

Techniques d'AMP et leurs indications dans l'hypofertilité masculine

S. HAMAMAH¹, L. CORCIA², F. ENTEZAMI¹, G. EL WIEY²

¹ Centre de Fécondation *in vitro*, Hôpital A. Béclère, 92140 Clamart ; ² C.H.G 28100 Dreux cedex

RÉSUMÉ

Malgré de multiples essais, le traitement médical de l'infertilité masculine reste décevant. A l'exception des traitements antibiotiques ou anti-inflammatoires, le traitement par les gonadotrophines dans le cadre des insuffisances gonadotropes demeure la seule indication médicale de l'infertilité masculine. L'assistance médicale à la procréation (AMP) constitue donc le plus souvent le seul recours au traitement de l'infertilité masculine. Les caractéristiques du sperme définies comme convenables pour obtenir la fécondation ont été déterminées statistiquement : pour la fécondation naturelle les normes définies par l'OMS en 1992 sont : numération égale ou supérieure à 20 millions par ml, mobilité progressive supérieure ou égale à 50% à la 1ère heure, morphologie présentant au moins 30% de formes normales. Les techniques d'AMP ne représentent pas *stricto sensu* un traitement curatif de l'infertilité masculine mais une démarche médicale permettant aux couples infertiles de réaliser leur projet parental. Les techniques de préparation du sperme *in vitro* en vue d'une AMP ont pour but de sélectionner des spermatozoïdes mobiles à morphologie normale, d'éliminer le plasma séminal ainsi que les débris cellulaires et les spermatozoïdes morts mais aussi d'induire la capacitation des spermatozoïdes. Le choix entre les différentes techniques d'AMP disponibles repose essentiellement sur le nombre de spermatozoïdes mobiles recueillis après préparation *in vitro*.

Mots clés : infertilité masculine, IAC, FIV, ICSI

INTRODUCTION

Il n'y a pas encore si longtemps, la femme était le plus souvent tenue pour responsable de la stérilité se fondant dans une logique primaire: " puisqu'elle n'est pas enceinte, c'est elle qui est stérile ". En réalité, la responsabilité seule de la femme n'apparaît que dans un tiers des cas, celle de l'homme dans 20% des cas et la part de l'infertilité masculine ne cesse de croître.

Malgré de multiples essais, le traitement médical de l'infertilité masculine reste décevant. A l'exception des traitements antibiotiques ou anti-inflammatoires, le traitement par les gonadotrophines dans le cadre des insuffisances gonadotropes demeure la seule indication médicale de l'infertilité masculine. Aussi, le plus souvent, l'aide médicale à la procréation (AMP) constitue le plus souvent le seul recours au traitement de l'infertilité masculine. Les techniques d'AMP ne représentent pas *stricto sensu* un traitement curatif de l'infertilité masculine mais une démarche médicale permettant aux couples infertiles de réaliser leur projet parental. Les techniques de préparation du sperme *in vitro* en vue d'une AMP ont pour but de sélectionner des spermatozoïdes mobiles à morphologie normale, d'éliminer le plasma séminal ainsi que les débris cellulaires et les spermatozoïdes morts mais aussi d'induire la capacitation des spermatozoïdes. En fait les techniques de préparation du sperme *in vitro* tendent à mimer le rôle de la glaire cervicale. Les deux techniques les plus communément utilisées sont la migration ascendante (Swim-up) d'une part, et la centrifugation sur gradient de densité reposant sur

l'utilisation d'une suspension de silice colloïdale dans un tampon HEPES (Pure Sperm®). La première technique est principalement recommandée lorsque la vitalité des spermatozoïdes est médiocre ; la seconde technique est particulièrement indiquée en présence d'un sperme présentant une mobilité diminuée. Différents produits pharmacologiques, comme la pentoxifylline, ont été proposés pour améliorer la mobilité et le pouvoir fécondant des gamètes mâles, mais les résultats sont inconstants et variables d'un spécimen à l'autre. Le choix entre les différentes techniques d'AMP disponibles repose donc essentiellement sur le nombre de spermatozoïdes mobiles recueillis après sélection.

1. Insémination artificielle

L'insémination " naturelle " est connue de tous. Lorsqu'elle est pratiquée par des partenaires suffisamment fertiles, et au moment le plus opportun du cycle sexuel de la femme, elle peut mener à une conception ; c'est du reste ce qui est observé chez 85% des couples environ. On estime, en effet, dans les conditions optimales, les chances de conception entre 20 et 25% par cycle, soit une chance sur quatre.

L'insémination artificielle avec sperme de conjoint (IAC) est une technique simple, très ancienne, très largement utilisée par de nombreux gynécologues dans les années 70 dans des indications mal posées, avec des taux de succès faibles oscillant entre 2 et 8 % par cycle. L'IAC connaît un regain d'intérêt depuis quelques années, grâce au développement de la fécondation *in vitro* (FIV). En particulier, les méthodes de préparation du sperme pour FIV ont pu être utilisées en vue d'une IAC, permettant ainsi l'insémination des spermatozoïdes en intra-utérin (IIU) et non plus en intra-cervical, ce qui consiste à déposer une suspension homogène de spermatozoïdes sélectionnés sur la base de leur mobilité dans le fond de la cavité utérine au moment de l'ovulation c'est à dire à proximité des isthmes tubaires.

Le volume déposé est généralement compris entre 0,2 et 0,6 ml. La voie intra-utérine présente l'avantage d'une part de court-circuiter le passage de la glaire cervicale ce qui est particulièrement important en cas de dysmucorrhée et d'autre part elle permet d'augmenter le

nombre de spermatozoïdes mobiles près du site de fécondation ce qui augmente les chances de conception notamment dans les insuffisances spermatiques, contribuant ainsi à l'amélioration des taux de grossesse par cycle d'IAC. De plus l'amélioration des taux de succès par cycle d'IIU est liée à l'association IIU et stimulation de l'ovulation: le taux de grossesse par cycle en IIU sans stimulation de l'ovulation est en moyenne de 3,4%, il s'élève à 7,7% pour les cycles stimulés par clomiphène et 13% par cycle stimulé par des gonadotrophines exogènes. Mais la disparité des résultats publiés jette un discrédit sur cette approche. Ceci s'explique par le fait que pour les IAC et contrairement à la FIV, aucun protocole précis n'est établi, notamment en ce qui concerne les protocoles de stimulations, et le monitoring. Le champ d'investigation des IIU s'est considérablement élargi au fil des ans. Initialement réservée aux troubles de l'éjaculation anatomique, neurologique ou psychologique, les IIU sont maintenant indiquées dans de nombreuses autres indications telles que les déficiences spermatiques modérés, mais également après mise en évidence dans le sperme ou plus rarement dans la glaire cervicale d'auto-anticorps anti-spermatozoïdaires et enfin dans les dysmucorrhées et les cas d'infertilité idiopathique.

Pour de nombreux auteurs, le taux moyen de grossesse par cycle est indépendant des caractéristiques du spermogramme du moins pour les numérations spermatiques >3 millions par ml, des mobilités progressives > 15% et des formes normales > 15% [11]. Le nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés semble être le principal facteur corrélé aux taux de grossesse. Bien que des grossesses obtenues après insémination de 0,2 à 0,3 million de spermatozoïdes mobiles [6,9] aient été rapportées dans la littérature, la plupart des auteurs s'accordent pour considérer qu'un nombre de spermatozoïdes supérieur à 1 million reste le seuil minimal pour la pratique d'IIU. Une étude rétrospective menée au C.H.I Poissy en 1996, a démontré que le taux de grossesse par cycle s'élevait de 2% à 19% lorsque le nombre de spermatozoïdes inséminés variait de moins de 1 million à 8 millions. Par ailleurs, un nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés supé-

rieur à 8 millions ne s'accompagne pas d'une augmentation du nombre de grossesses par cycle; au contraire, on observe dans de telles conditions une augmentation du nombre de grossesses non évolutives s'expliquant par une fécondation multiple des ovocytes conduisant à une interruption précoce de la grossesse. Plus récemment, une étude rétrospective réalisée chez 1841 couples ayant eu 4056 cycles d'IIU a mis en évidence un taux minimum de grossesse / cycle aux alentours de 8% quand le sperme initial présentait une concentration > 5 millions /ml, avec une mobilité progressive $\geq 30\%$ [2]. L'analyse des résultats des IIU doit prendre en compte ses indications : l'IIU reste la méthode de choix dans le traitement de l'infertilité liée à un trouble de l'éjaculation ou un facteur cervical. De plus, le nombre de tentatives d'IIU réalisées semble jouer un rôle pronostique important, la majorité des grossesses étant obtenues au cours des 4 premières tentatives [1]. Par ailleurs, le taux de grossesse par cycle dépend de la réponse ovarienne à la stimulation hormonale, une mauvaise réponse pouvant révéler une défaillance ovarienne débutante qui pourra être confirmée par une évaluation de la réserve ovarienne.

A l'heure de l'ICSI, les IIU conservent une place prépondérante dans le traitement de l'infertilité du couple. Ainsi, une récente étude prospective randomisée, comparant les résultats de l'IIU et de la FIV, dans les indications idiopathiques réalisée chez 258 couples durant un maximum de 6 cycles. Même si le taux de grossesse /cycle était légèrement supérieur en FIV (12% vs 9% en IIU), le taux cumulatif de grossesse sur les 6 cycles n'était pas significativement différent entre les 2 techniques. Ceci montre que dans ces indications, IIU offre les mêmes chances de succès que la FIV durant les 4 à 6 premiers cycles de stimulation, tout en présentant l'intérêt non négligeable d'une logistique moins lourde [4].

2. Fécondation in vitro classique (FIV)

Ces 20 dernières années, la FIV s'est révélée efficace pour le traitement des stérilités en rapport avec une pathologie tubaire, de cause masculine ou inexpliquée. Néanmoins, seuls 20 à 30% des ovocytes recueillis sont fécondés lors des FIV en stérilité masculine ce qui est

nettement inférieur aux taux de fécondation de 60 à 70% enregistré chez les patientes incluses dans un programme de FIV pour indication tubaire. Une absence de fécondation ou paucifécondation se produit dans environ 1/3 des cycles. L'expérience de l'ensemble des centres de FIV atteste qu'un certain nombre de patients consultant pour stérilité masculine ne peuvent bénéficier d'une FIV dite classique ; ils devront être orientés vers une technique de FIV avec micromanipulation type ICSI. Une méta-analyse portant sur 1218 cycles de FIV menée par Janny *et al* [3] pour FIVNAT a démontré que le paramètre le plus influent sur le taux de fécondation en FIV reste la numération spermatique : une numération inférieure à 5 millions par ml est de mauvais pronostic. L'effet de la mobilité est surtout net quand le taux de formes typiques est inférieur à 10% ; le taux de formes typiques n'a de répercussion sur le taux de fécondation que lorsque la numération est inférieure à 5 millions et la mobilité inférieure à 10%. Ce travail démontre donc que lors d'une première tentative, avec moins de 500.000 spermatozoïdes mobiles normaux par ml dans l'éjaculat, le recours à la FIV peut être discuté. En pratique l'indication de la FIV sera portée pour tout couple consultant pour infertilité d'origine féminine ou en échec post IIU pour lequel il sera possible de sélectionner au moins 500.000 spermatozoïdes mobiles et normaux après un test de migration sur gradient de densité. Kruger *et al* [5] a démontré qu'il existait une corrélation entre les résultats en FIV et le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux selon sa classification; ainsi il démontra qu'un taux de formes typiques inférieur à 14% allait de pair avec une diminution significative du taux de fécondation.

3. Intra cytoplasmic sperm injection (ICSI)

L'apparition, au début des années 90, des techniques de micromanipulation de gamètes a révolutionné le traitement de l'infertilité masculine. Le procédé de fécondation par introduction mécanique d'un spermatozoïde dans le cytoplasme ovocytaire (ICSI) permet aux hommes jusque là infertiles d'assurer leur descendance. En effet, il suffit de quelques spermatozoïdes mobiles donc vivants pour qu'elle soit réalisable : elle permet donc de court-cir-

cuiter les barrières physiologiques de la fécondation. Si les succès en IUI ou en FIV sont reliés à certains paramètres spermatiques notamment au nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés, en revanche pour la fécondation assistée par ICSI aucun des paramètres du spermogramme (à l'exception de la globozoospermie et de la nécrozoospermie) ne semble fortement corrélée aux résultats. L'ICSI, permet l'obtention de nombreux embryons même en présence d'une altération majeure des paramètres spermatiques conventionnels [10]. Néanmoins, il n'a pu être encore déterminé formellement de corrélation entre les paramètres spermatiques du sperme et notamment la tératozoospermie et les résultats en ICSI. Une analyse menée par Nagy en [8], portant sur une série de 838 cycles utilisant la micro-injection a évalué la relation entre qualité du sperme et résultats en ICSI. Ainsi le taux de fécondation varie de 58 ± 26 à $71 \pm 24\%$ lorsque la numération spermatique dans le sperme frais varie de 0 à plus de 5 millions/ml ce qui est significativement différent, mais cliniquement cela n'est pas réellement important puisque cela n'a pas de conséquence sur le taux de grossesse. De même, le taux de fécondation varie de respectivement de 68 ± 31 à 70 ± 26 et de $71 \pm 12\%$ à $74 \pm 21\%$ lorsque le taux de formes typiques varie de 0 à plus de 14%, selon la classification stricte de Kruger, et la mobilité totale de 0 à plus de 50%. La seule situation pour laquelle on enregistre de faibles taux de fécondation reste l'akinétozoospermie puisqu'il est alors difficile de différencier un spermatozoïde vivant d'un spermatozoïde mort même si l'on a recours au test hypoosmotique. Chez la souris, la sélection volontaire de spermatozoïdes morphologiquement anormaux (tête irrégulière) n'empêche pas la fécondation de l'ovocyte selon le groupe de Yanagimachi. Par ailleurs le même groupe a démontré que la sélection volontaire de spermatozoïdes humains anormaux n'altère pas leur potentiel de féconder des ovocytes de souris. Quand le gamète mâle présente une tête irrégulière, ou allongée, le taux d'aneuploïdies est normal. Ainsi se trouve confirmée dans l'espèce humaine l'absence de relation stricte entre l'aspect du spermatozoïde et sa constitution chromosomique. Quant à la morphologie des spermatozoïdes humains, elle n'a pu être mise en relation avec les résultats

de l'ICSI, lesquels sont indépendants du spermocytogramme. Contrairement à ce qui avait été observé en FIV, aucune différence significative n'était enregistrée dans le taux de fécondation lorsque le taux de formes typiques était inférieur à 14% et même inférieur à 4% selon les critères stricts de la classification de Kruger [5]. Cependant l'analyse de ces données est délicate du fait de la présence d'un biais : en effet le spermatozoïde injecté dans le cytoplasme ovocytaire n'est pas nécessairement représentatif de la population spermatozoïdaire étudiée. Aussi même en présence d'un taux important d'anomalies morphologiques rien ne peut permettre d'affirmer que les spermatozoïdes micro-injectés soient tous morphologiquement atypiques. Une autre observation importante reste que la qualité de l'embryon en ICSI est indépendante du taux de formes typiques dans le sperme ; le taux de fausses-couches prématurées n'est pas non plus influencé par la morphologie spermatozoïdaire. Ceci implique que l'atypie morphologique du spermatozoïde n'est pas le reflet d'une anomalie génétique des gamètes mâles, mais plutôt celui d'une incapacité pour le spermatozoïde à pénétrer dans l'œuf. La seule situation où la tératozoospermie perturbe la fécondation des ovocytes en ICSI reste la globozoospermie. L'étude menée par Liu *et al* [7] démontre qu'il est possible de féconder des ovocytes humains après micro-injection de spermatozoïdes micro-céphales dépourvus d'acrosome même si le taux de fécondation demeure faible (37%). De plus en cas d'azoospermie, l'ICSI est couramment pratiquée avec des spermatozoïdes obtenus par ponction de l'épididyme ou du testicule. L'ICSI est donc proposée pour corriger toute infertilité masculine pour laquelle moins de 500.000 spermatozoïdes progressifs sont sélectionnés après un test de séparation. Une enquête du BLEFCO menée en 1997 a analysé les indications de l'ICSI : l'ICSI de première intention pour anomalies du sperme représentait plus de 50% des tentatives, les échecs de fécondation ou les pauci-fécondations en FIV avec altération du sperme représentaient 27,5% des tentatives tandis que le pourcentage de tentatives pour échec inexplicé en FIV restait relativement faible (9,7% des tentatives) ainsi que celui des ICSI avec ponction épидидymaire (5,6%) ou biopsie testiculaire (1,8%).

CONCLUSION

Le traitement de l'infertilité masculine repose sur trois techniques : l'IUI remise au goût du jour depuis l'avènement de la FIV qui impose un monitoring rigoureux de la stimulation ovarienne, la FIV dont les indications se limitent de plus en plus aux seules infertilités d'origines tubaires et l'ICSI. L'ICSI représente le traitement de choix des infertilités masculine. Les résultats obtenus semblent indépendants de la valeur des paramètres spermatozoïdiques conventionnels. La seule exigence pour obtenir un taux de fécondation supérieur à 60% reste l'injection d'un spermatozoïde mobile, donc vivant, provenant d'un sperme éjaculé ou d'une biopsie testiculaire. Toutefois, les faibles taux de fécondation observés pour des patients atteints de globozoospermie démontrent que d'autres facteurs jouent un rôle important dans son bon déroulement ; les échecs de fécondation seraient imputables à un défaut d'activation ovocytaire dû à un déficit en oscilline. Ceci reste à être démontré et impose au préalable l'isolement de cette protéine spermatozoïdaire.

REFERENCES

1. COMHAIRE F., MILINGOS S., LIAPI A. *et al.* . The effective cumulative pregnancy rate of different modes treatment of male infertility. *Andrologia*, 1994, 27 : 217- 221.
2. DICKEY R.P., PYRZAK R., LU P.Y., TAYLOR S.N., RYE P.H. : Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with WHO threshold values for normal sperm. *Fertil. Steril.*, 1999, 71 : 684-689.
3. FIVNAT: FIV classique et hypofertilité masculine. *Contracept. Fertil. Sex.*, 1995, 23 : 498-501.
4. GOVERDE A.J., MC DONNELL J., VERMEIDEN J.P., SCHATS R., RUTTEN F.F., SCHOEMAKER J. : Intra uterine insemination or *in vitro* fertilization in idiopathic subfertility and male subfertility : a randomised trial and cost-effectiveness analysis. *Lancet*, 2000, 355 : 13-8.
5. KRUGER T.F, ACOSTA A.A., SIMMONS K.F., SWANSON R.J., MATTA J.F., OEHNINGER S. : Predictive value of abnormal sperm morphology in in-vitro-fertilization. *Fertil. Steril.*, 1998, 49 : 112-117.
6. LELANNOU D. : L'insémination intra-utérine, indications et résultats. *Contracept. Fertil. Sex.*, 1994, 22 : 361-369.
7. LIU J., NAGY Z., JORIS H., TOURNAYE H.,

DEVROEY P., VAN STEIRTEGHEM A. : Successful fertilization and establishment of pregnancies after intracytoplasmic sperm injection in patients with globozoospermia. *Hum. Reprod.*, 1995, 10 : 626-629.

8. NAGY Z.P., VERHEYEN G., TOURNAYE H., VAN STEIRTEGHEM A.C. : Special applications of intracytoplasmic sperm injection: the influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI. *Hum. Reprod.*, 1995, 13 (suppl 1) : 143-154.
9. OMBELET W., PUTTEMANS P., BOSMAN E. : Intrauterine insemination: a first-step procedure in the algorithm of male infertility treatment. *Hum. Reprod.*, 1995, 10 (Suppl 1) : 90-102.
10. VAN STEIRTEGHEM A.C., NAGY Z.P., JORIS H. ET AL.: High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1993, 8 : 1061-1066.
11. WAINER R., MERLET F., BAILLY M., LOMBROSO R., CAMUS E., BISSON J.P. : Prognostic sperm factors in intra-uterine insemination with partner's sperm. *Contracept. Fertil. Sex.*, 1996, 24 : 897-903.

ABSTRACT

ART and male infertility

S. HAMAMAH, L. CORCIA, F. ENTEZAMI,
G. EL WEIY.

In spite of several trials, medical treatment of male sterility is still deceiving. Only few indications are likely to gain from antibiotherapy, anti-inflammatory molecules or hormone therapy. Most of the time, ART techniques remain the last issue in male sterility. In 1992, the WHO defined the threshold sperm criteria's in order to obtain natural fertilization : sperm concentration ≥ 20 millions per ml., progressive motility $\geq 50\%$ after liquefaction, and normal forms $\geq 30\%$. In vitro techniques used for sperm preparation before ART, are necessary for multiple reasons: selection of motile spermatozoa's with normal morphology, suppression of dead spermatozoa's and cellular fragments, elimination of seminal plasma, and induction of sperm capacitating process. Several ART techniques are now available and the result of in vitro sperm selection will help to choose the best technique in each indication.

Key words : male sterility, IUI, IVF, ICSI