

Journée scientifique de la SALF : le testicule en devenir

A SALF scientific day: the testicle and beyond

© SALF et Springer-Verlag France 2011

Une journée scientifique a été organisée par la SALF et l'université Paris-Diderot le 2 décembre 2011 sur la thématique intitulée « Le testicule en devenir ». Les présentations suivantes ont été faites, dont vous trouverez un résumé dans les pages qui suivent.

Le testicule avant la puberté

Génétique de la mise en place du testicule	M.-C. Chaboissier (Nice)
Le testicule fœtal humain	V. Rouiller Fabre (Paris)
Du testicule infantile au testicule pubère	N. Rives (Rouen)

Bilan de la formation testiculaire

La cellule de Sertoli	F. Guillou (Nouzilly)
Anomalies du développement et testicule	M. Fellous (Paris)

Conférence : invité d'honneur

Spermatogonies souches	D.G. de Rooij (Pays-Bas)
------------------------	--------------------------

Cryptorchidie

Physiopathologie des testicules non descendus	N. Kalfa (Montpellier)
Cryptorchidies acquises : état des lieux	E. Dobremez (Bordeaux)
Cryptorchidies et spermatogenèse	J.-M. Rigot (Lille)

Investigation du développement testiculaire

Facteurs de risque de la cryptorchidie, de l'hypospadias et du micropénis	L. Gaspari, C. Sultan (Montpellier)
Protéomique et testicule	C. Pineau (Rennes)

Génétique de la mise en place du testicule

M.-C. Chaboissier^{1,2}

1. Inserm U636, F-06108 Nice, France

2. Laboratoire de génétique du développement normal et pathologique, université de Nice–Sophia-Antipolis, F-06108 Nice, France

La détermination du sexe dépend de deux voies génétiques, la voie SRY/SOX9 qui permet le développement testiculaire et en conséquence tout le développement mâle et la voie de signalisation RSPO1/WNT4/b-catenin qui favorise la différenciation ovarienne [1]. Au niveau moléculaire, le gène *SRY* localisé sur le chromosome Y joue le rôle d'interrupteur. Le rôle principal de *SRY* est d'induire l'activation du facteur de transcription *SOX9* [2].

Les mutations affectant l'expression de *SRY* ou *SOX9* induisent des inversions de sexe (femmes XY). Chez la souris, les mutants XY *Sox9cKO* sont des femelles fertiles bien qu'hypofertiles. Ces modèles de perte-de-fonction de *Sox9* ont permis de montrer que *Sox9* est nécessaire à la différenciation des cellules de Sertoli [3,4], cellules de support et nourricières de la spermatogenèse. De plus, ces cellules produisent de nombreux signaux moléculaires qui contribuent au développement du testicule [5].

Récemment, nous avons observé que l'action synergique de RSPO1, un activateur de la voie de signalisation WNT/b-catenin, et WNT4 joue également un rôle masculinisant en amont de *Sry*. En effet, la délétion de ces deux facteurs conduit à un taux d'expression faible de *Sry* et *Sox9* et le développement d'un testicule hypoplastique. Ainsi, l'expression conjointe de WNT4 et RSPO1 contribue à l'expression suffisante de *SRY* pour initier le développement testiculaire.

Cependant, la masculinisation et le développement testiculaire peuvent également avoir lieu en l'absence de *SRY*. Chez l'homme, les mutations de RSPO1, un activateur de la voie de signalisation WNT/b-catenin, sont responsables d'anomalies cutanées et d'inversions de sexe (hommes XX) [6]. Chez la souris, l'inversion de sexe de la gonade XX *Rspo1KO* apparaît aux alentours de la naissance avec

la différenciation des cellules de Sertoli [7]. Cela montre que RSPO1 et la voie de signalisation WNT/b-catenin sont nécessaires à la différenciation ovarienne.

Ainsi, RSPO1 (et WNT4) sont tout d'abord deux facteurs masculinisants, puis deviennent deux facteurs féminisants dont l'action est réprimée par les facteurs SRY/SOX9 dans la gonade XY. Plus récemment, nous nous sommes intéressés à l'antagonisme entre les voies mâle et femelle, en générant le double mutant *Rspo1KO* et *Sox9cKO*. Les premiers résultats seront présentés durant cet exposé.

Références

1. Matson CK, Murphy MW, Sarver AL, et al (2011) DMRT1 prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis. *Nature* 476:101–4
2. Sekido R, Lovell-Badge R (2008) Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. *Nature* 453:930–4
3. Chaboissier MC, Kobayashi A, Vidal VI, et al (2004) Functional analysis of Sox8 and Sox9 during sex determination in the mouse. *Development* 131:1891–901
4. Lavery R, Lardenois A, Ranc-Jianmotamedi F, et al (2011) XY Sox9 embryonic loss-of-function mouse mutants show complete sex reversal and produce partially fertile XY oocytes. *Dev Biol* 354:111–22
5. Yao HH, Whoriskey W, Capel B (2002) Desert Hedgehog/Patched 1 signaling specifies fetal Leydig cell fate in testis organogenesis. *Genes Dev* 16:1433–40
6. Parma P, Radi O, Vidal V, et al (2006) R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. *Nat Genet* 38:1304–9
7. Chassot AA, Ranc F, Gregoire EP, et al (2008) Activation of beta-catenin signaling by Rspo1 controls differentiation of the mammalian ovary. *Hum Mol Genet* 17:1264–77

Le testicule fœtal humain

V. Rouiller-Fabre

Laboratoire de développement des gonades (LDG),
Inserm U967/CEA/université Paris-Diderot,
institut de radiobiologie cellulaire et moléculaire (IRCM),
CEA Fontenay-aux-Roses, 18, route du Panorama,
F-92265 Fontenay-aux-Roses cedex, France

Le testicule assure deux grandes fonctions : la production des cellules sexuelles mâles et la production des stéroïdes sexuels. Ces deux fonctions s'établissent durant la vie fœtale, et cette ontogenèse est fondamentale puisqu'elle conditionne la fertilité de l'individu adulte et la masculinisation des organes génitaux. Notre laboratoire s'intéresse depuis de nombreuses années à l'ontogenèse ainsi qu'à la régulation de ces deux fonctions. Depuis 2003, nous avons développé une collaboration avec le service de gynécologie obstétrique du Pr R. Frydman de l'hôpital A.-Béclère, ce qui nous a permis d'acquérir une meilleure connaissance du développement du

testicule fœtal humain [1]. En utilisant le modèle de culture organotypique, mis au point dans notre laboratoire [2], nous nous sommes intéressés aux perturbations que peuvent subir les deux fonctions testiculaires. Cette étude est née dans un contexte où les anomalies de la fonction reproductrice masculine sont en constante augmentation tout comme la concentration des polluants, notamment les perturbateurs endocriniens dans l'environnement [3]. Dans cette étude, nous avons recherché les effets de différents perturbateurs chimiques sur le développement du testicule fœtal humain [4–6]. La comparaison avec le modèle rat et souris dans les mêmes conditions expérimentales nous a permis de montrer que la gonade fœtale humaine est une cible particulièrement sensible aux polluants environnementaux.

Références

1. Rouiller-Fabre V, Muczynski V, Lambrot R, et al (2009) Ontogenesis of testicular function in humans. *Folia Histochem Cytobiol* 47:S19–S24
2. Lambrot R, Coffigny H, Pairault C, et al (2006) Use of organ culture to study the human fetal testis development: effect of retinoic acid. *J Clin Endocrinol Metab* 91:2696–703
3. Habert R, Muczynski V, Lehraiki A, et al (2009) Adverse effects of endocrine disruptors on the foetal testis development: focus on the phthalates. *Folia Histochem Cytobiol* 47:S67–S74
4. Lambrot R, Muczynski V, Lecureuil C, et al (2009) Phthalates impair germ cell development in the human fetal testis in vitro without change in testosterone production. *Environ Health Perspect* 117:32–7
5. Angenard G, Muczynski V, Coffigny H, et al (2010) Cadmium increases human fetal germ cell apoptosis. *Environ Health Perspect* 118:331–7
6. Angenard G, Muczynski V, Coffigny H, et al (2010) In vitro effects of uranium on human fetal germ cells. *Reprod Toxicol* 31:470–6

Du testicule infantile au testicule pubère

N. Rives

Laboratoire de biologie de la reproduction-Cecos,
CHU-hôpitaux de Rouen, 1, rue de Germont,
F-76031 Rouen, France

Le testicule est le siège de multiples étapes de maturation depuis la vie embryonnaire jusqu'à la puberté dont le but est de mettre en place ses deux fonctions que sont la fonction endocrine (production des androgènes testiculaires) et la fonction exocrine représentée par la spermatogenèse. De la naissance jusqu'au début de la puberté, le testicule infantile a longtemps été considéré comme quiescent. Cependant, dès la deuxième semaine de vie après la naissance et jusqu'au troisième mois, une activation de l'axe hypothalamohypophysio-gonadique, appelée « mini-puberté », conduit à une élévation des taux plasmatiques des gonadotrophines hypophysaires et de testostérone. Cette « mini-puberté » est

également décrite chez la petite fille. Cet événement semble jouer un rôle probable non seulement dans la mise en place de l'identité du genre mais aussi dans la prolifération des cellules de Sertoli et la maturation des cellules germinales [1]. Après cette « mini-puberté », le testicule comme l'ovaire connaissent alors une phase de quiescence au niveau de leurs deux fonctions. Cependant, il semble exister une différence en termes de productions d'hormones sexuelles (estrogènes versus androgènes) durant cette période entre la petite fille et le garçon qui peut remettre en cause une complète quiescence de la gonade [2].

Jusqu'à l'âge de dix ans, l'épithélium séminifère d'un garçon non pubère contient en général des cellules de Sertoli immatures et des spermatogonies (spermatogonies souches et spermatogonies différenciées) [3]. Les tubes séminifères ne montrent pas d'habitude de changements majeurs avec une stabilité du diamètre des tubes [4], des cellules de Sertoli présentant des caractéristiques d'immaturation au niveau morphologique, et au niveau fonctionnel, avec un haut niveau d'expression de l'AMH [5] et une faible ou absence d'expression du récepteur aux androgènes [6]. On peut cependant observer des initiations spontanées de la spermatogenèse en dehors de la puberté chez le jeune garçon. Le processus s'arrête en général au stade de spermatocytes secondaires [3].

La réactivation du testicule se produit entre l'âge de 10 et 12 ans. L'ensemble des cellules contenues dans les tubes séminifères et dans l'espace interstitiel doit subir une maturation leur permettant de passer d'un statut infantile à un statut pubère. La mise en route des fonctions testiculaires est d'abord locale sans marqueurs généraux et il faut noter que l'initiation de la spermatogenèse intervient alors qu'aucune modification des concentrations plasmatiques des gonadotrophines ou des androgènes testiculaires n'est détectée. On peut alors observer dans les tubes séminifères des spermatocytes primaires en grand nombre qui vont spontanément dégénérer ou progresser jusqu'au stade de spermatides. Les spermatides produites sont qualitativement non satisfaisantes et dégénèrent également [4]. Une production de spermatozoïdes qualitativement et quantitativement satisfaisante intervient en moyenne entre 13 et 14 ans chez le garçon [3]. Nous illustrerons notre présentation par des exemples de pathologies qui peuvent modifier cette transition testicule infantile testicule pubère.

Références

1. Sharpe M, McKinnel C, Kilvin C, Fisher S (2003) Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 125:769–84
2. Courant F, Aksglaede L, Antignac JP, et al (2010) Assessment of circulating sex steroid levels in prepubertal and pubertal boys and girls by a novel ultrasensitive gas chromatography-tandem mass spectrometry method. *J Clin Endocrinol Metab* 95:82–92
3. Nistal M, Paniagua R (1984) Occurrence of primary spermatocytes in the infant and child testis. *Andrologia* 16:532–6
4. Muller J, Skakkebaek NE (1983) Quantification of germ cells and seminiferous tubules by stereological examination of testicles from 50 boys who suffered from sudden death. *Int J Androl* 6:143–56
5. Rajpert-de-Meyts E, Jorgensen N, Graem N, et al (1999) Expression of anti-mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 84:836–44
6. Rey R, Lordereau-Richard I, Carel JC, et al (2009) Anti-mullerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 77:1220–6

Rôle et fonction de la cellule de Sertoli : importance de la transferrine (Trf)

F. Guillou, B. Fumel, M. Yefimova, A. Sow, I. Fontaine
Unité mixte de recherche 6175, physiologie de la reproduction, Institut national de la recherche agronomique, Centre national de la recherche scientifique, université de Tours, Haras nationaux, F-37380 Nouzilly, France

Les cellules de Sertoli (CS), présentes dans les tubes séminifères, créent l'environnement approprié pour la différenciation des cellules germinales. En plus de sa fonction de maintien de l'architecture de l'épithélium séminifère, la CS assure de nombreuses autres fonctions. Elle joue un rôle important dans le processus du déterminisme sexuel. Elle forme la barrière hématotesticulaire, fournissant ainsi un environnement adéquat pour la méiose et la spermiogenèse. Elle possède une forte capacité de phagocytose des cellules germinales en apoptose et des corps résiduels des spermatides. Cependant, les CS ne prolifèrent qu'au cours de la fin de la vie fœtale à la puberté. Cette phase de prolifération conditionne le rendement et la qualité de la spermatogenèse. Pour répondre à ces multiples fonctions, la CS sécrète un nombre important de facteurs. Mais la fonction de ces facteurs reste encore pour beaucoup inconnue. Ils pourraient exercer un ou plusieurs rôles pour assurer les fonctions multiples et complexes des CS. À travers l'exemple de l'étude du rôle de la transferrine (Trf), l'une des plus fortement protéines exprimées et sécrétées par la CS [1], nous proposons plusieurs stratégies pour décrypter leur rôle. Nous avons invalidé l'expression de la Trf dans des CS en culture via ARN interférence. Des ARN interférents spécifiques de la Trf de rat ont été utilisés, et leur efficacité a été testée in vitro sur des CS isolées à partir de testicules de rats âgés de 19 jours. Nous avons mis en évidence que 80 % de la Trf sécrétée par les CS est inhibée. La suppression de la Trf ne conduit pas à la mort des CS et ne perturbe pas la production de lactate (substrat énergétique des cellules germinales).

Par contre, l'inhibition de la Trf entraîne une augmentation de la phagocytose des corps résiduels (gouttelette cytoplasmique qui se détache des spermatozoïdes au moment de la spermiation) par les CS. Nous avons montré l'existence à l'état naturel d'un dimère de la Trf, localisé dans les CS, qui est un puissant inhibiteur de la phagocytose des corps résiduels. Son expression est induite par la présence de corps résiduels [2]. Afin de confirmer le rôle de la Trf in vivo, nous avons décidé d'inhiber conditionnellement la Trf via une expression ciblée d'ARN interférents dans la CS. Trois lignées de souris transgéniques ont été obtenues et caractérisées : lignées 13, 4 et 10. Nous avons ensuite généré une série de croisements avec des souris ZP3-Cre afin de produire un modèle de souris où le RNAi de la Trf est exprimé dans tous les tissus. Nous avons observé que le niveau de Trf dans le foie est inhibé à 50 % chez les animaux hétérozygotes, démontrant que cette approche est fonctionnelle. Nous avons ensuite fait exprimer spécifiquement le RNAi dans les CS en utilisant les souris AMH-Cre. Nos résultats montrent que les mâles des trois lignées sont fertiles. Cependant, nous avons observé, dans deux lignées (4 et 10), que l'inhibition de la Trf provoque, chez la majorité des mâles, une diminution drastique du poids testiculaire due à une réduction du nombre de tubes séminifères.

La réduction du nombre de tubes séminifères est observée dès la période fœtale, suggérant un rôle très précoce de la Trf dans la mise en place des cordons testiculaires durant le développement embryonnaire. Ces travaux démontrent que la Trf est impliquée dans le développement des cordons testiculaires et, plus tardivement, dans le contrôle de la spermiogenèse dans le testicule adulte.

Références

1. Fumel B, Sow A, Fouchecourt S, Guillou F (2009) Une nouvelle fonction pour la transferrine exprimée par le testicule. *Andrologie* 19:81–9
2. Yefimova MG, Sow A, Fontaine I, et al (2008) Dimeric transferrin inhibits phagocytosis of residual bodies by testicular rat Sertoli cells. *Biol Reprod* 78:697–704

Les anomalies du développement et testicule

M. Fellous

Institut Cochin, université Denis-Diderot, Paris, France

Introduction

Les anomalies du développement des gonades posent de nombreux et complexes problèmes, en clinique, thérapeutique, prise en charge ou éthique des patient(e)s. Ces anomalies ont joué un rôle crucial dans les découvertes génétiques du

déterminisme du sexe chez l'homme et les mammifères. Ces anomalies du développement sont dénommées, depuis 2006, DSDs pour *disorder of sex development* [1]. Elles sont principalement :

- les pathologies du développement du testicule ou de l'ovaire (comme les hommes 46,XX ; les hermaphrodites vrais 46,XX ou les dysgénésies gonadiques) ;
- les anomalies chromosomiques, causes les plus fréquentes de ces anomalies (comme le syndrome de Turner ou les mosaïcismes) ;
- les ambiguïtés des organes génitaux externes ou internes (OGE ou OGI) [comme l'hyperplasie congénitale des surrénales et déficit en 21-hydroxylase, déficit en 5-alpha réductase ou les insensibilités aux androgènes].

Résultats après 30 années de recherche

Je limiterais cette synthèse à la génétique du développement des testicules, principalement aux hommes 46,XX et aux hermaphrodites vrais 46,XX, soit isolée, soit dans le cadre de syndromes. D'un point de vue historique, je vous décrirais une famille [2] qui a été à l'origine de la découverte du gène *SRY* grâce à une collaboration avec Sinclair et al. [3] et Berta et al. [4]. Cette famille pose encore aujourd'hui la grande variabilité des phénotypes des OGE et OGI. Comment expliquer la présence simultanée dans une même gonade de tissus testiculaire et ovarien, ou l'absence de cellules germinales mâles ? Nous tenterons de répondre à ces questions. Cependant, dans la plupart des cas si une cause génétique est suspectée, aucun gène(s) n'est (ne sont) souvent identifié(s).

Ainsi, à partir d'un cas familial, nous avons émis une hypothèse [5] sur le(s) gène(s) du déterminisme de l'ovaire : le modèle Z en opposition avec le modèle proposé par Alfred Jost.

Avec les progrès de la génomique, une « chasse aux nouveaux gènes du DS » est en cours, par exemple les mutations des gènes comme *DMRT1*, *SFI* ou *Sox3* [6,7]. Tout récemment, il a été montré que le déterminisme de développement testiculaire est un mécanisme en équilibre instable, avec une nécessaire fonction de maintien. Nous l'avons observé dans des cas de dysgénésies testiculaires avec la coexpression, mais exclusion de gène ovarien (*Foxl2*) et testiculaire (*Sox9*). Ces travaux débouchent sur le concept de mutations somatiques et cancer gonadique [8]. Afin de répondre aux questions soulevées, nous avons développé avec l'INRA de fructueuses études sur des modèles animaux de ces anomalies comme la chèvre et le porc.

Références

1. Consortium on the management of disorders of sex development (2006) Clinical Guidelines for the Management of Disorders of Sex Development in Childhood. Intersex Society of North America

2. Abbas N, McElreavey K, Leconiat M, et al (1993) Familial case of 46,XX male and 46,XX true hermaphrodite associated with a paternal-derived SRY-bearing X chromosome. *C R Acad Sci III* 316:375–83
3. Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, et al (1990) A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346:240–4
4. Berta P, Boss Hawkins J, Andrew H, et al (1990) Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature* 348:448–50
5. McElreavey K, Vilain E, Abbas N, et al (1993) A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:3368–72
6. Sutton E, Hughes J, White S, et al (2011) Identification of Sox3 as an XX male sex reversal gene in mice and humans. *J Clin Invest* 121:328–41
7. Matson CK, Zarkower D (2011) DMRT1 prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis. *Nature* 476:101–4
8. Hersmus R, Kalfa N, de Leeuw B, et al (2008) Foxl2 and Sox9 as parameters of female and male gonadal differentiation in patients with various forms of disorders of sex development (DSD). *J Pathol* 215:31–8

Spermatonial stem cells (Spermatogonies souches)

D.G. de Rooij

Department of Endocrinology and Metabolism,
Faculty of Science, Utrecht University, Utrecht;
Center for Reproductive Medicine, Academic Medical Center,
University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

While the nature and characteristics of non-primate spermatogonial stem cells are studied by many people providing a steady stream of new information, the situation with respect to primate spermatogonial stem cells is much less clear. Comparing non-primates with primates there are two striking differences. First, spermatogonial density in human and monkey is very much higher than in non-primate mammals. Comparing human [1] with mouse [2], there are 11-fold more spermatogonia in the human. Second, in both primates and non-primates so-called A spermatogonia are present that do not show any heterochromatin in the nuclei. However, only in primates these A spermatogonia can be sub-divided into A-pale and A-dark spermatogonia. The A-dark spermatogonia do not divide in the normal epithelium but become active again when the A-pale spermatogonia disappear, for example after irradiation [3]. Apparently, the A-dark spermatogonia are a kind of reserve cells. During development when the testis slowly grows, 80% of the A spermatogonia are A-dark spermatogonia that are quiescent. The remaining 20% are A-pale spermatogonia that show a low ³H-thymidine labeling index [4]. Spermatogonial behaviour during prepubertal development will be discussed.

Virtually all people that performed cell counts on A-pale and A-dark spermatogonia found equal numbers of these

cell types to be present in the adult human and the monkey. The early type A spermatogonia in non-primate mammals can be subdivided into singles, pairs and chains of cells and it is well established the singles and some of the pairs among them have stem cell capabilities. In primates, spermatogonial density is so high that in the normal epithelium it is impossible to discern individual clones of spermatogonia. However, during repopulation after irradiation, when spermatogonial density is still very low, it is possible to see that both A-dark and A-pale spermatogonia are composed of singles, pairs and chains of up to 16 cells [5]. This suggests that the populations of A-pale and A-dark spermatogonia in primates are comparable to the A-single, A-pair and A-aligned spermatogonia in the non-primate mammals.

For rodents, a computer model has been developed that simulates spermatogonial multiplication and stem cell renewal in the normal situation and under experimental conditions, e.g. after spermatogonial stem cell transplantation, and during aging (de Rooij and Van Beek, in preparation). Now we are attempting to model spermatogonial (stem cell) behavior in primates. Some first results will be discussed.

References

1. Rowley MJ, Heller CG (1971) Quantitation of the cells of the seminiferous epithelium of the human testis employing the Sertoli cell as a constant. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 115:461–72
2. Tegelenbosch RA, de Rooij DG (1993) A quantitative study of spermatogonial multiplication and stem cell renewal in the C3H/101 F1 hybrid mouse. *Mutat Res* 290:193–200
3. van Alphen MM, van de Kant HJ, de Rooij DG (1988) Depletion of the spermatogonia from the seminiferous epithelium of the rhesus monkey after X irradiation. *Radiat Res* 113:473–86
4. Kluin PM, Kramer MF, de Rooij DG (1983) Testicular development in *Macaca irus* after birth. *Int J Androl* 6:25–43
5. van Alphen MM, van de Kant HJ, de Rooij DG (1988) Repopulation of the seminiferous epithelium of the rhesus monkey after X irradiation. *Radiat Res* 113:487–500

Physiopathologie de la migration testiculaire

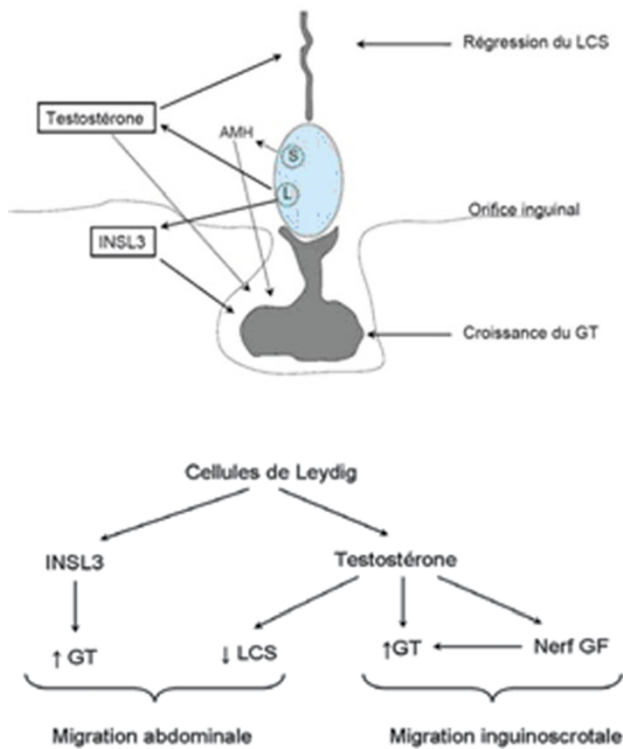
N. Kalfa^{1,2}, P. Philibert², F. Paris², L. Maïmoun², C. Sultan²

1. Service de chirurgie viscérale et urologie pédiatrique, groupe hospitalier Lapeyronie–Arnaud-de-Villeneuve, CHU de Montpellier, France

2. Service d'hormonologie et unité d'endocrinologie pédiatrique, pédiatrie III, groupe hospitalier Lapeyronie–Arnaud-de-Villeneuve, CHU de Montpellier, France

La migration s'effectue en deux phases : transabdominale et inguinoscrotale. Deux ligaments guident cette migration : le ligament crânial suspenseur (LCS) et le gubernaculum testis (GT). INSL3, un peptide sécrété par les cellules de Leydig, permet la migration transabdominale du testicule en

Physiologie



agissant sur le GT par son récepteur RXFP2. Les androgènes permettent la migration inguinoscrotale du testicule en agissant sur le GT. La migration postnatale est possible au cours du premier semestre de la vie chez près de la moitié des enfants cryptorchides.

Pathologie

L'étiologie de la cryptorchidie n'est pas univoque.

Facteurs génétiques et endocriniens

- Insuffisance hypothalamohypophysaire ;
- mutations gènes *INSL3*, *RXFP2*, *AR* : 10 % des cas ;
- anomalies chromosomiques ;
- syndromes malformatifs.

Facteurs exogènes

- Exposition environnementale aux xénoestrogènes = facteur de risque de cryptorchidie ;
- xénoestrogènes = perturbateurs endocriniens agissant par le récepteur aux estrogènes ;
- hypothèse TDS (*testicular dysgenesis syndrome*) relie cryptorchidie, hypospadias, cancer du testicule, troubles de la fertilité ;
- le rôle définitif de l'environnement reste à démontrer.

Conséquences

Troubles de la fertilité

- Les sujets avec antécédent de cryptorchidie sont plus fréquemment infertiles que la population générale par altération du spermogramme ;
- altérations plus sévères observées en cas de cryptorchidie bilatérale, mais existent aussi si unilatérale ;
- la chirurgie précoce avant l'âge d'un an limite la perte de cellules germinales.

Risque tumoral

- Le risque de tumeur testiculaire, y compris sur le testicule opposé, est augmenté chez les enfants ayant eu une cryptorchidie ;
- l'anomalie de position du testicule et le TDS peuvent l'expliquer ;
- la chirurgie précoce diminue mais n'élimine pas ce risque.

Cryptorchidies acquises : état des lieux

E. Dobremez

Service de chirurgie pédiatrique, hôpital Pellegrin Enfants, CHU de Bordeaux, place Amélie-Raba-Léon, F-33076 Bordeaux cedex, France

On parle de cryptorchidie acquise en cas de réascension d'une gonade précédemment palpée au niveau scrotal (*ascending testis* des Anglo-Saxons).

Cette situation est surtout rencontrée entre l'âge de huit et dix ans. Chez ces enfants, le testicule est non abaissable ou abaissable mais ne restant pas dans la bourse, ce qui le différencie d'un testicule oscillant. En consultant le carnet de santé, on s'aperçoit que le testicule était en position scrotale à la naissance. Dans les grandes séries récentes, plus de 50 % des enfants ayant subi un abaissement testiculaire présentaient cette forme acquise de cryptorchidie [1,2]. Même si une partie des cas est probablement liée à un mauvais examen clinique néonatal, cette pathologie a une incidence élevée et nécessite un dépistage spécifique.

Le défaut d'élongation du cordon spermatique, lié à la présence d'un ligament de Cloquet rigide, a été proposé pour expliquer cette pathologie [3]. Ce ne serait donc pas le testicule qui remonte mais le scrotum qui s'éloigne de la gonade au cours de la croissance [4]. Cette théorie permettrait d'expliquer l'âge de survenue de ces formes secondaires, au moment de la poussée de croissance prépubertaire.

Au moment de l'abaissement, il existe des lésions des cellules germinales et des cellules de Sertoli qui seraient identiques à celles rencontrées dans les cryptorchidies congénitales, quoique moins marquées [5]. Cela donne à penser que c'est le temps passé en dehors du scrotum qui est

en cause dans la genèse des lésions histologiques [3]. Nous n'avons pas de données spécifiques dans la littérature quant au risque de cancérisation de ces formes acquises.

Références

1. Hack WWM, Meijer RW, Voort-Doedens LM, et al (2003) Natural course of acquired undescended testis in boys. *Br J Surg* 90:728–31
2. Martin JDC (2006) Further evidence for acquired undescended testicle in the UK and its incompatibility with current recommendations in the Hall Report. *J Pediatr Urol* 2:292–7
3. Clarnette TD, Rowe D, Hasthorpe S, Hutson JM (1997) Incomplete disappearance of the processus vaginalis as a cause of ascending testis. *J Urol* 157:1889–91
4. Clarnette TD, Hutson JM (1997) Is the ascending testis actually "stationary"? Normal elongation of the spermatic cord is prevented by a fibrous remnant of the processus vaginalis. *Pediatr Surg Int* 12:155–7
5. Mayr JM, Rune GM, Holas A, et al (1995) Ascent of the testis in children. *Eur J Pediatr* 154:893–5

Cryptorchidie et spermatogénèse

Rigot J.-M.

Service d'andrologie, hôpital Calmette, CHRU, rue du Pr Jules Leclercq, 59037 Lille cedex

La cryptorchidie est la malformation génitale la plus fréquente chez l'homme : 1 % à l'âge d'un an. Deux complications sont principalement rapportées : le cancer du testicule et l'infertilité [1-3]. Différentes hypothèses physiopathologiques ont été décrites au cours du temps. Celles-ci ont justifié un consensus sur la prise en charge chirurgicale précoce c'est-à-dire avant l'âge de deux ans [4]. Les progrès de l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP), en particulier dans la prise en charge de l'azoospermie, amènent un regard différent sur ces théories.

Un consensus s'est dégagé à ce jour sur la décroissance du nombre de cellules goniales et de Leydig très rapidement après la naissance. Un rapport très étroit a été fait entre le nombre de spermatogonies Ad au moment de l'intervention d'abaissement et la fertilité future. A l'âge adulte, un lien fort est mis entre l'âge de l'intervention et le taux d'inhibine B. De même une intervention tardive aurait un effet délétère sur les cellules de Leydig.

La prise en charge actuelle de l'azoospermie avec la biopsie testiculaire (TESE) a modifié cette vision binaire [5]. La présence de spermatozoïdes, même en cas de syndrome des Sertolis seules (SCO), met en avant une atteinte progressive de la lignée germinale au cours de la vie où le processus apoptotique des cellules germinales trouve toute sa place. Par ailleurs, les quelques études à notre disposition montrent à l'évidence que la cryptorchidie n'est pas un processus univoque, et que le pronostic est plus lié à la cause de la cryptorchidie qu'à la cryptorchidie elle-même.

Enfin la confrontation des anomalies de la spermatogénèse et des succès de l'AMP doivent amener à de nouvelles stratégies pour prévenir d'une éventuelle infertilité future [6].

Références

1. Ravasse P (2009) Le testicule de l'enfant. Sauramps Médical, Paris
2. Robin G, Boitrelle F, Marcelli F, et al (2010) Cryptorchidism: from physiopathology to infertility. *Gynecol Obstet Fertil* 3810:588-99
3. Thonneau PF, Gandia P, Mieuisset R (2003) Cryptorchidism: incidence, risk factors, and potential role of environment; an update. *J Androl* 24:155-62
4. Hadziselimovic F, Herzog B (2001) The importance of both an early orchidopexy and germ cell maturation for fertility. *Lancet* 358:1156-7
5. Rigot JM (2009) Secretory azoospermia or non-obstructive azoospermia? *Folia Histochem Cytobiol* 47:S51-3
6. Marcelli F, Robin G, Lefebvre-Khalil V, et al (2008) Results of surgical testicular sperm extractions (TESE) in a population of azoospermic patients with a history of cryptorchidism based on a 10-year experience of 142 patients. *Prog Urol* 2008 1810:657-62

Facteurs de risque des malformations génitales du garçon

L. Gaspari^{1,2}, F. Paris^{1,2}, N. Kalfa³, C. Sultan^{1,2}

1. Unité d'endocrinologie et gynécologie pédiatrique, hôpital A.-de-Villeneuve, CHU de Montpellier et UM-1, France
2. Département d'hormonologie (développement et reproduction), hôpital Lapeyronie, CHU de Montpellier, France
3. Service de chirurgie infantile, hôpital Lapeyronie, CHU de Montpellier, France

Les effets de la pollution environnementale sur la santé de l'adulte et de l'enfant en particulier font l'objet de travaux de plus en plus nombreux [1-4] et soulèvent crainte et inquiétude dans la société, relayées par les médias.

Ces dernières années, de multiples observations de la faune sauvage (mammifères, oiseaux ou reptiles), de nombreuses études épidémiologiques, de solides travaux expérimentaux, comme certaines situations cliniques privilégiées, ont contribué à faire émerger le concept de perturbateur endocrinien environnemental (PEE) [ou d'interrupteur hormonal]. Il s'agit de polluants chimiques contenus dans l'air, l'eau, le sol ou l'alimentation qui interfèrent avec la synthèse, le métabolisme, l'action cellulaire et moléculaire des hormones endogènes [5].

En fait, les PEE peuvent activer ou inhiber le message hormonal et l'expression de gènes hormonodépendants. Leur caractéristique principale, c'est leur effet agoniste des estrogènes : en se liant aux récepteurs des estrogènes (ER α ou ER β), ils accentuent l'activité transcriptionnelle induite par les estrogènes endogènes (activation illégitime du récepteur).

Cette activité estrogène-like se complète pour plusieurs PEE de propriété antiandrogénique : ils sont en effet capables de bloquer les mécanismes de signalisation des androgènes et de réduire in fine l'activité transcriptionnelle androgénodépendante, au niveau des tissus cibles comme les organes génitaux externes.

À travers un projet collaboratif européen [6], notre expérience clinique quotidienne [7,8] et une collaboration franco-brésilienne [9], nous démontrerons l'importance des PEE dans le développement d'une malformation génitale chez le nouveau-né en soulignant le rôle clé d'une contamination fœtale par les pesticides.

Références

1. Sultan C, Jeandel C, Paris F, et al (2003) Conséquences endocriniennes de la pollution environnementale chez l'enfant. In: Mises au point cliniques d'endocrinologie, nutrition et métabolisme. Les Éditions de Médecine Pratique, Paris, pp 109–24
2. Sultan C, Terouanne B, Balaguer P, et al (2001) Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. *Mol Cell Endo* 178:99–105
3. Kalfa N, Philibert P, Baskin LS, Sultan C (2011) Hypospadias: interactions between environment and genetics. *Mol Cell Endo* 335(2):89–95
4. Sultan C, Paris F, Terouanne B, et al (2001) Disorders linked to insufficient androgen action in male children. *Hum Reprod* 7:314–22
5. Sultan C, Gaspari L, Kalfa N, Paris F (2011) Perturbateurs endocriniens environnementaux et maladies endocriniennes de l'enfant. *Med Long* 3:108–10
6. Gaspari L, Paris F, Jeandel C, et al (2011) Prenatal environmental risk factors for genital malformations in a population of 1,442 French male newborns: a nested case-control study. *Hum Reprod* 26:3155–62
7. Paris F, Jeandel CL, Servant N, Sultan CH (2006) Increased serum estrogenic bioactivity in three male newborns with ambiguous genitalia: a potential consequence of prenatal exposure to environmental endocrine disruptors. *Environ Res* 100:39–43
8. Gaspari L, Paris F, Philibert P, et al (2011) "Idiopathic" partial androgen insensitivity syndrome in 28 newborn and infant males: impact of prenatal exposure to environmental endocrine disruptor chemicals? *Eur J Endocrinol* 4:579–87
9. Ribeiro Sampaio D, Gaspari L, Paris F, et al (2011) High prevalence of micropenis in 2,710 male newborns from an intensive-use pesticide area of Northeastern Brazil (en correction)

Protéomique et testicule

C. Pineau
Inserm U625, IRSET, campus de Beaulieu,
université de Rennes-I, F-35042 Rennes cedex, France

L'organisation anatomique particulièrement complexe du testicule chez les mammifères engendre d'importantes difficultés pour l'étude de son organisation, de son fonctionnement et

des mécanismes qui sous-tendent sa régulation fonctionnelle. L'étude des réseaux moléculaires qui coordonnent le développement des cellules germinales mâles, en particulier chez les mammifères, a été facilitée par les avancées de la génomique. Des travaux pionniers ont été réalisés au cours des 15 dernières années dans l'analyse à grande échelle de la fonction testiculaire, permettant de mieux appréhender la spermatogenèse normale et pathologique, mais également d'améliorer nos connaissances sur la spermatogenèse grâce à l'identification de nombreux gènes essentiels au développement et à la production de gamètes mâles fonctionnels. Plusieurs équipes de recherche ont ainsi capitalisé sur les avancées les plus récentes en termes de séquençage de génomes et de développement de *microarrays*. Elles ont initié des études d'expression à l'échelle du génome qui ont conduit à l'identification de centaines de gènes régulés spatialement et temporellement au cours de l'ontogenèse testiculaire. En parallèle, les développements techniques récents pour l'identification de protéines avec de hautes cadences d'analyse ont permis à quelques équipes d'initier l'analyse du protéome testiculaire chez différentes espèces, que ce soit à l'échelle de l'organe entier ou sur des cellules isolées, incluant le spermatozoïde.

Dans le domaine de la reproduction mâle, le sujet le plus étudié à ce jour à l'aide d'approches de postgénomique est sans conteste la formation du gamète au travers des différentes étapes de la spermatogenèse. Bien entendu, nous savons que le développement du spermatozoïde repose sur une succession d'événements cellulaires strictement coordonnés via l'expression de très nombreux gènes et protéines. L'étude du protéome de la spermatogenèse est par conséquent très pertinente dans la mesure où elle permet d'obtenir une vue très précise des réseaux moléculaires en place à des étapes clés de ce processus biologique. L'étude protéomique du plasma séminal en tant que fluide biologique n'a été initiée pour sa part que tardivement alors qu'elle présente de fortes potentialités pour la découverte d'acteurs moléculaires majeurs de la biologie du gamète mâle.

Cette présentation donnera un bref aperçu des possibilités techniques offertes par la protéomique en biologie de la reproduction. Des exemples de travaux récents seront utilisés pour présenter l'apport de ces approches de haute technicité dans la compréhension de la fonction testiculaire et de la spermatogenèse normale et pathologique.

Bibliographie

Pour revues récentes, voir :

1. Rolland AD, Jégou B, Pineau C (2008) Testicular development and spermatogenesis: harvesting the postgenomics bounty. *Adv Exp Med Biol* 636:16–41
2. Calvel P, Rolland AD, Jégou B, Pineau C (2010) Testicular postgenomics: targeting the regulation of spermatogenesis. *Phil Trans R Soc B* 365:1481–500