

Place de l'analyse du mouvement dans un bilan de fertilité : Valeurs prédictives des différents paramètres mesurés

J.F. GUERIN, J. LORNAGE, H. CORDONIER, C. MATHIEU, M. BENCHAIIB

Laboratoire de Biologie de la Reproduction. Hôpital E. Herriot - 69003 Lyon

RESUME

La fonction flagellaire est directement impliquée dans la rencontre des spermatozoïdes avec l'ovocyte et dans le processus de fécondation.

Les systèmes actuels d'analyse du mouvement spermatique permettent d'effectuer des mesures très rapides, qui pourraient en théorie être proposées à l'occasion de tout spermogramme. Néanmoins, les analyses de régression multiple montrent que si beaucoup de paramètres sont informatifs, ils le sont moins que certaines caractéristiques traditionnelles du spermogramme, comme le % de formes normales et le % de spermatozoïdes mobiles. Aussi, il nous paraît plus judicieux de sélectionner les indications de ce type d'analyse, comme un contexte de stérilité inexplicée ou d'échec de FIV, afin de proposer la démarche thérapeutique la mieux adaptée ; ainsi, une dyskinésie flagellaire révélée par une valeur très basse de l'amplitude latérale de la tête, ou par une vitesse de progression linéaire abaissée, représentera une bonne indication pour une technique de micro-injection, plutôt qu'une FIV traditionnelle.

Mots-clés : spermatozoïdes ; caractéristiques du mouvement ; systèmes d'analyse automatisée du mouvement ; test de fécondance ; analyse discriminante.

INTRODUCTION

L'évaluation des caractéristiques du sperme - le spermogramme - prend effectivement en compte le pourcentage de spermatozoïdes mobiles, mais ne fournit pas de renseignements - sinon sous la forme d'une appréciation, forcément subjective - sur les caractéristiques du mouvement proprement dit. Or la fonction flagellaire est directement impliquée dans le processus de fécondation, que celle-ci se déroule *in vivo* (avec en particulier la progression à travers le mucus cervical, la jonction utéro-tubaire, et le franchissement de la zone pellucide) ou *in vitro* (FIV). Dans la situation de la FIV, les spermatozoïdes sont certes déposés à proximité de l'ovocyte, ce qui explique l'obtention d'embryons avec des spermatozoïdes jusque là inféconds, néanmoins la zone pellucide demeure un obstacle infranchissable dans certains cas.

Depuis quelques années se sont développés des systèmes d'analyse automatisée du mouvement de la tête spermatique, qui est en relation étroite avec l'onde flagellaire et plus facile à appréhender que cette dernière. Nous ne reviendrons pas sur la description et les conditions de validité des différents systèmes proposés, ainsi que sur les différents paramètres pouvant être mesurés, ces données ayant été abordées dans l'article de J. Auger.

QUAND DEMANDER UNE ANALYSE DU MOUVEMENT ?

Ce type d'examen n'est pas destiné à remplacer le spermogramme traditionnel, mais constitue un complément permettant d'appréhender objectivement une fonction primordiale du gamète mâle. Son gros avantage réside dans sa rapidité de réalisation : avec la puissance de calcul prodigieuse des microprocesseurs actuels, une analyse ne dure pas plus de quelques minutes. Il est donc possible de proposer cet examen couplé à tout spermogramme demandé, même s'il s'agit d'un premier bilan d'infertilité. Notre opinion est qu'il est préférable de sélectionner les indications, deux circonstances apparaissent particulièrement intéressantes :

- lorsqu'on tente de comprendre un échec de FIV, mal expliqué au regard du spermogramme peu ou pas perturbé (démarche rétrospective). Il sera alors important de rechercher différentes anomalies fonctionnelles pouvant expliquer cet échec de fécondance (analyse du mouvement, appréciation de la réaction acrosomique, mesure des radicaux libres, etc...). La mise en évidence ou non d'anomalies conditionnera la conduite à tenir lors d'une nouvelle tentative (FIV classique ou technique de micro-injection selon l'absence ou la présence d'anomalies détectées).

- lorsque des anomalies du sperme sont connues, l'analyse du mouvement permettra en théorie de préciser les chances de fécondation en FIV classique (attitude prospective), et d'opter éventuellement d'emblée pour une technique de fécondation "assistée" : SUZI ou ICSI.

QUELS SONT LES PARAMETRES DU MOUVEMENT LES PLUS INFORMATIFS ?

Avec des moyens d'analyse moins performants (il s'agissait alors de micro-photographies avec longue durée d'exposition), AITKEN et al avaient montré dès 1982 [1] que la vitesse progressive (VSL) et l'amplitude latérale de la tête (ALH) constituaient 2 paramètres corrélés avec les scores du test hétéro-spécifique (pénétration d'ovocytes de hamster dépellucidés). Concernant ALH, il faut remarquer qu'un taux trop important de spermatozoïdes présentant une valeur élevée pour ALH constituait un facteur prédictif négatif du test "hamster".

Le développement spectaculaire de la FIV au début des années 80 a considérablement modifié le paysage andrologique, puisqu'on disposait enfin, avec cette technique d'assistance médicale à la procréation (AMP), d'un test direct de la fécondance d'un sperme (le test "hamster" appréciant essentiellement la capacité fusogène). En 1985, JEULIN et al [7] ont trouvé une corrélation, positive cette fois, entre la valeur de ALH dans une popu-

Tableau 1 : Relations entre le taux d'hyperactivation et les résultats de la FIV.

Taux d'hyperactivation (%)	N	Pourcentage de fécondation	N° d'échecs de fécondation
0-5	32	30,7	9
5-10	29	38,4	7
10-20	37	37,2	4
20-30	9	43,9	0
30-40	7	56,8	1

lation de spermatozoïdes capacités, et le taux de fécondation en FIV. Depuis cette date, un grand nombre de publications ont cherché, au moyen d'analyses de régression multiple, quels paramètres étaient les plus informatifs du pouvoir fécondant ; en d'autres termes, quels étaient les meilleurs prédicteurs de l'obtention d'une fécondation.

L'analyse des données de la littérature n'est pas aisée pour les raisons suivantes : d'une part, les critères de fécondance diffèrent selon les auteurs : pénétration d'ovocytes dépellucidés (test "hamster"), fécondation homo-spécifique (FIV "classique"), migration à travers le mucus cervical, obtention d'une grossesse en dehors de l'AMP, etc. D'autre part, les conditions de mesure sont également variables, étant effectuées soit dans le plasma séminal, soit après lavage et sélection dans d'un milieu capacitant. Or les différents tests utilisés n'apprécient pas les mêmes fonctions. On peut par exemple s'étonner de l'importance des caractéristiques du mouvement dans le test "hamster", (l'équipe d'Aitken [2] vient néanmoins de la confirmer), puisque les ovocytes sont dépellucidés et que la *zona* constitue indiscutablement un obstacle majeur pour la pénétration de spermatozoïdes présentant un mouvement déficient. La FIV paraît constituer le modèle le plus intéressant, mais dans ce système il n'est pas tenu compte du comportement des spermatozoïdes dans le mucus cervical ; en outre, on peut considérer que, pour ce qui concerne le site de fécondation, le type de mouvement développé au sein d'un milieu fluide contenu dans une boîte de culture, est différent de celui engendré par l'environnement tubaire. Il est donc important de bien préciser le contexte de la fécondation, certaines caractéristiques pouvant être considérées comme anormales dans certaines situations, et pas dans d'autres. Dans l'ensemble, les analyses de régression multiple ont abouti à une meilleure prédiction du test hétérospécifique (environ 75% : (2,5), que de la FIV homospcifique (environ 50%). En dépit de la littérature maintenant

abondante, on ne peut parler de consensus quant aux paramètres les plus discriminants :

- amplitude latérale de la tête (ALH) et vitesse linéaire (VSL) des spermatozoïdes éjaculés [7] ;
- vitesse linéaire (VCL) sur spermatozoïdes éjaculés [6] ou lavés [3] ;
- linéarité (LIN) des trajectoires dans le plasma séminal [8] ;
- vitesse sur trajectoire (VAP) des spermatozoïdes lavés [10].

Enfin, certaines études se sont intéressées non seulement aux valeurs moyennes des différents paramètres, mais également à leur distribution. Ainsi, Vautmann et al [12], comparant un groupe à infécondité inexplicquée et un groupe d'hommes féconds, ont observé des différences significatives portant non sur les valeurs moyennes mais sur les distributions de 2 variables : VCL et LIN. Il est intéressant de noter que pour 2 paramètres - corrélés entre eux -, les travaux récents ne montrent en général pas de corrélation avec les résultats de la FIV, contrairement à des études plus anciennes. Il s'agit de ALH, et du % d'hyperactivation, ce dernier n'ayant pas été retrouvé dans au moins 2 études [10, 13]. Ce fait est d'autant plus surprenant que ALH traduit la force propulsive de l'onde flagellaire, et que l'hyperactivation (HA) représente un état particulier du mouvement spermatique qui paraît nécessaire à la pénétration de la zone pellucide.

On pouvait s'attendre à ce que les caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes lavés et sélectionnés, c'est-à-dire ceux qui participeront directement au processus de la FIV, soient plus informatives que celles mesurées dans le plasma séminal (population non sélectionnée). Les données des différentes études infirment cette hypothèse, à l'exception d'un travail récent effectué en test "hamster" [2].

RECHERCHE DE VALEURS SEUILS POUR LES DIFFÉRENTS PARAMETRES CONCERNÉS

Le type d'analyse discriminante précédemment décrit est intéressant, mais difficilement exploitable quand il s'agit, pour un individu donné, d'évaluer ses chances de fécondation en FIV sur la base des caractéristiques du sperme. Aussi nous avons recherché si, pour chacun des paramètres considérés, il existait une valeur seuil en deçà de laquelle les chances de fécondation étaient significativement abaissées.

Dans un travail précédent, nous avons montré que le taux de fécondation chutait significativement si les caractéristiques du mouvement, mesurées à température ambiante, étaient en dessous des valeurs suivantes :

- dans le plasma séminal :
 - % de mobilité < 20%
 - VSL < 25 $\mu\text{m/s}$
 - ALH moyenne < 2,5 μm

- après centrifugation sur gradient de Percoll:
 - % de mobilité < 30%
 - VSL < 40 $\mu\text{m/s}$
 - ALH moyenne < 3,5 μm

Nous avons plus récemment effectué des mesures à 37°C, portant sur un nombre de cas plus élevé (N = 102 dans le plasma séminal, et N = 132 après Percoll). Les individus ont été répartis en 4 classes selon la méthode des quartiles. L'évolution des taux de fécondation en fonction des valeurs des différentes caractéristiques du mouvement apparaît dans les figures 1 (mesures dans le plasma séminal) et 2 (mesures effectuées après Percoll).

Curieusement, nous n'avons pas retrouvé une aussi bonne discrimination que lors du précédent travail effectué à température ambiante. La seule variable qui soit significative, dans les 2 conditions, est le % *de spermatozoïdes mobiles*. En analysant les courbes plus en détail, on note néanmoins

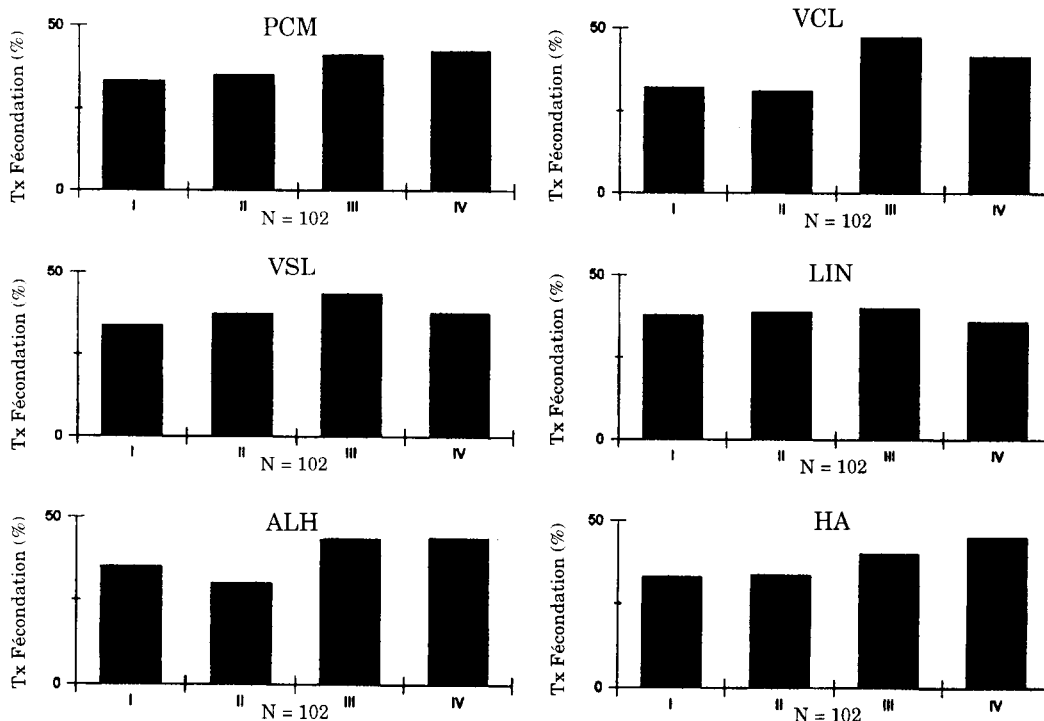


Figure 1 : Evolution des taux de fécondation en fonction des caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes dans le plasma séminal (PCM : pourcentage de cellules mobiles).

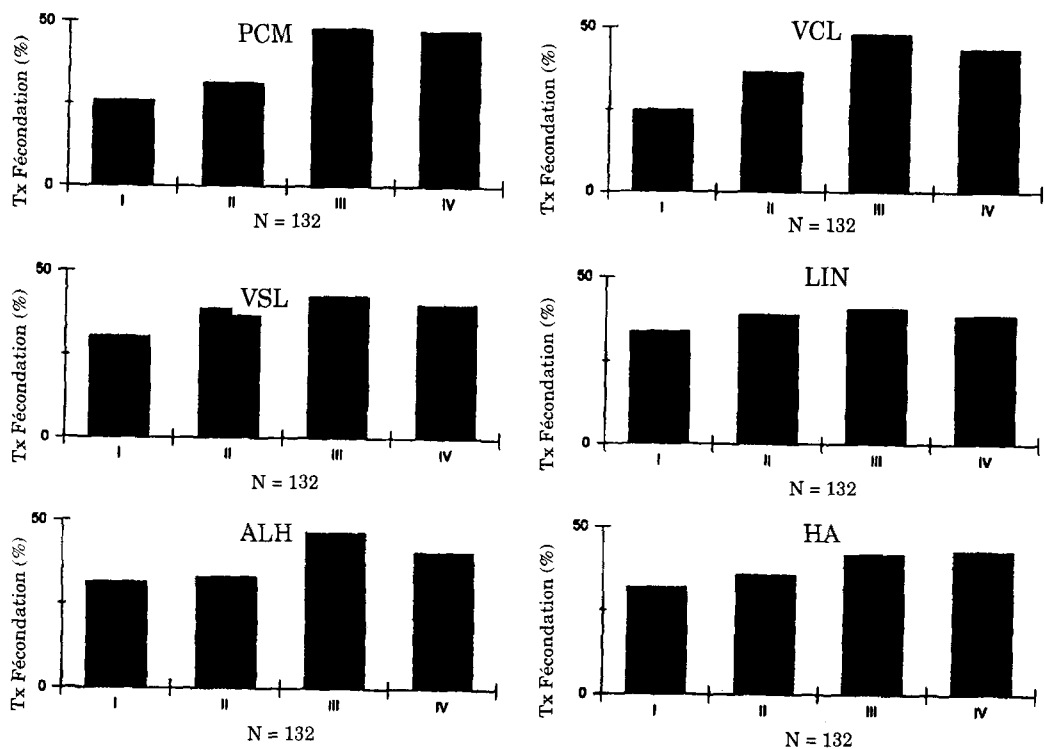


Figure 2 : Evolution des taux de fécondation en fonction des caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes après centrifugation sur gradient de Percoll (PCM : pourcentage de cellules mobiles).

que dans le plasma séminal, le taux de fécondation est significativement différent, en fonction de VCL, si on regroupe les classes 1 et 2 d'une part, 3 et 4 d'autre part. Pour ce même paramètre VCL mesuré après centrifugation sur gradient de Percoll, il existe une différence significative entre les classes 1, 2 et 3. La même tendance est observée pour ce qui concerne le taux d'hyperactivation (HA) mais la différence n'est pas significative. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à ce paramètre. Les résultats du tableau 1 montrent que le taux de fécondation croît régulièrement en fonction du % d'hyperactivation (HA). Lorsque celui-ci est très bas (0-5%), le taux moyen de fécondation n'est pas effondré (30,7%) mais on a observé 9 échecs de fécondation sur 32. Ce % d'échecs est encore élevé lorsque HA est compris entre 5 et 10% (7/29), mais devient très faible au-delà. On peut en conclure que les risques d'échec de

FIV sont plus importants si le taux d'hyperactivation, mesuré après lavage - sélection des spermatozoïdes, est très faible. Le remplacement de la technique de FIV de routine, par celle de micro-injection (SUZI ou ICSI), apparaît alors licite.

CONCLUSION

Il est maintenant possible d'étudier avec rapidité et une grande précision les paramètres du mouvement des spermatozoïdes. Ce type d'analyse constitue un élément important du bilan spermatique sous l'angle fonctionnel. On peut néanmoins être surpris et déçu de l'absence de consensus quant au(x) paramètre(s) le(s) plus discriminant(s), et quant au milieu dans lequel faire l'étude (plasma séminal ou milieu capacitant). Il est important de réaliser que dans la majorité des études aboutissant à une bonne discrimination entre sujets fer-

tiles et infertiles, les variables les plus discriminantes sont représentées par les paramètres traditionnels du spermogramme, comme le % de formes normales et le % de spermatozoïdes mobiles. Ainsi, dans une étude récente, PARINAUD et al [11] ont abouti à une discrimination s'élevant à 83%, mais la seule considération du paramètre "tétratozoospermie" permettait déjà un taux de classification correct de 64% ! C'est pourquoi l'analyse du mouvement nous apparaît particulièrement intéressante en cas de stérilité inexplicée (ou d'échec de FIV), car certaines anomalies - comme celle décrite sous le terme de spermatozoïdes "glissants" [4] avec une ALH très réduite et une absence d'hyperactivation - ne sont pas détectées par le spermogramme.

REFERENCES

1. AITKEN R.J., BEST F.S.M., RICHARDSON D.W., ET AL. : An analysis of sperm function in cases of unexplained infertility : conventional criteria, movement characteristics, and fertilizing capacity. *Fertil Steril.* 1982, 38 : 212-221.
2. AITKEN R.J., BUCKINGHAM D., HARKISS D. : Analysis of the extent to which sperm movement can predict the results of ionophore - enhanced functional assays of the acrosome reaction and sperm - oocyte fusion - *Hum. Reprod.*, 1994, 9 : 1867-1874.
3. CHAN S.Y.W., WANG C., CHAN S.T.H., ET AL. : Predictive value of sperm morphology and movement characteristics in the outcome of in vitro fertilization of human oocytes. *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer.* 1989, 6 : 142-148.
4. FENEUX D., SERRES C., JOUANNET P. : Sliding spermatozoa : a dyskinesia responsible for human infertility. *Fertil Steril.*, 1985, 44 : 508-511.
5. GINSBURG K.A., SACCO A.G., AGER J.W., MOGHISSI K.S. : Variation of movement characteristics with washing and capacitation of spermatozoa. Multivariate statistical analysis and prediction of sperm penetrating ability. *Fertil Steril.*, 1990 : 704-708.
6. HOLT W.V., MOORE H.D.M., HILLIER S.G. : Computer-assisted measurement of sperm swimming speed in human semen : correlation of results with in vitro fertilization assays. *Fertil Steril.* 1985, 44 : 112-119.
7. JEULIN C., FENEUX D., JOUANNET P., ET AL. : Sperm factors related to failure of human in vitro fertilization. *J. Reprod Fertil*, 76 : 735-744.
8. LIU D.Y., CLARKE G.N., BZKER H.W.G. (1991) : Relationship between sperm motility assessed with the hamilton-thorn motility analyzer and fertilization rates in vitro. *J. androl*, 12 : 231-239.
9. LORNAGE J., MATHIEU C., REGNIER-VIGOUROUX G., GUERIN J.F., PINATEL M.C., BOULIEU D. : In vitro fertilization for male infertility : predictive value of sperm movement parameters on the cleavage rate. 7è Congrès Mondial de fécondation in vitro et procréations Médicalement assistées. Paris, Juillet 1991.
10. MAK C., VAN KOOIJ R.J., EIMERS J.M., TE VELDE E.R. : Human sperm movement assessed with the hamilton-thorn mobility analyser and in vitro fertilization. *andrologia*, 1994, 26 : 323-329.
11. PARINAUD J., VIEITEZ G., MOUTAFFIAN H., RICHAILLEY G., LABAL B. : Relevance of acrosome function in the evaluation of semen in in-vitro fertilizing ability. *Fertil-Steril.*, 1995 : in press.
12. VAUTMAN D., BANKS S.M., KOUKOULIS G., DENNISIN L., SHERINS R.J. : Assessment of sperm motion characteristics from fertile and infertile men using a fully automated computer - assisted semen analyzer. *Fertil-Steril.*, 1989, 51 : 156-161.
13. WANG C., LEE G.S., LEUNG A., SURREY E.S., CHAN S.Y.W. : Human sperm hyperactivation and acrosome reaction and their relationship to human in vitro fertilization. *Fertil-Steril.*, 1993, 56 : 1221-1227.

ABSTRACT

Interest of sperm movement analysis in investigation of male infertility

J.F. Guerin, J. Lornage, H. Cordonier, C. Mathieu, M. Benchaïb

Routine evaluation of semen characteristics - spermogram - includes estimation of the percentage of motile sperm ; however it does not provide quantitative informations about sperm movement characteristics, except under the form of qualitative appreciations (slow, sluggish, yawing, non progressive, etc.). Flagellar function is indeed directly involved in the migration of spermatozoa through the female genital tract, and in the fertilization process by itself (migration through the zona pellucida requires special motility state, generally called "hyperactivation"). Sperm flagellar movements can

now be indirectly investigated by analysing movements of sperm head, which are more easily detectable under phase contrast illumination : video signals are digitalized then sperm tracks are reconstructed by the computer from coordinates of sperm centroids (these systems are called "computer - assisted semen analysis" or "CASA").

CASA systems are now so performing and rapid that sperm movement analysis (SMA) can be proposed in the same time of routine semen analysis. However SMA, together with other functional tests, offer more interest in some particular situations as unexplained infertility, or unexpected failure of IVF.

Numerous studies have tried to identify the most discriminant parameters, generally by means of multiple regression analysis. The interpretation of literature data is difficult because of several differences in the protocol design, concerning either the measurements conditions (before or after sperm washing and selection) or the nature of the functional test : migra-

tion into cervical mucus, zona - free hamster egg penetration, IVF, etc. Moreover, the most discriminant factors are generally represented by classical parameters as % of normal forms or of motile sperm. In the present study we showed that only the factor "% of motility" allowed a significant discrimination according to different classes of fertilization rate (FR) in an IVF system. FR increased with hyperactivation rate (HA), but the statistical test was not significant. However, the more numerous cases of IVF failure were found in the group corresponding to very low HA rate (0-5%). We conclude that one major interest of SMA is to reveal some flagellar dyskinesia (i.e. corresponding to low values of amplitude lateral displacement of the head, or straight line velocity). These cases could then benefit of assisted reproductive techniques well adapted to this motion dysfunction, as subzonal insemination (SUZI) or intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI).

Key words : spermatozoa ; motion characteristics ; CASA systems ; fecundity tests ; discriminant analysis.