

Fécondation assistée avec sperme épiddymaire

R. SCHOYSMAN, L.SEGAL, P. VAN DER ZWALMEN, M. NIJS, G.BERTIN

Van Helmont Hospital, Vaartstraat 42, Vilvoorde, Belgique

RÉSUMÉ

La situation de la fécondation assistée avec sperme épiddymaire est revue dans son ensemble. Les indications ainsi que les techniques de prélèvement sont détaillées. Une revue la plus complète possible des résultats obtenus ce jour par toutes les équipes pratiquant ces approches thérapeutiques est jointe. Les auteurs y ajoutent leurs propres résultats. La discussion soulève les difficultés de compréhension de la mobilité des spermatozoïdes prélevés dans les têtes épiddymaires, en contradiction avec les notions classiques de physiologie de l'épididyme. Les résultats globaux mondiaux font état d'un taux de succès de 10% de grossesses par tentative.

Mots clés: Fécondation médicalement assistée, Sperme épiddymaire.

INTRODUCTION.

Depuis des années la technique de fécondation *in vitro* a été utilisée pour solutionner des infertilités liées à l'oligospermie. Il est à l'heure actuelle routinier dans toutes les équipes de s'occuper de sperme modérément voir sévèrement oligospermique et d'obtenir des fécondations et des développements embryonnaires. Toutes les situations andrologiques ne sont cependant pas résolues pour autant. Il existe en effet en clinique andrologique de nombreuses situations d'azoospermie excrétoire avec une spermatogénèse normale,

les spermatozoïdes sont retenus dans une partie plus ou moins étendue de l'épididyme dont le transit est bloqué, soit par sclérose post-infectieuse inopérable, soit par agénésie d'une étendue variable de l'épididyme et du déférent. Au cours de l'extraordinaire développement de la fécondation *in vitro* il était logique que naisse l'idée de prélever des spermatozoïdes dans ces épiddymes engorgés et de les utiliser en vue de fécondation d'ovocyte.

INDICATIONS.

1. Agénésie du canal déférent.

Les agénésies du canal déférent sont loin d'être rares et représentent 2 p. 100 de toutes les azoospermies d'une part, et 15 p. 100 des azoospermies excrétoires d'autre part. Ces chiffres sont évidemment fluctuants d'une équipe à l'autre, en tout premier lieu pour des raisons de recrutement.

L'agénésie des canaux déférents ne donne pas lieu à une situation identique pour tous les cas. Une agénésie déférentielle classique comporte l'absence des vésicules séminales, du canal déférent, de la queue et du corps épiddymaires. Le patient n'est porteur que de têtes épiddymaires constituées anatomiquement des seuls canaux efférents. Cliniquement, cela se traduit par un patient azoospermique avec un volume d'éjaculat extrêmement réduit, uniquement constitué de sécrétions prostatiques, étant donné l'absence des vésicules séminales. L'examen génital montre des testicules de

développement normal et des têtes épидидymaires gonflées formant le *globus major* classique. De toutes les agénésies observées, cette situation se retrouve chez la moitié des patients. Il y a en outre un certain nombre de variantes de cette anomalie. En ce qui concerne la tête épидидymaire, la situation n'est pas identique d'un cas à l'autre. Si, dans la moitié des cas, on peut retrouver lors de l'exploration scrotale une tête épидидymaire longue de 20 mm, gorgée de tubules bien dilatés et visibles à l'oeil nu sous la séreuse, il existe de nombreuses situations où toute la tête de l'organe est réduite à un nodule flasque, vide de spermatozoïdes et de dimensions fort réduites. Il n'empêche que, dans ces cas, la spermatogénèse peut persister normalement. L'examen clinique permet dans l'ensemble de faire la différenciation entre les *globus major* bien dilatés et ceux qui sont de volume réduit et de contenance nulle, mais il y a un certain nombre de cas intermédiaires où l'examen clinique ne suffit pas et où seule l'exploration scrotale permet de se rendre compte de la situation exacte.

2. Oblitérations du canal déférent.

Les oblitérations du canal déférent peuvent être dues à des déférentites accompagnant des épидидymites oblitérantes et rendant une vaso-épидидymostomie inefficace. Dans la majorité des cas rencontrés en clinique andrologique, il s'agit toutefois de vasectomies regrettées. La solution pour ces patients est la réalisation d'une vaso-vasostomie. Mais dans les meilleures séries, de 10 à 15 % des vaso-vasostomies n'aboutissent pas au succès espéré et le patient reste azoospermique.

3. Oblitérations post-inflammatoires de l'épididyme.

La plus grande partie des azoospermies excrétoires sont des séquelles d'infections des voies séminales. La lésion la plus nettement reconnaissable est l'oblitération de la queue épидидymaire par une épидидymite blennorragique. En amont de l'obstacle, la spermatogénèse

reste ininterrompue et la tête de l'épididyme se met sous tension par la poussée des spermatozoïdes. Mais il y a évidemment de nombreuses variantes de cette pathologie, qui laissent au chirurgien des situations disparates dont 60 p. 100 seulement peuvent faire l'objet d'une tentative de reperméabilisation.

En résumé, les trois situations précitées où une possibilité chirurgicale est exclue ou vouée à l'échec reviennent à un status d'azoospermie alors qu'au niveau de l'épididyme il existe l'éventuelle possibilité de récolter des spermatozoïdes et de les utiliser dans un programme FIV.

PRELEVEMENT DU SPERME ÉPIDIDYMAIRE.

1. Le moment du prélèvement.

Le moment du prélèvement du sperme épидидymaire est évidemment déterminé par celui de la récolte des ovocytes après stimulation ovarienne. Lorsque la situation andrologique est connue avec précision, à la suite d'une exploration scrotale, on peut en un premier temps faire le prélèvement des ovocytes. S'il persiste un doute quant à la présence de spermatozoïdes dans l'épididyme, il est préférable d'effectuer d'abord la tentative de prélèvement des spermatozoïdes. Cependant, ces deux approches peuvent être modifiées par l'éventuel désir du couple de faire usage de sperme de donneur en cas de prélèvement épидидymaire dépourvu de spermatozoïdes.

Notre expérience récente nous mène actuellement à prélever les spermatozoïdes épидидymaires 24 heures avant les ovocytes étant donné l'amélioration significative de la mobilité après ce délai. L'intervention se fait sous anesthésie générale et nécessite 2 opérateurs, du matériel microchirurgical et un microscope opératoire.

2. Technique de prélèvement.

Le testicule est extériorisé de sa logette et entouré de compresses humides pour l'immobiliser, l'épididyme étant placé au dessus.

Les canaux épидидymaires sont bien visibles en divers endroits sous la séreuse et présentent une couleur chamois principalement dans la partie terminale de l'organe ainsi isolé.

La distribution, sur la surface de l'épididyme, de zones à tubes gonflés bien reconnaissables alternant avec des zones paraissant "vides", est très irrégulière. En théorie, on pourrait s'attendre à la présence de tubes dilatés surtout dans la partie distale de la tête, mais il est loin d'en être ainsi en pratique, et il est même fréquent de trouver un ou plusieurs endroits épars où se reconnaissent des zones de stase. Aussi la séreuse épидидymaire est incisée sur 6 à 7 mm. par microbistouri à l'endroit le plus distal du *rete* où l'on peut observer des tubes dilatés. Si en microchirurgie courante, une hémostase méticuleuse est nécessaire, elle le sera encore d'avantage dans ces conditions de prélèvement de sperme épидидymaire. Dès que des tubules épидидymaires sont bien visibles, l'un d'eux sera progressivement libéré par microdissection, tout saignement est immédiatement contrôlé afin qu'au moment de l'incision du tubule il y ait absence totale de suintement sanguin.

Le tubule préparé est incisé longitudinalement par microbistouri à cataracte ou microbistouri diamant. Une dizaine de seringues à tuberculine contenant 0,2 ml. de milieu de culture et surmontées d'un fin cathéter ont été préparées. Dès l'ouverture du tubule le chirurgien introduit l'extrémité du cathéter dans l'incision et masse progressivement la tête épидидymaire maintenue entre pouce et index tandis que son aide, sur ses instructions, pratique des petites aspirations. L'échange des seringues est fréquent et le biologiste examine aussitôt le contenu de chaque cathéter.

Sur base des données physiologiques, on s'attend à ce que dans la partie la plus éloignée du *rete testis* se trouvent les spermatozoïdes ayant parcouru la plus longue distance épидидymaire et ayant donc acquis la maturation la plus favorable pour l'initiation de la motilité.

En cas de rétention par agénésie, il est fréquent de constater que les prélèvements distaux ne donnent qu'un contenu très pauvre en spermatozoïdes, généralement immobiles. Il faut alors répéter la procédure en amont.

En réparant un tubule 5 ou 10 mm. plus haut, on note une amélioration progressive au fur et à mesure qu'on se rapproche du *rete testis*. Dans notre expérience, c'est à 8 mm. du *rete* qu'on a la meilleure chance de trouver des spermatozoïdes abondants et présentant un certain degré de mobilité, qui est rarement rectiligne et généralement du type intermédiaire. Si d'aucuns préconisent d'explorer d'emblée la partie initiale de la tête épидидymaire, nous ne le faisons pas systématiquement étant donné des prélèvements distaux parfois favorables.

La technique de prélèvement est quelque peu différente lorsqu'il s'agit d'une vasectomie non réparable parce que, dans ce cas, c'est l'ensemble de l'épididyme qui est gorgé de spermatozoïdes et cette situation se rapproche davantage de la situation physiologique idéale, c'est-à-dire que c'est dans la partie terminale de la queue épидидymaire qu'on retrouve les spermatozoïdes ayant la meilleure motilité.

Quant aux lésions post-inflammatoires, leur variation considérable ne permet pas de définir une ligne de conduite claire, mais dans l'ensemble, les oblitérations épидидymaires inopérables ne laissent qu'une petite zone de prélèvement possible dans la partie initiale de la tête épидидymaire.

La durée totale d'un prélèvement de sperme épидидymaire est de 45 à 60 minutes. La séreuse épидидymaire est suturée par deux points prolène 6.0. Il est inutile de suturer le tubule incisé. Le scrotum est fermé de façon habituelle. D'après le résultat de la ponction, la quantité et la qualité du sperme recueilli, le prélèvement sera soit uni- soit bilatéral.

Il va sans dire que la coordination avec le biologiste doit être parfaite afin que le sperme

recueilli puisse être traité aussitôt par les techniques adéquates.

La technique d'une incision unique de l'épididyme, la plus distale possible du *rete testis*, avec expression progressive de son contenu, n'est plus guère utilisée.

3. Traitement du sperme.

La seringue de tuberculine surmontée du cathéte: qui a servi au prélèvement du sperme épидидymaire est vidée dans 0,5 ml de milieu de culture et cette suspension de spermatozoïdes est alors traitée sur une minicolonne de Percoll. Après une centrifugation de 10 minutes à 300 tours, le culot dans la suspension de 100% Percoll est isolé, lavé et recentrifugé pour obtenir la suspension de spermatozoïdes la plus pure possible, libérée de tout débris cellulaire et d'éventuels globules rouges. Les ovocytes sont d'emblée déposés dans ce milieu, et les habituelles conditions de culture sont observées.

RÉSULTATS.

Les résultats rapportés sont d'une part ceux de la littérature et d'autre part ceux de notre expérience personnelle.

1. La littérature.

• *TEMPLE-SMITH et coll.* [11] ont publié une première grossesse en 1985, grossesse résultant d'un embryon formé à partir de spermatozoïdes prélevés sur le segment 2 de Holstein, donc au niveau du corps épидидymaire. Temple-Smith avait aussi obtenu des fécondations avec des spermatozoïdes provenant des segments initiaux de l'épididyme, pratiquement au niveau des canaux efférents. L'expérience globale de Temple-Smith a été publiée en octobre 1990 au Congrès de la Société Américaine de Fertilité portant sur 92 patients, dont certains ont été ponctionnés jusqu'à 5 fois : l'auteur fait mention d'un taux de fécondation de 40% dans les observations les plus récentes mais le nombre total de gros-

sesses obtenues n'est que de 4 qui se sont toutes terminées par un accouchement normal à terme.

• *SILBER, ASCH et coll.* [8] ont obtenu et publié en 1987 deux grossesses sur une série de 23 tentatives avec du sperme provenant de la tête épидидymaire. Par la suite certaines communications de Silber [9] ont été particulièrement impressionnantes. Cependant, cet auteur a communiqué récemment (septembre 1992) l'ensemble de ces résultats de 5 séries de tentatives. Dans une première série de 32 tentatives il a obtenu 10 grossesses, une seconde série de 16, 2 grossesses, une quatrième série de 13, 0 grossesse et la dernière série de dix huit tentatives amenait à 5 grossesses. Soit au total sur 100 tentatives 22 grossesses dont 14 évolutives.

• *BELKER* [1] a fait récemment une enquête aux Etats-Unis concernant toutes les tentatives réalisées et a fait état de 219 tentatives. 23 d'entre elles ont été interrompues par nombre insuffisant de spermatozoïdes. Le nombre total de grossesses est de 10%. 9% des grossesses étaient chimiques et 6% ont mené à des fausses-couches. Cette statistique globale inclut tant les agénésies déférentielles que les échecs de réparation de vasectomie. Il est intéressant de noter que l'enquête de cet auteur démontre que si plus de 10 ovocytes avaient été récoltés chez la partenaire, le taux de grossesses montait à 19% par tentative, alors qu'avec moins de 10 il restait aux environs de 7%. Ce mélange d'indications explique les résultats globaux de grossesse qui sont de 18% par tentative pour des spermes prélevés au niveau du canal déférent, 14% au niveau de la queue épидидymaire, 16% au niveau du corps épидидymaire, 4% au niveau de la tête de l'épididyme et 9% au niveau des canaux efférents testiculaires. Les spermatozoïdes étaient généralement traités par pentoxyfiline et désoxyadénosine.

Les résultats sur des séries moins importantes ont été rapportés par *BUSTILLO et coll.* [2],

JEQUIER et coll. [4], OLAR et coll. [5], PRYOR et coll. [6], TANAKA et coll. [10] ainsi que d'autres qui ont fait l'objet de communications personnelles (LUNGELMAYER, Vienne, BERNARD, Grenoble et COHEN, JARDIN, DELAFONTAINE, Paris, COSTA, Nîmes).

En France, le travail de COGNAT et coll. [3] a permis d'obtenir les résultats les plus intéressants, puisque deux grossesses gemellaires ont été obtenues sur 14 cas d'agénésie déférentielle.

2. Nos résultats [7] sont résumés dans le tableau suivant qui rassemble les situations d'agénésies déférentielles, d'oblitérations épидидymaires après vasectomie et d'oblitérations post-inflammatoires.

Nous voudrions aussi signaler les tentatives de prélèvement de sperme déférentiel en cas d'éjaculation rétrograde encore que ces situations ne fassent pas exactement partie des problèmes de rétention épидидymaire. L'éjaculation rétrograde se traite par des inséminations avec du sperme récolté dans les urines et les modalités thérapeutiques sont bien connues. Néanmoins les succès sont rares et après six mois de tentatives d'inséminations intra-conjugales, nous avons pris ces cas dans notre programme de fécondation *in vitro*. Les résultats ont été extrêmement favorables puisque sur 8 tentatives 5 grossesses évolutives avec naissance normale ont été obtenues.

DISCUSSION.

On ne peut reprendre ici les détails de la maturation des spermatozoïdes épидидymaires ainsi que le déclenchement de leur motilité. Il suffit de rappeler qu'au fur et à mesure de leur progression dans l'épididyme, des changements bien observables des spermatozoïdes, portant sur leur surface et leur type de motilité, ont été remarqués [7, 9, 3]. Ils résultent d'une interrelation avec les sécrétions épидидymaires contenant des glycoprotéines spécifiques parmi lesquelles la "forward motility protein". Il semble

que la possibilité d'acquérir leur motilité n'apparaît qu'après le passage par la tête de l'épididyme et donc à l'arrivée dans la partie médiane, voire la queue de l'organe.

Or, en cas de spermatozoïdes emmagasinés dans une tête épидидymaire isolée, la succession des stades de motilité progressivement acquise est totalement perturbée.

Cette contradiction entre les données de la physiologie et la motilité des spermatozoïdes dans les têtes épидидymaires est à l'heure actuelle difficile à comprendre. Une redistribution des sécrétions épидидymaires est l'explication la plus plausible mais attend d'être confirmée par les investigations biochimiques adéquates.

Dans l'état actuel de nos connaissances, on peut conclure que la maturation spermatique dans l'épididyme par rapport à un segment bien défini est une notion qui montre une certaine flexibilité et qu'il n'y a pas de segment épидидymaire qui interviendrait d'une façon essentielle dans l'initiation de la mobilité des spermatozoïdes. Ceci a d'ailleurs déjà été observé lors de grossesses obtenues par des spermes résultant d'anastomoses épидидymo-déférentielles faites extrêmement proches du *rete testis*.

Il faut admettre à ce jour que les choses ne se passent pas de la même manière dans les conditions physiologiques lorsqu'il y a écoulement normal et permanent de fluide épидидymaire et dans les situations d'obstruction quelle qu'en soit la cause. Lorsqu'il y a écoulement normal, les spermatozoïdes sont normalement immobiles dans la tête et ne deviennent mobiles et féconds que dans le déférent, alors que s'il y a obstruction, ces mêmes spermatozoïdes épидидymaires sont souvent déjà mobiles dans la tête.

Les résultats obtenus montrent qu'on peut obtenir des grossesses en réalisant une FIV avec des spermatozoïdes prélevés dans la tête de l'épididyme, en cas d'agénésie déférentiel-

le, sans qu'il soit nécessaire de tenter une maturation *in vitro*. L'agénésie déférentielle constitue donc une situation clinique intéressante, où les spermatozoïdes paraissent avoir subi une maturation "raccourcie". Le traitement de ces gamètes reste néanmoins délicat, et notre étude démontre clairement la supériorité de la technique de centrifugation sur gradient de Percoll à 2 couches, sur toutes les autres méthodes essayées dans notre laboratoire.

Résultats de l'utilisation de sperme épидидymaire dans un programme I.V.F.

Nombre d'ovocytes	516
Nombre d'embryons	72
Fécondations	72/516 (14%)
Nombre de transferts	26
Transfert par ponction avec sperme mobile	26/69 (28%)
Nombre de grossesses	6
Grossesses/Essai	6/69 (8%)
Grossesses/ponction positive avec sperme mobile	6/56 (10%)
Grossesses/Transfert	6/26 (20%)
Nombre de fausses-couches	3 (50%, deux fausses-couches pendant le premier trimestre, une fausse-couche pendant le deuxième trimestre)

CONCLUSION.

L'obtention de grossesses avec sperme épидидymaire est une réalité. Si cette technique a mis à jour un fait surprenant à savoir l'obtention de spermatozoïdes fécondants dans le segment initial de l'épididyme, cette observation ne met cependant pas le rôle physiologique de cet organe en doute pour autant. D'une part dans les meilleures équipes le taux de fécondation des ovocytes avec spermatozoïdes épидидymaires, même bien mobiles soit directement soit après préparation sur une minicolonne de Percoll ne dépasse pas les

30%. D'autre part nous ne possédons pas à l'heure actuelle des données précises sur une probable redistribution de la sécrétion des tubules épидидymaires ou de la diffusion de ces produits sécrétoires. En outre, le nombre élevé de fausses-couches, entre autre dans notre série personnelle, donne à penser que la qualité embryonnaire est dans une certaine mesure compromise et le rôle physiologique d'un épидидyme sain de ce point de vue a déjà été soulevé. Si à l'heure actuelle le taux de grossesses finalement obtenues atteint à peine 10%, cela ne peut qu'inciter toutes les équipes à perfectionner chaque pas de la technique.

Même s'il est douteux que les résultats de fécondation *in vitro* avec sperme épидидymaire égaleront jamais les meilleurs résultats obtenus à ce jour pour les autres indications de la FIV nous ne pouvons oublier la situation de la fécondation *in vitro* il y a 10 ans. A cette époque, en dehors des équipes pilotes de Cambridge et de Melbourne, un taux de succès de 10% restait encore un but lointain auquel beaucoup désespéraient d'arriver.

RÉFÉRENCES

1. BELKER, A. Survey of results of epididymal aspiration in U.S.A. En preparation. (J Urol.)
2. BUSTILLO, M., RAJFER. Pregnancy following insemination with sperm aspirated directly from the vas deferens. Fertil. Steril. 1986, 46 : 144.
3. COGNAT, M., GUERIN, J.F., MATHIEU, C., SCHOYSMAN, R. Prélèvement de spermatozoïdes épидидymaires : technique et applications. Contracept Fertil Sex. 1991, 19 : 763.
4. JEQUIER, AM., CUMMINS, JM., GEARON, C., APTED, SL., JOVICH, JM., JOVICH, JL. A pregnancy achieved using sperm from the epididymal caput in idiopathic obstructive azoospermia. Fertil. Steril. 1990, 53 : 1104.
5. OLAR, TT., LA NASA, J., DICKEY, RP., TAYLOR, SN., CUROL, DN. Fertilization of human ovocytes by microinjection of human sperm aspirated from the caput epididymis of an individual with obstructive azoospermia. J. In Vitro Fert. Embryo. Trans. 1990, 7 : 160.
6. PRYOR, J. Surgical retrieval of epididymal spermatozoa. Lancet 1987, 2 : 1341.

7. SCHOYSMAN, R., BERTIN, G., VAN DER ZWALMEN, P., SEGAL L. Utilisation du sperme epididymaire dans un programme d' FIV. Progrès en Andrologie 1989, 3 : 137.
8. SILBER, SJ., ORD, R., BORRERO, C., BALMACEDA, J., ASCH, RR. New treatment for infertility due to congenital absence of vas deferens. Lancet 1987, 2 : 850.
9. SILBER, SJ., BALMACEDA, J., BORRERO, C., ORD, T., ASCH, R. Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis : a new treatment for congenital absence of the vas deferens. Fertil. Steril. 1988, 50 : 525.
10. TANAKA, A. A new sperm collection method for in vitro fertilization : collection at tail of epididymis. Human Reprod. 1992, 7 . 838.
11. TEMPLE-SMITH, PD., SOUTHWICK, GJ., YATES, CA., TROUNSON, AO., DE KRETZER, DM. Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis. J. In Vitro fert. Embryo Transfer 1985, 2 : 119.

SUMMARY.

Assisted conception with sperm aspiration

R. SCHOYSMAN, L.SEGAL, P. VAN DER ZWALMEN, M. NIJS, G.BERTIN

The total problem of sperm aspiration and assisted conception is surveyed. Both indications and techniques are reviewed. An up to date review of the results obtained in all the teams dealing with this problems is joined to this survey. The discussion deals with the surprisingly good sperm motility at epididymal levels were it should not be expected in normal epididymal physiology. The overall worldwide results offer a 10% pregnancy rate by this approach.

Key words. In vitro fertilization, Sperm aspiration