

L'insémination intrautérine dans l'éjaculation rétrograde. Importance du pH et de l'osmolarité sur la mobilité des spermatozoïdes

Khémamis BEN RHOUMA *,**, Elyas BEN MILED *, Lassaad ZRIBI ***

*Laboratoire de Biologie de la Reproduction Humaine, Maternité Clinique Taoufik, El Menzah ;

**Laboratoire de Physiologie Animale, Faculté des Sciences de Bizerte ;

*** Service d'Urologie, Hôpital La Rabta, Tunis -Tunisie

RESUME

L'effet du pH et de l'osmolarité sur la mobilité des spermatozoïdes récupérés dans les urines après éjaculation rétrograde a été étudié. Le maximum de mobilité a été obtenu pour un pH compris entre 7 et 7,5 et une osmolarité comprise entre 300 et 400 m.osmoles Kg. La maîtrise de ces deux paramètres permet d'optimiser la mobilité des spermatozoïdes et d'effectuer ainsi des inséminations intra-utérines au cours de cycles stimulés. Cinquante et un cycles d'inséminations ont été effectués sur 23 femmes. Onze grossesses ont été obtenues soit un taux de 21,5% /cycle.

Mots clés : spermatozoïdes, stimulation ovarienne, éjaculation rétrograde, insémination intra-utérine.

INTRODUCTION

Lors d'une éjaculation rétrograde (ER) une partie ou la totalité du liquide spermatique passe de l'urètre postérieur vers la vessie d'où la présence de spermatozoïdes dans l'urine au cours de l'orgasme. L'ER est due à des pathologies diverses : lésion du carrefour urogénital avec béance du col vésical, perturbation des mécanismes neuromusculaires contrôlant l'éjaculation, ou idiopathique (Pour revue voir 8). La conséquence principale de l'ER est la stérilité masculine. Le rétablissement d'une éjaculation antégrade normale peut être obtenu par une action pharmacologique [3, 10, 16], ou par un trai-

tement chirurgical [1, 14]. Nous rapportons ici un traitement de la stérilité due à l'ER. L'urine étant un milieu défavorable pour la mobilité et la survie des spermatozoïdes (pH acide, hyperosmolarité), il s'agit de la neutraliser et de réduire au maximum le temps de contact entre l'urine et le sperme. L'effet du pH et de l'osmolarité sur la mobilité des spermatozoïdes a été étudié. La sélection des spermatozoïdes mobiles a été faite par la technique de double lavage-centrifugation et migration ascendante dans le milieu B2 (INRA- B2, Menezo Biomérieux, France) [13]. Après récupération des spermatozoïdes, une insémination intra-utérine (IIU) est pratiquée au cours d'un cycle stimulé.

MATERIEL ET METHODES

Les patients ont été suivis dans le cadre d'un programme de procréation médicalement assistée. Il s'agit de 23 couples suivis pour stérilité masculine due à l'ER. La moyenne d'âge est de $28,1 \pm 3,5$ ans pour les femmes et de $34,0 \pm 2,7$ ans pour les hommes. Les différentes pathologies mises en cause sont récapitulées dans le tableau 1.

1. Préparation du sperme

Avant de pratiquer les IIU, la qualité du sperme du conjoint est attestée par des tests de double lavage-centrifugation effectués dans le mois précédant la tentative. Au cours de ces tests, on étudie l'effet du pH et de l'osmolarité urinaire sur la mobilité des spermatozoïdes. Le pourcentage de mobilité est obtenu par appréciation directe sur lame, et la morphologie est évaluée selon la

Tableau 1 : Répartition des patients en fonction des différentes causes de l'éjaculation rétrograde.

| Diagnostic | Couples (n) | Nbre de cycles d'insemination | Nbre de grossesses (%/cycle) |
|-----------------------|----------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Diabète | 9 | 20 | 4 (20,0) |
| Lésions chirurgicales | 6 | 13 | 2 (15,3) |
| idiopathique | 8 | 18 | 5 (27,7) |
| Total | 23 | 51 | 11 (21,5) |

classification de David et al [6]. L'alcalinisation et la dilution des urines se font par absorption d'une solution de bicarbonate de soude à 5% et d'une grande quantité d'eau, les 2 jours précédant le prélèvement. Après la masturbation pratiquée debout, à vessie pleine, ou après l'acte sexuel, les urines sont récupérées. Le pH et l'osmolarité sont mesurés et le pourcentage des spermatozoïdes présentant une mobilité normalement progressive est estimé. Dans les minutes suivantes, l'urine est centrifugée à 250 g pendant 5 minutes. Une fois le surnageant éliminé, le culot est repris dans 10 ml de milieu de Earles' (Biomérieux, France) et centrifugé de nouveau. 0,3 ml de milieu B2 sont alors ajoutés au culot de centrifugation pour la migration des spermatozoïdes à 37°C et sous gazage (5% CO₂, 5% O₂ et 90% N₂), pendant 30 à 60 minutes. On demande aux maris de s'abstenir de tout acte sexuel pendant les 3 jours précédant le test ou la tentative d'insémination.

2. Stimulation ovarienne

Les patientes reçoivent un traitement de superovulation destiné à stimuler la croissance folliculaire. Ce traitement comporte 100 mg/jour de citrate de clomifène (Clomid, Merrel Toraude) du 2^{ème} au 6^{ème} jour du cycle et 150 UI d'hMG (human Menopausal Gonadotropin, Humegon, Organon) tout les deux jours du 2^{ème} au 10^{ème} jour du cycle. L'obtention de plusieurs follicules de plus de 18 mm de diamètre et des taux d'œstradiol plasmatiques atteignant 300 à 400 pg/ml/follicule en croissance, permet de

déclencher l'ovulation par une injection intramusculaire de 5000 UI d'hCG (human Chorionic Gonadotropin) [18].

3. Insémination intra-utérine

L'insémination intra-utérine est réalisée 34 ± 2 heures après l'injection de l'hCG [7] : 0,2 ml de la suspension des spermatozoïdes sont chargés dans un cathéter de Kremer-DeLafontaine (Laboratoires CCD, France) attaché à une seringue de 1 ml (Becton-Dickinson, New jersey). Le cathéter est ensuite introduit par le col cervical et la totalité de la suspension est injectée à l'intérieur de l'utérus, la femme reste allongée une demi-heure.

RESULTATS

La figure 1 représente l'effet de la variation du pH sur la mobilité des spermatozoïdes. On observe un meilleur pourcentage de mobilité pour des pH compris entre 7 et 7,5. Au delà de ces deux valeurs la mobilité des gamètes chute considérablement. De même pour l'osmolarité (Figure 2) le maximum de mobilité se situe entre 300 et 400 m.osmoles/Kg. Les caractéristiques des spermatozoïdes après diffusion dans le milieu B2 sont présentées dans le tableau 2. La concentration moyenne obtenue est de $(30,0 \pm 2,4) \times 10^6$ spermatozoïdes/ml. Le pourcentage moyen des spermatozoïdes mobiles et de formes normales est respectivement de $50,1 \pm 1,5\%$ et $48,2 \pm 0,9\%$.

Au total, pour les 23 femmes, les inséminations intra-utérines ont produit 11 gros-

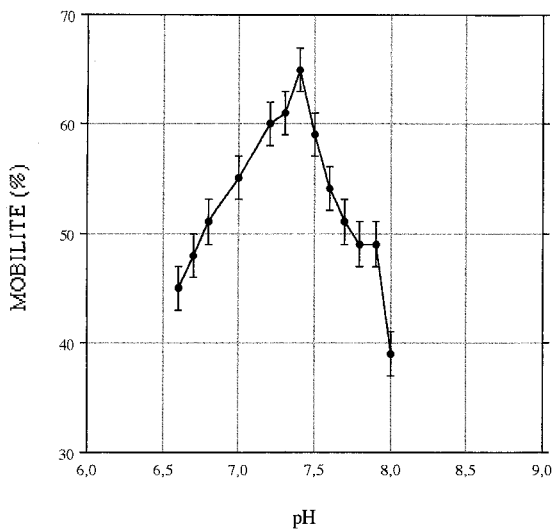


Figure 1 : Effets du pH sur la mobilité des spermatozoïdes dans l'urine. Chaque valeur est la moyenne de 3-5 déterminations.

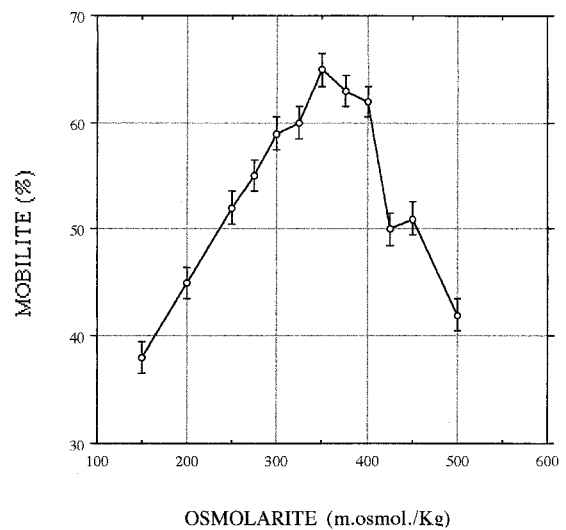


Figure 2 : Effets de l'osmolarité sur la mobilité des spermatozoïdes dans l'urine. Chaque valeur est la moyenne de 3-5 déterminations.

Tableau 2 : Caractéristiques du sperme après resuspension dans le milieu B2.

| Diagnostic | Concentration (x 10 ⁶ /ml) | Mobilité (%) | Morphologie (% Normaux) |
|---------------------------------------|--|-------------------|----------------------------|
| Diabète | 30,6 ± 3,7 | 49,6 ± 2,0 | 48,3 ± 0,5 |
| Lésions chirurgicales idiopathique | 28,5 ± 0,7 | 51,5 ± 0,7 | 49,0 ± 1,4 |
| | 30,5 ± 0,7 | 49,5 ± 0,7 | 47,5 ± 0,7 |
| Total | 30,0 ± 2,4 | 50,1 ± 1,5 | 48,2 ± 0,9 |

sesses sur les 51 cycles soit un taux de 21,5%/cycle. Six grossesses ont été obtenues à la 1^{ère} insémination pour 23 couples, 3 grossesses à la 2^{ème} insémination pour 17 couples et 2 grossesses à la 3^{ème} insémination pour 14 couples. Deux grossesses se sont arrêtées l'une à 15^{ème} semaine et l'autre à 21^{ème} semaine.

DISCUSSION

La méthode qui consiste à recueillir les spermatozoïdes dans les urines après une masturbation ou un rapport sexuel est utilisable quelle que soit la cause de l'ER. La pratique de la masturbation debout à vessie pleine, entraîne une hyperpression vésicale

qui peut rétablir plus ou moins l'orientation antégrade de l'éjaculation [5]. D'autres techniques ont été proposées telles que le lavage de la vessie avec un milieu alcalin [17] et la miction intra-vaginale [15]. Dans le but de contrôler le mieux possible les valeurs du pH et de l'osmolarité, nous avons déterminé dans un premier temps, les valeurs qui sont favorables à la mobilité des spermatozoïdes dans les urines. Nous avons trouvé que le maximum de mobilité est compris entre un pH de 7,2 et 7,5 c'est-à-dire des valeurs conformes à celles du pH normal du liquide spermatique [9, 12]. Plusieurs travaux ont montré que l'influence nocive de l'urine sur la mobilité est pratiquement annulée quand le pH est compris

entre 7 et 8 [5, 11]. Au cours de ce travail, le contrôle de l'alcalinisation est beaucoup plus facile que celui de l'osmolarité. Nos résultats montrent que les spermatozoïdes immobiles à pH très bas ou très élevé, reprennent leur mobilité lorsque le pH s'approche de la neutralité. En ce qui concerne l'osmolarité, le maximum de mobilité est compris entre 300 et 400 m.osmol/Kg. Ces valeurs sont proches de la valeur de la pression osmotique dans le liquide séminal qui est de 366 ± 16 m.osmol/Kg [20]. D'autres auteurs rapportent des valeurs d'osmolarité idéales entre 200 et 400 m.osmol/Kg [5, 12]. L'urine est très souvent hyperosmolaire malgré les quantités d'eau ingérées. Ainsi, l'absorption de 300 ml d'eau provoque une chute importante mais brève de l'osmolarité urinaire une heure après l'ingestion [11]. La nocivité de l'urine hypertonique semble dépendante du temps d'exposition des spermatozoïdes. Pour des temps courts, la mobilité des gamètes est peu affectée. Ceci semble en accord, avec les résultats de Chang et Thorsteinsson [4] qui ont montré qu'une urine hypertonique déprime la mobilité des spermatozoïdes sans toutefois influencer leur fonction normale laquelle peut être restaurée dès qu'ils sont introduits dans le tractus génital femelle.

D'après nos résultats et vu l'importance de la mobilité des spermatozoïdes dans la fécondation, la quantité de bicarbonate de soude et d'eau qu'on donne aux maris, pouvait être modulée de façon à créer des conditions optimales de pH et d'osmolarité pour un maximum de mobilité. Une fois ces deux paramètres maîtrisés par cette méthode non invasive, on peut effectuer des inséminations intra-utérines dans le cas des stérilités dues à l'ER.

Ainsi, au cours de ce travail, 11 grossesses ont été obtenues soit 21,5% par cycle d'insémination. Cette valeur est supérieure à celle rapportée par Urry et al [19] qui ont obtenu un taux de 16% par cycle, mais elle est légèrement inférieure à celle trouvée

Dar Brassesco et al [2] qui observent 25% de grossesses par cycle chez 7 couples. Enfin, Van der Linden et al [21], dans une série de femmes non stimulées et dont l'ovulation est prédite par la mesure de la LH plasmatique, rapportent un taux très élevé de l'ordre de 44%/cycle.

En conclusion, il apparaît que la maîtrise des conditions de pH et d'osmolarité ainsi que l'utilisation de cycles stimulés, permettent d'avoir des résultats positifs quelle que soit la cause de l'ER. La technique utilisée dans notre laboratoire, semble être une bonne alternative pour les problèmes de stérilités dues à l'ER.

REFERENCE

1. ABRAHAMS JI, SOLISH GI, BOORJIAN P, WATERHOUSE RK : The surgical correction of retrograde ejaculation. *J.Urol.* 1975, 114 : 888-890.
2. BRASSESCO M, VISCASILLAS P, BURREL, CALAF J, RAJMI LO, SERRA JMP, FARGAS FM : Sperm recupetation and cervical insemination in retrograde ejaculation. *Fertil.Steril.* 1988, 49 : 923-925.
3. BROOKS ME, SIDI A. : Treatment of retrograde ejaculation using imipramine. *Urology.* 1981, 18 : 633.
4. CHANG MC, THORSTEINSSON T : Effects of urine on motility and fertilizing capacity of rabbit spermatozoa. *Fertil.Steril.* 1958, 3 : 231-237.
5. CRICH JP, JEQUIER AM : Infertility in men with retrograde ejaculation: the action of urine on sperm motility, and a simple method for achieving antegrade ejaculation. *Fertil.Steril.* 1978, 30 : 572-575.
6. DAVID G, BISSON JP, CZYGLIK F, JOUANNET P, GERNIGNON CL : Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain. I. Proposition pour un système de classification *J. Gyn. Obs. Biol. Reprod.* (Paris). 1975, 4 (suppl 1) : 17-36.
7. DODSON WC, HANEY A F. : Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of infertility. *Fertil. Steril* 1991, 55 : 457-467.
8. HERSHLAG A, SCHIFF SF, DECHERNEY AH : Retrograde ejaculation. *Human.Reprod.* 1991, 6 (2) : 255-258.
9. JOUANNET P : Comment interpréter un spermogramme. *Rev.Prat.*, 1979, 32 : 2602-2604.
10. LYNCH JH, MAXTED WC : Use of ephedrine in post-lymphadenectomy ejaculatory failure: a case report. *J-Urol.* 1983, 129 : 379.

11. MAHADEVAN M, LEETON JF, TROUNSON AO : Non invasive method of semen collection for successful artificial insemination in a case of retrograde e-aculation. *Fertil.Steril.* 1981, 36 : 243-247.
12. MAKLER A, DAVID R, BLUMENFELD Z, BETTER OS : Factors affecting sperm motility. VII.Sperm viability as affected by change of pH and osmolarity of semen and urine specimens. *Fertil. Steril.* 1981, 36 : 507-511.
13. MENEZO Y : Milieu synthétique pour la survie et la maturation des gamètes et pour la culture de l'œuf fécondé. *C.R. Acad. Sc. D.* 1976, 282 :1967-1970.
14. MIDDLETON RG, URRY RL : The young-Dees operation for the correction of retrograde ejaculation. *J.Urol.* 1986, 136 : 1208-1209.
15. SCHRAM JD : Retrograde ejaculation : a new approach to therapy. *Fertil.Steril.* 1976, 27 : 1216-1218.
16. SHUTTE B, MEDENWALDT B : Treatment of retrograde ejaculation in paraplegia. *Andrologia.* 1980, 12 : 389-390.
17. SUOMINEN JJO, KILKKU PP, TAINA EJ, PUNTALA PV : Successful treatment of infertility due to retrograde ejaculation by instillation of serum-containing medium into the bladder. A case report. *Int. J. Androl.* 1991, 14 : 87-90.
18. TESTART J, AMIEL ML : Contribution of preovulatory-phase small follicles to the ovarian response in stimulated cycles. *Human.Reprod.* 1991, 6 (6) : 823-827.
19. URRY R, MIDDLETON RG, MCGAVIN S : A simple and effective technique for increasing pregnancy rates in couples with retrograde ejaculation. *Fertil. Steril.* 1986, 46 : 1124-1127.
20. VALAZQUEZ A, PEDRON N, DELGADO NM, ROSADO A : Osmolarity and conductance of normal and abnormal human seminal plasma. *Int. J. Fertil.* 1977, 22 : 92.
21. VAN DER LINDEN PJQ, NAN PM, TE VELDER, VAN KOOY RJ : Retrograde ejaculation: Successful treatment with artificial insemination. *Obs. Gyn.*1992, 79 : 126-128.

ABSTRACT

Intrauterine insemination in case of retrograde ejaculation. Importance of pH and osmolarity on sperm motility

Khémair BEN RHOUMA *,, Elyas BEN MILED *, Lassaad ZRIBI *****

****Laboratoire de Biologie de la Reproduction Humaine. Maternité Clinique Taoufik, El Menzah ; **Laboratoire de Physiologie Animale, Faculté des Sciences de Bizerte ; *** Service d'Urologie, Hôpital La Rabta, Tunis -Tunisie***

The effect of pH and osmolarity on motility of human spermatozoa in retrograde ejaculation was studied in a freshly voided urine specimen. The maximum rate of motility is obtained when the pH ranged from 7.0 to 7.5 and osmolarity from 300 to 400 m.osmol/Kg. Thus the control of these two parameters allowed us to improve sperm motility and to perform intrauterine insemination with ovarian hyperstimulation. The different causes of retrograde ejaculation in this study are diabetes, surgical injury and idiopathic. Fifty-one intrauterine insemination cycles were realized in twenty-three patients, and eleven pregnancies are obtained (21.5 % per cycle).

Key words : semen, ovarian stimulation, retrograde ejaculation, intrauterine insemination.