

# Absence de corrélation génotype-phénotype dans les absences de canaux déférents

F. ROBERT<sup>1</sup>, F. BEY-OMAR<sup>2</sup>, J. ROLLET<sup>1</sup>, J.F. LAPRAY<sup>3</sup>, Y. MOREL<sup>2</sup>.

1 Institut Rhônalpin, 1, rue Laborde, 69500 BRON ; 2 Hôpital Debrousse, 29, rue Sœur Bouvier, 69322 LYON Cedex 05, 3 151, avenue de Saxe, 69003 LYON

## RÉSUMÉ

L'absence des canaux déférents est une cause rare d'infertilité masculine associée dans 80 % des cas à des mutations sur le gène de la mucoviscidose. Cependant, les corrélations entre le génotype et le phénotype anatomique des voies excrétrices du sperme ont été peu étudiées.

À partir d'une série de 47 patients porteurs d'une absence des canaux déférents, nous avons recherché les 13 mutations les plus fréquentes de la mucoviscidose, l'allèle 5T de l'intron 8 et exploré le tractus uro-génital par échographie rénale, scrotale et endorectale.

Quarante patients avaient une absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) et 7 patients présentaient une absence unilatérale d'un canal déférent.

Trente patients (64%) étaient porteur d'une anomalie d'une anomalie du gène CFTR parmi eux, 47% avaient une mutation  $\Delta F 508$  et 63 % étaient porteurs de l'allèle 5T. Dix-sept patients n'avaient aucune des mutations recherchées, dont 3 patients porteurs d'une agénésie rénale unilatérale et 3 patients porteurs d'une absence unilatérale d'un canal déférent.

La comparaison des phénotypes entre les différents groupes ne fait ressortir aucune différence concernant l'état des vésicules séminales, la symétrie des anomalies vésiculaires et épидидymaires. On constate une différence significative des anomalies épидидymaires qui sont plus fréquentes dans le groupe sans

mutation que dans le groupe avec des mutations (test de  $\chi^2$ ,  $p = 0,01$ ).

Les moyennes des volumes testiculaires sont significativement plus faibles entre les patients avec au moins une mutation CFTR et les patients sans mutation ou seulement avec l'allèle 5T :  $15,1 \pm 4,5$  ml versus  $10,7 \pm 4,1$  ml respectivement ( $p < 0,001$ , test de Student).

En conclusion, dans les absences isolées des canaux déférents, le phénotype anatomique des voies excrétrices du sperme n'est pas corrélié au génotype de la mucoviscidose. Ces résultats suggèrent que d'autres déterminants génétiques et/ou environnementaux sont nécessaires pour rendre compte d'un mécanisme pathogénique commun à ces anomalies. Le volume testiculaire abaissé chez les patients sans mutation ou porteurs de l'allèle 5T seul suppose l'existence d'un facteur sécrétoire ou mixte (obstructif et sécrétoire) non identifié.

**Mots-clés** : infertilité masculine, azoospermie, forme non classique de la mucoviscidose, absence des canaux déférents, mutations CFTR.

Correspondance : Dr. F. Robert, Institut Rhônalpin, 1, rue Laborde, 69500 BRON, Tél. 04 78 01 23 28, Fax : 04 78 77 58 02

Communication orale sélectionnée au XVIIème Congrès de la SALF, 7-8 décembre 2000, Bordeaux.

## I. INTRODUCTION

L'infertilité concerne environ 15 % des couples dans les pays industrialisés. Dans la moitié des cas, il existe un facteur masculin à cette infertilité et dans environ 25 % des cas, l'infertilité est d'origine exclusivement masculine.

Parmi les causes de stérilité masculine figure une entité particulière : l'absence des canaux déférents, qui serait responsable de 2 % des cas de stérilité masculine et de 10 % des azoospermies [15, 20, 22]. En dehors de l'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) classiquement associée à la mucoviscidose [20, 23, 25, 34], il existe des formes isolées longtemps considérées comme une pathologie rare et de déterminisme génétique autosomique récessif [27].

En 1990, Dumur et coll. [16] démontrent une parenté génétique entre les absences isolées des canaux déférents et les mutations du gène de la mucoviscidose : sur 17 patients porteurs d'une absence des canaux déférents, 7 sont hétérozygotes pour la mutation  $\Delta F$  508, soit 41 % contre 4 % d'hétérozygotes dans la population générale.

Ainsi, la présence de mutations sur le gène de la mucoviscidose chez des patients porteurs d'une ABCD isolée suggère que ce tableau peut correspondre à une forme mineure de l'expression phénotypique de la mucoviscidose [1].

### 1. La mucoviscidose

La mucoviscidose, encore appelée fibrose kystique du pancréas (cystic fibrosis, CF), est une maladie héréditaire grave se transmettant sur le mode autosomique récessif. Elle atteint environ 1/2500 nouveau-nés, ce qui fait estimer la fréquence de portage du gène à l'état hétérozygote à 1 individu sur 25.

Le gène CF (cystic fibrosis) impliqué dans la mucoviscidose est localisé sur le chromosome 7, en 7q31. Il code pour une protéine de 1480 acides aminés, la protéine CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), un canal chlorure qui fait sortir les ions  $Cl^-$  de la cellule épithéliale [3]. Ce canal étant défectueux dans la mucoviscidose, la rétention dans la cellule des ions  $Cl^-$  empêche la sortie

passive d'eau et entraîne une déshydratation des sécrétions et du mucus, responsable des phénomènes obstructifs dans les différents organes où il est exprimé : les canaux pancréatiques et biliaires, les cryptes intestinales, l'arbre trachéo-bronchique, les tubules rénaux, les glandes sudoripares, les glandes salivaires, l'épididyme et le canal déférent [35, 36, 37, 38].

En 1989, lors de la découverte du gène de la mucoviscidose, le défaut moléculaire causal le plus fréquent a été identifié : la mutation  $\Delta F$  508 qui correspond à la délétion d'une phénylalanine en position 508 de la protéine. Cette mutation représente 70 % des mutations identifiées dans le gène CF à travers le monde [24, 31]. Cela signifie que 50 % des malades la porte à l'état homozygote. Cependant, plus de 700 autres mutations sont actuellement décrites [10, 19], et environ 50 % des malades sont hétérozygotes composites, c'est-à-dire porteurs de deux mutations différentes sur chaque allèle du gène CFTR.

L'expressivité de la maladie est différente selon le type de mutation et l'état d'homozygotie ou d'hétérozygotie vis-à-vis de ces mutations. Les sujets atteints de la forme majeure de la mucoviscidose ont des mutations dites **sévères** sur chaque allèle de la séquence codante du gène CFTR, tandis que les sujets porteurs d'une forme phénotypique moins grave ont une seule mutation sévère et une mutation dite **modérée** sur chaque allèle ou deux mutations modérées [9, 11, 18].

### 2. Les absences de canaux déférents

Les ABCD isolées sont associées à une mutation de la mucoviscidose dans 48 à 86 % des cas selon les séries et la méthodologie employée : recherche ponctuelle des mutations les plus fréquentes, étude de plusieurs exons ou séquençage complet du gène CFTR .

Ainsi, Augarten et coll. [2] retrouvent 48 % de patients porteurs d'au moins une mutation en recherchant 9 mutations, tandis qu'en analysant tout le gène CFTR, plusieurs auteurs en trouvent jusqu'à 85 % [5, 9, 14].

Dans la plupart de ces cas, une seule mutation a été détectée, plus rarement deux. L'absence d'une seconde mutation chez ces patients, même après une analyse complète de la

**séquence codante**, n'est pas bien comprise, mais pourrait être expliquée par la présence de mutations dans la **séquence non codante du gène**. De telles mutations peuvent produire des ARN messagers anormaux suite à une anomalie de l'épissage et donner des quantités anormalement basse de protéine CFTR. L'étude de l'ARNm CFTR a montré chez des sujets normaux, des variants de la molécule ne comportant pas l'exon 4, 9 ou 12 [4, 8, 12, 32, 33]. La présence ou l'absence de l'exon 9 dépend de la longueur d'une séquence d'ADN de l'intron 8 contenant une suite de thymines. Cette séquence polyT contient 5, 7 ou 9T. Seule la séquence 5T entraîne une délétion de l'exon 9. La présence de la séquence 5T produit donc une quantité réduite d'ARNm CFTR normal. Chez des sujets porteurs de l'allèle 5T sur leurs deux gènes, 92 % de l'ARNm CFTR n'est pas fonctionnel [7].

L'étude de la fréquence des différentes mutations du gène CFTR (Tableau 1) montre que les mutations dites **sévères** sont moins fréquentes que dans les génotypes de patients atteints de mucoviscidose au profit de mutations dites **modérées**. La séquence 5T de l'intron 8 fait partie des variants modérés. Cependant, d'après plusieurs auteurs [6, 8, 32] l'allèle 5T à l'état hétérozygote ne semble pas pouvoir être responsable du phénotype d'ABCD, alors qu'il le peut à l'état homozygote. Sa fréquence est significativement plus élevée chez les patients porteurs d'une ABCD que dans la population générale ; mais, dans les ABCD, il est associé dans 80 % des cas à une autre mutation de la séquence codante du gène CFTR.

En pratique, le diagnostic d'absence de canal déférent repose sur une sémiologie polymorphe: absence unilatérale ou bilatérale des canaux déférents, isolée ou associée à une agénésie rénale, avec absence ou non des vésicules séminales, avec ou sans mutation de la mucoviscidose.

Dans les **absences unilatérales isolées (AUCD)**, des mutations de la mucoviscidose sont également décrites, mais elles sont beaucoup moins fréquentes que dans les ABCD isolées, puisqu'elles représentent seulement 17 % des cas environ. La fréquence de l'allèle 5T est là encore significativement plus élevée que dans la population générale (Tableau 1).

**Tableau 1 : Fréquences alléliques de certaines mutations du gène CFTR selon le phénotype. Chiffres issus de différentes sources (Costes, Dörk, Chillon, Patrizio, Casals et Mak). ABCD : absence bilatérale des canaux déférents ; AUCD : absence unilatérale d'un canal déférent**

	Mucovis- cicose	ABCD	AUCD	Population générale
ΔF 508	73 %	18 à 31 %	10 à 21 %	1,4 %
R117H	0,3 %	5 à 8 %	0	-
W1282X	1,6 %	1,6 à 12 %	0	0,02 %
5T	0,3 %	12 à 32 %	10 à 12 %	5 %

Il est classiquement admis que **les absences de canaux déférents associées à une agénésie rénale** n'ont pas de mutation sur le gène de la mucoviscidose [9]. La pathogénie en serait différente et due à une anomalie embryologique du canal de Wolff avant la sixième semaine du développement embryonnaire.

Étant donné que la sévérité des atteintes de la mucoviscidose est dans une certaine mesure relative au génotype, la possibilité qu'il existe des différences phénotypiques chez les patients porteurs d'une absence des canaux déférents selon le génotype semble être une hypothèse plausible, que nous avons voulu tester à propos de 47 patients.

## II. PATIENTS ET MÉTHODES

Nous avons étudié 47 patients consultant pour infertilité et présentant cliniquement l'absence d'au moins un canal déférent.

### 1. Examen clinique

L'examen clinique était réalisé à l'Institut Rhônalpin par le même médecin (J.R.) et comportait un interrogatoire sur les antécédents personnels et familiaux du sujet, le bilan gynécologique de la conjointe, les troubles sexuels éventuels, un examen clinique des organes génitaux externes et un toucher rectal.

### 2. Examen échographique

Chaque patient a bénéficié d'une échographie rénale, scrotale et endorectale à la recherche d'anomalies du tractus uro-génital. L'absence des canaux déférents était confirmée échographiquement par l'absence d'ampoule déférentielle.

L'examen échographique était réalisé chez tous les sujets par le même opérateur (J.F.L.) avec deux appareils BRUEL et KJAER (consoles 1849 et 3535). Il permettait par voie percutanée un examen des reins et de la vessie avec une sonde de 3,5 MHz, un examen des testicules et des épидидymes avec une sonde de 7,5 Mhz (8545) munie d'un Doppler couleur. Par voie endorectale, une étude de la prostate, des vésicules séminales et des ampoules déférentielles était réalisée avec une sonde endorectale biplan de 7 MHz (8551).

Les aspects anormaux des vésicules séminales étaient l'absence, l'hypotrophie et la dilatation (épaisseur antéro-postérieure > 1 cm).

Le volume testiculaire échographique était calculé à partir des mesures du grand axe et du petit axe du testicule, selon la formule d'un volume ellipsoïdal.

### 3. Examens biologiques

Les dosages plasmatiques de LH, FSH et de la testostérone biodisponible étaient réalisés par le laboratoire Marcel Mérieux de Lyon par méthodes radioimmunologiques.

Au moins deux spermogrammes étaient réalisés dont l'un pour étude de la biochimie du liquide séminal avec dosage de l' $\alpha$ -1,4 glucosidase, du fructose et de l'acide citrique.

En cas d'azoospermie, une recherche de spermatozoïdes était effectuée dans les urines pour éliminer une éjaculation rétrograde.

### 4. Analyse génétique

Une recherche des 13 mutations les plus fréquentes du gène CFTR et du variant 5T de l'intron 8 a été effectuée systématiquement selon la méthode décrite par Morel et collaborateurs [28]. Les mutations du gène CFTR recherchées étaient les suivantes :  $\Delta$ F508,  $\Delta$ I507, 508C et 1612delTT sur l'exon 10, G542X (exon 11), N1303K (exon 21), R117H (exon 4), 1717-1G>A (intron 10), 2183AA>G, 2184delA et 2347delG sur l'exon 13, W1282X (exon 20), 2789+5G>A (intron 14b).

### 5. Méthode statistique

Lorsque la distribution des variables suivait une loi normale, la moyenne et l'écart-type étaient calculés, et la comparaison de moyenne

utilisait le test t de Student. La comparaison entre caractères qualitatifs utilisait le test du  $\chi^2$ . Toute différence était considérée comme significative pour  $p < 0,05$ .

## III. RESULTATS

Nous avons étudié 47 patients infertiles présentant cliniquement l'absence d'au moins un canal déférent. Le diagnostic était confirmé échographiquement par l'absence d'ampoule déférentielle.

Les résultats génétiques et échographiques sont présentés dans les tableaux 2, 3 et 4.

### 1. Résultats descriptifs

Sur les 47 patients, 40 ont une absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) dont 2 ont une agénésie rénale unilatérale associée (ARU). Sept patients présentent une absence unilatérale d'un canal déférent dont un a une agénésie rénale.

Trente patients (64 %) sont porteurs d'une anomalie du gène CFTR. Parmi eux, 47 % ont une mutation  $\Delta$ F 508 et 63 % sont porteurs de l'allèle 5T. Dix-sept patients n'ont aucune des mutations recherchées, dont les 3 patients porteurs d'une agénésie rénale unilatérale.

Trois patients sont porteurs de 2 mutations de la séquence codante du gène CFTR. Phénotypiquement, ils ont au moins une vésicule séminale absente et si l'autre existe, elle est dilatée.

Huit patients présentent la mutation  $\Delta$ F 508 associée à l'allèle 5T : leurs vésicules séminales sont toujours anormales à type d'absence, d'hypotrophie ou de dilatation. Les anomalies épидidymaires apparaissent symétriques.

Trois patients sont hétérozygotes composites puisque l'analyse génétique des parents a révélé que chacun était porteur d'une mutation. Ils ont au moins une vésicule séminale absente.

Huit patients présentent une seule mutation de la séquence codante : ils ont au moins une vésicule séminale absente et des anomalies asymétriques dans 50 % des cas.

Un patient est homozygote pour l'allèle 5T : absence d'une vésicule séminale et l'autre est

dilatée.

Sept patients sont hétérozygotes pour l'allèle 5T : dans 70 % des cas, les 2 vésicules séminales sont absentes.

Treize patients n'ont aucune des mutations recherchées, dont 2 ont une agénésie rénale unilatérale. Les vésicules séminales sont absentes ou hypotrophiques dans 77 % des cas.

Sept patients présentent une absence unilatérale des canaux déférents (AUCD) dont 3 sont porteurs de l'allèle 5T et un a une agénésie rénale associée. Aucun n'a d'autre mutation du gène CFTR. Les anomalies des vésicules séminales sont asymétriques dans 85 % des cas. Les anomalies épидидymaires sont rares.

Deux patients ont une anomalie testiculaire controlatérale à l'AUCD et les 3 patients sans mutation ont une FSH un peu élevée respectivement à 11,6 ; 12,6 et 18,5 UI/L.

## 2. Résultats analytiques

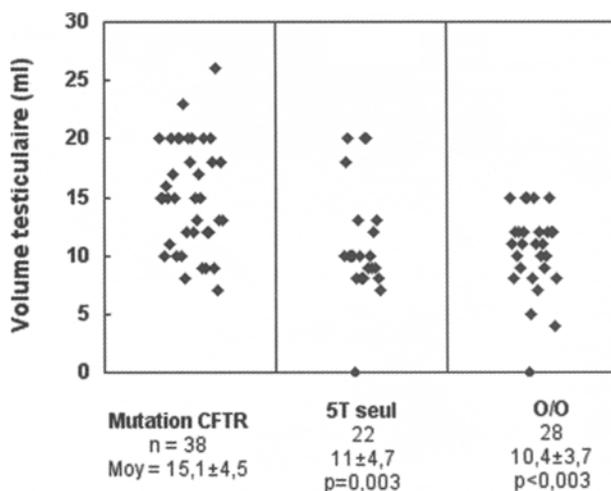
La comparaison des phénotypes entre les différents groupes ne fait ressortir aucune différence concernant l'état des **vésicules séminales**, la symétrie des anomalies vésiculaires et épидидymaires (tableaux 3 et 4).

On constate une différence significative des **anomalies épидидymaires** qui sont plus fréquentes dans le groupe sans mutation que dans le groupe avec des mutations (test de  $\chi^2$ ,  $p = 0,01$ ).

Les moyennes des **volumes testiculaires** sont plus faibles dans les AUCD et dans le groupe des ABCD sans mutation par rapport aux groupes avec une mutation CFTR (Figure 1). La différence est significative lorsqu'on établit la moyenne des volumes des patients avec au moins une mutation CFTR comparativement à celle des patients sans mutation ou seulement avec l'allèle 5T :  $15,1 \pm 4,5$  ml versus  $10,7 \pm 4,1$  ml ( $p < 0,001$ , test de Student).

Sur le plan échographique, le parenchyme testiculaire apparaissait normal dans les différents groupes et ne montrait pas de calcification.

Une dilatation d'un canal éjaculateur était parfois constatée dans les différents groupes



*Figure 1 : Volume testiculaire en fonction des mutations du gène de la mucoviscidose, de l'allèle 5T et de l'absence de mutation chez 44 patients porteurs d'une absence des canaux déférents sans agénésie rénale. p est calculé par rapport au groupe avec au moins une mutation CFTR.*

mais sans différence significative.

## IV. DISCUSSION

### 1. Corrélation génotype-phénotype

Plusieurs travaux font état des corrélations entre les anomalies des voies excrétrices du sperme et le génotype des mutations de la mucoviscidose.

K. Jarvi et coll.[21] rapportent l'étude de 46 hommes infertiles présentant une absence bilatérale des canaux déférents à l'examen clinique. 85 % ont au moins une mutation du gène CFTR ou l'allèle 5T, 28 % ont deux mutations et 15 % n'ont aucune mutation. Les 27 exons du gène CFTR étaient analysés ainsi que le variant 5T de l'intron 8. 33 patients ont eu une échographie scrotale. Aucune différence entre les sous-groupes n'a été constatée concernant les calcifications testiculaires, les varicocèles, les dilatations du rete testis et les atrophies testiculaires.

Une échographie transrectale a été réalisée chez 25 patients. L'absence des ampoules déférentielles, qui n'étaient pas un critère de sélection, n'était constatée que dans 74 % des cas. Les vésicules séminales étaient absentes ou atrophiques dans 80 % des cas et dilatées dans 10 %.

**Tableau 2. Caractéristiques génétiques de 47 patients présentant une absence des canaux déférents. ABCD : absence bilatérale des canaux déférents. AUCD : absence unilatérale d'un canal déférent. ARU : agénésie rénale unilatérale. V.S. : vésicule séminale, A : absente, D : dilatée, h : hypotrophique, Epid : épидидyme, Q : queue présente, T : seule tête présente, Vol. test. : volume testiculaire, Côté droit / côté gauche.**

N°	Mutations	Intron 8	Phénotype V.S.	Epid.	Vol. test.	Remarques	
1	$\Delta$ F508 / R117H	7T/9T	ABCD	A/D	T/T	20/20	
2	$\Delta$ F508 / R117H	7T/9T	ABCD	A/A	Q/T	15/12	
3	R117H / R347H	7T/9T	ABCD	A/D	Q/Q	15/15	Hétérozygote composite
4	$\Delta$ F508 / -	5T/7T	ABCD	A/h	T/T	10/13	Hétérozygote composite
5	$\Delta$ F508 / -	5T/9T	ABCD	A/A	Q/Q	16/17	Hétérozygote composite
6	$\Delta$ F508 / -	5T/9T	ABCD	A/D	Q/Q	15/15	
7	$\Delta$ F508 / -	5T/9T	ABCD	A/A	Q/Q	11/9	
8	$\Delta$ F 508 / -	5T/9T	ABCD	h/h	Q/Q	20/20	
9	$\Delta$ F508 / -	5T/9T	ABCD	A/A	T/T	17/9	
10	$\Delta$ F508 / -	5T/9T	ABCD	D/A	Q/Q	15/12	
11	$\Delta$ F 508 / -	5T/9T	ABCD	A/D	Q/Q	10/12	
12	$\Delta$ F508 / -	7T/9T	ABCD	A/N	T/Q	20/20	
13	$\Delta$ F508 / -	7T/7T	ABCD	A/A	Q/Q	20/18	
14	$\Delta$ F 508 / -	7T/7T	ABCD	h/h	Q/Q	10/9	
15	$\Delta$ F508 / -	9T/9T	ABCD	A/D	T/T	23/26	
16	1612delTT/ -	7T/9T	ABCD	A/D	T/T	8/7	
17	D1270N / -	7T/7T	ABCD	A/A	Q/Q	12/13	
18	R117H / -	7T/7T	ABCD	A/D	Q/Q	20/18	
19	2789+5G>A/ -	7T/7T	ABCD	A/A	T/T	18/13	
20	o/o	5T/5T	ABCD	D/A	Q/Q	8/10	
21	o/o	5T/9T	ABCD	A/A	T/Q	20/18	
22	o/o	5T/7T	ABCD	A/A	Q/Q	20/20	
23	o/o	5T/9T	ABCD	A/A	Q/Q	9/10	
24	o/o	5T/7T	ABCD	A/D	Q/Q	10/10	
25	o/o	5T/7T	ABCD	A/A	Q/Q	9/10	
26	o/o	5T/9T	ABCD	A/D	Q/O	12/0	Atrophie testiculaire gauche
27	o/o	5T/7T	ABCD	A/A	T/Q	9/8	
28	o/o	7T/7T	ABCD	A/A	Q/Q	15/15	
29	o/o	7T/7T	ABCD	A/h	Q/Q	11/11	
30	o/o	9T/9T	ABCD	h/h	T/T	7/8	
31	o/o	7T/7T	ABCD	h/A	Q/Q	12/12	
32	o/o	7T/7T	ABCD	A/A	Q/T	10/10	
33	o/o	7T/9T	ABCD	A/A	Q/Q	11/12	
34	o/o	7T/7T	ABCD	h/A	T/T	9/9	
35	o/o	7T/7T	ABCD	A/D	T/O	10/11	Dilatation bilatérale du rete testis
36	o/o	7T/7T	ABCD	A/D	T/T	12/12	
37	o/o	7T/9T	ABCD	A/A	T/Q	15/15	
38	o/o	7T/7T	ABCD	D/A	T/T	12/15	
39	o/o	7T/7T	ABCD+ARU	A/A	T/T	12/12	
40	o/o	7T/7T	ABCD+ARU	D/A	O/T	0/20	Absence de testicule droit
41	o/o	5T/9T	AUCD	D/A	Q/Q	13/13	
42	o/o	5T/7T	AUCD	D/A	Q/T	8/10	Hypotrophie testiculaire droite
43	o/o	5T/7T	AUCD	h/N	Q/Q	7/8	
44	o/o	7T/7T	AUCD	A/D	Q/O	12/0	Cryptorchidie gauche
45	o/o	7T/7T	AUCD	D/A	Q/Q	4/5	Hypotrophie testiculaire bilatérale
46	o/o	7T/7T	AUCD	h/h	Q/Q	8/8	
47	o/o	7T/7T	AUCD+ARU	D/A	Q/Q	15/15	

**Tableau 3 : Anomalies des vésicules séminales, des épидидymes et volume testiculaire moyen en fonction du génotype CFTR de 40 patients porteurs d'une absence bilatérale des canaux déférents.**  
**\*\* p = 0,01 (chi2) par rapport aux groupes notés \***

ABCD	2 mutations CFTR/5T		1 mutation	5T/5T	5T/ -	o / o	+ ARU
<b>Vésicules séminales</b>	n = 6	n = 16	n = 16	n = 2	n = 14	n = 22	n = 4
1 normale			1				
1 dilatée	2	3	3	1	2	3	
2 dilatées						1	
1 hypotrophique		1				3	1
2 hypotrophiques		1	1				
1 absente	2	4	4	1	2	6	1
2 absentes	1	3	3		5	4	1
<b>Au moins 1 VS absente</b>	100%	87,5%	87,5%	100%	100%	91%	100%
<b>Epидидymes</b>							
1 queue	1		1		3	2	
2 queues	1	6	4	1	4	3	
1 tête	1		1		2	3	1
2 têtes	1	2	3			5	1
abs					1	1	1
<b>Au moins une anomalie épидидymaire</b>	67%	25%*	50% 41%*	0	43%	73%**	100%
<b>Volume testiculaire</b>	16,2±2,9 ml	13,8±3,5	15,9±5,5	9±1	11,8±5,5	11,5±2,3	11,5±3,5

**Tableau 4 : Anomalies des vésicules séminales, des épидидymes et volume testiculaire moyen en fonction du génotype CFTR des 7 patients porteurs d'une absence unilatérale d'un canal déférent.**

AUCD	5T/ -	o / o	+ ARU
<b>Vésicules séminales</b>	<b>n = 6</b>	<b>n = 6</b>	<b>n = 2</b>
1 normale	1		
1 dilatée	2	2	1
1 hypotrophique	1		
2 hypotrophiques		1	
1 absente	2 (33%)	2 (33%)	1 (50%)
<b>Epидидymes</b>			
2 queues	2	2	1
1 queue	1	1	
1 tête	1		
absent		1	
<b>Au moins une anomalie épидидymaire</b>	33%	33%	0
<b>Volume testiculaire (ml)</b>	<b>9,8±4,9</b>	<b>6,2±3,8</b>	<b>15±0</b>

Sur les 4 patients sans mutation, 2 patients avaient des ampoules déférentielles et des vésicules séminales normales, ce qui n'est pas comparable à notre série qui excluait ce tableau.

Dans ces conditions, le pourcentage d'anomalies vésiculo-déférentielles paraît significativement plus faible dans le groupe sans mutation (50 %) par rapport au groupe avec au moins une mutation (100 %) ( $p < 0,05$ ).

Cette description suggère l'existence de formes uniquement proximales mais malheureusement l'épididyme n'a pas été décrit ni cliniquement, ni échographiquement.

Les auteurs concluent à une fréquence accrue des calcifications testiculaires dans les absences de déférents, à une corrélation entre le génotype CFTR, la fréquence et la sévérité des anomalies du tractus génital et à l'absence de corrélation du génotype avec les anomalies testiculaires.

A. de la Taille et coll. [13] décrivent 41 patients porteurs d'une absence bilatérale des canaux déférents confirmée chirurgicalement. La recherche de l'allèle 5T n'était pas effectuée, de même que l'échographie testiculaire. Les anomalies des vésicules séminales n'étaient pas corrélées à la présence ou à l'absence de mutation : 11 sur 23 versus 11 sur 18 respectivement. Huit patients avaient une agénésie unilatérale associée sans mutation retrouvée.

T. Casals et coll. [5] rapportent 110 patients porteurs d'une absence bilatérale des déférents dont 85 % ont au moins une mutation après analyse exhaustive du gène CFTR et 24 patients porteurs d'une AUCD dont 36 % ont au moins une mutation. Parmi les ABCD, les anomalies des vésicules séminales sont retrouvées dans les mêmes proportions dans le groupe avec mutation que dans le groupe sans mutation : 65 % versus 42 % respectivement.

De même, parmi les AUCD, on observe 67 % d'anomalies d'au moins une vésicule séminale dans le groupe avec mutation et 100 % dans le groupe sans mutation.

Les différences sont significatives seulement entre les groupes ABCD et AUCD: respectivement 6,2 % contre 58 % ( $p < 0,001$ ) concernant l'unilatéralité des anomalies des vésicules

séminales et 54 % contre 26 % ( $p < 0,05$ ) concernant la bilatéralité des anomalies.

La présence de mutation de la mucoviscidose n'est pas associée à des phénotypes particuliers d'ABCD. Sur le plan anatomique, les ABCD avec mutation ne se distinguent donc pas des ABCD sans mutation ce qui suggère un même mécanisme pathogénique.

## 2. Aspects génétiques

Certaines mutations rares et d'effet phénotypique modéré ne sont pas recherchées en routine, ce qui peut induire un biais comme dans notre série. Mak et coll. [26] ont comparé la fréquence des mutations dans les absences de déférents selon 2 méthodes : une recherche des 31 mutations les plus fréquentes et de l'allèle 5T, ou bien une analyse exhaustive du gène CFTR.

Ainsi, sur 64 patients porteurs d'une ABCD, 17 % avaient des mutations rares uniquement détectées par l'analyse exhaustive du gène et 28 % des 128 allèles analysés n'avaient pas de mutation. En terme de patients, 2 patients hétérozygotes pour une mutation rare n'étaient pas détectés, les autres mutations rares étant associées à des mutations déjà détectées. Dans le groupe des 10 patients porteurs d'une AUCD, aucune mutation rare n'était retrouvée.

En tentant d'extrapoler à notre série, 1 ou 2 patients hétérozygotes n'auraient pas été détectés, ce qui n'est pas significatif quant à l'analyse des phénotypes.

Le séquençage complet du gène et la recherche de variants introniques comme l'allèle 5T retrouvent une anomalie du gène CFTR dans près de 80 % des cas d'ABCD. Les 20 % restants pourraient avoir une mutation dans les gènes régulateurs du gène CFTR, ou bien dans d'autres gènes de protéines interférant avec la protéine CFTR pour expliquer le phénotype d'ABCD.

## 3. Pathogenèse des absences de déférents

Le rôle des mutations de la mucoviscidose dans le déterminisme des absences de déférents apparaît relatif car pas toujours nécessaire.

Les porteurs hétérozygotes d'une mutation de

la mucoviscidose (4 % de la population générale) sont loin d'être tous atteints d'une ACD puisque celle-ci ne toucherait que 1 à 2 % de cette population. Les pères d'enfants mucoviscidosiques n'ont en effet habituellement pas de problème de fertilité, et l'état hétérozygote ne représente pas une tare pour la sélection naturelle.

Cependant, les patients atteints d'ACD seraient environ 2 fois plus nombreux que les patients atteints de mucoviscidose (4 pour 10000), conformément à la plus grande fréquence des hétérozygotes (1/25) par rapport aux homozygotes (1/2500), mais pas proportionnellement.

Le terme « d'agénésie vésiculo-déférentielle » est fréquemment utilisé pour désigner l'ACD. Plusieurs arguments démontrent que l'ACD ne serait pas une « agénésie » au sens propre du terme : il s'agirait d'une involution des structures épидидymo-vésiculo-déférentielles et non d'une agénésie vraie par absence de développement du canal de Wolff d'où dérivent normalement ces structures. Plusieurs constatations étayaient cette hypothèse.

Les agénésies bilatérales des canaux de Wolff devraient être létales par suite de l'absence de formation des bourgeons urétéraux. Ces bourgeons permettent la différenciation des reins définitifs, qui, si elle n'a pas lieu, entraîne la mort du fœtus.

Des voies génitales normales ont été observées chez des nouveaux-nés, des nourrissons et des enfants prépubères porteurs de la mucoviscidose, mais une fibrose ou une atrophie de la partie distale du canal déférent ont également été décrites [5, 30, 39]. Deux canaux déférents avec deux épидидymes de perméabilité normale ont été décrits chez deux fœtus masculins, l'un homozygote  $\Delta F508$  de 12 semaines et l'autre hétérozygote composite  $\Delta F508/G542X$  de 18 semaines, dans le cadre d'interruption de grossesse [17]. Chez l'adulte, on trouve habituellement une fibrose des voies spermaticques ou une organisation de fibres musculaires lisses formant un conduit sans lumière. Ces constatations suggèrent que les structures dérivant des canaux de Wolff sont présentes durant la vie fœtale et même parfois dans la

petite enfance pour ensuite dégénérer.

Dans l'organogenèse, les canaux de Wolff précèdent et sont nécessaires au développement des canaux de Müller. Or, chez les femmes mucoviscidosiques, il n'existe aucune anomalie anatomique des voies génitales. Si une véritable agénésie des canaux de Wolff avait lieu, les canaux de Müller ne se développeraieent pas ou mal, entraînant des anomalies des trompes et de l'utérus [29].

Dans le système génital masculin, l'expression de l'ARNm CFTR est plus importante dans l'épithélium de la tête de l'épididyme que dans le corps et la queue. Cette expression est plus faible dans le canal déférent, minime dans le testicule et absente dans les vésicules séminales. La tête de l'épididyme est ainsi la portion des voies génitales qui exprime le plus l'ARNm CFTR tout au long de la vie de l'individu, et c'est cette portion qui est également toujours présente chez les patients mucoviscidosiques. Les portions des voies génitales exprimant le moins la protéine CFTR sont donc les plus sensibles à son absence ou à son dysfonctionnement. Les sécrétions épидидymaires sont riches en protéines telles que l'albumine, l' $\alpha$ -2 macroglobuline, la transferrine et l'androgen-binding protein, qui si elles ne sont pas suffisamment hydratées peuvent provoquer une obstruction des conduits excréteurs, ceci d'autant plus facilement que le diamètre intraluminal et le débit liquidien sont faibles comme dans le canal déférent. Cette physiopathologie est également observée dans les autres organes touchés par la mucoviscidose où l'absence de la protéine CFTR normale entraîne une obstruction des conduits des glandes excrétrices. Sachant que l'épididyme et le déférent forment un conduit de 7 mètres de long dont le diamètre interne est inférieur à 0,5 mm, ils constituent le canal excréteur le plus long et le plus étroit de l'organisme, donc le plus sensible à un phénomène obstructif dû à des sécrétions exocrines visqueuses.

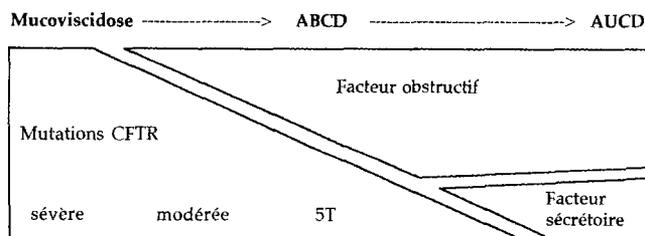
Dans la mucoviscidose, l'absence des canaux déférents est due à une obstruction progressive des canaux qui débute vraisemblablement dans leur partie distale (ampoule déférentielle ou canal éjaculateur) et entraîne une dégénérescence et une disparition de ceux-ci.

Cette involution n'est pas obligatoirement symétrique et complète, ce qui rend compte des observations cliniques, échographiques et chirurgicales constatées chez ces patients : présence inconstante du corps, de la queue ou même de la tête de l'épididyme, d'une portion scrotale très fine du canal déférent, d'une ou des deux vésicules séminales.

Cette pathogenèse est également applicable aux ABCD sans mutation de la mucoviscidose. Dans ces cas se pose le problème d'autres facteurs d'obstruction précoce des déférents ne faisant pas intervenir la protéine CFTR (Figure 2). Ces facteurs peuvent être d'origine génétique ou acquise comme des états de déshydratation ou d'infections génitales...

L'hypothèse d'un facteur sécrétoire se pose dans les ACD sans mutation ou avec l'allèle 5T, où l'on constate un plus faible volume testiculaire, ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été rapporté.

Quant aux ACD avec une agénésie rénale, la notion selon laquelle elles ne sont jamais associées à une mutation de la mucoviscidose, a été récemment remise en cause par Casals et coll. [24] puisqu'ils identifient des mutations chez



**Figure 2 : Représentation schématique des rôles respectifs des mutations de la mucoviscidose et de facteurs hypothétiques impliqués dans la pathogenèse des absences des canaux déférents.**

31 % des patients (n = 16) porteurs d'une ACD avec agénésie rénale en réalisant une analyse exhaustive du gène CFTR.

## V. CONCLUSION

Le phénotype anatomique des voies excrétrices du sperme n'est pas corrélé au génotype de la mucoviscidose dans une population de 47 patients porteurs d'une absence des canaux déférents, après analyse des 13 mutations les

plus fréquentes du gène CFTR et de l'allèle 5T.

Les mêmes anomalies phénotypiques sont observées chez les patients porteurs de différents types de mutations et chez les patients sans mutation.

Ces résultats suggèrent que d'autres déterminants génétiques et/ou environnementaux sont nécessaires pour expliquer la survenue de telles anomalies et que ces facteurs sont mêmes prédominants et exclusifs chez les patients non porteurs de mutations (15 à 20 % des cas).

Le volume testiculaire est abaissé chez les patients sans mutation ou porteurs de l'allèle 5T seul. L'hypothèse de l'existence d'un facteur sécrétoire surajoutée ou d'un facteur mixte (obstructif et sécrétoire) dans ces formes peut être posée.

## REFERENCES

1. ANGUIANO A., OATES R.D., AMOS J.A. *et al.* : Congenital absence of the vas deferens : a primarily genital form of cystic fibrosis. *JAMA*, 1992, 267 : 1794-7.
2. AUGARTEN A., YAHAV Y., KEREM B.S., HALLE D., LAUFER J. *et al.* : Congenital bilateral absence of vas deferens in the absence of cystic fibrosis. *Lancet*, 1994, 344 : 1473-4.
3. BEAR CE. *et al.* : Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). *Cell*, 1992, 68 : 809-18.
4. BREMER S., HOOF T., WILKE M. *et al.* : Quantitative expression patterns of multidrug-resistance P-glycoprotein (MDR 1) and differentially spliced cystic-fibrosis transmembrane-conductance regulator mRNA transcripts in human epithelia. *Eur. J. Biochem.*, 1992, 206 : 137-49.
5. CASALS T., BASSAS L., EGOZCUE S. *et al.* : Heterogeneity for mutations in the CFTR gene and clinical correlations in patients with congenital absence of the vas deferens. *Hum. Reprod.*, 2000, 15 : 1476-83.
6. CHILLON M., CASALS T., MERCIER B., BASSAS L., LISSENS W., *et al.* : Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N. Engl. J. Med.*, 1995, 332 : 1475-80.
7. CHU C.S., TRAPNELL B.C., CURRISTIN S., CUTTING G.R., CRYSTAL R.G. : Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA. *Nat. Genet.*, 1993, 3 : 151-6.
8. CHU C.S., TRAPNELL B.C., MURTAGH J.J. JR. *et*

- al.* : Variable deletion of exon 9 coding sequences in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mRNA transcripts in normal bronchial epithelium. *EMBO J.*, 1991, 10 : 1355-63.
9. CLAUSTRES M., GUITTARD C., BOZON D. *et al.* : Spectrum of CFTR mutations in cystic fibrosis and congenital absence of the vas deferens in France. *Hum. Mutat.* 2000, 16 (2) : 143-56.
  10. CONSORTIUM CFGA. 1996. Cystic fibrosis mutation data. Banque de données non publiée, disponible sur Internet. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>
  11. The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1993, 329 : 1308-13.
  12. DELANEY S.J., RICH D.P., THOMSON S.A. *et al.* : Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator splice variants are not conserved and fail to produce chloride channels. *Nat. Genet.*, 1993, 4 : 426-31.
  13. DE LA TAILLE A. RIGOT JM, MAHE P. *et al.* : Correlation between genito-urinary anomalies, semen analysis and CFTR genotype in patients with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Br. J. Urol.*, 1998, 81 : 614-19.
  14. DORK T., DWORNICZAK B., AULEHLA-SCHOLZ C., WIECZOREK D., *et al.* : Distinct spectrum of CFTR gene mutations in congenital absence of the vas deferens. *Hum. Genet.*, 1997, 100 : 365-77.
  15. DUBIN L., AMELAR R.D. : Etiological factors in 1294 consecutive cases of male infertility. *Fertil. Steril.*, 1971, 22 : 469.
  16. DUMUR V., GERVAIS R., RIGOT J.M. *et al.* : Abnormal distribution of CF  $\Delta$ F 508 allele in azoospermic men with congenital aplasia of epididymis and vas deferens. *Lancet*, 1990, 336 :
  17. GAILLARD D.A., CARRE-PIGEON F., LALLEMAND A. : Normal vas deferens in fetuses with cystic fibrosis. *J. Urol.* 1997, 158 : 1549-52.
  18. GAN K.H., VEEZE H.J., VAN DEN OUWELAND A.M.W. *et al.* : A cystic fibrosis associated with mild lung disease. *N. Engl. J. Med.* 1995, 333 : 95-9.
  19. GIRODON E., COSTES B., CAZENEUVE C., FANEN P., GOOSSENS M. : Génétique de la mucoviscidose. *Médecine Thérapeutique*, 1997, 3 : 431-40.512.
  20. HOLSCLAW D.S., PERLMUTTER A.D., JOCKIN H., SHWACHMANN H. : Genital abnormalities in male patients with cystic fibrosis. *J. Urol.*, 1971, 106 : 568-74.
  21. JARVI K., MCCALLUM S., ZIELENSKI J. *et al.* : Heterogeneity of reproductive tract abnormalities in men with absence of the vas deferens : role of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *Fertil. Steril.*, 1998, 70 : 724-8.
  22. JEQUIER A.M., ANSELL I.D., BULLIMORE N.J. : Congenital absence of the vasa deferentia presenting with infertility. *J. Androl.*, 1985, 6 : 15-9.
  23. KAPLAN E., SHWACHMANN H., PERLMUTTER A.D., RULE A., KHAW K.T., HOLSCLAW D.S. : Reproductive failure in males with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.*, 1968, 279 : 65.
  24. KEREM B., ROMMENS J.M., BUCHANAN J.A. *et al.* : Identification of the cystic fibrosis gene : genetic analysis. *Science*, 1989, 245 : 1073-80.
  25. LANDING B.H., WELLS T.R., WANG C.I. : Abnormality of the epididymis and vas deferens in cystic fibrosis. *Arch. Pathol.*, 1969, 88 : 569.
  26. MAK V., ZIELENSKI J., TSUI L.C. *et al.* : Proportion of cystic fibrosis gene mutations are not detected by routine testing in men with obstructive azoospermia. *JAMA*, 1999, 281 : 2217-24.
  27. MCKUSICK V.A. : Congenital bilateral aplasia of vas deferens. In : *Mendelian inheritance in man.* Johns Hopkins University Press, 8th ed. Baltimore 1988 : 1226.
  28. MOREL Y., ANDRE J., URING-LAMBERT B., *et al.* : Rearrangements and point mutations of P450C21 genes are distinguished by five restriction endonuclease haplotypes identified by a new probing strategy in 57 families with congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Invest.*, 1989, 83 : 527-36.
  29. OATES R.D., AMOS J.A. : The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J. Androl.*, 1994, 15 : 1-8.
  30. OPPENHEIMER E.H., ESTERLY J.R. : Observations on cystic fibrosis of the pancreas.V. Developmental changes in the male genital system. *J. Ped.* 1969, 75 : 806.
  31. RIORDAN J., ROMENS J., KEREM B. *et al.* : Identification of the cystic fibrosis gene : cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 1989, 245 : 1066-73.
  32. SLOMSKI R., SCHOESSER M., BERG L.P. *et al.* : Omission of exon 12 in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene transcripts. *Hum. Genet.*, 1992, 89 : 615-9.
  33. STRONG T.V., WILKINSON D.J., MANSOURA M.K., *et al.* : Expression of an abundant alternatively spliced form of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene is not associated with a cAMP activated chloride conductance. *Hum. Mol. Genet.*, 1993, 3 : 151-6.
  34. TAUSSIG L.M., LOBECK C.C., DI SANT'AGNESE P.A., ACKERMAN D.R., KATTWINKEL J. : Fertility in males with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.*, 1972, 287 : 586.
  35. TIZZANO E.F., CHITAYAT D., BUCHWALD M. : Cell-specific localization of CFTR mRNA shows developmentally regulated expression in human fetal tissues. *Hum. Mol. Genet.*, 1993, 2 : 219-22.
  36. TIZZANO E.F., SILVER M., CHITAYAT D., BENICHOU J.C., BUCHWALD M. : Differential cellular expression of CFTR in human reproductive tissues : clues for the infertility in patients with CF. *Am. J. Pathol.*, 1994, 144 : 906-14.

37. TREZISE A.E.O., CHAMBERS J.A., WARDLE C.J., GOULD S., HARRIS A. : Expression of the cystic fibrosis gene in human fetal tissues. *Hum. Molec. Genet.*, 1993, 2 : 213-18.
38. TREZISE A.E.O., *et al.* : CFTR expression is regulated during both the cycle of the seminiferous epithelium and the oestrous cycle of rodents. *Nature Genet.*, 1993, 3 : 157-64.
39. VALMAN H.B., FRANCE N.E. : The vas deferens in cystic fibrosis. *Lancet*, 1969, 2 : 566.

**gene was present in 64% of cases: 47% had the  $\Delta F 508$  mutation and 63% had the 5T allele. No mutation was detected in seventeen patients, including 3 patients with unilateral renal agenesis and 3 patients with unilateral absence of the vas deferens.**

**No differences were observed for seminal vesicles and symmetry of vesicular and epididymal abnormalities between patients with or without CFTR gene mutations, but epididymal abnormalities were significantly more frequent in the group without mutation ( $p = 0.01$ ).**

**Testicular volumes were significantly lower in the patients without mutation or with the 5T allele only, than in the patients with at least one CFTR gene mutation:  $10.7 \pm 4.1$  ml versus  $15.1 \pm 4.5$  ml, respectively ( $p < 0.001$ ).**

**In conclusion, in cases of isolated absence of the vas deferens, there is no difference in sperm duct abnormalities between patients with or without CFTR gene mutation. These results suggest that other genetic or environmental determinants are required to explain a common pathogenesis for these malformations. The decreased testicular volume of patients without CFTR gene mutation or with the 5T allele only suggests the existence of an unidentified secretory or mixed factor involved in these forms of absence of the vas deferens.**

***Key-words:* male infertility, azoospermia, absence of the vas deferens, cystic fibrosis, CFTR gene mutations.**

## ABSTRACT

**Lack of correlation between reproductive tract abnormalities and CFTR gene mutations in men with absence of the vas deferens**

F. ROBERT, F. BEY-OMAR, J. ROLLET,  
J.F. LAPRAY, Y. MOREL.

**Absence of the vas deferens is a rare cause of male infertility, associated with mutations in the cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene in about 80% of cases.**

**Only limited published data are available concerning the correlation between genotype and reproductive tract abnormalities observed in this disease: presence or absence of seminal vesicles and parts of the epididymis, symmetrical or asymmetrical lesions, testicular volumes.**

**We screened 47 patients for the 13 most common CFTR mutations on the cystic fibrosis gene and for the 5-thymidine variant of the polythymidine tract of intron 8. Renal, scrotal and transrectal ultrasonography was performed in each patient to explore the testes and reproductive tract. All patients presented absence of the ampullae of the vas deferens.**

**Forty patients presented bilateral absence of the vas deferens and 7 presented unilateral absence of the vas deferens.**

**At least one mutation of the cystic fibrosis**