [2], et aussi de montrer qu'elle était due à une diminution ou même à une absence d'échanges chiasmatiques dans les régions péricentromériques, échanges nécessaires pour assurer une ségrégation normale des deux chromosomes homologues formant en métaphase un bivalent *(figure 1B)*.

L'an passé, *médecine/sciences* s'est fait l'écho des hypothèses proposées pour expliquer cette raréfaction des chiasmas et de la découverte, chez l'homme, de gènes homologues de ceux qui assurent le bon déroulement de la méiose chez la drosophile *(m/s n°3, vol. 12, p. 411)*.

Il restait encore à comprendre les 25 % de cas où l'analyse des marqueurs polymorphes était en faveur d'accidents de la méiose II**. Accidents apparaissant d'autant plus paradoxaux que la méiose II est indépendante de l'âge des femmes et qu'ils survenaient précisément chez des femmes encore plus âgées.

Qui plus est, l'analyse des marqueurs polymorphes révélait, non plus une diminution des échanges comme dans les accidents de méiose I mais au contraire une augmentation des recombinaisons, en particulier dans la région péricentromérique.

Une explication fut alors proposée par une équipe d'Atlanta (GA, USA) [3] : l'excès de recombinaisons péricentromériques empêcherait, à la méiose I, la séparation des bivalents et celle-ci ne surviendrait que plus tard, au cours de la méiose II *(figure 1C)*. Seraient donc classés en accidents de méiose II des phénomènes prenant naissance à la méiose I. La logique était sauve puisque la corrélation avec l'âge des femmes était ainsi respectée.

Mais comment en faire la preuve en l'absence d'études chromosomiques et moléculaires d'ovocytes humains en première et en deuxième division méiotique ?

Grâce à la fécondation *in vitro* (FIV), largement utilisée pour venir en aide aux couples stériles, les chercheurs disposent désormais d'ovocytes humains en quantité : ceux qui n'ont pu être fécondés *in vitro* et qui restent bloqués en métaphase II. Certes, ils constituent un matériel humain biaisé puisque la fécondation a échoué, qu'ils proviennent de couples assez âgés ayant eu auparavant des difficultés de procréation et qu'un traitement hormonal, dont on ignore le retentissement sur la méiose, a été prescrit pour provoquer une hyperovulation. Ils permettent, néanmoins, d'analyser les anomalies numériques, les configurations méiotiques, et d'en tirer des interprétations.

* *Au cours de la méiose I, les centromères restent indivis, chacun des deux chromosomes homologues migrant de son côté après formation d'un bivalent et échange équitable de matériel entre eux* (figure 1A).

** *La méiose II est « équationnelle », c'est-à-dire qu'elle se passe comme une mitose normale : les centromères de chacun des chromosomes se séparent et chacune des chromatides migre de son côté, l'une restant dans l'ovocyte, l'autre étant expulsée dans le deuxième globule polaire (GP2).*

Une équipe d'Édimbourg (GB) [4] a ainsi observé la garniture chromosomique de 200 ovocytes soigneusement sélectionnés (sur 600 qui avaient été recueillis). Conformément aux hypothèses admises, on s'attendait à trouver des ovocytes anormaux à 22 ou 24 chromosomes, c'est-à-dire ayant un univalent complet en moins ou en trop, qui répondraient aux deux interprétations : non-disjonction par séparation prématurée des bivalents en méiose I *(figure 1B)*, ou non-disjonction par absence de séparation des homologues *(figure 1C)*. Mais, sur les 200 ovocytes analysés en méiose II, aucune garniture de ce type ne fut observée. Pourtant, 33 % des ovocytes étaient porteurs d'anomalies, mais d'un type jamais encore décrit jusqu'ici, impliquant toujours une chromatide, c'est-à-dire un demi-chromosome et non pas un chromosome entier. Les 61 ovocytes II anormaux répertoriés se subdivisent en trois groupes :

– 22 chromosomes plus deux chromatides, soit 22 + 1/2 + 1/2,
– 23 chromosomes plus une chromatide, soit 23 + 1/2,
– 22 chromosomes plus une chromatide, soit 22 + 1/2.

Pour expliquer leurs observations, les auteurs durent donc remettre en cause les théories admises jusqu'alors et proposer une nouvelle explication. La formation de bivalents disparaîtrait dans l'ovocyte âgé. Les deux chromosomes n'étant plus appariés en bivalent pourraient, soit migrer vers un pôle sans séparation du centromère, soit se diviser prématurément en deux chromatides. Si un seul des deux homologues se divise prématurément, on retrouve en métaphase II : 23 + 1/2 ou 22 + 1/2 *(figure 1D1)*. Si les homologues se séparent prématurément tous deux, on retrouve en métaphase II : 22 + 1/2 + 1/2 *(figure 1D2)*.

Ces images de chromatides surnuméraires ou absentes avaient déjà été observées par d'autres auteurs, mais elles avaient été interprétées comme des artefacts [5]. Peut-être correspondent-elles au mécanisme principal des anomalies ovocytaires ? Plusieurs arguments sont à porter au crédit de cette thèse : (1) dans les

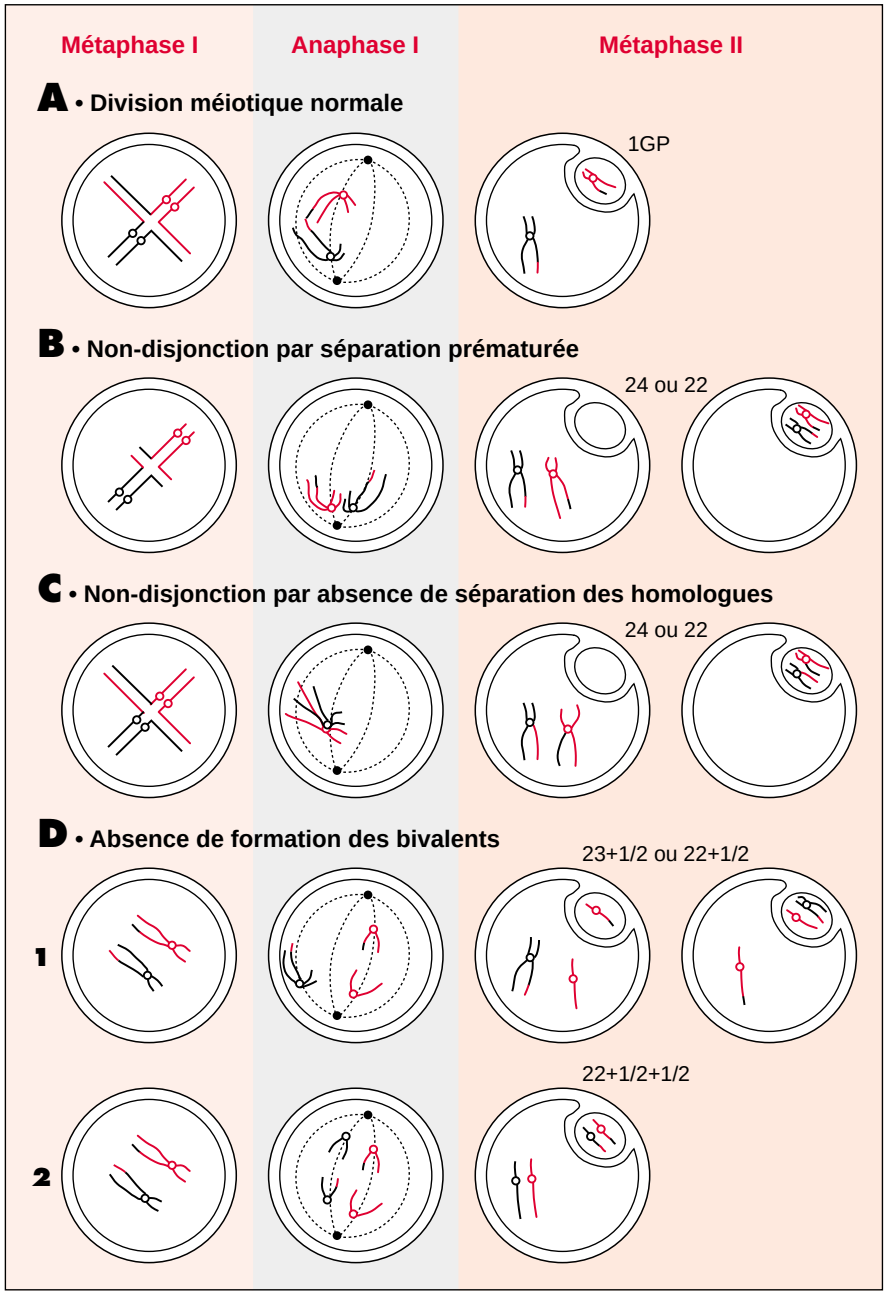

Figure 1. ***Différentes explications mécaniques pour la formation d'ovocytes à complément chromosomique anormal. A.*** *Division normale avec une paire chromosomique présentée sous forme de bivalent avec un échange, puis au cours de la disjonction en anaphase I, et en métaphase II.* ***B.*** *Séparation prématurée du bivalent porteur d'un échange distal, et non-disjonction avec un univalent complet en surnombre (24) ou perdu (22).* ***C.*** *Absence de séparation des homologues avec un échange proximal, et non-disjonction avec un univalent complet en surnombre (24) ou perdu (22).* ***D.*** *Séparation prématurée du bivalent avec présence de deux univalents dont les centromères se séparent en anaphase I : 1 : division d'un seul univalent avec perte ou gain d'un univalent plus une chromatide en métaphase II. 2 : division des deux univalents avec présence de deux chromatides en métaphase II.*

ovocytes I de la souris âgée, l'absence de bivalents, remplacés par des univalents disposés près l'un de l'autre, fut observée par de nombreux auteurs. Dans les rares cas où des ovocytes humains I purent être observés, ces mêmes images furent retrouvées, en particulier pour la 16e paire, qui est de loin la plus fréquemment impliquée dans les produits de conception humains trisomiques ; (2) la fréquence et la distribution des anomalies observées dans les ovocytes correspondent à celles prédites par l'analyse des avortements spontanés ; (3) enfin l'âge des femmes dont proviennent ces ovocytes anormaux est plus élevé que l'âge moyen des donneuses d'ovocytes.

Ce travail mérite confirmation car il n'explique pas les véritables accidents de méiose II et se trouve en désaccord avec d'autres études sur des ovocytes provenant aussi de FIV où les erreurs numériques portaient sur des univalents seuls, non accompagnés de chromatides. L'analyse conjointe de la garniture chromosomique de l'ovocyte et de celui du globule polaire (qui doit être complémentaire) donnerait beaucoup de consistance aux résultats [6]. Enfin, et bien que cela ne soit pas facile sur le matériel ovocytaire de rebut des FIV, il faudrait s'efforcer d'identifier les paires chromosomiques en cause par hybridation *in situ* [7]. Ces travaux sont en cours, et dans un peu de temps les tribulations du vieil ovocyte au cours de sa longue attente n'auront plus de secrets pour nous.

S.G.

1. Sherman SL, Petersen MB, Freeman SB, Hersey J, Pettay D, *et al.* Nondisjunction of chromosome 21 in maternal meiosis I : evidence for a maternal-age dependent mechanism involving reduced recombination. *Hum Mol Genet* 1994 ; 3 : 1529-35.
2. Hassold T, Merrill M, Adkins K, Freeman S, Sherman S. Recombination and maternal-age dependent nondisjunction : molecular studies of trisomy 16. *Am J Hum Genet* 1995 ; 57 : 867-74.
3. Lamb NE, Freeman SB, Savage-Austin A, Pettay D, Taft L, Hersey J, *et al.* Susceptible chiasmate configurations of chromosome 21 predispose to non-disjunction in both maternal meiosis I and meiosis II. *Nat Genet* 1996 ; 14 : 400-5.
4. Angell R. First-meiotic division nondisjunction in human oocytes. *Am J Hum Genet* 1997 ; 61 : 23-32.
5. Kamiguchi Y, Rosenbusch B, Sterizk K, Mikamo K. Chromosome analysis of infertilised human oocytes prepared by a gradual fixation-air drying method. *Hum Genet* 1993 ; 90 : 533-41.
6. Dailey T, Dale B, Cohen J, Munné S. Association between nondisjunction and maternal age in meiosis II human oocytes. *Am J Hum Genet* 1996 ; 59 : 176-84.
7. Warburton D. Human female meiosis : new insights into an error-prone process. *Am J Hum Genet* 1997 ; 61 : 1-4.

BRÈVES

Enfin des souris drépanocytaires. La drépanocytose ou anémie falciforme a été la première maladie génétique reconnue au plan moléculaire, d'abord protéique par la caractérisation de la mutation HbS ($Glu^6 \rightarrow Val$), puis génique (A → T dans le sixième codon). Maladie de l'hémoglobine, la gravité de la drépanocytose réside moins dans l'anémie qu'elle détermine, que dans les difficultés de la circulation capillaire et artériolaire dues à la rigidité des globules rouges ; partout dans le corps se produisent des infarcissements tissulaires, prédominant dans les os, la rate, les reins, le cerveau [1]. Depuis une petite dizaine d'années, plusieurs modèles de souris transgéniques avaient été créés ; ils comportaient tous un transgène d'HbS, voire des doubles mutants produisant des hémoglobines « superpolymérisantes » *(m/s n° 3, vol. 6, p. 314 ; n° 1, vol. 8, p. 77).* Cela était nécessaire car les hémoglobines murines, toujours présentes, inhibaient la polymérisation. Voici enfin créées des souris n'ayant plus, et cela est une prouesse technique, aucun gène d'hémoglobine murine et possédant non seulement les gènes de HbS mais aussi le gène de la chaîne γ de l'hémoglobine fœtale. Cela était absolument nécessaire car l'hémoglobine fœtale inhibe la polymérisation *in utero*, phase du développement durant laquelle la pression partielle en oxygène est naturellement très basse. Il faut applaudir l'importance du travail réalisé par les deux équipes américaines de San Francisco (CA) et Birmingham (AL) [2, 3]. Nous avions rapporté en octobre 1997 les éléments génétiques du travail de Townes [2] présentés au colloque sur l'anémie de Cooley (Cambridge, MA, 30 mai-2 juin 1997) *(m/s n° 10, vol. 13, p. 1225).* La maladie développée par ces souris est en tous points comparable à la maladie humaine : anémie hémolytique sévère, infarcissements et altération de nombreux organes, en particulier des veines, du foie et des poumons. Ces souris étaient très attendues car elles vont permettre : (1) l'étude *in vivo* des problèmes vasculaires liés aux altérations des membranes des globules rouges ; (2) le criblage de molécules antipolymérisantes ; (3) l'étude de la commutation *(switch)* de l'expression des gènes d'hémoglobine fœtale vers ceux de l'hémoglobine adulte et le criblage de molécules, comme l'hydroxyurée, susceptibles de l'inhiber.

[1. Labie D, Elion J. *Med Sci* 1996 ; 12 : 341-9.]
[2. Ryan TM, *et al. Science* 1997 ; 278 : 873-6.]
[3. Paszty C, *et al. Science* 1997 ; 278 : 876-8.]