

L'Inhibine B sérique, marqueur sensible de la production spermatique chez l'homme

Y. FULLA¹, J. AUGER², S. ALLALI², L. NONNENMACHER¹, P. JOUANNET²

¹ Laboratoire de Médecine Nucléaire, ² Service de Biologie de la Reproduction,
Hôpital Cochin, Paris

RÉSUMÉ

Des données acquises au cours des dernières années indiquent que le dosage de l'inhibine B sérique est un marqueur très utile de la spermatogenèse. Le propos du présent travail était l'évaluation de cette technique à l'occasion de son transfert technologique dans notre hôpital par l'étude d'hommes dans différentes situations cliniques consultant pour infécondité du couple. Nous avons ainsi pu confirmer l'intérêt majeur du dosage de l'inhibine B par le « dimeric assay » à côté du dosage de la FSH pour évaluer de manière indirecte la spermatogenèse de ces hommes. Nous avons trouvé que les valeurs d'inhibine B sérique étaient en corrélation directe avec le niveau de production spermatique et en corrélation inverse avec le taux de FSH. Cependant les taux d'inhibine B présentaient un meilleur pouvoir discriminant que les taux de FSH. Par exemple, la mesure de l'inhibine B différenciait les hommes présentant une oligozoospermie sévère des hommes azoosperme de manière beaucoup plus significative que la FSH ($p = 0,0002$ vs $p = 0,007$ respectivement). D'une manière générale, les résultats obtenus dans la présente étude étaient similaires à ceux rapportés dans les études déjà publiées reposant sur la même technique de dosage. En résumé et sur le plan pratique, le dosage de l'inhibine B est sensible et beaucoup plus spécifique que celui de la FSH pour refléter le niveau de fonctionnalité de la spermatogenèse et dans les cas des azoospermies, le dosage de l'inhibine B

semble particulièrement intéressant pour distinguer azoospermies sécrétoires et excrétoires.

Mots-clés : *Inhibine B, FSH, testicule, spermatogenèse, concentration de spermatozoïdes, infertilité masculine.*

I. INTRODUCTION

Les fonctions principales du testicule humain sont la stéroïdogenèse et la spermatogenèse. La LH sécrétée au niveau de l'antéhypophyse stimule la production de la testostérone et du 17β -œstradiol par les cellules de Leydig et la testostérone exerce un effet de rétrocontrôle sur la sécrétion de LH. De manière similaire, la FSH stimule la spermatogenèse et la production d'inhibine par les cellules de Sertoli. L'inhibine exerce un effet de rétrocontrôle sur la sécrétion de FSH et module la spermatogenèse [5]. Il existe deux formes actives d'inhibines : l'inhibine A et l'inhibine B. Chacune est constituée de sous unités α identiques et de sous unités β dissemblables connectées par des ponts disulfures. Bien que les inhibines soient

Correspondance : J. Auger, Service de Biologie de la Reproduction / CECOS, Hôpital Cochin, 123, Bd de Port Royal, 75014 Paris

sécrétées sous des formes précurseurs de haut poids moléculaire et sous forme de sous unités libres, la bioactivité de l'inhibine est fonction de la formation de dimère α/β [5, 25]. Notre connaissance des rôles physiologiques de l'inhibine dont l'existence et les possibles rôles ont été suggérés pour la première fois par McCullagh en 1932 [19] a été très limitée jusqu'en 1993 car jusqu'à cette époque les seules méthodes de dosage existantes ne distinguaient pas les formes bioactives et inactives. A partir de 1993, deux méthodes de dosage très spécifiques et très sensibles des inhibines bioactives ont été développées [13, 14]. Illingworth et collaborateurs ont démontré que l'inhibine B, dimère des sous unités α et β B, était la forme d'inhibine physiologiquement importante chez le sujet masculin alors que chez tous les hommes étudiés, l'inhibine A était indétectable [15], différence notable avec la femme pour laquelle l'inhibine A est la forme prédominante produite à la fois par le follicule ovarien dominant et par le corps jaune. Au cours des sept dernières années, plusieurs publications ont indiqué l'intérêt clinique du dosage de l'inhibine B chez l'homme [1, 7, 8, 12, 16, 17, 18, 22, 26]. Il a été montré que le taux sérique d'inhibine B était inversement corrélé au taux de FSH [1, 15, 22, 23] et que le taux d'inhibine B sérique était un fidèle reflet de la spermatogenèse par la mise en évidence de corrélations positives à la fois avec la concentration spermatique et avec le volume testiculaire [4, 22, 23].

Nous avons récemment décidé le transfert technologique du dosage de l'inhibine B dans notre hôpital pour le suivi et la prise en charge des infertilités d'origine masculine. Nous rapportons une étude préliminaire sur les résultats du dosage de l'inhibine B dans différents groupes d'hommes présentant soit un sperme normal soit des altérations variées du sperme, reflétant des anomalies de la production spermatique, en relation avec diverses pathologies de la spermatogenèse.

II. PATIENTS ET MÉTHODES

1. PATIENTS

L'étude a porté sur 106 hommes venus faire un spermogramme dans le laboratoire de Biologie

de la Reproduction de l'hôpital Cochin dans le cadre d'un bilan d'une infécondité du couple.

2. ANALYSE DU SPERME, EXAMEN CLINIQUE ET EXAMENS COMPLÉMENTAIRES

Le sperme a été recueilli par masturbation au laboratoire après un délai d'abstinence sexuelle de trois à cinq jours. L'examen du sperme a été fait selon les recommandations de l'OMS [20].

Une partie de ces hommes a été vue secondairement dans le cadre de la consultation d'andrologie du laboratoire. Ils ont bénéficié d'un examen clinique des bourses et, si nécessaire, d'examen complémentaires pour préciser le diagnostic (notamment, une biochimie séminale et/ou un caryotype dans le cas des azoospermies). Enfin, quelques hommes pour lesquels le diagnostic évoqué était une azoospermie d'origine sécrétoire ont eu une biopsie testiculaire avec examen anatomo-pathologique et recherche de spermatozoïdes testiculaires dans le but d'une congélation avant fécondation assistée (ICSI). Tous ces éléments ont permis une classification clinico-biologique des patients, notamment dans les cas d'azoospermie.

3. DOSAGES HORMONAUX USUELS ET DOSAGE DE L'INHIBINE B

Pour chacun des hommes les dosages hormonaux usuels, folliculo-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) et testostérone (Testo) ainsi que le dosage de l'inhibine B (INH-B) sérique ont été systématiquement faits dans le laboratoire d'hormonologie du service de médecine nucléaire de l'hôpital Cochin. FSH et LH ont été dosées le jour du prélèvement sur sérum frais par EIA sur automate Immuno 1 (Bayer) : FSH sur le standard WHO 2ème IRP 78/549 et LH sur le standard WHO 1er IRP 68/40. La testostérone a été dosée en série sur sérothèque congelée à -20°C par méthode RIA Tritium après chromatographie plus extraction. INH-B a été dosée en série sur sérothèque congelée à -20°C par méthode ELISA avec la trousse Sérotec (Argène) utilisant les anticorps de Groome spécifiques de l'inhibine B [13, 14]. Une prévalidation du dosage d'INH-B à l'hôpital Cochin a été faite à l'aveugle à partir de 15 prélèvements de

III. RÉSULTATS

sérums congelés de patients pour lesquels le dosage d'INH-B avait déjà été effectué dans le laboratoire de référence de A.M. Andersson [2, 6, 16, 21] au Righospitalet de Copenhague.

4. RELATIONS ENTRE TAUX D'INHIBINE B, CONCENTRATION SPERMATIQUE ET CATÉGORIES DIAGNOSTIQUES

Dans cette étude préliminaire, nous avons étudié principalement :

1°) L'intérêt du dosage de l'inhibine B à côté du dosage de la FSH, de la LH et de la testostérone pour distinguer différentes catégories diagnostiques : sperme normal, oligo-asthénospermie (OAT) et azospermie, en distinguant sur la base des informations complémentaires, azospermie sécrétoire en relation avec un déficit de la spermatogenèse et excrétoire en relation avec une obstruction sur le tractus génital et donc, une spermatogenèse possiblement normale,

2°) l'intérêt du dosage de l'inhibine B à côté du dosage de la FSH, de la LH et de la testostérone pour caractériser différents niveaux de production spermatique et,

3°) si deux étiologies d'azospermies sécrétoires, syndrome de Klinefelter et syndrome des cellules de Sertoli isolées se distinguaient par des valeurs différentes d'inhibine B à côté des taux de FSH, de LH et de testostérone.

5. STATISTIQUES

Les relations entre les mesures des dosages d'INH-B de référence et à Paris ont été testées par une analyse en régression linéaire (test r de Pearson) et une comparaison par test non paramétrique de Wilcoxon sur série appariée. Les différences des valeurs d'INH-B et de FSH pour les catégories de concentration spermatique étudiées ou en fonction de l'étiologie ont été analysées avec le test non paramétrique de Mann Whitney. Dans ces comparaisons, lorsque des valeurs étaient inférieures au seuil de détection trouvé, elles étaient considérées égales à zéro, par convention. Les relations entre FSH et INH-B ont été testées par une analyse en régression linéaire (test r de Pearson). Les calculs et les graphiques ont été réalisés avec le logiciel Statview (Alysd, Meylan).

1. ÉTUDE DE PRÉVALIDATION

La Figure 1 montre la relation entre les valeurs d'inhibine B mesurées à Paris et dans le laboratoire de référence à Copenhague. La corrélation était satisfaisante ($r=0,99$; $[\text{INH-B Paris}] = 1,2 \times [\text{INH-B Copenhague}] - 9,7$) et il n'y avait pas de différence significative entre les mesures faites à Paris et à Copenhague ($p=0,09$). Les limites de détection et les coefficients de variation inter-essais étaient les suivants : 15 pg/mL et 15%, 20 pg/mL et 17% respectivement.

2. CATÉGORIES DIAGNOSTIQUES ET INHIBINE B

Le profil de distribution des valeurs d'INH-B et de FSH pour les 106 patients regroupés en quatre grandes catégories diagnostiques selon les normes de l'OMS [20], sperme normal, OAT et azospermies d'origine sécrétoire et excrétoire présentait un aspect différent en fonction de ces catégories (Figure 2). Les valeurs moyennes étaient significativement différentes (Tableaux 1 et 2). Le taux moyen d'INH-B dans les azospermies sécrétoires et dans les OAT était respectivement dix fois et deux fois inférieur à celui trouvé dans le cas des spermés normaux ($p<0,0001$ et $p=0,001$, respectivement). Les taux d'INH-B et de FSH n'étaient comparables entre eux que pour les catégories sperme normal et azospermie excrétoire. Les différences observées pour LH étaient globalement similaires à celles observées pour FSH alors que les résultats pour la testostérone indiquaient des différences significatives entre les catégories sperme normal et OAT ($p=0,04$) et azospermie excrétoire et OAT ($p=0,05$).

La Figure 3 présente la corrélation entre FSH et inhibine B pour les quatre catégories diagnostiques étudiées. La relation globale entre FSH et INH-B n'était pas linéaire et il existait une relation inverse entre les taux de FSH et d'INH-B (Figure 3a). Les azospermies sécrétoires (FSH élevée et INH-B très basse) comparées aux azospermies excrétoires (FSH normale et INH-B plus élevée) étaient bien séparées par ce mode de représentation ainsi que les spermés normaux comparés aux azospermies sécrétoires. Nous avons trouvé que les

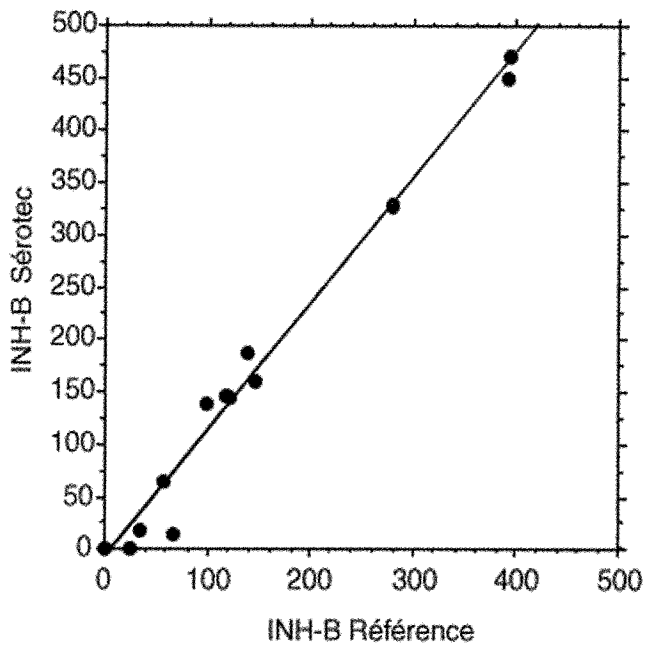


Figure 1 : Corrélation entre les mesures d'inhibine B de référence (Copenhague) et les mesures d'inhibine B faites à Paris (trousse Sérotec) (n= 15)

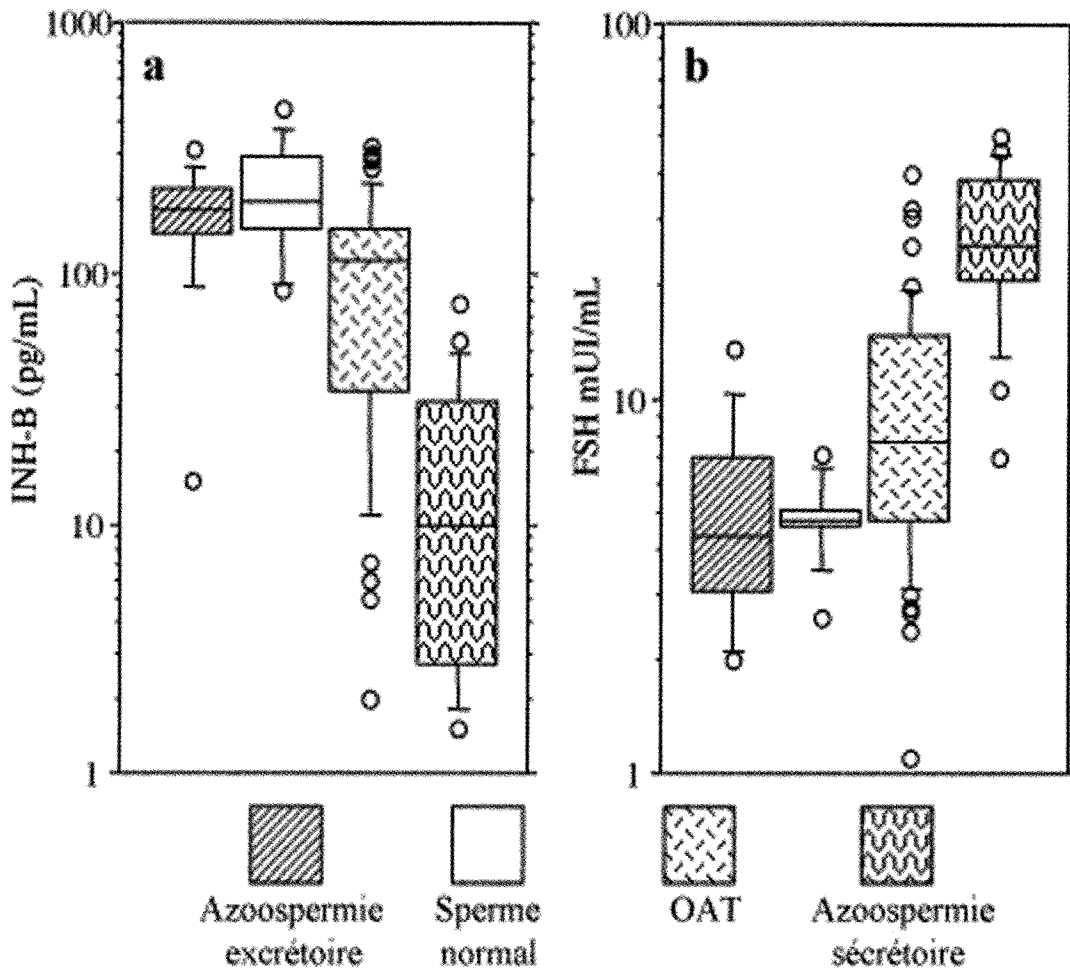


Figure 2 : Distributions de l'inhibine B (a) et de la FSH (b) selon les quatre catégories diagnostiques étudiées ; (10^{ème}, 25^{ème}, 50^{ème}, 75^{ème} et 90^{ème} percentiles et valeurs extrêmes : o)

Tableau 1 : Valeurs moyennes (écart-type) et médianes des dosages de l'inhibine B, de FSH de la testostérone et de LH dans les 4 catégories diagnostiques étudiées*

MARQUEUR	CATÉGORIE DIAGNOSTIQUE	MOYENNE (ÉCART-TYPE)	MÉDIANE
Inhibine B (ng/mL)	Sperme normal	222 (109)	196
	OAT	112 (85)	115
	Azoospermie sécrétoire	17 (21)	10
	Azoospermie excrétoire	178 (76)	180
FSH (mUI/mL)	Sperme normal	4,9 (1,2)	4,8
	OAT	10,3 (7,9)	7,8
	Azoospermie sécrétoire	28,8 (11,9)	26,1
	Azoospermie excrétoire	5,3 (3,4)	4,3
Testostérone (ng/mL)	Sperme normal	4,2 (1,1)	4,1
	OAT	5,2 (1,4)	5,2
	Azoospermie sécrétoire	4,1 (1,9)	4,0
	Azoospermie excrétoire	4,3 (1,4)	4,0
LH (mUI/mL)	Sperme normal	5,1 (1,8)	5,0
	OAT	6,8 (3,6)	6,1
	Azoospermie sécrétoire	16,4 (8,7)	15,1
	Azoospermie excrétoire	4,3 (1,9)	4,5

*Sperme normal : Concentration $\geq 20 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml et % de spermatozoïdes mobiles progressifs $\geq 50\%$ et % de spermatozoïdes typiques $\geq 30\%$ (n=11); OAT : oligo-asthéo-térazoospermie : dans cette série, concentration $< 20 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml et % de spermatozoïdes mobiles progressifs $< 50\%$ et % de spermatozoïdes typiques $< 30\%$ (n=62); Azoospermie sécrétoire : absence de spermatozoïde à l'examen direct et après centrifugation avec éléments de l'anamnèse et/ou de l'examen clinique et/ou des examens complémentaires en faveur d'une origine sécrétoire (non obstructive) (n=22) ; Azoospermie excrétoire : absence de spermatozoïde à l'examen direct et après centrifugation avec éléments de l'anamnèse et/ou de l'examen clinique et/ou des examens complémentaires en faveur d'une origine excrétoire (obstructive) (n=11)

Tableau 2 : Signification des différences* pour les valeurs d'inhibine B et de FSH (a), de Testostérone et de LH (b) pour les 4 catégories diagnostiques étudiées**

a				
FSH	SPERME NORMAL	OAT	AZOOSPERMIE SÉCRÉTOIRE	AZOOSPERMIE EXCRÉTOIRE
Sperme normal		< 0,001	< 0,0001	0,38
OAT	0,02		< 0,0001	0,005
Azoospermie sécrétoire	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001
Azoospermie excrétoire	0,42	0,01	< 0,0001	
				Inhibine B

b				
LH	Sperme normal	OAT	Azoospermie sécrétoire	Azoospermie excrétoire
Sperme normal		0,04	0,68	0,26
OAT	0,20		0,10	0,05
Azoospermie sécrétoire	< 0,0001	< 0,0001		0,70
Azoospermie excrétoire	0,87	0,03	< 0,0001	
				Testostérone

* Valeurs de p : comparaisons par le test de Mann Whitney ;

** voir Tableau 1

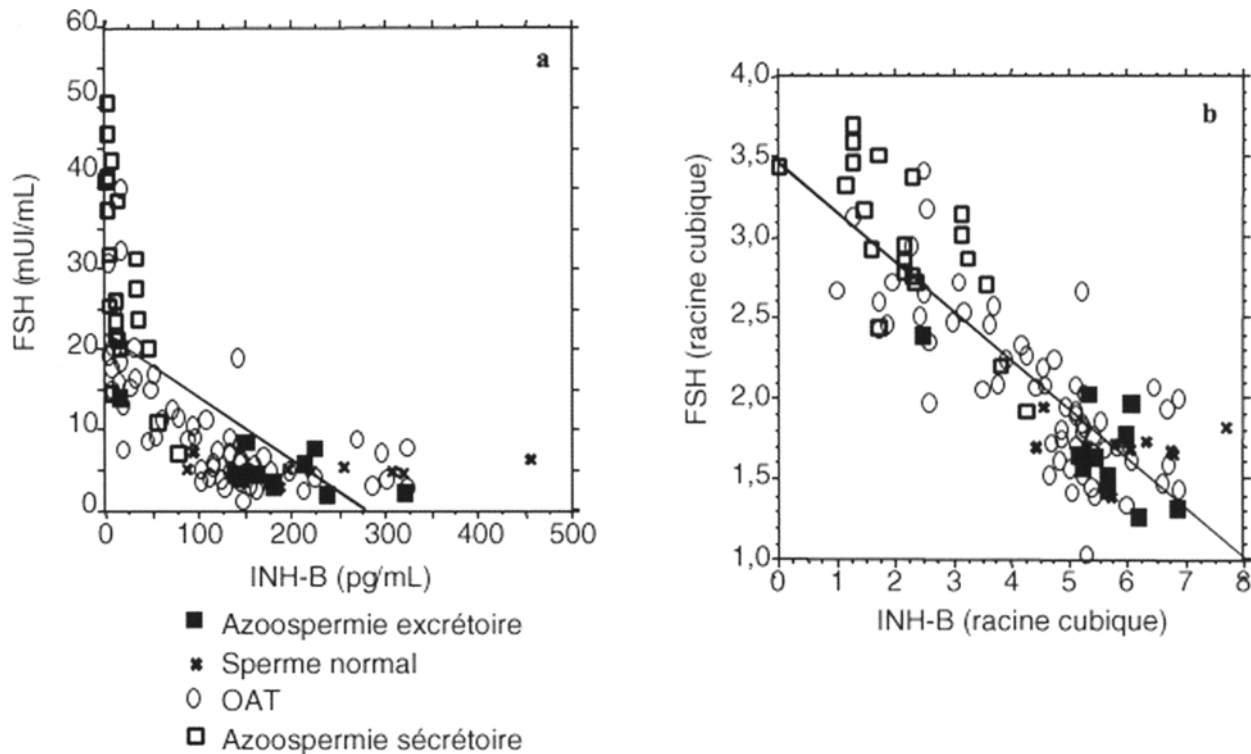


Figure 3 : Relation entre FSH et inhibine B en valeurs absolues (a) et après transformation racine cubique pour les deux variables (b) sur l'ensemble des cas étudiés et pour les quatre catégories diagnostiques étudiées

distributions de FSH et d'INH-B étaient parfaitement normalisées par une transformation racine cubique et dans ces conditions, la relation entre les deux variables transformées était linéaire avec une valeur de r plus élevée : [racine cubique (FSH)] = $-0,31 \times$ [racine cubique (INH-B)] + 3,5 ; $r = -0,85$; $p < 0,001$ (vs $r = -0,67$ avant transformation) (Figure 3b). L'inhibine B n'était pas significativement corrélée à la testostérone ($r = 0,11$) et était négativement corrélée à la LH ($r = -0,49$; $p < 0,001$).

3. PRODUCTION SPERMATIQUE ET INHIBINE B

Cinq catégories de concentrations spermaticques basées sur les définitions usuelles en clinique ont été étudiées pour 70 sujets, en excluant les situations d'azoospermie excrétoire pour lesquelles il n'était pas possible d'avoir une idée précise du rendement de la spermatogenèse et les dossiers pour lesquels au moins une donnée était manquante :

- Azoospermie sécrétoire (aucun spermatozoïde à l'examen direct et après centrifugation)
- Oligozoospermie extrême ($< 1 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml)
- Oligozoospermie sévère ($\geq 1 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml - $< 5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml)
- Oligozoospermie modérée ($\geq 5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml - $< 20 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml)
- Concentration normale ($\geq 20 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml)

Les distributions dans les différentes catégories et pour les 4 marqueurs dosés sont présentées dans la Figure 4. Les valeurs moyennes et les médianes pour chaque catégorie et chaque marqueur et les différences entre catégories sont présentées respectivement dans les Tableaux 3 et 4. Un taux d'inhibine B supérieur à 90 pg/mL distinguait 100 % des cas de concentration normale, 92 % des oligozoospermies modérées, 50 % des oligozoospermies sévères, 41 % des oligozoospermies extrêmes et 0 % des azoospermies. Globalement, les variations de LH suivaient les variations de FSH et la testostérone était peu différente dans les cinq catégories. La Figure 5 présente la relation entre FSH et INH-B après transformation

racine cubique pour les deux variables. Dans cette série, les valeurs $> 5,4$ mUI/mL pour la FSH et < 82 pg/mL pour l'inhibine B permettaient de distinguer 100 % des azoospermies sécrétoires, 60 % des oligozoospermies extrêmes, 50 % des oligozoospermies sévères, 8 % des oligozoospermies modérées et 0 % des spermatozoïdes de concentration normale. Sur les 70 cas étudiés, il existait une relation négative entre INH-B et LH ($r = -0,50$; $p < 0,001$) et aucune relation significative entre INH-B et testostérone ($r = 0,13$).

4. INHIBINE B ET HORMONES DANS LES SYNDROMES DE KLINEFELTER ET DES CELLULES DE SERTOLI ISOLÉES

Parmi les 22 cas d'azoospermies sécrétoires pour lesquels les dosages hormonaux et de l'inhibine B ont été réalisés, il y avait cinq cas pour lesquels un caryotype avait révélé un syndrome de Klinefelter et quatre cas pour lesquels l'examen anatomo-pathologique de biopsies testiculaires avait conclu à un syndrome des cellules de Sertoli isolées. Le Tableau 5 indique des distributions significativement différentes pour la FSH et la LH dans ces deux situations. Pour le syndrome de Klinefelter, toutes les valeurs d'INH-B étaient inférieures au seuil de détection, la FSH était plus de trois fois supérieure à la normale et la LH deux fois supérieure à la normale alors que dans la situation du syndrome des cellules de Sertoli isolées, l'INH-B était supérieure au seuil de détection dans deux cas sur 4 (31 et 55 pg/mL), la concentration moyenne de FSH était deux fois supérieure à la normale et la concentration de LH était normale. Les niveaux de testostérone étaient normaux et similaires dans les deux situations.

IV. DISCUSSION

Dans cette étude, nous confirmons l'intérêt majeur du dosage de l'inhibine B par le « dimeric assay », à côté du dosage de la FSH, pour évaluer de manière indirecte la spermatogenèse d'hommes consultant pour infécondité du couple. Nous avons trouvé que les valeurs d'inhibine B sérique étaient en corrélation directe avec le niveau de production spermaticque et en

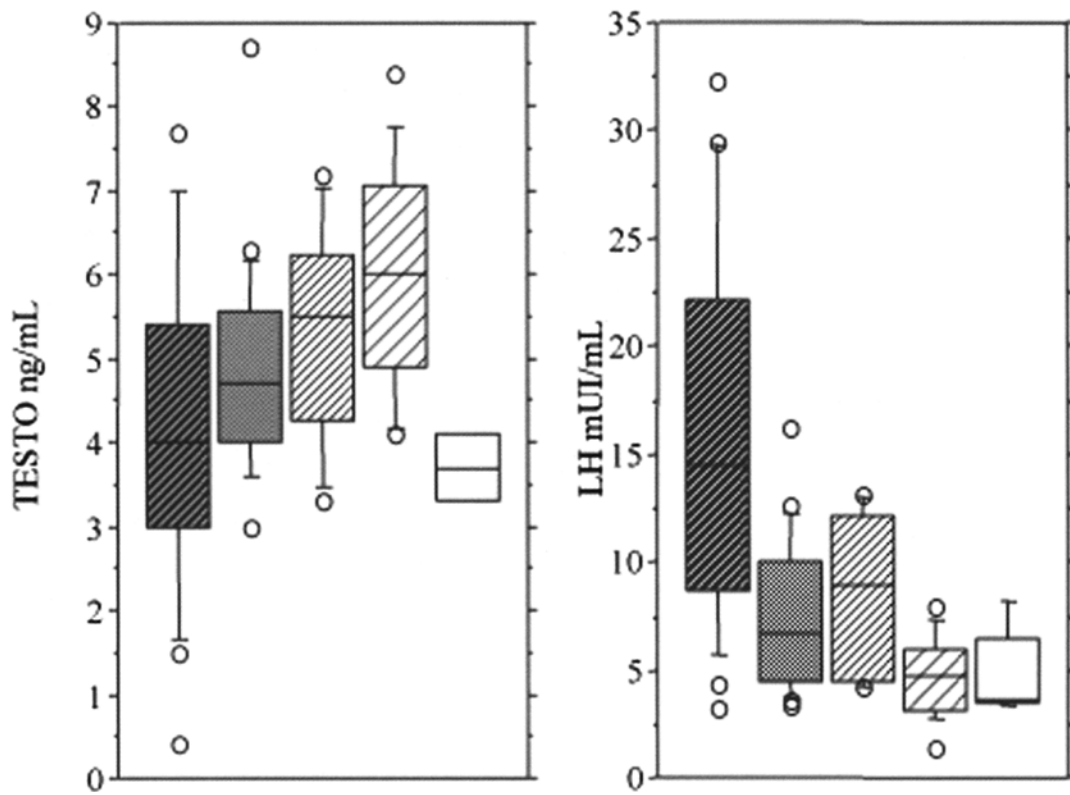
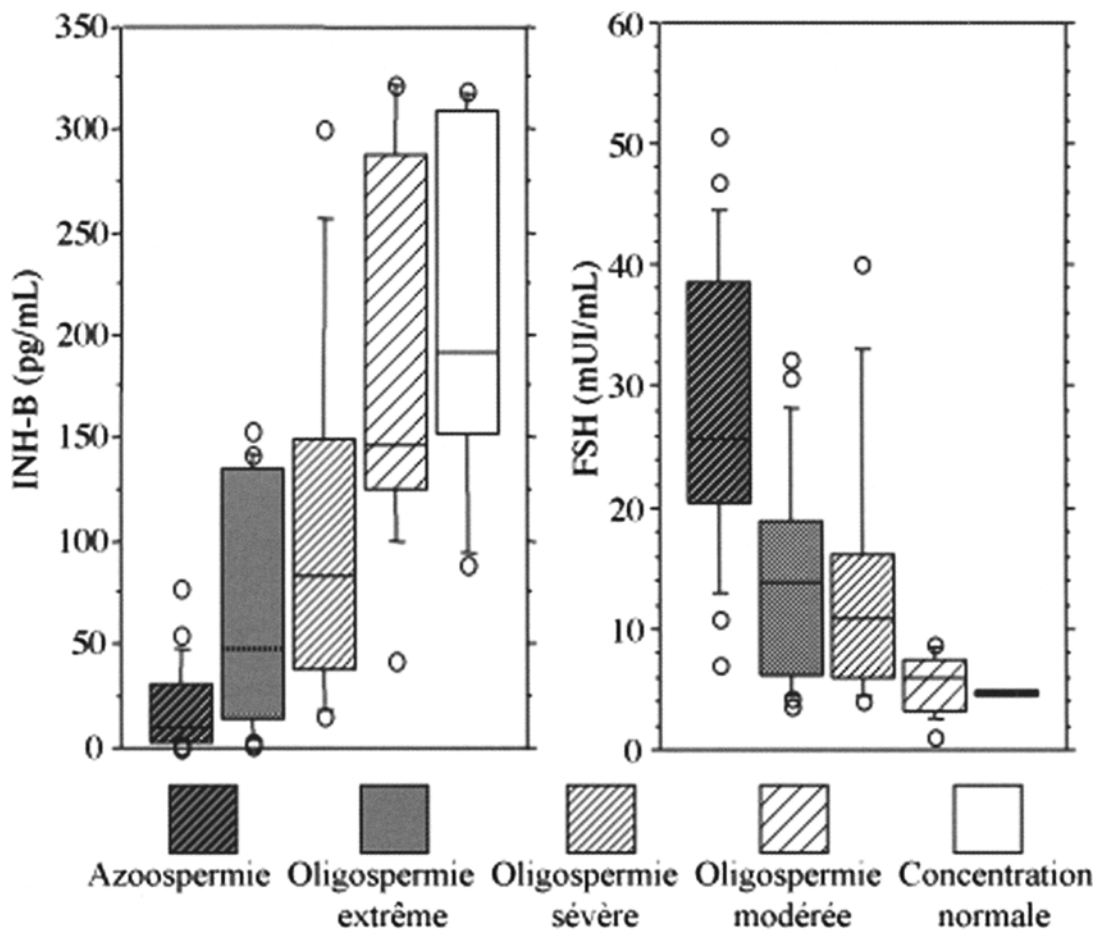


Figure 4 : Distributions de l'inhibine B (a), de la FSH (b), de la testostérone (c) et de la LH (d) pour les cinq catégories de concentrations étudiées ; (10^{ème}, 25^{ème}, 50^{ème}, 75^{ème} et 90^{ème} percentiles et valeurs extrêmes, o)

Tableau 3 : Valeurs moyennes (écart-type) et médianes des dosages d'inhibine B, de FSH de testostérone et de LH dans les 5 catégories de concentrations spermatiques étudiées*

MARQUEUR	CATÉGORIE DIAGNOSTIQUE	MOYENNE (ÉCART-TYPE)	MÉDIANE
Inhibine B (mg/mL)			
	Concentration normale	209 (92)	192
	Oligozoospermie modérée	182 (91)	146
	Oligozoospermie sévère	107 (93)	83
	Oligozoospermie extrême	63 (58)	47
	Azoospermie (origine sécrétoire)	17 (21)	10
FSH (mUI/mL)			
	Concentration normale	4,7 (0,2)	4,7
	Oligozoospermie modérée	5,3 (2,5)	5,9
	Oligozoospermie sévère	13,7 (11,6)	10,9
	Oligozoospermie extrême	14,2 (8,6)	13,8
	Azoospermie (origine sécrétoire)	28,1 (12,1)	25,8
Testostérone (ng/mL)			
	Concentration normale	3,7 (0,5)	3,7
	Oligozoospermie modérée	6,0 (1,3)	6,0
	Oligozoospermie sévère	5,3 (1,3)	5,5
	Oligozoospermie extrême	4,9 (1,3)	4,7
	Azoospermie (origine sécrétoire)	4,2 (2,0)	4,0
LH (mUI/mL)			
	Concentration normale	4,9 (2,1)	3,6
	Oligozoospermie modérée	4,6 (1,9)	4,7
	Oligozoospermie sévère	8,5 (3,8)	8,9
	Oligozoospermie extrême	7,4 (3,6)	6,7
	Azoospermie (origine sécrétoire)	16,1 (8,7)	14,5

* Concentration normale: $\geq 20 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml (n=6) ; Oligozoospermie modérée: $\geq 5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml- $< 20 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml (n=13) ; Oligozoospermie sévère: $\geq 1 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml- $< 5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml (n=8) ; Oligozoospermie extrême: $< 1 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml (n=21) et, Azoospermie sécrétoire : aucun spermatozoïde à l'examen direct et après centrifugation avec éléments de l'anamnèse et/ou de l'examen clinique et/ou des examens complémentaires en faveur d'une origine sécrétoire (non obstructive) (n=22)

Tableau 4 : Signification des différences* pour les valeurs d'inhibine B et de FSH (a), de testostérone et de LH (b) pour les 5 catégories de concentrations spermatiques étudiées**

a					
FSH	CONCENTRATION NORMALE	OLIGOZOOSPERMIE MODÉRÉE	OLIGOZOOSPERMIE SÉVÈRE	OLIGOZOOSPERMIE EXTRÊME	AZOOSPERMIE
Concentration normale		0,57	0,07	< 0,0001	< 0,0001
Oligozoospermie modérée	0,60		0,08	< 0,0001	< 0,0001
Oligozoospermie sévère	0,11	0,02		0,14	0,0002
Oligozoospermie extrême	0,02	0,001	0,90		0,0011
Azoospermie	0,0002	< 0,0001	0,007	0,0001	Inhibine B

b					
LH	CONCENTRATION NORMALE	OLIGOZOOSPERMIE MODÉRÉE	OLIGOZOOSPERMIE SÉVÈRE	OLIGOZOOSPERMIE EXTRÊME	AZOOSPERMIE
Concentration normale		0,006	0,049	0,09	0,63
Oligozoospermie modérée	0,82		0,31	0,03	0,007
Oligozoospermie sévère	0,08	0,005		0,47	0,17
Oligozoospermie extrême	0,15	0,016	0,47		0,19
Azoospermie	0,009	< 0,0001	0,03	0,0002	Testostérone

* Valeurs de p; ** voir Tableau 3

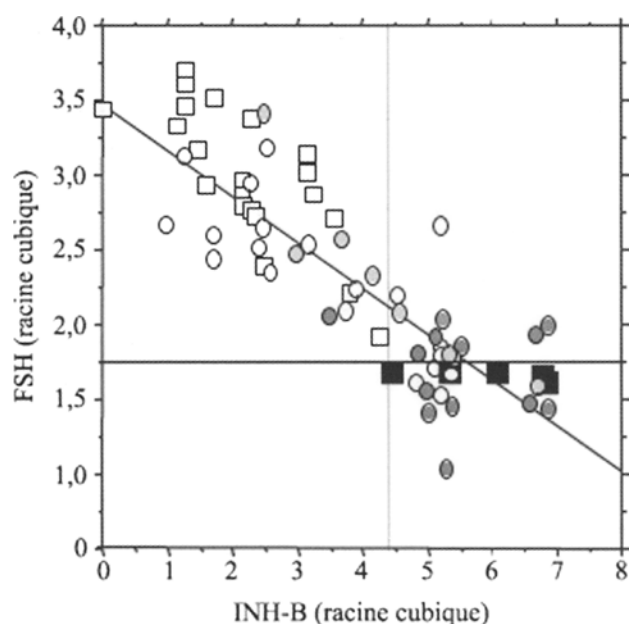


Figure 5 : Relation entre FSH et inhibine B après transformation racine cubique pour les cinq catégories de concentrations spermatiques étudiées. [racine cubique (FSH)] = - 0,31 x [racine cubique (INH-B)] + 3,47 ; r = -0,85 ; p<0,001 ; dans cette série, les valeurs > 5,4 mUI/mL pour la FSH et < 82pg/mL pour l'inhibine B permettaient de distinguer 100 % des azoospermies sécrétoires, 60 % des oligozoospermies extrêmes, 50 % des oligozoospermies sévères, 8 % des oligozoospermies modérées et 0 % des spermies de concentration normale

Tableau 5 : Valeurs de l'inhibine B et valeurs moyennes (écart-type), médianes et comparaisons des dosages de la FSH, de la testostérone et de LH dans le syndrome de Klinefelter (n=5) et dans le syndrome des cellules de Sertoli isolées (n=4).**

MARQUEUR	KLINFELTER		CELLULES DE SERTOLI ISOLÉES		
	MOYENNE (ET)	MÉDIANE	MOYENNE (ET)	MÉDIANE	DIFFÉRENCE*
Inhibine B (mg/mL)	**	**	**	**	-
FSH (mUI/mL)	35,3 (11,9)	37,2	19,4 (9,0)	17,9	0,05
Testostérone (ng/mL)	2,8 (0,5)	3,0	4,1 (1,6)	4,8	0,22
LH (mUI/mL)	24,1 (4,6)	22,8	9,9 (3,3)	9,8	0,01

* valeurs de p ; comparaisons par le test de Mann Whitney

** les moyennes et médianes n'ont pas été calculées compte-tenu de la taille des effectifs et des valeurs trouvées : dans le cas du syndrome de Klinefelter, les 5 valeurs étaient inférieures au seuil de détection de 15 pg/mL, dans le cas des cellules de Sertoli isolées, deux valeurs étaient inférieures au seuil de détection, les deux autres étaient égales à 55 et 31 pg/mL

corrélation inverse avec le taux de FSH. Cependant les taux d'inhibine B présentaient un meilleur pouvoir discriminant que les taux de FSH. Par exemple, la mesure de l'inhibine B différenciait les hommes présentant une oligozoospermie sévère des hommes azoospermes de manière beaucoup plus significative que la FSH ($p = 0,0002$ vs $p = 0,007$, respectivement). D'une manière générale, les résultats obtenus dans la présente étude étaient similaires à ceux rapportés dans les études publiées basées sur la même technique de dosage (Tableau 6).

Le rôle de l'inhibine sur le contrôle des fonctions de la gonade mâle était incertain jusqu'au développement récent de cette méthode de dosage de l'inhibine B sérique [9,11]. Les premiers auteurs ayant utilisé le « dimeric assay » ont montré d'une part que l'inhibine β , dimère des sous-unités α et β B, était la forme d'inhibine physiologiquement importante chez le sujet masculin [15] et que, d'autre part, les concentrations d'inhibine B étaient inversement corrélées à la FSH, dans différentes populations d'hommes allant de donneurs de sperme à des hommes azoospermes [1]. Ces travaux pionniers ont fait poser l'hypothèse que, chez l'homme, la production d'inhibine B est stimulée par la FSH et qu'en retour, le taux d'inhibine circulante participe au rétrocontrôle négatif de la sécrétion de FSH. Les relations négatives entre FSH et spermatogenèse, d'une

part, et entre FSH et inhibine B, d'autre part, ont suggéré une possible relation positive entre les taux sériques d'inhibine B et la spermatogenèse.

La présente étude a indiqué que les hommes ayant une azoospermie d'origine sécrétoire avaient des taux d'inhibine B sérique plus de dix fois inférieurs à ceux mesurés chez des hommes présentant un sperme normal. D'autre part, les taux d'inhibine B chez les patients présentant une azoospermie excrétoire (obstructive) étaient comparables à ceux observés chez les patients présentant un sperme normal. Pour les cinq catégories de concentration spermatique utilisées usuellement en clinique, concentration normale, oligozoospermie modérée, sévère, extrême et azoospermie sécrétoire, les moyennes des taux d'inhibine B variaient de manière proportionnelle au niveau de production spermatique. La relation directe entre les aspects quantitatifs de la spermatogenèse (reflétés par la mesure de la concentration de spermatozoïdes) et les taux d'inhibine B a déjà été montrée dans une population d'hommes présentant des concentrations normales de spermatozoïdes [3] et une étude de population menée chez des danois a confirmé la corrélation entre les taux d'inhibine B et la concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat [16]. Plusieurs autres études menées chez des patients ont confirmé que l'in-

Tableau 6 : Comparaison des valeurs moyennes d'inhibine B (pg/mL) dans différentes études

Catégorie diagnostique	Anawalt et al [1]	Klingmuller et Haidl [17]	von Eckardstein et al. [26]	Pierik et al [22]	Foresta et al. [12]	Bohring et Krause [8]	Notre étude
Concentration normale	187	223	238	182	149	184	222
Azoospermie excrétoire	-	-	-	244	131	-	178
OAT	-	-	98	-	-	-	112
Oligo. modérée	-	-	-	166	-	-	182
Oligo. sévère	-	107	-	128	-	-	107
Azoospermie sécrétoire	-	-	-	52	-	-	17
SCSI*	-	-	27	-	57	16	**
Klinefelter	11	-	-	7	-	-	***

*Syndrome des cellules de Sertoli isolées

**sur quatre patients étudiés, deux valeurs étaient inférieures au seuil de détection, les deux autres étaient égales à 55 et 31 pg/mL

***sur cinq patients étudiés, toutes les valeurs étaient inférieures au seuil de détection

hibine B pouvait être considérée comme un marqueur des aspects quantitatifs de la spermatogenèse. Il est établi que des altérations majeures voire des abolitions de la spermatogenèse sont accompagnées de baisses de l'inhibine B sérique pouvant aller jusqu'à des niveaux indétectables dans ce dernier cas. Ainsi, Anawalt et collaborateurs [1] et Klingmuller et Haidl [17] ont rapporté que des patients castrés et des patients ayant un syndrome de Klinefelter avaient des concentrations d'inhibine B indétectables (dans ce dernier cas, nous ne trouvons que des valeurs inférieures au seuil de détection). Il a aussi été montré que certaines chimiothérapies ou radiothérapies avaient pour conséquence simultanée une baisse des concentrations d'inhibine B parfois à des niveaux indétectables et une augmentation de la FSH, parallèlement à la chute de la production spermatique et sans baisse concomitante de la LH et de la testostérone [27, 21, 28].

Il existe un consensus sur le fait que la cellule de Sertoli est le site prédominant de la production d'inhibine B et que cette cellule produit les sous unités α . Par contre il semble que ce serait plus les cellules germinales que les cellules de Sertoli qui produiraient les sous unités

$\beta\beta$ nécessaires à la formation de l'inhibine B dimérique [6]. Cela voudrait dire qu'une partie au moins de la dimérisation des sous-unités pour la production d'inhibine B dépendrait de plusieurs types cellulaires : si des cellules de Sertoli en culture peuvent sécréter l'inhibine B dimérique, il a été montré que la sécrétion est augmentée en présence de cellules germinales [10]. Ainsi, les interrelations fonctionnelles entre le taux d'inhibine B sérique, le nombre de cellules de Sertoli et le niveau de production spermatique pourraient obéir à des mécanismes divers. Tout d'abord, il est bien établi que le nombre de spermatozoïdes produits est très lié au nombre de cellules de Sertoli. Il est aussi établi qu'une baisse de rendement de la spermatogenèse s'accompagne d'une baisse du taux d'inhibine B sérique, ce que nous confirmons dans la présente étude. La diminution de la concentration spermatique pourrait ainsi refléter soit une diminution du nombre de cellules germinales qui produisent les sous-unités $\beta\beta$ diminuant ainsi en retour la formation d'inhibine B dimérique par la cellule de Sertoli soit une perte de l'influence des cellules germinales sur la production d'inhibine B par les cellules de Sertoli. Les sous-unités α et $\beta\beta$ ont aussi été localisées dans les cellules de Leydig du testi-

cule humain adulte [4, 6] et des cultures de cellules de Leydig isolées de rat peuvent sécréter de l'inhibine active [24]. L'étude d'Andersson *et al.* [6] a suggéré que la sécrétion d'inhibine B par la cellule de Leydig contribuait probablement peu à la concentration totale d'inhibine sérique, l'inhibine B étant indétectable chez des sujets avec des cellules de Sertoli isolées et des concentrations de LH et de testostérone normales. Cependant, d'autres études [8, 12, 26] (et la nôtre) ont montré des niveaux d'inhibine B détectables et même parfois relativement élevés dans de tels cas (faisant suggérer alors une hétérogénéité dans l'atteinte de l'ensemble des tubes séminifères). Sur l'ensemble des hommes étudiés, la corrélation entre inhibine B et LH bien que significative était bien moins importante que celle trouvée entre inhibine B et FSH, suggérant un lien probablement indirect (du fait de la relation connue entre taux de FSH et de LH). Ce résultat suggérerait une contribution probablement minoritaire de la cellule de Leydig dans les taux sériques d'inhibine B.

Au total, les données récemment acquises suggèrent que la sécrétion d'inhibine B serait le mécanisme essentiel du rétrocontrôle de la sécrétion de FSH et ainsi de la fonction sertolienne, l'effet majeur de ce rétrocontrôle étant la régulation du nombre de spermatozoïdes qui vont être produits [5]. Cependant, de nombreuses questions restent posées et l'utilité clinique optimale de la mesure de l'inhibine B dépendra d'une caractérisation plus précise du rôle des différents types cellulaires dans la modulation de la sécrétion d'inhibine B. La pratique accrue de la biopsie testiculaire dans le cadre de l'ICSI avec prélèvement chirurgical en cas d'azoospermie non obstructive pourrait constituer très prochainement un élément majeur de cette caractérisation grâce à l'analyse histologique faite conjointement aux mesures de l'inhibine B et des hormones sexuelles.

Dans l'état actuel des choses et sur le plan pratique, le dosage de l'inhibine B est à lui seul beaucoup plus spécifique que celui de la FSH pour refléter le niveau de fonctionnalité de la spermatogenèse. Dans les cas des azoospermies, le dosage de l'inhibine B semble particu-

lièrement intéressant pour distinguer azoospermies sécrétoires et excrétoires, ce qui n'est pas le cas du dosage de la FSH isolée (les cas relativement fréquents des azoospermies sécrétoires à FSH normale). Les données déjà publiées et les données que nous avons acquises sur un petit nombre de cas dans la situation d'azoospermies sécrétoires d'origine caractérisée (Klinefelter, cellules de Sertoli isolées) indiquent que les taux d'inhibine peuvent orienter vers des étiologies précises même pour des valeurs basses. D'après une publication récente, le résultat du dosage de l'inhibine B serait prédictif de la récupération de spermatozoïdes testiculaires en cas d'azoospermie sécrétoire; ainsi, la mesure de l'inhibine B permettrait de poser l'indication d'une biopsie testiculaire en vue d'une ICSI dans de telles situations [7]. Cette donnée, si elle se confirme, suggère qu'un taux d'inhibine B au dessus d'un certain seuil (40 pg/mL dans l'étude suscitée) dans des situations d'azoospermies d'origine sécrétoire peut témoigner de l'existence de très rares foyers de spermatogenèse. Aussi, l'inhibine B pourrait également constituer un marqueur précoce de reprise de la spermatogenèse après des traitements chimio et/ou radiothérapeutiques.

RÉFÉRENCES

1. ANAWALT B.D., BEBB R.A., MATSUMOTO A.M., *et al.* : Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 3341-3345.
2. ANDERSEN A.G., JENSEN T.K., CARLSEN E., *et al.* : High frequency of sub-optimal semen quality in an unselected population of young men. *Hum. Reprod.*, 2000, 15 : 366-372.
3. ANDERSON R.A., WALLACE E.M., GROOME N.P., *et al.* : Relationships between inhibin B, FSH and spermatogenesis during testosterone-induced gonadotrophin suppression in normal men. *Hum. Reprod.*, 1996, 11 (suppl) : 63.
4. ANDERSON R.A., IRVINE D.S., BALFOUR C., *et al.* : Inhibin-B in seminal plasma : testicular origin and relationship to spermatogenesis. *Hum. Reprod.*, 1998, 13 : 920-926.
5. ANDERSON R.A., SHARPE R.M. : Regulation of inhibin production in the human male and its clinical applications. *Int. J. Androl.*, 2000, 23 : 136-144.
6. ANDERSSON A.M., MÜLLER J., SKAKKEBAEK N.S. : Different roles of prepubertal and postpubertal germ

- cells and Sertoli cells in the regulation of serum inhibin B levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 4451-4458.
7. BALLESCA J.L., BALASCH J., CALAFELL J.M., *et al.* : Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum. Reprod.*, 2000, 15 : 1734-1738.
 8. BOHRING C., KRAUSE W. : Serum levels of inhibin B in men with different causes of spermatogenic failure. *Andrologia*, 1999, 31 : 137-141.
 9. BURGER H.G., IGARASHI M. : Inhibin : definition and nomenclature, including related substances. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1988, 66 : 885-886.
 10. CARREAU S. : Human Sertoli cells produce inhibin in vitro : an additional marker to assess the seminiferous epithelium development. *Hum. Reprod.*, 1995, 10 : 1947-1949.
 11. DE KRETZER D.M., MEINHARDT A., MEEHAN T., *et al.* : The roles of inhibin and related peptides in gonadal function. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2000, 30 : 43-46.
 12. FORESTA C., BETTELLA A., PETRAGLIA F., *et al.* : Inhibin B levels in azoospermic subjects with cytologically characterized testicular pathology. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1999, 50 : 695-701.
 13. GROOME NP., O'BRIEN M. : Immunoassays for inhibin and its subunits. Further applications of the synthetic peptide approach. *J. Immunol. Methods*, 1993, 165 : 167-176.
 14. GROOME N.P., ILLINGWORTH P.J., O'BRIEN M., *et al.* : Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1994, 40 : 717-723.
 15. ILLINGWORTH P.J., GROOME N.P., BYRD W., *et al.* : Inhibin-B: a likely candidate for the physiologically important form of inhibin in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 1321-1325.
 16. JENSEN T.K., ANDERSSON A.M., HJOLLUND N.H., *et al.* : Inhibin-B as a serum marker of spermatogenesis : correlation to differences in sperm concentration and follicle-stimulating hormone levels. A study of 349 Danish men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82 : 4059-4063.
 17. KLINGMULLER D., HAIDL G. : Inhibin-B in men with normal and disturbed spermatogenesis. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 2376-2378.
 18. KOLB B.A., STANCZYK F.Z., SOKOL R.Z. : Serum inhibin B levels in males with gonadal dysfunction. *Fertil. Steril.*, 2000, 74 : 234-238.
 19. McCULLAGH D.R. : Dual endocrine activity of the testes. *Science*, 1932, 76 : 19-20.
 20. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. Manuel de Laboratoire de l'OMS pour l'Analyse du Sperme Humain et de l'Interaction des Spermatozoïdes avec le Mucus Cervical. Traduction française (Auger J., Jouannet P.) de : WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction (3rd ed). Editions INSERM, Paris, 1993.
 21. PETERSEN P.M., ANDERSSON A.M., RORTH M., *et al.* : Undetectable inhibin B serum levels in men after testicular irradiation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84 : 213-215.
 22. PIERIK F.H., VREEBURG J.T., STIJNEN T., *et al.* : Serum inhibin B as a marker of spermatogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 3110-3114.
 23. RAIVIO T., SAUKKONEN S., JAASKELAINEN J., *et al.* : Signaling between the pituitary gland and the testes: inverse relationship between serum FSH and inhibin B concentrations in boys in early puberty. *Eur. J. Endocrinol.*, 2000, 142 : 150-156.
 24. RISBRIDGER G.P., CLEMENTS J., ROBERTSON D.M., *et al.* : Immuno- and bioactive inhibin and inhibin alpha-subunit expression in rat Leydig cell cultures. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1989, 66 : 119-122.
 25. VLIEGEN M.K., SCHLATT S., WEINBAUER G.F., *et al.* : Localization of inhibin/activin subunits in the testes of adult nonhuman primates and men. *Cell Tissue Res.*, 1993, 273 : 261-268.
 26. VON ECKARDSTEIN S., SIMONI M., BERGMANN M., *et al.* : Serum inhibin B in combination with serum follicle-stimulating hormone (FSH) is a more sensitive marker than serum FSH alone for impaired spermatogenesis in men, but cannot predict the presence of sperm in testicular tissue samples. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84 : 2496-2501.
 27. WALLACE E.M., GROOME N.P., RILEY S.C., *et al.* : Effects of chemotherapy-induced testicular damage on inhibin, gonadotrophin and testosterone secretion : a prospective longitudinal study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82 : 3111-3165.
 28. WICHERS M., BENZ E., PALMEDO H., *et al.* : Testicular function after radioiodine therapy for thyroid carcinoma. *Eur. J. Nucl. Med.*, 2000, 27 : 503-507.

ABSTRACT

Serum inhibin B level is a sensitive marker of human sperm production

Y. FULLA, J. AUGER, S. ALLALI,
L. NONNENMACHER, P. JOUANNET

Several recent papers indicate that the blood concentration of inhibin B measured by the dimeric assay is a marker of human spermatogenesis. The aim of the present study was to validate the dimeric assay in our hospital. For this purpose, we studied a population of 106 patients attending our infertility clinic. We found that serum inhibin B levels were positively correlated with the level of sperm production as reflected by the sperm concentration and negatively correlated with serum FSH levels. Serum inhibin B concentrations were found to be superior to FSH levels for discriminating between subgroups of patients with different levels of sperm production. For example, the differences in the inhibin B levels in severe oligozoospermia ($< 5 \times 10^6$ sperm/ml) compared to non-obstructive azoospermia were more pronounced than the differences in FSH ($p=0.0002$ vs $p=0.007$, respectively). Overall, the results obtained in the present study were similar to those reported in other studies based on the same assay. Serum inhibin B levels in patients with non-obstructive azoospermia were ten times lower than in patients with normal sperm concentrations. From a practical point of view, the measurement of serum inhibin B opens up new possibilities for the diagnosis and prognosis of many testicular disorders. Firstly, serum inhibin B determination should be performed whenever reproductive hormones are prescribed. In the particular case of azoospermia, serum inhibin B concentrations appear to be particularly useful to distinguish between obstructive and non-obstructive situations. Finally, according to a recent publication, a serum inhibin B cut-off value (> 40 pg/mL) could predict the success of testicu-

lar sperm extraction in patients with non-obstructive azoospermia. Serum inhibin B could therefore represent a unique non-invasive marker of focal hypospermatogenesis in men with non-obstructive azoospermia, who are candidates for intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and a useful early marker to monitor possible recovery of spermatogenesis after chemotherapy or radiotherapy.

Key words: Inhibin B, FSH, testis, spermatogenesis, sperm concentration, male infertility