

Facteurs de croissance et Cytokines : nouveaux marqueurs gonadiques dans l'évaluation de l'infertilité masculine

S. HAMAMAH¹, J-C. SOUFIR², A. HAZOUT³, M. BENAHMED⁴

1. Centre de Fécondation *in vitro*, Hôpital A. Béclère 157 rue de la Porte de Trivaux, 92141 Clamart
2. Centre d'Andrologie biologique, CHU de Bicêtre, 78 rue Général Leclerc, 94270 Le Kremlin-Bicêtre
3. Unité d'AMP, Clinique la Muette, 75017 Paris 4. INSERM U 407, CHU Lyon Sud, Lyon

RESUME

Le développement de la fécondation assistée, et particulièrement de l'ICSI, a révolutionné le traitement de l'infertilité masculine et permis le franchissement de la plupart des barrières de la fécondation naturelle. Les activités testiculaires sont sous le contrôle des systèmes neuro-endocrines et de facteurs de croissance et cytokines locaux.

Cette revue rapporte différentes observations qui suggèrent le rôle clé des facteurs de croissance et cytokines locaux sur le développement du testicule et sur la spermatogenèse et la stéroïdogénèse. Nous soulignons les résultats obtenus par différentes équipes qui cherchent à évaluer ces facteurs et/ou étudient leurs actions chez l'homme infertile. L'emploi de ces facteurs pour l'amélioration du pouvoir fécondant du sperme est discuté. D'un point de vue prospectif nous considérons quelques aspects intéressants des facteurs de croissance et des cytokines en tant que marqueurs de l'infertilité masculine.

Mots clés : Testicule, facteurs de croissance, cytokines, infertilité masculine, oligozoospermie, azoospermie sécrétoire.

INTRODUCTION

Le sperme humain se compose des spermatozoïdes et du plasma séminal, celui-ci est surtout d'origine vésiculaire, épидидymaire et prostatique et provient en partie des glandes bulbo-urétrales qui sont riches en mucoprotéines (lubrification).

Le plasma séminal se constitue au moment de l'éjaculation par le mélange au fond du vagin de sécrétions de diverses origines: testiculaires, épидидymaires, prostatiques, vésiculaires et sériques. Il est le résultat d'une série de sécrétions, migrations, réabsorptions, maturations. Les différentes sécrétions ne sont pas émises simultanément. Lors de l'éjaculation, le sphincter lisse de l'urètre se ferme, le plasma épидидymaire et les spermatozoïdes en réserve dans la queue de l'épididyme sont émis, entrant ainsi en contact avec la sécrétion prostatique. Il se produit des interactions entre ces 3 composants à ce moment là. Secondairement le fluide vésiculaire rejoint l'éjaculat. Vu la séquence éjaculatoire des fractionnements de l'éjaculat en 5 ou 6 fractions permettent de récupérer des fractions correspondantes aux différentes sécrétions. Il faut noter que tout le matériel sécrété dans les différentes parties du tractus n'est pas incorporé au plasma séminal. En effet, il y a des réabsorptions notamment aux niveaux testiculaire

et épидidymaire. La composition du plasma séminal varie selon les espèces, les individus, avec le moment, l'âge et différents facteurs intercurrents. Environ 200 protéines ou peptides ont été mis en évidence et leur dosage va impliquer obligatoirement la nécessité de connaître leur origine pour évaluer la contribution relative de chaque compartiment. Dans les conditions de prélèvement au laboratoire, ce mélange coagule puis se liquéfie pour constituer un milieu plus ou moins homogène et les interactions enzymatiques permettent l'apparition de substances nouvelles, qui peuvent être biologiquement actives. Le plasma séminal est un milieu en perpétuel évolution. Ce mécanisme complexe s'explique du fait que certains composants actifs ne sont stockés que sous formes de précurseurs.

L'étude des caractéristiques du sperme constitue donc le reflet de l'activité testiculaire et des événements post-gonadiques, en particulier, la maturation épидidymaire. Ces processus sont pour la plupart, non seulement sous le contrôle du système neuroendocrinien, mais aussi, sous le contrôle de facteurs locaux tels que les facteurs de croissance et les cytokines. Dans cette revue, nous faisons le point sur ceux-ci en tant que nouveaux marqueurs utiles pour l'exploration de l'homme infertile.

I. COMPOSITION CHIMIQUE DU PLASMA SÉMINAL

Depuis la découverte de l'acide citrique en 1929 ont été mis en évidence: des glucides libres (glucose, fructose, sorbitol) et liés, des acides organiques (acide citrique, ascorbique), des substances azotées non protéiques (polyamines, carnitines, cholines), des protéines sériques (albumine, immunoglobulines, hormones peptidiques), des protéines cellulaires Calmoduline, AMPc), des protéines spécifiques (lactoferrine, inhibiteurs de protéases), des lipides (Prostaglandines, phosphorylcholine, cholestérol, stéroïdes), des enzymes (Proteases, glucosidases phosphatases, transferases), et des composés minéraux (Zn, Ca, Mg). Plus récemment, des facteurs de croissance (TGF α , TGF β , IGF I, II, EGF...) et des cytokines ont été mis évidence dans le plasma séminal de l'homme fertile et infertile. Il y a également, un cer-

tain nombre de composés organiques qui sont retrouvés à des taux anormalement élevés. Par rapport au sérum, les taux sont en général plus élevés d'une façon significative. Au contraire des autres fluides de l'organisme, l'osmolarité du plasma séminal dépend plutôt des composés organiques qu'inorganiques. De plus, certains composés tels choline, sorbitol, spermine sont plus proches biochimiquement des plantes ou des microorganismes. La raison de cette composition particulière n'est pas très claire. Est elle due au métabolisme des glandes annexes à turn-over rapide parce que hormono-dépendantes ou à la concentration excessive de produits endogènes ?

Depuis plusieurs années déjà, de nombreuses tentatives, la plupart du temps infructueuses ont été effectuées, afin d'essayer de trouver *in vivo* des indices spécifiques de la fonction testiculaire dans le plasma séminal humain. Cette difficulté est due principalement à la complexité de la spermatogenèse, processus qui implique l'interaction de nombreuses cellules, un contrôle hormonal complexe, de nombreux facteurs de croissance, intervenant sur une période relativement longue. Trois grands types de cellules sont rencontrés au niveau testiculaire: les cellules de Leydig, responsables (sous l'influence de la LH), de la sécrétion androgénique, les cellules germinales et surtout les cellules de Sertoli cellules somatiques de l'épithélium séminifère, cellules clés du contrôle de la spermatogenèse puisqu'elles fournissent à la fois un support physique et métabolique aux cellules germinales en voie de développement par contact direct et à travers leur activité sécrétoire (protéique notamment). Le fluide testiculaire comprend du lactate, pyruvate, des ions, des stéroïdes, de nombreuses protéines, enzymes ou facteurs de croissance. Certaines peuvent être retrouvées dans le plasma séminal et y ont été dosées.

II. EXPRESSION DES FACTEURS DE CROISSANCE ET DES CYTOKINES DANS LE TESTICULE : RELATION AVEC LE SYSTÈME ENDOCRINIEN

A la différence du système endocrinien, les facteurs de croissance et les cytokines agissent, en principe, sur leur lieu de production même

d'où la notion d'action locale. Cette action locale permet à la cellule au sein d'un organe, d'appréhender son environnement immédiat (action autocrine) ou de communiquer avec une autre cellule (action paracrine). Ce sont ces modes de communication que l'on retrouve au sein du testicule, par exemple entre les cellules de l'espace interstitiel et les cellules du tube séminifère d'une part (communications cellules de Leydig-cellules de Sertoli) et d'autre part entre les différentes cellules du tube séminifère (communications cellules de Sertoli-cellules germinales).

Les facteurs de croissance et les cytokines ont été classés en une dizaine de familles sur la base de leurs analogies structurales. Un autre type de classification intéressant est de les regrouper selon les systèmes de transduction qu'ils utilisent pour transmettre leur message au noyau et donc aux différents gènes de leurs cellules cibles. A titre d'exemple, on distingue les facteurs qui exercent leurs actions par l'intermédiaire de récepteurs à tyrosine kinase (ex : EGF/TGF α , FGFs, IGFs, SCF), de récepteurs à sérine/thréonine kinase (ex : TGF β , activine, AMH). D'autres molécules de signalisation peuvent utiliser plusieurs systèmes de transduction intracellulaire (ex : le TNF α). Enfin, certains facteurs exercent leur action par le même récepteur et le même système de transduction (ex : EGF et TGF α).

Les molécules que nous décrivons sont exprimées dans différents organes. Cependant, il existe parfois des spécificités liées à l'organe où elles sont exprimées et où elles agissent. Ces molécules (ligands et récepteurs) sont présentes sous forme d'ARN messagers et de protéines dans les différents types de cellules testiculaires et à différents stades du développement gonadique. L'expression de ces facteurs locaux peut être spécifique d'un type cellulaire ou d'un stade de développement testiculaire. Ainsi, certains facteurs sont produits principalement par les cellules somatiques, par exemple, le SCF et l'AMH sont produits par les cellules de Sertoli, IGF I est exprimé dans les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig. D'autres sont exprimés surtout dans les cellules germinales comme le NGF et le TNF α . Enfin, le TGF β et l'EGF/TGF α sont exprimés

de façon ubiquitaire (cellules somatiques et cellules germinales). Cette expression spécifique d'un type cellulaire ou d'un stade de développement fait intervenir des éléments de régulation transcriptionnels ou post-transcriptionnels. Par exemple, des gènes ayant des promoteurs multiples présentent une organisation propice à la régulation cloisonnée au niveau des différents tissus (ex : le NGF utilise des promoteurs différents dans le testicule et dans le cerveau). L'épissage alternatif des préARN messagers peut faire apparaître ou non un site de protéolyse qui permet le ciblage sub-cellulaire d'une molécule (ex : production de SCF soluble ou membranaire). Il faut noter que l'expression des facteurs locaux est modulée par les hormones. Ce contrôle porte aussi bien sur les ligands et les récepteurs. Il reste cependant à déterminer le niveau de contrôle où s'exerce l'action des hormones (transcription, modification post-transcriptionnelle comme l'épissage alternatif, traduction en protéine)

III. APPLICATION CLINIQUE DE L'ÉVALUATION DES FACTEURS DE CROISSANCE ET DES CYTOKINES

Les facteurs de croissance et les cytokines peuvent jouer un rôle important

- 1) dans la formation du spermatozoïde,
- 2) dans l'acquisition de son pouvoir fécondant,
- 3) dans sa protection vis-à-vis du système immunitaire mâle (qui ne le reconnaît pas comme du " soi ") et femelle et enfin,
- 4) au moment de l'interaction avec la zone pellucide de l'ovocyte.

Compte tenu du rôle potentiellement important des facteurs de croissance et des cytokines dans la physiologie testiculaire, deux questions se posent lorsque nous abordons la pathologie testiculaire et en particulier dans les oligo et les azoospermies sécrétoires dont la cause n'est pas clairement identifiée [1]:

- a. Dans une démarche diagnostique, existe-t-il des modifications de la production de ces molécules de signalisation dans les oligo et les azoospermies sécrétoires ? En d'autres termes, le niveau d'expression dans le tissu

testiculaire, les taux plasmatiques et les concentrations dans le liquide séminal de ces molécules peuvent-ils être utilisés comme marqueurs de ces pathologies et plus spécifiquement, comme marqueurs de la perturbation d'un type de cellules testiculaires ?

- b. Dans une démarche thérapeutique, ces molécules peuvent-elles être utilisées pour corriger certains troubles de la spermatogenèse et/ou le pouvoir fécondant du spermatozoïde ?

1. Exploration des facteurs de croissance et des cytokines chez l'homme infertile:

Les molécules de signalisation peuvent être recherchées au moins à trois niveaux différents :

- a. le sang,
- b. le tissu testiculaire
- c. le plasma séminal.

a) Le sang

En principe, les facteurs de croissance et les cytokines à la différence des hormones ne sont pas présents dans le sang puisque leur action est de type local (auto/paracrine) c'est-à-dire qu'ils agissent à l'endroit même où ils sont sécrétés. Cependant, certains facteurs comme l'IGF I, les peptides apparentés du TGF β (ex : les inhibines) ou même l'EGF (en particulier dans le modèle murin) se comporteraient aussi comme des hormones puisqu'ils sont retrouvés dans le sang, dans des conditions physiologiques [2, 3]. Cependant, l'origine multiple (production dans différents organes) de ces facteurs fait que pour beaucoup, l'évaluation de leur taux sanguin ne reflète en aucun cas l'activité (d'un type cellulaire) du testicule. Pour certains peptides apparentés du TGF β , en particulier l'inhibine B, différents travaux [2] indiquent que son taux plasmatique reflète l'activité des cellules de Sertoli. Ces observations présentent un intérêt majeur dans la mesure où elles permettraient de différencier les oligo et les azoospermies sécrétoires des oligo et des azoospermies excrétoires lorsque les taux plasmatiques de FSH ne peuvent le permettre [4].

b) Le tissu testiculaire

La recherche de molécules de signalisation au niveau du tissu testiculaire fait appel à différentes techniques permettant d'identifier le signal au niveau du mRNA (hybridation *in situ*, RT-PCR, northern blotting) et/ou de la protéine (western blotting, immunohistochimie). Dans ce contexte, différentes molécules de signalisation comme IGF I, EGF, SCF, c-kit [revues 5, 6, 7] ont été identifiées, en général par des techniques d'immunohistochimie. Compte tenu des faibles quantités de tissus testiculaires obtenus, la RT-PCR pourrait être une technique intéressante pour :

- identifier les messagers recherchés et leurs récepteurs
- identifier des anomalies de type délétion, mutation, modification de l'épissage alternatif. La RT-PCR pourrait être intéressante pour une approche visant à détecter plutôt des anomalies qualitatives que quantitatives. En effet, une augmentation ou une diminution du niveau d'expression d'une molécule de signalisation ne signifie pas pour autant une atteinte quelconque puisque à l'état physiologique, le niveau d'expression varie de façon considérable dans le cadre d'interactions cellulaires et en particulier entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales au cours des différentes phases de la spermatogenèse.

c) Le plasma séminal

Le plasma séminal constitue le milieu biologique où l'on retrouve les sécrétions testiculaires, épидидymaires mais surtout celles des vésicules séminales et de la prostate. En conséquence, la mise en évidence dans le plasma séminal d'un facteur de croissance ou d'une cytokine doit tenir compte de ces origines multiples. De nombreuses molécules de signalisation ont été identifiées dans le plasma séminal (tableau 1).

Peut-on corrélérer les taux de ces facteurs avec les différentes étiologies des oligo et azoospermies ? Des précautions doivent être prises quant à l'origine testiculaire ou extra-testiculaire et quant aux types de dosages utilisés (RIA, ELISA, bioactivité). Aussi, les dosages utilisés doivent tenir compte de la nature protéique des facteurs de croissance et des cyto-

kines. En effet, un anticorps donné (dans un dosage immunologique donné) reconnaît une (des) séquence(s) polypeptidique(s), ce qui peut expliquer des variations de résultats importantes entre les différents kits (c'est-à-dire les différents anticorps) du commerce. Par ailleurs, un anticorps reconnaît dans le peptide une (des) séquence(s) d'acides aminés qui ne reflètent pas forcément l'activité biologique de ce peptide. Dans ces cas, seuls des dosages de bioactivité (utilisant par exemple des lignées cellulaires avec un marqueur spécifique du peptide étudié) ou un dosage par radio-récepteur peuvent valider le dosage immunologique. Par ailleurs, cette approche devrait aussi permettre de sélectionner parmi les kits du commerce (qui sont de plus en plus nombreux), ceux qui donnent des valeurs les plus proches de celles du dosage biologique.

Quelques travaux rapportent des variations du taux des facteurs de croissance et des cytokines dans le plasma séminal de patients stériles [8, 9, 10, 11]. Pour la grande majorité de ces facteurs, et en particulier pour les cytokines, il semble que leurs taux varient en fonction de l'état infectieux du tractus génital (tableau 1). En ce qui concerne les facteurs de croissance, les travaux sont encore rares et seules des précautions minutieuses devraient permettre d'utiliser ces molécules comme marqueurs de l'état fonctionnel de la spermatogénèse.

2. Action *in vitro* des facteurs de croissance et des cytokines sur le sperme provenant de patients infertiles

A l'état physiologique, à la sortie du testicule, les spermatozoïdes sont incapables de féconder l'ovule. Ils acquièrent leur pouvoir fécondant lorsqu'ils traversent le canal épидидymaire. Pour que la fécondation ait lieu, il faut que les spermatozoïdes reconnaissent la zone pellucide, s'y fixent, qu'ils la pénètrent et qu'il y ait fusion avec la membrane plasmique de l'ovocyte.

Différents travaux indiquent qu'au delà du rôle des cytokines sur la formation des spermatozoïdes, ces molécules peuvent affecter l'état fonctionnel des gamètes. TGF β , IL1, IL2, GM-CSF se sont révélés sans effets particu-

liers sur la fonction des spermatozoïdes [12, 13]. Par contre, l'interféron α et τ ainsi que le TNF α ont un effet délétère sur la mobilité des spermatozoïdes ainsi que sur la pénétration dans la zone pellucide de l'ovocyte [14, 15]. Cependant, le traitement des hommes stériles par l'IFN a permis d'améliorer le nombre et la mobilité des spermatozoïdes [16]. Bien que ce travail paraisse prometteur, d'autres travaux demeurent nécessaires pour comprendre, en particulier, l'apparente contradiction entre les observations obtenues *in vivo* et *in vitro*.

Les facteurs de croissance ayant des récepteurs à tyrosine kinase mais probablement aussi à sérine thréonine kinase pourraient s'avérer intéressants dans le pourvoir fécondant du spermatozoïde et au moment de l'interaction inter-gamétique. Parmi les facteurs de croissance à récepteurs tyrosine kinase d'intérêt, l'EGF/TGF α , les récepteurs de l'EGF sont présents sur les spermatozoïdes où ils sont fonctionnels. Naz et al. [17] ont observé une absence d'effet *in vitro* de l'EGF sur le pouvoir fécondant du spermatozoïde (en présence de faibles concentrations d'EGF) alors qu'ils observent en présence de fortes concentrations d'EGF un effet inhibiteur sur la mobilité du spermatozoïde, sur le taux de pénétration des ovocytes de Hamster (Hamstertest), sur la réaction acrosomique spontanée ou induite par le calcium ionophore. Ces résultats devront être confirmés. Les mêmes auteurs ont utilisé de l'EGF recombinant dont la bioactivité au niveau du plasma séminal doit être validé. Enfin, l'IL6 apparaît comme une des molécules intéressantes dans le cadre du traitement de la stérilité masculine, puisque cette cytokine a été détectée dans le plasma séminal d'hommes infertiles à des taux élevés (infections ?). Son action sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes *in vitro* présente quelques intérêts. En effet, l'IL6 semble améliorer le pourcentage de formes mobiles et augmenter la réaction acrosomique spontanée ou stimulée par le calcium ionophore.

CONCLUSIONS

Différentes étapes cruciales nécessaires à l'obtention de spermatozoïdes fonctionnels semblent être en relation avec les activités pléiotropiques des facteurs de croissance et des

Tableau 1. Facteurs de croissance et des cytokines dans le plasma séminal.

FAMILLE	MOLECULE DOSEE	PLASMA SEMINAL		Ref
		Normal	Pathologique	
IGF	IGF 1	20 ng/ml	↓ après vasectomie	18, 19
	IGF 2	2000 ng/ml		19
	IGF BP1	0,95 ± 0,4 ng/ml	non modifiée dans l'azoospermie et après vasectomie	18
	IGF BP2	présente	non modifiée dans l'azoospermie et après vasectomie	20, 18
	IGF BP3	845 ± 59 ng/ml	↓ après vasectomie	18
	IGF BP4	présente	non modifiée dans l'azoospermie et après vasectomie	20, 18
TGFβ	TGFβ1 latent	90 ng/ml	TGFβ ↑ dans stérilité sécrétoire et surtout quand il y a eu infection	*
	TGFβ1 libre	2 ng/ml		*
	inhibine α et β	présentes		2
EGF/TGFα	EGF	20-80 ng/ml	pas de corrélation entre taux EGF et paramètres concernant les spermatozoïdes	21, 22, 17, 23, 24, *
cytokines	IL1β	non détectée ou 40 ng/ml	dans oligo et azoospermie, non détectée ou taux normaux. ↑ après infection Pas de corrélation avec morphologie ou mobilité du spermatozoïde	25, 26, 27, 28
	antagoniste récepteur IL1	120 ± 10 pg/ml	taux ↑ dans l'azoospermie surtout si associée à une infection	29, 27
	IL2	15 pg/ml	↑ lors d'infection	30, 31
	récepteur soluble IL2	410 UI/ml	↓ dans les oligo et azoospermies associées à une infection	29
Cytokines	IL6	5-80 pg/ml	↑ après immuno-infection pas de corrélation avec le nombre, la mobilité des spermatozoïdes	25, 26, 28, 31
	récepteur soluble IL6	16 ng/ml	non modifié	25
	IL8	1 ng/ml	↑ lors de leucospermise	19, 31
	interféron γ	0,25 UI/ml	non modifié	28
	TNFα	non détecté à 8 pg/ml	↑ dans azoospermie après infection bactérienne ou à mycoplasme	30, 27, 28,
	récepteur soluble TNFα p55	4-60 ng/ml	non modifié dans l'azoospermie ou après vasectomie, ↓ lors d'infection du tractus génital	27, 32
	récepteur soluble TNFα p75	non détecté		27, 32
	SCF	dectecté		33

↑ augmentation du taux du facteur

↓ diminution du taux du facteur

* Travaux de groupe de Benahmed

cytokines comme :

- 1) la formation et le développement de la gona-
de fœtale,
- 2) la mise en place de la spermatogenèse à la
puberté,
- 3) l'acquisition du pouvoir fécondant dès la sor-
tie du testicule,
- 4) la protection des spermatozoïdes vis-à-vis
des systèmes immunitaires mâle et femelle et
enfin
- 5) l'interaction avec le gamète femelle. A la dif-
férence du système endocrinien, qui agit à dis-
tance, les facteurs de croissance et les cyto-
kines constituent un système de contrôle local
c'est-à-dire que ces facteurs exercent leurs acti-
vité biologique là où ils sont produits.

Il existe des interactions étroites entre le sys-
tème endocrinien et le système local. D'une
part, en contrôlant l'expression des facteurs de
croissance et des cytokines dans le testicule, le
système endocrinien pourrait utiliser le systè-
me local comme un relais, en particulier pour
réguler la spermatogenèse (mitose, méiose,
différenciation et apoptose). D'autre part, les
facteurs locaux peuvent à leur tour amplifier
ou inhiber l'action des hormones et ce proba-
blement afin d'adapter finement l'action hor-
monale aux besoins de la spermatogenèse. Il
est tout à fait possible que les interactions hor-
mones-facteurs locaux soient beaucoup plus
importantes lors de la formation des gamètes
(étape testiculaire) plutôt que lors de l'acqui-
sition du pouvoir fécondant (étape post-testicu-
laire).

Ainsi des anomalies potentielles affectant l'ex-
pression et/ou l'action des facteurs locaux à
l'une de ces étapes, pourraient entraîner une
situation d'infertilité. Les anomalies pour-
raient, en particulier, rendre inefficace le sys-
tème endocrinien dont l'action est décisive
pour la spermatogenèse. D'ailleurs des don-
nées expérimentales de transgenèse (knock-
out ou surexpression) montrent qu'une expres-
sion inadéquate de facteurs de croissance ou
des cytokines peut aboutir à la stérilité
(tableau 2). Sachant qu'un très grand nombre
d'infertilités, en particulier les oligo et les
azoospermies sécrétoires, restent encore inex-
pliquées, il apparaît donc important d'essayer
d'utiliser les connaissances acquises sur ces
facteurs pour tenter d'expliquer ces patholo-
gies testiculaires.

Ces molécules sont recherchées dans le tissu
testiculaire, le plasma sanguin et le plasma
séminal. Le tissu testiculaire offre peut-être
les possibilités les plus intéressantes pour
essayer d'identifier différents types d'anoma-
lies entraînant des pertes de fonctions du
ligand, du récepteur, du système de transduc-
tion ou des facteurs de transcription utilisés
par les facteurs locaux pour contrôler l'expres-
sion de leurs gènes cibles. Le plasma sanguin
pourrait s'avérer intéressant pour détecter des
molécules de signalisation provenant de cel-
lules de Sertoli. L'exemple de l'inhibine B pour-
rait être suivi par la mise en évidence d'autres
marqueurs intéressants.

Enfin, le plasma séminale, qui est le résultat
des sécrétions gonadiques et extra-gonadiques,
pourrait permettre d'identifier des molécules

Tableau 2 : Effets du retrait ou de la surexpression des facteurs locaux sur la spermatogénèse

MOLECULE	TYPE DE MUTATION	CONSEQUENCES
TGFb (facteur inhibiteur de la spermatogenèse)	surexpression	stérilité [34]
IGF I (facteur stimulant la spermatogenèse)	retrait (knock-out)	stérilité (voir 6)
SCF ou son récepteur c-kit (système stimulant la spermatogenèse)	délétion	stérilité (voir 6)
interféron g	surexpression	stérilité (voir 6)

marqueurs des différents types d'oligo et d'azoospermies sécrétoires et excrétoires. Les facteurs de croissance et les cytokines étant avant tout des peptides, leur manipulation et identification dans un milieu complexe comme le plasma séminal, requiert néanmoins énormément de précautions si l'on ne veut pas s'exposer à des risques de mauvaises exploitations/interprétations des données obtenues. Les informations fournies par la biochimie séminale sont déterminants pour le diagnostic des états infectieux et /ou inflammatoires des glandes annexes, elles permettent également, de différencier les différents types d'azoospermies et même quelquefois de préciser le lieu de l'occlusion. De nouvelles approches telles que l'évaluation de facteurs de croissance et des cytokines dans le sperme humain sont à l'heure actuelle à l'étude et demandent encore des explorations complémentaires pour être validées et expliciter plus précisément les interactions spermatozoïdes et plasma séminal, les troubles de la perméabilité membranaire ou certains déficits enzymatiques.

REFERENCES

1. TOURNAYE H., VERHEYEN G., NAGY P., et al. : Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients? *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 80-86.
2. MCLACHLAN R.I., ROBERTSON D.M., DEKRESTER D.M., BURGER H.G. : Advances in the physiology of inhibin and inhibin-related peptides. *Clin. Endocrinol.*, 1988, 29 : 77-114.
3. RUSSELL L.D., WEISS T., GOH J.C., CURL J.L. : The effects of submandibular gland removal on testicular and epididymal parameters. *Tiss. Cell*, 1990, 22: 263-268.
4. NOVERO V., CAMUS M., TOURNAYE H., et al. : Relationship between serum follicle stimulating hormone in the male and standard sperm parameters, and the results of intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 : 59-63.
5. BENAHMED M. : Growth factors and cytokines in the testis. In : F. Comhaire. *Male infertility: Clinical investigation, cause, evaluation and treatment.* London, Chapman Hale, 1996 : pp 55-96
6. MAUDUIT C., BENAHMED M. : Growth factors in the testis function and development. In : S Hamamah, R Mieusset. *Research in Male gametes: production and quality.* Paris, Les Editions INSERM, 1996.
7. ROBERTSON D.M., RISBRIDGER G.P., HEDGER M., MCLACHLAN R.I. : Growth factors in the control of testicular function. In : D. deKretser. *Molecular biology of the male reproductive system.* San Diego, Academic Press, 1993 : 411-438
8. DEPUYDT C.E., BOSMANS E., ZALATA A., SCHOONJANS F., COMHAIRE F.H. : The relation between reactive oxygen species and cytokines in andrological patients with or with out male accessory gland infection. *J. Androl.*, 1996, 17 : 699-707.
9. JAMES K., HARGREAVE T.B. : Immunosuppression by seminal plasma and possible clinical significance. *Immunol. Today*, 1984, 5 : 357-363.
10. NAZ R.K., CHATURVEDI M.M., AGGARWAL B.B. : Role of cytokines and proto-oncogenes in sperm cell function: relevance to immunologic infertility. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1994, 32 : 26-37.
11. NOCERA M., CHU T.M. : Transforming growth factor- β as an immunosuppressive protein in human seminal plasma. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1993, 30 : 1-8.
12. HANEY A.F., HUGHES S.F., WEINBERG J.B. : The lack of effect of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1-alpha, and interferon-gamma on human sperm motility *in vitro*. *J. Androl.*, 1992, 13 : 249-253.
13. NAZ R.K., KUMAR R. : Transforming growth factor β 1 enhances expression of a 50 kDa protein related to 2'-5' oligoadenylate synthetase in human sperm cells. *J. Cell Physiol.*, 1991, 146 : 156-163.
14. EISERMANN J., REGISTER K.B., STRICKLER R.C., COLLIN J.L. : The effect of tumor necrosis factor on human sperm motility *in vitro*. *J. Androl.*, 1989, 10 : 270-274.
15. NAZ R.K., MINHAS B.S. : Enhancement of sperm function for treatment of male infertility. *J. Androl.*, 1995, 16 : 384-388.
16. YAMAMOTO M., MIYAKE K. : Successful use of interferon for male infertility. *Lancet*, 1994, 34 : 614.
17. NAZ R.K., KAPLAN P. : Effects of epidermal growth factor on human sperm cell function. *J. Androl.*, 1993, 14 : 240-7.
18. OVESEN P., FLYVBJERG A., ORSKOV H. : Insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF binding proteins in seminal plasma before and after vasectomy in normal men. *Fertil. Steril.*, 1995, 63 : 913-918.
19. RAMASHARMA K., CABRERA C.M., LI C.H. : Identification of insulin-like growth factor-II in human seminal and follicular fluids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, 140 : 536-540.
20. LEE K.-O., OH Y., GIUDICE L.C., COHEN P., PEEHL D.M., ROSENFELD E.G. : Identification of insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) fragments and IGFBP-5 proteolytic activity in human seminal plasma: a comparison of normal and vasectomized patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1994, 79 : 1367-1372.
21. D'CRUZ O.J., HAAS JR G.G. : Immunoreactive

- human epidermal growth factor in human seminal plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1989, 68 : 1136-1140.
22. ELSON S.D., BROWNE C.A., THORBURN G.D. : Identification of epidermal growth factor-like activity in human male reproductive tissues and fluids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1984, 58 : 589-594.
 23. PESONEN K., VINIKKA L., KOSKIMIES A., BANKS A.R., NICOLSON M., PEHEENTUPE J. : Size heterogeneity of epidermal growth factor in human body fluids. *Life Sci.*, 1987, 40 : 2489-2494.
 24. YIE S.-M., LOBB D.K., CLARK D.A., YOUNGLAI E.V. : Identification of a transforming growth factor alpha-like molecule in human seminal plasma. *Fertil. Steril.*, 1994, 61 : 129-135.
 25. COMHAIRE F., BOSMANS E., OMBELET W., PUNJABI U., SCHOONJANS F. : Cytokines in semen of normal men and of patients with andrological diseases. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1994, 31 : 99-103.
 26. GRUSCHWITZ M.S., BREZINSCHEK R., BREZINSCHEK H.-P. : Cytokine levels in the seminal plasma of infertile males. *J. Androl.*, 1996, 17 : 158-163.
 27. HULEIHEL M., LUNENFELD E., AYELET L., POTASHNIK G., GLEZERMAN M. : Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertile and infertile men. *Fertil. Steril.*, 1996, 66 : 135-139.
 28. NAZ R.K., KAPLAN P. : Increased levels of interleukin-6 in seminal plasma of infertile men. *J. Androl.*, 1994, 15 : 220-227.
 29. HULEIHEL M., LUNENFELD E., AYELET L., POSTASHNIK G., GLEZERMAN M. : Cytokine expression in seminal plasma of fertile and infertile males. 11th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology. Hamburg, 1995 :
 30. RAJASEKARAN M., HELLSTROM W.J.G., NAZ R.K., SIKKA S.C. : Oxidative stress and interleukins in seminal plasma during leukocytospermia. *Fertil. Steril.*, 1995, 64 : 166-171.
 31. SHIMOYA K., MATSUZUKI N., IDA N., et al. : Detection of monocyte chemotactic and activating factor (MCAF) and interleukin (IL)-6 in human seminal plasma and effect of leukospermia on these cytokine levels. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1995, 34 : 311-316.
 32. SUNDEL A., LIABAKK N., AUSTGULEN R., ESPEVIK T. : High concentrations of the soluble tumor necrosis factor receptor p55 in human seminal plasma. International Symposium on Male Infertility and Assisted Reproduction. April 21-24 1993, Genk, Belgium.
 33. SANDLOW J.I., FENG H.-L., COHEN M.B., SANDRA A. : Expression of c-kit and its ligand, Stem Cell Factor, in normal and subfertile human testicular tissue. *J. Androl.*, 1996, 17 : 403-408.
 34. SANDERSON N., FACTOR V., NAGY P., et al. : Hepatic expression of mature transforming growth factor β 1 in transgenic mice results in multiple tissue lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1995, 92 : 2572-2576.

ABSTRACT

Growth factors and cytokines as markers of male infertility

S. HAMAMAH, J-C. SOUFIR, A. HAZOUT,
M. BENAHMED

The development of assisted fertilization and particularly intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has revolutionized the treatment of male infertility and bypasses many of the natural barriers to fertilization. Testicular activities are under the control of the neuroendocrine systems and local growth factors and cytokines. This review deals initially with different observations suggesting a key role for local growth factors and cytokines in foetal testis development and in the differentiated functions of steroidogenesis and gametogenesis. Subsequently, we will report the data obtained by different teams working on the evaluation of and/or actions of these factors in infertile men. The use of these factors to improve sperm function is also discussed. Finally in a prospective context, we discuss some points of interest in terms of elucidating the role of growth factors and cytokines as markers of male infertility.

Key words : *Testis, growth factors, cytokines, male infertility, oligozoospermia, secretory azoospermia.*