

L'Inhibine B chez les blessés radiculo-médullaires. Résultats préliminaires

B.MATHIAN 1, A. PALLANT 1, G.PILONCHÉRY 1, K. CHARVIER 2, M.C.PATRICOT 1.

1 Laboratoire d' Hormonologie, Service de Biochimie, Bat. B, Centre Hospitalier Lyon-Sud, 69495 Pierre-Bénite. 2 Hôpital de rééducation et de réadaptation fonctionnelle Henry Gabrielle, route de Vourles, 69230 Saint Genis Laval.

RÉSUMÉ

Les lésions neurologiques constatées chez les hommes blessés radiculo-médullaires entraînent souvent une altération de la qualité du sperme et parfois une anéjaculation. Des biopsies testiculaires ont permis de mettre en évidence que l'atteinte médullaire peut être responsable de l'altération des cellules de la lignée germinale. Un bilan hormonal a été pratiqué chez 13 patients présentant une absence de sperme au moment de l'examen. Des dosages plasmatiques de testostérone totale et de testostérone biodisponible, de FSH et d'inhibine B ont été réalisés en comparaison avec des témoins du même âge sans problème apparent de reproduction. Des diminutions significatives des valeurs de testostérone totale, de testostérone biodisponible et d'inhibine B ont été mises en évidence chez les patients. Les valeurs de FSH en moyenne plus élevées chez les malades ne diffèrent pas de manière significative de celles des témoins. Ces résultats permettent d'envisager que l'inhibine B pourrait être un bon marqueur de la fonction testiculaire et de la spermatogénèse. Une étude plus large et longitudinale devrait pouvoir répondre à cette question.

INTRODUCTION

Les lésions neurologiques constatées chez les blessés radiculo-médullaires entraînent souvent des altérations de la fonction de reproduction chez l'homme qui peuvent être mises en évidence par l'étude du sperme, des biopsies testiculaires et de l'environnement hormonal [3, 13, 16]. On note souvent chez ces patients une diminution du volume spermatique et du nombre des spermatozoïdes et parfois une anéjaculation. Les biopsies testiculaires ont permis de mettre en évidence que l'atteinte médullaire peut être responsable de l'altération des cellules de la lignée germinale [13]. Le bilan hormonal de ces sujets montre une modification du fonctionnement de l'axe hypophyso-gonadique [8] avec notamment pour certains, des variations dans les valeurs plasmatiques de FSH [10] et de testostérone [3, 10]. Cependant ces modifications ne sont pas toujours présentes ni corrélées avec la spermatogénèse et varient selon les auteurs. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à un nouveau paramètre, l'inhibine B plasmatique. Originnaire de la cellule de Sertoli [22], sécrétée sous l'influence de la FSH, l'inhibine B exerce un effet de rétrocontrôle sur la sécrétion de la FSH. Son dosage peut permettre une

Mots-clés : Blessés radiculo-médullaires, hormones, inhibine B, testostérone, FSH.

Correspondance à adresser à M.C.Patricot
Laboratoire d'Hormonologie, Service de Biochimie, Bat.
B, Centre Hospitalier Lyon-Sud, 69495 Pierre-Bénite

nouvelle approche pour identifier l'origine des problèmes rencontrés chez les blessés radiculo-médullaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Patients étudiés

Treize patients présentant des lésions radiculo-médullaires à divers niveaux ont été recrutés lors de la consultation de sexologie à l'hôpital Henry Gabrielle. La sélection des patients a pris en compte les sujets ne présentant pas d'éjaculation au moment de l'examen afin d'avoir une population plus homogène. Pour trois sujets plusieurs prélèvements ont pu être réalisés. L'âge moyen des patients étaient de $32,3 \pm 10,1$ ans (19-51).

Sept témoins en bonne santé ont été recrutés parmi le personnel du laboratoire. L'âge moyen de ces sujets était de $29,7 \pm 2,4$ ans (26-32).

Les deux populations ne présentaient pas de différence significative d'âge (test de Student $p = 0,2623$).

Méthodes

La testostérone totale plasmatique a été dosée par méthode radioimmunologique avec le kit Testostérone SP Immunotech. Ce kit utilise des anticorps anti-testostérone fixés sur la paroi des tubes et de la testostérone marquée à l'iode 125. Au préalable, les échantillons sont extraits par l'éther diéthylique et chromatographiés sur colonne de célite. La limite de détection de cet essai est de 0,1 nmol/l et la répétabilité à une concentration de 4,57 nmol/l est de 7,9 %.

Le dosage de testostérone biodisponible mesure la fraction non liée à la SHBG (sex-hormone-binding-globulin) [4]. Après précipitation sélective de la SHBG par le sulfate d'ammonium à 50 %, la testostérone non liée à la SHBG est dosée par méthode radioimmunologique avec le Kit Testostérone SP Immunotech. La limite de détection de cet essai est de 0,1 nmol/l et la reproductibilité interessai à une concentration de 4,5 nmol/l est de 9,5 %.

La FSH est mesurée par méthode immunochimique sur l'Automate Vidas (bioMérieux, France). Il s'agit d'un dosage de type sandwich utilisant deux anticorps monoclonaux. La répé-

tabilité de la méthode est de 4,9 % pour une concentration de 4 UI/l. La limite de détection est de 0,1 UI/l.

Le dosage de l'Inhibine B est réalisé par méthode immunologique de type ELISA sur microplaques utilisant un anticorps monoclonal vis à vis de la sous-unité β de l'inhibine et un anticorps monoclonal vis à vis de la sous-unité alpha de l'inhibine couplé à la phosphatase alcaline (Medgene Science, Serotec). La sensibilité annoncée par le fabricant est de 15 pg/ml et les reproductibilités intra-essai et inter-essais voisines de 7 %.

Résultats

Le Tableau I présente les valeurs obtenues sur les patients ainsi que les temps écoulés entre le moment du prélèvement et le moment de l'accident. Le Tableau II présente les résultats des sujets témoins.

Le temps écoulé entre le prélèvement et le moment de l'accident est souvent très important et n'est pas en relation avec la concentration de l'inhibine B. Cette concentration n'est pas corrélée avec le temps écoulé depuis l'accident, cependant en éliminant les prélèvements obtenus plus de dix ans après l'accident, on note une relation entre le taux d'inhibine B et le temps après l'accident, l'inhibine B ayant tendance à remonter lorsque le temps après l'accident augmente ($n = 11$, $r = 0,6539$).

Les figures 1,2,3,et 4 montrent les résultats obtenus chez les malades et chez les témoins pour l'inhibine B, la testostérone, la testostérone biodisponible et la FSH. Des différences significatives sont observées entre les deux populations pour l'inhibine B ($p = 0,0012$), la testostérone totale ($p = 0,0137$) et la testostérone biodisponible (0,0104).

Discussion

Suivant une atteinte radiculo-médullaire importante, la fertilité de l'homme est souvent altérée. Bien que la difficulté d'éjaculation soit un facteur majeur dans ce processus, l'altération de la qualité du sperme suggère que des anomalies de la spermatogenèse peuvent contribuer à la diminution de la fertilité. On a montré expérimentalement chez le rat qu'une atteinte médullaire entraîne rapidement une

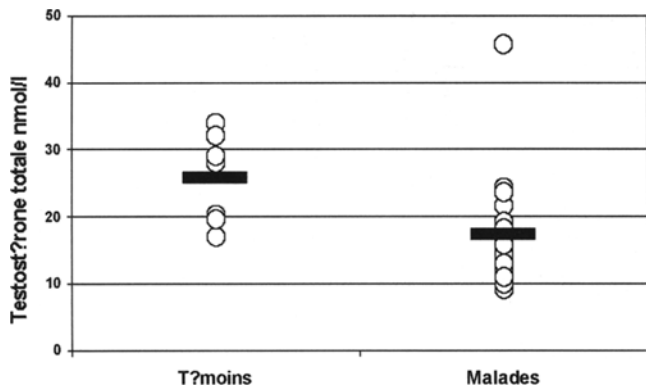


Figure 1 : Valeurs de l'inhibine B plasmatique (pg/ml) chez les témoins et les malades. Différence significative ($p = 0,0010$) entre la population des témoins et la population des malades.

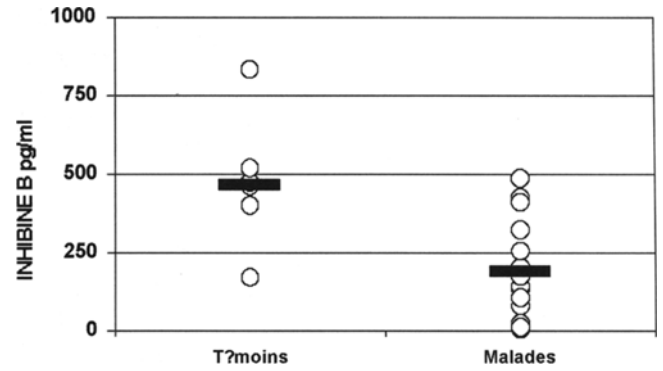


Figure 2 : Valeurs de la Testostérone plasmatique totale (nmol/l) chez les témoins et les malades. Différence significative ($p = 0,0188$) entre la population des témoins et la population des malades.

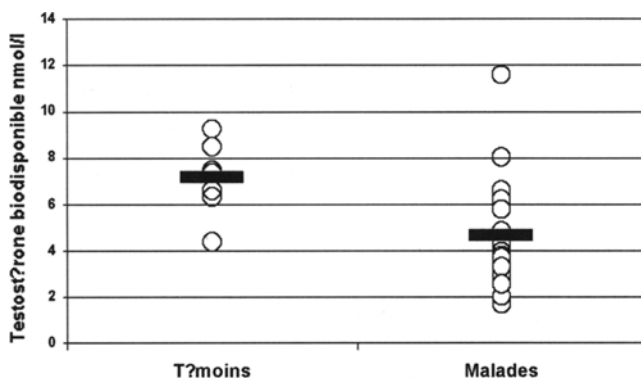


Figure 3 : Valeurs de la Testostérone plasmatique biodisponible (nmol/l) chez les témoins et les malades. Différence significative ($p = 0,0137$) entre la population des témoins et la population des malades.

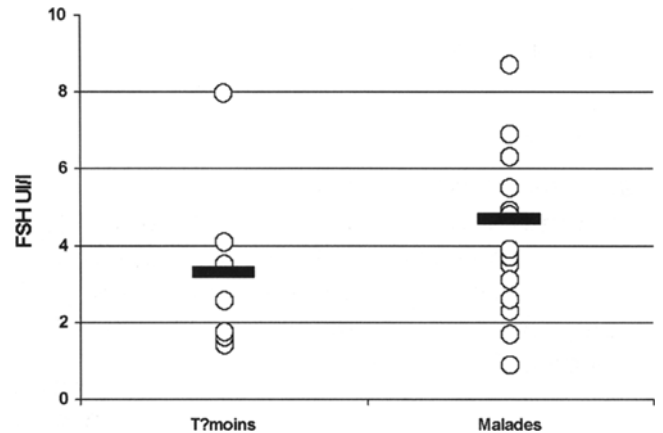


Figure 4 : Valeurs de la FSH plasmatique (UI/l) chez les témoins et les malades. Différence non significative entre la population des témoins et la population des malades.

Tableau I : Valeurs de l'inhibine B, de la testostérone totale et biodisponible et de la FSH plasmatiques obtenues sur les malades sélectionnés ainsi que le temps écoulé depuis l'accident et le niveau de la lésion observée.

n°1,n°2,n°3 = malades ayant eu plusieurs prélèvements

AGE	INHIBINE B pg/ml	FSH UI/l	Testostérone nmol/l	Testo. Libre nmol/l	Temps depuis Accident jours	Niveau lésion
30 (n°1)	81,9	4,91	12,2	8,02	230	D6
19	133,1	4,8	15,3	1,68	149	D4-D5
53		6,9	21,6	3,1		
47	323	3,5	45,8	3,8	4095	D4
30 (n°1)	87,7	5,5	24,3	11,6	307	D6
24	10	8,7	14,3	6,6	229	C7
32	486,8	0,9	23,6	3,97	103	SEP
40	10	12,8	12,2	2,92	240	D6
32	142,9	6,3	19,2	4,85	4646	L2-L3
25 (n°2)	78,2	3,1	9,1	2,03	6655	D10-D11
51	204,5	3,7	13	4,31	250	D11-D12
27 (n°3)	462,2	2,3	11	3,7	2424	L1
25 (n°2)	105,5	3,9	18,2	6,2	6676	D10-D6
27 (n°3)	411,1	2,6	9,9	3,3	2438	L1
29	254,8	3,1	10,9	2,56	4034	C5-C6
25	173,7	1,7	15,8	5,78	822	D6
27 (n°3)	363	2,3	10,9	3,72	2585	L1
m= 35,20	208,03	4,53	16,90	4,60	2242,69	
DS= 11,92	157,10	2,92	8,84	2,47	2345,79	

Tableau 2 : Valeurs de l'inhibine B, de la testostérone totale et biodisponible et de la FSH plasmatiques obtenues sur les témoins d'âge comparable à celui des malades.

AGE	INHIBINE B pg/ml	FSH UI/l	Testostérone nmol/l	Testo. Libre nmol/l
29	834	1,43	28	4,38
26	462	1,62	29	6,62
28	402	7,97	20,3	7,46
32	474	4,09	34	9,26
32	520	1,75	17	8,48
32	171	3,51	32,1	7,34
29	402	2,56	19,6	6,34
m= 29,7	466,43	3,28	25,71	7,13
DS= 2,36	197,33	2,30	6,68	1,58

atteinte profonde de l'axe hypophyso-testiculaire, cette atteinte ayant un effet important sur la spermatogenèse et le fonctionnement de la cellule de Sertoli [9]. Le bilan hormonal chez le blessé radiculo-médullaire a suscité de nombreux travaux, sans aboutir à des résultats très concordants [16].

Des valeurs élevées de FSH sont en général en relation avec des défauts de la spermatogenèse. Elles sont retrouvées chez l'homme dans les azoospermies et oligospermies d'origines diverses [1, 12, 17]. Chez les blessés radiculo-médullaires, ceci a été rapporté mais de manière inconstante. La FSH est augmentée dans 18,7 % des cas [10] ou dans 21 % des cas [16] selon les auteurs. Les valeurs moyennes de FSH ont même été trouvées inférieures à celles des contrôles dans une étude [3]. Nos valeurs sont plus élevées chez les malades que chez les contrôles mais de manière non significative. Ainsi, dans notre étude, l'absence de sperme n'est pas en relation directe avec le fonctionnement de l'axe hypophyso-gonadique.

La testostérone montre également des résultats différents selon les équipes. Huang T.S. présente des valeurs de testostérone plasmatique totale identiques dans une série de blessés radiculo-médullaires et des contrôles du même âge [10], mais il faut remarquer que les valeurs des contrôles sont basses comparées aux valeurs habituellement considérées comme usuelles et que la dispersion des âges est importante dans les deux séries. Pour

Brackett, la testostérone totale plasmatique est sensiblement égale chez les malades et les contrôles et supérieures à celles d'une population infertile [3]. Il faut alors remarquer que dans cette étude, tous les sujets blessés médullaires présentent des spermogrammes pratiquement normaux en ce qui concerne le nombre des spermatozoïdes tout au moins. Seuls 11 sujets n'ont pas de sperme, mais ils ne sont pas étudiés séparément. Dans notre étude, la testostérone totale et la testostérone biodisponible plasmatique sont abaissées significativement mais notre population de malades a été choisie parmi les sujets présentant une absence d'éjaculat au moment de l'examen.

L'hypothèse de la sécrétion de peptides testiculaires à activité inhibitrice de la sécrétion antehypophysaire est assez ancienne [14]. L'isolement et la caractérisation des inhibines ont été laborieux [22], quelques méthodes de dosage peu spécifiques ont entretenu des doutes sur la physiopathologie de cette hormone [7]. Il a fallu attendre 1993 pour disposer d'un dosage spécifique des différentes formes de l'inhibine (inhibine B, inhibine A, sous-unité de l'inhibine) [18, 6, 19]. Ces dosages par méthode ELISA, outre leur bonne spécificité se sont montrés très fiables et ont permis de nombreuses études soit chez l'homme, soit chez la femme [20]. On a rapidement pu mettre en évidence une relation entre les concentrations d'inhibine B et de FSH plasmatiques chez des

hommes normaux et infertiles [11, 21, 15] et prouver le rôle de l'inhibine B comme régulateur de la sécrétion de FSH chez l'homme.

A notre connaissance, aucun travail n'a été entrepris chez les sujets blessés radiculo-médullaires pour étudier le niveau et l'évolution de l'inhibine B au cours de la maladie. Notre étude permet de mettre en évidence une nette différence entre les sujets témoins et nos malades. La diminution d'inhibine B chez ces sujets blessés radiculo-médullaires avec absence de sperme, est en faveur d'une atteinte testiculaire qu'il est important de pouvoir rattacher soit au niveau de la lésion médullaire de ces sujets, soit à l'évolution de la maladie. Compte tenu du faible nombre de sujets explorés, il est difficile de faire une relation entre le niveau d'atteinte médullaire du sujet et le taux d'inhibine B trouvé.

En ce qui concerne les trois sujets que nous avons pu explorer deux fois, pour d'eux d'entre eux aucune reprise de l'activité testiculaire ne s'est manifestée et les taux d'inhibine B ne se sont pas sensiblement modifiés. Seul le patient n° 3 a présenté des spermatozoïdes dans son éjaculat lors de sa dernière consultation sans augmentation du taux d'inhibine B mais cette dernière n'avait jamais été très abaissée. Ceci ne permet pas cependant d'écarter une relation entre le taux d'inhibine B et la qualité du spermogramme car, il a été démontré que les taux d'inhibine B chez des malades traités à la testostérone dans un but contraceptif remontent lentement à la normale après l'arrêt du traitement [2]. L'étude de l'évolution des paramètres plasmatiques au cours d'une inhibition de la spermatogenèse a été étudiée sur des sujets traités à la testostérone dans le cadre de castration chimique. La récupération de taux normaux de FSH et de testostérone est beaucoup plus rapide que la récupération d'une spermatogenèse normale et de concentrations d'inhibine B également normales [2]. Il a été également montré que les concentrations de FSH, de LH et de testostérone se rétablissent assez rapidement chez les rats mis en condition de blessure médullaire après restauration de la lésion alors que la spermatogenèse si elle est réversible le sera de manière beaucoup plus lente [9].

Ce travail bien que préliminaire et encore un peu restreint nous encourage fortement à explorer ce type de malades de manière longitudinale en essayant d'une part de localiser la chute plasmatique de l'inhibine B dans le temps en étudiant de manière plus systématique les malades dès leur entrée à l'hôpital et d'autre part en essayant d'établir une relation entre les valeurs de l'inhibine B plasmatique et la qualité du spermogramme en pratiquant un bilan hormonal au cours des consultations de sexologie le plus souvent possible.

REFERENCES

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. ANDERSON R.A., WALLACE E.M., GROOME N.P., BELLIS A.J., WU F.C.W., Physiological relationships between inhibin B, follicle stimulating hormone secretion and spermatogenesis in normal men and response to gonadotrophin suppression by exogenous testosterone., *Human Reproduction*, 1997, 12, n°4 : 746-751.
3. BRACKETT N.L., LYNNE C.M., WEIZMAN S., BLOCH W.E., ABAE M., Endocrine profiles and semen quality of spinal cord injured men., *J. Urol.* 1994, 151 : 114-119.
4. DÉCHAUD H., LEJEUNE H., GAROSCIO-CHOLET M., MALLEIN R., PUGÉAT M. : Radioimmunoassay of testosterone not bound to sex steroid binding-protein in plasma. *Clin. Chem.*, 1989, 35 : 1609-1614.
5. GIAMI A., La médicalisation de la sexualité : Aspects sociologiques et historiques. *Andrologie*, 1998, 8, n°4 : 383-390.
6. GROOME N.P., ILLINGWORTH P.J., O'BRIEN M., et al. : Quantification of inhibin pro-alphaC-containing forms in human serum by a new ultrasensitive two-site enzyme-linked immunosorbent assay., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995, 80 : 2926-2932.
7. HAYES F.J., HALL J.E., BOEPPLE A., CROWLEY W.F., Clinical review 1996 : Differential control of gonadotropin secretion in the human : endocrine role of inhibin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 1835-1841.
8. HUANG H.F.S., LINSSENMEYER T.A., LI M.T., et al., Acute effects of spinal cord injury on the pituitary-testicular hormone axis and Sertoli cell functions : a time course study. *J. Androl.* 1995, 16 : 148-157.
9. HUANG H.F.S., LINSSENMEYER T.A., ANESETTI R. et al., Suppression and recovery of spermatogenesis following spinal cord injury in the rat. *J. Androl.* 1998, 19 : 72-80.
10. HUANG T.S., WANG Y.H., LIEN I.N., Suppression of

the hypothalamus-pituitary somatotrope axis in men with spinal cord injuries., *Metabolism*, 1995, 44 n°9 : 1116-1120.

11. ILLINGWORTH P.J. , GROOME N.P., BYRD W. : Inhibin B : a likely candidate for the physiologically important form of inhibin in men., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 1321-1325.
12. KLINGMÜLLER D, HAIDL G., Inhibin B in men with normal and disturbed spermatogenesis., *Human Reproduction*, 1997, 12 n°11 : 2376-2378.
13. LERICHE A., BERNARD E., VAUZELLE J.L., MINAIRE P., GIRARD R., ARCHIMBAUD J.P., BOURRET J., Histological and hormonal testicular changes in spinal cord patients. *Paraplegia*, 1977, 15 : 274-279.
14. MC CULLAGH D.R., Dual endocrine activity of the testes. *Science*, 1932, 76 : 19-20.
15. NACHTIGALL L.B., BOEPPLE P.A., SEMINARA S.B. et al. : Inhibin B secretion in males with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) deficiency before and after long-term GnRH replacement relationship to spontaneous puberty, testicular volume and prior treatment : a clinical research center study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 3520-3525.
16. PERRIN B. : Le testicule dans les paraplégies médullaires. Thèse Lyon, 1976, 114 p, Ediprim 302 rue Garibaldi
17. PIERIK F.H., VREEBURG J.T.M., STIJNEN T., DE JONG F.H., WEBER R.F.A., Serum Inhibin B as a marker of spermatogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 3110-3114.
18. PONCELET E., FRANCHIMONT P. : Two site enzyme-immunoassays of inhibin. *Ares-Serono Symposia Series-Frontiers in Endocrinology*, 1994, 3, : 45-54.
19. ROBERTSON D., BURGER H.G., SULLIVAN J., et al. Biological and immunological characterization of inhibin forms in human plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996, 81 : 669-676.
20. ROBERTSON D.M., CAHIR N., FINDLAY J.K., BURGER H.G., GROOME N., The biological and immunological characterization of inhibin A and B forms in human follicular fluid and plasma., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82 : 889-896.
21. SEMINARA S.B., BOEPPLE P.A., NACHTIGALL L.B., et al. Inhibin B in males with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) deficiency : changes in serum concentrations after short term physiologic GnRH replacement : a clinical research center study., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996 81 : 3692-3696..
22. VALE W., RIVIER C., HSUEH H., et al. Chemical and biological characterization of the inhibin family of protein hormones. *Recent Prog. Horm. Res.* 1988, 44 : 1-34.

**Inhibin B in spinal cord injured men.
Preliminary results**

B.MATHIAN, A. PALLANT, G.PILONCHÉRY, K. CHARVIER, M.C.PATRICOT

Spinal cord injuries in adult men sometimes results in semen alteration and in ejaculation missing. Testicular biopsies showed spinal cord injury is bound with testicular and germinal cells alterations. An endocrine profile for thirteen patients without semen at the time of the study is performed : total testosterone, bioavailable testosterone, FSH and inhibin B. Compared with seven normal controls, subjects with spinal cord injury had a significantly lower value of total testosterone, bioavailable testosterone and inhibin B. The FSH values higher in spinal cord injury are not significative. These results allowed to expect inhibin B like a good marker of testicular function and spermatogenesis. A longitudinal and on more subjects will answer to this question.

Key words : *Spinal cord injury, hormones, inhibin B, testosterone, FSH.*