

POSTERS PRIMES

Au XXII^e CONGRÈS DE LA SALF *Marseille – Décembre 2005*

LE TRAITEMENT PHARMACOLOGIQUE DE L'ANEJACULATION CHEZ L'HOMME PARAPLEGIQUE ET TETRAPLEGIQUE

*F.J. COURTOIS, K. CHARVIER, A. LERICHE, C. DEL AGUILA, J.G. VÉZINA,
D. RAYMOND, C. FOURNIER, G. JACQUEMIN, M. CÔTÉ*

Poster P24

PROPOSITION D'UN MODELE PREDICTIF DE L'EVOLUTION DE L'INCIDENCE DU CANCER DU TESTICULE, A PARTIR DES DONNEES EN MIDI-PYRENEES

M. WALSCHAERTS, E. HUYGHE, R. MIEUSSET, L. BUJAN, M. DAUDIN, P. PLANTE, P. THONNEAU

Poster P26

DEVENIR DES PRELEVEMENTS CHIRURGICAUX DE SPERMATOZOÏDES (TESE / MESA) REALISES CHEZ LES PATIENTS PRIS EN CHARGE AU CENTRE D'AMP DU CHU DE BESANÇON

A. BEN AMOR, C. JOANNE, G. AGNANI, H. BITTARD, M.C. CLAVEQUIN, J.L. BRESSON, C. ROUX

Poster P29

EXPRESSION DES TRANSCRITS DE LA PROTEINE DE TRANSITION 1 (TNP1) ET TAUX DE GROSSESSE EN ICSI CHEZ LES HOMMES AZOOSPERMES

V. MITCHELL, K. STEGER, J.M. RIGOT

Poster P37

ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA CONGELATION SUR LA QUALITE NUCLEAIRE DES SPERMATOZOÏDES DE PATIENTS OLIGOSPERMIQUES MODERES, SEVERES, VOIRE CRYPTOZOOSPERMIQUES

*C. SABBAGH, M. ALBERT, F. VIALARD, I. HAMMOUD, M. BERGERE, V. DELABROYE,
M. BAILLY, R. LOMBOSO, J. SELVA*

Poster P40

ETUDE DE L'APPARIEMENT MEIOTIQUE CHEZ DEUX HOMMES PORTEURS D'UN Y(Q) DICENTRIQUE EN MOSAÏQUE PAR ANALYSE DES COMPLEXES SYNAPTONEMAUX AU STADE PACHYTENE

R. DJLELATI, B. SCHUBERT, A. TCHIRKOV, C. GOUMY, F. BRUGNON, G. GRIZARD, L. JANNY, P. VAGO

Poster P44

Taux d'aneuploïdies et de polyploïdies élevés dans les spermatozoïdes de patients infertiles présentant des pourcentages variables de spermatozoïdes macrocéphales

V. ACHARD, G. MERCIER, G. PORCU, C. GUILLEMAIN, O. PAULMYER-LACROIX, F. CARLES, B. GUIDICELLI, A. NOIZET, M. GAMERRE, C. ALLASIA, J.M. GRILLO, M. GUICHAOUA

Laboratoire de Biologie de la Reproduction, AP-HM Conception, MARSEILLE, France

La première description d'un syndrome caractérisé par la présence de spermatozoïdes présentant une macrocéphalie et plusieurs flagelles fut faite par Nistal et al. en 1977. Dans sa forme typique (type 1) décrite par Escalier (1983), il associe une oligoasthénospermie d'importance variable, une macrocéphalie, des anomalies de forme de la tête, ainsi que la présence fréquente de plusieurs flagelles par spermatozoïde. L'analyse par FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) du complément chromosomique de ces spermatozoïdes a révélé des anomalies de nombre des chromosomes (diploïdie, triploïdie, tétraploïdie mais aussi aneuploïdies) signant un déficit méiotique. Toutefois, l'observation de la forme classique du syndrome est moins fréquente que la forme partielle où coexistent des populations de spermatozoïdes de taille augmentées et normales.

Afin de mieux caractériser cette variante du syndrome des spermatozoïdes macrocéphales nous avons recruté onze patients présentant des pourcentages variables de macrocéphales (avec au moins un spermogramme en contenant plus de 20%) lors de la réalisation de spermocytogrammes dans le cadre d'un bilan d'infertilité. Pour trois d'entre eux, nous avons réalisé une étude semi-automatisée de la surface nucléaire, ainsi qu'une hybridation in situ sur spermatozoïdes (FISH). Les pourcentages de spermatozoïdes macrocéphales s'évaluaient de 15% à 62% chez ces patients. Tous sauf un présentaient une oligospermie, alors que la tératospermie était inconstante. La majorité des spermatozoïdes macrocéphales observés étaient à contour irrégulier. Trois patients ont bénéficié d'une analyse numérisée de la surface nucléaire: pour deux d'entre eux cette analyse a permis de distinguer deux sous-populations de spermatozoïdes (test impossible chez le troisième patient en raison d'une importante oligospermie), alors que la même analyse chez trois contrôles et chez un patient présentant la forme classique du syndrome ne permettait de retrouver qu'une seule population. L'analyse du contenu chromosomique par double (8, 18) et triple (X, Y, 9) FISH sur spermatozoïdes chez ces 3 patients montre une augmentation nette du pourcentage d'anomalies de nombre des chromosomes par rapport à des patients contrôles, une prévalence des non-disjonctions à la première division de

méiose, et un pourcentage de spermatozoïdes présentant une formule chromosomique anormale supérieur au pourcentage de spermatozoïdes macrocéphales. Sept patients ont bénéficié d'au moins une tentative d'Assistance Médicale à la Procréation (A.M.P.) par injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes : deux d'entre eux ont obtenu une grossesse clinique et au moins un enfant. Le taux de grossesse clinique par transfert pour cette cohorte (16,4%) est inférieur à celui observé pour la population générale dans notre centre en ICSI (25,9%), bien que la différence observée ne soit pas significative. L'observation d'une population de onze patients porteurs de la forme incomplète du syndrome des spermatozoïdes macrocéphales poly-flagelles nous a permis de décrire les principales caractéristiques du spermogramme chez ces patients. L'analyse du contenu chromosomique par FISH montre que des spermatozoïdes de taille normale, candidats à la micro-injection en A.M.P, sont porteurs d'anomalies chromosomiques. Au vu des risques embryonnaires qui pourraient résulter de la micro-injection de tels spermatozoïdes, une analyse du contenu chromosomique des spermatozoïdes chez des patients porteurs de la forme incomplète du syndrome des spermatozoïdes macrocéphales paraît indispensable.

POSTER P2

Création d'une application informatique d'assistance à la réalisation du spermocytogramme en accès libre sur Internet

V. ACHARD, M. GUICHAOUA

Département de Spermiologie, laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital de la Conception, Marseille

L'étude morphologique des spermatozoïdes fait partie du bilan spermiologique de première intention dans le cadre d'une exploration de l'infertilité. Bien que des systèmes d'analyse automatisée du spermocytogramme soient aujourd'hui commercialisés, de nombreux centres ont encore recours à l'analyse microscopique classique. Notre centre réalise en moyenne six spermocytogrammes par jour. L'analyse est effectuée après coloration de Schorr, par observation microscopique de 100 spermatozoïdes lorsque la numération le permet. Les anomalies sont comptabilisées grâce à la classification de David modifiée (*Auger J., Andrologie, 2000*). Pour chaque spermatozoïde, l'association des différentes anomalies, chacune codée par une lettre, est relevée par écrit. Néanmoins, le décompte du nombre total de chacune des anomalies et le calcul de l'Index d'Anomalies Multiples (I.A.M) impose un relevé multiple. Ce relevé est fastidieux et source d'erreur car il impose à l'observateur de détourner son attention de manière répétée au cours de l'analyse. Par ailleurs, le relevé manuel des anomalies entraîne de fréquentes erreurs : soit concernant le

compte des spermatozoïdes, soit au moment du calcul final, notamment de l'I.A.M..

Nous avons développé en langage « Javascript » une application libre d'accès sur Internet, intégrée dans une page web, qui automatise de nombreuses tâches lors de la réalisation de l'examen. Le fonctionnement est le suivant : l'opérateur doit disposer d'un ordinateur à proximité du microscope. Pour chaque spermatozoïde analysé il rentre grâce au clavier la ou les lettres correspondant à la ou aux anomalies observées, codées dans la classification de David modifiée, puis appuie sur la touche entrée. Lorsque le spermatozoïde est normal, l'opérateur appuie simplement sur la touche entrée. La saisie d'association d'anomalies incohérentes est prévenue : ainsi la saisie d'une anomalie flagellaire (flagelle écourté, multiple, ...) associée à l'anomalie : « flagelle absent » est interdite. Il est également impossible de saisir deux fois la même anomalie, ou d'entrer une lettre ne correspondant pas à une anomalie morphologique de la classification de David. Il est possible de corriger les saisies précédentes, et une fonction de compteur d'éléments figurés du sperme a été associée (polynucléaires, cellules germinales immatures, flagelles isolés, restes cytoplasmiques). Au cours de la lecture, l'évolution des nombres de : spermatozoïdes analysés, formes typiques ainsi que le décompte des éléments figurés sont affichés en temps réel. Après l'analyse du centième spermatozoïde ou lorsque l'utilisateur veut terminer l'analyse une page de résultats imprimable est affichée, comprenant : le nombre de formes typiques/atypiques, l'I.A.M., le nombre total d'anomalies classées par catégorie, le nombre d'anomalies uniques par spermatozoïde observées, et le décompte des éléments figurés.

L'assistance informatique d'une tâche aussi complexe que l'observation morphologique des spermatozoïdes permet de limiter les erreurs commises lors de l'analyse et d'optimiser le travail technique. Grâce à l'utilisation de cette méthode depuis trois ans, les délais de rendu des résultats du spermocytogramme ont été considérablement réduits dans notre centre. Par ailleurs, l'accès au code source pour tout utilisateur permet une adaptation aux besoins de chaque centre, ainsi qu'une évolution constante du projet.

Absence de condensation du noyau des spermatozoïdes chez un patient ayant un déficit majeur en protamines

**C. METZLER-GUILLEMAIN^{1, 2}, J. PERRIN^{1,3},
C. MIGNON-RAVIX², D. DEPETRIS², A. NOIZET³,
J.L. BERGÉ-LEFRANC^{4,5}, M.R. GUICHAOUA^{1,3}**

¹*Biologie de la Reproduction, AP-HM La Conception, 147, Bd Baille, 13385 Marseille cedex 5*

²*Inserm U491, Faculté de Médecine Timone, 27, Bd Jean Moulin, 13385 Marseille cedex 5*

³*Centre de Procréations Médicalement Assistées, AP-HM La Conception, 147, Bd Baille, 13385 Marseille cedex*

⁴*Laboratoire de Biogénotoxicologie et mutagenèse expérimentale (EA1784), IFR PMSE 112, Faculté de Médecine Timone, 27, Bd Jean Moulin, 13385 Marseille cedex 5*

⁵*Laboratoire de Biochimie, AP-HM La Conception, 147, Bd Baille, 13385 Marseille cedex 5*

Au cours de la spermiogenèse, le remplacement des nucléo-protéines histones par des protamines permet d'aboutir à une condensation chromatiniennne importante, caractéristique des spermatozoïdes. Chez l'homme, deux familles de protamines sont présentes : P1 et P2. Chez les hommes infertiles, des déficits en protamines, essentiellement de type P2, ont été rapportés. Néanmoins, peu d'études décrivent précisément la morphologie des spermatozoïdes en cas de déficit en protamines.

Nous rapportons le cas d'un patient vu dans notre équipe à 33 ans pour une infertilité de 5 ans. Sa conjointe avait 32 ans, ses cycles étaient réguliers, son bilan hormonal normal, son hystérogrophie révélait une absence d'opacification de la trompe droite. Le couple avait bénéficié d'une tentative de FIV-ICSI un an auparavant, au cours de laquelle six ovocytes avaient été recueillis, mais aucun fécondé. Deux spermogrammes effectués à 3 mois d'intervalle ont montré une oligospermie à 0,3 et 0,4 millions/ml, une asthénospermie totale, une téatospermie majeure (0% et 2% de formes typiques), la présence de 5.8 puis 3,5 millions/ml de cellules rondes, ainsi que de nombreux spermatozoïdes avec un aspect « en lyse ». Ces formes en lyse correspondaient à des cellules dont le noyau est peu condensé, bien limité par une membrane et très coloré par le bleu d'aniline. Sa FSH était à 6,9 UI/L, son caryotype était normal et la recherche de microdélétion du chromosome Y par PCR négative. La biochimie du liquide séminale était normale avec une alpha-glucosidase à 136 mUI/éjaculat, un fructose à 306 mg/100ml, un citrate à 359 mg/100 ml. L'arbre généalogique a permis de retrouver une consanguinité parmi les ascendants de monsieur, et les 2 membres du couple étaient cousins germains. L'extraction des protéines nucléaires à partir d'un éjaculat et leur électrophorèse, comparée à un témoin normal, a révélé un déficit majeur en protamines, mais la présence d'une bande nette de protéines de poids moléculaire supérieur.

Le recours à la biopsie testiculaire a été déconseillé et le couple s'est orienté vers l'insémination avec sperme de donneur.

POSTER P4

Etude épidémiologique des troubles de l'éjaculation chez une population de sportifs

Y. TANNEAU, L. SIBERT, K. FERHI, Y. DAUDI,
S. LETOQUIN, C. PFISTER, P. GRISE

Service d'Urologie, Hôpital Charles-Nicolle, CHU ROUEN

Introduction : Le but de ce travail a été de réaliser une enquête épidémiologique sur la fréquence des troubles de l'éjaculation auprès d'une population homogène d'hommes jeunes en bonne santé.

Méthode : Un questionnaire anonyme a été proposé à des hommes déclarés aptes à la pratique du VTT. Le questionnaire interrogeait les participants sur leurs habitudes sexuelles, leurs troubles de l'éjaculation éventuels, leur qualité de vie et le besoin ressenti de prise en charge médicale en cas de troubles. La participation a été basée sur le volontariat.

Résultats : 191 questionnaires exploitables. L'âge moyen des participants était de 36 ans (extrêmes 18-59 ans).

	toujours	Souvent (1/3)	Parfois (1/5)	jamais
Ejaculation prématurée	2,6%	4,1%	35,6%	57,5%
Ejaculation Baveuse	1,5%	7,3%	20,9%	70,2%
Satisfaction sexuelle	Très satisfait, satisfait, plutôt satisfait : 86%		Partagé : 7,8%	Plutôt ennuyé, Ennuyé : 2%
				Pas de réponse : 3,6%

Par ailleurs, seulement 10,3% des patients estimaient qu'une consultation spécialisée leur serait utile.

Conclusion : Dans cette enquête, près d'un tiers des sujets allègue de troubles de l'éjaculation alors que seulement 10% d'entre eux souhaitent une prise en charge médicale. Ces données confirment la fréquence des troubles de la sexualité autre que la Dysfonction Erectile et le besoin d'une meilleure information sur les possibilités thérapeutiques.

POSTER P5

Facteurs influençant la sexualité féminine dans une population témoin de 100 patientes normandes

Y. TANNEAU, P. COLLARD, G. PASQUIER, B. ALBOUY,
L. SIBERT, C. PFISTER, P. GRISE

Service d'Urologie, Hôpital Charles-Nicolle, CHU ROUEN.
Service de rééducation fonctionnelle, Clinique St HILAIRE, ROUEN

Introduction : Le but de ce travail a été de réaliser une enquête volontaire et anonyme sur les facteurs de co-morbidités influençant la sexualité féminine.

Méthode : Le questionnaire qualité de vie BISF-W a été rempli par 100 femmes. Les critères d'inclusion étaient très stricts. Pour chaque domaine du BISF-W, nous avons évalué par des tests statistiques ($p \leq 0,05$) le retentissement de l'âge, de la parité, la ménopause, le tabagisme, les pathologies cardio-vasculaires (HTA, Tabac, cholestérol et diabète), le stress et les douleurs ostéo-articulaires.

Résultats : Age moyen : 44 ans (26 à 65 ans).

Conclusion : Les douleurs du dos et/ou des hanches, l'âge, la ménopause, et la parité ont une influence. Ces données doivent être connues pour améliorer une prise en charge préopératoire.

Domaines du BISF-W	$P \leq 0,05$
D1 (pensées, désir)	Douleurs/âge/ménopause/parité
D2 (excitation)	Douleurs/âge/ménopause
D3 (fréquence de l'activité)	Douleurs/âge/ménopause/parité
D4 (réceptivité, initiative)	Parité
D5 (plaisir, orgasme)	Douleurs/âge
D6 (satisfaction relationnelle)	Parité
Score Composite	Douleur/âge/parité

POSTER P6

Variations intra-individuelles de la ségrégation méiotique dans les spermatozoïdes d'un homme avec un caryotype 45,XY,-14,der(18)t(14;18)(q11;p11.3)

F. MOREL¹, N. DOUET-GUILBERT¹, B. LAUDIER²,
F. GUÉRIF³, M.L. COUET³, D. ROYÈRE³,
M.J. LE BRIS¹, M. DE BRAEKELEER¹

1 Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Morvan & UBO, Brest, France. 2 Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France. 3 CECOS, Biologie de la Reproduction, CHU Bretonneau, Tours, France

Les résultats de la ségrégation méiotique chez plus de 85 hommes porteurs d'une translocation réciproque ont été obtenus par fécondation hétérosécifique ou par FISH. Selon les patients, les spermatozoïdes présentant une combinaison déséquilibrée de la translocation constituent de 10% à plus de 80% de la production gamétique, d'où un risque important de déséquilibres chromosomiques pour leur descendance (Morel et al. 2004). Ces évaluations réalisées sur différents prélèvements, à différents moments, chez un même patient permettent de voir s'il existe des variations intra-individuelles de la fréquence des spermatozoïdes déséquilibrés, notion jusqu'à présent très peu abordée dans la littérature (Morel et al. 2005).

Dans cette étude, nous analysons et comparons la ségrégation méiotique des spermatozoïdes dans deux éjaculats différents d'un homme dont le caryotype est : 45,XY,-14,der(18)t(14;18)(q11;p11.3). La formule chromosomique de ce patient est considérée comme équilibrée : le subtélomère 18p est présent et seuls le bras court et le centromère du 14 sont perdus. Ce patient est phénotypiquement normal mais présente une infertilité très sévère.

Deux échantillons différents de sperme obtenus à trois mois d'intervalle sont analysés en triple FISH avec la sonde centromérique du chromosome 18 (Abbott, France, spectrum aqua), la sonde IGH (spectrum green) et la sonde BCL2 (spectrum red).

981 (éjaculat 1) et 144 (éjaculat 2) spermatozoïdes ont été analysés. Dans les deux échantillons, la majorité des noyaux est considérée comme ayant un équipement chromosomique normal ou équilibré. Les spermatozoïdes déséquilibrés issus du mode de ségrégation adjacent ou 3:0 sont respectivement de 9,08% et 1,83% (échantillon 1) et de 6,95% et 0% (échantillon 2). Aucune différence significative n'est mise en évidence entre les profils de ségrégation méiotique dans les deux éjaculats.

Dans cette étude, les résultats de la ségrégation méiotique de ce patient 45,XY,-14, der(18)t(14;18)(q11;p11.3) peuvent s'expliquer probablement par la formation d'un trivalent en configuration cis au stade pachytène de première division méiotique. La ségrégation méiotique de cette anomalie chromosomique est vraisemblablement identique à celle d'une translocation Robertsonienne. Par ailleurs, nous ne trouvons pas de variations intra-individuelles des fréquences de spermatozoïdes déséquilibrés.

L'application de cette approche par cytogénétique moléculaire des spermatozoïdes permet un conseil génétique plus précis et permet de mieux comprendre les causes d'échecs d'AMP chez certains couples dont l'homme est porteur de remaniements chromosomiques. Ce travail apporte une évaluation personnalisée des risques pour la descendance des sujets présentant des anomalies chromosomiques constitutionnelles. Il nous paraît indispensable d'intégrer l'analyse du sperme en FISH dans l'exploration des hommes porteurs d'anomalies chromosomiques associées à des anomalies du spermogramme. Selon les résultats obtenus, il sera discuté avec les couples du recours ou non au diagnostic prénatal, au diagnostic pré-implantatoire, à l'IAD ou à l'adoption.

Modifications des concentrations plasmatiques de la testostérone totale après administration de morphine chlorhydrate à but antalgique

G. PASSAVANTI, V. PIZZUTI, M. CARLUCCI*, A.M. ALOSI*, R. PAOLINI

*UO Urologia Hopital de Grosseto ; *Dpt de Physiologie Université de Siena, Italy*

La morphine est employée pour traiter la douleur, surtout postopératoire. L'administration prolongée de morphine détermine une réduction importante de la concentration plasmatique de la testostérone; chez le rat une seule administration de morphine détermine une réduction massive de la testostérone. Le but de ce travail est de vérifier les modifications de la testostérone chez l'homme opéré de chirurgie urologique et traité avec 20 mg de Morphine Chlorhydrate (MC).

20 patients ont été opérés de chirurgie urologique: 16 d'adenomectomie prostatique trans-vésicale sous anesthésie spinale et 4 de chirurgie rénale sous anesthésie générale.

Le matin de l'intervention chirurgicale, à 8 heures, était dosée la testostérone et, après l'opération, étaient administrés 20 mg de morphine pendant 24 heures ; donc était dosée une autre fois la testostérone.

L'âge des patients était compris entre 31 et 84 ans (m. 67,6 ans), la concentration plasmatique de la testostérone préopératoire était comprise entre 3 et 7,7 ng/ml (m. 4,63+/-0,28) et la concentration plasmatique de la testostérone après thérapie antalgique variait entre 0,49 et 4,7 ng/ml (1,67+/-0,14) avec une différence significative entre les deux dosages.

Tous les patients n'avaient pas des complications postopératoires et avaient un bon contrôle de la douleur.

La réduction importante de la testostérone plasmatique après administration d'une modérée quantité de morphine, ouvre plusieurs et intéressants problèmes:

L'interprétation des mécanismes responsables de l'effet des opiacés sur la concentration testostéronienne d'un côté, et de l'autre comprendre si la réduction de la testostérone peut modifier la sensibilité douloureuse.

L'hypothèse pathogénétique peut prévoir une interférence de la morphine sur l'axe hypothalamus -hypophyse-testiculaire, mais aussi une action directe sur les cellules de Leydig sur la paroi desquelles, il y a de récepteur pour les opiacés.

Pour le deuxième problème il faut ajouter que la sensibilité à la douleur est modulée par la testostérone, donc nous pouvons conjecturer que la testostérone peut améliorer la perception de la douleur aiguë et chronique, traitée avec MC. Autres études et recherches seront nécessaires pour comprendre et éclaircir ces problèmes ouverts par notre travail.

L'endocytose des complexes jonctionnels : une des premières cible majeure des toxicants testiculaires

C. Fiorini¹, J. Gilleron¹, A. Tilloy-Ellul², S. Chevalier², D. Segretain¹, G. Pointis¹

1 INSERM U 670, Faculté de Médecine, avenue de Valombrose, 06107 Nice

2 PFIZER, ZI Pocé-sur-Cisse, BP 159, 37401 Amboise

Le développement et la survie des cellules germinales dépendent de la capacité des cellules de Sertoli à maintenir des jonctions entre elles, dont l'aboutissement est la formation de la barrière hémato-testiculaire, et avec les cellules germinales. Une rupture de cette intégrité structurale mène à des altérations majeures de la spermatogenèse. Au moyen de la lignée de cellule de Sertoli de rat (SerW3) nous avons montré que différentes classes de toxicants testiculaires, des polluants environnementaux (DDT, pentachlorophenol, dieldrine, 1, 3-dinitrobenzene), un métal lourd (chlorure de cadmium), un agent utilisé en chimiothérapie (cisplatine) et des molécules à effet estrogène like (bisphenol A, tert-octylphenol) perturbent les jonctions serrées, d'adhésion et de communication (ou gap), qui s'établissent entre ces cellules pour former "les complexes jonctionnels". Par Western blotting et immunocytochimie nous avons montré que la plupart de ces toxicants entraînent, après 24 ou 48 h d'exposition, des atteintes de l'expression des protéines constitutives de ces jonctions telles que l'occludine et la Zonula Occludens 1 (ZO-1) pour les jonctions serrées, la N-cadhérine pour les jonctions d'adhésion, et la connexine 43 (Cx43) pour les jonctions gap. L'analyse par videomicroscopie montre qu'à très court terme (quelques min) l'exposition des cellules SerW3 à certains de ces toxicants entraîne une délocalisation de ces protéines membranaires. C'est le cas du DDT qui est capable d'accélérer l'endocytose de ces protéines jonctionnelles. Ainsi des structures denses aux électrons et un immunomarquage spécifique de ZO-1 sont retrouvés au niveau de la membrane de vésicules d'endocytose. Dans les cellules de Sertoli SerW3 transfectées avec la Cx43-GFP (Green Fluorescent Protein) et traitées au DDT, la fluorescence est délocalisée et retrouvée majoritairement au niveau des membranes des vésicules. Une analyse de la fonctionnalité du couplage jonctionnel par la technique de FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) révèle une disparition transitoire et réversible de la communication jonctionnelle. L'ensemble de ces résultats suggère que les complexes jonctionnels sont une des principales et toutes premières cibles des toxicants testiculaires sur la cellule de Sertoli.

Autoconservation de spermatozoïdes testiculaires en cas d'azoospermie avant castration sur testicule unique : « onco-tese »

I.E. AKNIN-SEIFER¹, J. TOSTAIN², A. GENTIL-PERRET³, F. BLANC⁴, N. MOTTET⁵, R. LEVY¹

1 Laboratoire de Biologie de la Reproduction et 2 Service d'Urologie, 3 Anatomo-pathologie, CHU Saint-Etienne, 42055, 4 Clinique du Parc, Saint Etienne, 5 Clinique Mutualiste, Saint Etienne

Nous avons en 2005 été amenés à prendre en charge deux patients pour autoconservation de gamètes avant castration pour cancer sur testicule unique. Dans les deux cas, une « onco-TESE » a permis d'obtenir des micropaillettes de spermatozoïdes testiculaires. Dans les 2 cas, un bilan génétique (caryotype, recherche des microdélétions du chromosome Y) a été effectué.

Cas clinique n°1 : Mr V., 28 ans, est adressé pour autoconservation avant ablation du testicule droit. Le patient a subi une orchidectomie en 1991 après torsion testiculaire gauche. Une azoospermie est notée sur 2 recueils de sperme effectués à 2 jours d'intervalle, confirmée après centrifugation sur gradient de densité. Le bilan hormonal montrait une FSH à 13,7 UI/l, LH et testostérone étant dans les limites de la normale. Mme V est alors enceinte de 8 mois ?. Après concertation multidisciplinaire, et information éclairée du couple, la réalisation de biopsies testiculaires le jour de la castration est envisagée. Il a été ainsi possible d'obtenir 11 paillettes de spermatozoïdes testiculaires. L'histologie identifiera un séminome classique pur comportant moins de 5% de nécrose, sans infiltration tumorale, avec une faible activité de la spermatogenèse qui s'arrête le plus souvent aux spermatides avec de rares spermatozoïdes.

Cas clinique n°2 : Mr E., 33 ans, est adressé pour autoconservation avant ablation du testicule gauche. Le patient a subi une orchidectomie en 1996 après torsion testiculaire à droite. Le couple a déjà un garçon né en 1995. Le bilan hormonal montrait une FSH et une LH très élevées à 47,6 UI/l et 27 UI/l respectivement, une inhibine B inférieure à 15 ng/l. Le premier recueil de sperme a révélé une azoospermie. Un second recueil de sperme, effectué le même jour, a permis de retrouver de très rares spermatozoïdes mobiles de type b : après centrifugation sur gradient de densité (50%, 2 micropaillettes de spermatozoïdes éjaculés ont pu être obtenues. La castration, rapidement programmée en raison d'un syndrome inflammatoire douloureux, n'a pas permis d'envisager un troisième recueil de sperme éjaculé. Après concertation multidisciplinaire, et information éclairée

du couple, la réalisation de biopsies testiculaires le jour de la castration a été décidée. Il a été ainsi possible d'obtenir 3 micropaillettes de spermatozoïdes testiculaires.

Conclusions :

Ces deux observations d'azoospermie (ou cryptozoospermie) dans le cadre d'une indication d'autoconservation avant castration pour cancer sur testicule unique, soulignent la possibilité de proposer au couple la réalisation de biopsies testiculaires synchrones le jour de la castration.

Références :

M. Schrader, M. Müller, N. Sofikitis, B. Straub, H. Krause, M. Schostak, and K. Miller « Onco-tese[®]: testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients before chemotherapy - new guidelines? » *Urology* 61 (2), 421-5, 2003.

M. Schrader, M. Müller, B. Straub, and K. Miller « Testicular sperm extraction in azoospermic patients with gonadal germ cell tumors prior to chemotherapy - a new therapy option. » *Asian Journal of Andrology* 2002 Mar ; 4(1) :9-15

POSTER P10

Détection des délétions partielles de la région AZFc du chromosome Y par deux techniques différentes : STS (Sequence Tagged SITES) et SNV (Single Nucleotide Variants)

I. AKNIN-SEIFER^{1,2}, R. TOURAINE², M. VARLET², S. FERNANDES³, K. MCELREAVEY⁴, J.P. SIFFROI⁵, H. LEJEUNE⁶, F. FELLMANN⁷, C. JIMENEZ⁸, A.K. FAURE⁹, J. CHOUTEAU¹⁰, R. LEVY¹

¹Laboratoire de Biologie de la Reproduction et

²Laboratoire de Génétique de l'hôpital Nord, Saint

Etienne, ³Faculté de Médecine de Porto, Portugal,

⁴Reproduction, Fertilité et Populations, Institut Pasteur,

Paris, ⁵Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la

Reproduction, Hôpital Tenon, Paris, ⁶Laboratoire de

Biologie de la Reproduction, Lyon, ⁷Laboratoire de

Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Besançon,

⁸Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Dijon,

⁹Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Grenoble,

¹⁰Clinilab, Saint-Martin d'Hères

Introduction : Le gène *DAZ* (Deleted in Azoospermia), situé dans la région AZFc du chromosome Y, en position Yq11-23, possède quatre copies identiques à plus de 99%, associées deux par deux, de façon symétrique et inversée. Une délétion des 4 copies conduit à une azoospermie ou une oligozoospermie sévère. Des délétions partielles des copies de *DAZ* ont été observées chez des hommes infertiles, mais aussi chez des hommes fertiles. L'absence du groupe 1 (*DAZ1/DAZ2*) semble associée à un phénotype

plus sévère que l'absence du groupe 2 (*DAZ3/DAZ4*) seul, évoquant des fonctions différentes de chaque gène *DAZ* et la possibilité d'un effet de dose.

Matériels et méthodes : *Patients* : 600 patients infertiles et non microdélétés, et 82 témoins normospermiques et/ou fertiles ont été analysés. *PCR* : Un des marqueurs utilisés est spécifique de la copie *DAZ3*. Les autres marqueurs délimitent de séquences possédant un site polymorphique permettant de distinguer les autres copies. Etude des 6 STS: sY1161, sY1197, sY1191, sY1291, sY1206 et sY1201.

Migration sur DHPLC : La présence des copies *DAZ1*, *DAZ2* et *DAZ4* est analysée par DHPLC.

Résultats : Nos résultats préliminaires sont les suivants :

Nous avons observé pour la recherche des délétions partielles par la technique des STS :

- 24 patients infertiles (4,6%), et 1 normospermique (1,5%) présentent une délétion gr/gr.

- 1 infertile (0,2%) présente une délétion b2/b3.

- 1 infertile (0,2%) présente une délétion b1/b3.

Par la technique des SNV et de la DHPLC, nous retrouvons les résultats suivants:

16 infertiles (4 %) et 1 normospermique (1,3%) ont une délétion de *DAZ1*.

71 infertiles (15 %) et 16 normospermiques (21%) ont une délétion de *DAZ2*.

6 infertiles (3,1%) et 1 normospermique (1,6%) ont une délétion de *DAZ1* et *DAZ2*.

Conclusion : La DHPLC permettrait une étude simple et rapide du nombre de copies de *DAZ*. La corrélation génotype - phénotype devrait permettre d'évaluer l'implication de chaque copie dans la spermatogenèse. Ces résultats préliminaires demandent à être validés et examinés au vu des résultats des principaux haplogroupes.

POSTER P11

Traitement percutané de la maladie de La Peyronie sous anesthésie locale : dilacération à l'aiguille ou section à la serpette de la plaque

A. LERICHE

Hôpital Henry Gabrielle – Hospices Civils de Lyon

Cette technique découle de celle employée par les chirurgiens de la main dans le traitement de la maladie de DUPUYTREN. Après avoir utilisé une anesthésie par bloc pénien, on utilise maintenant simplement une anesthésie

locale en regard de la plaque. La première technique consiste donc à enfoncer une aiguille de gros calibre dans la plaque et à la dilacerer en faisant des mouvements d'avant en arrière et surtout de bas en haut de façon à sectionner cette plaque. Le geste est donc purement tactile car l'on perçoit le craquement de la plaque.

La deuxième technique consiste à sectionner cette plaque avec un bistouri serpette après une petite incision de la peau et du corps caverneux en regard de la plaque. Introduction d'une serpette et section de la plaque par des mouvements transversaux jusqu'à ce que l'on perçoive très bien la rupture de la plaque. Cette deuxième technique se fait alors plutôt sous garrot et érection artificielle par vacuum. Elle est bien sûr un peu plus agressive que la précédente. Il suffit de fermer le corps caverneux et la peau par un point et de mettre un petit pansement compressif.

On ne peut guère faire un contrôle immédiat par vacuum dans cette deuxième technique alors qu'il est possible dans la première.

Les indications sont bien sûr les déformations de la verge importante, empêchant l'intromission avec disparition de la douleur donc stabilisation de la plaque.

POSTER P12

Phalloplastie par lambeau anté-brachial tubule

A. LERICHE, A. BOUILLOT

Hôpital Henry Gabrielle – Hospices Civils de Lyon

La création d'une verge dans le cas du transsexuel femme-homme ou dans les cas d'absence de verge par amputation pour cancer, amputation traumatique, état inter-sexué, nécrose par maladie de Fournier, extrophie vésicale, oblige à choisir un lambeau qui peut être abdominal ou inguinal mais aussi qui peut être un lambeau libre transféré avec la totalité de son système vasculo-nerveux.

Ce lambeau anté-brachial décrit par CHAN (Shangai) dans le cadre des cancers de verge amputée est beaucoup plus fin que les autres et donne un meilleur aspect esthétique. Il est beaucoup plus compliqué. Il faut prélever un lambeau cutané aponévrotique sur l'avant-bras dont l'individu se sert le moins, habituellement le gauche. Après décollement de ce lambeau on prélève le nerf radial, les veines céphaliques, les nerfs musculo-cutanés en ayant pris soin de vérifier que l'artère humérale faisait bien la suppléance. Ce lambeau est enroulé sur lui-même sur une sonde uréthrale pour la portion la plus longue et la moins large après désépidermisation d'une bande et enroulé sur lui-même avec la possibilité d'introduire directement une cote ou une prothèse pénienne. Ce lambeau libre est transféré au niveau des organes génitaux, l'artère radiale sur l'artère épigastrique,

les veines céphaliques sur la veine saphène, les nerfs musculo-cutanés sur le nerf clitoridien ou le nerf de la verge restant. La prise du lambeau sur le bras est couverte par une greffe cutanée pris habituellement sur la cuisse. La cicatrisation prend en général trois semaines.

POSTER P13

Comparaison avec la même phalloplastie avec uréthroplastie par lambeau vaginal dans la chirurgie du transsexuel

A. LERICHE

Hôpital Henry Gabrielle – Hospices Civils de Lyon

Le lambeau anté-brachial est identique. Le rectangle qui va servir à fabriquer l'urètre est désépidermisé et l'on utilise la paroi vaginale antérieure après bascule vers le bas du mont de vénus pour créer l'urètre bulbaire et antérieur. Une partie de ce vagin va permettre de créer une forme de gland.

POSTER P14

Suivi à long terme de phalloplasties chez le transsexuel femme/homme

A. LERICHE, A. BOUILLOT, N. MOREL-JOURNEL

Hôpital Henry Gabrielle – Hospices Civils de Lyon

56 transsexuels ayant subi une phalloplastie par lambeau anté-brachial libre de 1986 à 2002 ont été revus.

L'uréthroplastie n'a été réalisée que chez 19 patients (34%), l'âge moyen était de 30 ans. Le suivi a été de 110 mois et 53 des 56 patients (94,6%) ont dû subir 6 procédures chirurgicales pour avoir un phallus correct. La taille moyenne est de 12,5 cm. La satisfaction a été retrouvée chez 53 patients avec une satisfaction esthétique de 94,3% une sensibilité cutanée de 86,8%. 96,2% considèrent que la phalloplastie leur a permis de mettre en accord leur apparence physique et leur sentiment de masculinité.

Il faut par contre noter 14 complications, 25% dans les 30 premiers jours post-opératoires et 30 complications (53,5%) après ces 30 jours comprenant 2 nécroses du lambeau, 7 des 19 patients ayant subi une uréthroplastie ont eu des complications de fistules et de rétrécissement secondaire ayant nécessité une uréthrostomie périnéale.

Les prothèses péniennes ont été utilisées pour obtenir la rigidité chez 38 patients (68% des cas) mais le taux d'ex-

plantation est de 10,5%.

Cette technique n'est donc pas simple, elle est extrêmement longue entre 9 et 12 heures.

L'ablation des seins, l'hystérectomie coelioscopique est faite dans deux temps séparés. Les complications sont nombreuses et de plus en plus nous encourageons les patients à ne pas faire faire d'uréthroplastie. Plus de 100 phalloplasties anté-brachiales ont été faites avec les mêmes complications en dehors du transsexuel.

Le lambeau abdominal choisi par le patient, essentiellement pour l'absence de cicatrice de l'avant-bras donne lui aussi autant de complications urétrales.

Communications orales EAU Istanbul 2005, AUA San Antonio 2005.

En cours de publication dans le Journal of Urology.

POSTER P15

Les effets du stress oxydatif sur les paramètres spermatiques

M. AJINA¹, H. BEN AMOR², M. MEHDI¹, Z. BOURAOUI¹, A. KERKENI², A. OTHMANE², A. SAAD¹

1 Laboratoire de Cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse, Tunisie.

2 Laboratoire de biophysique, Faculté de Médecine de Monastir, Tunisie

Introduction : La production de radicaux libres en excès ou stress oxydatif pourrait constituer l'une des causes de cette stérilité. Ces radicaux attaquent les composants cellulaires des spermatozoïdes. Ils peuvent donc engendrer des altérations aussi bien de la quantité que de la qualité des spermatozoïdes. L'objectif de cette étude est de rechercher une relation entre certains marqueurs du stress oxydatif (éléments trace, ...) et les paramètres spermatiques.

Matériel et méthodes : Notre étude a été effectuée sur 129 patients infertiles suivis au service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction à l'Hôpital Farhat Hached de Sousse. Chaque patient a bénéficié d'un dosage des éléments trace (zinc et sélénium), des éléments minéraux (calcium et magnésium) des spermatozoïdes par la technique de spectrophotométrie à flamme et une quantification de la déformabilité des spermatozoïdes.

Résultats et discussion : La concentration en éléments trace est plus élevée chez les témoins que chez les patients. Une corrélation positive entre le zinc et les trois paramètres spermatiques (mobilité, numération et les for-

mes anormales) est trouvée. Le sélénium, est corrélé positivement avec la numération et la mobilité négativement avec le pourcentage des formes anormales. Indépendamment des autres marqueurs, le zinc répercute sur la mobilité de façon significative.

Conclusion : Notre travail montre que le stress oxydatif pourrait expliquer l'altération des caractéristiques spermatiques. Les éléments traces semblent avoir un rôle protecteur contre ces altérations. La diminution de la déformabilité des flagelles spermatiques serait à l'origine de la baisse de leur mobilité.

POSTER P16

Le dénombrement des chaînes de DNA dans les cellules séminales par la cytométrie en flux dans l'infécondité masculine grave. Validation clinique

Y. SOFFER¹, N. LEVEK-MOTOLA², S. BECKER, L. SHOCHAT², A. RAZIEL¹, R.GOLAN², L.M. LEWIN²

1Centre d'infertilité masculine du CHU Assaf Harofé, Zerifin & 2Department de biochimie clinique de la Faculté de médecine Sackler, Tel Aviv ; Université de Tel Aviv, Israël

Introduction : Dans le processus de la spermatogenèse, les spermatogonies, cellules souches diploïdes (2C DNA), se métamorphosent en spermatocytes primaires, cellules diploïdes à 4C (4C DNA) qui par méiose et double division mitotique produisent successivement les spermatocytes secondaires haploïdes à 2C DNA et les spermatides rondes immatures, cellules haploïdes vraies (1C DNA) non condensées. A leur tour, par le processus de spermiogenèse, les spermatides immatures se transforment en spermatozoïdes matures à chromatine dense. L'on sait que dans les azoospermies non obstructives et les oligozoospermies, le sperme contient des cellules germinales diverses en nombre variable. La cytométrie en flux peut identifier le nombre de chaînes de DNA dans ces cellules immatures et analyser les altérations de la spermatogenèse. Le BUT DU TRAVAIL est de vérifier la fiabilité et la validité clinique de cette analyse.

Méthodes : Les cellules séminales colorées à l'iodure de propidium émettent une fluorescence rouge lorsque le colorant s'intercale entre les bandes couplées de DNA. L'intensité de cette fluorescence dépend du nombre de chaînes de DNA et de la condensation de la chromatine. Les cellules colorées, excitées au laser 488 nm, sont alors examinées en cytométrie en flux sur histogramme à échelle logarithmique. L'intensité de la fluorescence permet aisément de distinguer les différentes populations cellulaires à

4C DNA, 2C DNA et 1C DNA immatures (spermatoïdes ronds non condensés) ainsi que les spermatozoïdes matures à chromatine dense. La cytométrie en flux a été ainsi réalisée dans les éjaculats de 44 cas d'infécondité et 14 cas de contrôle à sperme normal. Chez 17 hommes azoospermiques ayant subi un prélèvement testiculaire pour fécondation assistée, la cytométrie en flux a été comparée au cas par cas pour validation, à l'histologie testiculaire.

Résultats : La cytométrie en flux permet de distinguer le syndrome des "cellules de Sertoli seules" (absence totale de cellules à 4C DNA et 1C DNA) de l'arrêt précoce de maturation en méiose ou tardif au stade de spermiogenèse. Dans neuf cas sur 17, les données cyto-métriques correspondaient parfaitement à l'histologie testiculaire. Dans un cas, la cytométrie ne révélait pas de cellules haploïdes vraies matures bien que la biopsie montrait des spermatozoïdes rares. Par contre, dans sept cas, la cytométrie fournissait plus d'informations que la biopsie, peut-être parce que cette dernière ne témoigne que des fragments testiculaires prélevés alors que la cytométrie examine des cellules provenant de tout l'arbre séminifère.

Conclusions : Le dénombrement des chaînes de DNA des cellules séminales en cytométrie en flux est un examen simple, fiable et non invasif qui permet d'analyser les troubles de la spermatogenèse. Dans les infécondités masculines graves redevables de l'AMP avec chirurgie et fécondation assistée elle peut aider les cliniciens dans la prise en charge d'une fécondation assistée avant tout prélèvement chirurgical de spermatozoïdes. Par ailleurs, elle peut aussi permettre une analyse séquentielle des altérations expérimentales ou provoquées de la spermatogenèse par la chimiothérapie, la radiothérapie, les facteurs environnementaux délétères, etc...

POSTER P17

Prévalence des anomalies chromosomiques constitutionnelles chez 833 patients atteints de perturbations non obstructives du spermogramme

H. ELGHEZAL¹, M. AJINA¹, R. BRAHAM², M. MAHDI¹, S. HIDAR³, L. CHAIEB², H. KHAIRI³, A. SAÂD¹

¹ Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction. Hôpital Farhat Hached, Sousse – Tunisie.

² Service d'endocrinologie. Hôpital Farhat Hached, Sousse – Tunisie. ³ Service de Gynécologie Obstétrique. Hôpital Farhat Hached, Sousse – Tunisie

Les anomalies chromosomiques constitutionnelles constituent une cause majeure d'infertilité masculine.

Nous rapportons dans ce travail les résultats des investiga-

tions cytogénétiques réalisées sur 833 hommes infertiles présentant une perturbation non obstructive du spermogramme.

Il s'agit de 302 cas d'azoospermie, 286 cas d'oligozoospermie extrême, 135 cas d'oligozoospermie sévère, 99 cas d'oligozoospermie modérée et 11 cas de teratozoospermie isolée.

L'étude du caryotype montre la présence d'une anomalie chromosomique chez 109 patients parmi eux (13,09%), avec une prévalence plus élevée chez le groupe des patients azoospermiques (26,16%).

Le syndrome de Klinefelter et ses différentes formes cytogénétiques constitue l'anomalie chromosomique la plus retrouvée (66 cas). Dans les 43 cas restants les anomalies chromosomiques correspondent à des hommes XX (6 cas), des hommes XYY (1 cas), des délétions partielles ou totales du chromosome Y (13 cas), des translocations réciproques ou robertsoniennes (18 cas), des inversions péri ou paracentriques (5 cas) ainsi qu'à des chromosomes marqueurs surnuméraires (1 cas).

La prévalence des anomalies autosomiques est significativement plus importante dans les groupes des patients oligozoospermiques par rapport aux azoospermiques.

Une étude par FISH en utilisant des sondes centromériques des chromosomes X et Y montre la présence de mosaïcisme 47,XXY/46,XY dans 14 cas parmi 66 présentant un caryotype considéré comme normal. Elle montre aussi le même mosaïcisme dans tous les cas étudiés présentant une formule chromosomique 47,XXY considérée homogène au caryotype avec un spermogramme montrant la présence d'une spermatogenèse résiduelle.

POSTER P18

Etude de la fréquence des microremaniements de la région AZFc dans une population d'hommes présentant ou non un trouble de la spermatogenèse

V. ROZE, S. LAKHDAR-CHAOUCH, J.L. BRESSON, F. FELLMANN

EA MENRT 3185 Génétique et Reproduction, laboratoire de génétique, de biologie du développement et de la reproduction ; Faculté de Médecine et de Pharmacie, Besançon

La région AZFc est localisée sur la partie distale du bras long du chromosome Y. Elle s'étend sur 3,5Mb et présente une structure complexe organisée en multiples palindromes. Des recombinaisons homologues peuvent ainsi être

généérées et provoquer de nombreux remaniements tels que des délétions ou des duplications. Les délétions complètes de la région AZFc sont les plus fréquentes causes moléculaires d'infertilité masculine, détectées dans environ 12% des cas d'azoospermie sécrétoire et 6% des cas d'oligozoospermie sévère idiopathique. Récemment, plusieurs études ont montré l'existence de délétions partielles de cette région. Trois mécanismes moléculaires sont à l'heure actuelle identifiés, impliquant les palindromes gr-gr, b1-b3 et b2-b3. De nombreux gènes, tous présents en au moins deux exemplaires, sont localisés dans AZFc. Le gène DAZ est présent en 4 exemplaires identiques (99,9% d'homologie au niveau nucléotidique) arrangés en 2 groupes de deux copies orientées en position inversée. Il est le plus étudié car plusieurs arguments sont en faveur d'une fonction de ce gène dans la spermatogenèse. L'impact des délétions partielles sur la fertilité masculine est encore discuté car l'effet sur la spermatogenèse d'une modification du nombre de copies des gènes présents dans cet intervalle reste à être confirmé.

Nous avons étudié une population de 143 hommes présentant des troubles variés de la spermatogenèse et une population de 59 hommes à spermatogenèse normale. Deux techniques complémentaires ont été utilisées : l'analyse par PCR de STS spécifiques d'AZFc et le dosage de 2 marqueurs spécifiques des gènes DAZ par PCR quantitative « en temps réel ».

Cinq délétions partielles, 4 duplications et 4 délétions suivies de duplications ont été identifiées chez des hommes présentant une oligozoospermie de degré variable. Deux délétions partielles ainsi que 2 duplications ont été détectées dans la population d'homme à spermatogenèse normale.

Les microremaniements de la région AZFc sont observés avec une fréquence relativement importante, similaire dans les populations d'hommes avec et sans trouble de la spermatogenèse. Concernant les délétions partielles, nos résultats sont compatibles avec d'autres données récentes de la littérature. L'utilisation d'une technique de dosage génique apporte des éléments nouveaux concernant la fréquence des duplications de cette région.

Mots clés : AZFc, DAZ, infertilité masculine, délétions partielles, PCR quantitative

Effet des saponines sur les spermatozoïdes humains

S. KAMMOUN*, M. TRABELSI*, M. AJINA*, A. SAAD*, A. BENAMMAR**, I. HARRABI*, H. CHELLY*

*Laboratoire de cytogénétique et de biologie de la reproduction. Faculté de Médecine de Sousse. TUNISIE

**Laboratoire d'Histologie. Faculté de Médecine de Tunis. Tunisie

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. On leur reconnaît de nombreuses propriétés biologiques dont notamment une activité spermicide. Dans notre étude nous avons cherché les effets de saponines extraites d'une plante ornementale "*Cestrum parqui*" sur les spermatozoïdes humains.

Le sperme traité, présentant des caractéristiques spermatozoïdiques initiales normales (> 20x10⁶/ml avec 50% de mobilité) a été incubé avec des concentrations variables de saponines allant jusqu'à 300µg/ml à 37°C.

Une lecture au microscope optique de la mobilité et de la vitalité des spermatozoïdes traités a été effectuée toutes les 30 min.

Tous les résultats obtenus montrent un effet significatif des saponines sur la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes. Cet effet est variable selon la concentration et le temps d'exposition aux saponines.

L'effet spermicide maximal a été observé pour une concentration de

300µg/ml de saponines.

Selon la littérature, le mécanisme d'action des saponines implique une interaction saponine-cholestérol membranaire. Cet effet entraîne une déstabilisation membranaire provoquant une altération de l'équilibre osmotique avec éclatement de cette dernière.

Afin de déterminer les éventuelles atteintes morphologiques des spermatozoïdes exposés aux saponines de *Cestrum parqui*, nous avons procédé à une observation au microscope électronique à transmission (MET).

L'observation en MET montre des modifications touchant principalement la tête des spermatozoïdes. La membrane plasmique est dilatée et absente en certains endroits.

L'espace la séparant de l'acrosome est fortement augmenté. Le noyau paraît vacuolaire avec une chromatine moins dense. L'acrosome paraît ondulé et rompu en certains endroits.

Tous ces résultats indiquent que les saponines extraites de *Cestrum parqui* ont un effet spermicide.

Cette action est due probablement à des altérations membranaires suite à l'interaction des saponines avec le cholestérol membranaire. Ceci entraîne une altération de la mobilité des spermatozoïdes se répercutant sur leur pouvoir fécondant et pouvant même entraîner la mort cellulaire.

	G 1 (n=14)	G 2 (n=14)	G3 (n=10)
Nombre moyen d'ovocytes ponctionnés	10,1 (a)	14,9 (a, b)	9,2 (b)
Taux de fécondation	64,1%	51,9%	65,6%
Nombre moyen d'embryons obtenus	4,75	6,4	5,5
Nombre moyen d'embryon top (A+B)	30 (42,9%)	32 (35,5%)	21 (42%)
Nombre moyen d'embryons transférés	2,6	2,6	2,7
Taux de grossesses cliniques	57,1%	28,6%	50%
Taux d'implantation	27%	16,7	20,8%

a et b : $p < 0,05$

POSTER P20

Aneuploïdies gonosomiques détectées par hybridation in situ fluorescente des spermatozoïdes des patients ayant une tératozoospermie sévère

M. MEHDI, A. SAAD

Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached Sousse, Tunisie

Objectifs : évaluer l'incidence des aneuploïdies spermatisques chez des patients ayant une tératozoospermie sévère et déterminer une éventuelle relation entre ces aneuploïdies et une morphologie spermatique spécifique.

Matériel et méthodes : nous avons appliqué la technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH) avec des sondes spécifiques des chromosomes X, Y et 8 sur spermatozoïdes de 21 patients qui consultent pour une stérilité, au spermogramme, ils présentent une tératozoospermie sévère (formes anormales > 80%) et 7 hommes témoins ayant un sperme normal.

Un total de 7219 spermatozoïdes a été analysé chez les patients.

Résultats : nous avons trouvé que les taux d'aneuploïdie gonosomique, de disomie gonosomique et de diploïdie sont plus élevés chez les patients ayant une tératozoospermie sévère par rapport aux témoins (respectivement 4,53% versus 1,01%, 3,97% versus 0,76% et 1,73% versus 0,20%).

Les disomies gonosomiques dues à la méiose I (disomie XY) sont moins élevées que celles dues à la méiose II (dis-

omie XX et YY), (respectivement, $1,45 \pm 1,10$ et $2,53 \pm 1,50$). La différence est statistiquement significative ($p = 0,00$).

Il existe une corrélation positive entre le pourcentage de diploïdie spermatique (88XY) et la forme macrocéphale de la tête spermatique ($r = 0,02$, $p < 0,05$).

Conclusion : les patients avec une tératozoospermie sévère présentent un taux élevé des aneuploïdies spermatisques, ces patients ont souvent recours à la microinjection intracytotaire du spermatozoïde comme traitement de leur infertilité. Dans ce cas, il faut éviter de microinjecter un spermatozoïde macrocéphale.

POSTER P21

Apoptose des spermatozoïdes éjaculés : relations entre asymétrie membranaire, potentiel de membrane mitochondriale et fragmentation de l'ADN avec l'anamnèse, l'âge, l'examen clinique et l'inflammation

B. ZORN¹, A. IHAN², A. KOPITAR², M. KOLBEZEN¹,
A. SESEK-BRISKI³, I. VIRANT-KLUN⁴,
H. MEDEN-VRTOVEC⁴

¹Centre d'androgologie, ²Institut de microbiologie et d'immunologie, ³Institut de biochimie, ⁴Unité d'AMP, Service de gynécologie obstétrique, Centre clinique universitaire de Ljubljana, Slovénie

Introduction : L'existence, l'incidence et la pathogénie de l'apoptose des cellules somatiques au niveau des spermatozoïdes éjaculés fait l'objet de controverses. Le but de cette étude a été d'examiner chez des hommes infertiles les relations entre les modifications liées à l'apoptose telles que la perte de l'asymétrie de la membrane des spermatozoïdes, les changements du potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\psi_m$) et de la fragmentation de l'ADN et les caractéristiques classiques du spermogramme et les signes cliniques (anamnèse de cryptorchidie et de traitement de cancer, l'âge, l'intoxication tabagique, le volume testiculaire, la varicocèle et les signes d'inflammation).

Méthodes : Il s'est agi d'une étude prospective de 296 partenaires mâles de couples infertiles. Après recueil de l'anamnèse et examen clinique, les patients ont subi un spermogramme avec détermination des leucocytes et de l'élastase du plasma séminal par méthode ELISA. L'apoptose a été mesurée dans le sperme préparé après centrifugation en gradient de PureSperm par cytométrie en flux: des phospholipides membranaires, le $\Delta\psi_m$ et la fragmentation de l'ADN ont été évalués après adjonction d'annexine V, de DiOC₆(3) et d'acridine orange.

Résultats : Il existait une forte corrélation entre les caractéristiques

téristiques spermologiques du sperme natif et les marqueurs d'apoptose des spermatozoïdes préparés: l'oligozoospermie sévère se distinguait de l'oligozoospermie moyenne-moderée et de la normozoospermie par une plus grande fragmentation de l'ADN. Il existait une corrélation entre la cryptorchidie, l'abus de tabac et une élévation des leucocytes et une asymétrie membranaire diminuée, une moindre proportion de cellules avec $\Delta\sigma_m$ élevé et une fragmentation augmentée. En outre, un âge supérieur à 35 ans, un volume testiculaire réduit, une varicocèle et une élastase élevée étaient associés à une augmentation isolée de la fragmentation de l'ADN. Par contre, nous n'avons pas retrouvé de relation entre l'apoptose et un antécédent de traitement anticancéreux.

Conclusions : Cette étude démontre la présence de l'apoptose des spermatozoïdes éjaculés et ses relations avec certaines causes d'infertilité masculine. Vu que les marqueurs ont été mis en évidence de façon complète ou partielle, on peut imaginer que ces phénomènes, en particulier la fragmentation de l'ADN, ne découlent pas uniquement de l'apoptose. Par ailleurs, l'expression plus ou moins complète de la fragmentation, avec des index de fragmentation inférieurs à 20%, explique que les caractéristiques classiques du sperme puissent ne pas être modifiées en dépit d'une réelle pathologie (exemple en cas d'élastase élevée, signant l'inflammation).

POSTER P22

Les taux plasmatiques de leptine chez les hommes infertiles sont corrélés au diagnostic clinique et aux taux d'inhibine B

**B. ZORN¹, J. OSREDKAR², H. MEDEN-VRTOVEC¹,
G. MAJDIC³**

¹Centre d'androgénologie, Service de gynécologie obstétrique, ²Institut de biochimie, Centre clinique universitaire de Ljubljana, ³Centre de génomique animale, Faculté vétérinaire, Université de Ljubljana, Ljubljana, Slovénie

Introduction et buts du travail : Dans les deux sexes, l'hormone leptine a été impliquée dans la régulation des fonctions de reproduction sans que l'on connaisse toutefois son mécanisme d'action. Nous avons étudié les différences dans les taux de leptine plasmatique d'hommes infertiles et leur relation avec d'autres hormones de la reproduction.

Matériel et méthodes : 191 partenaires mâles de couples infertiles consultant au centre d'androgénologie de la clinique gynécologique de Ljubljana ont été inclus dans l'étude. En fonction du spermogramme (critères OMS), de l'examen clinique et des résultats de la biopsie testiculaire, les patients ont été répartis en trois groupes : 40 hommes avaient une

azoospermie non obstructive, 66 une oligoasthénotéatozoospermie (OAT) et 85 étaient normospermiques. Par ailleurs, les taux plasmatiques de leptine, FSH, LH, testostérone totale et libre et inhibine B ont été déterminés.

Résultats : Les taux de leptine étaient fortement corrélés à l'index de masse corporelle. Ils étaient significativement plus élevés tant chez les patients avec azoospermie ($p < 0.01$) et ceux avec OAT ($p < 0.05$) que ceux des patients normospermiques. Les taux d'inhibine B étaient significativement plus bas chez les azoospermiques que chez les patients avec OAT et normozoospermie ($p < 0.001$ pour les deux groupes), tandis que la différence n'était pas statistiquement significative entre les groupes d'OAT et de patients normozoospermiques. Tous patients inclus, il existait une forte corrélation négative entre les taux de leptine et d'inhibine B ($p < 0.001$).

Conclusion : Les patients azoospermiques et OAT ont des taux de leptine plus élevés que ceux avec normozoospermie. Les taux plasmatiques de leptine sont fortement corrélés à ceux d'inhibine B laissant suggérer que la leptine pourrait directement ou indirectement inhiber la sécrétion d'inhibine B par les testicules.

POSTER P23

Absence de chromosome sexuel (XO) des embryons arrêtés après injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) et culture embryonnaire prolongée

**I. VIRANT-KLUN¹, K. WRITZL², T. TOMAZEVIC¹,
S. DROBNIC¹, J. MIVSEK¹, A. VEBLE¹, B. PETERLIN²,
H. MEDEN-VRTOVEC¹**

¹Unité d'AMP, ²Unité de génétique, Service de gynécologie obstétrique, Centre clinique universitaire de Ljubljana, Slovénie

Introduction. Plusieurs études ont montré une proportion élevée d'aneuploïdies chromosomiques au niveau des spermatozoïdes (Gianaroli *et al.*, 2005) et des embryons en voie de clivage (Silber *et al.*, 2003) chez les hommes infertiles rendant la sélection des embryons chez ces hommes quasi inéluctable. La culture jusqu'au stade blastocyste est une méthode de sélection embryonnaire efficace après biopsie testiculaire-ICSI chez les azoospermiques (Virant-Klun *et al.*, 2003). Le but de cette étude était d'analyser les aneuploïdies des chromosomes sexuels des embryons en culture prolongée selon leur stade de développement et la méthode d'AMP.

Matériel et Méthodes. Nous avons analysé les aneuploïdies des chromosomes sexuels X et Y de 32 embryons (15 blastocystes, 9 morulae et 8 embryons arrêtés) frais ou

Embryons	Cellules (n)	Noyaux analysés (n)	Sexe de l'embryon	Age de la patiente	Indication masculine d'infertilité	Méthode d'AMP	Noyaux (%) avec aneuploïdies des chromosomes sexuels
E1	4	2	M	41	Aucune	IVF	0
E2	5	4	M	43	Aucune	IVF	0
E3	7	5	F	34	Aucune	IVF	0
E4	6	6	F	35	Aucune	IVF	0
E5	5	2	F	35	OLIGO	ICSI	2 (100%) noyaux avec 1 ch. X absent
E6	8	2	X0	37	OLIGO	ICSI	1 (50%) noyau avec ch. sexuel absent
E7	6	1	X0	37	OLIGO	ICSI	1 (100%) noyau avec ch. sexuel absent
E8	6	6	F	37	OLIGO	ICSI	6 (100%) noyaux avec 1 ch. X supplémentaire

congelés-décongelés cultivés en milieux séquentiels (*BlastAssistSystem, MediCult, Denmark*) were analyzed. A J5, au lieu d'être transférés, les embryons ont été congelés en tant qu'embryons surnuméraires ou non transférés du fait de leur mauvaise qualité. Ces embryons ont fait l'objet d'un don pour la recherche. Leurs noyaux ont été isolés, fixés et analysés par FISH (Harper *et al.*, 1995) pour les chromosomes X and Y. Nous avons recherché les corrélations entre les aneuploïdies des chromosomes X et Y et le potentiel de développement embryonnaire ainsi que la méthode d'AMP (FIV classique et ICSI). On a supposé que les embryons étaient anormaux si $\geq 50\%$ des noyaux analysés étaient aneuploïdes.

Résultats. A tous les stades de développement, il existait une faible proportion de noyaux aneuploïdes. Cependant, aucun blastocyste ni morula ne possédait de noyau anormal avec absence de chromosome sexuel (XO). Par contre, tous quatre (100%) les embryons arrêtés après ICSI étaient anormaux en termes d'aneuploïdies des chromosomes sexuels. Deux (50%) étaient XO.

Tableau 1 : Aneuploïdies des chromosomes sexuels des embryons arrêtés

Conclusion. La culture de blastocystes après ICSI représente une sélection non agressive d'embryons vis-à-vis de certaines aneuploïdies de chromosomes sexuels.

POSTER P24

Le traitement pharmacologique de l'anéjaculation chez l'homme paraplégique et tétraplégique

F.J. COURTOIS^{1,3,4}, K. CHARVIER², A. LERICHE², C. DEL AGUILA², J.G. VÉZINA³, D. RAYMOND⁴, C. FOURNIER⁴, G. JACQUEMIN⁴, M. CÔTÉ^{1,2}

¹Université du Québec à Montréal, département de Sexologie et kinanthropologie, CP8888, succursale Centre ville, Montréal, Québec, H3C 3P8 Canada.

²Hospices civils de Lyon, 30 route de Vourles, 69230 Saint-Genis-Laval, France.

³Institut de réadaptation en déficience physique de Québec, 525 Boul Hamel est, Québec G1M 2S8, Canada.

⁴Institut de réadaptation de Montréal, 6300 Darlington, Montréal H3S 2J4, Canada

L'éjaculation chez l'homme blessé médullaire (BM) dépend du niveau de sa lésion, mais en cas de perte naturelle, elle peut être stimulée par un vibreur ou une stimulation endorectale. Par le passé, les échecs thérapeutiques pouvaient être compensés par des traitements de *physostigmine*, *prostigmine* ou *neostigmine*, mais ces produits sont aujourd'hui disparus. En l'absence de produits de remplacement, nous avons tenté d'utiliser la *midodrine*, un hypertenseur précédemment utilisé dans sa forme injectable pour le traitement de l'éjaculation rétrograde. Les résultats auprès de 80 patients BM montrent que si la capacité naturelle et celle au vibreur sont perdues, un total additionnel de 12% des patients peut encore bénéficier du traitement à la *midodrine*. Ce pourcentage pondéré pour les niveaux de lésion montrent que les atteintes cervicales, qui bénéficient généralement de la stimulation au vibreur, ne requièrent la *midodrine* que dans un 10% de cas additionnels, alors que les lésions en T7-T10 et celles en T11-L2, répondent moins souvent à la stimulation au vibreur et bénéficient de la *midodrine* dans un pourcentage additionnel de 32% et 21% respectivement. Les variations de tension artérielle alors enregistrées lors des tests passent 117mmHg au repos à 127mmHg après ingestion de *midodrine*, à 170mmHg au moment de l'éjaculation. Ces résultats montrent que la *midodrine* peut être un traitement efficace pour l'anéjaculation chez l'homme BM lorsque les autres modalités mécaniques restent inefficaces. Les variations de tension doivent néanmoins être surveillées, mais l'éligibilité des patients leur permet de vivre l'éjaculation tout en assurant une indépendance fonctionnelle grâce aux comprimés oraux de *midodrine*.

(Subvention de la Christopher Reeve Paralysis Foundation).

POSTER P25

Etude de l'évolution de l'incidence du cancer du testicule en France à partir des données de la Fédération des CECOS

**M. WALSCHAERTS, E. HUYGHE, S. HENNEBICQ,
R. MIEUSSET, L. BUJAN, M. DAUDIN, P. PLANTE,
P. THONNEAU**

*Equipe de Recherche en Fertilité Humaine 3694, Service
d'Urologie et d'Andrologie,*

*Hôpital Paule de Viguier, Toulouse, et CECOS de
Grenoble*

Objectifs : Confirmer l'augmentation de l'incidence du cancer du testicule en France.

Matériel et Méthode : Etude menée à partir (1) des données fournies par la fédération des CECOS concernant le nombre de conservations de sperme pour tumeur germinale entre 1990 et 1999, et (2) des données du CECOS Midi-Pyrénées entre 1980 et 1999.

Résultats : Les données de la fédération des CECOS montrent une augmentation du nombre des conservations de sperme pour tumeur germinale sur l'ensemble des régions entre 1990 et 1999.

En Midi-Pyrénées, le taux d'incidence des séminomes est passé de 0,6 à 1,2 pour 100 000 (augmentation annuelle de 5%) et de 0,7 à 1,8 pour les TGNS (augmentation annuelle de 8%).

Conclusion : L'augmentation du nombre des conservations de sperme constatée dans l'ensemble des régions françaises entre 1990 et 1999 est un élément de forte présomption pour une augmentation de l'incidence du cancer du testicule en France. Ces données sont à rapprocher de l'augmentation de l'incidence du cancer du testicule confirmée en Midi Pyrénées dans la période 1980 - 1999.

POSTER P26

Proposition d'un modèle prédictif de l'évolution de l'incidence du cancer du testicule, à partir des données en Midi-Pyrénées

**M. WALSCHAERTS, E. HUYGHE, R. MIEUSSET,
L. BUJAN, M. DAUDIN, P. PLANTE, P. THONNEAU**

*Equipe de Recherche en Fertilité Humaine 3694, Service
d'Urologie et d'Andrologie, Hôpital Paule de Viguier,
Toulouse*

Objectifs : Trouver un modèle mathématique prédictif de l'évolution de l'incidence du cancer du testicule en Midi-Pyrénées.

Matériel et Méthode : Etude menée sur la série consécutive des cas de cancers du testicule survenus sur une période de 20 ans (1980-1999) en Midi-Pyrénées. Pour tous les patients, nous disposons de la date de naissance du patient, de ses antécédents, de l'année du diagnostic de la tumeur, du type histologique et du stade, du traitement suivi et du statut vital. Les taux d'incidence ont été standardisés sur la population mondiale. Une régression de Poisson a été appliquée et différents modèles mathématiques ont été testés.

Résultats : Sur l'ensemble de la période d'étude, on assiste à une augmentation de l'incidence du cancer du testicule, à la fois pour les séminomes et les tumeurs germinales non séminomateuses (augmentation annuelle moyenne de 5% et 8% respectivement). Le modèle Poissonien Age-Période-Cohorte apparaît prédictif de l'évolution de l'incidence du cancer du testicule, et révèle l'existence d'un effet de cohorte de naissance.

Conclusion : L'augmentation de l'incidence du cancer du testicule enregistrée en Midi Pyrénées entre 1980 et 1999 est modélisable (modèle Poissonien Age-Période-Cohorte). L'existence d'un effet de cohorte de naissance plaide pour une exposition à des facteurs intervenant précocement dans la vie, voire en anténatal.

POSTER P27

Profil de la testostérone totale avant et après bromocriptine chez les hommes hyperprolactinémiques

F. CHENTLI, S. AZZOU, M. REZZOUG

*Service d'Endocrinologie, C.H.U de Bab El Oued, Alger,
Algérie*

Etant donné la rareté des prolactinomes masculins il y a peu ou pas d'études concernant le profil évolutif des androgènes après traitement par agonistes dopaminergiques. Par ailleurs la faible sensibilité des macroprolactinomes aux analogues de la dopamine et la non adhérence au traitement lié au coût des produits et/ou aux problèmes de vraies et fausses résistances créent des difficultés supplémentaires quant à l'évaluation précise de la fonction gonadique masculine. Notre but est d'analyser le profil de la testostéronémie totale chez 42 hommes porteurs de prolactinomes (2 adénomes enclos et 40 expansifs et/ou invasifs), vivant dans un pays à faible revenu socioéconomique, traités par bromocriptine.

L'âge moyen de nos patients est de = 35,8±14 ans (15 - 68 ans). Leur PRL moy. = 2438 ng/ml (80 - 19996). La testos-

téronémie moyenne avant traitement = 2,61 ng/ml (0,13 - 14). 32 ont une testostéronémie franchement basse, 17 ont une insuffisance anté-hypophysaire (déficit ≥ 2 axes).

Après traitement par bromocriptine (dose moyenne = 26,6mg et durée allant de 1 mois à 20 ans), en plus de la substitution des différents déficits anté-hypophysaires, la testostéronémie a significativement augmentée : $4,54 \pm 4,7$ ng/ml, $p < 0,01$.

Sur le plan individuel il existe 2 groupes : un groupe qui a normalisé sa prolactine = G1 et un groupe dont la prolactine a sensiblement baissé mais non normalisée = G2. Dans G1 (n = 33 dont 7 testostéronémies normales et 26 testostéronémies basses) : 16/26 patients = 61,5% ont normalisé leur sécrétion androgénique. Dans G2 (n = 9 dont 3 testostéronémies normales et 6 hypotestostéronémies), 1/6 patient a normalisé la testo malgré une hyperprolactinémie résiduelle à 74ng/ml. Ce patient présente une sécrétion associée de macroprolactinémie. Pour G1 et G2 : 17/32 patients ont normalisé leur testo soit 53%.

Conclusion : Le traitement des prolactinomes masculins par agonistes dopaminergiques a significativement amélioré les taux de testostérone plasmatique totale de nos 42 patients, cependant sur le plan individuel le déficit gonadique n'a disparu que chez un patient sur deux en raison de la fréquence d'un déficit gonadotrope organique et de la non compliance et/ou résistance au traitement médical.

POSTER P28

Anomalies sexuelles et gonadiques au cours du syndrome de Cushing masculin

F. CHENTLI, H. BOUDINA, K. GATI, S. AZZOU, N. MEZIANI

Service Endocrinologie, CHU Bab El Oued, Alger, Algérie

Le Cushing masculin est très rare et les conséquences de l'hypercortisolisme sur le plan gonadique sont peu connues. Notre but est d'analyser le profil clinique et hormonal des anomalies sexuelles constatées chez 17 adultes présentant un hypercortisolisme métabolique endogène (10 maladies de Cushing, 5 syndromes paranéoplasiques et 1 corticosturréalome malin, 1 dysplasie micronodulaire bilatérale). L'âge moyen de notre population est de 30,2 ans (18 - 50). Sur le plan méthodologique nous avons tenu compte des données anamnestiques, cliniques et d'un bilan hormonal le plus complet possible. La comparaison est réalisée avec un groupe de sujets normaux indemnes de toute affection médicale ou endocrinienne.

Résultats : La diminution de la libido et/ou de la puissance sexuelle est notée chez 7/15 sujets soit 46%. Une gynécomastie est relevée chez un patient. La testo est significati-

vement plus basse que celle des témoins (2,9 ng/ml vs 5,05 ; $p < 0,01$). La prolactine est significativement plus élevée (11 ng/ml vs 5,2 ; $p < 0,005$). Pour les gonadotrophines il n'existe aucune différence entre malades et témoins (FSH = 4,2 mu/ml vs 3,3 ; LH = 2,9 mu/ml vs 3,5 ; $p < 0,05$).

Conclusion : Les sujets de sexe masculin en hypercortisolisme endogène présentent un hypogonadisme normogonadotrophique avec hyperprolactinémie relative. Ce profil évoque une inhibition au niveau hypothalamique même si certains auteurs n'excluent pas totalement une participation testiculaire : diminution de la sensibilité aux gonadotrophines endogènes et/ou une atteinte leydigienne secondaire à la sévérité de l'hypercortisolisme.

POSTER P29

Devenir des prélèvements chirurgicaux de spermatozoïdes (TESE / MESA) réalisés chez les patients pris en charge au centre d'AMP du CHU de Besançon

**A. BEN AMOR¹, C. JOANNE¹, G. AGNANI²,
H. BITTARD³, M.C. CLAVEQUIN¹, J.L. BRESSON¹,
C. ROUX¹**

1 Service de Génétique, Histologie, Biologie du Développement et de la Reproduction, 2 Service de Gynécologie-Obstétrique, 3 Service d'Urologie Andrologie - CHU Saint Jacques, 25030 Besançon

Le but du travail a été d'analyser de façon rétrospective les tentatives de TESE / MESA réalisées entre 1995 et 2005, et d'étudier leur devenir en cas d'ICSI. Une tentative de TESE a été proposée pour 57 cas d'azoospermies non obstructives (ANO), une MESA pour 51 cas d'azoospermies obstructives (AO). Tous les patients n'ont eu qu'une seule exploration chirurgicale

Les empreintes testiculaires réalisées extemporanément au bloc opératoire, en cas d'ANO, se sont avérées être positives dans 2/3 des cas (n=19). La dilacération mécanique a montré la présence de spermatozoïdes mobiles dans 28 prélèvements (49%), ce qui a permis d'envisager une tentative d'ICSI. Des spermatozoïdes mobiles ont été retrouvés au test de décongélation dans 83% des cas.

Si le taux de FSH est plus élevé dans les cas d'ANO que d'AO ($19 \pm 14,8$ UI/l versus $5,3 \pm 3,3$ UI/l), il n'est pas un facteur prédictif de présence de spermatozoïdes à la ponction. Une origine chromosomique a été retrouvée dans 4 de ces cas de TESE [47,XXY n=2 - 46,XY,t(2;6)(q213;p221) - monosomie X partielle] et 4 patients présentaient une microdélétion du chromosome Y [AZFc n=3, AZFb n=1]. Dans ces 8 étiologies, l'exploration chirurgicale s'est avérée négative.

Aucune histologie testiculaire réalisée sur les fragments biopsiques ne s'est avérée être normale (hypospermatogénèse +/- sclérohyalinisation, n=29 ; arrêts de maturation, n=8 ; Sertoli cell only syndrome, n=17 ; amylose, n=1). Dans deux cas, l'étude histologique complémentaire n'a pas été possible du fait de tout petits prélèvements testiculaires sur testicules atrophiés.

35 ICSI (/20 TESE) dont 2 avec spermatozoïdes frais ont été effectuées. Les taux de fécondation, de clivage et de transfert sont respectivement de 23,8%, 30,1% et 74,3%. Les taux de grossesses par tentatives et transferts sont de 20% et 26,9%.

Un antécédent de cryptorchidie opérée pendant l'enfance est de moins bon pronostic en ce qui concerne les résultats du prélèvement chirurgical et de l'ICSI : les taux de fécondation, clivage, transfert chutent à 14,4% - 20,8% - 72,2%, et ceux des grossesses par tentatives et transferts à 11,1% et 15,4%.

En cas d'AO, le prélèvement épидидymaire a toujours été positif, avec des spermatozoïdes mobiles après mise en milieu de capacitation. Un diagnostic d'ABCD a été avancé dans 50% des MESA (n= 26) sur des données cliniques confirmées par l'exploration chirurgicale ou sur le bilan génétique des mutations du gène CFTR.

127 ICSI (/51 MESA ; dont 7 avec spermatozoïdes frais) ont permis d'obtenir des taux de fécondation, de clivage et de transfert respectivement de 27,9% - 42,9 % et 89,7%. Les taux de grossesses par tentatives et par transferts étant respectivement de 25,2% et 28,1%.

En conclusion, l'examen extemporané sur lame d'empreinte en cas de TESE est un élément pronostic important sur la possibilité pour le couple de bénéficier d'une ICSI. Un antécédent de cryptorchidie est un élément de moins bon pronostic sur le résultat de l'ICSI. La découverte d'une cause cytogénétique ou génétique en cas d'ANO peut faire réviser l'utilité d'une exploration chirurgicale en fonction des données clinico-biologiques complémentaires.

POSTER P30

La biopsie testiculaire pour les patients présentant une azoospermie non obstructive en vue d'une ICSI : l'intérêt du prélèvement synchrone

N. CHEVALIER*, V. IZARD, L. ROCHER***,
N. PRISANT*, S. MADOUX*, R. FRYDMAN*,
N. FRYDMAN***

* Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital Antoine Bécère, 157 Rue de la Porte de Trivaux, 92141 CLAMART. ** Service d'Urologie et Andrologie, Hôpital du Kremlin Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc, 94270 Kremlin

*Bicêtre. *** Service de Radiologie, Hôpital du Kremlin Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc, 94270 Kremlin Bicêtre*

Objectifs : Cette étude reporte notre activité du prélèvement chirurgical testiculaire en vue d'une ICSI (intracytoplasmic sperm injection) chez les patients présentant une azoospermie non obstructive (NOA).

Les différentes études ne montrent pas de différence sur les taux de fécondation et de grossesse que l'on utilise des spermatozoïdes testiculaires frais ou congelés (*Friedler et Sousa, 2002*). Nous avons voulu comparer notre activité aux résultats de la littérature et mettre en évidence un intérêt du prélèvement testiculaire synchrone à l'ICSI.

Matériels et méthodes : Nous avons pris en charge 36 hommes présentant une NOA entre 2001 et 2004. Nous avons réalisé 35 biopsies testiculaires (BT) synchrones à la ponction ovocytaire et 10 cycles d'ICSI avec prélèvement testiculaire congelé. Sur les 35 biopsies testiculaires synchrones, 7 prélèvements (22,6%) n'ont pas permis de trouver des spermatozoïdes. Concernant les 28 prélèvements positifs, nous avons pu congeler des spermatozoïdes dans 14 cas (50%). Nous avons évalué le taux de fécondation, le nombre d'embryons obtenus et transférés par cycle, la qualité embryonnaire, le taux d'implantation et le taux de grossesse évolutive pour les 3 groupes (G1 .BT synchrone avec congélation, G2 BT synchrone sans congélation, G3 ICSI avec sperme testiculaire congelé).

Résultats : Nous n'avons trouvé aucune différence significative sur les différents paramètres évalués. Le taux de fécondation et le taux d'embryon de bonne qualité est similaire dans les 3 groupes. Le taux d'implantation et le taux de grossesses évolutives apparaît plus élevé dans les groupes où les spermatozoïdes ont pu être congelés (G1) ou utilisés après décongélation (G3) par rapport au groupe où le prélèvement testiculaire synchrone n'a pas permis de congélation (G2) ; cependant, la différence est non statistiquement significative. Nous reconnaissons un taux élevé de biopsie testiculaire négative. Mais dans la moitié des prélèvements synchrones, la congélation n'a pas pu être possible ce qui n'aurait pas permis de chance de grossesse à 4 couples, avec un taux de grossesse légèrement supérieur à 25%.

Conclusion : Nos résultats sur les NOA, sont similaires en utilisant des spermatozoïdes testiculaires frais ou décongelés et identiques à ceux des autres études. Cependant nous confirmons l'intérêt de réaliser des prélèvements testiculaires synchrones dans cette situation, afin d'offrir une chance d'obtenir une grossesse aux couples ne pouvant pas bénéficier d'une congélation de spermatozoïdes testiculaires

Efficacité et tolérance de l'Alprostadil par voie transurétrale chez 104 patients au sein d'une dose test de 500 mg en consultation hospitalière d'andrologie

**N. BERTHON¹, F. MARCELLI¹, J.-M. RIGOT¹,
A. VILLERS², J. BISERTE²**

1 Service d'Andrologie CHU, Lille ;

2 Service d'Urologie CHU, Lille

Objectif : Les prostaglandines (alprostadil) sont des thérapeutiques de choix dans la prise en charge de la dysfonction érectile (DE). Nous avons souhaité connaître la place et l'efficacité de la voie d'administration transurétrale d'alprostadil au sein d'une consultation d'andrologie hospitalière.

Méthode : Cette étude rétrospective (janvier 2001 à avril 2005) inclus 104 patients pour lesquels l'alprostadil intraurétral a été proposé systématiquement au cours de leur prise en charge de leur DE. L'étiologie de la DE, les antécédents (HBP, cancer de prostate, diabète,...) et les traitements utilisés ont été notés. L'alprostadil intraurétral a été testé en consultation d'andrologie comme précisé dans l'AMM pour juger de son efficacité et de sa tolérance.

Résultats : L'âge moyen des patients était de 58 ans. L'efficacité notée sur l'obtention d'une érection rigide en consultation était de 46% pour une dose initiale d'alprostadil de 500 mg. Les effets secondaires furent rares (8%). L'alprostadil intraurétral a été accepté comme alternative thérapeutique chez 55,7% des patients de notre série mais le nombre élevé de perdus de vues (99%) ne nous a pas permis de conclure sur l'utilisation et l'efficacité au domicile.

Conclusion : La voie intraurétrale d'administration d'alprostadil est une alternative crédible aux autres traitements de la dysfonction érectile. La simplicité d'utilisation et le caractère peu invasif permettent d'envisager son emploi chez certains patients bien sélectionnés.

POSTER P32

Intérêt de l'étude méiotique chez des patients présentant une microdélétion du chromosome Y

**C. GEOFFROY, I. AKNIN-SEIFFER, J. PERRIN, R. LEVY,
C. GUILLEMAIN, J. SAIAS, J.M. GRILLO,
M. GUICHAOUA.**

*Laboratoire de Biologie de la Reproduction Hôpital de la
Conception, Marseille*

Les microdélétions du chromosome Y se manifestent par une altération de la spermatogenèse dont les aspects diffèrent selon le type de microdélétion. L'histopathologie testiculaire montre un syndrome Sertoli Cell Only (SCO) dans les microdélétions AZFa, un blocage de la spermatogenèse au cours de la prophase de la première division dans les microdélétions AZFb, une raréfaction de la lignée germinale à tous les stades de la spermatogenèse dans les microdélétions AZFc. Nous avons appliqué la technique d'immunocytochimie sur les cellules méiotiques chez 2 patients présentant une microdélétion AZFb, chez 2 patients présentant une microdélétion AZFc et chez 2 témoins normaux.

L'étude méiotique est réalisée sur les cellules germinales non utilisées pour l'ICSI. Les chromosomes sont étalés à l'aide d'une cytopsin 3, les éléments axiaux et les éléments latéraux des complexes synaptonémaux sont visualisés par un anticorps anti SCP3, cet anticorps permet de reconnaître les stades leptotène, zygotène pachytène et diplotène. Cet anticorps nous a aussi permis d'identifier 4 sous-stades au cours du stade pachytène, en fonction des différents aspects des chromosomes sexuels au cours de ce stade.

Pour chaque patient et témoin l'analyse se fait sur 200 noyaux en notant pour chacun le stade et le sous stade pachytène, et la présence d'anomalies des complexes synaptonémaux : fragments, asynapsis, bivalents en pointillés.

L'anticorps anti SCP3 montre chez les patients porteurs des deux types de microdélétion une grande richesse cellulaire, avec la présence anormale de nombreux stades leptotènes, un arrêt de la méiose au pachytène moyen, qui se manifeste par la diminution très importante des sous stades 3 et 4 du stade pachytène, contrairement aux témoins normaux chez lesquels les sous-stades 3 et 4 prédominent.

Cet anticorps met aussi en évidence une diminution du nombre des noyaux normaux chez les patients porteurs de microdélétion par rapport aux témoins normaux. Le taux de fragmentation est augmenté dans les deux microdélétions : 29,2% et 30,5% respectivement pour les microdélétions AZFb et AZFc, versus 19,8% pour les témoins normaux. Le taux d'asynapsis est augmenté dans les deux microdélétions mais de façon plus importante dans les microdélétions AZFb. (34,2% et 23,3% pour AZFb et AZFc respectivement versus 8,3% chez les témoins normaux). Les images en pointillé sont plus fréquentes chez les patients AZFc. (11,2% et 31,5% pour AZFb et AZFc versus 4,3% chez les témoins)

En conclusion, cette étude méiotique montre des anomalies du comportement des chromosomes au cours de la prophase de la première division, avec un profil qui varie entre les deux types de microdélétion. L'étude méiotique, couplée à l'utilisation d'un plus grand nombre d'anticorps dirigés contre des protéines méiotiques, paraît donc indispensable pour mieux comprendre les mécanismes responsables de l'altération de la spermatogenèse dans les microdélétions du chromosome Y.

Cryptorchidies idiopathiques dans la population marocaine : recherche de mutations des gènes INSL3 et LGR8

**B. EL HOUATE^{1,2}, H. SIBAI³, E. CHADLI²,
H. BARAKAT², M. FEHRI³, A. CHAFIK²,
AI. AGOULNIKE⁴, H. ROUBA², K. MCELREAVEY¹**

1 Reproduction, Fertilité et Population- Institut Pasteur Paris ; **2** Laboratoire de Génétique Humaine-Institut Pasteur du Maroc ; **3** Service de chirurgie viscérale -CHU Ibn Rochd Maroc ; **4** Department of Obstetrics and Gynecology, Baylor College of Medicine, USA

Introduction : La cryptorchidie est l'anomalie congénitale la plus fréquente du tractus urogénital chez l'homme. Elle touche 1-2% des nouveaux nés dans les pays développés. Son étiologie semble dépendre de facteurs génétiques et environnementaux.

INSL3 (Leydig Insulin like-factor) et son récepteur *LGR8* (Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor) ont été impliqués dans le contrôle de la première étape de la descente testiculaire indépendante des androgènes, par la régulation du développement du gubernaculum. *INSL3* est un membre de la superfamille des insulines caractérisé par un précurseur composé d'un peptide signal, une chaîne A, une chaîne B et une chaîne C. Après maturation, la protéine est composée de deux chaînes A et B liées par des ponts disulfures. Jusqu'à présent 6 mutations hétérozygotes ont été décrites au niveau du gène *INSL3*. Une seule mutation hétérozygote du gène *LGR8* (T222P) a été identifiée chez 4 patients italiens et un patient français. Cette mutation (T222P) a des conséquences fonctionnelles importantes car elle abolit la liaison d'*INSL3* avec son récepteur.

But de l'étude : Aucune donnée concernant les populations d'Afrique du Nord n'est connue. Nous avons souhaité déterminer la fréquence des mutations dans les gènes *INSL3* et *LGR8* (T222P) dans la population marocaine.

Matériel et méthodes : Nous avons étudié 90 patients présentant une cryptorchidie idiopathique et 127 contrôles d'origine marocaine. L'analyse des deux exons du gène *INSL3* a été réalisée par séquençage. La recherche de la mutation T222P du gène *LGR8* a été réalisée par PIRS (Primer introduced restriction site).

Résultats : Nous avons identifié deux nouvelles mutations du gène *INSL3* associées au phénotype. La première mutation, V18M, est localisée au niveau du peptide signal, la seconde mutation, R105H, se situe au niveau du C-terminal du peptide C. L'analyse fonctionnelle montre que la mutation V18M diminue l'activité de la protéine mutée par rapport à la forme sauvage. La mutation T222P (résultant

d'une transversion A/C au niveau de l'ectodomaine du gène *LGR8*) a été retrouvée chez les malades (4/90) et chez des individus sans cryptorchidie (4/127). L'analyse d'autres marqueurs adjacents suggère un effet fondateur.

Conclusion : Nos résultats confirment que les mutations du gène *INSL3* sont rares chez les patients présentant une cryptorchidie. La mutation T222P du gène *LGR8* est présente dans la population marocaine. Cette mutation est le résultat d'un possible effet fondateur au sein du bassin méditerranéen et son expression phénotypique doit dépendre de la contribution d'autres facteurs d'origine génétique et/ou environnementale.

Mots clés : Cryptorchidie, Mutation, gène *INSL3*, gène *LGR8*

Analyse CGH très haute résolution de patients présentant des anomalies du développement gonadique

**B. EL HOUATE¹, S. CHANTOT^{1,2}, C. RAVEL^{1,2},
A. TAR³, J.P. SIFFROI², R. BRAUNER⁴,
K. MCELREAVEY¹**

1 Reproduction, Fertilité et Populations. Institut Pasteur, Paris. **2** UPMC EA1533, AP-HP, Hôpital Tenon, Paris. **3** Buda Childrens Hospital, Budapest, Hungary. **4** Université Paris Descartes et Unité d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre, France

La technologie oligo-microarrays pour l'analyse CGH (« Comparative Genome Hybridization ») très haute résolution offre la possibilité de découvrir des changements subtils dans le nombre de copies dans le génome humain pouvant ainsi contribuer à la diversité génétique mais dans certains cas pouvant entraîner une maladie génétique.

Dans cette étude, nous présentons l'analyse par arrays oligonucléotidiques de très haute résolution de 18 patients d'origine caucasienne présentant des anomalies diverses du développement gonadique. Cette analyse a identifié 87 différences du nombre de copies représentant 56 loci uniques. De plus, cette analyse a permis de préciser les points de cassure chromosomique déjà décrits chez deux individus présentant une réversion sexuelle, le premier étant porteur d'une délétion du chromosome 9p (point de cassure dans le gène *GASC1*) et le second d'une délétion Xp (point de cassure distal du gène *ZNF673*). Parmi les 56 loci uniques présentant des changements dans le nombre de copies, 32 sont des polymorphismes déjà décrits mais les 24 autres changements du nombre de copies ne sont observés que chez un seul individu et n'ont pas été décrits auparavant. Même si certains peuvent être des polymor-

phismes rares sans conséquence phénotypique, il est probable que d'autres peuvent contribuer à la pathologie. Ces nouveaux changements incluent : une délétion intragénique du gène *ERBB4* chez un patient porteur d'une dysgénésie testiculaire associée à une coarctation aortique, un nystagmus congénital et des troubles du comportement ; une duplication partielle du gène *KIF18A* chez un patient présentant une puberté pseudoprécoce ; une duplication du gène de la cycline B3 chez un patient présentant une cryptorchidie et une hypospadias ; et une délétion partielle du gène *FLJ31810* (codant pour une protéine neuronale riche en leucine) chez un patient porteur d'un syndrome évoquant celui de Silver-Russel associé à un retard mental. Ces résultats suggèrent que l'analyse CGH très haute résolution offre la possibilité de définir de nouveaux loci/gènes responsables de maladies génétiques chez des patients pour lesquels les approches génétiques conventionnelles, telles les analyses de déséquilibre de liaison ou les études d'association, ne peuvent être réalisées en raison de la rareté et la nature de la pathologie.

POSTER P35

L'impact clinique de la fragmentation de l'ADN spermatique : résultats préliminaires d'une étude multicentrique française

J.F. VELEZ DE LA CALLE, J.L. CLAVERE, P. COHEN-BACRIE, C. JIMENEZ, J. PFEFFER, CH. WITTEMER, P. THONNEAU

Introduction. Les changements de la chromatine tout au long de la spermatogenèse sont fondamentaux pour l'acquisition de la maturité nucléaire et la fécondation ultérieure qui se traduit par la formation des pronucléi. Compte tenu du rôle joué par la chromatine dans le phénomène de la fécondation, il est impératif de l'étudier dans les couples faisant appel à l'AMP. En effet, il est connu que la fragmentation de l'ADN spermatique peut être une cause d'infécondité (Evenson *et al.*, 99). Ce groupe de chercheurs décrit un taux de fragmentation > à 30% de spermatozoïdes, comme étant réhibitoire pour le début et/ou le maintien d'une grossesse (Larson *et al.*, 00-02). En revanche, d'autres équipes ont déjà signalé des grossesses à terme, malgré des très forts taux de fragmentation d'ADN (jusqu'à 80%) (Muriel *et al.*, 05).

Récemment, Fernandez et coll. (03) ont décrit une méthode simple, reproductible et peu coûteuse pouvant être mise en pratique de routine dans n'importe quel laboratoire de Biologie de la Reproduction pour mettre en évidence les fragmentations d'ADN. Cette technique appelée « Sperm Chromatin Dispersion » (SCD) étudie **uniquement** les spermatozoïdes, excluant ainsi toute autre cellule y compris les spermatides. Par ailleurs, spécificité **unique** du SCD, il

met en évidence des spermatozoïdes présentant une importante lésion de la matrice nucléaire qui peut être corrélée à des pathologies telles que la varicocèle (Enciso *et al.*, 05).

La présence donc d'un taux de fragmentation d'ADN très élevé, peut-être une contre indication pour la mise en place d'une micro-injection de spermatozoïdes (ICSI) et en particulier pour les individus souffrant d'une varicocèle. Toutes les études publiées jusqu'à maintenant sont critiquables méthodologiquement et controversées (échantillonnage faible, évaluation non comparable, résultats discordants...). Notre étude **est la première**, au niveau mondial, à présenter des résultats concernant plus de 600 couples obtenus sur 6 centres différents.

Matériel et Méthodes. Dans chaque centre participant à l'étude (6) nous avons inclus exclusivement des couples en première tentative de FIV ou d'ICSI. Un questionnaire/couple a été rempli par les auteurs. Il consignait les antécédents du couple en matière de fertilité (âge, indications, durée infécondité, FCS, IVG, etc.) avec individualisation des données sur chaque partenaire concernant leur profession, exposition à des facteurs de risque, antécédents de cryptorchidie, varicocèle, paramètres spermatiques, spermoculture, etc.

Les résultats du test de fragmentation de l'ADN ont été enregistrés, ainsi que les données biologiques de la tentative de FIV : taux de fécondation, qualité embryonnaire, taux d'implantation, ratio blastocystes / embryon, nombre d'embryons transférés. Par ailleurs, nous avons corrélié toutes ces données avec les grossesses obtenues (biochimique, clinique, unique, multiple) et leur devenir (évolutive, FCS).

Résultats. Au moment de la rédaction de ce poster, nous n'avons pas fini l'évaluation de tous les cas, en particulier au sujet du devenir de la grossesse à 3 mois. Cette analyse sera prête pour le congrès.

Bibliographie.

- Evenson D, Jost L, Marshall et al., *Hum. Reprod.*, **14**, 1039-49, 1999
- Evenson D., Jost L., Corzett M. & Balhorn R., *J. Androl.*, **21**, 73946, 2000
- Evenson D, Larson K & Jost L., *J. Androl.*, **23**, 25-43, 2002
- Fernandez J., Muriel L., Rivero M et al., *J. Androl.*, **24**, 59- 66, 2003
- Muriel L., Garrido N, Fernandez J. et al., *Fertil. Steril.*, 2005 (sous presse) Enciso Maria et al., *J. Androl.*, 2005 sous presse.

Tumeur à cellules de Leydig du testicule : résultat de la chirurgie sur la fertilité

**E. HUYGHE, R. MIEUSSET, M. DAUDIN, L. BUJAN,
P. PLANTE, P. THONNEAU**

*Equipe de Recherche en Fertilité Humaine EA 3694,
Service d'Urologie et d'Andrologie, Hôpital Paule de
Viguer, Toulouse*

Objectifs : Etudier la fertilité avant et après traitement des patients atteints de tumeur à cellules de Leydig du testicule.

Patients et Méthodes : 17 patients porteurs d'une tumeur à cellules de Leydig du testicule (15 tumeurs unilatérales et 2 bilatérales), ont fait l'objet d'une analyse rétrospective à partir de leur dossier urologique et spermologique, et ont été explorés du point de vue de la fertilité grâce à un questionnaire par courrier. Tous les patients ont répondu au questionnaire.

Résultats : 70% des patients qui avaient cherché à avoir un enfant après traitement (10/17) y étaient parvenus contre 46% avant traitement.

Le spermogramme réalisé avant chirurgie révélait une oligospermie sévère (numération des spermatozoïdes inférieure à 5 millions/mL) dans 5 cas (29,4%), et une asthénospermie sévère dans 8 cas (47%).

Conclusion : La population des hommes atteints de tumeur à cellules de Leydig du testicule est une population hypofertile avant traitement de la tumeur. L'ablation de la tumeur améliore cette situation mais 3 patients sur 10 restent infertiles, ce qui conduit à recommander des mesures de conservation de sperme dans cette population.

Expression des transcrits de la protéine de transition 1 (TNP1) et taux de grossesse en ICSI chez les hommes azoospermes

V. MITCHELL¹, K. STEGER², J.M. RIGOT³

*1Laboratoire de Spermologie et Histologie, Hôpital A. Calmette et Faculté de Médecine, CHRU Lille ; 2Clinique d'Urologie, Giessen, Allemagne ; 3Service d'Andrologie, hôpital A. Calmette, CHRU Lille
E-mail : v-mitchell@chru-lille.fr*

Des observations récentes montrent clairement une relation entre le niveau d'expression de la protamine 1 et le succès de l'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires dans l'azoospermie (Steger et al. 2003 ; Mitchell et al. 2005). En amont des protamines, les protéines de transition jouent un rôle important dans l'initiation de la condensation de la chromatine des spermatides (Meistrich et al. 2003). Les fonctions des protéines de transition sont jusqu'à présent assez peu définies, en particulier leurs relations potentielles avec la fertilisation restent à démontrer. L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'implication des transcrits de la protéine de transition 1 (TNP1) comme facteur pronostique pour le succès de l'ICSI dans une population d'hommes azoospermes.

Une étude rétrospective a été réalisée chez des hommes azoospermes chez lesquels des spermatozoïdes testiculaires ont été extraits et injectés au cours d'un programme d'ICSI. La technique d'hybridation *in situ* avec ribosonde TNP1 radioactive a permis de quantifier le niveau d'expression des transcrits TNP1 sur des coupes paraffine des tissus testiculaires (11 hommes azoospermes obstructifs à spermatogenèse normale, et 12 non-obstructifs avec hypospérmatogenèse). Les niveaux d'expression de TNP1 ont ensuite été comparés dans les 2 groupes et corrélés avec le taux de grossesse.

Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de relation statistique entre le niveau d'expression de TNP1 et l'obtention ou non d'une grossesse. Cependant, l'expression des transcrits TNP1 dans le groupe des hommes azoospermes non-obstructifs est diminuée par rapport aux hommes azoospermes obstructifs mais de manière non significative (p=0.06).

Au total, l'expression de la protéine de transition 1 dans les spermatides ne semble pas être un facteur pronostique pertinent pour le succès de l'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires chez les hommes azoospermes. Ces résultats suggèrent que la protéine de transition 1 est d'expression trop précoce dans les cellules germinales pour être prise en compte dans l'évaluation de la qualité de fécondance des spermatozoïdes testiculaires.

Steger et al. (2003) Mol Hum Reprod 9, 331-336.

Mitchell et al. (2005) Mol Hum Reprod 11, 373-379.

Meistrich et al. (2003) Chromosoma 111, 483-488.

Augmentation des taux d'aneuploïdies spermatozoïques chez les hommes oligozoospermiques

A.K. FAURE^{1,2}, G. FREROT¹, R. PELLETIER²,
C. DE ROBERTIS², I. AKNIN-SEIFER³, R. LEVY³,
C. JIMENEZ⁴, H. LEJEUNE⁵, P.F. RAY^{1,2},
S. HENNEBICQ^{1,2}, S. ROUSSEAU^{1,2}

1 Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble, 38 043 Grenoble

2 INSERM U309, Institut Albert Bonniot, 38706 Grenoble

3 Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital Nord, 42055 Saint Etienne

4 laboratoire de biologie de la reproduction, CHU de Dijon, 21 079 Dijon

5 Département de médecine de la reproduction, Hôpital Edouard Herriot, 69 437 Lyon

La technique d'ICSI, dans laquelle on micro-injecte un spermatozoïde directement dans le cytoplasme de l'ovocyte, a révolutionné la prise en charge des infertilités masculines sévères. Cependant, le succès de cette technique pose la question du risque de transmission d'une anomalie à la descendance, notamment d'ordre génétique. En effet, des anomalies du caryotype ou une microdélétion du chromosome Y peuvent être à l'origine du trouble de la spermatogenèse. Cependant, lorsque ces recherches se révèlent négatives, une anomalie touchant spécifiquement la lignée germinale et transmissible à la descendance ne peut être exclue.

Nous avons étudié les taux d'aneuploïdie dans les spermatozoïdes de patients atteints d'une infertilité sévère d'origine sécrétoire. Vingt-quatre patients présentant une atteinte sévère de la spermatogenèse (numération des spermatozoïdes inférieure à 5 millions par ml d'éjaculat) ont été inclus dans l'étude. Nous avons étudié par FISH la constitution chromosomique des spermatozoïdes de ces patients pour les chromosomes X, Y, 18, 13 et 21, et l'avons comparée à une population de 10 témoins fertiles.

Nous avons observé que la moitié des patients infertiles (12/24) présentent une augmentation des taux d'aneuploïdie spermatozoïde pour au moins un des chromosomes testés par rapport aux témoins fertiles. Sept d'entre eux (29,1%) sont porteurs d'une hyperhaploïdie touchant les chromosomes sexuels et huit (33,3%) présentent une augmentation des taux de disomie pour le chromosome 21.

Nos résultats montrent que les taux d'aneuploïdie spermatozoïde sont fréquemment élevés chez les hommes présentant une atteinte sévère de la spermatogenèse. Une analyse chromosomique des spermatozoïdes par FISH est donc recommandée avant toute prise en charge en ICSI de ces infertilités masculines d'origine sécrétoire, afin d'évaluer précisément le risque de transmission d'une anomalie chromosomique à la descendance.

Exploration nucléaire des gamètes des couples en échec d'implantation

F. VIALARD^{1,2}, I. HAMMOUD¹, M. ALBERT¹,
D. MOLINA-GOMES¹, C. SABBAGH¹, A. ESCALONA¹,
M. BERGERE¹, N. LEDÉE-BATAILLE¹, R. WAINER¹,
R. LOMBROSO¹, M. BAILLY¹, J. SELVA^{1,2}

1 Département de biologie de la reproduction, cytogénétique et gynécologie obstétrique, CHI Poissy St Germain, 78303 Poissy Cedex

2 INSERM U407, Faculté de Médecine Lyon Sud, 69924 Oullins Cedex

Introduction : L'échec d'implantation (plus de 10 embryons transférés sans grossesse) est dans de nombreux pays, reconnue comme une situation à risque chromosomique accru et comme une indication au diagnostic préimplantatoire. Notre objectif a été d'évaluer l'incidence de la fragmentation nucléaire et des aneuploïdies des gamètes des couples en échec d'implantation.

Populations étudiées : Nous avons étudié 3 groupes de couples : groupe 1 (n=11) couples « témoins » avec grossesse obtenue en FIV effectuée pour indication tubaire ou don d'ovocytes, groupe 2 (n=20) couples avec grossesse obtenue en FIV effectuée pour cause masculine ou idiopathique, groupe 3 (n=32) patients en échec d'implantation.

Méthodes : 1000 spermatozoïdes ont été analysés par FISH (chromosome X, Y et 18 *Abbott*) et 400 par méthode TUNEL (*Kit Roche*). Les ovocytes des patientes en échec d'implantation ont été analysés après perforation de la zone pellucide au laser *Zylos TK laser Hamilton*, puis biopsie du 1^{er} globule polaire et FISH avec le kit *Polar BodyTM PGT multicolour Abbott*.

Résultats : Les résultats ont montré une augmentation significative du taux de fragmentation nucléaire dans les groupes 2 (10,3% ; p<0,05) et 3 (8,7% ; p<0,005) par rapport au groupe 1 (4,1%). Il n'y avait pas de différence entre les groupes 2 et 3. Il existait une augmentation significative du taux d'aneuploïdie spermatozoïde dans les groupes 2 (1,6% ; p<0,0005) et 3 (2,1% ; p<0,001) par rapport au groupe 1 (0,6%). Dans le groupe 3, nous avons isolé 2 patients avec des taux très élevés d'aneuploïdies X, Y, 18 supérieurs à 5% (6,5% et 25%) et 8 patients avec des taux élevés situés entre 2 et 5%. Le taux d'anomalies du 1^{er} globule polaire (GP1) était de 35,4% sur les 127 GP1 analysés. Entre 0 et 12 ovocytes normaux ont été retrouvés par patiente. Pour 3 patientes plus de 2/3 des ovocytes étaient anormaux. Au total, parmi les couples en échec d'implantation 22% (5/22) n'avaient pas de risque chromosomique particulier, 68% (15/22) présentaient un taux d'aneuploïdie spermatozoïde ou ovocytaire élevé, 10% (2/22) présentaient à

la fois un taux d'aneuploïdie spermatique et ovocytaire élevé. Le taux de fécondation était de 60,6%, 2 patientes n'ont pas eu de transfert et 4 grossesses ont été obtenues sur les 25 cycles réalisés, soit un taux de grossesse à 16% par ponction et 17,4% par transfert.

Discussion et Conclusion : Nos résultats confirment, que le groupe de patients en échec d'implantation est hétérogène et que les anomalies chromosomiques gamétiques sont une composante importante pour certains d'entre eux. Le conseil génétique, indispensable après ces examens, permettra de proposer une stratégie au couple concernant la prise en charge en AMP et le suivi de la grossesse éventuelle. Le rôle de la fragmentation nucléaire dans les échecs d'implantation reste à confirmer.

POSTER P40

Etude de l'influence de la congélation sur la qualité nucléaire des spermatozoïdes de patients oligospermiques modérés, sévères, voire cryptozoospermiques

**C. SABBAGH¹, M. ALBERT¹, F. VIALARD^{1,2},
I. HAMMOUD¹, M. BERGERE¹, V. DELABROYE¹,
M. BAILLY¹, R. LOMBOSO¹, J. SELVA^{1,2}**

*1 Département de biologie de la reproduction, cytogénétique et de gynécologie obstétrique, CHI Poissy Saint Germain, 10 rue du champ Gaillard, 78303 Poissy cedex.
2 Unité INSERM U407, Faculté de Médecine Lyon Sud, 69924 Oullins Cedex*

Introduction : La cryoconservation de spermatozoïdes est une technique couramment utilisée dans diverses indications telles que le don de sperme, l'autoconservations, mais aussi dans les cas d'oligospermie sévère en AMP, dans la crainte d'aggravation ultérieure des paramètres spermatiques. L'objectif de l'étude est de savoir si, dans ces cas, le procédé de congélation-décongélation est délétère sur la qualité nucléaire des spermatozoïdes évaluée par la fragmentation de l'ADN (technique TUNEL).

Matériels et Méthodes : 72 patients ont été inclus dans l'étude. Ils ont été répartis en 4 groupes : groupe 1 : témoin (caractéristiques spermatiques normales selon la classification OMS (n=20)); groupe 2 : patients normospermiques mais asthénos et/ou tératospermiques (n=24) ; groupe 3 : patients oligospermiques modérés (n=16) ; groupe 4 : patients oligospermiques sévères (n=12). Une évaluation des paramètres spermatiques conventionnels et de la fragmentation de l'ADN (technique TUNEL, microscopie à fluorescence, lecture de 400 spermatozoïdes sur lame) est réalisée sur le sperme entier et sur la fraction congelée. Une évaluation des taux de fragmentation a également été réalisée sur la fraction migrée avant congélation pour 20

patients (n=10 dans le groupe 1 ; n=10 dans le groupe 2).

Résultats : Après congélation, on observe une diminution de la mobilité de 40% dans le groupe 1 ; 42% dans le groupe 2 ; 52% dans le groupe 3 ; 51% dans le groupe 4. La vitalité, quant à elle, est diminuée de 20% dans le groupe 1, 38% dans le groupe 2, 35% dans le groupe 3, et elle n'a pu être déterminée par la technique conventionnelle dans le groupe 4.

Après cryoconservation, le taux de fragmentation n'est pas augmenté dans la population témoin (3,1% vs 5,1%) alors qu'il augmente significativement dans les groupes 2 (10,5% vs 6,8%), 3 (11,7% vs 9,5%) et 4 (15,2% vs 8,7%). On remarque par ailleurs que les taux de fragmentation avant et après congélation sont corrélés à chacun des paramètres spermatiques initiaux. La migration améliore les taux de fragmentation dans les 2 groupes étudiés (2,5% vs 5,4% dans le groupe 1 ; 1,9% vs 4,7% dans le groupe 2).

Conclusion : La congélation ne présente pas d'effet délétère sur la qualité nucléaire des spermatozoïdes à paramètres normaux, qui représentent les dons de sperme et la plupart des prélèvements autoconservés, mais ceci semble être principalement dû à la migration qui améliore les taux de fragmentation. A l'inverse, la congélation altère la qualité nucléaire des spermatozoïdes provenant de prélèvements à caractéristiques perturbées malgré l'amélioration apportée par la migration. Cependant, cet effet reste modéré et ne semble pas préjuger de l'issue des tentatives d'ICSI. Enfin, les effets potentiellement délétères de la congélation ne se limitent pas uniquement au niveau de la qualité nucléaire, mais aussi notamment au niveau ultrastructural et membranaire, paramètres devant être explorés par d'autres tests.

POSTER P41

Prise en charge en ICSI d'un couple dont l'homme est porteur d'une agénésie vésiculo-déférentielle associée aux mutations du gène CFTR [R74W ; D1270N]

**F. BRUGNON¹, I. CREVEAUX², A. KITZIS³,
G. GRIZARD¹, L. JANNY¹**

1 CECOS, Biologi de la Reproduction, CHU, Clermont-Ferrand, France ; 2 Laboratoire de Biologie moléculaire, CHU, Clermont-Ferrand, France ; 3 Laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire, CHU, Poitiers, France, fbrugnon@chu-clermontferrand.fr

Introduction : La nature et la diversité des différentes associations possibles des nombreuses mutations du gène CFTR peuvent rendre complexe le conseil génétique avant une prise en charge en assistance médicale à la procréa-

tion (AMP) des couples dont l'homme est porteur d'une agénésie bilatérale vésiculo-déférentielle (ABCD).

Cas clinique : Lors d'un bilan d'azoospermie, le diagnostic d'ABCD est posé chez M. B., âgé de 31 ans. Ce patient ne présente pas d'antécédents particuliers. Il ne se plaint d'aucune symptomatologie respiratoire. Aucune des 32 mutations du gène CFTR testées par les techniques utilisées (PCR-restriction et kit OLA v2, Applied Biosystems) n'a été détectée. L'étude de l'intron 8 révèle une homozygotie 7T/7T. Une étude complète du gène par DGGE et séquençage a montré que M. B. est porteur de 3 mutations : R74W, D1270N, et P841R. L'analyse familiale a démontré que la mère de M. B. est hétérozygote pour l'allèle complexe [R74W ; D1270N], et que le père de M. B. a transmis la mutation P841R à son fils. Mme B., conjointe de M. B., ne présente pas d'antécédents particuliers. Chez elle, la recherche des mutations du gène CFTR a mis en évidence son hétérozygotie pour la mutation F508Del. Après conseil génétique, le couple a refusé une prise en charge en Diagnostic Pré-Implantatoire (DPI) en raison de l'éloignement géographique des centres agréés pour cette technique en France et a opté pour un diagnostic prénatal (DPN). La quatrième tentative d'ICSI avec spermatozoïdes épididymaires autoconservés a permis l'obtention d'une grossesse bichoriale biamniotique. Le DPN par étude du liquide amniotique effectué à 24 semaines d'aménorrhée a révélé que les 2 fœtus masculins étaient porteurs de la mutation F508Del transmise par leur mère et de l'allèle complexe [R74W ; D1270N] transmis par leur père. Les jumeaux Matis et Axel B. naissent à 36 semaines d'aménorrhée sans complications obstétricales. Un des garçons (Axel) a subi une intervention chirurgicale à une semaine de vie pour sténose sigmoïdienne révélée par un retard d'évacuation méconiale. Le tissu réséqué analysé en anatomopathologie n'a pas montré de signes morphologiques pouvant orienter vers le diagnostic de mucoviscidose d'expression digestive. Les taux de chlore mesurés par les tests de la sueur pour Matis étaient de 45mEq/L et de 13,7mEq/L pour Axel. Le dosage de la trypsine immunoréactive était normal pour Matis B et douteux pour Axel B. Les deux enfants, aujourd'hui âgés de 30 mois sont actuellement suivis tous les trimestres par le service de pédiatrie du CHU de Clermont Ferrand. Ils se portent bien.

Discussion : Ce cas clinique nous montre bien les limites et la complexité d'un conseil génétique. A notre connaissance, la mutation P841R, portée par M. B n'a jamais été décrite dans la littérature. Ceci rendait donc difficile l'analyse des conséquences possibles de l'association des différentes mutations du gène CFTR présentes chez M. et Mme B. Le DPN a été réalisé tardivement malgré le conseil génétique et l'information donnée au gynécologue extérieur au CHU suivant cette grossesse. Etant donnée l'association des mutations portées par les deux enfants, un suivi médical régulier est préconisé pour un dépistage et prise en charge optimale d'une éventuelle expression de symptomatologie de mucoviscidose.

Conclusion : Ce dossier montre l'importance du dialogue entre praticiens de l'AMP, andrologues, gynécologues obs-

tétriciens, généticiens et pédiatres pour une prise en charge optimale de tels patients. L'obligation d'un suivi pédiatrique communiqué à l'agence de Biomédecine prévu par la loi relative à la loi de bioéthique du 6 août 2004 apparaît comme une mesure bien fondée.

POSTER P42

Influence de la congélation sur le taux de fragmentation nucléaire des spermatozoïdes de patients atteints de pathologie virale VIH/VHC et pris en charge en assistance médicale à la procréation (AMP)

**C. FRANAIS¹, N. ROUGIER¹, C. SABBAGH³,
F. VIALARD^{3,4}, A. DEVAUX¹, S. DARMON¹,
M. NAOURI², J.P. AYEL², A. HAZOUT², C. TATIN¹,
G. FELDMANN¹, J. SELVA^{1,2,4}**

1 Laboratoire d'histologie/embryologie, biologie de la reproduction et *2* Maternité Aline de Crépi, Hôpital Bichat/Claude Bernard, 75018 Paris. *3* Laboratoire de biologie de la reproduction et de cytogénétique CHI Poissy, Saint-Germain-en-Laye, 78003 Poissy Cedex. *4* INSERM (U 407) Faculté de médecine Lyon Sud 69924 Oullins Cedex

Introduction : La prise en charge en AMP des patients à risque viral nécessite l'auto-conservation du sperme chez les patients porteurs des virus VIH (virus de l'immunodéficience humaine) ou VHC (virus de l'hépatite C). La fragmentation nucléaire des spermatozoïdes avant et après congélation a été peu étudiée chez ces patients sujets à des phénomènes inflammatoires. Notre objectif a été d'évaluer ce taux avant et après migration, puis après décongélation chez les patients à risque viral identifié et de le comparer à celui d'une population témoin non infectée.

Patients et méthodes : Nous avons étudié 3 groupes de patients : groupe 1, 26 patients non infectés; groupe 2, 18 patients porteurs du virus VIH, traités par anti-rétroviraux et ayant recours à l'AMP en raison du risque de contamination de leur conjointe ; groupe 3, 11 patients porteurs du virus VHC. La fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes a été étudiée sur les échantillons de sperme frais, puis après migration et enfin après décongélation par la technique TUNEL (*In Situ* Cell Death Detection Kit, Roche®) réalisée sur lame avec lecture de 400 spermatozoïdes.

Résultats : Les taux de fragmentation obtenus étaient voisins dans les groupes 1, 2, et 3 soit respectivement de 3,90%±0,43, 6,46%±1,57, et 3,61%±2,19 pour le sperme frais (groupe 2 à la limite de la significativité : p=0,059). Après migration, les taux étaient significativement plus bas soit respectivement 1,99%±0,32, 2,71%±1,20 et

1,75%±1,37, (p <0,0001) ; ces pourcentages s'élevaient après décongélation à des taux non différents du sperme frais, soit respectivement 3,39%±1,51, 5,59%±1,42 et 4,79%±4,02. La migration sur gradient de Puresperm® améliorait la mobilité progressive par rapport au sperme frais (delta = 29,60%±12,84) et diminuait le taux de fragmentation nucléaire; par contre après décongélation, la mobilité diminuait par rapport au sperme frais (delta = -12,60%±14,51) et au sperme migré (delta = -42,36%±16,65) et le taux de fragmentation remontait à un niveau sensiblement identique au sperme frais. Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation significative entre nos résultats et les caractéristiques spermatiques, mais la population étudiée comportait essentiellement des spermatozoïdes à paramètres normaux ou sub-normaux et très peu de spermatozoïdes sévèrement altérés.

Conclusion : La congélation du sperme ne modifie pas de manière importante le taux de fragmentation nucléaire des spermatozoïdes de même que les infections virales soit VIH en cours de traitement ou VHC en elle même. Il serait utile de préciser et confirmer ce résultat avec un autre test de l'apoptose complémentaire du TUNEL comme l'Annexine V, marqueur plus précoce d'apoptose.

POSTER P43

Globozoospermie familiale: à propos de deux frères infertiles

C. CHÂARI¹, N. CHAKROUN¹, N. ABID¹, A. MALLEK²,
W. BEN ROMDHANE¹, L. HAJ KAJEM, I. KAMOUN, C.
KALLEL, N. MHIRI², T. REBAI¹, A. BAHLOUL²,
L. KESKES¹

*1 Laboratoire d'Histologie Embryologie, faculté de
Médecine de Sfax*

2 Service d'urologie Habib Bourguiba, Sfax

Introduction : La globozoospermie (spermatozoïdes à tête ronde et sans acrosome) est une affection stérilisante très rare avec des taux d'échec de fécondation in vitro très importants après ICSI (injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes). Elle est exceptionnellement rapportée dans le cadre d'une atteinte familiale.

Objectif : Rapporter une observation de globozoospermie familiale et donner une revue générale concernant cette pathologie.

Matériel et méthodes : Deux frères ont consulté en 2002 dans le cadre d'une exploration d'une infertilité du couple. Après recueil du sperme, un spermogramme a été réalisé selon les critères décrits par l'OMS (1999). L'observation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (spermocytogramme) a été faite en microscopie optique sur un

frottis de sperme coloré au Schoor. La méthode de David a été adoptée pour la classification des anomalies morphologiques.

Résultats : Tous les paramètres du spermogramme étudiés ont été normaux dans les deux cas. L'analyse morphologique des spermatozoïdes chez les deux frères a montré une atteinte monomorphe des têtes spermatiques à type de microcéphalie avec absence totale de l'acrosome (globozoospermie). Par ailleurs, le caryotype était normal et la recherche des microdélétions du chromosome Y était négative.

Discussion : La globozoospermie est une anomalie très rare du sperme. Son origine génétique a été fortement suggérée dans plusieurs publications. Des études plus poussées devraient être réalisées pour comprendre les bases moléculaires de la globozoospermie et expliquer les difficultés d'obtention de grossesses mêmes après une ICSI.

POSTER P44

Etude de l'appariement méiotique chez deux hommes porteurs d'un Y(q) dicentrique en mosaïque par analyse des complexes synaptonémaux au stade pachytène

R. DJLELATI, B. SCHUBERT, A. TCHIRKOV, C. GOUMY,
F. BRUGNON, G. GRIZARD, L. JANNY, P. VAGO

Introduction : Les anomalies chromosomiques constitutionnelles sont fréquemment associées à des anomalies méiotiques responsables de troubles de la fertilité.

Le chromosome Y dicentrique est l'anomalie de structure des gonosomes la plus fréquente. Elle est le plus souvent observée en mosaïque (45, X/46, X, dicY).

Nous rapportons ici les résultats de l'observation en microscopie électronique des complexes synaptonémaux de la vésicule sexuelle au stade pachytène de la méiose, chez 2 patients porteurs d'un chromosome Y dicentrique en mosaïque.

Matériel et méthodes : Les 2 patients, âgés de 31 ans, ont une azoospermie révélée à partir de plusieurs spermogrammes. Dans le cadre d'une prise en charge en PMA, des biopsies testiculaires ont été réalisées pour rechercher des spermatozoïdes.

Une étude histologique du tissu testiculaire et une étude des régions AZF du chromosome Y par PCR ont été effectuées.

L'observation en microscopie électronique des complexes synaptonémaux a été réalisée après étalement d'un fragment de biopsie testiculaire selon la technique de microspreading et coloration au nitrate d'argent. Les complexes

synaptonémaux, ainsi visibles au sein des spermatocytes, sont des complexes protéiques qui interviennent dans l'appariement des chromosomes ; ils permettent la formation des bivalents et de la vésicule sexuelle au stade pachytène de la première division méiotique.

Résultats : L'étude histologique de l'épithélium séminifère montre, chez les 2 patients, un arrêt de la spermatogenèse au stade pachytène.

Une délétion des régions AZFb et AZFc a été mise en évidence par PCR chez ces 2 patients.

L'observation des spermatocytes au stade pachytène a montré 3 type de figure d'appariement du bivalent sexuel :

- 1- absence de bivalent (complexes synaptonémaux au niveau du seul chromosome X)
- 2- bivalents non appariés entre l'X et le Y
- 3- bivalents avec anomalies au niveau des synapsis entre l'X et l'Y et aspect pelotonné du Y

	patient 1	patient 2
Nombre de cellules étudiées	65	30
Figure de type 1 (X0)	39	11
Figure de type 2 (X et dicY non appariés)	15	11
Figure de type 3 (X et dicY dysappariés)	11	8

Aucune image de vésicule sexuelle n'a été observée.

Conclusion : L'étude, par microscopie électronique à transmission, des complexes synaptonémaux au stade pachytène chez deux hommes porteurs d'un chromosome Y dicentrique en mosaïque montre l'absence de bivalent sexuel ou des appariements atypiques à l'origine d'un blocage de la spermatogenèse à ce stade. Le défaut d'appariement du bivalent sexuel pourrait être directement lié à la perte d'AZFb, d'AZFc et/ou de PAR2.

POSTER P45

La varicocèle de l'adolescent : faut-il opérer ?

H. FAKHFAKH, A. MALLEK, S. KETATA, I. BEN ABDALLAH, H. KETATA, A. SAHNOUN, A. BAHLOUL, M.N. MHIRI

Service d'urologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Introduction : la varicocèle est une affection facile à diagnostiquer et à traiter. La relation varicocèle hypofertilité

soulève le problème de la conduite thérapeutique.

Matériels et méthodes : à travers une étude rétrospective portant sur 19 adolescents colligés sur une période de 9 ans nous avons mené une étude comparative entre deux groupes de patients opérés (groupes I) et non opérés (groupes II). Le groupe I comporte 11 patients. L'âge moyen était de 16 ans 5 mois. Le groupe II comporte 8 patients et l'âge moyen était de 16 ans 2 mois. Les circonstances découvertes étaient dominées par les douleurs testiculaires (5 cas), elle était fortuite dans 8 cas. La varicocèle était bilatérale chez 6 patients du groupe I et 2 patients du groupe II. Nos patients ont été suivit par un spermogramme tous les 6 mois puis tous les ans. Le recul moyen était de 6 ans 1 mois dans le groupe I et 5 ans 5 mois dans le groupe II.

Résultats : dans le groupe I une amélioration du spermogramme a été observée dans tous les cas. Dans le groupe II les anomalies étaient persistantes.

Conclusion : la varicocèle pose encore des problèmes de prise en charge. A la lumière de ce travail, la cure de la varicocèle chez l'adolescent permet de prévenir une hypofertilité.

POSTER P46

Le testicule cryptorchide vu après la puberté

H. FAKHFAKH, A. MALLEK, S. KETATA, H. JALLOULI, A. BOUHLEL, H. KETATA, A. SAHNOUN, A. BAHLOUL, M.N. MHIRI

Service d'urologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Introduction : la cryptorchidie est une anomalie congénitale fréquente le plus souvent diagnostiquée et traitée pendant l'enfance. Cependant, son incidence chez l'adulte demeure assez fréquente et continue à poser des problèmes d'attitude thérapeutique.

Matériels et méthodes : il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur 23 ans (1983-2005) qui porte sur 258 cas de cryptorchidie dont l'âge est supérieur à 15 ans.

Résultats : L'âge moyen des patients était de 24 ans (16-63 ans). Les circonstances de découvertes étaient : un examen systématique lors d'un recrutement militaire (48%), une enquête pré-nuptiale (20%) et un bilan de stérilité (17%). La cryptorchidie était unilatérale dans 78,7% des cas. Le testicule était palpable en position inguinale dans 75% des cas. Le traitement a consisté à un abaissement testiculaire avec orchidopexie dans 80% des cas. L'évolution était marquée par une amélioration de la fertilité (12,5%), une atrophie testiculaire secondaire (2,5%) et une cancérisation ultérieure (1,16%).

Conclusion : L'abaissement testiculaire tardif pourrait entraîner une amélioration de la spermatogenèse et permettrait une surveillance clinique plus aisée à la recherche d'une éventuelle cancérisation. Le meilleur moyen reste préventif pour un diagnostic et un abaissement testiculaire à un âge précoce afin de prévenir les deux écueils majeurs : infertilité et cancérisation.

POSTER P47

Mariage non consommé : à propos de 34 observations

**M. MARZOUK, A. MALLEK, S. KETATA, A. CHOUKET,
S. MAMOUDI, M.N. MHIRI**

Service d'urologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Les auteurs rapportent une série rétrospective de 34 observations de mariage non consommé colligés, durant une période de 3 ans (2001-2003).

L'âge moyen des maris était de 34 ans et celui des femmes de 27 ans. L'ancienneté du mariage varie entre 2 jours et 7 ans. Le problème relaté à une dysfonction érectile dans 41 % des cas, un vaginisme dans 38% des cas, une éjaculation très précoce dans 15% des cas et dans 6 cas il s'agit de troubles sexuels associés masculin et féminin. Tous les cas de vaginisme est 82% des étiologies masculines sont d'ordre psychogènes avec manque d'éducation sexuelle. La prise en charge du couple est basée sur la sexothérapie associée au traitement pharmacologique et le recours en cas d'échec aux injections intra caverneuses de drogues vasoactives. L'évolution était marquée par la consommation du mariage dans 2/3 des cas.

La prévention reste le meilleur moyen pour une éducation sexuelle adapté à notre contexte socioculturelle dès l'enfance.

POSTER P48

Varicocèle et fertilité

**H. FAKHFAKH, A. MALLEK, S. KETATA, M. GASSARA,
H. KETATA, A. SAHNOUN, S. BEN AMAR, A.
BAHLOUL, M.N. MHIRI**

Service d'urologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

But : étudier les modifications engendrées par le traitement chirurgicales de la varicocèle sur les caractéristiques du spermogramme.

Matériels et méthodes : il s'agit d'une étude rétrospective sur 47 patients opérés en 2 ans. L'évolution était appréciée sur les données de l'examen clinique et du spermogramme réalisé à 3, 6 et 9 mois de la chirurgie.

Résultats : l'âge moyen des patients était de 32 ans (19-50). L'indication opératoire était une stérilité (60%) et symptomatologie fonctionnelle (40%). La varicocèle était bilatérale dans 25,5%, unilatérale gauche dans 72,5% des cas et unilatérale droite dans 2% des cas. L'écho doppler a conclu à une varicocèle infra clinique (61,7%), grade I (25%), grade II (8,5%) et grade III (4,5%). L'évolution après chirurgie était marquée par une amélioration de la mobilité des spermatozoïdes. En effet, 66% des patients qui avait une asthénospermie, celle-ci s'est réduite à 53% neuf mois après le traitement. De même 66% des patients qui avait une oligospermie préopératoire, ce taux s'est réduit à 31,9% trois mois après le traitement. Par ailleurs, la morphologie des spermatozoïdes n'a pas été améliorée de façon significative.

Conclusion : en cas d'infertilité, le traitement d'une varicocèle permet d'améliorer les paramètres du spermogramme. Cela doit inciter à proposer le traitement surtout si la varicocèle représente le seul élément clinique étiologique de l'infertilité.

POSTER P49

Fréquence de la pyospermie et son retentissement sur les paramètres spermatiques chez des sujets infertiles en Tunisie

**N. ABID¹, N. CHAKROUN¹, C. CHAARI¹, A. MALLEK²,
N. MHIRI², T. REBAI¹, A. BAHLOUL²,
L. AMMAR-KESKES¹.**

¹ *Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax,*

² *Service d'Urologie, Hôpital Habib Bourguiba, Sfax,
Tunisie*

Introduction : Il existe de nombreuses controverses concernant la relation entre la présence de leucocytes dans le sperme et la fertilité masculine. Dans le but d'évaluer l'effet de la pyospermie (taux élevé de leucocytes dans le sperme) sur les paramètres spermatiques, nous avons réalisé une étude dans laquelle, nous avons déterminé la fréquence de la pyospermie et nous avons analysé les paramètres spermatiques en fonction du taux de leucocytes.

Matériel et méthodes : Notre travail rétrospectif a porté sur 1329 spermogrammes réalisés entre 1995 et 2004 au laboratoire d'Histologie de la Faculté de Médecine de Sfax, chez des patients consultant pour infertilité du couple. Les spermogrammes étaient réalisés selon la méthode standardisée de l'OMS, avec une analyse des paramètres habituels

(volume de l'éjaculat, pH, mobilité, vitalité, numération, morphologie et leucospermie). Nous avons distingué trois groupes d'étude en fonction de la concentration des leucocytes: groupe G1 (n=130) avec un taux de leucocytes ≥ 1 million/ml de sperme (pyospermie), groupe G2 (n=82) avec un taux de leucocytes entre 500000 et 1 million/ml et un groupe G3 (n=569) avec un taux de leucocytes < 50000 /ml. Pour ces trois groupes, nous avons déterminé les valeurs moyennes des différents paramètres spermatozoïques et nous avons comparé ces valeurs, utilisant le test de Student; nous avons déterminé les fréquences des anomalies spermatozoïques (asthénospermie, nécrospermie, oligospermie et tératospermie) et nous les avons comparé à l'aide du test Chi-deux. Le seuil de signification était retenu pour les valeurs de $p < 0,05$.

Résultats : La prévalence globale de la pyospermie dans notre étude était de 9,78%; la mobilité moyenne (% de spermatozoïdes mobiles progressifs) était de 29,73% (Nle $\geq 50\%$); la vitalité moyenne était de 64,24% (Nle $\geq 75\%$); la moyenne des formes normales était de 27,47% (Nle $\geq 30\%$); la numération était de 65,69 millions/ml (Nle ≥ 20 millions/ml). En comparant les valeurs moyennes entre les trois groupes d'étude, nous avons trouvé que la mobilité dans G1 (30,23%) était significativement plus élevée que celle dans G2 (27,31%) ($p < 0,05$), mais elle n'était pas différente de celle de G3 (30,68%) ; de même, la fréquence de l'asthénospermie dans G2 (95,12%) était significativement plus élevée que dans G1 (85,38%) et G3 (86,46%) ($p < 0,05$). Par ailleurs, la nécrospermie était significativement plus élevée dans G1 (69,23%) par rapport à G3 (59,75%) ($p < 0,05$), mais la différence n'était pas significative entre G1 et G2 (64,63%). Aucune différence significative n'a été trouvée entre G1 et G3 pour les fréquences de la tératospermie et l'oligospermie et pour les valeurs moyennes de la morphologie et de la numération des spermatozoïdes.

Discussion : Il ressort de notre étude que la prévalence de la pyospermie trouvée chez l'homme infertile de la région de Sfax, est proche de celle rapportée dans la littérature (10 à 20%) (1, 2, 3) et que cette anomalie du sperme exerce des effets variables sur les autres paramètres spermatozoïques. En effet, alors que la pyospermie était associée à un taux élevé de nécrospermie, le taux de l'asthénospermie n'était élevé que pour les valeurs de leucospermie comprises entre 500000 et 1 million/ml (G2) ; il semble même que lorsque la leucospermie dépasse 1 million/ml (pyospermie), l'effet s'inverse avec amélioration de la mobilité et baisse de la fréquence de l'asthénospermie (30,23% vs 30,68% pour la mobilité et 85,38% vs 86,46% pour l'asthénospermie dans G1 et G3, respectivement). Dans une étude précédente (4), nous avons rapporté un taux plus élevé de l'oligospermie dans un groupe pyospermique (n=49) par rapport à un groupe de patients sans pyospermie (leucocytes < 50000 /ml, n=414) et nous avons suggéré que la pyospermie altérait la perméabilité des voies génitales par la réaction inflammatoire qu'elle engendrait. Dans cette présente étude, cette hypothèse n'a pas été confirmée, puisque l'oligospermie, bien que plus fréquente dans G1 que dans G3 (37,69% et 33,21%, respectivement), la différence n'était

pas significative. Il semble donc que l'effet de la pyospermie sur la qualité du sperme dépend de facteurs associés, comme la présence de germe pathogènes, de stress oxydatif ou encore de facteurs liés à l'environnement et au mode de vie.

Références :

1. R. Sharma, F.F. Pasqualotto, D.R. Nelson, et al. Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic, *J Androl* **22** (2001), pp. 575–583.
2. J.G. Alvarez, R.K. Sharma, M. Ollero, et al. Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay, *Fertil Steril* **78** (2002), pp. 319–329.
3. R.A. Saleh, A. Agarwal, E. Kandirali, et al.. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human sperm, *Fertil Steril* **78** (2002), pp. 1215–1224.
4. L.Ammar-keskes, N.Chakroun-feki, F.Bouزيد et al. Prévalence de la pyospermie et retentissement sur la qualité du sperme chez les hommes infertiles, *Andrologie* (1999) ,9, n°4 , 472-480.