Andrologie (1998), 8, n° 1, 9-24

Baisse de la production et de la qualite spermatique chez l'homme : facteurs de variation et problemes méthodologiques

J. AUGER ET P. JOUANNET

Service d'Histologie-Embryologie / Biologie de la Reproduction et CECOS, Pavillon Cassini, Groupe Hospitalier Cochin Port-Royal, 123, Bd de Port-Royal, 75014 Paris.

RESUME

Plusieurs travaux rétrospectifs publiés récemment indiquent des évolutions séculaires différentes et des variations géographiques de la qualité du sperme humain. La responsabilité possible de facteurs professionnels ou environnementaux a souvent été évoquée. La controverse suscitée par ces travaux est importante. Il est souvent avancé que les études publiées sont sans valeur du fait des biais de recrutement ou des biais méthodologiques qu'elles contiennent. Tous ces travaux confirment la très grande variabilité intra- et interindividuelle des caractéristiques du sperme. Différents facteurs comme l'âge des hommes ou le délai d'abstinence sexuelle avant le prélèvement influencent la concentration de spermatozoïdes mais ils n'expliquent qu'une faible partie de la variabilité qui dépend aussi d'autres facteurs encore non identifiés. L'étude des facteurs de variation de la qualité du sperme est complexe car elle n'est pas exempte de biais. Le premier des biais possibles concerne la méthodologie même d'analyse du sperme, qui se caractérise par sa forte subjectivité, notamment en l'absence de procédures parfaitement standardisées. D'autres biais possibles sont dûs à l'hétérogénéité ou à la taille des populations étudiées, ou encore à la méthodologie statistique utilisée. A côté des études portant sur le sperme humain sujettes à de nombreuses critiques, différentes données d'observation chez l'homme et dans la faune sauvage et de récents travaux expérimentaux indiquent que l'hypothèse d'une dégradation de la fonction de reproduction mâle doit être prise au sérieux. Pour progresser dans l'étude des modifications éventuelles de la production et de la qualité spermatique, il apparaît donc urgent de développer des études prospectives minimisant tous les biais possibles. Parallèlement, des études expérimentales visant à étudier les facteurs suspectés de modifier la fonction de reproduction mâle doivent être entreprises dans le but d'une connaissance de la physiopathologie des mécanismes en causes.

Mots Clés *: fertilité masculine, concentration, qualité du sperme, variations*

INTRODUCTION

Il y a vingt ans déjà, la question d'un possible déclin de la qualité du sperme humain a été posée [25]. Le débat a été relancé en 1992 après la publication danoise de Carlsen *et al.* parue dans le British Medical Journal [8]. Il s'agissait d'une méta-analyse reprenant les données de 61 publications sur la qualité du sperme d'hommes en bonne santé durant la période 1940-1990. Selon les auteurs, il existait un déclin significatif de la concentration de spermatozoïdes passant de 113 millions/ml en 1940 à 60 millions/ml en 1992, soit une baisse de presque 50% en 50 ans. Cette étude qui a rapidement suscité et suscite encore de nombreux commentaires, aussi bien dans la presse spécialisée [4,6,13,15,26] que dans les médias, soulevait deux grands types de questions : ce phénomène est-il réel ? et si oui, quelles peuvent en être les causes et les conséquences ?

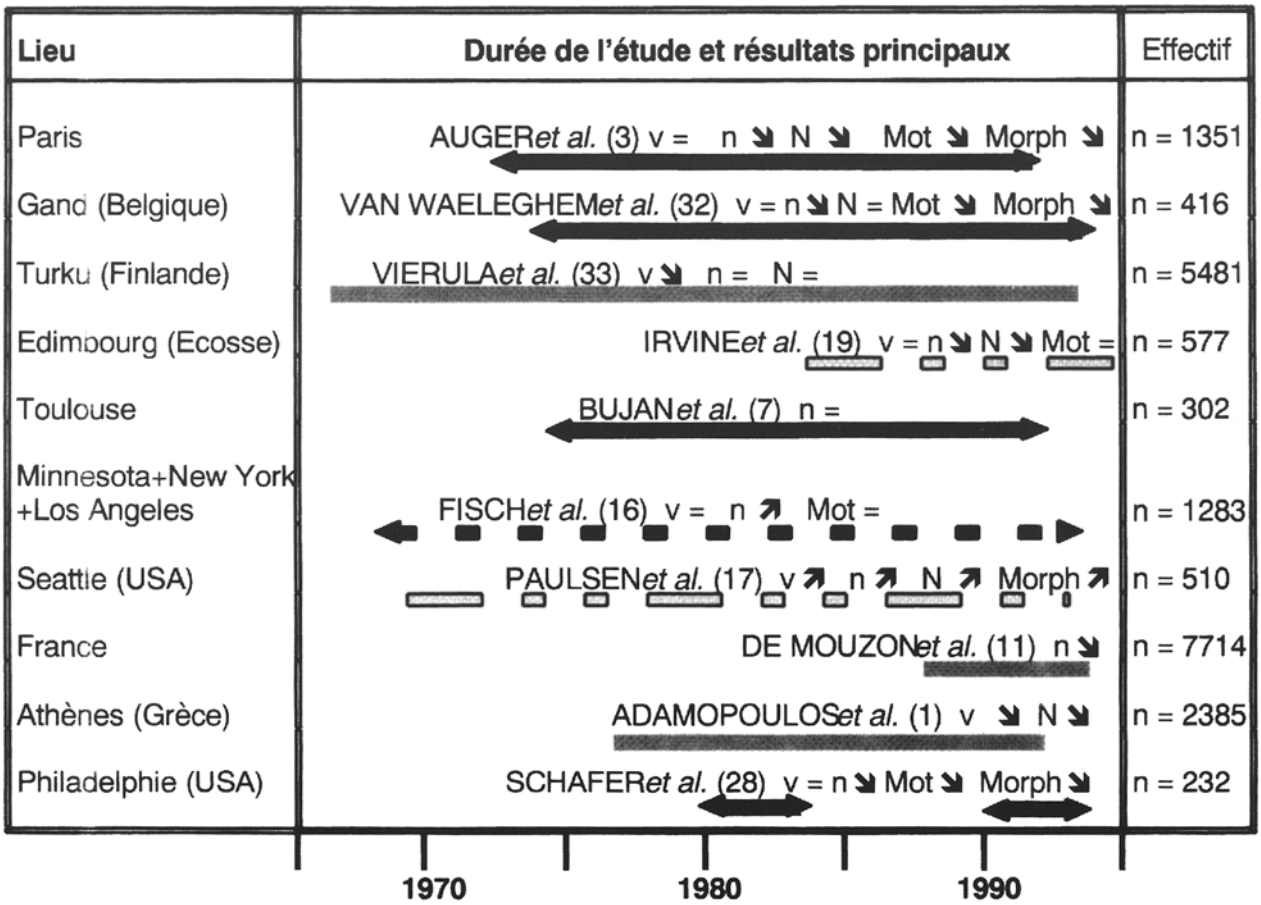
Concernant le premier point, de nombreux biais peuvent être évoqués: études dans des zones géographiques différentes, hommes recrutés pour des raisons très diverses, taille très variable des études (de quelques dizaines d'hommes à plusieurs milliers), données manquantes dans certaines périodes, non prise en compte de facteurs connus pour moduler la concentration, méthodologie statistique inadéquate, etc... Depuis la publication de la méta-analyse du groupe danois de Skakkebaek, différents laboratoires ont analysé leurs propres données. Théoriquement, des études transversales répétées menées dans un seul centre avec un recrutement et des méthodologies homogènes ne présentent pas tous les inconvénients d'une méta-analyse. La première étude publiée a été faite à Paris au CECOS Bicêtre, sur une période de 20 ans [3]. Dans ce centre, depuis sa création en 1973, un groupe important et homogène de 1351 hommes féconds, celui des candidats au don de sperme recrutés selon les critères en vigueur dans les CECOS, a pu être analysé alors qu'aucune variation notable du recrutement ni un changement dans les méthodes d'analyse n'étaient intervenus pendant toutes ces années. Une baisse significative de la concentration de spermatozoïdes a été observée entre 1973 et 1992, en moyenne de 2% par an, passant de 89×10^6/ml en 1973 à 60×10^6/ml en 1992. La proportion d'hommes ayant une concentration inférieure à la norme basse de l'OMS ($<20 \times 10^6$/ml) et inférieure au seuil critique pour la fertilité (5×10^6/ml) a augmenté significativement durant cette période [20]. De façon concomitante, entre 1973 et 1992, les pourcentages de spermatozoïdes mobiles et normaux ont significativement diminué (-0,5% en moyenne par an, pour ces deux caractéristiques). L'âge et l'année de naissance des hommes avaient une contribution similaire et significative dans le déclin observé. Plus les hommes étaient nés récemment, moins la quantité de spermatozoïdes et la qualité de leur sperme (mobilité et morphologie) étaient bonnes. Si l'effet de l'âge sur la valeur des caractéristiques du sperme était déjà connu [29], la relation négative de la concentration et de la morphologie avec l'année de naissance était une donnée nouvelle.

Depuis la publication de l'étude parisienne en 1995, une dizaine d'autres études ont été publiées : certaines ont rapporté une baisse de la quantité de spermatozoïdes produits ou de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes, soit avec l'année du prélèvement, soit avec l'année de naissance plus récente (Ecosse,19; Belgique, 32; Grèce,1; France, données générales FIVNAT, 11) alors que dans d'autres régions du monde (Toulouse, 7; Finlande, 33), ces modifications n'ont pas été retrouvées. Les périodes d'étude et les principaux résultats des études publiées depuis l'étude danoise sont résumés dans le Tableau I.

Dans la méta-analyse danoise comme dans les différentes publications qui ont suivi, ce sont les importantes différences géographiques apparentes de la concentration de spermatozoïdes d'une région à l'autre du monde qui frappent le plus : par exemple, 132×10^6/ml à New-York contre 73×10^6/ml à Los Angeles au cours de la même période [16] (Tableau II). Ces différences apparentes ne pouvant s'expliquer uniquement par des facteurs méthodologiques, il est alors raisonnable d'évoquer le rôle possible de l'environnement et des modes de vie des individus.

En dehors des études portant sur le sperme humain sujettes à de nombreuses critiques,

Tableau I. Etudes rétrospectives sur la qualité du sperme : périodes étudiées et résultats significatifs principaux



Candidat au don de sperme :

Candidat à la vasectomie :

Patient consultant pour infertilité du couple :

Donneur pour la recherche :

V = volume ; **n** = concentration; **N** = nombre total de spermatozoïdes; **Mot** = % de spermatozoïdes mobiles; **Morph** = % de spermatozoïdes typiques

Tableau II. Valeur moyenne de la concentration de spermatozoïdes d'hommes féconds dans différentes régions du monde (références des études dans 8 et 16)

PAYS	N	CONCENTRATION MOYENNE ($x10^6$/ml)	AUTEURS	ANNEE
Etats Unis (New York)	400	131,5 *	Fisch *et al*	1996
France	809	102,9	Schwartz *et al*	1983
Suède	63	99,1	Osser *et al*	1983
Grande Bretagne	104	91,3	Badenoch *et al*	1989
Norvège	51	89,0	Aabyholm	1981
Etats Unis (Californie)	221	72,7 *	Fisch *et al*	1996
Grèce	114	72,0	Panidis *et al*	1984
Nigeria	53	71,2	Lapido	1980
Tanzanie	120	66,9	Kirei	1987
Libye	1500	65,0	Sheriff	1983
Nigeria	100	54,7	Osegbe *et al*	1986
Thaïlande	307	52,9	Aribarg *et al*	1986

* fertilité non prouvée pour l'ensemble des hommes étudiés

l'hypothèse d'une dégradation de la fonction de reproduction mâle doit être prise au sérieux car l'alerte ne porte pas seulement sur les caractéristiques spermatiques. Selon des sources convergentes, l'incidence du cancer du testicule a augmenté de façon très importante au cours des dernières décennies dans beaucoup de pays occidentaux [2] et des observations similaires ont été faites pour l'hypospadias et la cryptorchidie [30]. On ne sait si il existe un lien entre tous ces phénomènes mais de nombreux résultats expérimentaux et des faits d'observation vont tous dans le sens d'une altération de la fonction de reproduction mâle notamment en relation avec l'environnement (revue dans Toppari *et al.*, 30). L'implication de facteurs génétiques dans les modifications et les différences de qualité du sperme observées est peu probable étant donné la rapidité de l'évolution du phénomène et le fait qu'il survient simultanément dans plusieurs zones géographiques.

En résumé, les travaux récemment publiés indiquant des évolutions séculaires différentes et des variations géographiques de la qualité du sperme humain suscitent une controverse importante. Notamment, il est souvent avancé que beaucoup d'études sont sans valeur du fait des biais de recrutement ou des biais méthodologiques qu'elles contiennent. Cependant, au delà des études relatives à la qualité du sperme, de nombreuses données convergent pour suspecter des modifications de la fonction d'appareil reproducteur mâle et la responsabilité de facteurs environnementaux a souvent été évoquée.

L'étude des caractéristiques spermatiques indique une variabilité importante intra et surtout interindividuelle. Certains des facteurs contribuant à cette variabilité sont connus, d'autres non. Le dénominateur commun de toutes les études rétrospectives publiées est le faible rôle des facteurs explicatifs étudiés dans la variabilité globale des caractéristiques spermatiques : dans toutes ces études, au moins 50% de la variabilité (R^2) demeure inexpliquée.

Compte tenu des possibles enjeux de santé publique concernant les causes et les conséquences des différences séculaires et géographiques de la production et de la qualité spermatique objectivées, il est utile : 1) d'identifier les biais méthodologiques des études sur la qualité du sperme récemment publiées et, 2) de déterminer le rôle de différents facteurs physiques, environnementaux et liés aux modes de vie en tant que modulateurs de la production et de la qualité spermatique. L'analyse des données rétrospectives du CECOS Cochin et de la Fédération des CECOS permet d'apporter certains éléments de réponse.

Biais méthodologiques et de sélection

Que peut-on conclure de la méta-analyse danoise et des différentes études publiées depuis? Il est très difficile d'apporter une réponse à cette question car il existe de nombreuses limites et des facteurs de biais dans la plupart de ces études. Le Tableau III présente les facteurs qui devraient normalement être pris en compte dans ce type d'étude et montre à quel point les études faites dans un seul centre diffèrent au regard de ces critères.

Le premier des biais possibles concerne l'homogénéité de recrutement des hommes étudiés. Dans la méta-analyse danoise, ont été inclus de la même manière des études portant sur des hommes consultant avant une vasectomie, sur des maris de femme enceinte, sur des candidats au don de sperme, sur des sujets témoins dans des études " exposé/non exposé " et sur des hommes consultant pour infertilité mais inclus à partir du moment où leur femme était devenue enceinte. Dans les études dans un seul centre publiées depuis, les populations d'hommes étudiées sont dans la majorité des cas mal définies ou apparaissent inhomogènes. Dans ce type d'étude temporale, le risque de biais le plus grand est en fait lié à une modification des caractéristiques des hommes étudiés au cours du temps (modifications dans les critères de recrutement par exemple), ce facteur étant plus ou moins contrôlable. Dans l'étude parisienne, il a pu être vérifié que le mode de recrutement des candidats au don de sperme ne s'était pas modifié au fil des années.

Si l'on veut tirer des conclusions valables des analyses statistiques, qu'il s'agisse de l'évolution séculaire ou des différences géographiques, le nombre de sujets inclus dans

Tableau III. Critères pour évaluer le degré de validité d'une étude rétrospective sur l'évolution séculaire de la qualité du sperme: exemple des études publiées

Critère	Lieu des études											
	1*	2*	3*	4*	5*	6*	7*	8*	9*	10*	11*	12*
Population homogène et bien définie	+	+	±	+	+	±	±	±	+	-	-	?
Nombre moyen d'hommes/an	68	22	196	52	19	26	17	13	24	1286	140	23
Modification du recrutement en cours d'étude	-	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Un seul (le 1er) éjaculat analysé	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	?	+
Procédures de laboratoire standardisées/ bien décrites	+	+	±	+	±	±	-	-	±	-	+	?
Méthodologie statistique: Régression linéaire, L, multiple, M, non linéaire, NL; Analyse de la variance, A	L M	L NL	M	L M	L M	L M	L M	L M	L M	L A	L NL	/
Année de naissance prise en compte	+	-	±	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Age pris en compte	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	±	-
Durée d'abstinence sexuelle prise en compte	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-

*1: Paris (3); 2: Gand (32); 3: Turku (33); 4: Edimburg (19); 5: Toulouse (7); 6: Minnesota (16); 7: New York (16); 8: Los Angeles (16); 9: Seattle (27); 10: France (11); 11: Athènes (1); 12: Philadelphie (28)

chaque étude est un facteur important à prendre en compte du fait de la forte variabilité interindividuelle de la production spermatique. On peut ainsi considérer que chaque étude incluse dans la méta-analyse danoise a un " poids " extrêmement différent qui peut fausser les résultats globaux même si on applique une pondération. Dans cette méta-analyse, une étude incluait seulement 7 hommes, 11 études, moins de 20 hommes, 29 études moins de 50 hommes alors qu'une autre étude totalisait 4435 sujets! C'est aussi la raison pour laquelle on ne peut tirer de conclusion générale des études menées dans un seul centre car le nombre d'hommes étudiés et donc le nombre moyen d'hommes inclus par an était très variable d'une étude à l'autre (Tableau III). Lorsque le nombre d'hommes inclus par an est peu important, une faible variation dans le recrutement peut changer de manière significative le profil général de l'évolution séculaire des caractéristiques spermatiques comme l'indique la Figure 1.

Compte tenu de la variabilité intra-individuelle connue, de la concentration et des autres caractéristiques spermatiques [24], la moyenne (ou la médiane) de plusieurs éjaculats pour chaque homme devrait théoriquement permettre une évaluation plus précise de ces caractéristiques sur l'ensemble de la population. Cependant, qu'il s'agisse de l'étude de l'évolution séculaire ou de comparaisons de populations, on peut opposer deux remarques à cela : 1) Il peut y avoir un biais en " poolant " plusieurs éjaculats : par exemple, dans l'étude parisienne, seul le premier éjaculat a été analysé chez les candidats au don de sperme car le premier prélèvement de sperme présentait une qualité moindre chez les hommes qui n'avaient effectué qu'un seul prélèvement par rapport à ceux qui en avaient effectué plusieurs [3, 2] Si

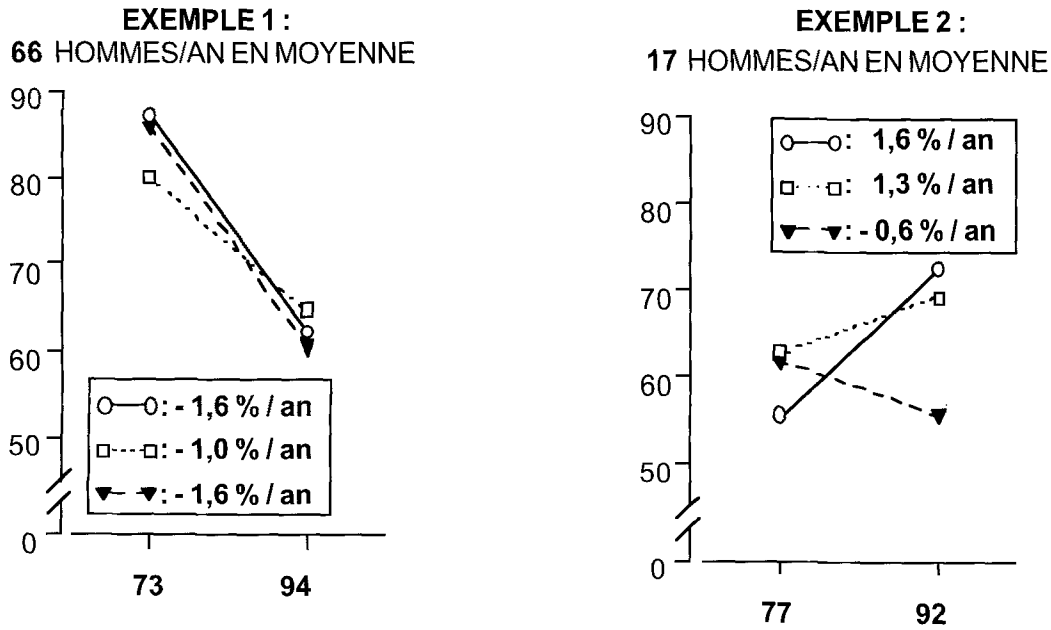


Figure 1 : Modélisation de l'effet du nombre d'hommes inclus par an sur l'évolution séculaire de la concentration de spermatozoïdes o——o : Données de base (3, 7) ; □· · · □ : profil d'évolution faisant l'hypothèse qu'il y a eu 8 autres candidats au don de sperme que ceux effectivement venus, chacune des 2 premières années de l'étude, 4 avec 10x10⁶spermatozoïdes/ml et 4 avec 20x10⁶spermatozoïdes/ml (Exemple 1) ou 4 avec 100x10⁶ spermatozoïdes/ml et 4 avec 150x10⁶ spermatozoïdes/ml (Exemple 2); ▼— ▼ : profil d'évolution faisant l'hypothèse qu' il y a eu 8 autres candidats au don de sperme que ceux effectivement venus chacune des 2 dernières années de l'étude, 4 avec 100x10⁶spermatozoïdes/ml et 4 avec 150x10⁶ spermatozoïdes/ml (Exemple 1) ou 4 avec 10x10⁶spermatozoïdes/ml et 4 avec 20x10⁶ spermatozoïdes/ml (Exemple 2).

il n'existe pas de biais de ce type, le fait de ne prendre en compte que le premier éjaculat sur l'ensemble des populations étudiées ne devrait avoir qu'un rôle négligeable (du fait de la distribution au hasard du facteur de confusion, " meilleure ou moins bonne concentration pour un même individu").

D'autres sources de biais potentiels sont en relation avec les méthodologies d'analyse du sperme, cette analyse se caractérisant par sa forte subjectivité, notamment en l'absence de procédures parfaitement standardisées. Dans les mois qui suivirent la publication de la méta-analyse danoise, Tumon et Mortimer [31] posaient la question importante de la validité de la comparaison des données sur la qualité du sperme, d'un laboratoire à l'autre, dans la mesure ou, dans ce domaine, les procédures sont très subjectives et le sperme est un fluide biologique visqueux, hétérogène et donc, particulièrement difficile à analyser. De plus, à l'époque des études citées, il n'existait pas de contrôle de qualité intra et interlaboratoire pour l'analyse du sperme. Or, les méthodologies de mesure de la concentration peuvent différer d'un centre à l'autre et elles ont également pu être modifiées au fil des années. Par exemple de simples pipettes ont été utilisées jusqu'au début des années 60 pour la dilution du sperme précédant l'estimation de la concentration et il est évident que cette pratique est un facteur d'imprécision notable [12]. Or dans l'étude danoise, les différences apparentes de la concentration spermatique ont été trouvées essentiellement entre les études faites avant et après 1961. Pour les études faites dans un seul centre, les méthodologies ne sont pas toujours bien décrites et/ou standardisées (avec parfois un changement de la procédure en cours d'étude!, 16) rendant les comparaisons très difficiles. Du fait de la nature rétrospective de ces études, il est difficile d'évaluer a posteriori les biais liés aux méthodes d'analyse du sperme employées en l'absence de contrôles de qualité parallèles, la mise en place de ces contrôles dans les laboratoires de biologie de la reproduction étant récente [9,10].

La méthodologie statistique employée est également un déterminant important des conclusion de ce type d'étude. Le mois suivant la publication de l'étude danoise, Brake et Krause [5] suggéraient que la baisse de concentration spermatique apparente au cours des 50 dernières années n'était certainement pas un phénomène continu et linéaire, et donc non modélisable par une simple régression linéaire. Deux années plus tard, Farrow [13] confirmait l'inadéquation du modèle de régression linéaire pour étudier la relation entre la concentration et l'année de l'étude, notamment parce qu'il existait de nombreuses données manquantes dans la période 50-70 et qu'il était impossible de faire une hypothèse particulière concernant cette période. En 1995, Olsen et collaborateurs réanalysant les données danoises [26] concluaient que pour de nombreuses raisons il était peu probable que l'évolution séculaire des valeurs de concentration spermatique moyenne soit linéaire. Ces auteurs avaient utilisé différents modèles statistiques : modèle quadratique, deux régressions linéaires, avant et après 1978 - les deux modèles indiquant une baisse de la concentration jusqu'à cette année suivie d'une légère augmentation jusqu'aux années 90 - modèle de type " marche d'escalier " ; comparaison des valeurs moyennes avant et après 1964 (seulement 3 études incluses pour les années 60), montrant une concentration significativement supérieure dans la première partie, ce modèle ayant l'avantage de ne pas faire d'hypothèse sur la période où les données étaient insuffisantes.

Bromwich et collaborateurs [6] reprenant également les données de l'étude danoise ont démontré de manière très convaincante que la baisse de la concentration apparente au cours des 50 dernières années pouvait résulter de l'abaissement du seuil de référence de normalité, 60 millions/ml dans les années 40 contre 20 millions/ml actuellement, à partir du moment ou l'on faisait l'hypothèse :

1) que la distribution de la concentration n'était ni uniforme ni normale (dans la plupart des études publiées sur le sujet, la distribution est asymétrique, de type logarithmique, les valeurs " basses " étant plus représentées) et

2) qu'elle ne s'était pas modifiée au cours de la période analysée. S'appuyant sur une base de données de la mesure de la concentration faite

chez 235 hommes inclus dans un programme de FIV, mesures répétées pour certains d'entre eux, ils montraient que la distribution de la concentration, qu'elle prenne en compte ou non les mesures individuelles répétées est de type logarithmique, la moyenne observée étant donc très dépendante du seuil choisi (dans leur réponse, Keiding et collaborateurs indiquaient que de nombreux papiers inclus dans leur étude faisaient mention de valeurs individuelles de concentrations inférieures aux seuils et que par conséquent les papiers pris en compte ne présentaient pas des moyennes calculées à partir de données tronquées c'est à dire à partir des seules valeurs de concentration supérieures à un seuil supposé de normalité, 21).

Récemment, Becker et Berhane [4] ont a nouveau réanalysé les données danoises prenant en considération le facteur géographique. Ils ont ainsi pu montrer qu'il existait bien une baisse significative de la concentration spermatique au cours des 50 dernières années se basant sur les études des Etats-Unis, les seules représentées de manière régulière au cours de cette période. Il faut cependant souligner que pour cette dernière étude, les réserves antérieurement formulées sur la faible adéquation du modèle de régression linéaire demeurent valables.

Concernant les études faites dans un seul centre, la plupart des auteurs ont utilisé le modèle de régression linéaire pour étudier de manière globale la relation entre caractéristique spermatique et année (de prélèvement ou de naissance) et les méthodes de régression multiple pour étudier l'effet de différentes co variables telles que l'âge des individus ou leur délai d'abstinence sexuelle, bien qu'une minorité d'études ait intégré les deux paramètres. En l'absence de prise en compte du paramètre " durée d'abstinence sexuelle ", il est très difficile de tirer des conclusions valables car si ce paramètre n'a pas été constant tout au long de l'étude il pourrait avoir influencé significativement les résultats. La variable " année de prélèvement " est une variable composite dans la mesure ou elle est la résultante de l'âge et de l'année de naissance de l'individu au moment du prélèvement. Dans beaucoup d'études ces deux dernières variables sont plus ou moins corrélées entre elles. Cependant, si l'intervalle des années de naissance et des âges et le nombre de sujets étudiés sont suffisamment grands, il est possible de mettre en évidence des effets séparés " âge " et " année de naissance ". C'est ce qui a été trouvé dans l'étude parisienne comme l'illustre le tableau IV. Il n'y a pour l'instant aucune explication rationnelle pour expliquer pourquoi cet effet négatif " année de naissance " dans une population d'hommes féconds de la région Ile de France. La relation inverse entre concentration spermatique et année de naissance des hommes a été retrouvée dans d'autres études [11,19].

Il apparaît donc que de nombreux facteurs contribuent à la grande variabilité des caractéristiques spermatiques rapportées: des facteurs méthodologiques, de manière sûre, des facteurs liés à l'homme, mais probablement aussi des facteurs liés à l'environnement et au mode de vie des hommes.

AUTRES FACTEURS DE VARIATIONS POSSIBLES DES CARACTÉRISTIQUES SPERMATIQUES

Le Tableau V présente plusieurs facteurs pouvant sûrement ou plus probablement influencer les valeurs des caractéristiques du sperme.

Poids, taille masse corporelle

On peut se poser la question de savoir si le niveau de production spermatique (et la qualité spermatique à un moindre degré) est lié à la taille, au poids, à la masse corporelle ou à la surface corporelle de l'homme dans la mesure où il existe une relation entre la taille des organes et ces différentes caractéristiques et où, d'autre part, il a été montré que le nombre de spermatozoïdes éjaculés était corrélé avec le volume testiculaire. Il n'existe pas de données publiées sur ce sujet. Cependant, cette question a récemment été étudiée à l'aide de l'analyse en régression multiple (qui prenait en compte l'âge, l'année de naissance et le délai d'abstinence sexuelle) à partir des données concernant plus de 2500 hommes féconds ayant fait un prélèvement de sperme au CECOS Paris-Cochin : aucune relation n'a été trouvée entre une quelconque caractéristique

Tableau IV. Analyse par régression multiple des effets de l'âge, de l'année de naissance et du délai d'abstinence sexuelle sur les caractéristiques du sperme de 1448 hommes féconds de la région parisienne [3].

CARACTERISTIQUE ET FACTEUR	COEFF. DE REGRESSION (%)	INTERVALLE DE CONFIANCE (%)	VALEUR DE P
CONCENTRATION			
● Age (par an)	- 2,5	- 1,2 / - 3,8	<0,001
● Année de naissance (par an)	- 1,9	- 0,8 / - 3,0	<0,001
● Délai d' abstinence (par jour)	+ 1,9	+ 0,7 / + 3,1	+ 0,003
SPERMATOZOIDES MOBILES (%)			
● Age (par an)	- 0,7	- 0,5 / - 0,8	<0,001
● Année de naissance (par an)	- 0,4	- 0,3 / - 0,6	<0,001
● Délai d' abstinence (par jour)	- 0,2	- 0,1 / - 0,4	+ 0,007
SPERMATOZOIDES NORMAUX (%)			
● Age (par an)	- 1,0	- 0,8 / - 1,2	<0,001
● Année de naissance (par an)	- 0,8	- 0,6 / - 1,0	<0,001

Tableau V. Facteurs connus et facteurs possibles pouvant contribuer à la variabilité des caractéristiques du sperme humain et donc au résultat des études sur la production et la qualité spermatique

A) Facteurs liés à la méthodologie d'analyse du sperme:

- Equipement et procédures utilisées
- Variabilité intra- et inter-technicien

B) Facteurs liés à l'homme:

- Délai d'abstinence sexuelle
- Age
- Année de naissance
- Activité sexuelle ?
- Poids, taille, masse corporelle ?

C) Autres facteurs:

- Facteur génétique ?
- Facteur ethnique ?
- Saison ?
- Facteur "toxique" professionnel ?
- Conditions de mode de vie et/ou d'environnement (région ? zone de résidence ? alimentation ? habitudes vestimentaires ? ...)

spermatique et l'un de ces paramètres constitutionnels (Auger et Jouannet, données non publiées).

Facteur génétique

Quelques études indiquent la composante génétique/familiale de la production spermatique et de la fertilité masculine [23]. Cette composante familiale avait été évoquée dans l'étude parisienne ou il avait été montré que les candidats au don de sperme frères d'un homme stérile avaient une production et une qualité spermatique inférieure aux candidats au don de sperme sans aucune parenté avec un homme stérile [3]. On peut espérer mieux connaître cette composante dans les années à venir grâce au nombre croissant de travaux dans ce domaine.

Saison

Une dizaine d'études provenant de différentes régions du monde qui semblent comporter peu de biais de sélection ou méthodologiques rapportent les variations annuelles de qualité spermatique [22]. Elles indiquent en moyenne une réduction de la production spermatique en été (Juillet, Août ou Septembre, selon les études), les valeurs les plus élevées étant observées aux mois de Mars et Avril. De ces études, on ne peut tirer aucune conclusion sur d'éventuelles variations saisonnières du volume de l'éjaculat, de la mobilité ou du pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux. Le résultat concernant la concentration spermatique significativement abaissée en été a été retrouvé chez plus de 1000 hommes féconds candidats au don de sperme à Paris dans une analyse prenant en compte l'âge, l'année de naissance et le délai d'abstinence des hommes (Auger et Jouannet, données non publiées). Dans la même étude, aucune variation significative saisonnière n'a été retrouvée pour les autres caractéristiques spermatiques, sauf pour le pourcentage de spermatozoïdes mobiles qui était significativement abaissé aux mois d'Août et de Septembre.

Profession

Depuis plusieurs dizaines d'années, la qualité spermatique a été considérée comme un marqueur intéressant de la fonction de reproduction dans des études évaluant les facteurs de risque professionnels. Cependant, à de rares exceptions près où il a été montré que des stérilités masculines avaient été occasionnées par une exposition à un toxique professionnel (le cas par exemple des ouvriers agricoles ayant été exposés au DBCP, 34), on ne dispose que de peu de données dans ce domaine. En dehors des facteurs de risque chimiques ou physiques (chaleur, rayonnements), le stress aigu ou chronique a souvent été évoqué comme un facteur de risque d'anomalies de la fonction de reproduction masculine et de diminution de la qualité spermatique [17,18]. Dans une étude faite à Paris et regroupant deux populations d'hommes féconds, candidats au don de sperme et candidats à la vasectomie, des différences significatives des valeurs moyennes de certaines caractéristiques du sperme, nombre de spermatozoïdes et morphologie spermatique notamment, en relation avec la profession des hommes ont été trouvées (Tableau VI). Ces différences qui peuvent faire évoquer le rôle combiné ou non de facteurs tels que le stress, la chaleur ou l'exposition à des produits toxiques (Auger et Jouannet, données personnelles) méritent d'être vérifiées dans le cadre d'études prospectives.

Origine géographique, région

Les valeurs moyennes de la concentration dans les études incluses dans la méta-analyse danoise et les données des études faites depuis dans un seul centre indiquent de fortes différences géographiques (voir Tableau II). Le facteur ethnique est peut-être l'une des composantes de ces différences, mais probablement pas la seule : des différences importantes sont également observées dans des populations diverses de caucasiens. En France, grâce au réseau des CECOS qui représente un observatoire potentiel de la santé reproductive des hommes, les variations régionales de la qualité du sperme de 4710 hommes féconds candidats au don de sperme dans 8 régions françaises ont récemment été étudiées [14]. Dans tous les CECOS, les critères de recrutement des candidats donneurs de sperme sont identiques et une méthodologie similaire d'analyse du sperme est appliquée. A partir des données ajustées sur

Tableau VI. Comparaison des caractéristiques spermatiques d'hommes féconds de la région parisienne en fonction de leur profession (sous-catégories INSEE) (Auger et Jouannet, données personnelles)

	Chef d'entreprise	Professeur	Instituteur	Employé du Service Public	Ouvrier qualifié	P (ANOVA)
N:	44	109	118	96	167	
Volume (ml)	3,3 (0,3)	4,0 (0,2)†	3,6 (0,2)	3,7 (0,1)	3,4 (0,1)†	NS
Concentration (x10⁶/ml)	96 (12)	103 (7)	106 (9)	91 (5)	110 (6)	
Médiane:	65	80	65†	66 ‡	86 †‡	< 0,05
Nombre total (x10⁶)	294 (36)	379 (28)	353 (33)	322 (20)	369 (25)	
Médiane:	186 †	280 †,*, §	205 *	215 §	257	< 0,05
Mobilité (%)	60,5 (2,5)	65,6(1,2) †	62,5(1,3)	62,4 (1,0)†	64,4 (0,9)	NS
Formes typiques (%)	55,2 (2,0)‡	62,6(1,4) ‡,£,$,†	55,5(1,4) £,*	56,0(1,1) $	59,0(1,2) †,*	< 0,001

‡, £, $: P < 0,01 †, *, § : P < 0,05

l'âge, le délai d'abstinence sexuelle et l'année de naissance des hommes, des différences très significatives de la quantité totale de spermatozoïdes produits ont été mises en évidence d'une région à l'autre de France : celle-ci était par exemple, un tiers plus basse à Toulouse qu'à Caen (Figure 2). Des différences régionales ont également été trouvées pour le paramètre mobilité [14]. Il n'y a à l'heure actuelle aucune explication rationnelle des différences observées. De nombreux facteurs peuvent être impliqués conjointement (alternances jour /nuit? Climat? Modes de vie?...). Les différences trouvées ont abouti à la mise en place d'une étude prospective multicentrique en cours actuellement.

Zone de résidence

Les conditions de mode de vie et d'environnement pourraient influencer la production spermatique y compris dans une zone géographique limitée : c'est ce qui a été trouvé pour la région Ile de France dans une étude ayant comparé la qualité spermatique en fonction de la zone de résidence (département) de tous les hommes féconds, candidats au don de sperme et à la vasectomie, venus au CECOS Paris-Cochin au cours des 20 dernières années (Auger et Jouannet, données personnelles) (Figure 3). Il existait une différence de 80 milions de spermatozoïdes pour la médiane du nombre total de spermatozoïdes entre la zone ou cette caractéristique était la plus basse (Paris et 2 départements limitrophes) et celle ou elle était la plus haute (4 départements contigus aux limites de la région Ile de France). Des résultats allant dans le même sens ont été observés pour le pourcentage de formes typiques.

Au total, de nombreux facteurs connus et encore inconnus liés au mode de vie des hommes et à leur environnement semblent pouvoir influencer la production et la qualité spermatique.

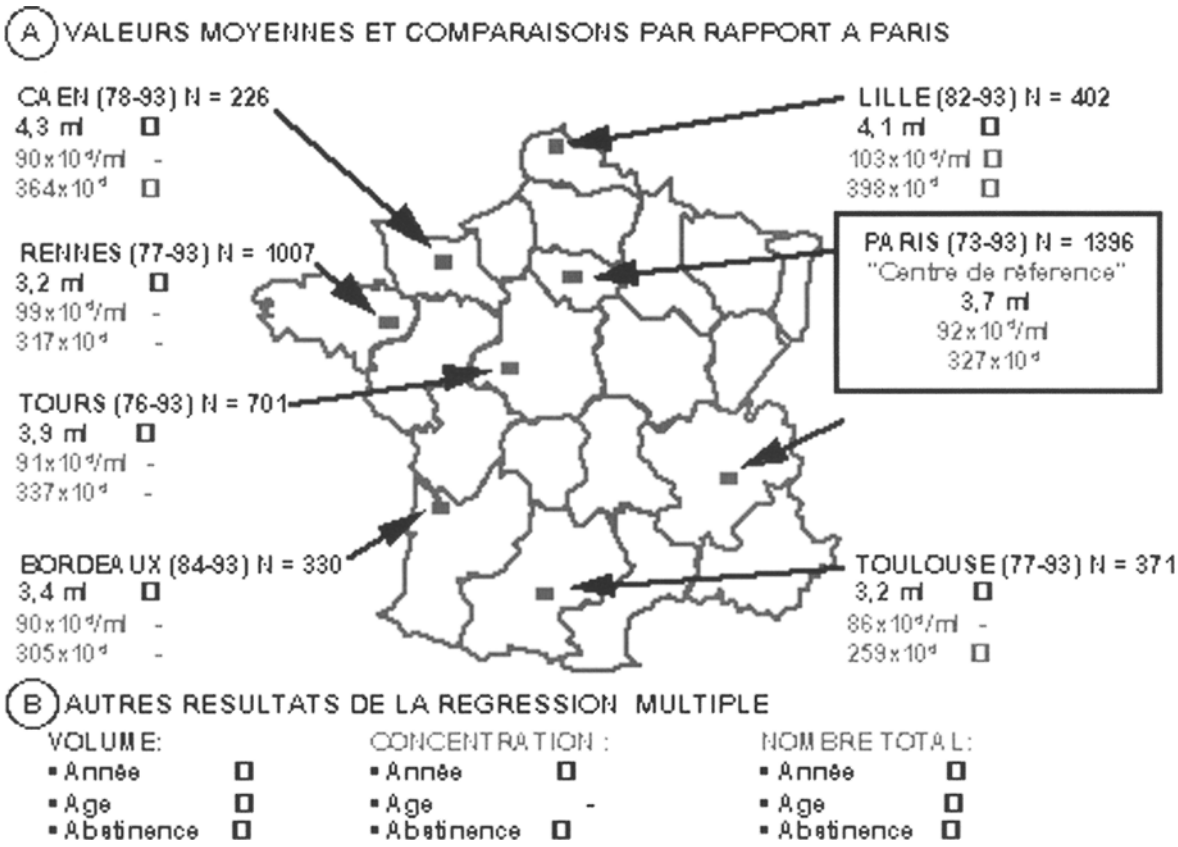


Figure 2 : Différences régionales de la qualité du sperme chez des hommes féconds candidats au don de sperme par analyse en régression multiple [14] Les flèches indiquent : les différences significatives dans un sens ou dans l'autre par rapport à Paris pris arbitrairement comme centre de référence (A) et le rôle des variables indépendantes modulant les caractéristiques spermatiques (B).

Afin de mettre en évidence les facteurs qui pourraient jouer un rôle néfaste sur la production et la qualité spermatique, il apparaît tout d'abord nécessaire d'identifier et de corriger tous les facteurs de biais liés à l'évaluation des caractéristiques spermatiques. Les efforts actuels dans le domaine de la standardisation et de l'automatisation de certaines analyses du sperme ainsi que la mise en place de contrôles de qualité internes et externes vont dans ce sens.

Ensuite, il apparaît utile d'intensifier les recherches dans ce domaine afin d'identifier les différents facteurs susceptibles de moduler la production et la qualité spermatique et de juger de leur rôle respectif face à l'importante question qui est actuellement posée : Quel est le rôle de l'environnement, mot pris au sens le plus large, dans les modifications de la fonction de reproduction mâle ? Pour ce faire, plusieurs types d'études sont nécessaires : des études prospectives à partir de populations parfaitement caractérisées et des études expérimentales visant à étudier le lien entre le facteur suspecté et l'effet produit dans le but d'une connaissance de la physiopathologie des mécanismes en causes.

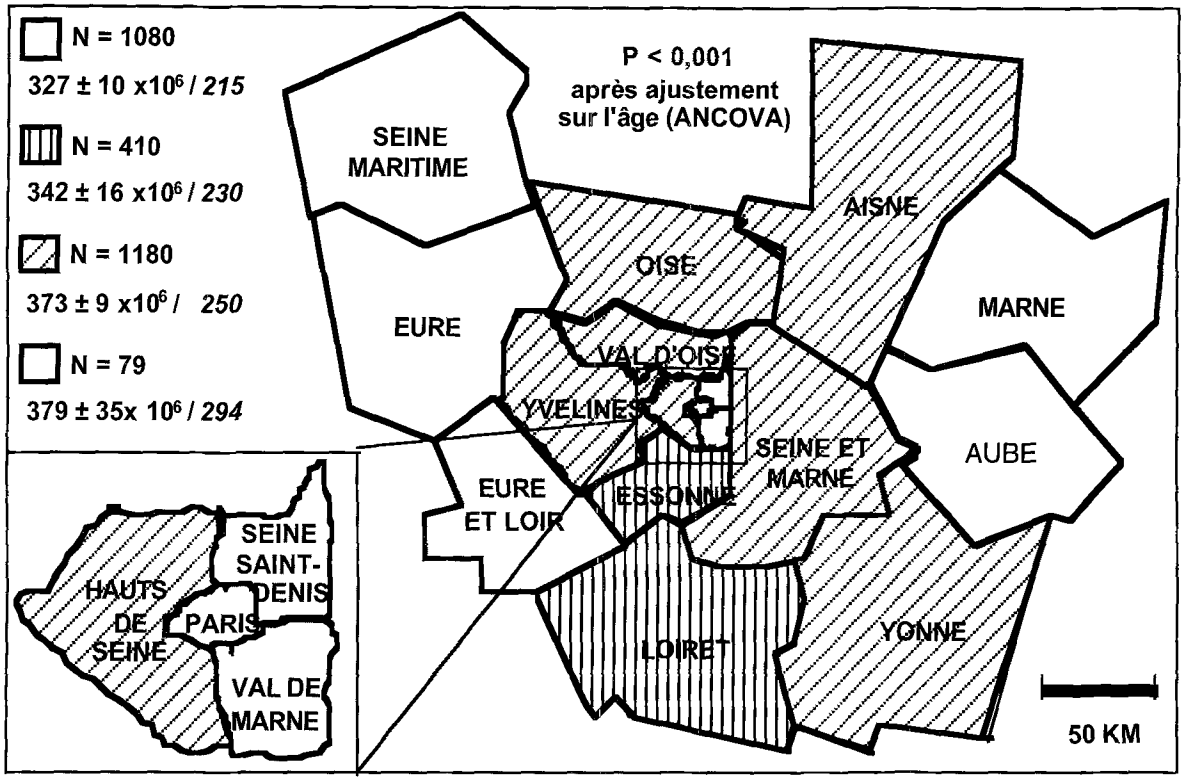


Figure 3 : Nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (Moyenne±ESM et Médiane) chez des hommes féconds de la région Ile de France et des départements limitrophes (Auger et Jouannet, données personnelles). Il n'existe pas de différence significative entre les départements représentés avec un même niveau de gris. La numération totale diffère significativement entre les départements de niveau de gris différent après ajustement sur l'âge des hommes (p<0,001, analyse ajustée sur l'âge (ANCOVA); pour ces différentes zones de résidence il n'y avait pas de différence significative pour les facteurs délai d'abstinence et année de naissance).

REFERENCES

1. ADAMANPOULOS D., PAPPA A., NICOPOULOU S., ANDREOU E., KARAMERTZANIS M., MICHOPOULOS J., DELIGIANNI V., SIMOU M. : Seminal volume and total sperm number trends in men attending subfertility clinics in the Greater Athens area during the period 1977-1993. Human Reprod., 1996, 11: 1936-1941.
2. ADAMI H., BERGSTRÖM R., MÖHNER M., ZATONSKI W., STORM H., EKBOM A., TRETLI S., TEPPO L., ZIEGLER H., RAHU M., GUREVICIUS R., STENGREVICS A. : Testicular cancer in nine northern european countries. Int. J. Cancer, 1994, 59 : 33-38.
3. AUGER J., KUNSTMANN J.M., CZYGLIK F., JOUANNET P. : Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. New Engl. J. Med., 1995, 332 : 281-285.
4. BECKER S., BERHANE K. : A meta-analysis of 61 sperm count studies revisited. Fertil. Steril., 1997, 67: 1103-1108.
5. BRAKE A., KRAUSE W. : Decreasing quality of semen (letter). Br. Med. J., 1992, 305 : 1498.
6. BROMWICH P., COHEN J., STEWART I., WALKER A. : Decline in sperm counts: an artefact of changed reference range of «normal»? Br. Med. J., 1994, 309:19-22.
7. BUJAN L., MANSAT A., PONTONNIER F., MIEUSSET R. : Sperm concentration in donor 1977-1992 in Toulouse, France. Br. Med. J., 1996, 312 : 471-472.
8. CARLSEN E., GIWERCMAN A., KEIDING N., SKAKKEBAEK N.E. : Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Br. Med. J., 1992, 305 : 609-613.
9. CLAVERT A. : Le groupe de travail " Assurance de Qualité en Biologie de la Reproduction ". Andrologie, 1997, 7 : 414-418.
10. COOPER T.G., NEUWINGER J., BAHRS S., NIESCHLAG E. : Internal quality control of semen analysis. Fertil. Steril., 1992, 58 : 172-178.
11. DE MOUZON J., THONNEAU P., SPIRA A., MULTIGNER L. : Semen quality has declined among men

born in France since 1950. Br. Med. J., 1996, 313 : 43.

12. ELIASSON R. : Parameters of male fertility. In: Hafez ESE, Evans TN eds. Human Reproduction, Conception and Contraception. Hagerstown: Harper and Row, 1973 pp 39-51

13. FARROWS S. : Falling sperm quality : fact or fiction? Br. Med. J., 1994, 309 : 1-2.

14. FÉDÉRATION CECOS, AUGER J., JOUANNET P. : Evidence for regional differences of semen quality among fertile french men. Human Reprod., 1997, 12 : 740-745.

15. FISCH H., GOLUBOFF E.T. : Geographic variations in sperm counts: a potential bias in studies on semen quality. Fertil Steril, 1996, 65, 1044-1046

16. FISCH H., GOLUBOFF E.T., OLSON J.H., FELDSHUH J., BRODER S.J., BARAD D.H. : Semen analysis in 1283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. Fertil. Steril., 1996, 65 : 1009-1014.

17. FUKUDA M., FUKUDA K., TAKASHI S., YOMURA W., SHIMIZU T. : Kobe earthquake and reduced sperm motility. Human Reprod., 1996, 11 : 1244-1246.

18. GIBLIN P.T., POLAND M.L., MOGHISSI K.S., AGER J.W., OLSON J.M. : Effects of stress and characterisitc adaptability on semen quality in healthy men. Fertil. Steril., 1988, 49 : 127-132.

19. IRVINE D.S., CAWOOD E., RICHARDSON D., MACDONALD E., AITKEN J. : Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study of 577 men in Scotland over 11 years. Br. Med. J., 1996, 312 : 467-470.

20. JOUANNET P., AUGER J. : Declining sperm counts ? More research is needed. Andrologia 1996, 28 : 302-303.

21. KEIDING N., GIWERCMAN A., CARLSEN E., SKAKKEBAEK N.E. : Importance of empirical evidence (commentary). Br. Med. J., 1994, 309 : 22.

22. LEVINE R.J. : Seasonal variation of semen quality and fertility. International Symposium on Environment, Lifestyle and Fertility, Aarhus, Danemark, 1997. Abstract book : 59-62.

23. LILFORD R., JONES A.M., BISHOP D.T., THORNTON J., MUELLER R. : Case-control study of whether sublfertility in men is familial. Br. Med. J., 1994, 309 : 570-573.

24. MACLEOD J., GOLD R.Z. : The male factor in fertility and infertility. VIII. A study of variation in semen quality. Fertil. Steril., 1956, 7 : 387-410.

25. NELSON C.M.K., BUNGE R.G. : Semen analysis : Evidence for changing semen parameters of male fertility potential. Fertil. Steril., 1974, 25 : 503-507.

26. OLSEN G.W., BODNER K.M., RAMLOW J.M., ROSS C.E., LIPSHULTZ L.I. : Have sperm counts been reduced 50 % in 50 years ? A statistical model revisited. Fertil. Steril., 1995, 63, 887-893.

27. PAULSEN C.A., BERMAN N.G., WANG C. : Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in semen quality : further evidence that deterioration of semen quality is not geographically uniform. Fertil. Steril. 1996, 65 : 1015-1020.

28. SCHAFER D., ARREDONDO-SOBERON F., LORET DE MOLA J.R., BLASCO L. : Has sperm quality declined in the 1990's: analysis from a donor program. 52nd Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, 1996, Abstract book : 286.

29. SCHWARTZ D., MAYAUX M.J., SPIRA A., MOSCATO M.L., JOUANNET P., CZYGLIK F., DAVID G. : Semen characteristics as a function of age in 833 fertile men. Fertil. Steril., 1983, 39 : 530-535.

30. TOPPARI J., LARSEN J.C., CHRISTIANSEN P. et al. : Male reproductive health and environmental xenoestrogens. Environ. Health Perspect., 1996, 104, Suppl. 4, 741

31. TUMON I.S., MORTIMER D. : Decreasing quality of semen (letter). Br. Med. J., 1992, 305 : 1228-1229.

32. VAN WAELEGHEM K., DE CLERCQ N., VERMEULEN F., SCHOONJANS F., COMHAIRE F. : Deterioration of sperm quality in young healthy belgian men. Human Reprod., 1996, 11 : 325-329.

33. VIERULA M., KEISKI A., SAARANEN M., SAARIKOSKI S., SUOMINEN J. : High and unchanged sperm counts of Finnish men. Int. J. Androl., 1996, 19 : 11-17.

34. WHORTON D., KRAUSS R.M., MARSHALL S., MILBY T.H. : Infertility in male pesticide workers. Lancet 1977, 2 : 1259-1260.

ABSTRACT

Factors modulating human sperm production and quality and methodological bias of studies on semen quality

J. AUGER , P. JOUANNET

In the last few years, the possible decline of human semen quality as well as the important geographical variations of semen quality have been discussed in several scientific articles. In a meta-analysis of 61 publications worldwide, Carlsen et al. found a trend of decreasing sperm count over the past 50 years. This work has been at the origin of many commentaries and controversy. Two kinds of questions were mainly raised : Is the phenomenon real ? what could be the reason(s) for such a decline ? Many sceptical attitudes facing the conclusions of Carlsen et al. came from the fact that the studies included in the meta-analysis were done in various

countries at different times, that the men studied could be very heterogeneous in term of fertility status and that the sample sizes of many studies were very low. It was also advocated that the results could be influenced by cofactors as the man's age or the duration of sexual abstinence before semen collection or by differences in the methodologies used to analyse the semen samples in the various centers. Interestingly, several retrospective studies from a single centre were published after the meta-analysis of Carlsen reporting data from different groups of men recruited during more than 10 years periods in the last decades. Some of these studies found a decline of sperm concentration while for others, no secular modification of sperm concentration could be observed. It was also noticed important differences between values of semen characteristics in these various studies raising the question of geographical or regional differences besides the secular trend observed. Most of the published studies were very imprecise or poor of information concerning the men included in the study, the technical conditions used for semen analysis, the statistical methods used and the interpretation of the data. We discuss here some of the data of these studies in the context of the actual debate on the modifications of semen quality with the aim to pin-point the methodological bias contributing to the variation in the evaluation of semen quality . Moreover we also discuss the current data on the factors related to the men and their environment which could modulate sperm production and quality. It is mandatory to determine if the man's reproductive function is influenced by environmental factors and if yes how they act. May be one of the main interest of the ongoing debate will be to develop basic and prospective epidemiological research in the field.

Key-Words *: male fertility, sperm concentration, semen quality, secular variation, geographical variation, methodological bias*