

REVUE DE LA LITTERATURE INTERNATIONALE

avec la collaboration de :

L. BUJAN

J.C. CZYBA

M. DROSDOWSKY

P. FENICHEL

H. LEJEUNE

M. MONTEIL

B. SELE

Revue de la littérature internationale

GENETIQUE

- 133 **La structure du génome au repos : Organisation de l'ADN spermatique et implications pour les cellules somatiques**

W.S. WARD

J.Cell.Biochem., 55, 77-82, 1994.

IMMUNOLOGIE

- 134 **L'incidence des anticorps anti-spermatozoïdes dans l'hypofertilité masculine avec antécédents de cryptorchidie**

R.L. URRY, D.T. CARREL, N.P. STARR, B.W. SNOW, R.G. MIDDLETON

J.Urology, 151, 381-383, 1994.

ENDOCRINOLOGIE

- 136 **Pathogénie de la diminution des androgènes chez l'homme obèse**

V.A. GIAGULLI, J.M. KAUFMAN, A. VERMEULEN

J.Clin. Endocrinol. Metab., 79, 997-1000, 1994.

- 138 **Evidence pour des modifications de la sécrétion de gonadotrophines induites par l'estradiol chez des hommes présentant des tumeurs féminisantes à cellules de Leydig**

J.M. KUHN, L. DURANTEAU, M.A. RIEU, N. LAHLOU, M. ROGER, J.P. LUTON

Eur. Journ. Endocr., 131, 160-166, 1994.

FECONDATION IN VITRO

- 139 **Grossesse obtenue par un spermatozoïde issu des cônes efférents**

W.H. WEISKE

Fertil. Steril., 62, 642-643, 1994

- 140 **Fécondation normale d'ovocytes humains après extraction des spermatozoïdes testiculaires et injection intra-cytoplasmique**

P. DEVROEY, J. LU, Z. NAGY, H. TOURNAYE, S.J. SILBER, A.C. VAN STEIRTEGHEM

Fertil. Steril., 62, 639-641, 1994

TRAITEMENT DE LA STERILITE

- 143 **Efficacité d'un traitement de l'infécondité masculine par interféron**

M. YAMAMOTO, K. MIYAKE

The Lancet, 344, 614, 1994.

CONTRACEPTION-STERILISATION

- 144 **Paternité sans spermatozoïde apparent après vasectomie**

J.C. SMITH, D. CRANSTON, T. O'BRIEN, J. GUILLEBAUD, J. MINOMARSH, A.G. TURNER

The Lancet, 344, 30, 1994.

CYTOGENETIQUE

La structure du génome au repos : organisation de l'ADN spermatique et implications pour les cellules somatiques

W. Steven WARD

Division of Urology, Robert Wood Johnson Medical
School, New Brunswick, New Jersey 08903, USA

J. Cell. Biochem. 55, 77-82, 1994

L'ADN des cellules eucaryotes est compacté à des degrés variables. Ces différents niveaux d'organisation se font en fonction des besoins de la cellule. Durant le cycle cellulaire, la chromatine se condense en chromosomes mitotiques (stade ultime de compaction de l'ADN pour une cellule somatique), pour se décondenser à nouveau en chromatine interphasique. Cette organisation spatiale de l'ADN au sein du noyau contribue à définir des domaines de chromatine et des sites spécifiques pour les différentes fonctions nucléaires (réplication et transcription). L'amplitude et la nature exacte de ces modifications structurales, associées aux états actifs ou inactifs de l'ADN, sont encore mal connues.

L'étude de la structure du génome inactif des cellules spermatiques et sa comparaison avec celle de l'ADN somatique permet une meilleure compréhension de la relation structure/fonction du génome.

1. Organisation de la chromatine des noyaux somatiques

L'ADN des cellules somatiques est associé de façon très spécifique aux histones, protéines nucléaires basiques. L'enroulement de la fibre d'ADN autour d'un octamère d'histones constitue le nucléosome, unité structurale fondamentale de la chromatine. La succession des nucléosomes confère à l'ADN une structure super-enroulée de charge négative. L'ADN chromosomique est organisé en boucles de fibres chromatiniennes dont la base est fixée à la matrice nucléaire. Ces boucles d'ADN constituent des unités de réplication dont le point d'initiation serait sur le nucléosquelette.

2. Organisation de la chromatine des noyaux spermatiques

Le génome haploïde des spermatozoïdes est inactif, aucune réplication, ni transcription n'ayant

lieu. Son degré de compaction est beaucoup plus élevé que celui de l'ADN des cellules somatiques. Un des aspects les plus intéressants de l'organisation de cette chromatine est l'absence quasi-totale des nucléosomes. La fibre d'ADN est associée à des protéines plus basiques que les histones : les protamines. Celles-ci se lient à l'ADN de façon linéaire en neutralisant les charges de la molécule d'ADN. L'ADN se condense alors en une structure très compacte. La structure négative superenroulée n'est pas retrouvée dans ce génome. Cependant, à l'instar des cellules somatiques, Ward a montré que l'ADN des noyaux spermatiques est organisé en boucles, dont la base est fixée à la matrice nucléaire.

3. Corrélation structure/fonction du génome

D'un point de vue fonctionnel, le génome des spermatozoïdes se différencie de celui des cellules somatiques par l'absence d'activité de réplication ou de transcription jusqu'au moment de la fécondation. C'est en comparant ces deux structures que l'on peut tenter de mieux appréhender les relations entre la fonction d'un génome et sa structure.

La présence des nucléosomes dans le noyau des cellules somatiques et leur absence dans celui des spermatozoïdes laisse supposer que ces structures sont primordiales pour l'empaquetage des gènes actifs. Il a récemment été montré que les histones formant le core des nucléosomes, jouent un rôle spécifique dans la régulation de la transcription, par exemple dans la liaison de certains facteurs de transcription à leurs promoteurs. D'autre part, la structure en super-hélice de l'ADN est observée exclusivement dans le noyau des cellules somatiques. Cette organisation particulière de l'ADN jouerait donc un rôle important dans l'activation de la transcription. Il a été montré que des gènes situés à proximité de ces structures sont plus facilement transcrits *in vitro*. L'organisation négative superenroulée permettrait d'abaisser l'énergie nécessaire à la dénaturation de la double hélice durant la réplication ou la transcription. L'absence de cette super-hélice du noyau des spermatozoïdes montre que cette conformation n'est pas nécessaire au maintien de l'information génétique.

L'organisation structurale en boucles de la fibre chromatinienne dans le noyau spermatique laisse supposer la présence de replicons fixés à la matrice nucléaire qui deviendraient des centres d'organisation de la réplication après la fécondation.

En somme, l'ADN super-compacté des noyaux spermatiques a conservé certains aspects de l'organisation structurale des génomes diploïdes : boucles d'ADN et organisation tridimensionnelle. Récemment, les techniques d'Hybridation *In Situ* Fluorescente (FISH) ont montré une organisation spécifique de l'ADN chromosomique dans les noyaux interphasiques : les centromères seraient localisés à l'intérieur du noyau alors que les télomères se situeraient à la périphérie. Il reste à élucider le rôle d'une telle structure dans le noyau spermatique dont la finalité est de transmettre un génome haploïde sain au cours de la fécondation.

Commentaires (M. MONTEIL et B. SELE)

L'auteur fait une réflexion sur l'état des connaissances concernant les relations entre le degré de condensation de la chromatine, la position des gènes dans le noyau cellulaire et leur état fonctionnel. Le noyau spermatique représente une situation unique puisque les activités transcriptionnelles et de réplication sont absentes, mais doivent reprendre après la fécondation. La comparaison de sa structure avec celle des noyaux somatiques est une approche originale de l'étude des relations structure/fonction des noyaux.

•••

IMMUNOLOGIE

L'incidence des anticorps anti-spermatozoïdes dans l'hypofertilité masculine avec antécédents de cryptorchidie

R.L. URRY, D.T. CARREL, N.P. STARR, B.W. SNOW, R.G. MIDDLETON

Departement d'Urologie - Ecole de Médecine de l'Université d'Utah Salt Lake City, Utah, Etats-Unis

Journal of Urology 151, 381-383, 1994

1. Introduction

L'incidence de la cryptorchidie chez les garçons nés à terme a été évaluée entre 1,4 et 2,7%. L'hypofertilité des sujets ayant des antécédents de cryptorchidie unilatérale a été appréciée entre 10 et 20%, et pour la cryptorchidie bilatérale entre 40 et 80%. Cette hypofertilité est généralement secondaire à une oligoasthénospermie mais des troubles de la morphologie ont également été mis en évidence en utilisant un modèle de cryptorchidie artificielle. La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes agglutinants a déjà été rapportée après cure chirurgicale de la cryptorchidie. Les auteurs ayant observé des troubles de la mobilité progressive en cas de cryptorchidie ont réalisé une recherche systématique d'anticorps anti-spermatozoïdes immobilisants ou agglutinants dans le sérum et le liquide séminal de 27 patients présentant des antécédents de cryptorchidie. Les résultats ont été comparés à un groupe contrôle de donneurs avec fertilité prouvée, et un groupe de patients hypofertiles sans antécédents de cryptorchidie.

2. Matériels et méthodes

Sur une période de 4 ans, 55 patients ont consulté dans cette équipe pour une hypofertilité primaire avec une histoire de cryptorchidie diagnostiquée et traitée durant l'enfance. Chez 27 d'entre eux il a été possible de congeler du sérum et du liquide séminal en plus de la réalisation d'un spermogramme et d'un spermocytogramme. Pour la recherche des anticorps anti-spermatozoïdes sur ces prélèvements congelés, 3 tests ont été utilisés : un test de macro-agglutination décrit par KRIBRICK et collaborateurs, un test d'immobilisation, et un test indirect par immunobilles. Le test de macro-agglutination a été

considéré comme positif lorsqu'à 2 reprises consécutives l'agglutination observée était supérieure au contrôle négatif. Le test d'immobilisation a été jugé positif lorsqu'il a été constaté une réduction supérieure à 50% de la mobilité progressive comparée à un contrôle négatif réalisé à 2 reprises. Le test par immunobilles quant à lui nécessitait la présence d'au moins 25% de spermatozoïdes mobiles porteurs de billes, pour être considéré comme significatif. Le groupe contrôle de donneurs comprenait 35 sujets, et le groupe de patients atteints d'hypofertilité masculine sans antécédents de cryptorchidie de 38.

3. Résultats

L'âge des 3 groupes était comparable et compris entre 27 et 31 ans en moyenne. La durée moyenne de rapports non protégés non suivis d'une grossesse était respectivement de $2,1 \pm 4$ années pour le groupe étudié, de $1,1 \pm 0,3$ pour le groupe de patients hypofertiles. Trois des patients étudiés étaient porteurs d'un varicocèle, et 6 sur 35 dans le groupe de patients hypofertiles. Dans le cas d'antécédent de cryptorchidie, 66% de sujets testés présentaient des anticorps anti-spermatozoïdes positifs versus 2,6% dans le groupe d'hypofertilité masculine, et 2,8% dans le groupe de donneurs fertiles ($p < 0.005$). Aucun facteur de risque classique surajouté concernant la production d'anticorps anti-spermatozoïdes n'a été retrouvé dans le groupe étudié et ni dans le groupe contrôle. Les anticorps immobilisants ont été retrouvés plus souvent (57,1%) que les anticorps agglutinants (14,3%). Dix huit patients présentaient un test par immunobille positif, dont 33% pour plus d'une sous-classe d'immunoglobuline, respectivement pour IgG, IgM et IgA (40,39 et 22%). Le site de localisation préférentiel des anticorps apprécié par immunobille était la pièce intermédiaire dans 73,3%. Le pourcentage de spermatozoïdes présentant une mobilité progressive était inférieur ($p < 0.005$) dans le groupe des patients cryptorchides présentant des anticorps anti-spermatozoïdes, soit au groupe contrôle et au groupe de donneurs fertiles. Par contre, la numération n'était pas différente entre 2 patients cryptorchides avec ou sans anticorps, mais cette numération était toutefois inférieure à celle du groupe contrôle. Le pourcentage d'anomalies morphologiques était également significativement supérieur dans le groupe cryptorchide comparé au groupe contrôle. La fréquence des anticorps n'était pas plus élevée dans le groupe présentant une cryptorchidie bilatérale (18,5%) comparé au groupe avec une cryptorchidie unila-

térale (68,1). Les 2 patients ayant présenté une descente testiculaire spontanée présentaient des anticorps positifs, ainsi que les 2 patients ayant été traités médicalement par gonadotrophine chorionique. Pour les 23 patients traités par orchidopexie, 52% présentaient des anticorps positifs. L'intervention avait été réalisée à un âge plus tardif dans le groupe présentant des anticorps positifs, $143,2 \pm 1,2$ années par rapport au groupe sans anticorps, $8,6 \pm 0,8$ ($p < 0.001$).

4. Discussion

Cette étude indique que les patients présentant des antécédents de cryptorchidie ont plus de risque de développer des anticorps anti-spermatozoïdes dans le sérum et dans le liquide séminal. Cette incidence présente des conséquences cliniques puisque la mobilité progressive est diminuée et que l'agglutination des spermatozoïdes est augmentée lorsque les anticorps sont positifs. Il est classique de relier l'incidence de l'hypofertilité avec la précocité de la cure de la cryptorchidie. Ce travail suggère un lien avec la formation des anticorps anti-spermatozoïdes. Le mécanisme reste néanmoins incertain. L'hyperthermie testiculaire qui est incriminée dans l'altération de la production des spermatozoïdes et dans l'altération du mouvement pourrait également, par l'intermédiaire des modifications de la barrière hémotesticulaire, favoriser le contact avec le système immunitaire. Cette étude montre donc une augmentation significative dans l'incidence des anticorps anti-spermatozoïdes chez des patients hypofertiles présentant des antécédents de cryptorchidie, et suggère que l'âge auquel est réalisé l'orchidopexie est un facteur déterminant. Néanmoins, ce travail ne permet pas de démontrer que la présence des anticorps anti-spermatozoïdes est la cause principale de l'hypofertilité de ces patients, mais qu'il peut être considéré comme un facteur supplémentaire qu'il serait nécessaire d'évaluer systématiquement.

Commentaires (P. FENICHEL)

Ce travail, bien qu'il demande confirmation, attire l'attention sur un facteur supplémentaire d'hypofertilité en cas d'antécédents de cryptorchidie. En effet, le pourcentage d'anticorps positifs retrouvé dans cette série paraît élevé, et il est attesté par la pratique de 3 méthodes différentes de recherche et la mise en parallèle avec les modifications du spermogramme. Comme toujours, dans les discussions concernant les anticorps anti-spermatozoïdes il est clair que le type d'anti-

corps, le siège de fixation et l'incidence sur l'altération éventuelle des fonctions du spermatozoïde sont extrêmement variables d'un clone à l'autre et qu'il est toujours difficile de relier directement l'hypofertilité avec la présence de ces anticorps. Il paraît néanmoins souhaitable de réaliser d'autres études pour confirmer ce travail, avant de proposer la recherche systématique des anticorps anti-spermatozoïdes en cas d'antécédents de cryptorchidie chez des patients consultant pour hypofertilité.

•••

ENDOCRINOLOGIE

Pathogénie de la diminution des androgènes chez l'homme obèse

V. A. GIAGULLI, J.-M. KAUFMAN, A. VERMEULEN
*Department of Endocrinology and Metabolism,
Medical Clinic, University Hospital, B9000
Ghent, Belgium.*

J Clin Endocrinol Metab. 1994;79:997-1000.

Chez l'homme obèse la sex hormone-binding globulin (SHBG) et la testostérone totale sont diminuées dans le plasma. Les résultats publiés concernant la testostérone libre sont discordants, certains la rapportant comme normale, d'autres la trouvant diminuée. Cette dernière éventualité implique une altération des mécanismes de rétrocontrôle assurant la régulation de la concentration plasmatique de testostérone libre. Ce travail recherche si une diminution de la testostérone libre et une altération de l'axe gonadotrope se produisent dans des obésités plus importantes que celles qui s'accompagnent seulement d'une diminution de la SHBG et de la testostérone totale.

1. Matériel et méthodes

Les androgènes et leurs précurseurs ont été dosés dans 3 groupes de sujets :

- 1° des hommes normaux non obèses [body mass index (BMI): poids (kg) / taille² (m) < 26 ; n=70],
- 2° des hommes présentant une obésité modérée (BMI, 30-35; n=18) et,
- 3° des hommes présentant une obésité massive (BMI > 40 ; n=22).

Pour une partie de ces 3 groupes de sujets, la concentration moyenne et la pulsativité de LH ont été évaluées. De plus, comme le niveau de la testostérone libre peut influencer le métabolisme des androgènes et en particulier l'activité 5 α -réductase, les métabolites 5 α -réduits, glucuronide d'androstanediol et glucuronide d'androstérone ont été dosés dans le plasma. De même, les excréctions urinaires des principaux métabolites, 5 α (glucuronide d'androstérone) et 5 β réduits (glucuronide d'étiocolanalone) ont été déterminées.

2. Résultats

Chez les hommes modérément obèses, la concentration plasmatique de la testostérone totale est diminuée. Ceci est la conséquence de la diminution de la SHBG. La testostérone libre est normale. Il en est de même de la concentration plasmatique moyenne, de l'amplitude et de la fréquence des pulses de LH, ce qui suggère un contrôle normal de la sécrétion de LH par l'hypothalamus. Chez les hommes présentant une obésité massive (BMI > 40), la testostérone totale, la SHBG mais aussi la testostérone libre et la LH ainsi que l'amplitude des pulses de LH sont diminuées, ce qui indique une altération fonctionnelle de l'axe gonadotrope (Tableau 1). Même chez les hommes massivement obèses ayant une diminution de la testostérone libre, le métabolisme des androgènes et l'activité 5 α -réductase apparaissent normaux puisque les 2 concentrations de glucuronide d'androstérone et d'androstenediol ne sont diminuées qu'en proportion de la diminution de la production d'androgènes. Ceci est confirmé par le rapport glucuronide d'androstérone/glucuronide d'étiocolanalone urinaire qui est similaire chez les hommes obèses ou non obèses.

3. Discussion

La diminution de la testostérone chez l'homme obèse a une double origine: d'une part, la diminution de la SHBG, qui représente le principal facteur expliquant la diminution de la testostérone chez l'homme modérément obèse et d'autre part une altération de l'axe gonadotrope, caractérisée par une diminution de la LH plasmatique et de l'amplitude des pulses de LH. Cette altération de la fonction gonadotrope ne s'observe que chez les hommes présentant une obésité massive. Elle est responsable d'une diminution de la testostérone libre et d'un état d'hypoandrogénie. Le métabolisme des androgènes reste inchangé chez les sujets obèses et la diminution des dérivés 5 α -réduits apparaît n'être que le reflet de la production diminuée d'androgènes dans les obésités massives.

Commentaire (Hervé LEJEUNE)

Ce travail précise l'influence de l'excès de poids sur l'axe hypothalamo-hypophysotesticulaire. Deux situations sont distinguées selon l'importance de l'excès de poids.

- 1°) *Pour des obésités modérées (BMI entre 30 et 35**), les seules modifications observées sont la conséquence d'une modification des conditions de transport de la testostérone dans le plasma: l'excès pondéral induit une diminution de la concentration plasmatique de la SHBG ; la testostérone liée à la SHBG (non directement biodisponible) est diminuée, par contre la testostérone biodisponible est normale. Le rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire s'exerce normalement, la sécrétion de LH est normale. En pratique, dans les cas d'excès pondéral modéré, on observe des concentrations de testostérone totale abaissées mais ne correspondant pas à un état d'hypogonadisme.*
- 2°) *En cas d'excès pondéral massif (BMI > 40**), la baisse de la testostérone totale est à la fois conséquence de la baisse de la SHBG mais aussi d'une altération de la sécrétion de LH provoquant un état d'hypogonadisme avec baisse de la testostérone libre.*

Le mécanisme exact provoquant la diminution de la sécrétion de LH n'est pas clair et les auteurs ne se sont pas aventurés à émettre des hypothèses. La diminution de l'amplitude des pulses de LH dans les obésités massives peut s'expliquer soit par une insuffisance de sécrétion de LH par l'hypophyse, soit par une diminution de la quantité de GnRH sécrété à chaque pulse par l'hypothalamus. La fréquence des pulses de LH/GnRH n'est pas signalée comme différente dans les groupes étudiés. L'hyperœstrogénie liée à l'augmentation de l'activité aromatasase de l'organisme par augmentation du tissu adipeux, pourrait constituer une explication séduisante à l'altération gonadotrope portant sur l'amplitude des pulses de LH. L'œstradiol total plasmatique est

Tableau 1 : Principales données hormonales. (*différence significative par rapport au groupe de sujets non obèses).

	Testo totale nmol/L	SHBG nmol/L	Testo libre nmol/L	LH UI/L	E2 pmol/L
Sujets non obèses	21,4+6,7	50+17	0,41+0,16	6,12+2,62	133+13
Obésité modérée	16,5+4,7*	40+14*	0,40+0,15	5,98+2,02	224+66*
Obésité massive	13,1+4,2*	36+ 14*	0,29+0,11 *	3,58+ 1,72*	184+96*

effectivement augmenté chez les obèses. Par contre, les concentrations plasmatiques d'œstradiol total sont identiques dans les 2 groupes d'obèses (Tableau 1), ce qui n'est pas en faveur de la responsabilité de l'œstradiol dans la genèse de la perturbation gonadotrope.

Toutefois, comme l'œstradiol se lie aussi à la SHBG qui est plus basse dans les obésités massives, il faudra mesurer l'œstradiol libre avant de pouvoir innocenter l'hyperœstrogénie.

Les auteurs ont séparé la population d'obèses en obésité modérée (BMI entre 30 et 35) et obésité massive (BMI > 40). On peut se demander s'il existe un continuum avec une altération gonadotrope d'autant plus importante que l'excès pondéral progresse ou s'il s'agit d'entités pathologiques différentes, d'une part des obésités "banales" sans perturbation gonadotrope (ces obésités ne dépassant que rarement des BMI > 40) et d'autre part des perturbations hypothalamiques fonctionnelles touchant à la fois les centres de la satiété et les mécanismes impliqués dans le contrôle gonadotrope, comme on le voit dans certaines atteintes hypothalamiques organiques qui provoquent des obésités majeures.

Une étude de l'évolution de la fonction gonadotrope après réduction de l'excès pondéral serait bien entendu pleine d'intérêt.

** Pour se rendre compte plus facilement du degré d'obésité dans les groupes étudiés, le tableau ci-dessous indique les limites du poids (kg) en fonction de la taille pour les différents groupes étudiés.

Tableau 1 :

Taille(m)	Groupe contrôle (BMI<26)	Obésité "modérée" (BMI:30-35)	Obésité "massive" (BMI>40)
1,60	< 67 kg	77 - 90 kg	> 102 kg
1,70	< 75 kg	87 - 101 kg	> 116 kg
1,80	< 84kg	97 - 113kg	> 130kg
1,90	< 94 kg	108 - 126 kg	> 144 kg
2,00	< 104kg	120 - 140kg	> 160kg

•••

Evidence pour des modifications de la sécrétion de gonadotropines induites par l'œstradiol chez des hommes présentant des tumeurs féminisantes à cellules de Leydig

J.M. KUHN, L. DURANTEAU, M.A. RIEU,
N. LAHLOU, M. ROGER, J.P. LUTON.

European Journal of Endocrinology 131 :
160-166, 1994.

Une gynécomastie est observée chez 10 à 30 % des hommes présentant une tumeur à cellules de Leydig. Sa survenue semble être favorisée par la chute de la sécrétion de testostérone et/ou l'hypersecretion d'œstrogènes par la tumeur. Il a été suggéré précédemment que des quantités excessives d'œstradiol (E2) peuvent modifier la synthèse de testostérone par effet direct sur le testicule. Les œstrogènes semblent être capables de réduire la sécrétion de FSH ainsi que l'amplitude des pulses de LH sans modification de leur fréquence. Dans la plupart des tumeurs étudiées, la réponse des gonadotropines à l'administration de GnRH sont dans les limites normales suggérant qu'une sécrétion d'E2 augmentée ne réduit pas le contenu hypophysaire en LH, mais affecte plutôt la sécrétion de GnRH. Ainsi la diminution des taux de testostérone plasmatique observée dans les tumeurs leydigiennes sécrétant des œstrogènes peut être liée à une chute de la sécrétion des gonadotropines, secondaire à une action inhibitrice au niveau hypothalamique ou hypophysaire. C'est la raison pour laquelle, l'œstradiol, la testostérone et le taux des gonadotropines induites par 100 µg iv de GnRH ont été mesurés chez 42 partenaires mâles de couples infertiles présentant un spermogramme normal (groupe 1) et chez 21 hommes présentant une tumeur leydigienne (groupe 2) ; un deuxième bilan a été réalisé après l'ablation de la tumeur. La testostérone était significativement (P < 0,01) plus basse alors que E2 était significativement (P < 0,001) plus élevé dans le groupe 2 que dans le groupe 1. Les taux de gonadotropines se sont révélés similaires dans les deux groupes ; le taux moyen de la sous-unité de FSH a été trouvé plus élevé dans le groupe 2 que dans le groupe 1 et l'α-inhibine est plus haute que normalement dans 6 tumeurs sur 10. Dans le groupe 2, les taux d'œstradiol sont significativement (P < 0,01) et négativement corrélés avec la testostérone, la FSH, l'élévation des gonadotropines induites par le GnRH et l'amplitude des pulses

de LH. Des modifications significatives ($P < 0,01$) ont été observées après chirurgie : E2 et l' α -inhibine ont diminué ; la testostérone, LH et FSH se sont élevées alors que le taux de la sous-unité ne s'est pas modifié de manière significative. L'amplitude des pulses de LH, mais pas la fréquence, ont augmenté de manière significative ($P < 0,05$). On a donc observé que E2 sécrété en quantité anormale par les tumeurs leydigiennes diminue LH et la testostérone de manière concomitante ; le taux de gonadotropine induit par le GnRH s'élève et l'amplitude des pulses de LH diminue quand le taux d'E2 s'élève alors que la fréquence des pulses demeure identique. Une augmentation concomitante de l' α -inhibine et de E2 est probablement responsable de la chute du taux de FSH plasmatique.

(M. DROSDOWSKY)

•••

FECONDATION *IN VITRO*

Grossesse obtenue par un spermatozoïde issu des cônes efférents

W-H. WEISKE

Hospital Dr. Hermann, Stuttgart, Germany.

Fertil Steril. 1994;62:642-643.

L'importance du passage épидидymaire des spermatozoïdes pour atteindre une maturation suffisante pour féconder n'est pas complètement déterminée. Les expériences chez l'animal vont clairement dans le sens de la nécessité du transit épидидymaire. Chez l'homme, la question reste ouverte depuis que des grossesses ont été obtenues après anastomose entre les cônes efférents et le canal déférent par Silber en 1988. Dans les 12 dernières années, 500 tentatives de répermeabilisation microchirurgicale ont été réalisées. Dans 5 cas, la fibrose complète de l'épидидyme a conduit à tenter une anastomose entre la région du rete testis et le canal déférent. Les 4 premiers cas sont restés sans succès. Le 5^{ème} cas a permis une grossesse à partir de spermatozoïdes des canaux efférents. La paternité a été prouvée par "fingerprint" de l'ADN.

1. Cas clinique.

Le patient âgé de 30 ans, présentait une infertilité de 13 ans avec son épouse, âgée elle aussi de 30 ans. Il a eu en 1989 une biopsie testiculaire qui montrait un nombre élevé de spermatides allongées suggérant une obstruction. Une fibrose épидидymaire partielle a été constatée chirurgicalement en Janvier 1990. Le patient a eu une vasoépидидymostomie bilatérale, mais l'azoospermie a persisté. Le volume testiculaire était de 30 ml à droite et de 25 ml à gauche. Une procédure de prélèvement de spermatozoïdes épидидymaires pour FIV a été programmée. Seuls quelques spermatozoïdes immobiles purent être obtenus de la région la plus haute de la tête de l'épидидyme gauche. La région du rete testis a alors été abordée, donnant du liquide clair contenant de nombreux spermatozoïdes avec une mobilité à 10%. Étant donné la mobilité non nulle, l'extrémité du déférent a été retirée de l'ancienne anastomose et anastomosée sur le rete testis. Le sperme avait une mobilité de 45% après Percoll mais aucun des 6 ovocytes n'a été

fécondé. Une azoospermie a été constatée 3 mois après l'intervention mais une grossesse a débuté en Juillet 1992 avec naissance de l'enfant en Mars 1993. Le spermogramme montrait alors les caractéristiques suivantes: volume 3,9 ml, pH 7,8, numération 34 x 106/ml; mobilité 65% (a: 25%, b: 20%, c: 20%). La paternité du patient a été prouvée par "fingerprint" de l'ADN.

2. Discussion

Il s'agit du 3^e cas dans lequel une anastomose du déférent sur la région du rete testis a permis d'obtenir une normalisation du spermogramme et une grossesse. Ceci renforce l'hypothèse émise par Silber que les spermatozoïdes n'ont pas besoin de traverser l'épididyme pour devenir suffisamment matures pour féconder. Ceci explique aussi l'amélioration progressive du spermogramme après les anastomoses épидидymo-déférentielles. La mobilité est souvent pauvre pendant les 6 premiers mois. Elle s'améliore ensuite progressivement dans l'année suivante. La possibilité d'utilisation de spermatozoïdes pré-épididymaires n'est plus remise en question puisque des fécondations ont été obtenues par microinjection de spermatozoïdes testiculaires obtenus à partir de biopsies testiculaires (voir article suivant). Il existe des problèmes techniques dans la réalisation de telles anastomoses, en particulier chez les patients qui ont eu plusieurs tentatives chirurgicales antérieures. La lumière par laquelle sort le fluide testiculaire est souvent difficile à distinguer et à anastomoser. Dans le cas décrit, la muqueuse du canal déférent a pu être anastomosée avec la lumière étroite donnant accès au rete testis. La tension nécessaire est donnée en suturant la musculature à la tunique testiculaire. Ce cas montre en outre qu'une anastomose est possible même dans la région du rete testis et qu'elle devrait être tentée en dernier recours pour aider un couple à avoir un enfant. Une autre conclusion est que la fonction de l'épididyme comme organe de maturation est une fois de plus remise en question. Ces cas ne permettent pas d'exclure une importance du transport épидидymaire pour améliorer la maturation et la fécondance des spermatozoïdes, mais ils montrent que le passage dans l'épididyme n'est pas toujours absolument indispensable à la fécondation et l'obtention d'une grossesse. Dans ce cas, l'étude par "fingerprint" permet d'éliminer tout doute quant à la paternité.

Commentaire (H. Lejeune)

Si physiologiquement il a été confirmé que, dans l'espèce humaine comme dans les espèces animales, la mobilité (et probablement la fonction de fécondance) s'acquiert au cours du transit épидидymaire (Mathieu et al. 1992), il apparaît que les situations d'obstruction des voies excrétrices sont associées à une maturation "prématurée" des spermatozoïdes (c'est à dire dans des zones plus proximales que normalement). On pouvait penser que cette maturation prématurée était le fait d'un remaniement de l'état fonctionnel de l'épithélium épидидymaire dans les cas d'obstruction, peut être en raison de l'absence de transit normal du fluide épидидymaire. Cette observation suggère que la maturation puisse être obtenue dès le rete testis et dans une situation où le transit spermatique est rétabli. On regrette toutefois qu'aucun dosage de marqueur épидидymaire ne soit présenté, en particulier une fois la fertilité rétablie. Ceci aurait renforcé le poids de cette observation qui suggère la possibilité d'une fertilité naturelle en l'absence de participation épидидymaire.

REFERENCE

1. MATHIEU C, GUÉRIN JF, COGNAT M, LEJEUNE H, PINATEL MC, LORNAGE J. : Motility and fertilizing capacity of epididymal human spermatozoa in normal and pathological cases. *Fertil. Steril.*, 1992, 57 : 871-876.

•••

Fécondation normale d'ovocytes humains après extraction de spermatozoïdes testiculaires et injection intra-cytoplasmique

P. DEVROEY, J. LIU, Z. NAGY, H. TOURNAYE, S.J SILBER, A.C. VANSTEIRTEGHEM

Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium, and St. Luke's Hospital, St. Louis, Missouri

Fertil Steril. 1994 ; 62 : 639-641.

L'injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde dans l'ovocyte permet le développement d'embryons, l'établissement de grossesses et la naissance d'enfants dans des cas d'oligoasthénospermie extrême. Des résultats similaires ont été obtenus par l'association ICSI et aspiration par microchirurgie de spermatozoïdes épидидymaires en cas d'absence bilatérale congénitale des canaux déférents. Dans certains cas les deux épi-

didymes sont absents et la seule source de spermatozoïdes est le testicule. Le but de cette étude est d'établir l'efficacité de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes testiculaires.

1. Matériel et méthodes

Chez trois hommes infertiles ayant une azoospermie obstructive une exploration chirurgicale a été réalisée en juillet 1993. Une exploration scrotale antérieure avait établi que les épидидymes étaient absents. Aucun spermatozoïde n'a été trouvé dans les rete testis et ainsi une biopsie testiculaire a été réalisée le jour d'une ponction ovocytaire chez l'épouse après superovulation. Le tissu testiculaire a été placé dans une boîte de Pétri dans du milieu et dispersé mécaniquement avec une pipette et une aiguille. Après la dispersion, le tissu testiculaire est examiné au microscope à la recherche de spermatozoïdes. De nombreuses spermatides attachées aux cellules de Sertoli ont été observées et quelques spermatozoïdes isolés ont été vus (+ 20). Ces spermatozoïdes présentent de rares mouvements occasionnels sur place, ce qui est en accord avec les résultats antérieurement publiés. Sans autre traitement, le tissu testiculaire homogénéisé a été gardé à l'étuve, jusqu'au moment de la microinjection. Les ovocytes obtenus par ponctions après superovulation ont été décoronisés. Juste avant la procédure de microinjection le tissu testiculaire est centrifugé et la recherche de spermatozoïdes est réalisée sur le culot. Un spermatozoïde de morphologie normale et présentant une certaine mobilité est choisi et microinjecté dans le cytoplasme de chaque ovocyte II. Après 16 heures d'incubation in vitro le nombre d'ovocytes intacts et normalement fécondés est déterminé. Quarante heures plus tard le nombre d'ovocytes fécondés qui se sont divisés et leur aspect morphologique sont déterminés.

2. Résultats

Au total sur les 3 couples, 68 complexes cumulus-ovocytes ont été obtenus, 45 ovocytes en métaphase II ont été microinjectés, 44 ovocytes étaient intacts après microinjection, 20 ovocytes ont présenté 2 pronuclei, 17 ovocytes fécondés ont présenté un clivage. Pour un couple 3 embryons ont été transférés et 6 ont été congelés, pour un autre les 5 embryons obtenus ont été transférés en raison de l'âge de la femme supérieur à 40 ans et pour le 3^e couple, les 3 embryons obtenus ont été transférés. Par la suite 4 embryons ont été décongelés et 3 ont été transférés pour le premier couple. A moment de

l'écriture de l'article il n'avait pas été obtenu de grossesse.

3. Discussion

La FIV, en particulier lorsqu'elle est couplée avec l'ICSI s'est montrée efficace en utilisant des spermatozoïdes épидидymaires dans les azoospermies obstructives. Il reste un groupe de patients pour lesquels il n'est pas possible d'obtenir de tels spermatozoïdes épидидymaires. Il a été établi qu'il existe des spermatozoïdes mobiles dans le testicule. Ce travail montre qu'il est possible d'obtenir des fécondations et des segmentations normales à partir de ceux-ci. L'ICSI est indispensable en raison du faible nombre de spermatozoïdes que l'on obtient à partir des biopsies testiculaires. Bien que le passage des spermatozoïdes dans l'épididyme apparaisse nécessaire pour la FIV, il n'en est rien pour l'ICSI. L'obtention de fécondations normales dans des cas d'oligoasthénospermie sévères après aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épидидymaires ou testiculaires démontre que presque l'ensemble des hommes infertiles peuvent être aidés. Il ne subsiste que des situations finalement moins fréquentes comme l'aplasie germinale (Sertoli cell-only syndrome), les blocages de spermatogénèse et les anomalies génétiques (Syndrome de Klinefelter, maladies récessives autosomiques) pour lesquelles cette approche ne peut pas être envisagée. Ainsi avec l'avènement de l'ICSI, le recours au sperme de donneur sera réduit. Encore faut-il que les ressources financières le permettent. Un avantage des spermatozoïdes testiculaires est la possibilité de répéter plusieurs fois la biopsie testiculaire, geste facile à réaliser. Cette approche pourra permettre d'éviter les échecs des prélèvements de spermatozoïdes épидидymaires, des vasoépидидymostomies ou vasovasostomies.

Commentaire (H. LEJEUNE)

Depuis l'écriture de cet article, les résultats se sont confirmés. Comme le compte-rendu du congrès de la SALF de Deauville le précisera, des grossesses ont été obtenues et des enfants sont nés après isolement de spermatozoïdes à partir d'un fragment de parenchyme testiculaire et réalisation d'une ICSI. Il se confirme ainsi que le passage épидидymaire n'est pas indispensable au développement embryonnaire dès lors que le spermatozoïde est introduit dans le cytoplasme ovocytaire par micro-injection. Comme suggéré dans la discussion de cet article, dès que quelques spermatozoïdes peuvent être isolés d'un fragment de

parenchyme testiculaire, il est pensable de pratiquer une ICSI avec des chances de succès. Les auteurs semblent maintenant mettre en œuvre ce type d'approche non plus seulement dans des cas d'obstruction mais aussi dans des cas de troubles (incomplet) de la spermatogénèse.

Il semble bien que l'avènement de l'ICSI représente un tournant dans la prise en charge de l'infertilité masculine. Il apparaît en effet clairement que l'ICSI, avec si besoin spermatozoïdes testiculaires, représente un progrès sensible permettant de proposer des mesures thérapeutiques à certains patients qui jusqu'alors ne pouvait avoir recours qu'à des mesures de substitution, médicalisée (sperme de donneur) ou non (adoption), pour avoir des enfants. Il reste à fixer les indications de l'ICSI avec spermatozoïdes testiculaire et les "effets secondaires" éventuels, d'une part à l'échelon individuel (malformation ?) ou de la population (propagation de troubles de la fertilité d'origine génétiques au fil des générations).

Les réactions des milieux andrologiques ne sont pas neutres au sortir des communications des Docteurs Silber et Van Steirteghem dans les congrès. Chacun se demande en quoi son activité va se trouver modifiée si ce type de prise en charge se généralise, ce qui ne devrait pas manquer d'avoir lieu quand on voit les résultats très favorables annoncés par l'équipe qui maîtrise actuellement le mieux la technique de l'ICSI.

La maturation épидидymaire est devenue inutile, le spermatozoïde n'a plus à être mobile, doué de réaction acrosomique ou de fonction fusiogène, il lui suffit de contenir un génome haploïde sous une forme assez commode à manipuler car condensée. On peut l'obtenir à partir d'une biopsie testiculaire s'il ne se trouve pas dans le sperme. Il est même possible que sa maturation complète ne soit pas indispensable. Finalement de nombreux aspects de la prise en charge de l'infertilité masculine risquent de se trouver modifiés. D'aucuns craindront que l'indication de biopsie testiculaire + ICSI ne se trouve posée dès lors que le spermogramme n'est pas favorable, sans recherche étiologique. En fait si la prise en charge des infertilités masculines risque d'être modifiée, c'est parce qu'il existera dans la panoplie thérapeutique une méthode supplémentaire, ayant des indications précises mais qui ne saurait être généralisée sans réflexion. Comme la FIV a modifié la pratique de la chirurgie tubaire, la pratique de l'ICSI à partir de biopsie testicu-

laire modifiera sans doute dans certains cas, la pratique de la chirurgie de reconstruction des voies excrétrices masculines. Il faut en outre reconnaître qu'il reste aux biologistes de la reproduction à relever le défi de la maîtrise de l'ICSI dans la majorité des laboratoires. Le coût de l'ICSI - biopsie testiculaire en matériel, en temps, en personnel et finalement en terme financier ne sera pas négligeable et représentera un autre argument pour poser les indications de manière logique et réfléchie.

•••

TRAITEMENT DE LA STERILITE MASCULINE

Efficacité d'un traitement de l'infécondité masculine par Interféron

M. YAMAMOTO, K. MIYAKE

Department of Urology, Nagoya University
School of Medicine Nagoya 466 Japan

The Lancet, 344: 614, 1994

Les auteurs étudiant les effets de l'Interféron sur la spermatogénèse du rat, mettent en évidence un effet positif chez certains animaux. Sur cette base ils ont administré de l'Interféron alpha à 4 patients présentant une infécondité d'une durée de 1,5 à 4 ans.

Les quatre patients avaient un bilan hormonal normal, et un volume de l'éjaculat normal. Aucun des patients n'avait un antécédent chirurgical, d'orchite ourlienne ; aucun n'avait de varicocèle et tous étaient étiquetés infécondité idiopathique. Un présentait une azoospermie et un volume testiculaire de 13 ml. Trois avaient une oligospermie sévère (100 000 spermatozoïdes/ml) et un volume testiculaire quasiment normal.

L'Interféron a été administré en injection intramusculaire à la dose de 3 millions d'unité, 5 jours par semaine. Les analyses de sperme furent effectuées tous les 15 jours et le traitement par Interféron arrêté lorsque la qualité du sperme atteignit un plateau après 2 mois.

Les 3 patients oligospermes voient leur concentration augmenter de 100 000 spermatozoïdes par millilitre à 15, 25, 20 millions par millilitre après respectivement 8, 9, 9,5 semaines de traitement. Le patient azosperme voit augmenter sa concentration à 2 millions/ml après 12 semaines de traitement.

2 des 3 patients oligospermes obtiennent une grossesse.

Après traitement par l'interféron aucun changement dans les valeurs individuelles de LH, FSH et testostérone.

Les auteurs n'ont pas d'explication pharmacologique pour expliquer les résultats. Ils suggèrent que le traitement par Interféron pourrait agir

par son effet anti-prolifératif chez les patients dont l'infécondité idiopathique pourrait être due à une prolifération de collagène ou de mastocytes qu'ils ont antérieurement mis en évidence dans le testicule.

Ils concluent en précisant que l'interféron pourrait être une nouvelle voie d'approche de l'infertilité masculine.

Commentaires (L. BUJAN)

C'est en recherchant les effets secondaires de l'Interféron sur la spermatogénèse que les auteurs découvrent par hasard l'effet de stimulation de la spermatogénèse et l'appliquent à un nombre réduit de patients. Cette voie jusqu'alors non explorée (nous nous posions plutôt la question des effets secondaires de l'Interféron lors des traitements en hématologie et maladies infectieuses) semble particulièrement intéressante au vu des résultats préliminaires obtenus chez ces patients. On peut toutefois noter que "l'oligospermie idiopathique" est probablement un symptôme regroupant des causes variées et qu'un traitement montrant une efficacité sur un nombre réduit de sujets doit être vérifié sur une plus large série.

Les auteurs avancent l'hypothèse d'une action antiproliférative de l'interféron au niveau des mastocytes et du collagène pour expliquer son action positive sur la production de sperme.

D'autres hypothèses pourraient également être proposées. Les interleukines apparaissent comme des médiateurs biologiques qui, se fixant sur des récepteurs membranaires, vont déclencher diverses réponses cellulaires en activant ou en réprimant l'expression de certains gènes.

Les testicules de rats ou d'hommes produisent de l'interleukine 1. Cette production semble d'origine sertolienne et dépend de l'âge, de facteurs paracrines, du stade de la spermatogénèse. Elle semble stimulée par les corps résiduels. De l'interleukine 6 est également produite par la Sertoli, production stimulée par FSH, les restes cytoplasmiques et le cytoplasme des spermatides.

Ainsi les interleukines, dont le rôle au sein du testicule commence à être exploré, semblent avoir une importance primordiale dans les interrelations cellules germinales / cellules de Sertoli et notamment ont une fonction de signal dans les communications intercellulaires.

Par ailleurs divers protocoles expérimentaux chez l'animal suggèrent que l'interleukine 1 a semble

avoir un effet de stimulation de synthèse d'ADN dans les spermatogonies, durant la méiose, et que les taux de cette interleukine sont maximum lorsque le stade de l'épithélium séminifère correspond à un synthèse importante en ADN.

Les expériences effectuées chez l'animal et cette étude réalisée chez l'homme ont le mérite de montrer une nouvelle voie de traitement de l'infécondité masculine. Cependant, il serait souhaitable d'une part d'avoir les résultats détaillés de cette étude ainsi que les résultats du spermogramme effectué à distance de la fin du traitement et d'autre part, de conforter ces résultats par une étude sur un nombre plus important de patients suivant la méthodologie des essais thérapeutiques.

•••

CONTRACEPTION - STERILISATION

Paternité sans spermatozoïde apparent après vasectomie

J.C. SMITH*, D. CRANSTON*, T. O'BRIEN*,
J. GUILLEBAUD**, J. HINOMARSH°, A.G. TURNER°°

* Department of Urology and Elliot Smith Clinic,
Churchill Hospital, Oxford ; ** Margaret Pyke
Centre, London ; ° South Cleveland Hospital,
Middlesbrough, Cleveland ; °° Peterborough and
Stamford Hospital, Lincolnshire

The Lancet, Vol. 344, 30, 2 juillet 1994

La vasectomie est une méthode de contraception permanente efficace et largement répandue à travers le monde. Le succès de l'opération est vérifié par la pratique de 2 à 3 spermogrammes dans les suites.

L'échec précoce de la vasectomie, révélé par la non disparition des spermatozoïdes dans l'éjaculat, est dû à une recanalisation du déférent. L'échec tardif correspond à la réapparition des spermatozoïdes après 2 spermogrammes négatifs ; 6 cas (constatés après conception) ont été publiés dans une série de plus de 14.000 vasectomies.

Nous avons nous-mêmes relevé 6 cas de paternité prouvée par l'analyse du DNA, avec persistance de l'azoospermie. Ces 6 cas ont été observés entre 1984 et 1991, période pendant laquelle environ 500.000 vasectomies ont été réalisés en Grande-Bretagne.

Par ailleurs nous avons effectué un spermogramme un an après vasectomie, chez 1.000 patients, et observé dans 6 cas un retour des spermatozoïdes dans l'éjaculat. Aucune conception n'a été signalée.

Notre conclusion est que le risque de recanalisation tardive après vasectomie est très faible, de l'ordre de 1/2.000, et qu'il ne remet pas en cause la méthode. Cependant, compte tenu du caractère dramatique pour le couple (interrogation sur la paternité) de la survenue d'une grossesse après vasectomie, les patients doivent être informés de l'existence du risque.

Commentaires (J.C. CZYBA)

Les auteurs, qui ne croient pas à la possibilité de transmettre du DNA à sa descendance autrement que par un spermatozoïde provenant de ses propres testicules, émettent l'hypothèse que les 6 patients, pères mais azoospermiques, ont certainement excrété quelques spermatozoïdes au moment de la conception. Nous partageons sans réserve cette façon de voir.

Nous constatons volontiers avec les auteurs que sans l'analyse du DNA il aurait été impossible de ne pas considérer comme certaine l'intervention d'un tiers. Nous pensons aussi qu'en cas de paternité après échec de la vasectomie, avec réapparition des spermatozoïdes constatée par le spermogramme, le père risque d'être en proie à un doute rongeur malgré l'information donnée par le chirurgien. Dans ce cas, le recours à l'analyse du DNA pourrait également être envisagé, à la demande expresse du patient, en sachant malgré tout que la réponse peut être en faveur de la participation d'un tiers.

Rappelons que l'analyse de DNA ne peut être effectué dans un tel cas que dans le cadre d'une procédure judiciaire.

•••