

Compte-rendu du XI^{ème} Congrès de la SALF

Deauville, du 1 au 03 Décembre 1994

M. DROSDOWSKY ET J.F. GUERIN

Le XI^{ème} congrès de la SALF s'est déroulé devant une assistance de 300 personnes. Nous résumerons ici l'ensemble des manifestations Scientifiques et Pédagogiques. Nos lecteurs qui n'ont pas eu la possibilité de participer au congrès pourront cependant juger de son intérêt puisque nous publierons la quasi-totalité des communications présentées. Ce premier numéro de 1995 contient les principaux textes de la session sur le mouvement des spermatozoïdes et les communications affichées sur panneaux.

SESSIONS SCIENTIFIQUES

Mouvements du spermatozoïde et analyse automatisée.

En introduction, P. Jouannet a rappelé l'importance de la fonction flagellaire dans la fécondation, naturelle ou in vitro, afin que le spermatozoïde puisse traverser la zone pellucide, et peut-être fusionner avec l'ovocyte. Même dans le cas de la micro-injection intra-cytoplasmique (ICSI), les taux de fécondation sont diminués en cas d'asthénozoospermie.

J.L. Gatti a fait une présentation des bases moléculaires du mouvement flagellaire, en focalisant son exposé sur l'axonème. Les molécules de tubuline α et β constituent des structures très stables, en raison de modifications post-transcriptionnelles de la tubuline. L'absence des bras externes de dynéine, va entraîner une réduction de moitié de la fréquence des battements flagellaires. L'absence de bras internes va entraîner une immobilité, car les protéines qui la constituent, à activité ATP asique, sont nécessaires pour assurer le glissement des microtubules.

D. Schoevaert a développé un système d'analyse de la dynamique flagellaire, au moyen d'une caméra CCD haute vitesse couplée à un système de traitement informatique. Certains paramètres originaux ont pu ainsi être calculés : vitesses de formation et de propagation des ondes flagellaires, corrélations entre mouvements flagellaires et déplacements de la tête spermatique, etc.

J. Auger a montré l'importance de bien définir et standardiser les conditions d'analyse automatisée du mouvement spermatique, qui concerne en général les têtes et non les flagelles. La fréquence d'acquisition des images devrait en toute rigueur dépasser la valeur de 25 Hz, qui est pourtant celle adoptée par de nombreux systèmes en Europe. D'autres paramètres influencent les résultats : concentration en spermatozoïdes (trop élevée, elle conduira à des données faussées) ; profondeur de la chambre de mesure (au moins 20 mm dans des conditions capacitantes) ; nombre de points composant la trajectoire, etc.

A. Clavert a présenté les résultats d'un contrôle de qualité effectué au sein des CECOS. Pour ce qui concerne les paramètres du mouvement, il a montré l'existence d'une grande dispersion des valeurs et en particulier de l'amplitude latérale de la tête.

A. Sauvalle a rapporté les résultats d'une enquête concernant les souhaits des utilisateurs : ceux-ci portent principalement sur l'amélioration de la fiabilité des résultats dans le cas de fortes concentrations, et sur le développement d'un système d'analyse morphologique.

J.F. Guérin a discuté de la place de l'analyse du mouvement dans un bilan de fertilité : celle-ci apparaît utile après échec de FIV (en rétrospectif) ou si on veut préciser les chances de fécondation et choisir la technique d'A.M.P. la plus adaptée (par exemple : la mise en évidence de perturbations sévères d'un ou plusieurs paramètres incitera à proposer une ICSI plutôt qu'une FIV). On ne peut toutefois parler que de diminution, mais pas d'abolition, du pouvoir fécondant dans ce type de situation.

En conclusion, G. David a souligné l'origine génétique de certaines de ces anomalies : le recours à l'ICSI doit-il être systématique ? La question mérite d'être débattue.

Session reproduction chez l'étalon

M. Vidament fait part des difficultés rencontrées dans la sélection des étalons pour la reproduction du fait de la dissociation éventuelle entre les performances sportives de l'animal et la qualité du sperme. Par ailleurs, les normes séminales sont très variables en fonction de la saison, de la fréquence des éjaculats, de la race ...

Il faut aussi que, sur le plan économique, l'animal soit rentable et qu'il réalise un nombre suffisant de montes par saison qui est en particulier fonction de son âge.

M. Magistrini fait part ensuite des techniques complémentaires au spermogramme pour évaluer les capacités reproductrices de l'étalon.

- 1°) Les dosages hormonaux de base (gonadotropines, FSH surtout) et stéroïdes (testostérone surtout) ou après stimulation par HCG, mais les études sur les corrélations entre taux hormonaux et fertilité sont pratiquement inexistantes.
- 2°) La biopsie testiculaire, mais sa pratique est encore très faible.
- 3°) Le CASA : examen très prometteur mais, là aussi, on manque de données statistiquement utilisables.
- 4°) La cytométrie de flux, l'analyse d'images et la RMN : on en est seulement au tout début de leur utilisation.

Enfin, **F. Clément** présente son travail sur le spermogramme de l'étalon fertile et subfertile. Les caractéristiques séminales qui diffèrent, entre le groupe subfertile par rapport au groupe fertile, sont la concentration, le nombre de spermatozoïdes, les pourcentages de spermatozoïdes mobiles après dilution, le pourcentage de spermatozoïdes anormaux, le pourcentage de têtes anormales, le pourcentage des têtes seules, le pourcentage de flagelles seuls et le pourcentage de flagelles anormaux.

Les altérations du spermogramme du groupe subfertile sont plus ou moins importantes en fonction des catégories de subfertilité. Sur les 30 étalons subfertiles étudiés, 24 présentent un sperme anormal.

Les auteurs proposent la règle du jeu suivante pour accepter ou non un étalon à la reproduction au vu du spermogramme : l'étalon est accepté si toutes les caractéristiques reliées à la fertilité sont meilleures qu'une valeur seuil définie d'une part pour les étalons de trait et d'autre part pour les étalons de sang.

Les sessions sur l'épididyme : Rôle et importance dans le traitement de la stérilité masculine.

Elles peuvent être résumées de la manière suivante : physiologiquement, le spermatozoïde doit effectuer, pour devenir fécondant, un long trajet qui le mène depuis le testicule, à travers les 6 mètres d'épididyme et de déférent, puis dans les voies génitales femelles. Il va y acquérir des caractéristiques fonctionnelles tant au niveau de la tête que du flagelle en rap-

port surtout avec des modifications protéiques, surtout au niveau épидидymaire, soit provenant de la circulation, soit de l'épididyme lui même. Ces modifications vont lui permettre d'être fécondant c'est-à-dire capable de mobilité fléchant, de reconnaître et de se fixer sur la zone pellucide, de la traverser ainsi que la membrane ovocytaire.

En pathologie, en cas d'oblitération de l'épididyme, on sait que si l'on met en contact des ovocytes avec des spermatozoïdes de la tête épидидymaire (IVF), ou mieux, si l'on introduit le spermatozoïde dans l'ovocyte (ICSI), on a de fortes chances d'obtenir une fécondation. On peut même prélever des spermatozoïdes testiculaires pour réaliser un ICSI et les résultats sont à peu près les mêmes qu'avec les spermatozoïdes épидидymaires. Cela ne veut pas dire qu'il ne faut pas essayer de réparer un épидидyme oblitéré soit pour des raisons infectieuses, soit congénitales, mais la règle est maintenant de profiter de l'acte chirurgical pour prélever des spermatozoïdes épидидymaires afin de les congeler en vue d'un ICSI éventuel.

Néanmoins, devant une absence congénitale bilatérale des canaux déférents, on vérifiera toujours s'il s'agit d'une mucoviscidose nécessitant un conseil génétique.

Les androgènes et le sport.

Ph. Lebacq a d'abord fait part de son expérience dans la détermination du sexe masculin. En effet, les progrès considérables de la biologie moléculaire permettent l'accès direct aux séquences nucléotidiques portées par le chromosome Y. On amplifie par PCR un court fragment de 102 pb d'une région répétée du bras long de ce chromosome qui lui est spécifique. L'isolement du DNA génomique est fait à partir de cellules buccales prélevées à l'aide d'une cytobrosse sur chaque athlète féminine. La découverte récente du gène SRY, directement impliqué dans la masculinisation, a conduit à préférer l'utilisation d'un fragment de 336 pb provenant de ce gène, long d'environ 14 Kb. Les résultats obtenus conduisent à des détections de l'ordre de 100% concernant tous les individus XY mais aussi, et surtout, des génotypes XXY.

Ce test a été utilisé avec succès aux Jeux Olympiques d'Alberville et de Barcelone.

Puis **B. de Lignères** a présenté les effets de l'activité sportive sur les androgènes. Il a montré qu'une activité physique intense s'accompagne toujours d'une élévation de la testostéronémie d'environ 50% dans la première demi-heure d'effort suivie d'un retour aux valeurs basales dans les deux heures qui suivent la cessation de l'effort. En revanche, les efforts trop prolongés, ou trop intenses, ou trop répétitifs, s'accompagnent d'une diminution d'environ 50% de la testostéronémie. L'élévation initiale de la testostéronémie est surtout en rapport avec des phénomènes vasculaires, avec une augmentation de la perfusion testiculaire et/ou réduction de la clairance hépatique. Les mécanismes de baisse secondaire impliquent un effet du cortisol sur les récepteurs leydigiens de LH.

Les effets des androgènes sur l'activité sportive ont ensuite été analysés par **G. Peres**. En effet, les relations entre les fonctions androgéniques et les activités physiques peuvent s'exercer à plusieurs niveaux.

L'augmentation de l'agressivité, en particulier des motivations et de la volonté sous l'action des androgènes, contribue à la réussite en compétition.

Au niveau du tissu osseux, l'augmentation de la trame ou matrice protéique, la prolifération des ostéoblastes, le retard de la diminution de la densité minérale osseuse témoignent d'un effet de renforcement du squelette osseux.

Au niveau du compartiment sanguin, on observe une augmentation de l'érythropoïèse par stimulation du métabolisme de la moelle osseuse hématogène. Par ailleurs, les androgènes sont hyperglycémisants. On observe aussi une diminution des IgA, IgG et IgM.

L'effet trophique musculaire des androgènes est à l'origine d'une hypertrophie des parois cardiaques.

Au niveau hépatique, les androgènes sont mobilisateurs du glycogène.

Les androgènes ont un effet particulièrement intéressant au niveau du tissu musculaire, en augmentant la masse protéique, la testostérone activant l'ARN polymérase. L'augmentation de l'activité de la caritine palmityl transférase mitochondriale permet une augmentation du métabolisme oxydatif des acides gras. La testostérone agit aussi à ce niveau sur le métabolisme glucidique en régulant la sensibilité musculaire à l'insuline.

La présentation suivante de **F. Wright** avait trait à l'utilisation illégale d'androgènes. F. Wright a développé la technique de dosage de l'épitéstostérone qui est considérée comme marqueur d'une prise antérieure d'androgènes. Le rapport **GT/GEPIT** chez l'homme est de $1,5 \pm 0,9$. Un rapport supérieur à 6 est, à l'heure actuelle, considéré comme suspect d'une prise illégale d'androgènes. Au-dessus de 10, l'athlète est considéré comme dopé.

Actuellement, c'est un comité d'experts qui prend la décision au cas par cas pour tous les rapports compris entre 6 et 10.

Cette session se terminait par la présentation d'**I. Mowszowicz** sur les effets secondaires des androgènes.

3 situations peuvent se présenter : supplémentation au cours d'un hypogonadisme, utilisation détournée par les sportifs avec des doses utilisées de 10 à 100 fois supérieures aux doses thérapeutiques, enfin, contraception masculine.

Les effets secondaires des androgènes dépendent donc de la dose et de la molécule utilisée. Ces effets peuvent être classés en 4 catégories :

1°) Effets androgéniques : chez l'homme, à doses supraphysiologiques, on observe une chute de **LH** et de **FSH** aboutissant à une diminution de la sécrétion de testostérone endogène, une atrophie testiculaire et une azoospermie presque complète avec stérilité. Si les androgènes utilisés sont aromatisables, on peut observer une gynécomastie.

Chez la femme, les effets virilisants des androgènes sont constamment observés : augmentation de la masse musculaire, acné, hirsutisme, perte des cheveux, ...

Chez l'enfant et l'adolescent, les mêmes effets virilisants peuvent être observés, avec en plus, un risque de soudure prématurée des cartilages de conjugaison.

2°) Effet toxiques : ils sont surtout liés à l'utilisation de stéroïdes 17 α -alkylés et atteignent essentiellement la fonction hépatique.

3°) Effets sur le système cardiovasculaire : à fortes doses, les androgènes entraînent des modifications des lipides sanguins avec une baisse des **HDL**, élévation des **LDL** et du cholestérol total, augmentant donc le risque athéromateux.

4°) Effets comportementaux : les androgènes développent l'agressivité et l'endurance avec éventuellement des effets psychotiques.

E.P.U. D'ANDROLOGIE

L'exploration de l'homme stérile en 1994.

L. Bujan a développé l'importance de l'examen clinique de l'homme infécond. Il se déroule en plusieurs étapes ; tout d'abord, l'interrogatoire va permettre de préciser les facteurs de risques pour la fertilité ; ensuite, l'examen clinique en trois temps, inspection, palpation et

mesure du volume testiculaire et de la température scrotale, va mettre en évidence certains caractères pathologiques et orienter ainsi le diagnostic. L'examen clinique de l'homme infécond doit, comme les autres pratiques médicales, précéder la prescription des examens biologiques et para cliniques. Par ailleurs, cet examen est un moment privilégié pour établir un dialogue avec l'homme et ainsi lui donner sa place au sein du couple infécond.

D. Feneux a défini l'examen biologique de base dans l'exploration d'une infertilité masculine, constitué du spermogramme, spermocytogramme et de l'évaluation de l'interaction spermatozoïde - mucus cervical, l'objectif étant de fournir au patient une réponse aussi précise et rapide que possible. Les différents examens et techniques actuellement développés permettant d'améliorer le diagnostic, tels que l'analyse du mouvement, l'ultrastructure, l'évaluation de la maturité nucléaire ou de la réaction acrosomique, la recherche d'anticorps antispermatozoïdes, la biochimie ne doivent pas être faits de façon systématique mais obéir à des stratégies précises selon la question posée.

J.C. Soufir définit le spermatozoïde comme une cellule à cytoplasme inversé dépendant du fluide environnant : le plasma séminal. Celui-ci est constitué par les sécrétions provenant des différentes glandes pour lesquelles sont dosés les différents marqueurs : fructose pour les vésicules séminales ; citrate, zinc et phosphatases acides pour la prostate. Ces sécrétions provenant d'un "réservoir", la notion de délai d'abstinence est importante et il est nécessaire d'effectuer ces dosages dans des conditions où la concentration est constante, soit après 5 à 6 jours d'abstinence sexuelle. Le dosage des marqueurs biochimiques séminaux a permis d'identifier des entités pathologiques nouvelles.

E. Szerman-Joly a insisté sur la notion d'hypofertilité dans le cas d'une auto-immunisation antisperme. Cette pathologie se rencontre chez 6% des couples venant consulter pour stérilité. L'étiologie, souvent rencontrée, consiste en : pathologie infectieuse, traumatisme, hernie inguinale opérée, pathologie testiculaire. Le signe d'appel biologique ayant entraîné la recherche d'auto-anticorps consiste soit en un test de Hühner négatif, la présence d'agglutinats dans le sperme ou une asthénospermie.

La technique des immunobilles est à l'heure actuelle la plus fiable et permet de déterminer le pourcentage de spermatozoïdes porteurs d'anticorps, l'isotype et la topographie de fixation. L'analyse des résultats de **FIVETE** montre que le taux de segmentation des ovocytes est nettement abaissé lorsque le taux d'IgG et/ou d'IgA est supérieur ou égal à 60% avec une localisation des anticorps majoritairement sur la tête.

A. Clavert a souligné l'intérêt de rechercher une infection spermatique aussi bien sur le plan urologique que pour étudier la qualité des spermatozoïdes. En effet, la présence de leucocytes dans le sperme altère les spermatozoïdes en les peroxydant et la présence de germes diminue leur fécondance et leur congélabilité. Le plasma séminal possède un pouvoir bactériolytique et bactériostatique, la prolifération bactérienne est due à un plasma séminal de mauvaise qualité. Il faut être vigilant dans l'interprétation d'une spermoculture négative (absence de germes). En effet, devant des signes indirects d'infection, c'est-à-dire, réduction du volume de l'éjaculat, augmentation des flagelles enroulés, pH > 8, présence de cellules peroxydases positives, présence de protéines sériques et/ou augmentation des IgA et diminution des marqueurs, il faudra répéter les spermocultures, envisager un massage prostatique et éventuellement faire des prélèvements car, par exemple, une prostatite interstitielle constituée de microabcès n'est pas décelable à la spermoculture.

Quels traitements de la stérilité masculine ?

J. Belaisch a exposé les traitements médicaux de la stérilité masculine qui ne sont possibles que dans certaines situations bien ciblées et permettent l'amélioration des para-

mètres spermatiques voir l'obtention de grossesse. Il s'agit :

- du traitement des OATs par les anti-E2 ou hMG + hCG dans le cas de déficit intratesticulaire en testostérone accompagné d'une FSH normale ou abaissée et d'une LH basse ;
- du traitement par la FSH pure des oligospermies sévères ;
- du traitement des infertilités immunologiques par la prednisolone ;
- de la suppression des causes d'hyperthermie.

C. Mathieu a décrit la place de l'IAC dans le traitement de l'infertilité masculine. Les indications sont diverses : éjaculation rétrograde, pathologie immunologique, anomalies non spécifiques du sperme et sexologiques. Les traitements de stimulation chez la femme sont également variés : citrate de clomiphène, hMG ou FSH. On préférera une préparation des spermatozoïdes en gradient de Percoll qui donne le meilleur rendement. Le nombre minimum de spermatozoïdes mobiles à morphologie normale à inséminer est de 300 000 mais le nombre optimum semble être de 1 Million. Un maximum de 6 cycles d'insémination doit être proposé au couple (minimum 4 cycles) et permet d'obtenir 90% de grossesses si l'indication est bien ciblée.

Enfin l'analyse des facteurs pronostiques fait ressortir l'importance de l'âge de l'homme (effet défavorable au delà de 35 ans), ainsi que de l'existence d'une dysovulation.

C. Wittemer a rapporté son expérience de microinjection subzonale (SUZI) au cours de laquelle les spermatozoïdes capacités sont placés directement dans l'espace péri-vitellin des ovocytes. Après des débuts difficiles, le centre a obtenu de bons résultats avec 26% de taux de clivage global, 61% de transferts/ponctions et 13% de grossesses. Néanmoins, certains problèmes se posent : échecs de fécondation pour les OATS sévères, échecs de fécondation "inexpliqués", taux élevés de polyspermie ; ce qui les incite à débiter les techniques d'injection intracytoplasmiques (ICSI).

P. Jouannet a exposé l'expérience de Bicêtre en microfécondation assistée sur les 5 dernières années représentant 545 tentatives de SUZI et 59 grossesses. Les résultats de microinjection varient d'une année à l'autre en fonction des indications.

Les résultats des indications immunologiques sont classés en 4 groupes (Gpe) en fonction du taux d'IgG. Le taux de fécondation (2 PN) augmente quand le taux d'anticorps décroît. (Gpe I IgG = 100% 2 PN = 2%, Gpe II IgG 90-99% 2 PN = 3%, Gpe III IgG 80-89% 2 PN = 15%, Gpe IV < 80% 2 PN = 28%). 4 grossesses ont été obtenues pour 38 cycles. Dans des cas d'autoconservation, quand le nombre de spermatozoïdes mobiles obtenus après décongélation ne permet pas d'envisager une FIV classique, 3 grossesses sur 15 tentatives ont été obtenues. Les dyskinesies flagellaires sont également une indication de SUZI : 10 grossesses ont été obtenues pour 62 tentatives. Ces résultats paraissent satisfaisants bien que n'atteignant pas ceux de l'ICSI.

A. Jardin a développé les différents traitements chirurgicaux de la stérilité masculine. La cure de varicocèle est une intervention bénigne qui est justifiée et permet d'obtenir de 20 à 40% de grossesses. La chirurgie des voies séminales peut se faire dans le cas d'obstacles épидидymodéférentiels et l'anastomose conduit à plus de 20% de grossesses. L'intervention sur des obstacles profonds par un traitement endoscopique plus difficile doit s'accompagner de prélèvements de spermatozoïdes lors de l'intervention avec FIV programmée conjointement. La chirurgie du testicule cryptorchide de l'adulte ne doit pas être oubliée.