

XIème CONGRES DE LA SALF -DEAUVILE

1-3 Décembre 1994

Résumés des communications affichées

SPERMIOLOGIE-SPERMATOGENESE

- 93 Régulation de la synthèse du DNA des cellules germinales par la protéine de liaison des stéroïdes sexuels SHBG chez le rat, in vitro.
R.BEDJOU, A.GERARD, F.MAACHI, G.L.HAMMOND, J.CLOSSET, P.NABET, J.CAPIAUMONT, H.GERARD.
- 94 Régulation des synthèses protéiques in vitro des spermatocytes par les protéines de liaison des stéroïdes (ABP, SPB) chez le rat.
A.GERARD, A.P.WEST, R.M.SHARPE, G.L.HAMMOND, J.CLOSSET, H.GERARD.
- 95 Effet des prostasomes sur la fonction cinétique des spermatozoïdes humains.
B.SION, O.PITIOT, C.NOUILLES, D.BOUCHER, G.GRIZARD.
- 96 Interaction des liposomes d'ATP avec des spermatozoïdes humains.
M.SKIBA-LABIANI, A.M.COURTOT, J.AUGER, G.NIKAS, E.FATTAL, J.DELATTRE, F.PUISIEUX, P.JOUANNET.
- 97 Localisation des thiols libres dans le noyau du spermatozoïde humain.
J.ROUSSEAUX, R.ROUSSEAUX-PREVOST.
- 98 Analyse des cellules rondes du sperme par immunofluorescence directe et hybridation in situ en fluorescence.
F.VIGUIE, S.VAN ASSEN, Y.PRIGENT, J.P.DADOUNE.
- 98 Production de radicaux libres oxygénés par les spermatozoïdes humains provenant de patients consultant pour infertilité.
F.BARBA, S.PILIKIAN, J.F.GUERIN, J.LORNAME, M.BENCHAIIB.
- 99 Le spermatozoïde de mammifère, un vecteur d'ADN exogène ?
A.M.COURTOT, I.CERUTTI, A.LOEUILLET, J.P.MOUSSU, V.SEVERAC, R.ZOOROB.

EPIDIDYME

- 100 Etude immunologique des sécrétions épидидymaires chez le bélier. Effet des androgènes.
X.DRUART, J.L. GATTI, F.DACHEUX, J.L.DACHEUX.
- 101 Effets de l'administration d'androgènes chez le rat sur le transport de la carnitine dans l'épididyme.
C.RADIGUE, S.ES-SLAMI, J.C.SOUFIR.
- 101 Modifications de l'épididyme des souris transgéniques surexprimant le gène de l'ABP.
B.WEISTROFFER, A.GERARD, C.ESTEBAN, R.M.PARACHE, S.LARRIBA, H.GERARD, J.REVENTOS.
- 102 Apport de l'examen clinique des épидидymes avant la prise de décision de fécondation in vitro, associé à un prélèvement chirurgical du sperme.
J.M.RIGOT, E.HERMAND, E.MAZEMAN.
- 103 Les anastomoses micro-chirurgicales épидидymo-déférentielles sur la tête de l'épididyme.
G.TRITTO, D.MORLIER, E.ERDEI, G.ARVIS.

INFECTION ET SPERME

- 104 Prévalence de la bactériospermie à *Chlamydiae trachomatis* : étude comparative entre culture et PCR.
O.AYNAUD, G.BIJAOU, J.D.POVEDA, J.M.CASANOVA.
- 104 Apport de la PCR dans la détection de *Chlamydiae trachomatis* en andrologie. Comparaison de plusieurs marqueurs.
M.ASHKIENAZY-ELBHAR, M.DOLIVO, V.IZARD, J.HENRY-SUCHET, A.JARDIN, J.C.SOUFIR, M.AUROUX, J.M.KUNSTMANN.
- 106 Prévention de l'infection masculine en fécondation in vitro.
K.BETTAHAR, J.OHL, C.WITTEMER, P.DELLENBACH.
- 106 L'infection à *Chlamydiae trachomatis* peut provoquer chez l'homme un dysfonctionnement prostatique et épидidymaire.
J.ROSTOKER, M.ASKIENAZY-ELBHAR, P.WEBER, M.DOLIVO, A.JARDIN, M.AUROUX, J.C.SOUFIR.
- 107 Rôle inhibiteur du plasma séminal sur l'enroulement du flagelle et l'adhésivité d'*E.coli*.
C.MEYER, C.CRANZ, A.CLAVERT.
- 108 Importance de la prophylaxie de l'infertilité masculine en Tunisie.
N.JABALLAH.

FECONDATION IN VITRO

- 109 Valeur et limites de l'index de mobilité (IM) des spermatozoïdes dans l'investigation des couples infertiles admis en FIV.
Y.SOFFER, A.GOLAN, A.HERMAN, I.BURKOVSKI, R.RON-EL.
- 109 Corrélation entre certains paramètres du mouvement des spermatozoïdes et taux de fécondation en FIV. Etude préliminaire à l'aide d'un système d'analyse automatisée (Cell trak/motion analysis).
B.MARTIN-PONT, C.FILLION, M.KRAEMER, A.TAMBOISE, J.N.HUGUES, J.GONZALES.
- 110 Propositions pour une calibration optimale d'un système d'analyse automatisée (cell track/motion analysis) pour la détermination des caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes.
C.FILLION, M.KRAEMER, B.MARTIN-PONT, A.TAMBOISE, J.GONZALES.
- 111 La fécondation in vitro en microgoutte : résultats de 90 cas.
O.PAULMYER-LACROIX, A.NOIZET, A.GUERIN, S.OLIVIER, M.GAMERRE, J.M.GRILLO.
- 112 Fécondation in vitro après prélèvement chirurgical des spermatozoïdes.
F.COLLIER, J.M.RIGOT, P.LESUR, A.GAUTHIER, E.MAZEMAN, P.DIEUSART.
- 112 Facteurs influençant le taux de fécondation en Micro-Injection Intra Cytoplasmique.
P.VANDERZWALMEN, B.LEJEUNE, M.NIJS, G.BERTIN, R.SCHOYSMAN.

ENDOCRINOLOGIE

- 113 Comparaison de deux techniques de dosage de la LH (RIA et IRMA) entre un groupe de patients oligospermiques et un groupe témoin.
A.GUIVARC'H-LEVEQUE, D.LE LANNOU, C.MASSART, P.POULAIN.
- 113 Mise en évidence d'un facteur inhibant la stéroïdogénèse leydigienne dans le milieu conditionné de cellules de Sertoli : arguments en faveur d'un peptide de type AVP.
C.FILLION, A.TAHRI-JOUTEI, G.POINTIS, N.TAIB, J.N.HUGUES.
- 114 Tumeurs testiculaires à cellules de Leydig.
B.BAUDUCEAU, H.MAYAUDON, M.DUCORPS, C.HELIE, J.P.RIVELINE, A.PUJOL, J.ANDRE.

- 115 Hyperprolactinémie liée à un excès de prolactine de haut poids moléculaire.
C.LEMAIRE, A.LEMAIRE, D.DEWAILLY, P.FOSSATI.

ERECTION : PHYSIOLOGIE ET EXPLORATIONS FONCTIONNELLES

- 116 Mesure de l'érection chez le rat par télémetrie.
F.GIULIANO, J.BERNABE, O.RAMPIN, G.BENOIT, A.JARDIN.
- 117 Présentation d'un nouveau rigidimètre pénien informatisé.
D.DELAVIERRE, M.PENEAU, H.IBRAHIM.
- 117 Intérêt de la rigidimétrie nocturne informatisée dans le bilan d'une insuffisance érectile. A propos de 50 patients.
D.DELAVIERRE, M.PENEAU, H.IBRAHIM.
- 118 Injections intracaverneuses sous contrôle rigidimétrique. Application à l'étude des érections nocturnes.
D.DELAVIERRE, M.PENEAU, H.IBRAHIM.
- 118 Intérêt des explorations cardio-respiratoires associées à un enregistrement pléthysmographique des érections nocturnes.
A.LEMAIRE, J.BUVAT, G.MARCOLIN, M.BUVAT-HERBAUT.
- 119 Activité électrique caverneuse : comparaison des enregistrements obtenus en pré-et post-opératoire avec le SPACE chez des patients programmés pour une prothèse pénienne.
M.SCHOUMAN, P.LACROIX.

TRAITEMENT DE L'IMPUISSANCE

- 120 Comparaison de 2 substances vasoactives de seconde génération utilisées pour les injections intra-caverneuses, le moxisylyte et la prostaglandine E1.
J.BUVAT, A.LEMAIRE, G.MARCOLIN, M.BUVAT-HERBAUT.
- 121 Les injections intracaverneuses d'un mélange papavérine, phentolamine et prostaglandine E1 sont efficaces et bien tolérées chez 50% des impuissants résistant à la seule PGE1.
J.BUVAT, G.MARCOLIN, M.BUVAT-HERBAUT, A.LEMAIRE.
- 122 Auto injections intracaverneuses d'alprostadil dans les troubles de l'érection : étude prospective multicentrique durant 6 mois.
F.GIULIANO, P.BLANCHET, H.BENSADOUN, G.BENOIT, O.BANZET, A.JARDIN et al.
- 123 Suppression de la douleur induite par l'injection intracaverneuse de PGE1 grâce à une dilution dans la xylocaïne.
M.SCHOUMAN, P.LACROIX.-

DIVERS

- 124 Intérêt de la biopsie testiculaire au cours du traitement microchirurgical de la varicocèle bilatérale.
G.TRITTO, D.MORLIER, C.CROZES, B.MARTIN, E.ERDEI, E.GIARGIA, G.ARVIS.
- 125 Modifications de la sexualité après chirurgie pour hypertrophie bénigne de la prostate: 10 ans de recul chez 95 patients.
P.COEURDACIER, F.STAERMAN, B.CIPOLLA, F.GUILLE, B.LOBEL.
- 125 Induction d'une hyperthermie testiculaire modérée comme moyen efficace et réversible de contraception masculine.
L.BUJAN, A.MANSAT, F.PONTONNIER, R.MIEUSSET.

MÉTRODINE HP[®],

La première et la seule gonadotrophine hautement purifiée est introduite en France

Paris, le 9 Janvier 1995 - Les Laboratoires Serono France, filiale du groupe pharmaceutique suisse Ares - Serono, ont annoncé aujourd'hui l'introduction en France de Metrodine HP[®], première préparation d'hormone folliculostimulante humaine (hFSH) hautement purifiée indiquée dans le traitement de l'infertilité féminine pour stimuler le développement des follicules ovariens dans le cas de troubles de l'ovulation ainsi que chez des patientes traitées par des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) comme la fécondation in vitro (FIV).

Metrodine HP[®] est déjà commercialisée dans de nombreux pays en Europe ainsi qu'en Amérique Latine.

La première et la seule gonadotrophine hautement purifiée

Metrodine HP[®] est la première gonadotrophine (hormone de fertilité) hautement purifiée disponible pour le traitement de l'infertilité. Grâce à un nouveau procédé de purification breveté utilisant des anticorps monoclonaux anti-FSH, les quantités élevées de protéines étrangères contenues dans les préparations de gonadotrophines actuellement commercialisées ont été presque totalement éliminées. La haute pureté de Metrodine HP[®] permet de l'administrer par injection sous cutanée; le traitement est ainsi moins douloureux que par le passé (les «anciennes» gonadotrophines nécessitant une injection intramusculaire) et les patientes, qui le désirent, ont la possibilité de se faire elles-mêmes leurs injections. L'extrême pureté de Metrodine HPs marque une étape importante dans les quelques 30 ans d'histoire du traitement de l'infertilité par les gonadotrophines.

Les préparations de gonadotrophines actuellement utilisées contiennent un mélange de plusieurs protéines dont les hormones de fertilité (principe actif) ne représentent pas plus de 5 %.

Le nouveau procédé de purification utilisant les anticorps monoclonaux anti-FSH obtenus par biotechnologie, permet la production de Metrodine HP[®], médicament dont le rapport principe actif/protéines urinaires indésirables est totalement inversé, puisque Metrodine HP[®] contient plus de 95 % de FSH pure.

SPERMIOLOGIE SPERMATOGENESE

Régulation de la synthèse du DNA des cellules germinales par la protéine de liaison des stéroïdes sexuels, SHBG chez le rat, *in vitro*

R. BEJOUR*, A. GERARD*, F. MAACHI**,
G.L. HAMMOND°, J. CLOSSET°, P. NABET**,
F. NABET**, J. CAPIAUMONT**, H.GERARD*

*Laboratoire d'Histologie-Embryologie II, Faculté
de Médecine de Nancy France ; **Laboratoire de
Biochimie, Faculté de Médecine de Nancy ; °
Cancer Research Center, London-Ontario, Canada ; °°
Laboratoire d'Endocrinologie Humaine,
Liège, Belgique

1. Introduction

Nous avons montré que l'ABP de rat et la SBP humaine se fixaient aux membranes des cellules germinales des rongeurs et des primates respectivement au niveau de récepteurs spécifiques (FELDEN et al, 1992 ; GERARD et al., 1993). Cette liaison est suivie par une endocytose faisant apparaître ces protéines soit au niveau cytoplasmique, soit au niveau nucléaire selon le stade de maturation des cellules germinales (GERARD et al., 1990-1994). De plus, une localisation immunocytochimique beaucoup plus importante de l'ABP/SHBG avec un anticorps anti ABP ou anti SHBG a été observée dans les stades jeunes de la spermatogénèse particulièrement au niveau nucléaire (GERARD, 1994).

Afin de déterminer si les interactions avec les noyaux pouvaient jouer un rôle dans la phase de prolifération spermatogoniale et les premières divisions de la méiose, nous avons analysé l'incorporation de thymidine tritiée dans les cellules germinales de rat *in vitro* sous l'effet de SHBG humaine purifiée à partir de sérum de femme enceinte et de SHBG recombinante produite par des cellules CHO. La SHBG humaine a été utilisée étant donné sa forte homologie avec l'ABP testiculaire du rat.

2. Protocole expérimental

Les cellules germinales de rat adulte ont été isolées par une méthode enzymo-mécanique (traitement à la collagénase, hyaluronidase, DNase.

inhibiteur de la trypsine et BSA). Après plusieurs lavages dans du milieu de culture Ham-F12/DMEM (1/1) additionné de glutamine (2mM). de pyruvate (1mM). de lactate (6mM) et d'antibiotiques, la suspension est filtrée et analysée au microscope : elle contient des spermatocytes (35%), des spermatides 56%, des spermatogonies (8%), des corps résiduels (10%) et des cellules de Sertoli < 2%. La viabilité des cellules a été estimée par le test d'exclusion au bleu trypan.

Des aliquots de 250 µl de milieu de culture et contenant soit 4.5 x 10⁴ cellules/ml ont été incubées pendant 18 H avec 1 µCi/ml de thymidine tritiée en présence

- de SHBG purifiée a des concentrations croissantes ± stéroïdes ;
- de SHBG recombinante ± stéroïdes ;
- de BSA ± stéroïdes ;
- de testostérone ;
- d'estrogènes ;
- de fluide interstitiel testiculaire de rat ;
- de milieu de culture de cellules de Sertoli impubères stimulées par la FSH et la testostérone ;
- SHBG purifiée seule puis addition de stéroïdes 4 h après le départ de la culture.

Le rétinol et le sérum de veau foetal connus pour leur activité mitogénique ont été utilisés comme contrôles positifs.

3. Résultats

En réponse à la présence de SHBG, les cellules germinales ont manifesté une augmentation très significative de l'incorporation de thymidine par rapport aux cellules cultivées dans un milieu témoin. La présence de testostérone ou de 17β œstradiol en même temps que la SHBG dans le milieu de culture a augmenté très significativement la synthèse du DNA par comparaison à la SHBG seule. Tandis que la culture des cellules germinales en présence de testostérone ou de 17β œstradiol seuls provoquent une diminution de l'incorporation de thymidine.

Les cultures contrôles avec de la BSA seule ou avec des stéroïdes n'ont entraîné aucune modification. Par contre les cultures en présence de rétinol et de sérum de veau foetal ont manifesté une augmentation très significative de l'incorporation de thymidine par rapport aux cellules cul-

tivées dans un milieu témoin. Le milieu de culture des cellules CHO provoque également une augmentation de l'incorporation de thymidine similaire au sérum de veau foetal et cependant significativement moins importante que le milieu de culture des cellules CHO contenant la SHBG. Les cultures avec un extrait de fluide interstitiel testiculaire contenant ABP et testostérone ont montré aussi une augmentation de l'incorporation de thymidine.

4. En conclusion

Les résultats ci-dessus montrent un effet physiologique de la SBP purifiée et la SBP recombinante sur la prolifération des cellules germinales de rat *in vitro*. Ce stimulus semble s'opposer au rôle inhibiteur observé sous l'effet des stéroïdes seuls. Il est probable que les résultats obtenus avec la SHBG sont l'équivalent de ceux que l'ABP testiculaire aurait produit. Dans le testicule, l'ABP est sécrétée par les cellules de Sertoli sous l'influence de la FSH et de la testostérone alors que la SHBG n'est pas produite à ce niveau.

La vérification de cette hypothèse, fondée sur les similitudes structurales de l'ABP et la SHBG, démontrées par plusieurs auteurs est en cours dans notre laboratoire.

La SHBG/ABP pourrait ainsi jouer un rôle de médiateur de l'effet de la testostérone dans le compartiment basal du tube séminifère sur la prolifération des cellules germinales.

•••

Régulation des synthèses protéiques *in vitro* des spermatoocytes par les protéines de liaison des stéroïdes (ABP, SBP) chez le rat

A.GERARD*, A.P.WEST**, R.M.SHARPE**,
G.L.HAMMOND°, J.CLOSSET°, H.GERARD*

* *Laboratoire d'Histologie-Embryologie II, Faculté de Médecine de Nancy, France* ; ** *Reproductive Biology Unit, MRC, Edinburgh UK* ; ° *Cancer London-Ontario, Canada* ; °° *Laboratoire d'Endocrinologie Humaine, Liège, Belgique*

1. Introduction

Nous avons montré que l'ABP de rat et la SBP humaine se fixaient aux membranes des cellules germinales des rongeurs et des primates respec-

tivement au niveau de récepteurs spécifiques (FELDEN et al. 1992 ; GERARD et al., 1993). Cette liaison est suivie par une endocytose spécifique qui dépend du stade de maturation des cellules germinales (GERARD et al., 1990- 1994).

Afin de déterminer si la liaison récepteur-médiée des protéines de liaison des stéroïdes et leur endocytose ont une signification physiologique, nous avons élaboré des études de la régulation de la synthèse protéique dans les cellules germinales de rat sous l'effet d' ABP purifiée à partir d'extraits testiculaires de rat, de SBP humaine purifiée à partir de sérum de femme enceinte et de SBP recombinante produite par des cellules CHO.

2. Protocole expérimental

Les cellules germinales de rat adulte ont été isolées par élutriation (WEST et al. ; 1994) et la fraction contenant des spermatoocytes (95% ; 13-15 µm de diamètre) avec quelques spermatides < 2% et des cellules de Sertoli < 4% a été incubée dans un milieu de culture dépourvu de méthionine pendant 45 min puis des aliquots de 500 µl de milieu de culture et contenant soit 10⁶ spermatoocytes ont été incubés pendant 10 ou 24 H avec 60 µCi de Méthionine marquée au S³⁵ en présence :

- d'ABP à des concentrations croissantes ± stéroïdes ;
- de BSA ± stéroïdes ;
- de DHT ;
- d'estrogènes ;
- d'extrait testiculaire dépourvu d'ABP ;
- de SHBG purifiée ± stéroïdes (DHT, 17β estradiol) ;
- SHBG purifiée seule puis addition de stéroïdes 4 h après le départ de la culture ;
- SHBG recombinante ± DHT.

Les changements quantitatifs de synthèse protéique ont été évalués grâce à la mesure de la radioactivité incorporée mesurée dans les protéines sécrétées dans le milieu de culture. Les changements qualitatifs ont été évalués grâce à une caractérisation biochimique par électrophorèse bidimensionnelle (SHARPE et coll. 1992).

3. Résultats

En réponse à la présence d'une concentration croissante d'ABP, les spermatoocytes ont manifes-

té une augmentation très significative et dose dépendante de l'ensemble des protéines synthétisées ($r = 0,998$) de 50 à 250% par rapport aux spermatoocytes cultivés dans un milieu témoin. La présence de testostérone ou de 17β œstradiol (50 ng/ml) en même temps que l'ABP (50 ng/ml) dans le milieu de culture a augmenté très significativement la synthèse protéique par comparaison à l'ABP seule.

La culture des spermatoocytes en présence de testostérone ou de 17β estradiol seuls (50 ng) ne provoque aucune modification de la synthèse protéique. De même, des cultures contrôles avec de la BSA à doses croissantes (50, 100, 200 ng) seule ou avec de la testostérone (50 ng) ainsi que des cultures avec un extrait testiculaire ne contenant pas d'ABP n'ont montré aucune modification du taux de protéines secrétées.

L'analyse qualitative des gels d'électrophorèse bidimensionnelle montre une variation quantitative et qualitative des profils électrophorétiques des protéines néosynthétisées dans les milieux des spermatoocytes. L'ABP seule augmente la synthèse de protéines spécifiques déjà produites par les spermatoocytes. L'ABP associée aux stéroïdes entraîne la synthèse de nouvelles protéines secrétées par les spermatoocytes.

La SBP purifiée et la SBP recombinante, à la dose de 50 ng/ml testées en présence ou en absence de stéroïdes (DHT 25 ng/ml) sur des cultures de spermatoocytes pendant 10 et 24 H stimulent la synthèse protéique des spermatoocytes au moins de 30% dès 10 H de culture. Après 24 H d'incubation, l'augmentation du contenu en protéines néosynthétisées et secrétées est de 50% à la fois avec la SHBG isolée ou recombinante. L'addition d'œstrogènes 4 h après la SHBG entraîne une très significative stimulation de la synthèse protéique.

4. En conclusion

Les résultats ci-dessus montrent pour la première fois un effet physiologique des protéines de liaison des stéroïdes sur les cellules germinales de rat *in vitro*. Le taux de synthèse protéique augmente dans les spermatoocytes sous l'effet de l'ABP, ce stimulus est amplifié par les androgènes. L'ABP pourrait ainsi jouer un rôle de médiateur de l'effet de la testostérone sur la spermatogénèse.

•••

Effet des prostasomes sur la fonction cinétique des spermatozoïdes humains

B. SION, O. PITIOT, C. NOUAILLES, D. BOUCHER, G. GRIZARD

Service de Biologie de la Reproduction et du Développement, CHU G.Montpied, 63003 Clermont-Ferrand Cedex 1

Les prostasomes présents dans le liquide séminal (LS) humain sont des vésicules multilamellaires d'origine prostatique. En interagissant directement sur le spermatozoïde et/ou en maintenant un microenvironnement favorable, ils sont susceptibles de modifier l'activité fonctionnelle du gamète. Le but de ce travail est d'analyser le rôle des prostasomes sur la fonction cinétique du spermatozoïde.

1. Matériel et méthode

Le LS obtenu après centrifugation du sperme (800 g, 20 mn puis 7000 g, 30 mn) est centrifugé à 105000 g, 2 h. Le surnageant est recueilli et les prostasomes sont obtenus après chromatographie du culot sur Sephadex G 200. L'étude a été réalisée sur les spermatozoïdes de 8 sujets. Pour chaque échantillon, les spermatozoïdes obtenus après centrifugation sont répartis en 4 groupes :

- Gr. I : 250 μ l de tampon phosphate salin, pH 7,4, 0,1 % BSA (PBS) ;
- Gr. II : 200 μ l de PBS et 50 μ l de prostasomes ;
- Gr. III : 50 μ l de PBS et 200 μ l de surnageant ;
- Gr. IV : 200 μ l de surnageant et 50 μ l de prostasomes.

Dans les groupes II et IV, la concentration en prostasomes est équivalente à la concentration moyenne en prostasomes dans des spermatozoïdes témoins.

La fonction cinétique est étudiée par vidéomicrographie assistée par ordinateur (ATS 40 - JC DIFFUSION), 1 h et 4 h après la resuspension des spermatozoïdes dans les différents milieux.

2. Résultats et discussion

A 1 h, la mobilité totale est comparable dans les 4 groupes. Entre 1 h et 4 h, la mobilité totale diminue ($p < 0,05$) dans I, II, et III ; par contre, elle n'est pas significativement modifiée dans IV. La vitesse curvilinéaire (VCL) et la vitesse linéaire (VSL) sont plus élevées en présence de

prostasomes (II et IV par rapport à I et III respectivement). De même, la diminution de VCL et VSL au cours du temps est plus faible en présence de prostasomes (II et IV par rapport à I et III). Ces modifications ne s'accompagnent d'aucune variation significative de l'amplitude du déplacement latéral de la tête (ALH) puisque les valeurs sont comparables dans I et II d'une part, et III et IV d'autre part. Par contre, la présence de prostasomes entraîne une modification dans la répartition des trajectoires au sein de la population spermatique, caractérisée par un accroissement significatif des spermatozoïdes progressifs ondulants (II vs I à 4 h et IV vs III à 1 h et 4 h).

Ces résultats montrent que dans les 2 milieux étudiés, les prostasomes exercent un effet stimulateur sur la fonction cinétique des spermatozoïdes. Ils permettent aussi une meilleure conservation de la qualité du mouvement au cours du temps. Ceci permet d'envisager l'utilisation de prostasomes dans certains types d'asthénozoospermies.

•••

Interaction des liposomes d'ATP avec des spermatozoïdes humains

M. SKIBA-LABIANI, A.M. COURTOT**, J. AUGER**,
G. NIKAS**, E. FATTAL*, J. DELATTRE°,
F. PUISIEUX*, P. JOUANNET**

* *Faculté de Pharmacie URA CNRS 1218, Chatenay-Malabry* ; ** *Centre d'Etude et de Conservation des Oeufs et du Sperme Humain, laboratoire d'Histologie et bâtiment INSERM G.Pincus, Centre Hospitalier Universitaire de Bicêtre, France* ; ° *Hôpital de la Salpêtrière, Laboratoire de Biochimie, Paris, France*

Dans une étude antérieure [1], nous avons montré que des liposomes de dilauroylphosphatidylcholine (DLP ou PC12, 0,4mM) encapsulant l'Adénosine-5'-Triphosphate (LATP, 0,5mM), coïncubés avec des spermatozoïdes humains, étaient efficaces pour induire la réaction acrosomique tout en stimulant le mouvement. Cependant, le mécanisme d'action des liposomes reste encore mal connu. Dans cette étude, différentes techniques ont été utilisées afin de visualiser l'interaction liposomes-spermatozoïdes.

1. Matériel et méthodes

Les liposomes PC12/cholestérol/sulfatide (rapport moléculaire 7/2/1), de 200 nm de diamètre, ont été préparés selon la méthode de Szoka et PAPAHAJDOPOULOS (1978) [2] modifiée par LAHAM et al. [3] puis lyophilisés et réhydratés selon la méthode de JIZOMOTO et al (1989) [4]. Les spermatozoïdes humains ont été soit sélectionnés sur gradient de PERCOLL (47,5% et 95%), soit simplement lavés dans le milieu BWB.

a) Immunofluorescence indirecte : des spermatozoïdes ont été coïncubés 1 heure avec des liposomes "blancs" incluant dans leur composition un analogue fluorescent du phospholipide PC12 : l'Acyl-NBD-PC à 1 mole %. Les spermatozoïdes ont ensuite été séparés des liposomes par centrifugation sur un gradient de PERCOLL et observés en microscopie à fluorescence (en lumière bleue à 490 nm).

b) Microscopie électronique après coloration négative : des spermatozoïdes ont été coïncubés avec des LATP, traités par une solution de phosphotungstate de sodium à 2% puis observés à l'aide d'un microscope électronique à transmission de type Philips EM 301.

c) Scanning : après 1 heure de coïncubation avec des LATP, fixation par la glutaraldéhyde à 2,5% dans du tampon cacodylate 0,15M, déshydratation par l'acétone, dessiccation par la méthode du point critique avec du CO₂, métallisation avec l'or, les spermatozoïdes ont été observés à l'aide d'un microscope à balayage de type Jeol 840A.

2. Résultats et discussion

Par immunofluorescence, on a mis en évidence un transfert de phospholipides fluorescents des liposomes vers la membrane des spermatozoïdes, surtout au niveau de la partie postérieure de la tête et tout le long de la pièce intermédiaire. Les techniques de microscopie électronique ont confirmé l'existence d'une interaction des liposomes avec les spermatozoïdes au niveau de la tête et tout le long du flagelle. La nature exacte de cette interaction liposomes-spermatozoïdes (simple adsorption à la surface, fusion, création de pores,...) reste encore à déterminer.

BIBLIOGRAPHIE

1. PUISIEUX F., FATTAL E., LABIANI M., AUGER J., JOUANNET P., COUVREUR P., DELATTRE J. (1994). : Liposomes, an interesting tool to deliver a bioenergetic substrate (ATP). In vitro and in vivo studies. J. Drug Target., vol. 1, 1-6.

2. SZOKA E., PAPAHAJDOPOULOS D. (1978). : Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse phase evaporation. *Proceed. Natl. Acad. Sc i. USA* 75, 4194-4198.
3. LAHAM A., CLAPERON N., DURUSSEL J.J., FATTAL E., DELATRE J., PUISIEUX F., COUVREUR P., ROSSIGNOL P (1987). : Liposomally entrapped ATP : improved efficiency against experimental brain ischemia in the rat. *Life Sci.* 40, 2011-2016.
4. JIZOMOTO I.L., KANAOKA E, ILIRANO K. (1989). Encapsulation of drugs by lyophilized, empty dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes. *Chem. P harm. Bull.* 37, 1895-1898.

•••

Localisation des thiols libres dans le noyau du spermatozoïde humain

J. ROUSSEAU, R. ROUSSEAU-PRÉVOST

«*Biologie et Pathologie du Spermatozoïde Humain*» E.A.1719 IRCL, Place de Verdun, 59045 Lille Cedex

1. Introduction

Le développement des techniques nouvelles de procréation médicalement assistée, notamment l'injection intra-cytoplasmique, a relancé l'intérêt pour l'étude des paramètres qui conditionnent la décondensation nucléaire du spermatozoïde dans l'ovocyte. La décondensation du noyau nécessite en particulier l'ouverture du réseau très serré de ponts disulfures reliant entre elles les protéines nucléaires du spermatozoïde, les protamines, dont il existe chez l'homme deux classes distinctes, P1 et P2. Les ponts disulfures se forment dans l'épididyme par oxydation des cystéines des protamines. Leur réduction dépend de facteurs ovocytaires et spermatiques. En ce qui concerne le spermatozoïde, il a été suggéré (KVIST et al, 1980) que la persistance, à la fin du transit épидидymaire, de cystéines non oxydées, stabilisées par une liaison réversible à des ions zinc, pourrait faciliter l'ouverture des ponts disulfures déclenchée par le glutathion ovocyttaire. Le but du travail présenté a été d'évaluer le nombre et la localisation moléculaire de ces cystéines non oxydées dans les protéines nucléaires de spermatozoïdes humains éjaculés.

2. Matériel et méthodes

Des spermatozoïdes éjaculés provenant d'hommes fertiles (spermothèque de la Fédération Nationale des Cecos) ont été alkylés au niveau de leur fonction thiols libres par l'iodoacétamide ¹⁴C (avec ou sans chélation préalable du zinc des spermatozoïdes par l'EDTA). Les protéines nucléaires ont été extraites ; les protamines P1 et P2 ont été isolées par chromatographie liquide à haute performance. La localisation des cystéines marquées par l'iodoacétamide a été déterminée par l'analyse des peptides obtenus après protéolyse des protamines.

3. Résultats

Le nombre de fonctions thiols libres des protamines est de $9 \pm 2,7$ picomoles / 10^6 spermatozoïdes. Le contenu en cystéines non oxydées des protamines P1 et P2 est respectivement de $81,3 \pm 13$ et $68,1 \pm 12,3$ mmoles/mole. Ceci représente 1 à 1,5% des cystéines totales. Le nombre de fonctions thiols libres n'est pas affecté par un traitement chélateur du zinc. L'analyse de la radioactivité présente dans différents peptides isolés après protéolyse des protamines montre que le marquage est distribué de façon uniforme sur toutes les cystéines des protamines P1 et P2.

4. Discussion

Les résultats obtenus mettent en évidence un pourcentage très faible (moins de 1,5%) de cystéines non oxydées dans les protéines nucléaires du spermatozoïde éjaculé. Ce pourcentage est beaucoup plus faible que celui de 29% rapporté pour les protéines totales du spermatozoïde humain (RUFAS et al, 1991). Ceci indique une stabilisation considérable de la chromatine du spermatozoïde par des ponts disulfures. Les cystéines non oxydées n'ont pas de localisation préférentielle dans les molécules de protamine. Cette distribution aléatoire des cystéines libres pourrait faciliter les processus d'échange thiol-pont disulfure nécessaires à la décondensation du spermatozoïde. Il serait très intéressant de rechercher si une diminution du nombre des thiols libres («hyperstabilisation» de la chromatine) pourrait entraîner un défaut de décondensation nucléaire du spermatozoïde et expliquer ainsi certains échecs de fécondation in vitro.

•••

Analyse des cellules rondes du sperme par immunofluorescence directe et hybridation *in situ* en fluorescence

F. VIGUIE, S. VAN ASSENS, Y. PRIGENT,
J.P. DADOUNE

*Service de Biologie de la Fertilité et de
Cytogénétique, CECOS Hôpital Hôtel-Dieu,
1 place du Parvis Notre Dame, 75181 Paris
Cedex 04*

La caractérisation des cellules rondes présentes dans l'éjaculat a été effectuée par l'usage conjoint de l'immunofluorescence directe et de l'hybridation *in situ* en fluorescence.

Les spermatozoïdes de 13 patients ont été sélectionnés, sans préjuger des paramètres spermatiques, sur la base d'une concentration de cellules rondes supérieure à 10⁶/ml avec toutefois la suspicion de cellules germinales immatures au spermocytogramme. L'hybridation *in situ* en fluorescence a été réalisée à l'aide d'une sonde centromérique alpha-satellite spécifique du chromosome 18 (Oncor, inc). En parallèle, un anticorps (anti-CD45), marqueur membranaire leucocytaire commun a permis de différencier les cellules hématopoïétiques des cellules de la lignée germinale.

Les cellules rondes ont pu être classées en trois catégories : cellules germinales haploïdes, cellules germinales diploïdes et leucocytes. Chez tous les patients, parmi les cellules germinales immatures, ce sont principalement des spermatozoïdes : 57,2 ± 18,3% qui ont été mises en évidence, en association avec des leucocytes : 37,7 ± 19,4%. Ainsi, cette méthode se révèle particulièrement appropriée pour caractériser les cellules germinales immatures.

•••

Tableau 1 :

SOURCE DE RADICAUX LIBRES	SUBSTANCE AUGMENTANT LA CHIMIOLUMINESCENCE	CATALYSEUR DE LA REACTION
spermatozoïdes après Percoll (fraction 90%) en suspension) dans du B2 400µl	DNDH : 7 dimethyl aminophtalin -1,2 -dicarbonic acide hydrazide à 2mM 1µl	HRP (horse radish peroxidase) 1,75mg/ml 8µl

Production de radicaux libres oxygénés par les spermatozoïdes humains provenant de patients consultant pour hypofertilité

F. BARBA, S. PILIKIAN, J.F. GUÉRIN, J. LORNAGE,
M. BENCHAIIB

*Laboratoire de Biologie de la Reproduction
Faculté de Médecine, 8, Avenue Rockefeller 69373
Lyon Cedex 08*

1. Introduction

Le métabolisme oxydatif des spermatozoïdes génère des espèces oxygénées telles que l'anion superoxyde (O₂^{•-}), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), les radicaux hydroxyles (OH[•]) qui provoquent de profondes altérations des lipides (peroxydation lipidique), des protéines et autres composants des membranes cellulaires.

La production de radicaux libres par les spermatozoïdes humains après centrifugation sur gradient de Percoll et stimulation du métabolisme oxydatif par le PMA (phorbol myristate acetate) a été évaluée par la technique de chimioluminescence.

2. Matériel et méthode

Les spermatozoïdes proviennent de patients consultant pour hypofertilité (Tableau 1 ci dessous).

- A 37°C en présence de PMA, certains spermatozoïdes augmentent leur consommation d'oxygène et produisent des radicaux libres détectables par augmentation de l'émission de lumière mesurée d'une manière sensible par chimioluminescence accrue par le DNDH.
- Les mesures sont obtenues par un lumino-mètre (LUMAC/3M). On note la valeur basale après stabilisation et la valeur pic 2 à 3 minutes après l'adjonction du PMA.

• L'index de stimulation =

Valeur du pic de chimioluminescence avec PMA

Valeur du pic de chimioluminescence sans PMA

3. Résultats et discussion

La production de radicaux libres par les spermatozoïdes recueillis après centrifugation sur gradient de Percoll augmente significativement après stimulation du métabolisme oxydatif. Cependant cette production est beaucoup plus importante dans la population de spermatozoïdes provenant des échantillons contenant des leucocytes dans le sperme d'origine par rapport aux échantillons sans leucocytes. La différence entre ces 2 groupes est très significative ($p < 10^{-4}$).

La présence de leucocytes dans le sperme semble "sensibiliser" les spermatozoïdes à une surproduction de radicaux libres oxygénés, même lorsqu'ils ne sont plus en leur présence après Percoll. La relation entre ce phénomène et la capacité fécondante du sperme en FIV est en cours d'évaluation.

•••

Le spermatozoïde de mammifère, un vecteur d'ADN exogène ?

A.M. COURTOT*, I. CERUTTI**, A. LOEUILLET**,
J.P. MOUSSU**, V. SEVERAC°, R. ZOOROB°

* Laboratoire de Biologie de la Reproduction,
CHU Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre ;

** Service de transgénèse IFC1, CNRS,

° UPR 120, 19 rue Guy Moquet, 94801 Villejuif

1. Introduction

Le spermatozoïde est une cellule hautement différenciée dont le génome participe, dès la fécondation, à l'expression d'un nouvel individu.

Il a été montré en 1971 (BRACKETT et al.) puis, plus de 20 ans plus tard, en 1989 (LAVITRANO et al.), que l'on pouvait obtenir des animaux transgéniques par fécondation *in vitro*, simplement en ajoutant dans le milieu de culture un fragment d'ADN exogène. Ces résultats ont été controversés par l'équipe de BRINSTER (1989).

Dans cette étude nous avons mis en évidence, par autoradiographie, les capacités des spermatozoïdes humains, de hamsters et de souris, à

fixer de l'ADN. Nous avons suivi ces spermatozoïdes lors de leur mise en contact avec des ovocytes (souris, hamster) et analysé par P.C.R., après fécondation et réimplantation, les embryons ainsi obtenus (souris).

2. Matériel et méthodes

a) L'ADN exogène

Le plasmide PBR 322 marqué au 35S avec la terminal transférase (12 à 15 dA ajoutés) et une construction de 6400 bp (ayant donné des fondateurs transgéniques à la fréquence de 1/5) ont été utilisés pour cette étude.

b) Les spermatozoïdes

Les spermatozoïdes prélevés dans l'épididyme et le canal déférent (hamsters et souris) ou éjaculés (humains), sont dilués avant d'être mis en contact avec l'ADN : 10^6 cellules ; 5 ng/ μ l d'ADN : 37°C, 5% CO₂ ; 1 heure. Pour les essais autoradiographiques, les cellules sont, après centrifugation, déposées sur lame gélatinée, fixées, émulsionnées et colorées, ou mises en contact avec les ovocytes de rongeur avant de subir le traitement préalablement décrit.

Pour les essais d'intégration d'ADN, les ovocytes fécondés sont réimplantés (stade 2 cellules) dans des femelles pseudogestantes. La présence d'ADN exogène est détectée par P.C.R., chez l'embryon de 10 jours, en utilisant deux oligonucléotides d'environ 20 mers.

3. Résultats et discussion

Un marquage obtenu par autoradiographie a été observé pour les spermatozoïdes des trois espèces étudiées. Révélateur de la présence d'ADN exogène sur les spermatozoïdes, ce marquage est plus important chez le hamster et la souris, comparativement à l'humain. De plus la fixation est maximale au niveau de la partie postérieure de la tête spermatique. Pour certains spermatozoïdes, incubés en présence d'ADN, mis en contact des ovocytes, un marquage situé au niveau de leur fixation à la zone pellucide est également révélé. En ce qui concerne l'étude embryonnaire, parmi les 12 embryons obtenus par fécondation *in vitro* avec les spermatozoïdes incubés en présence d'ADN, nous avons pu révéler la présence pour un embryon d'une bande correspondant à la longueur du fragment recherché.

Ces résultats confirment l'existence d'une liaison possible entre l'ADN exogène et le spermatozoïde

de Mammifère. Le spermatozoïde peut, non seulement fixer, mais également transporter et permettre l'intégration d'un fragment d'ADN exogène dans l'embryon. Des essais sont en cours afin de confirmer ces résultats.

BIBLIOGRAPHIE

1. BRACKETT B.G., BARANSKA W., SAWICKI W., KOPROWSKI H. : 1971, PNA, USA 68, 353-357.
2. LAVRITANO M., CAMAJONI A., FAZIO V.M., DOLCI S., FARACE M.G., SPADAFORA C. : 1989, Cells, 57, 717-726.
3. BRINSTER R.I., SANDGREN E.P., BEHRINGER R.R., PALMITER R.D. : 1989, Cells, 59, 239-241.

•••

EPIDIDYME

Etude immunologique des sécrétions épididymaires chez le bélier. Effet des androgènes

X. DRUART, J.L. GATTI, F. DACHEUX*,
J.L. DACHEUX

URA 1291 INRA-CNRS, 37380 Monnaie ;
* Laboratoire de Biologie de la Reproduction,
Faculté des Sciences et Techniques, 37200 Tours

Afin de déterminer la présence de sites immunologiquement communs entre la membrane des spermatozoïdes et des protéines du fluide épидидymaire, des immunosera contre des extraits membranaires de spermatozoïdes prélevés dans la région caudale de l'épididyme ont été obtenus chez le lapin.

Les immunisations ont été effectuées à partir des membranes des spermatozoïdes lavés, extraites en présence de 1,5 % de N-octyl β D-glucopyranoside. Les anticorps obtenus ont été testés sur les protéines du fluide épидидymaire séparées par électrophorèse mono et bidimensionnelle puis transférées sur membrane de nitrocellulose. Les anticorps reconnaissent principalement 9 polypeptides présents dans le fluide épидидymaire dont 5 sont spécifiques de la région caudale de l'organe. Cependant, ces composés ne sont pas des protéines majeures présentes ou sécrétées dans le fluide de la queue de l'épididyme (DACHEUX et al., 1983 ; DRUART et al., 1994). Après orchidectomie, l'épididyme ne sécrète plus ces protéines immunoréactives. Un traitement à la testostérone (8 mg/jour durant 20 et 60 jours) fait réapparaître dans le fluide de la queue un antigène de PM 17 kDa spécifique de cette région.

Ces résultats montrent qu'il existe des composés sécrétés par l'épithélium épидидymaire qui s'intègrent à la membrane des spermatozoïdes de bélier. La sécrétion d'un de ces composés est dépendante de la présence des androgènes. La nature de ces composés et leur rôle dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes restent à définir.

BIBLIOGRAPHIE

1. DACHEUX J-L, VOGLMAYR JK. 1983 : Sequence of sperm cell surface differentiation and its relationship to exogenous fluid proteins in the ram epididymis. Biol. Reprod. 29 : 1033-1046.

2. DRUART X., GATTI J-L, DACHEUX F, DACHEUX J-L, 1994 : Two dimensional electrophoresis of ram epididymal proteins. *Cell. Mol. Biol.*, 40 : 91-93.

•••

Effets de l'administration d'androgènes chez le rat sur le transport de la carnitine dans l'épididyme

C. RADIGUE, S. ES-SLAMI, J.C. SOUFIR

*Unité de Biochimie du Spermé -
Biologie Cellulaire, Biologie de la Reproduction,
CHU Bicêtre 94275 Le Kremlin-Bicêtre Cedex France*

1. Introduction

Nous avons recherché si une augmentation de la carnitine et de la testostérone plasmatiques pouvait stimuler la captation épидидymaire de carnitine.

2. Matériels et méthodes

Trois groupes de 5 rats ont été traités par l'énanthate de testostérone (ET) en sous-cutané aux doses de 2,35 mg/kg (groupe 1), de 2,40 mg/kg (groupe 2) et de 3mg/kg (groupe 3) trois fois par semaine, pendant quatre semaines et comparés à un groupe témoin.

3. Résultats

A toutes les doses, le traitement est efficace : il provoque une augmentation du poids des glandes annexes (20 à 70%) témoignant de l'élévation des androgènes plasmatiques et une réduction du poids des testicules, associée à une diminution du nombre des spermatozoïdes (-35% à - 50%). Sous l'effet du traitement la carnitine sanguine augmente (groupe 1 : + 40%, groupe 2 et 3 : + 150%) mais la concentration de carnitine du fluide épидидymaire ne varie pas.

4. Conclusion

Ces résultats suggèrent que dans des conditions normales le système de transport de la carnitine épидидymaire est saturé et qu'il n'est pas activé par une élévation de la testostérone plasmatique.

•••

Modifications de l'épididyme des souris transgéniques surexprimant le gène de l'"androgen binding protein" (ABP)

B. WEISTROFFER*, A. GÉRARD*, C. ESTEBAN**, R.M. PARACHE°, S. LARRIBA**, H. GÉRARD*, J. REVENTOS**

* *Embryologie II, Faculté de Médecine Nancy ;*

** *Recerca Biomedica, Hosp Vall Hebron
Barcelona Spain ; ° Centre Anticancerieux de
Nancy (Alexis Vautrin)*

1. Introduction

L'ABP est internalisée dans les cellules principales de la tête de l'épididyme, cellules cibles androgène-dépendantes (GÉRARD et al., 1988 et 1991). Cette internalisation est précédée par la liaison à des récepteurs membranaires spécifiques (GUEANT et coll., 1991). Ceci nous a conduit à poser l'hypothèse qu'elle devrait jouer un rôle direct dans la cytophysiologie de cet épithélium. Afin de le vérifier nous avons étudié l'épididyme de souris transgéniques qui surexpriment le gène de l'ABP et sont donc soumises en permanence à une surcharge en cette protéine.

2. Matériel et méthodes

Un fragment d'ADN génomique de rat de 5,5 Kb, comprenant la totalité de la région codante de l'ABP testiculaire et le promoteur P₁ (qui chez le rat adulte régule l'ARN_m de l'ABP testiculaire), a été intégré par microinjection dans le pronucleus mâle de l'ovocyte fécondé (REVENTOS et coll., 1993). L'identification des lignées obtenues ayant intégré le gène a été réalisée par Southern blotting. L'expression du gène a été analysée dans les extraits testiculaires des souris homozygotes et hétérozygotes par Northern blotting à l'aide de l'ADNc de l'ABP de rat marquée au P³² (JOSEPH et coll., 1987). Les épидидymes des animaux hétérozygotes ont été analysés en microscopie optique et électronique. Des analyses immunocytochimiques, utilisant un anticorps anti-actine (HHF35, Dako) et un anticorps anti-ABP de rat non marqués suivis de la technique L-Streptavidine-Biotine (kit L-SAB, Dako) et la révélation à l'AEC, ont été réalisées sur des coupes à la paraffine des organes. L'internalisation de l'ABP de rat radiomarquée par couplage covalent à la Δ testostérone a été détectée en microscopie électronique après microinjection de la protéine dans la lumière de l'épididyme selon

la technique précédemment décrite (GERARD et coll., 1988).

3. Résultats

a) Au niveau de la tête une quantité importante d'ABP est présente dans la lumière associée aux spermatozoïdes. La présence de l'ABP révélée par l'anticorps polyclonal anti-ABP montre de plus des irrégularités dans l'intensité de la réaction positive au niveau de l'épithélium. Certaines cellules de taille très augmentée renferment de nombreux amas immunopositifs dans leur cytoplasme. Ceci est corrélé à une augmentation d'un facteur 2 de la capacité de liaison à la DHT-H³ dans les extraits tissulaires des épидидymes des souris transgéniques. L'analyse auto-historadiographique des fragments épидидymaires après microinjection de l'ABP radiomarquée montre un marquage important du cytoplasme apical, notamment au niveau de l'appareil endocyttaire.

b) L'analyse histomorphologique montre un tube épидидymaire dont le diamètre est augmenté de 6% au niveau de la tête alors qu'il est diminué de 22% dans le corps et de 12% dans la région de la queue. L'épithélium épидидymaire présente des signes d'activation qui ont été objectivés par la mesure de la densité optique (système CUE-3, Olympus 3) au niveau du cytoplasme et du noyau. L'ultrastructure des cellules principales révèle la présence d'un très abondant réticulum ainsi que des signes d'activation du trafic nucléocytoplasmique.

c) L'étude immunocytochimique de la présence de l'actine a montré une augmentation considérable de cette protéine dans le cytoplasme de l'épithélium de la tête ainsi que dans la couche péritubulaire au niveau du corps.

4. Conclusion

Les souris transgéniques expriment bien l'ABP et l'épithélium épидидymaire de ces souris internalise cet ABP et présente une importante surcharge de cette protéine.

Parallèlement les cellules principales présentent des signes d'activation des synthèses protéiques. L'augmentation de l'expression de l'actine pourrait intervenir dans la régulation du transit des spermatozoïdes dans le canal épидидymaire.

•••

Apport de l'examen clinique des épидидymes avant la prise de décision de fécondation *in vitro* associée à un prélèvement chirurgical du sperme

J.M. RIGOT, E. HERMAND, E. MAZEMAN

*Service de Clinique Urologique de Lille,
Laboratoire d'histologie-Embryologie Faculté de
Médecine de Lille*

Eviter les ponctions blanches lors d'une FIV associée à un prélèvement microchirurgical du sperme reste un problème difficile et surtout particulièrement douloureux pour le couple. Les auteurs ont cherché à évaluer quelle pouvait être la valeur de l'examen clinique des épидидymes pour évaluer la chance d'avoir une ponction positive lors de l'exploration chirurgicale.

1. Matériel et méthode

86 patients présentant une azoospermie, un volume testiculaire normal, FSH normale ont été explorés chirurgicalement par le même opérateur. L'examen clinique de l'épидидyme était analysé en fonction des résultats de la biopsie testiculaire. L'examen clinique a été considéré comme anormal quand l'épидидyme n'était pas fin, souple, correctement individualisable sur toute sa longueur et surtout non nodulaire. En cas de doute, il a été toujours compté comme anormal.

	Azoospermie excrétoire	Azoospermie sécrétoire
Epididyme normal	29	35
Epididyme anormal	21	1

On note ainsi l'excellente valeur prédictive positive (0,95) de la palpation d'un épидидyme anormal par rapport au diagnostic d'azoospermie excrétoire. En revanche la valeur prédictive positive d'une azoospermie excrétoire devant un épидидyme normal est faible (0,45).

2. Conclusion

Les auteurs proposent de ne retenir l'indication de fécondation *in vitro* avec prélèvement microchirurgical du sperme en première intention que devant les azoospermies à volume testiculaire normal, à FSH normals et anomalies épидидymaires. En cas de normalité de l'examen de l'épидидyme, ils propo-

sent de réaliser soit une biopsie testiculaire soit une exploration préliminaire avant de proposer au couple une fécondation in vitro avec prélèvement microchirurgical de sperme.

•••

Les anastomoses micro-chirurgicales épидидymo-déférentielles sur la tête de l'épididyme

G. TRITTO*°, D. MORLIER*, E. ERDEI**, G. ARVIS*

* *Service d'Uro-Andrologie, Hôpital Tenon, 75020 Paris ; ° Service d'Urologie, Unité d'Andrologie, Hôpital St Louis, 75010 Paris ;*

** *Urological Clinic, Haynal Imre University of Health Science, Budapest Hongrie*

31 anastomoses micro-chirurgicales épидидymo-déférentielles sur la tête de l'épididyme ont été réalisées chez 22 patients infertiles présentant une azoo-oligospermie d'origine obstructive.

Un à trois mois avant la micro-chirurgie, des biopsies testiculaires bilatérales ont été faites permettant une analyse quantitative de l'état de la spermatogénèse.

Les procédures reconstructives ont été :

- unilatérales (13/22),
- bilatérales (9/22), en employant, dans ce cas, soit la même technique des deux côtés (5/9), soit une technique différente (4/9).

La condition nécessaire et obligatoire per opératoire pour réaliser l'anastomose micro-chirurgicale, était la confirmation par le test de perméabilité, de l'absence d'obstacle de la voie déférentielle distale.

Les techniques micro-chirurgicales employées ont été spécifiquement adaptées aux conditions micro-anatomiques de la tête épидидymaire :

- épидидymo-vasostomies (13/31),
- tubulo-vasostomies (12/31),
- ductulo-vasostomies (4/31),
- ductulo-épидидymostomies (2/31).

En cas d'épidymo-vasostomie, la préférence était donnée à la procédure latéro-latérale (8/13), et, en cas de procédure termino-terminale, la technique "Mésó" a été utilisée.

En cas de tubulo-vasostomie, la technique "pull through" a été employée pour les anastomoses latéro-terminales (7/12), et termino-terminales (4/12).

Les résultats sont évalués en terme de spermogramme positif de 3 mois à 2 ans après la micro-chirurgie, et comparés aux index quantitatifs de la biopsie per-opératoire.

Les marqueurs testiculaires et épидидymaires sont aussi évalués avant et après chirurgie, de même que la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes, recherchés dans le sperme et dans le sang.

8/22 patients ont un spermogramme positif après une intervention uni ou bilatérale, quelle que soit la technique spécifique choisie pour la reconstruction micro-chirurgicale (6 épидидymo-vasostomies, 2 tubulo-vasostomies, 1 ductulo-vasostomie).

Aucune corrélation n'est retrouvée entre les index quantitatifs de la biopsie testiculaire et l'amélioration du spermogramme, de même qu'entre les différentes procédures d'anastomoses en présence de marqueurs positifs de la perméabilité.

Ces résultats préliminaires montrent que des facteurs inconnus semblent régler la réponse positive en terme de spermogramme après les procédures d'anastomoses épидидymo-déférentielles sur la tête de l'épididyme.

•••

INFECTION ET SPERME

Prévalence de la bactériospermie à *Chlamydiae trachomatis* : Etude comparative entre culture et PCR

O. AYNAUD*, G. BIJAOU***, J-D. POVEDA°,
J-M. CASANOVA*

* *Unité d'Urologie-Andrologie, Hopital Saint Jacques 37, rue des Volontaires, 75015 Paris ;*
** *Laboratoire de Biologie Médicale Vavin 75006 Paris ;*
° *Laboratoire de Biologie Spécialisée Institut Pasteur 75015 Paris*

L'infection génitale à *Chlamydia trachomatis* (CT) est une infection dont l'identification reste parfois délicate selon sa localisation génitale. Par ailleurs dans le champ de la santé publique le *Chlamydia trachomatis*, de par sa faible expression clinique, a une répercussion au niveau des fertilités féminines et masculines. L'identification par culture cellulaire du germe CT dans le sperme est souvent difficile du fait de la toxicité des couches cellulaires et l'apparition de nouvelles techniques de biologie, telle que la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), permet de révéler l'ADN du germe CT. Le but de notre étude a été d'évaluer, sur une cohorte d'hormones adressés pour un dépistage des papillomavirus humains (PVHs), la PCR CT sur le sperme par rapport à la culture cellulaire sur le sperme et le prélèvement urétral.

Un recueil de sperme et un prélèvement urétral ont été effectués, dans le même laboratoire, à 6 patients, âge moyen 30 ans (extrême 21 - 46 ans). Les cultures bactériologiques standard ont été pratiquées sur tous les prélèvements, sperme et urètre. La recherche de CT sur les prélèvements urétraux a été uniquement faite par culture cellulaire. Sur les spermatozoïdes, CT a été recherché à partir de culture cellulaire Mac Coy et par la PCR (Amplicor).

Les patients ont présenté dans 43% des cas (27/63) des lésions génitales à PVH. Les prélèvements urétraux et les spermocultures ont été respectivement positifs dans 25% des cas (16/63) et dans 21% des cas (16/63). Parmi les cultures positives, le germe le plus fréquemment mis en évidence dans l'urètre et le sperme a été *Ureaplasma urealyticum* (37,5%, 23%) : puis dans les-

prélèvements urétraux nous avons identifié dans 19% des cas *Chlamydiae trachomatis* et *Candida albicans*, dans 12,5% des cas *Haemophilus parainfluenzae* et dans les spermocultures nous avons identifié dans 15% des cas *Staphylococcus aureus*, *Streptococci D*, *Escherichia coli* et dans 7,7% des cas *Chlamydiae trachomatis* et *Candida albicans*. La prévalence de *Chlamydiae trachomatis* par culture cellulaire a été de 4,8% dans les prélèvements urétraux (3/63) et de 1,6% dans les spermocultures (1/63). La PCR (Amplicor) sur les spermatozoïdes a révélé un CT dans 6,3% des cas (4/63).

Dans 1 cas, il a existé une discordance entre la culture cellulaire sur le prélèvement urétral et la PCR sur le sperme.

Dans cette étude, nous avons observé une prévalence de *Chlamydiae trachomatis* variant de 4,8% à 6,3% selon le type de techniques biologiques, culture sur prélèvement urétral ou PCR sur sperme, mais cette différence n'est pas statistiquement significative. En revanche, la recherche du germe CT dans le même milieu, le sperme, par deux méthodes, culture cellulaire et PCR, a montré une plus grande sensibilité pour la PCR (6,3% versus 1,6%). Par ailleurs, nous avons constaté que dans une population masculine à risque de M.S.T. (présence d'une infection génitale à PVH) le *Chlamydia trachomatis* ne semble pas être le germe prédominant, mais sa mise en évidence dans le sperme nécessite de nouvelles méthodes biologiques telle que la PCR.

•••

Apport de la PCR dans la détection de *Chlamydia trachomatis* en andrologie. Comparaison de plusieurs marqueurs

M. ASKIENAZY-ELBHAR*, M. DOLIVO**, V. IZARD**,
J. HENRY-SUCHET°, A. JARDIN**, J.C. SOUFIR°,
M. AUROUX°, J.M. KUNSTMANN°

* *Laboratoire Magenta 75010 Paris ;* ** *Service d'Urologie CHU Bicêtre ;* ° *Service de Biologie de la Reproduction CHU Bicêtre* °° *Cabinet Marignan Paris*

1. Introduction

Les chlamydioses génitales de l'homme sont les principales maladies sexuellement transmises (prévalence 10 à 40%). Leurs complications géni-

tales profondes sont fréquentes. L'évolution vers la chronicité est facilitée par le caractère asymptomatique et silencieux de cette infection soit méconnue, soit insuffisamment traitée. Outre la transmission sexuelle d'un agent pathogène impliqué dans la fertilité des femmes, il semble que les implications immunoinflammatoires de la chlamydie chronique de l'homme soient susceptibles de retentir sur sa propre fertilité par dégradation tissulaire et réactions d'autoimmunité et d'hypersensibilité retardée. Nous nous sommes occupés dans cette étude non pas du diagnostic des uréthrites à *Chlamydia trachomatis* (CT) par étude du prélèvement uréthral ou des urines du 1er jet, mais des infections dans lesquelles CT ne se trouve plus dans l'urèthre mais dans les voies génitales profondes.

2. But de l'étude

Evaluer l'apport d'une technique sensible comme la PCR (polymerase-chain-reaction) dans la détection directe de CT dans le sperme et le fluide prostatique par rapport à l'immunofluorescence directe (IFD) et à la culture cellulaire optimisée (CCO) et par rapport à des marqueurs immunologiques comme les IgA séminales et les IgG sériques anti CT, en exploration andrologique de patients infertiles ou suspects d'infection profonde.

3. Populations

402 patients ont eu des bilans infectieux entre Juillet 93 et Septembre 94. L'enquête épidémiologique les a classés en différents groupes :

1. infertilité du couple (n=64),
2. facteur masculin d'infertilité asymptomatique (n=174),
3. maris de femme à stérilité tubaire post infectieuse (n=32),
4. chlamydie chronique (n=22),
5. infection génitale symptomatique (n=85),
6. échecs de PMA (n=25),
7. témoins (n=74) dont 54 donneurs et 20 maris de femmes à stérilité hormonale.

Plusieurs patients ont été classés dans 2 ou plusieurs groupes.

4. Matériels et méthodes

Tous les patients ont eu : une recherche de CT par PCR (trousse AmpliCor Roche), CCO et IFD, ainsi qu'une recherche des IgA sécrétoires (IgAs) anti CT par micro-immunofluorescence dans le

sperme émis, pour la plupart des patients, après massage prostatique selon les protocoles déjà décrits, après vidange vésicale et désinfection génitale. 169 d'entre eux ont eu une PCR et des IgA s anti-CT dans le fluide prostatique et 330 d'entre eux ont eu un titrage des IgG, IgA et IgM anti CT sériques par micro-immunofluorescence. Les témoins n'ont pas eu de massage prostatique.

5. Résultats

Des 402 patients explorés, 26 ont eu une PCR positive (6,5%), aucun n'a eu de CCO positive, et 5 ont eu une IFD positive (1,5%). 100 patients ont eu des IgAs anti CT positives (25%). Les prévalences les plus fortes en PCR ont été trouvées dans les groupes 2 (10,6%) et 5 (17,4%) et elles étaient corrélées avec les prévalences les plus fortes des IgAs (37% et 38% respectivement).

Des 169 fluides prostatiques, 7 ont eu une PCR positive (4,15%), dont 3 avec des spermatozoïdes positifs également, 2 avec des spermatozoïdes négatifs et 2 chez des patients anéjaculateurs. Seuls 21 patients (13%) ont eu des IgA positives dans le fluide prostatique.

146 patients (44%) ont eu des IgG sériques positives.

Dans le groupe témoin, 2 patients ont eu une PCR positive (2,7%) et 10 patients (14%) ont eu des IgAs anti CT positives.

6. Discussion

La détection de CT dans le sperme par PCR a une sensibilité significativement plus grande que celle de la culture et de l'IFD. La trousse AmpliCor, par l'utilisation de l'Uridyl-N-glycosylase, met à l'abri des faux positifs. La sensibilité pourrait encore être améliorée par extraction préalable de l'ADN. La détection de CT par PCR dans le sperme est un outil précieux dans l'exploration génitale masculine à visée infectieuse ou procréatrice. Il est indispensable de la coupler avec la détection des IgAs, qui sont les témoins de la persistance de la stimulation antigénique locale par les protéines de CT, intactes ou dénaturées. Ces IgA sont situées au carrefour de l'immunité humorale et cellulaire. Leur présence signifierait l'entretien de la cascade inflammatoire. La meilleure sensibilité du sperme après massage par rapport à celle du fluide prostatique pourrait signifier que la diffusion de CT ne se localise pas à la seule prostate.

7. Conclusion

La PCR, les IgAs dans le sperme après massage prostatique et les IgG sont de bons marqueurs de l'étendue de l'infection chlamydienne en exploration andrologique.

•••

Prévention de l'infection masculine en fécondation *in vitro* : A propos d'une étude rétrospective portant sur 5 années

K. BETTAHAR, J. OHL, C. WITTEMER, P. DELLENBACH

Service de PMA, CMCO, Strasbourg

1. Introduction

En matière de procréation médicalement assistée, les inclusions pour stérilité masculine notamment post-infectieuses sont en augmentation.

Néanmoins le taux de fécondation dans notre centre a été amélioré au cours des 5 dernières années. Ceci est dû en partie à la diminution du nombre de spermatozoaires infectés contaminant le milieu de culture le jour de la ponction ovocytaire.

2. Matériel et méthodes

Ce résultat obtenu grâce à la prévention des infections par une stratégie rigoureuse :

Une spermoculture est pratiquée systématiquement un mois avant le début du cycle de fécondation *in vitro*. Si la présence de germes est détectée dans le sperme (> 3000 germes/ml), un traitement antibiotique est instauré pour une période d'au moins 15 jours selon les données de l'antibiogramme et en fonction du germe.

Une spermoculture de contrôle est réalisée après traitement, trois éventualités peuvent être rencontrées :

- l'infection est éradiquée, le cycle est alors débuté ;
- il persiste une infection légère, le traitement antibiotique est poursuivi et une préparation du sperme par double Percoll est pratiquée le jour de la ponction ovocytaire ;
- le traitement antibiotique a été inefficace, le patient est adressé à un urologue pour explorations et traitement et le cycle de FIV est repoussé.

3. Résultats et discussion

Tableau : Evolution du taux d'infections du sperme constatées le jour de la ponction ovocytaire entre 1989 et 1993.

ANNEES	1989	1990	1991	1992	1993
Taux d'infection	5%	5,2%	3,7%	2,8%	1,8%

Cette stratégie nous apparaît efficace dans la mesure où le nombre de spermatozoaires infectés, responsables d'un échec de fécondation, a diminué de 64% en 5 ans.

•••

L'infection à *Chlamydia trachomatis* peut provoquer chez l'homme un dysfonctionnement prostatique et épидидymaire

J. ROSTOKER*, M. ASKIENAZY-ELBHAR**,
P. WEBER*, M. DOLIVO°, A. JARDIN°, M. AUROUX*,
J.C. SOUFIR*

* Biologie de la Reproduction CHU Bicêtre ; **
LAM Magenta 75010 Paris ; ° Urologie CHU
Bicêtre 94275 Kremlin-Bicêtre Cedex

1. Introduction

Les infections à *Chlamydia trachomatis* font partie des maladies sexuellement transmissibles les plus fréquentes. Si les conséquences de ces infections sur la fertilité féminine sont bien connues, leur retentissement sur l'appareil génital masculin fait encore l'objet de discussions.

Le but de ce travail a été de mesurer l'impact de l'infection chlamydienne sur les glandes annexes et les épидидymes par le dosage des principaux paramètres biochimiques du sperme : fructose (vésicules séminales), citrate et zinc (prostate), L carnitine libre (épидидymes).

2. Sujets et méthodes

45 hommes, consultant pour infécondité et suspects d'infection urogénitale de durée inconnue, ont été explorés.

Le fructose, le citrate et la L carnitine ont été dosés dans le plasma séminal en spectrophotométrie UV par des techniques enzymatiques spécifiques, le zinc par spectrophotométrie d'absorp-

tion atomique. Les IgG sériques anti-*Chlamydia trachomatis* ont été mesurées par Micro-Immuno-Fluorescence (seuil de positivité égal à 1/20).

On a utilisé les tests statistiques de Student et Spearman.

3. Résultats

33 patients (73%) avaient un taux d'anticorps anti-*Chlamydia trachomatis* (IgG) supérieur à 1/20. On a effectué un classement en deux groupes en fonction du taux d'anticorps : taux élevé d'IgG ≥ 80 (n=14) ou taux faible $1/20 < \text{IgG} \leq 1/40$ (n=19).

On note dans le premier groupe comparé au second une baisse des marqueurs prostatiques - zinc (p < 0,02), citrate (p < 0,05) et épидидymaire - L carnitine (p < 0,02).

Il existe par ailleurs une corrélation inverse entre le taux d'IgG sérique anti-*Chlamydia trachomatis* et le taux de carnitine séminale (r=0,5; p<0,03).

4. Conclusion

Ces résultats font apparaître que l'infection chlamydienne (taux d'IgG $\geq 1/40$) affecte à la fois les fonctions prostatique et épидидymaire.

•••

Rôle inhibiteur du plasma séminal sur l'enroulement du flagelle et l'adhésivité d'E. Coli

C. MEYER, C. CRANZ, A. CLAVERT

Groupe de Recherche en Andrologie Faculté de Médecine F 67085 Strasbourg

De nombreux travaux ont montré le pouvoir antibactérien du plasma séminal (PS). Des substances sécrétées par la prostate possèdent un pouvoir inhibiteur sur la prolifération du streptocoque verdissant. Pour certains, ces propriétés résultent de la forte concentration en Zinc et de la présence de lysozyme dans le plasma séminal. Il existe des arguments évoquant l'intervention de facteurs qui agiraient sur des processus plus spécifiques comme l'adhésivité.

BISSON et coll. (1974) ont montré par ailleurs, que la présence de bactéries, plus particulièrement *E. coli*, entraîne une asthénospermie avec augmentation des flagelles enroulés.

Connaissant le rôle d'*E.coli* dans les infections urinaires et prostatiques, il nous a paru important d'étudier les relations de cette bactérie avec le PS.

1. Matériel et méthodes

Pour notre étude nous avons utilisé une souche d'*E. coli* uropathogène sélectionnée dans notre consultation. Nous avons mélangé 500 μ l d'une suspension de spermatozoïdes lavés à une concentration de 20 millions par ml dans un milieu F10 (qui servira de témoin), dans du plasma séminal entier ou dans l'une de ses fractions avec 50 μ l d'un milieu contenant 1.108 bacilles.

Les fractions du plasma séminal ont été obtenues par filtration pour isoler les molécules au PM < 10000, ou par dialyse pour retenir les molécules soit au PM > 100 000 ou PM > 300 000.

Le coefficient d'adhésivité est évalué par le pourcentage des spermatozoïdes ayant au moins une bactérie fixée à la surface, le pourcentage de flagelles enroulés est également noté.

Nous avons utilisé 5 spermés différents par expérience ; nous donnons ici la moyenne.

2. Résultats

	% spermatozoïdes avec au moins une bactérie	% spermatozoïdes au flagelle enroulé
Témoin	72	44
P.S. entier	39	6
PM<10 000	71	15
PM>100 000	30	17
PM>300 000	58	33

3. Conclusion

Le PS inhibe la fixation d'*E. coli* sur le spermatozoïde et empêche le flagelle de s'enrouler. L'étude des propriétés des différentes fractions montre que les facteurs intervenant sont différents suivant le processus considéré. L'adhésivité est inhibée par une ou plusieurs molécules vraisemblablement glycoprotéiques ; les travaux de WOLFF et coll. 1994 ayant montré le rôle de certains glucides dans ce mécanisme. Par contre l'enroulement du flagelle est prévenu par l'action synergique de petites molécules et de molécules de poids moléculaires plus important, vraisemblablement des protéines.

•••

Importance de la prophylaxie de l'infertilité masculine en Tunisie

N. JABALLAH

Service Gynécologie - Polyclinique C.N.S.S. -
Khezama Sousse Tunisie

1. Introduction

Le domaine de l'exploration et traitement de l'infertilité masculine tient une place importante au sein de la consultation du couple tunisien [1].

En effet, la médiation des nouveaux procédés de procréation médicalement assistée ainsi que la possibilité offerte aux malades assurés de se faire examiner dans une clinique d'assurance sociale offrent une occasion idéale pour étudier le profil de ces patients. Les résultats obtenus permettent de prendre des mesures nécessaires, afin de réduire la fréquence des cas d'infertilité masculine dans ce pays.

2. Matériel et méthode

Six cent dix hommes ont été explorés dans la période du 01.05.90 au 30.06.94.

Les facteurs suivants ont été analysés :

- Anamnèse du patient - examen clinique - spermogramme - dosages hormonaux.
- Biopsie testiculaire.

3. Résultats et discussion

Les normozoospermies ont été trouvées dans 26,5% des cas, alors que les azoospermies ont été diagnostiquées chez 27,5% des patients ; 22,5% des patients ont des oligoasthénotérazoospermies, alors que le reste du groupe (23,5%) a une pathologie isolée du spermogramme (oligo, asthénou ou térazoospermie). Sept biopsies testiculaires ont été pratiquées chez les azoospermiques avec volume testiculaire normal. Les résultats histologiques montrent l'existence d'un arrêt de maturation au stade spermatocytaire ou des spermatogonies.

L'étude des résultats hormonaux a démontré la prévalence d'états normogonadotropes dans plus de 50% des cas.

Les azoospermies sont souvent rencontrées chez l'homme tunisien [2]. Une comparaison avec une étude européenne portant sur 1144 hommes stériles montre que le diagnostic d'azoospermie est plus fréquent en Tunisie (27,5% des cas d'azoospermie contre 4,5% en Europe. Ces résultats soulignent l'importance de la prophylaxie des ectopies testiculaires (diagnostiquées pendant l'enfance) ainsi que des infections vénériennes (surtout gonococcie) chez l'homme tunisien.

BIBLIOGRAPHIE

1. N. JABALLAH : Infertilité masculine en Tunisie : à propos de 373 cas. *Andrologia*, 1987, 19, 242-246.
2. N. JABALLAH : Profile of the sterile Tunesian man. The XIII. World Congress on Fertility and Sterility. Marrakesh 1-6 October 1989.

•••

FECONDATION *IN VITRO*

Valeur et limites de l'Index de Mobilité (IM) des spermatozoïdes dans l'investigation des couples infertiles admis en Fécondation *In Vitro* (FIV)

Y. SOFER, A. GOLAN, A. HERMAN, I. BUKOVSKI,
R. RON-EL*

Centre Médical Assaf Harofé, IL 70300 Zerifin ;
* Faculté de Médecine Sackler ;
Université de Tel Aviv Israël

1. Introduction

La mobilité des spermatozoïdes, l'une des qualités primordiales du sperme s'exprime généralement par son degré qualitatif subjectivement perçu (1-4) et par le pourcentage (%) des spermatozoïdes mobiles. L'index de mobilité, IM, combine ces deux variables (degré x%) en une seule valeur quantitative. IM n'est certes qu'un des éléments d'une perspective plus vaste que l'examen de sperme habituel et les épreuves fonctionnelles des spermatozoïdes permettent de dévoiler. Le but de ce travail a été de comparer la valeur de l'IM avec celle des autres éléments de cette perspective dans l'analyse prédictive de la qualité des spermatozoïdes et de leur pouvoir fécondant.

2. Matériel et méthodes

Chez 447 couples admis en FIV, l'IM, le compte total de spermatozoïdes/éjaculat (CT) et le % de formes strictement normales (NF) ont été relevés dans le sperme frais du conjoint ainsi que le résultat du test post-coïtal (PCT). Si ce dernier a été déficient, les anticorps antispermiques (ASA) locaux ont été recherchés. De plus, l'épreuve de pénétration des ovocytes dépellucidés de hamster (SPA) a été faite. L'épreuve d'adhérence à la zone pellucide (test de l'hémizone), et la fertilisation assistée (ICSI) n'étaient pas en usage dans cette série. A la suite de cette investigation, un ou plusieurs cycles de FIV (2 en moyenne) ont été pratiqués. Les résultats de la FIV ont été exprimés par le % des ovocytes fécondés, la qualité des embryons et les grossesses obtenues. L'analyse statistique s'est fondée sur l'analyse de variance et la corrélation multifactorielle.

3. Résultats

Les facteurs les plus influents dans l'équation du PCT ont été, dans l'ordre, ASA, IM, et CT ; mais seules IM et CT ont été influents dans SPA. Dans l'équation de la fertilisation en FIV, les épreuves fonctionnelles PCT et SPA prédominent avec NF. Si les épreuves fonctionnelles et ASA sont exclues, dans l'ordre, NF, CT et IM deviennent les facteurs influents. IM reprend une certaine importance dans l'équation des grossesses, avec ou sans les épreuves fonctionnelles.

4. Discussion-Conclusions

L'index de mobilité (IM) est un élément d'appréciation majeur des spermatozoïdes au niveau des épreuves fonctionnelles et de la FIV, si ces épreuves ne sont pas faites. Si elles sont faites, elles surpassent, au niveau de la FIV, IM ainsi que CT. En effet, elles intègrent ces derniers et apportent de plus un élément d'appréciation propre, mais NF continue à garder son importance. L'adjonction du test de l'hémizone pourrait modifier cet état de choses.

•••

Corrélation entre certains paramètres du mouvement des spermatozoïdes et taux de fécondation en FIV. Etude préliminaire à l'aide d'un système d'analyse automatisée (cell trak/motion analysis)

B. MARTIN-PONT, C. FILLION, M. KRAEMER,
A. TAMBOISE, J.N. HUGUES*, J. GONZALES

Laboratoire de Biologie de la Reproduction ;
* Centre de PMA, Hôpital J. Verdier
Avenue du 14 Juillet - 93143 Bondy Cedex

1. Objectifs

Le but de cette étude prospective est de rechercher une corrélation entre certains paramètres du mouvement des spermatozoïdes et les taux de fécondation obtenus en FIV.

2. Méthodes

Cette analyse, portant à la fois sur des spermatozoïdes dans le plasma séminal et en milieu capacitant, a été réalisé avec la version CTS 3-20 du Cell Trak (Motion Analysis). Pour chacun de ces milieux, les calibrations définies dans un travail antérieur (cf C. FILLION et al., article suivant) ont été utilisées. Cette étude préliminaire a porté sur

38 tentatives de FIV. Les corrélations éventuelles entre le taux de fécondation et les paramètres du mouvement analysés (VSL, VCL, et ALH) ont été recherchées par régression linéaire.

3. Résultats

En milieu capacitant, nous avons déterminé pour ces différents paramètres des valeurs minimales en dessous desquelles le taux de fécondation est faible (inférieur à 33 %) ou nul :

VSL < 40 μm / sec. ou
VCL < 90 μm / sec. ou
ALH < 5,5 μm

A l'opposé un taux de fécondation supérieur à 50 % est noté lorsque :

VSL > 60 μm / sec. ou
VCL > 115 μm / sec. ou
ALH > 6,5 μm

Dans le plasma séminal, il n'a pas été possible de déterminer de telles valeurs seuils. Cependant, quelle que soit la valeur de VSL, VCL et ALH dans le plasma séminal, un taux de fécondation $\geq 50 \%$ peut être prédit lorsque les écarts pour chacun de ces paramètres entre les deux milieux sont respectivement :

VSL > 35 μm / sec. ou
VCL > 60 μm / sec. ou
ALH > 3,5 μm

4. Conclusion

La présente étude permet de confirmer que tous les paramètres analysés sont significativement corrélés à la fécondance. Il apparaît particulièrement important de pouvoir prédire le résultat d'une fécondation à partir des valeurs des paramètres analysés par microvidéographie automatisée dans des conditions strictement définies.

•••

Propositions pour une calibration optimale d'un système d'analyse automatisée (cell trak/motion analysis) pour la détermination des caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes

C. FILLION, M. KRAEMER, B. MARTIN-PONT,
A. TAMBOISE, J.N. HUGUES*,

*Laboratoire de Biologie de la Reproduction,
Hôpital J. Verdier ; Avenue du 14 Juillet - 93143
Bondy Cedex*

1. Objectifs

En l'absence de consensus sur les réglages nécessaires des systèmes Cell trak pour l'analyse du mouvement des spermatozoïdes, nous avons essayé de déterminer les calibrations optimales des paramètres intervenant dans cette analyse.

2. Méthodes

Des spermatozoïdes de patients inclus dans un protocole de FIV ont été étudiés. Ces spermatozoïdes, à taux de fécondation normal ($\geq 50 \%$), présentaient des caractéristiques de mobilité, de numération et une morphologie normale selon les critères de l'O.M.S.

Les analyses ont été réalisées avec la version CTS 3-20 du Cell Trak (Motion Analysis) en tenant compte des conditions strictes suivantes: température (37°C), profondeur de la chambre d'analyse (20 μm), sperme à concentration moyenne (entre 20 et 60 x 10⁶ spermatozoïdes par ml).

3. Résultats

Pour un même éjaculat, nous avons étudié les caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes à la fois dans le plasma séminal et dans un milieu capacitant (après migration ascendante en B2) à partir d'enregistrements vidéo. L'analyse résultant des différents réglages d'un paramètre est toujours réalisée sur le même champ vidéo et les mêmes cellules (20 spermatozoïdes). Pour un seuillage constant, nous avons fait varier les paramètres suivants :

- la fréquence d'acquisition des images,
- les seuils de vitesse minima et maxima,
- le facteur de lissage des trajectoires permettant l'évaluation de l'amplitude latérale de la tête (ALH),
- le facteur d'interpolation permettant la reconstruction de la trajectoire lorsqu'un point de celle-ci manque (tête du spermatozoïde en dehors du plan focal).

Suivant les réglages effectués, certaines trajectoires peuvent ne pas être prises en compte, alors qu'à l'opposé d'autres sont manifestement fausses. Nous avons cherché à optimiser les réglages de manière à éliminer au maximum ces inconvénients.

4. Conclusion

Il est impératif d'avoir des calibrations différentes pour le plasma séminal et le milieu capacitant.

Nous proposons respectivement pour ces 2 milieux :

Fréquence (images / secondes) : 30 et 60

Vitesse maximale (μm / seconde) : 300 et 700

Facteur de lissage : 5 et 15

Ces calibrations permettent d'obtenir des conditions d'analyses fiables et reproductibles.

•••

La Fécondation *In Vitro* (FIV) en microgoutte : Résultats de 90 cas

O. PAULMYER-LACROIX, A. NOIZET, A. GUERIN,
S. OLIVIER, M. GAMERRE, J.M. GRILLO

Maternité de la Belle-de-Mai Centre de Procréation Médicalement Assistée, 23, rue F.Simon
13003 Marseille

Après traitement du sperme, une concentration inférieure à 50 000 spermatozoïdes/ml dans le plot de fécondation rend aléatoire la FIV classique (ie fécondation des ovocytes dans 1 ml de B2), cas très fréquent dans les oligoasthénospermies (OAT) sévères.

La FIV dite en microgoutte permet de pallier cet inconvénient.

Nous présentons ici les résultats de 90 FIV en microgoutte, effectuées en cas d'OAT sévère.

1. Matériels et méthodes

a) Sperme

$\leq 10 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml, ≤ 10 % mobilité progressive ou ≤ 30 % formes typiques.

b) FIV

• J1 : Après avoir enlevé le cumulus, chaque ovocyte est placé dans une microgoutte (20-40 μl) de sperme préparé par Percoll (environ 10 à 12 000 spermatozoïdes/20 μl de B2) puis recouvert d'huile de paraffine.

• J2 : Les ovocytes sont transférés dans 1 ml de B2 frais

• J3 : Transfert des embryons.

c) *Comparaison des résultats* par rapport à un groupe témoin (33 tentatives de FIV, paramètres du sperme équivalents, préparation du sperme par PERCOLL, insémination des ovocytes dans 1 ml de B2).

2. Résultats

Tableau 1.

3. Conclusion

Nos résultats ne montrent pas de différence significative. Cependant, on peut noter :

• Une tendance à l'augmentation des taux de fécondation et de transfert, après fécondation en microgoutte.

• La possibilité de proposer cette méthode dans les OAT sévères (et non extrêmes) pour les équipes ne pratiquant pas encore l'ICSI, permettant l'élargissement des indications de la FIV sans micromanipulation.

•••

Tableau 1 :

	Embryon/ponction	Taux de fécondation (%)	Transfert/ponction	Grossesses cliniques/ponction
Témoin	1,66 \pm 0,3	25,8 \pm 5,1	16 / 33 (48,5 %)	5 / 33
Microgoutte	2,49 \pm 0,38*	39,6 \pm 5,7*	60 / 90* (66,6 %)	12 / 80 (résultats partiels)

* $p \geq 0,1$

Fécondation *In Vitro* après prélèvement chirurgical des spermatozoïdes

F. COLLIER*, J.M. RIGOT**, P. LESUR°,
A. GAUTHIER*, E. MAZEMAN**, P. DIEUSART°

* Service de Gynécologie Sociale, Hôpital Huriez, CHRU Lille ; ** Service d'Urologie, Hôpital Huriez, CHRU Lille ; ° Laboratoire Liberté Lille

Depuis la publication princeps de Temple-Smith en 1985, de nombreuses équipes ont recouru à la Fécondation *In Vitro* après prélèvement chirurgical des spermatozoïdes pour traiter des situations pathologiques diverses, agénésies déférentielles, oblitérations post-infectieuses ou post-chirurgicales, anéjaculations et éjaculations rétrogrades.

Peu d'auteurs ont cependant fait état de séries quantitativement importantes et de taux de grossesses élevés.

En 1993, la collaboration des 3 équipes citées nous a permis de prendre en charge 10 couples jusqu'à la tentative de FIV : agénésie déférentielle (n=4), oblitération post-infectieuse (n=2), vasectomie (n=1), anéjaculation (n=1), éjaculation rétrograde (n=1), paraplégie (n=1).

Un couple ayant bénéficié de 2 essais, 11 tentatives ont été réalisées et 9 fois des spermatozoïdes ont pu être recueillis. Le sperme a été préparé par mini gradient de Percoll. Malgré la fréquente qualité médiocre des spermatozoïdes, 25 des 83 ovocytes prélevés ont fécondé *in vitro* (taux de clivage : 30%).

Pour minimiser le risque de grossesses multiples, seuls 17 des 25 embryons ont été replacés *in utero*, en 5 transferts : 4 embryons (n=3), 3 embryons (n=1), 2 embryons (n=1).

3 grossesses gémellaires ont été obtenues : un cas d'oblitération post-infectieuse : 2 embryons transférés, un cas d'anéjaculation : 3 embryons transférés, un cas d'anéjaculation chez un paraplégique : 4 embryons transférés.

Ces 3 grossesses ont évolué de manière satisfaisante et sont désormais arrivées à leur terme.

Les résultats de cette petite série confirment l'intérêt de la technique, certes lourde et onéreuse, mais qui permet d'éviter le recours au sperme de donneur pour des patients dont la stérilité était encore jugée, il y a quelques années, définitivement incurable.

La congélation des spermatozoïdes prélevés et surtout les méthodes de micro-injection amèneront probablement encore une amélioration des taux de succès.

•••

Facteurs influençant le taux de fécondation en micro-injection intra-cytoplasmique

P. VANDERZWALMEN, B. LEJEUNE, M. NIJS,
G. BERTIN, R. SCHOYSMAN

*Schoysman Infertility Management Foundation,
Vaartstraat 42, 1800 Vilvoorde*

Depuis avril 1993, les infertilités masculines sévères (moins de 600.000 spermatozoïdes mobiles par éjaculat) et les azoospermies sécrétoires par obstruction ou agénésie déférentielle sont traitées par Micro-Injection Intracytoplasmique d'un seul spermatozoïde Intra-Cytoplasmic Sperm Injection : ICSI).

219 ICSI ont été pratiqués durant ces 15 mois, 164 pour oligoasthénospermie majeure, 30 pour échec antérieur de fécondation et 25 avec des spermatozoïdes prélevés dans l'épididyme (MESA) ou dans le testicule.

Les résultats sont les suivants:

	OAT	Echecs de fécond.	Epid. ou testiculaire
Prél. d'ovocytes	164	30	25
Ovocytes	1115	224	186
2 PN (%)	683 (61)	114 (51)	87 (47)
Transferts	159 (97)	29 (97)	24 (96)
Grossesses	50 (30)	8 (27)	6 (24)
G. évolutives	43 (26)	7 (23)	5 (20)

Le taux moyen de fécondation (58%) varie nettement avec l'expérience et avec les paramètres techniques tels que la taille des micropipettes, l'aspiration du cytoplasme et l'immobilisation du spermatozoïde. Il est ainsi passé de 15% en avril 93 à 76% en août 94.

Le taux de grossesses évolutives a progressé parallèlement de 19% pour les 100 premières tentatives à 30 % pour les 119 suivantes.

•••

ENDOCRINOLOGIE

Comparaison de deux techniques de dosage de la LH (RIA et IRMA) entre un groupe de patients oligospermiques et un groupe témoin

A. GUIVARC'H-LEVEQUE*, D. LE LANNOU*,
C. MASSART**, P. POULAIN*

* Département de Gynécologie Obstétrique et
Médecine de la Reproduction Pr. Giraud Hôtel-
Dieu 2, rue de l'Hôtel-Dieu 35033 Rennes Cedex ;

** Laboratoire d'Immuno-Enzymologie
Ponchaillennes

Certaines formes d'oligospermies sévères lorsqu'elles ne sont pas à l'évidence d'origine testiculaire, posent un problème étiologique. En testant deux techniques de dosage, dépistant des isoformes différentes de LH, nous évoquons l'hypothèse d'un trouble de la sécrétion des gonadotrophines à l'origine de certaines infertilités masculines.

Nous avons comparé un groupe de 10 patients présentant une oligospermie < 5 millions ayant une FSH (RIA) et un volume testiculaire normaux à un groupe de 8 témoins fertiles.

Nous avons réalisé 3 dosages à 8h, 10h, 12h de testostérone, de FSH (RIA), de LH (RIA et IRMA).

Nous observons une valeur moyenne de testostérone de $5952,2 \pm 1114,2$ pg/ml chez les patients et $7485,3 \pm 2592$ pg/ml chez les témoins. La différence est non significative probablement à cause de la faiblesse de l'échantillon et l'importance de l'écart type.

Les FSH (RIA) sont comparables : $1,56 \pm 0,49$ ng/ml pour les patients versus $1,86 \pm 1,2$ ng/ml pour les témoins.

La LH RIA : $1,37 \pm 0,5$ ng/ml patients versus $1,66 \pm 0,5$ ng/ml témoins, la LH IRMA $0,91 \pm 0,3$ mUI/ml patients versus $1,52 \pm 0,7$ mUI/ml témoins, la différence est significative $p < 0,05$.

Par ailleurs la corrélation entre les deux dosages de LH est très bonne pour les témoins $r = 0,80$ et inexistante pour les patients.

L'échantillon est faible, néanmoins la testostérone est plus basse, la LH IRMA est significativement abaissée dans le groupe des patients.

Si l'on admet comme certains le pensent que le dosage IRMA est un bon reflet de l'activité biologique de l'hormone, nous évoquons l'hypothèse d'une anomalie de la sécrétion des gonadotrophines dans certaines formes d'oligospermies dites "à gonadotrophines normales". Nous nous interrogeons sur la validité du dosage RIA des gonadotrophines chez l'homme infertile, cette étude nécessite bien sûr d'être complétée par un dosage FSH IRMA et poursuivie sur une plus large population.

•••

Mise en évidence d'un facteur inhibant la stéroïdogénèse leydigienne dans le milieu conditionné de cellules de Sertoli :

Arguments en faveur d'un peptide de type AVP

C. FILLION, A. TAHRI-JOUTEI, G. POINTIS, N. TAIB,
J.N. HUGUES

Laboratoire d'Endocrinologie et Biologie de la
Reproduction ; UFR Santé Médecine Biologie
Humaine 93012 Bobigny

1. Introduction

Il est admis aujourd'hui qu'en plus des gonadotrophines, des facteurs produits au sein même du testicule sont capables de réguler la stéroïdogénèse et la spermatogénèse. Il a ainsi été montré que les milieux conditionnés de tubes séminifères ou de cellules de Sertoli contiennent des facteurs qui modulent la sécrétion de testostérone par des cellules de Leydig en culture. L'identité de ces facteurs n'est pas clairement établie à ce jour. Aux vues de nos précédents travaux, il apparaît qu'un peptide de type AVP pourrait être un de ces facteurs. En effet, nous avons montré par des études in vitro que l'AVP, via un récepteur spécifique de type V1, inhibe la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig. De plus, nous avons mis en évidence par immunohistochimie la présence d'un peptide de type AVP dans les cellules de Sertoli. Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons recherché l'effet de milieux conditionnés de cellules de Sertoli sur la production de testostérone par des cellules de Leydig en culture, puis nous avons comparé cet effet à celui de l'AVP.

2. Matériel et méthodes

- Isolement des cellules de Sertoli et de Leydig à partir de testicules de souris immatures.

- Culture des cellules de Leydig en présence soit de milieu conditionné de cellules de Sertoli (SCM), soit d'AVP de synthèse. Dans certains cas, adjonction d'un antagoniste du récepteur V1.
- Dosages radioimmunologiques de la testostérone produite par les cellules de Leydig en culture.

3. Résultats et discussion

Nos résultats indiquent que le SCM, comme l'AVP, inhibe de façon dose dépendante la production de testostérone stimulée par hCG par des cellules de Leydig en culture. Dans les deux cas, cet effet n'est observé qu'après 72h de traitement. De même que pour l'AVP, le site d'action serait localisé en aval du complexe récepteur-adénylate cyclase puisque l'inhibition a lieu même en présence de 8-bromo-AMPC, un analogue de l'AMPC. Le SCM semble contenir un facteur de type AVP car d'une part les effets d'une dose maximale d'AVP et de SCM ne sont pas additifs et d'autre part l'inhibition de la production de testostérone induite par le SCM peut être en partie réversée par l'adjonction dans le SCM d'un antagoniste du récepteur V1 de l'AVP. L'ensemble de ces résultats suggère que les cellules de Sertoli sécrètent un facteur de type AVP biologiquement actif sur la fonction leydigienne.

•••

Tumeurs testiculaires à cellules de Leydig : Neuf observations

B. BAUDUCEAU, H. MAYAUDON, M. DUCORPS,
C. HELIE, J.P. RIVELINE, A. PUJOL, J. ANDRÉ

*Service d'Endocrinologie HIA Bégin, 94160
Saint-Mandé France*

Représentant 2 à 3 % de l'ensemble des tumeurs testiculaires, les leydigiomes sont fréquemment révélés par l'apparition d'une gynécomastie comme en témoignent les observations suivantes.

1. Observations

Ces neuf observations de leydigiomes (âge : 30 ± 10 ans) ont été recueillies au sein d'une cohorte de 750 sujets explorés pour gynécomastie. Cette dernière était bilatérale dans les 2/3 des cas, de volume modéré et était apparue depuis un mois

à dix ans. Exception faite de la 1ère observation, l'examen clinique, même orienté, ne retrouvait pas de syndrome tumoral testiculaire.

L'exploration hormonale se révélait souvent normale dans les 8 cas où elle avait pu être menée. En effet l'élévation de l'Estradiol n'était retrouvée que chez 4 patients et la testostéronémie n'était franchement abaissée que dans la moitié des cas, si bien que le rapport Testostérone sur Estradiol n'était évocateur de l'affection (< 85) que 3 fois sur 8. Le taux des gonadotrophines était abaissé dans la moitié des cas et celui de la prolactinémie modérément élevé. Le test à l'HCG apprécié par le dosage de l'Estradiol et de la testostérone avant puis les 3 jours suivant une injection de 5000 unités d'HCG, ne montrait une riposte explosive que chez 2 des 6 malades chez lesquels il avait pu être réalisé. En définitive l'exploration hormonale n'apportait des arguments en faveur du diagnostic que dans 50% des cas.

Contrastant avec les insuffisances des données biologiques, l'échographie testiculaire était constamment démonstrative, visualisant la présence d'une tumeur arrondie et hypoéchogène dont la taille se situait aux alentours de 10 mm. Dans une observation la tumeur testiculaire se révélait bilatérale.

Exception faite de ce dernier cas, une castration unilatérale était réalisée chez tous les malades, permettant de confirmer le diagnostic et d'assurer la guérison. Aucune récurrence contralatérale n'était observée et la gynécomastie regressait progressivement en quelques mois dans la majorité des cas.

Les dosages hormonaux post-opératoires montraient une diminution de la prolactinémie et de l'Estradiolémie tandis qu'était observée une élévation de la testostéronémie et des gonadotrophines.

2. Commentaires

Révélaient chez l'enfant par des stigmates de virilisme précoces et de pseudo-puberté isosexuelle, les tumeurs à cellules de Leydig se manifestent le plus souvent chez l'adulte par des signes de féminisation. Contrairement aux tumeurs germinales. Les leydigiomes sont le plus souvent de très petit volume si bien que l'examen clinique, même méticuleux, peut parfaitement les méconnaître.

Si l'exploration biologique objective typiquement une élévation des oestrogènes urinaires, de l'estradiol et une diminution de la testostérone plas-

matique, ces modifications sont en réalité inconstantes ou discrètes. Les taux des gonadotrophines sont variables et le spermogramme montre le plus souvent une oligo ou une azoospermie. La réalisation d'un test à l'HCG a été proposé pour sensibiliser les dosages statiques mais les résultats de cette série s'inscrivent contre sa parfaite fiabilité puisqu'il aurait méconnu 4 leydiomes sur 6.

L'échographie testiculaire permet au contraire d'intercepter des tumeurs encore infra-cliniques pour lesquelles la biologie n'emporte pas la conviction. L'aspect échotomographique se caractérise par l'existence d'une formation hypoéchogène bien limitée, de petite taille, d'échostructure homogène, ne déformant pas les contours du testicule.

Bénignes dans 85% des cas, ces tumeurs à cellules de Leydig nécessitent cependant une orchidectomie unilatérale autorisant la régression progressive des signes de féminisation.

3. Conclusion

Fréquemment révélées par l'installation d'une gynécomastie, les tumeurs à cellules de Leydig ne doivent pas être méconnues en raison de leur retentissement sur la virilisation et le risque de leur malignité. Il s'avère donc indispensable de réaliser une échotomographie testiculaire devant toute gynécomastie.

•••

Hyperprolactinémie liée à un excès de prolactine de haut poids moléculaire

C. LEMAIRE, A. LEMAIRE, D. DEWAILLY, P. FOSSATI

*Service d'Endocrinologie USNA 59037 Lille
Cedex France ; Centre EPARP, 47-49, rue de la
Bassée 59000 Lille France*

L'hyperprolactinémie (HPRL) peut être responsable de dysfonction sexuelle. Devant une impuissance érectile, on estime sa fréquence à moins de 1%, mais ceci est probablement surévalué. Trois formes moléculaires de prolactine (PRL) sont observées dans le sérum après gel filtration : la little, Big et Ris Big PRL de haut poids moléculaire (HPM), supérieur à 100 Kda. La plus grande fraction de PRL présente chez le sujet normal ou chez le patient avec hyper-PRL est la "little" PRL, biologiquement active.

Depuis quelques années, un excès de prolactine de haut poids moléculaire (PRL-HPM) a été identifié (principalement chez les femmes) dans des situations d'hyper-PRL asymptomatiques : l'absence de symptomatologie a été attribuée à la faible activité biologique de PRL-HPM. Cette situation n'apparaît pas pathologique et ne requiert pas de traitement spécifique.

Nous rapportons 5 cas d'hyper-PRL avec excès de PRL-HPM chez l'homme. L'âge moyen des patients était de 24 ± 18 ans (valeurs extrêmes : 15 - 58 ans). Le motif de consultation initial était une impuissance ($n = 2$ dont un homme, père de 14 enfants), une puberté retardée ($n = 3$). Après le bilan clinique initial, une simple surveillance fut effectuée ; les deux patients, se plaignant de troubles érectiles, constatèrent une restauration spontanée de leur fonction sexuelle avec "normalisation de la libido". Parmi les trois derniers cas, on notait un déroulement normal et spontané de la puberté et une vie sexuelle jugée satisfaisante par les patients. Les explorations endocriniennes et notamment androgéniques étaient normales dans tous les cas, en dehors de l'HPRL. La PRL moyenne était de 57 ± 30 ng/ml (valeurs extrêmes : 23 - 86), $n < 20$ ng/ml (IRMA). Les explorations morphologiques (scanner ou résonance magnétique nucléaire) étaient normales en dehors d'un cas avec selle turcique vide. En raison de la discordance entre les données cliniques et biologiques, une chromatographie sur gel sephacryl fut effectuée. Un excès de PRL-HPM fut mis en évidence dans tous les cas avec en moyenne $67 \pm 21\%$ (valeurs extrêmes : 44 - 95), le pourcentage respectif pour les sujets témoins étant $> 80\%$ pour la "little" PRL et $< 10\%$ pour PRL-HPM.

Discussion

En cas de discordance entre H-PRL et les données cliniques (H-PRL asymptomatique et absence de retentissement endocrinien), une analyse chromatographique doit être effectuée afin de rechercher une HPRL avec excès de PRL de haut poids moléculaire.

•••

ERECTION

Mesure de l'érection chez le rat par télémétrie

F. GIULIANO*, J. BERNABE**, O. RAMPIN**,
G. BENOIT*, A. JARDIN*

* *Laboratoire de Chirurgie Expérimentale et Service d'Urologie, C.H. U. de Bicêtre, Université Paris-Sud, 78, Avenue du Gl Leclerc, 94275 Le Kremlin Bicêtre* ; ** *Laboratoire de Neurobiologie Végétative, I.N.R.A. 78352 Jouy-en-Josas Cedex.*

1. Introduction

L'érection est un phénomène complexe dont la commande neurohumorale à l'étage encéphalique demeure très mal connue. La physiologie de l'érection a été explorée à l'aide de modèles comportementaux chez l'animal éveillé ne permettant qu'une appréciation qualitative de la fonction érectile, et chez l'animal anesthésié lors de stimulations nerveuses périphériques dans des conditions expérimentales éloignées des situations physiologiques. Afin de permettre la mesure exacte de la fonction érectile au cours de situations physiologiques, nous avons développé un modèle d'enregistrement par télémétrie de la pression dans les corps érectiles (pression intracaverneuse et pression intraspongieuse) chez le rat éveillé libre de ses mouvements.

2. Matériel et méthodes

Chez 19 rats mâles adultes un cathéter était implanté chirurgicalement sous anesthésie dans le corps caverneux ou dans le bulbe spongieux. Ce cathéter était relié à un transducteur de pression lui-même couplé à un émetteur. Cet ensemble miniaturisé était placé en sous-cutané. Les signaux de pression transmis par télémétrie étaient recueillis par une antenne placée sous la cage d'observation, et enregistrés sur ordinateur. Les pressions intracaverneuse ou intraspongieuse étaient mesurées, lors de coït avec une femelle réceptive selon un protocole standardisé, lors de stimulations tactiles du prépuce (modèle d'érection réflexe proposé par B. HART en 1968) et au cours de périodes de 24 heures, le rat étant seul dans la cage.

3. Résultats

Les rats équipés du capteur de pression présentaient le même comportement sexuel en présence d'une femelle réceptive que des rats témoins. La pression intracaverneuse à l'état flaccide était d'environ 20 mm Hg. Des augmentations suprasystoliques de pression intracaverneuse étaient enregistrées pendant les montes (456 ± 49 mm Hg), les intromissions (671 ± 166 mm Hg) et les éjaculations (739 ± 74 mm Hg). Dans le corps spongieux, des augmentations suprasystoliques étaient mesurées lors des intromissions (862 ± 86 mm Hg) et des éjaculations (2593 ± 150 mm Hg).

Pendant les séquences d'érections réflexes, des augmentations de pression intracaverneuse de 67 ± 15 mm Hg, 99 ± 23 mm Hg et 215 ± 50 mm Hg accompagnaient respectivement les érections du gland, les "cups" (érections intenses du gland) et les "flips" (dorsiflexions importantes du gland).

Des augmentations spontanées de pression intracaverneuse étaient enregistrées sous la forme de 10 à 15 épisodes par 12 heures. Chaque épisode consistait en une augmentation en plateau de la pression intracaverneuse de 131 ± 10 mm Hg pendant laquelle survenaient des pics suprasystoliques d'une amplitude de 158 à 752 mm Hg.

4. Discussion

Nos résultats montrent la fiabilité de la mesure des pressions intracaverneuse ou intraspongieuse par télémétrie. Ils mettent en évidence la présence de pressions suprasystoliques dans le pénis pendant les érections in copula et ex copula. Les érections spontanées correspondent vraisemblablement aux phases de sommeil paradoxal de l'animal. Les amplitudes et les durées différentes des pics de pression pénienne selon les conditions d'apparition de l'érection suggèrent que les mécanismes nerveux commandant ces réponses sont différents. Ce nouveau modèle doit permettre d'une part le développement d'une recherche pharmacologique visant à proposer un traitement per os des troubles de l'érection et d'autre part une approche physiologique intégrée de la fonction érectile.

•••

Présentation d'un nouveau rigidimètre pénien informatisé

D. DELAVIERRE, M. PENEAU, H. IBRAHIM

Service d'Urologie-Andrologie CHR d'Orléans

1. Introduction

Nous présentons un nouveau rigidimètre pénien informatisé de fabrication française (Erectosomnologue*) utilisant le brassard de rigidité de Lavoisier.

2. Matériel et méthodes

En 17 mois d'utilisation nous avons effectué 172 enregistrements, 118 nocturnes et 54 au cours d'injections intra-caverneuses (IIC), chez 55 patients. Les enregistrements au cours des IIC nous ont permis de préciser les valeurs correspondant à une rigidité normale facilitant ainsi l'interprétation des courbes nocturnes.

3. Résultats

Au cours de cette expérience préliminaire nous avons apprécié les avantages suivants :

- Rapidité de programmation et d'analyse des résultats,
- Mesure de la rigidité de façon continue permettant de détecter les érections de courte durée et les pics de surpression liés à la contraction des muscles périméaux,
- Calcul et affichage automatiques des paramètres
- Enregistrement (dans la version complète de l'appareil) de certains signaux neurophysiologiques permettant d'apprécier la qualité du sommeil et la présence de périodes de sommeil paradoxal.

Le principal inconvénient du système est l'impossibilité d'explorer en ambulatoire en raison de la connexion permanente entre le boîtier de liaison et le système informatique.

Nous avons également rencontré les problèmes suivants: glissement du brassard en dehors de la verge chez 1 patient, gêne ou douleurs de la verge en érection liées à la présence du brassard chez 2 patients, détachement du brassard au cours d'une érection chez 1 patient.

•••

Intérêt de la rigidimétrie nocturne informatisée dans le bilan d'une insuffisance érectile : A propos de 50 patients

D. DELAVIERRE, M. PENEAU, H. IBRAHIM

Service d'Urologie-Andrologie CHR d'Orléans

1. Matériel et méthodes

Nous avons effectué, à l'aide d'un rigidimètre informatisé, 2 ou 3 nuits d'enregistrement des érections chez 50 patients présentant une insuffisance érectile (ins. érect.) et nous avons cherché à corréler l'impression clinique laissée par l'interrogatoire et l'examen lors de la 1ère consultation et les résultats de l'exploration.

2. Résultats

- 7 patients décrivaient des érections normales dans certaines circonstances et le diagnostic d'ins. érect. psychologique était donc connu : la rigidimétrie s'est révélée normale chez 5 patients et n'a eu pour intérêt que d'apporter un argument scientifique objectif ;
- Chez 11 patients l'impression était en faveur d'une ins. érect. psychologique sans certitude (jamais d'érections normales) : la rigidimétrie s'est révélée normale chez 6 d'entre eux (55%), confirmant ainsi le diagnostic suspecté.
- Chez 23 patients l'impression était imprécise : la rigidimétrie s'est révélée normale chez 5 d'entre eux (22%), permettant ainsi le diagnostic d'ins.érect. psychologique.
- Chez 9 patients le diagnostic d'ins. érect. organique était quasiment certain (après chirurgie pelvienne par exemple) : la rigidimétrie n'a jamais été normale et n'a eu aucun intérêt.

3. Conclusion

La rigidimétrie nocturne était en théorie intéressante chez les 34 patients dont l'interrogatoire et l'examen initiaux ne permettaient pas un diagnostic précis mais en pratique elle n'a permis le diagnostic d'ins.érect. psychologique que chez 11 d'entre eux (32%) sans pouvoir l'éliminer chez les autres. Si l'intérêt de cet examen n'a donc pas été négligeable (puisque un bilan plus complet a été évité chez ces 11 patients) il reste néanmoins limité d'autant qu'il faut admettre des problèmes techniques et des difficultés dans l'interprétation des enregistrements en l'absence de normes bien définies.

•••

Injections intracaverneuses sous contrôle rigidimétrique. Application à l'étude des érections nocturnes

D. DELAVIERRE, M. PENEAU, H. IBRAHIM

Service d'Urologie-Andrologie CHR d'Orléans

Intérêt des explorations cardio-respiratoires associées à un enregistrement pléthysmographique des érections nocturnes

A. LEMAIRE, J. BUVAT, G. MARCOLIN,
M. BUVAT-HERBAUT

Association EPARP, 47-49, rue de la Bassée
59000 Lille

1. Introduction, matériel et méthodes

L'interprétation d'une rigidimétrie informatisée nocturne dans le bilan d'une insuffisance érectile (ins.érect.) est difficile car la littérature est pauvre en enregistrements chez des patients normaux ou au cours d'injections intracaverneuses (IIC).

Afin de faciliter l'interprétation de nos enregistrements nocturnes, nous avons effectué 54 IIC d'une drogue vaso-active chez 39 patients présentant une ins. érect. sous contrôle rigidimétrique. Notre appareil est l'érectosomnographe* qui exprime les paliers de rigidité en mm de Hg.

2. Résultats et conclusion

A un plateau inférieur à 35 mm Hg (32 ICC) correspond dans 97% des cas une réponse clinique insuffisante pour permettre une pénétration.

A un plateau compris entre 35 et 45 mm Hg (5 IIC) correspond dans 40 % des cas une rigidité suffisante pour permettre une pénétration.

Enfin, à un plateau supérieur à 45 mm de Hg (17 IIC) correspond dans 82 % des cas une rigidité suffisante pour permettre une pénétration. En fixant une limite de pression plus élevée il est possible d'améliorer ce pourcentage mais la sensibilité de l'examen diminue alors considérablement. Nous avons donc considéré, pour interpréter nos courbes nocturnes, qu'un palier supérieur à 45 mm Hg correspondait à une rigidité normale avec un risque d'erreur dans 20 % des cas environ, ce qui est important.

Cette conclusion ne remet pas en cause l'érectosomnographe* mais la rigidimétrie nocturne elle-même car des résultats identiques ont récemment été publiés avec le Rigiscan* [1]. L'interprétation d'une rigidimétrie nocturne, dont on sait déjà qu'elle n'a aucune valeur quand elle est négative, doit donc être prudente ce qui est un élément défavorable quant à la validité de cette exploration.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN J.UROL. 1993, 7, 149, 1265-1268.

•••

Nous avons actuellement la possibilité d'explorer durant le sommeil diverses pathologies notamment le syndrome d'apnée du sommeil (SAS). Sa relation avec l'hypogonadisme est bien connue. En revanche, son association avec les troubles érectiles a été peu explorée. Afin de définir cette situation, nous avons associé à la pléthysmographie des érections nocturnes, l'enregistrement des modifications cardio-respiratoires durant le sommeil.

1. Matériel et méthodes

L'enregistrement des érections nocturnes a été effectué au moyen du Rigiscan. Les paramètres cardio-respiratoires étaient étudiés par le système informatisé IMS 200 - Cardas.

Nous avons retenu les paramètres suivants :

- saturation en O₂ (SaO₂),
- nombre et durée des apnées,
- fréquence cardiaque et ses variations (Δ PR = différence entre fréquence maximum et fréquence minimum)

38 patients, âgés de 37 à 65 ans, ont été explorés. Ils étaient répartis en deux groupes selon que la pléthysmographie était normale (Groupe I) ou montrait des anomalies modérées ou sévères (groupe II).

2. Résultats

16 patients avaient une pléthysmographie normale (Groupe I). Parmi ceux-ci, aucune apnée n'a été enregistrée durant le sommeil. SaO₂ minimum moyenne était de 90,5% \pm 2,27.

Δ PR était de 59,06 \pm 13,3. Le taux moyen de testostérone plasmatique est de 6,93 ng/ml \pm 3,02.

22 patients avaient des anomalies pléthysmographiques (groupe II). 15 patients dont 4 cliniquement avaient un SAS, eurent une SaO₂ inférieure à 85% au moins à une reprise. SaO₂ minimum moyenne était de 84,56% \pm 15,9, significativement plus basse que dans le groupe I ($t = 3,8436$

** p < 01). Δ PR était de $75 \pm 13,38$ significativement plus élevé que dans le groupe I (t = 3,5299** p < 01). Dans le groupe II, 7 patients avaient donc une SaO₂ normale.

Leur Δ PR était comparable aux 15 autres patients. La testostérone plasmatique moyenne de l'ensemble des patients du groupe II était de $5,39 \text{ ng/ml} \pm 1,92$ (NS versus groupe I).

Les 4 patients avec un SAS clinique bénéficièrent d'un système d'aide respiratoire par pression positive continue. Trois d'entre eux décrivent une amélioration significative de leur fonction sexuelle après 6 à 9 mois de ce traitement continu.

3. Discussion

Quelle qu'en soit l'origine, le SAS a été considéré par certains comme artefact dans l'enregistrement pléthysmographique. Le mécanisme intrinsèque de ces anomalies reste entièrement mystérieux. Aucune lésion du système nerveux central n'a été démontrée à ce jour.

Il a été observé une augmentation dans le liquide cérébral d'acide 5 hydroxyindolacétique, un métabolite de la sérotonine. Ceci est plus vraisemblablement la conséquence d'une privation de sommeil que la mise en évidence d'une anomalie d'un neurotransmetteur. Les modifications du rythme cardiaque observées parmi les patients avec une pléthysmographie anormale peuvent faire évoquer une anomalie du système nerveux végétatif.

4. Conclusion

La fréquence plus importante des SAS chez les hommes impuissants avec une pléthysmographie anormale et l'amélioration significative des trois patients sur quatre avec un appareil à pression positive continue peut suggérer une relation de cause à effet. Il apparaît ainsi nécessaire d'associer à l'enregistrement pléthysmographique, des investigations cardio-respiratoires spécialement quand la pléthysmographie est anormale. La découverte d'anomalies cardio-respiratoires ne peut pas être considérée comme un simple artefact. Elle peut conduire à des traitements spécifiques qui sont susceptibles d'améliorer la fonction sexuelle.

•••

Activité électrique caverneuse : Comparaison des enregistrements obtenus en pré- et post-opératoire avec le space chez des patients programmés pour une prothèse pénienne

M. SCHOUMAN, P. LACROIX

*Centre d'Urologie et d'Andrologie 164, Avenue
Charles de Gaulle 92200 Neuilly*

De nombreux travaux ont discuté la possibilité d'enregistrer une activité électrique caverneuse. Certains ont affirmé qu'il s'agissait d'une activité des fibres musculaires lisses caverneuses, quand d'autres concluaient à des artefacts ou à des réponses cutanées sympathiques.

Cette étude présente les résultats de l'enregistrement de l'activité électrique caverneuse réalisée chez 20 patients dont 10 ont subi l'enregistrement avant et après la pose d'une prothèse pénienne.

1. Matériel et méthodes

20 patients parmi lesquels 10 présentaient une impuissance psychogène et les 10 autres étaient programmés pour une prothèse pénienne, à l'exclusion des causes neurogènes.

Les enregistrements ont été réalisés avec un Electro-myographe SPACE 7500 WIEEST avec des électrodes de surface 13 L20 pendant 15 minutes après un repos de 20 minutes. Des stimulations sonores sont provoquées au cours de l'enregistrement.

Les enregistrements ont été réalisés simultanément sur la verge et la paume de la main avant et après implantation d'une prothèse pénienne, puis comparés à ceux obtenus sur un groupe contrôlé.

2. Résultats

- Aucune différence significative n'est apparue entre l'activité électrique enregistrée avant et après l'implantation de la prothèse pénienne, ni avec celle enregistrée chez les patients du groupe témoin.
- Les potentiels électriques enregistrés apparaissent simultanément sur la paume de la main et sur le pénis, qu'ils soient spontanés ou provoqués par la stimulation sonore.

3. Conclusion

De ces résultats, nous pouvons conclure que l'activité électrique enregistrée par cette méthode n'évalue pas le muscle lisse caverneux mais les potentiels évoqués cutanés sympathiques dus à la stimulation des glandes sudoripares. De ce fait, l'abolition de ces potentiels suggère plus une altération du système nerveux autonome qu'une dysfonction ou une dégénérescence du muscle lisse caverneux.

•••

TRAITEMENT DE L'IMPUISSANCE

Comparaison de 2 substances vasoactives de seconde génération utilisées pour les injections intracaverneuses, le moxisylyte et la prostaglandine E1

J. BUVAT, A. LEMAIRE, G. MARCOLIN,
M. BUVAT-HERBAUT

Association pour l'Etude de la Pathologie de l'Appareil Reproducteur et de la Psychosomatique (EPARP) 49, rue de la Bassée 59000 Lille

Cette étude rétrospective compare les 2 premières substances proposées pour réduire les taux élevés d'érections prolongées et de fibrose après papavérine.

1. Matériel et méthodes

Les sujets sont les 130 premiers impuissants inclus dans notre programme d'auto-injections de Moxisylyte (Mox) (de 06/1985 à 12/1993) et les 130 premiers inclus dans notre programme d'auto-injections de prostaglandine E1 (PGE1) (de 10/1989 à 10/1993). Les 2 populations ont le même âge moyen mais il y avait un peu plus de cas psychogènes et moins d'organiques dans la population Mox (respectivement 55 et 24% contre 40 et 33% dans la population PGE1).

2. Résultats

Les sujets Mox ont fait 7350 injections en 1931 mois (3.81mois) et les sujets PGE 1 9500 en 1902 mois (51mois). Les tableaux ci-dessous précisent les taux d'efficacité, de tolérance, et de poursuite du traitement (Tableaux 1, 2 et 3 page suivante).

3. Conclusions

La PGE1 est manifestement plus puissante que le Mox chez les sujets psychogènes et plus encore chez les organiques. Par contre le Mox fait courir moins de risques d'érection prolongée et induit moins de douleurs. Les deux substances n'induisent qu'un faible taux de fibrose. En dépit de sa meilleure tolérance, la fréquence d'utilisation et le taux de poursuite du Mox sont plus faibles que les taux correspondants de la PGE1. Le Mox est surtout indiqué chez les sujets hypersensibles aux injections intracaverneuses, et dans les quelques cas chez qui la PGE1 doit être abandonnée ; du fait qu'elle induit une douleur qui ne disparaît pas avec la poursuite des injections.

•••

Tableau 1 : Efficacité (guéris : rapports normaux après arrêt des injections).

Subst.	Nb pat.	bonne	Médiocre			% des cas avec bonne efficacité			
			moyenne	ou nulle	guéris	psychog.	arter.	neuro.	veineux
Mox.	130	65 50%	24 18%	41 32%	15 11,5%	36/69 56%	11/24 46%	10/14 71%	0/5 0%
PGE 1	130	92 71%	16 12%	22 17%	12 9,2%	42/53 79%	26/27 96%	10/12 83%	4/13 31%

Tableau 2 : Tolérance (Nb de cas avec complication correspondante).

Subs.	érect. prolongées (nb de cas)			doul. locale	doul. diffuse	Fibrose	tachy. phyllaxie	éjac. bloquée
	> 2 h	> 6 h	traitées					
Mox.	1 0,7%	0	0	1 0,7%	0	2 1,5%	18 14%	5 3,8%
PGE 1	11 8,4%	2 1,5%	1 0,7%	6 4,6%	6 4,6%	3 2,3%	17 13%	1 0,7%

Tableau 3 : Taux de poursuite (entre parenth. : après des échecs précoces et des cas guéris).

Subs.	en cours	changt subst.	encore en auto-injections au mois :								
			6	12	18	24	36	48	60	72	84
Mox	25 19%	31 24%	64% (90%)	45% (66%)	29% (43%)	25% (36%)	14% (21%)	12% (19%)	12% (19%)	12% (19%)	9% (15%)
PGE 1	60 46%	8 6%	87% (93%)	74% (85%)	55% (67%)	48% (58%)	37% (43%)				

Les injections intracaverneuses d'un mélange papavérine, phentolamine et prostaglandine E1 sont efficaces et bien tolérées chez 50% des impuissants résistants à la seule PGE1

J. BUVAT, G. MARCOLIN, M. BUVAT-HERBAUT,
A. LEMAIRE

Association pour l'Etude de la Pathologie de l'Appareil Reproducteur et de la Psychosomatique (EPARP) 49, rue de la Bassée 59000 Lille

Les mélanges associant papavérine, phentolamine et prostaglandine E1 (PGE1) sont de plus en plus utilisés pour les injections intracaverneuses. Puisqu'ils peuvent théoriquement être

efficaces chez les sujets résistants à la PGE1 ou à la papavérine seule, de plus en plus de spécialistes les utilisent d'emblée. Cependant leur plus grande puissance expose à un risque accru de priapisme, tandis que leur contenu en papavérine pourrait aussi exposer à la fibrose. Dans notre centre, nous avons donc décidé de limiter l'usage de ces associations triples aux sujets résistants à la seule PGE 1. Dans cette étude, nous rapportons les résultats obtenus pendant un an chez ce type de patients.

1. Sujets et méthodes

Une injection intracaverneuse test d'une association triple (papavérine 8 mg, phentolamine 0.2 mg et PGE1 10 µml) a été proposée aux sujets traités par auto-injections intracaverneuses, ou candidats à ce traitement, dont la réponse à des

doses élevées de PGE1 (20 ou le plus souvent 40 µg) était insuffisante pour un rapport satisfaisant. De Janvier à Décembre 1993, 36 hommes ont été testés avec 1 ml, et en cas de réponse insuffisante, 2 ml. Nous avons proposé aux sujets qui répondaient bien un essai d'auto injections. La solution a été gardée à 4° C du fait des problèmes de stabilité de la PGE1 à température plus élevée.

2. Résultats

36 sujets ont été testés durant l'année. Chez 16, l'association ne fut pas plus efficace que la seule PGE1, mais chez 20 (55%), elle induisit une rigidité complète ou presque. Il ne fut pas observé d'érection prolongée (> 3h) pendant ces tests. 17 sujets acceptèrent d'essayer les auto-injections. Chez 12 la PGE1 avait échoué d'emblée (groupe A), tandis que chez 5 elle était devenue insatisfaisante après 3 mois à 6 ans d'efficacité initiale (groupe B). 6 des 12 sujets du groupe A, mais aucun de ceux du groupe B, étaient principalement psychogènes (dont 3 impuissances primaires). Les principaux facteurs organiques impliqués chez les autres étaient artériel (n = 2), neurologique (n = 5) et veino-occlusif (n=3). Les 17 sujets firent 289 injections en 96 mois (en moyenne 3 par mois). Le dosage initial (1.53 ml) fut légèrement diminué après quelques injections (1.37 ml).

L'association s'avéra pleinement efficace (rigidité complète lors de > 75% des injections) chez 13 sujets (76%). Les résultats furent médiocres chez 2 et totalement insatisfaisants chez 2. Un sujet psychogène avec impuissance primaire fut définitivement guéri après avoir fait 8 injections en 3 mois. Les seuls effets indésirables dans cette série furent une érection prolongée qui cessa spontanément après 2h et demi et 1 cas d'éjaculation retardée après 1/3 des injections.

3. Conclusions

L'association triple testée dans cette étude fut donc capable de récupérer environ 50% des échecs des injections intracaverneuses avec la seule PGE1, et s'est montrée sans danger dans cette population particulière.

•••

Auto injections intracaverneuses d'alprostadil dans les troubles de l'érection : Etude prospective multicentrique durant 6 mois

F. GIULIANO, P. BLANCHET, H. BENSADOUN,
G. BENOIT, O. BANZET, A. JARDIN ET LE GROUPE
FRANÇAIS D'ETUDE DE L'ALPROSTADIL

*Service d'Urologie 78 Avenue du Gl Leclerc
94275 Le Kremlin Bicêtre*

1. Introduction

Les injections intra caverneuses représentent actuellement le premier traitement médicamenteux des dysfonctions érectiles. Après la découverte de l'efficacité de la papavérine administrée par voie intracaverneuse, l'intérêt de la prostaglandine E 1 a été largement démontré au cours d'injections intracaverneuses médicalisées. Cependant, malgré leur rapide diffusion, les résultats des autoinjections intracaverneuses à domicile (AIIC) demeurent mal connus.

2. Patients et méthodes

Nous rapportons une étude prospective multicentrique concernant les données d'efficacité, d'acceptabilité et de tolérance de l'alprostadil (PGE₁ Laboratoires Upjohn) recueillies pendant 6 mois chez 144 patients âgés de 24 à 72 ans (âge moyen 52 ± 10 ans) suivis mensuellement après une période d'apprentissage (2,4 séances en moyenne) et de recherche de la posologie optimale déterminée sur la capacité à induire une érection rigide lors d'IIC médicalisées. Un facteur psychogénique seul ou en association avec un facteur organique était retrouvé chez 71% des patients inclus dans cette étude.

3. Résultats

Le nombre mensuel moyen d'AIIC a-été de 5,5 à une dose moyenne de 18,6 mcg. Entre le premier et le sixième mois, la fréquence des érections complètes suivant l'AIIC est passée de 62 à 77% alors que les échecs diminuaient de 8 à 3%. Au sixième mois 40% des patients avaient abandonné le traitement, la plupart en raison d'une mauvaise acceptabilité de celui-ci et 2 patients étaient guéris (4,5%). 81% des patients ont qualifié les rapports permis par les AIIC de satisfaisants et 66% des partenaires étaient satisfaites aux dires des patients. L'évaluation de la tolérance révèle principalement une douleur chez 14% des patients, diminuant au cours du temps,

à l'origine d'un arrêt des AIIC chez 2 patients. Ni la dose d'alprostadil injectée, ni la durée de l'érection n'ont varié significativement au cours des 6 mois. Aucun priapisme n'a eu lieu. Deux indurations des corps caverneux ont été observées. Les autres effets indésirables ont été peu nombreux, essentiellement liés à des fautes techniques lors de l'injection, de fréquence décroissante au cours du temps.

4. Discussion

Ces résultats démontrent l'efficacité et la bonne tolérance des AIIC d'alprostadil. A 6 mois, la majorité des patients poursuit les AIIC, ce qui plaide en faveur d'une bonne acceptabilité de ce mode de traitement qui demeure cependant le plus souvent symptomatique quel que soit l'étiologie du trouble de l'érection.

•••

Suppression de la douleur induite par l'injection intracaverneuse de PGE1 grâce à une dilution dans de la Xylocaïne*

M. SCHOUMAN, P. LACROIX

*Centre d'Urologie et d'Andrologie 164,
Avenue Charles de Gaulle 92200 Neuilly*

Cette étude a pour but de montrer l'efficacité d'une dilution de la Prostaglandine E1 dans de la Xylocaïne pour supprimer la douleur induite par l'injection intra-caverneuse de cette drogue.

L'observance des auto-injections intracaverneuses de PGE1 est limitée par la douleur induite soit lors de l'injection, soit par l'érection douloureuse qui en résulte. Dans la littérature, la fréquence de cette douleur induite est rapportée de façon variable. Elle serait due à l'acidité de la solution (pH = 4,14). L'addition de bicarbonate de sodium, ramenant le pH à 7 supprimerait parfois cette douleur.

Cependant, pour 16 de nos patients, sur un groupe de 35 traités par une dilution de PGE1 dans le sérum bicarbonaté, la sensation douloureuse persistait.

Un autre groupe de 260 patients a été traité par des auto-injections d'une solution faite de 500 µg de PGE1 diluée dans 20 ml de Xylocaïne à 1% (pH = 6.7).

Dans ce groupe, on ne rapportait jamais de douleur à l'injection. Les érections douloureuses étaient présentes dans 6% des cas, observées surtout en cas de dysfonctionnement organique, plus particulièrement en cas d'atteinte vasculaire ou du muscle lisse caverneux.

•••

DIVERS

Intérêt de la biopsie testiculaire au cours du traitement micro-chirurgical de la varicocèle bilatérale

G. TRITTO*§, D. MORLIER*, C. CROZES* MARTIN°, E. ERDEI**, E. GARCIA°° G. ARVIS*

* Service d'Urologie - Andrologie Hôpital Tenon ; § Service d'Urologie Unité d'Andrologie Hôpital St Louis ; ° Service de Radiologie Hôpital St Antoine - Paris ; ** Urological Clinic Haynal Imre University of Health Science, Budapest Hongrie ; °° Divisione di Urologia Ospedale Gradenigo Torino Italie

L'utilisation de l'écho-doppler couleur et de la scintigraphie scrotale séquentielle dynamique associée à la tomo-scintigraphie scrotale permet la détection de varicocèles bilatérales en se basant sur des critères hémodynamiques précis [1].

Dans le même temps opératoire, l'exploration scrotale avec biopsies testiculaires bilatérales a été systématiquement réalisée juste avant la cure micro-chirurgicale de la varicocèle bilatérale, ceci pour permettre une classification et une stadification (classification histopathologique quantitative) [2].

Nous présentons ici 35 patients ayant été soumis à cette procédure. Les biopsies testiculaires ont été soumises à une évaluation selon le Computer Assisted Testicular Biopsy Multi-Level Data Base System [3]. Le protocole anatomo-chirurgical SINB (Sector-Incision-Number-Bleeding) a été appliqué et les échantillons microscopiques ont été étudiés selon trois paramètres, histopathologiques, cytologiques et par analyse fractale assistée par ordinateur.

Dans 6 cas, la biopsie testiculaire bilatérale a été pratiquée sur des quadrants homologues sur chacun des testicules. Dans 28 cas, la biopsie testiculaire a été faite au niveau de chaque testicule sur des quadrants opposés (supéro-externe, inféro-interne) [1]. Des index quantitatifs pour l'évaluation histo-pathologique sont obtenus et corrélés au degré clinique de la varicocèle bilatérale :

- le nombre moyen de spermatozoïdes par tubule (MNS) de chaque biopsie, est calculé par analyse quantitative.

- le nombre moyen de spermatozoïdes par tubules des biopsies faites dans les quadrants opposés (supéro-externe, inféro-interne) de chaque testicules (MNST), est pris comme index quantitatif de base de la production de spermatozoïdes par tubules de chaque testicule.

- la différence entre les MNST pour chacun des testicules (DMNS) est retenue comme étant l'index de base de variation interne de la production de spermatozoïdes par tubule des testicules. et rapportée au degré clinique de la varicocèle.

Le rapport entre chaque NMST et son DMNS correspondant permet de définir un index testiculaire (TI) caractéristique de chaque testicule avec sa varicocèle.

La différence entre les Index testiculaires de chacun des testicules pour un patient, permet de définir un Index Global caractéristique de chaque patient ayant une varicocèle bilatérale.

L'analyse assistée par ordinateur des index quantitatifs des différentes biopsies, permet de démontrer qu'il existe une corrélation histo-fonctionnelle du NMST et de la DMNS avec le degré clinique de la varicocèle.

La distribution des index globaux permet de séparer deux populations chez les porteurs de varicocèles bilatérales :

- la première est faite de patients pour lesquels une relation linéaire existe entre le degré clinique de la varicocèle bilatérale et les index histo-fonctionnels du testicule.
- la seconde population est faite de patients chez qui la relation entre le degré de la varicocèle et l'index histo-fonctionnel n'est pas linéaire, ce qui soutient l'hypothèse d'une dysrégulation des mécanismes hémodynamiques de contrôle du complexe testicule - cordon spermatique.

BIBLIOGRAPHIE

1. G. TRITTO : 4th Int. Meeting of Andrology, Como, June 1 6, 1992.
2. G. TRITTO : 80th Annual Meeting of New York Session AUA, Berlin. Oct 17-24, 1992.
3. G. TRITTO : Xth congress EUA. Genova, July 22-55, 1992.
4. G. TRITTO : Urology 1992. Monduzzi Ed. Bologna, 199 : 753-762.

•••

Modifications de la sexualité après chirurgie pour hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) : 10 ans de recul chez 95 patients

P. COEURDACIER, F. STAERMAN, B. CIPOLLA,
F. GUILLÉ, B. LOBEL

Service d'Urologie C.H.R.U. Rennes France

1. Introduction

68% des hommes de plus de 60 ans conservent une vie sexuelle, mais au moins 7% d'entre eux seront opérés avant 70 ans d'un adénome de prostate. 55 à 65000 hommes sont ainsi opérés pour HBP chaque année en France. L'objectif de cette étude est d'apprécier l'impact de la chirurgie pour HBP sur la sexualité, afin d'en mieux préciser les indications.

2. Matériel et méthodes

167 patients opérés pour HBP avant 1983 ont été suivis et revus avec un recul moyen de 10 ans. 95 patients (57%) avaient une activité sexuelle régulière avant l'intervention: 50 ont été opérés par résection transurétrale (RTUP) et 45 par adénomectomie transvésicale (ATV). La sexualité de ces 95 patients a été évaluée avant et après chirurgie lors d'un entretien en consultation et à l'aide d'un questionnaire remis à chacun.

3. Résultats

a) Après RTUP (50 patients) :

41 patients (82%) ont conservé leur activité sexuelle pendant 7,6 ans en moyenne (1-12 ans) ; 95% d'entre eux signalent des éjaculations rétrogrades (partielles ou totales). 48% de ces 41 patients sexuellement actifs après RTUP ont estimé que leur fonction sexuelle s'est détériorée suite à la chirurgie. Les motifs de plaintes sont: une dysérection (79% de ceux estimant leur sexualité altérée), un trouble de l'éjaculation (21%), une partenaire non demandeuse (21%), une baisse de la libido (12%), une modification de l'orgasme (4%). 54% de ceux dont la sexualité s'est détériorée ont avoué leur indifférence à cette nouvelle situation compte-tenu de leur âge.

b) Après ATV (45 patients) :

35 patients (78%) ont conservé leur activité sexuelle pendant 6,4 ans en moyenne (1-13 ans), mais 49% d'entre eux rapportent une dégrada-

tion de leur sexualité. Les motifs de plaintes sont : une dysérection (64%), une baisse de la libido (32%), une partenaire non demandeuse (14%), un trouble de l'éjaculation (18%), une modification de l'orgasme (18%).

54% de ceux dont la sexualité s'est détériorée déclarent également y être indifférents compte-tenu de leur âge.

4. Discussion - Conclusion

Le retentissement de la chirurgie pour HBP est conséquent : la moitié de nos patients rapportent une détérioration de leur sexualité ; l'arrêt définitif de la vie sexuelle a concerné 18 et 22% de nos patients, respectivement après RTUP et ATV. Les motivations du patient et de la partenaire souvent déjà ménopausée doivent être considérées avant l'intervention. Chez des patients conservant une activité sexuelle et souhaitant préserver leurs performances, les traitements non invasifs de l'HBP ont certainement un bel avenir.

•••

Induction d'une hyperthermie testiculaire modérée comme moyen efficace et réversible de contraception masculine

L. BUJAN, A. MANSAT, F. PONTONNIER, R. MIEUSSET

Centre de Stérilité Masculine et CECOS Midi-Pyrénées, Hôpital La Grave 31052 Toulouse Cedex France

1. Introduction

Notre groupe a antérieurement démontré les effets délétères sur la spermatogénèse, tant sur le plan quantitatif que qualitatif, de l'induction durant les heures d'éveil d'une hyperthermie testiculaire chez l'homme [1, 2, 3].

Dans ce travail nous avons étudié l'efficacité réelle de l'induction de cette hyperthermie testiculaire chez neuf couples volontaires. Le corps constitue la source de chaleur, les testicules étant maintenus à l'entrée du canal inguinal, durant les heures d'éveil, grâce à deux techniques.

2. Méthodes

a) *Technique 1* : Immobilisation des testicules par un sous-vêtement permettant de laisser libres le scrotum et le pénis.

b) Technique 2 : Immobilisation rendue plus efficace par l'ajout au sous-vêtement d'un anneau en matériel souple.

3. Résultats

a) Efficacité :

- *Technique 1 :* 42 cycles d'exposition pour 3 couples : 1 grossesse due à une interruption de l'hyperthermie. Indice de Pearl : 28,6/100 (0,7-159,2/100)
- *Technique 2 :* 117 cycles d'exposition pour 6 couples : 0 grossesse. Indice de Pearl : 0/100 (0-37,8/100).

b) Réversibilité : les caractéristiques spermiologiques ont retrouvé leurs valeurs antérieures en 6 à 18 mois et par la suite les hommes qui ont désiré être pères l'ont été sans problème, de la libido.

c) Innocuité : pas de modification clinique durant le protocole, pas de changement.

4. Conclusion

Ces résultats préliminaires démontrent qu'une augmentation modérée de la température testiculaire peut être un moyen efficace de contraception masculine. Des études multicentriques incluant un grand nombre d'hommes sont nécessaires pour en étudier l'acceptabilité. Par ailleurs notre groupe travaille sur de nouvelles techniques d'hyperthermie n'entraînant pas de modifications de l'image corporelle de l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

1. MIEUSSET R., GRANDJEAN H. ET AL. : Fertil. Steril. 1985, 43 : 589-594.
2. MIEUSSET R., BUJAN L. ET AL. : Fertil. Steril. 1987, 47 : 150-155.
3. MIEUSSET R., BUJAN L. ET AL. Int. J. Androl. 1987, 10 : 571-580.

Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'INSERM (CRE 854017) et d'une subvention de l'université Paul Sabatier Toulouse III et a fait l'objet d'une publication dans : Int. J. Androl. 1994 :17 : 186-191.

•••