# XIVe Congrès de la Société d'Andrologie de Langue Française

## *Toulouse*

## *11-13 décembre 1997*

## RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

### ENDOCRINOLOGIE

78 Effets *in vivo* et *in vitro* de l'extrait aqueux de *Hibiscus macranthus* et *Basella alba* sur la fonction testiculaire du rat adulte.
*P.F. MOUNDIPA, P. KAMTCHOUING, N.P.R. FOYAND, S. CARREAU, T.F. MBIAPO.*

78 Création d'une lignée sertolienne de souris sécrétant de l'ABP de rat.
*A. DUCRAY, K. HESS, M. BLOQUEL, H. GÉRARD, P. LEBLOND,G.L. HAMMOND, A. GÉRARD.*

79 Le sodium est-il impliqué dans la dépolarisation membranaire et l'influx du calcium stimulés par la progestérone dans le spermatozoïde humain ?
*C. SERRES, C. PATRAT, P. JOUANNET.*

80 Surexpression du gène de l'ABP et développement pubertaire : étude sur un modèle de souris transgénique.
*V. SENEE, S. LARRIBA, F. MUNELL, J. REVENTOS, B. LEHEUP, A. GERARD.*

81 Une nouvelle méthode d'analyse des anti-androgènes : la dynamique intracellulaire du récepteur des androgènes fusionné à la GFP dans les cellules vivantes.
*V. GEORGET, N. POUJOL, S. LUMBROSO, B. TEROUANNE, C. SULTAN.*

82 Le finastéride ne modifie pas le transfert nucléaire du récepteur des androgènes normal et ne présente ni action agoniste ni antagoniste sur la transactivation d'un gène andro-géno-régulé.
*V. GEORGET, N. POUJOL, S. LUMBROSO, B. TEROUANNE, B. GIBELIN, C. SULTAN.*

### SPERMIOLOGIE

83 Anomalies morphologiques et ultrastructurales des spermatozoïdes et caractéristiques cliniques des hommes inféconds avec asthénozoospermie persistante inexpliquée.
*R. MIEUSSET, M. COURTADE, C. LAGORCE, C. CARATERO, L. BUJAN.*

84 Action de la Pentoxifylline sur la mobilité des spermatozoïdes testiculaires après décongélation.
*N. RIVES, L. SIBERT, V. DELABROYE, G. JOLY, B. MACE.*

85 Effet de l'antibiothérapie sur les paramètres spermatiques de patients consultant pour hypofertilité et présentant une infection du plasma séminal.
*N. RIVES, N. BOURGEAIS, L. SIBERT, N. SIMEON, B. MACE.*

86 Prévalence de la nécrozoospermie chez les hommes consultant pour infertilité du couple dans la région de Sfax.
*L.AMMAR-KESKES, M.KASSIS, F.BOUZID, T.REBAÏ, J.DAMMAK, S.REKIK.*

87 D4- Androsténedione séminale, vitalité et qualité de la progression des spermatozoïdes.
*A. LAUDAT, J. GUECHOT, P. FOUCAULT, A.M. PALLUEL.*

88 Détermination de l'activité enzymatique de l'élastase du liquide séminal. Valeur diagnostique et pronostique du dosage chez l'homme infertile.
*B. ZORN, I. VIRANT-KLUN, H. MEDEN-VRTOVEC.*

## ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION

89 Inséminations intra utérines : bilan de 955 cycles
*A. TEMSTET, B. MARTIN-PONT, J.N. HUGUES, J.P. WOLF.*

90 Influence de la dénaturation de l'ADN spermatique sur le potentiel de développement cellulaire embryonnaire après injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI).
*I. VIRANT-KLUN, B. ZORN, T. TOMAZEVIC, H. MEDEN-VRTOVEC.*

92 Plaidoyer pour une intervention chirurgicale préalable à l'ICSI.
*M. BAILLY, F. MERLET, T. LEBRET, V. IZARD, P. MECHALI, J.P. BISSON.*

93 Etude cytologique per-opératoire de la lignée germinale masculine.
D. MARMOR, V. IZARD, E. NEMIR, A. JARDIN.

94 Agénésie vésico-déférentielle (AVD) et ICSI.
*J.M. CHINCHOLE, P. TERRIOU, J.P. FRANQUEBALME, C. GIORGETTI, R. ROULIER.*

## GENETIQUE

95 Recherche de microdélétions du chromosome Y : étude d'un cas de transmission naturelle.
*E. SZERMAN, C. PATRY, G. PLESSIS, M. HERLICOVIEZ, M.A. DROSDOWSKY.*

95 Phénotype et génotype chez 33 hommes azoospermes par agénésie des canaux déférents.
*M. DAUDIN, E. BIETH, L. BUJAN, R. MIEUSSET, C. TOLLON, G. MASSAT, J. FAUVEL, H. CHAP, F. PONTONNIER.*

## IMAGERIE

96 Apport de l'écho-doppler testiculaire systématique chez l'homme infertile : étude prospective de 240 cas.
*E. GOULLET, J.M. RIGOT, O. VANKEMMEL, L. LEMAITRE, E. MAZEMAN.*

97 Classification échographique des absences de canaux déférentiels à partir de 39 cas.
*F. ROBERT, J. ROLLET, J.F. LAPRAY, Y. MOREL.*

## SEXOLOGIE

98 Mise au point sur le traitement non chirurgical de la maladie de la Peyronie. Analyse critique de la littérature.
*D. DELAVIERRE, H. IBRAHIM, M. PENEAU.*

99 Intérêt du dosage de la prolactinémie dans le bilan d'une insuffisance érectile. A propos de 341 patients.
*D. DELAVIERRE, Ph. GIRARD, H. IBRAHIM, M. PENEAU.*

100 Rigidimétrie nocturne informatisée dans le bilan d'une insuffisance érectile : mise au point du Comité d'Andrologie de l'Association Française d'Urologie (AFU).
*D. DELAVIERRE et le Comité d'Andrologie de l'AFU.*

101 Physiologie de l'éjaculation chez l'homme
*J. HERMABESSIERE, J. ROUANET, F. REYNAUD, J.P. BOITEUX, B. GIRAUD.*

## ENDOCRINOLOGIE

### Effets in vivo et in vitro de l'extrait aqueux de *Hibiscus macranthus* et *Basella alba* sur la fonction testiculaire du rat adulte

P.F. MOUNDIPA[1], P. KAMTCHOUING[2], N.P.R. FOYAND[1], S. CARREAU[3], T.F. MBIAPO[1]

*1-Laboratoire de Biochimie, 2- Laboratoire de Physiologie animale, Faculté des Sciences, BP 812 Yaoundé, Cameroun 3- Biochimie IRBA, CNRS EP9, Caen.*

Des rats adultes de souche Wistar (180-220g) ont été gavés avec l'extrait aqueux du mélange de feuilles sèches de *Hibiscus macranthus* et *Basella alba*. Ces deux plantes sont utilisées par les tradipraticiens lors du traitement des faiblesses sexuelles de l'homme. La dose administrée est équivalente à 0,108 g de plante sèche/kg poids corporel. Après les périodes expérimentales (3,7 et 15 jours), les rats sont sacrifiés, le sang est recueilli et les organes de reproduction (testicules et glandes annexes) prélevés pour des analyses biochimiques. Les résultats montrent que le poids testiculaire des animaux traités est de 4 % supérieur à celui des témoins ; par contre, la testostéronémie est beaucoup plus élevée (80%) chez les rats recevant l'extrait de plantes par rapport aux rats contrôles. Des résultats analogues sont obtenus pour l'activité de la phosphatase acide prostatique qui est aussi plus importante chez les animaux traités. Ces résultats objectivent que les effets observés chez l'homme peuvent être dûs aux propriétés androgéniques de *Hibiscus macranthus* et *Basella alba*.. En effet, l'extrait aqueux des deux plantes stimule in vitro (34 à 60%, selon la dose d'extrait), la production de testostérone par des morceaux testiculaires de rat adulte incubés pendant 2h dans du milieu Ham F122/DME. Ces données sont donc en faveur d'un rôle probable des extraits de ces plantes sur la stéroïdogenèse ; des études complémentaires sont en cours pour purifier la fraction biologiquement active et par la suite, préciser son mécanisme d'action.

•••

### Création d'une lignée sertolienne de souris sécrétant de l'ABP de rat.

A. DUCRAY[1], K. HESS[3], M. BLOQUEL[3], H. GÉRARD[1], P. LEBLOND[4], G.L. HAMMON[5], A. GÉRARD[1].

*1- Faculté de Médecine Nancy 1, Histologie-Embryologie ; 2. Biochimie ; 3. IUT BA Santé ; 4- Faculté des Sciences Nancy ; 5. LRCC Cancer Research Lab. London, Ontario, Canada*

#### INTRODUCTION ET BUTS

Au niveau du testicule de différents mammifères, les produits du gène ABP/HBG interagissent avec les cellules spermatogéniques selon leur stade de maturation par un mécanisme récepteur-médié en association ou non avec les stéroïdes (Gérard et al, 1990-95).

Afin d'étudier la signification physiologique de l'ABP sertolienne sur les cellules germinales et sachant que les cellules germinales ne survivent pas longtemps sans les cellules de Sertoli, il nous faut créer un modèle expérimental de co-culture comprenant d'une part des cellules de Sertoli qui ne produisent pas d'ABP et des populations définies de cellules germinales, et d'autre part, des cellules de Sertoli qui produisent de l'ABP et les différentes catégories de cellules germinales. L'objectif de ce travail est de créer par transfection des cellules de Sertoli capables de produire de façon stable de l'ABP de rat. Pour ce faire nous avons utilisé la lignée de cellules de Sertoli de souris TM4 (Mather et al., 1980) qui se cultive sans difficulté sur support plastique et sans hormones mais dont la sécrétion d'ABP est perdue (sauf en cas de co-culture avec des cellules péritubulaires) et une construction génomique d'ABP de rat.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

La lignée TM4 est cultivée dans un milieu de

culture Ham F12/DMEM (v/v) additionné de Glutamine, antibiotiques, insuline, transferrine, sélénium et 10% de sérum de veau foetal (vérifié sans SHBG) à 37°C avec 5% CO2.

Après avoir vérifié l'absence de sécrétion d'ABP sertolienne dans les cellules TM4 par immunocytochimie à l'aide d'anticorps polyclonaux anti ABP de souris et de rat, nous avons introduit une construction génomique d'ABP de rat de 1 600 pb cloné au site *HindIII-Xbal* dans un vecteur d'expression eucaryote pRc/CMV (Bocchinfuso et al., 1991) à l'aide de deux différents vecteurs de transfection. Nous avons utilisé d'une part la lipofection avec un mélange de 3 à 6 mg d'ADN-Dotap/1x$10^6$ cellules (Boehringer) pendant 4 à 8 heures dans le milieu de culture en absence de sérum de veau foetal. D'autre part, nous les avons également transfectés avec un mélange polyéthyléneimine/ADN (PEI, Exgen 500, Euromedex) à raison de 10 mg ADN-PEI/1x $10^6$ TM4 pendant 20 heures.

La sélection des cellules transfectées a été réalisée par la résistance à la néomycine en ajoutant de la généticine (200 mg/ml) dans le milieu de culture pendant 15 à 20 jours.

L'analyse de l'intégration de la construction d'ADNc de rat dans l'ADN génomique des clones positifs, néomycine résistants, a été effectuée par Southern blot avec une sonde ADNc de l'ABP de rat marquée à la digoxigénine (DIG DNA Labeling and detection kit, Boehringer).

La présence de la protéine recombinante dans le cytoplasme des cellules et dans le milieu de culture a été recherchée par immunoblots et immunocytochimie avec les anticorps cités ci-dessus.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Plus de 25 clones se sont révélés positifs, résistants à la néomycine et produisant de l'ABP de rat recombinante. La protéine recombinante a pu être détectée par immunocytochimie et par immunoblot à l'aide d'un anticorps anti ABP de rat (fourni par J. Closset) aussi bien au niveau intracytoplasmique dès 48 heures après la transfection et de façon stable jusqu'à 40 jours après la transfection avc les deux vecteurs de transfection. Dans le milieu de culture, la protéine recombinante est décelable également de façon stable jusqu'à 40 jours.

Les analyses de Southern confirment l'intégration de l'ADNc de l'ABP de rat dès 48 heures et jusqu'à 35-40 jours quel que soit le vecteur de transfection utilisé.

**EN CONCLUSION**, nous avons obtenu des cellules de Sertoli de souris adultes immortalisées et produisant de l'ABP de rat recombinante similaire à l'ABP de rat. Des études complémentaires permettront de déterminer l'activité de capacité de liaison des stéroïdes de cette protéine. Cette méthode pourra également être utilisée pour créer des lignées sertoliennes avec différents mutants de l'ABP de rat en préparation.

•••

## Le sodium est-il impliqué dans la dépolarisation membranaire et l'influx du calcium stimulés par la progestérone dans le spermatozoïde humain ?

C. SERRES, C. PATRAT, P. JOUANNET.

*Laboratoire d'Histologie-Embryologie. Université Paris V. Faculté de Cochin-Port Royal.*

La progestérone (P) pourrait réguler différentes fonctions du spermatozoïde lors de l'intéraction gamétique (mouvement, fixation à la zone pellucide, pénétration de l'ovocyte). P exercerait son action au niveau de la membrane plasmique du spermatozoïde induisant notamment une dépolarisation membranaire et un influx de calcium [1] nécessaires à la réaction acrosomique (RA). Le rôle du sodium ($Na^+$) dans la réalisation de la RA des spermatozoïdes humains stimulés par P est controversé [1,2]. Alors qu'un influx de $Na^+$ dans la cellule semble principalement responsable de l'effet dépolarisant de P [1], il n'apparaît pas nécessaire à l'influx calcique induit par P [1,2]. Dans le but de déterminer si réellement un influx de sodium est impliqué dans l'action de P et connaissant l'hétérogénéité de la population spermatique humaine, nous

avons testé l'impact d'une déplétion en sodium du milieu sur l'effet dépolarisant et l'influx calcique stimulés par P dans les spermatozoïdes humains.

Les spermatozoïdes mobiles de 7 donneurs différents ont été sélectionnés sur gradient de Percoll (47,5% et 95%) puis incubés 5 heures à 37°C sous air 5% CO2 dans le milieu capacitant BWW + 25mg/ml BSA. La dépolarisation membranaire et l'influx calcique stimulés par 10m MP ont été mesurés à 37°C en spectrofluorimétrie à l'aide des sondes fluorescentes $DISBAC_2$ [3] et Fura-2. Les expériences ont été faites sur des spermatozoïdes humains incubés soit dans un BWW modifié contenant du sodium (mBWW + $Na^+$), soit dans un milieu déficient en sodium, la choline remplaçant alors le sodium (mBWW-$Na^+$).

Les résultats étaient variables d'un échantillon à l'autre. La déplétion en sodium extracellulaire diminuait (n = 3) ou augmentait (n = 4) la dépolarisation membranaire induite par 10m MP. Sur les mêmes échantillons, l'amplitude moyenne du pic calcique induit par 10m MP n'était pas significativement modifiée par la déplétion en sodium (moyenne +/- écart type : 87,1 +/- 21,9 nM vs 87,4 +/- 17,5 nM dans mBWW-$Na^+$ et mBWW+ $Na^+$ respectivement). Cependant la réponse était très variable selon les échantillons, le pic calcique étant diminué (n = 3), augmenté (n = 2) ou non modifié (n = 2) par la déplétion en sodium. La corrélation entre les effets de la déplétion en sodium (exprimés en % de la réponse contrôle dans le milieu mBWW+$Na^+$) sur la dépolarisation membranaire d'une part et sur l'influx calcique d'autre part induits par 10m MP était très positive (r = 0,891 ; p = 0,007).

Ces résultats indiquent qu'un influx de sodium n'est pas indispensable pour observer l'effet dépolarisant et l'influx de calcium induits par P. Ceci suggère que P doit activer d'autre(s) mouvement(s) ionique(s) pour dépolariser la membrane. La déplétion en sodium ne modifie pas de manière identique la réponse (dépolarisation ou influx calcique) à la progestérone de différents échantillons spermatiques. Toutefois, dépolarisation membranaire et influx calcique sont similairement influencés par la déplétion en $Na^+$ au sein d'un même échantillon, suggérant un lien entre ces deux événements et l'implication éventuelle de canaux calciques voltage dépendants ouverts par la dépolarisation. La variabilité de réponse peut être attribuée à des différences d'état membranaire donc de capacitation des populations spermatiques.

1. Foresta *et al.*, (1993) Biochem. J. **294**, 279-283.

2. Garcia et Meizel (1996) Mol. Reprod. Dev. **45**, 513-520.

•••

## Surexpression du gène de l'ABP et développement pubertaire : étude sur un modèle de souris transgénique.

V. SENEE[1], S. LARRIBA[2], F. MUNELL[2], J. REVENTOS[2], B. LEHEUP[1], A. GERARD[1].

*1- Unité de Génétique et Intéractions Cellulaires en Reproduction, Département de Cytologie-Histologie et Embryologie, Faculté de Médecine, 54511 Vandoeuvre les Nancy Cedex-France. 2- Unitat de Recerca Biomedica, Hospital Vall d'Helron, Barcelona- Espagne.*

L'implication de l'Androgen Binding Protein (ABP) dans le contrôle de la spermatogenèse a fait l'objet de nombreux rapports même si les mécanismes d'action restent encore débattus. L'action de l'ABP dans le contrôle des phases du développement testiculaire prépubère a été évaluée en utilisant le modèle des souris transgéniques surexprimant le gène de l'ABP.

### MODÈLE ANIMAL

Le modèle de surexpression du gène ABP a été développé par J. Reventos. L'intégration de copies du clone génomique SST 5.5 dans le génome a été réalisée par microinjection dans le pronucleus d'ovocytes fécondés. Il existe un effet de dosage génique démontré par le fait que la surexpression est plus faible chez les hétérozygotes que chez les homozygotes anormaux. Les hétérozygotes présentent une hypofécondité relative.

## MÉTHODES

Les testicules de souris transgéniques homozygotes ont été prélevés à J11, J14, J26 et chez l'adulte et comparés à des animaux contrôles de souche «sauvage» (C57BL/6J). L'expression de l'ABP a été évaluée par technique immunocytochimique en utilisant des anticorps anti ABP de souris (fourni par G.L. Hammond) ou de rat (fourni par J. Closset). L'étude morphométrique quantitative en microscopie optique a défini le diamètre tubulaire externe, le diamètre épithélial, la hauteur épithéliale, le nombre d'assises cellulaires, le pourcentage des différentes cellules de la lignée germinale(logiciel BIOCOM). Le pourcentage de cellules en cycle cellulaire a été défini par technique immunocytochimique (anticorps anti-PCNA, Dako).

## RÉSULTATS

**Marquage des cellules par l'anticorps anti ABP**. Le cytoplasme des cellules de Sertoli est marqué de façon similaire dans les deux conditions. Pour les cellules germinales, le marquage est nucléaire chez les animaux témoins et apparaît cytoplasmique et nucléaire chez les souris transgéniques.

**Analyse morphométrique**. Les principales différences entre les souris surexprimant l'ABP et les souris sauvages témoins sont les suivantes : augmentation du diamètre externe à J11 et J16 avec réduction chez l'adulte, diamètre luminal augmenté à J11 et J16, non différent à J26 et chez l'adulte,nombre d'assises cellulaires plus élevé à J11 et J16, non modifié à J26 et chez l'adulte, lumière plus large à J11 et J16. Le nombre des spermatogonies est plus réduit à tous les stades du

Développement pubertaire de J11 à J26 chez les souris transgéniques, le nombre des spermatocytes est plus élevé à tous ces stades. A J26, le nombre des spermatides rondes et allongées est plus élevé chez les souris transgéniques. Le nombre des cellules de Sertoli apparaît plus faible chez les souris transgéniques lorsqu'il est exprimé par unité de circonférence du tube à J11, J16 et J26.

***Analyse de l'index de division cellulaire***. Son évaluation par le marquage PCNA met en évidence une augmentation du marquage des cellules germinales à J11 et une réduction franche à J26. Lorsque le nombre des cellules germinales marquées est exprimé par cellule de Sertoli, l'index de marquage est significativement augmenté à J11, J16 et diminué à J26.

## CONCLUSION

L'étude de l'effet de la surexpression de l'ABP chez des souris transgéniques permet de démontrer une avance de la «maturation» de la lignée germinale et une anticipation des structures tubulaires. Par contre à l'âge adulte il existe une indiscutable perturbation de la spermatogenèse avec régression testiculaire.

*Travail réalisé dans le cadre d'un réseau de recherche européen «Contrat Picasso».*

•••

# Une nouvelle méthode d'analyse des anti-androgènes : la dynamique intracellulaire du récepteur des androgènes fusionné à la GFP dans les cellules vivantes.

V. GEORGET[1], N. POUJOL[1,2], S. LUMBROSO[1,2], B. TEROUANNE[1], C. SULTAN[1,2].

*1- INSERM U439, Pathologie Moléculaire des Récepteurs Nucléaires, Montpellier. 2- Unité BEDR, Hôpital Lapeyronie, Montpellier.*

Le récepteur des androgènes (RA) est un facteur transcriptionnel androgéno-dépendant dont le mécanisme d'action peut être schématisé en 4 grandes étapes : la liaison de l'androgène, le transport au noyau, la fixation à l'ADN et la transactivation des gènes androgéno-régulés. Les anti-androgènes sont généralement utilisés dans la prise en charge des maladies androgéno-dépendantes comme le cancer de la prostate. Ils inhibent l'action des androgènes par compétition de liaison au récepteur. Ces anti-hormones peuvent agir au niveau des différentes étapes du mécanisme d'action du RA et induire une activité antagoniste. Mais certains d'entre eux présentent également une activité agoniste partielle. Le

but de cette étude est de corréler les activités agonistes et antagonistes de certains antiandrogènes avec leur capacité à bloquer le transport du RA au noyau. Un blocage dans les premières étapes telles que le transport au noyau serait susceptible d'entraîner un effet antiandrogénique puissant.

Nous avons récemment analysé la dynamique intracellulaire du récepteur des androgènes par l'utilisation d'une protéine de fusion entre le RA et la protéine fluorescente Green Fluorescent Protein (GFP). Cette protéine chimère (GFP-RA), tout en conservant les caractéristiques biochimiques et fonctionnelles du RA, nous permet de suivre la localisation du RA in vivo et en temps réel via la fluorescence. Nous avons démontré que le transfert du RA dans le noyau est dépendant de la concentration de l'hormone, de l'affinité de l'hormone pour le RA et de l'énergie.

Ce nouveau modèle a ensuite été appliqué à l'expertise de l'action de certains anti-androgènes avec en parallèle l'analyse de leur activité agoniste et antagoniste. Différents antiandrogènes ont été étudiés : la bicalutamide (casodex), l'OH-flutamide, la nilutamide (l'anandron), l'inocotérone et l'acétate de cyprotérone. Nous avons choisi de présenter les résultats obtenus pour deux d'entre eux : l'OH-flutamide et le nilutamide. Concernant la dynamique du RA, l'OH-flutamide entraîne majoritairement le RA dans le noyau et en présence d'androgène, le RA est totalement nucléaire. A l'inverse, en présence d'une forte concentration de nilutamide, le RA reste cytoplasmique. Après addition de l'androgène, nous n'observons qu'un faible transport du RA dans le noyau. Le nilutamide bloque le transfert nucléaire normalement induit par l'androgène.

L'activité transcriptionnelle de GFP-RA est mesurée après cotransfection de GFP-RA et d'un gène luciférase sous la dépendance d'un promoteur androgéno-sensible (tyrosine-aminotransférase) et par incubation des cellules avec l'anti-androgène et/ou l'androgène. L'OH-flutamide seul induit une transactivation du RA et en présence d'androgène, l'OH-flutamide ne diminue que faiblement l'activité induite par l'androgène. Au contraire, le nilutamide a une activité antagoniste très faible et un très fort pouvoir antagoniste allant jusqu'à l'inhibition totale de l'activité induite par l'androgène.

A partir des résultats obtenus, nous observons l'existence d'une relation directe entre la capacité de ces anti-hormones à induire le transport nucléaire et leur propriété agoniste et antagoniste.

Quel que soit l'anti-androgène utilisé, le complexe GFP-RA anti-androgène accessible à l'élément de réponse aux androgènes induit une transactivation. L'inhibition du transfert nucléaire du RA conditionne le potentiel antiandrogénique des substances étudiées. En conclusion, l'analyse de la dynamique intracellulaire du RA (couplée à l'étude de l'activité transcriptionnelle de GFP-RA) ouvre des pistes prometteuses dans l'expertise du mécanisme d'action moléculaire des anti-androgènes dans les cellules androgéno-dépendantes.

•••

## Le finastéride ne modifie pas le transfert nucléaire du récepteur des androgènes normal et ne présente ni action agoniste ni antagoniste sur la transactivation d'un gène androgéno-régulé.

V. GEORGET[1], N. POUJOL[1,3], S. LUMBROSO[1,3], B. TEROUANNE[1], B. GIBELIN[2], C. SULTAN[1,3].

*1- INSERM U439, Pathologie Moléculaire des Récepteurs Nucléaires, Montpellier. 2- Direction Recherche, MSD-Chibret, Paris. 3- Unité BEDR, Hôpital Lapeyronie, Montpellier.*

Nous avons développé un modèle d'étude de la dynamique intracellulaire du récepteur des androgènes (RA) qui repose sur une protéine de fusion (GFP-RA) entre le RA et la Green Fluorescent Protein (GFP). La GFP est une protéine reporter qui a la propriété d'être fluorescente dans les cellules vivantes. GFP-RA transfectée dans des cellules naïves nous permet de suivre ex-vivo le devenir du RA sous différentes conditions expérimentales. Après

avoir démontré que GFP-RA conservait les principales propriétés fonctionnelles du RA, nous avons analysé la dynamique du RA en présence d'androgène. Le RA est distribué dans tout le cytoplasme en absence d'hormone et rentre très rapidement dans le noyau après incubation avec l'androgène. Le transfert dans le noyau est dépendant de la concentration de l'hormone, de l'affinité de l'hormone pour le RA et de l'énergie.

Les buts de cette étude sont

1) d'évaluer une éventuelle activité antagoniste du finastéride sur l'activité transcritptionnelle du RA induite par les androgènes et

2) de déterminer l'effet du finastéride sur le transfert nucléaire du RA.

Dans un premier temps, l'activité transcriptionnelle du RA a été étudiée dans deux lignées cellulaires prostatiques : les cellules PC3, dérivées d'un adénocarcinome de prostate et les cellules PZ-HPV, cellules immortalisées à partir de cellules épithéliales d'une zone périphérique de prostate normale. Ces cellules sont transfectées transitoirement par le RA et un gène reporter luciférase sous la dépendance d'un promoteur androgéno-régulé (MVDP-luc). Ces cellules sont ensuite incubées penant 30 heures en présence de finastéride seul ($10^{-6}$M), de testostérone seul ($10^{-9}$M ou $10^{-6}$M) ou de finastéride ($10^{-6}$M) en présence de testostérone ($10^{-9}$M), puis l'activité luciférase est mesurée. Dans les cellules PC3 comme dans les cellules PZ-HPV, le RA induit une activation de la luciférase en présence de testostérone $10^{-9}$M et celle-ci est encore plus importante en présence de testostérone $10^{-6}$. Le finastéride seul n'induit aucune activité transcriptionnelle du RA et ne diminue pas l'activité induite par la testostérone.

Dans un deuxième temps, afin de déterminer la capacité du finastéride à induire le transfert nucléaire du RA ou au contraire à bloquer ce transfert induit par l'androgène, des cellules naïves COS-7 ont été transfectées par la construction GFP-RA. Après 48 heures, les cellules sont observées directement sous microscope à fluorescence ou après 3 heures d'incubation en présence de DHT ($10^{-9}$M), ou de finastéride ($10^{-6}$M) ou encore de DHT ($10^{-9}$M) et de finastéride ($10^{-6}$M). Le RA sans hormone est cytoplasmique et devient majoritairement nucléaire en présence de DHT $10^{-9}$M. En présence de finastéride, le RA même après 3 heures d'incubation reste cytoplasmique et le finastéride en présence de DHT ne modifie pas la translocation nucléaire du RA induite par la DHT.

En conclusion, le finastéride n'a aucun effet agoniste ou antagoniste sur le RA, ni sur la dynamique intracellulaire du RA et ne bloque pas la translocation androgéno-induite. L'action du finastéride est donc bien limitée à l'inhibition de la 5-α-réductase et n'implique pas la transmission du message des androgènes par le récepteur.

•••

## SPERMIOLOGIE

### Anomalies morphologiques et ultrastructurales des spermatozoïdes et caractéristiques cliniques des hommes inféconds avec asthénozoospermie persistante inexpliquée.

R. MIEUSSET[1,3], M. COURTADE[1], C. LAGORCE[1], C. CARATERO[1], L. BUJAN[2,3].

*1- Laboratoire d'Histologie-Embryologie-Cytologie, Toulouse. 2- Laboratoire de Spermiologie et 3- Centre de Stérilité Masculine, Hôpital de La Grave, Toulouse.*

## INTRODUCTION

Dans le cas d'asthénozoospermie, de récentes données montrent une fréquence variable des anomalies ultrastructurales de l'axonème de 0% à 100% des populations étudiées [1-4].

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Etude rétrospective de 61 patients ayant eu une analyse des spermatozoïdes en microscopie électronique à transmission (MET) en rai-

son d'une asthénozoospermie (mobilité < 30%) persistante (au moins 3 examens successifs de sperme) et inexpliquée (absence de facteurs broncho-pulmonaires ou infectieux). MET selon la technique décrite par Escalier [5]. L'analyse statistique repose sur une définition du seuil de normalité de la fréquence des anomalies structurales comme étant infèrieur à la moyenne + 2DS observée pour chacun des constituants des pièces principales, intermédiaires, et de la tête des spermatozoïdes chez un groupe témoin de 9 hommes féconds.

## RÉSULTATS

A partir des seuils ainsi définis pour les anomalies de l'axonème, la population inféconde se distribue en trois groupes : I : 26,2% sans anomalies détectables ; II : 29,5% avec des anomalies de l'axonème soit au niveau de la pièce intermédiaire, soit au niveau de la pièce principale ; III : 44,3% avec des anomalies axonémales observées à la fois au niveau de la pièce intermédiaire et principale. De plus, le pourcentage de patients avec anomalies des fibres denses au niveau de la pièce intermédiaire augmente significativement du groupe I à III. Toutefois, des anomalies de la gaine mitochondriale, de la gaine fibreuse et de la tête sont retrouvées respectivement chez au moins 50%, 30% et 50% des patients de chaque groupe. Pas de différence sur les antécédents, la clinique ou les caractérisitiques du sperme

## CONCLUSIONS

En cas d'asthénozoospermie persitante et inexpliquée, l'association fréquente des anomalies des structures périaxonémales et de la tête avec les anomalies de l'axonème suggère fortement que les anomalies de l'axonème ne sont pas la cause unique de l'asthénozoospermie.

## RÉFÉRENCES


1. Hancock, de Kretser DM. Fertil Steril 1992 ; 57 : 661-664.
2. Marchini M., Losa G., Falcone L. et al.. Andrologia 1991 ; 23 : 115-120.
3. Mundy A.J., Ryder T.A., Edmonds D.K., Hum Reprod 1995 ; 10 : 116-119.
4. Wilton L.J., Temple-Smith P.D., de Kretser D.M., Hum Reprod 1992 ; 7 : 510-516.
5. Escalier D. Biol Cell 1983 ; 48 : 65-74.


•••

## Action de la Pentoxifylline sur la mobilité des spermatozoïdes testiculaires après décongélation.


N. RIVES[1], L. SIBERT[2], V. DELABROYE[1], G. JOLY[1], B. MACE[1].

*1- Laboratoire de Biologie de la Reproduction et 2- Service d'Urologie au CHU Charles Nicolle, 76031 Rouen Cedex.*


## INTRODUCTION

La pentoxifylline (PF), inhibiteur de la méthylxanthine phosphodiestérase, améliore la mobilité, la réaction acrosomique et le pouvoir fécondant des spermatozoïdes humains. PF stimule la mobilité dans les asthénospermies, les oligoasthénospermies mais aussi après décongélation des spermatozoïdes éjaculés. L'ICSI avec prélèvement testiculaire (TESE) ouvre une nouvelle voie thérapeutique dans les azospermies sécrétoires voire excrétoires. Les spermatozoïdes testiculaires ont cependant une mobilité médiocre et après cryoconservation et décongélation, le nombre de spermatozoïdes mobiles est très faible. La mobilité reste actuellement le paramètre qui permet d'attester le caractère vivant ou non d'un spermatozoïde. Notre étude a eu pour but d'évaluer les effets d'un traitement par la PF sur les spermatozoïdes testiculaires cryoconservés et décongelés.

## SUJETS ET MÉTHODES

14 patients présentant une azoospermie sécrétoire (n=8) et une azoospermie excrétoire (absence congénitale bilatérale des canaux déférents n=5, anéjaculation par traumatisme rachidien n=1) ont subi un prélèvement testiculaire avec extraction de spermatozoïdes. Les tubes séminifères sont dilacérés sous loupe en milieu IVF. La suspension de spermatozoïdes est diluée (v/v) avec un milieu cryoprotecteur

sans jaune d'oeuf (Spermfreeze" , JCD) et congelé automatiquement (Minicool LC40», Air Liquide Santé, France), avant d'être plongé dans l'azote liquide. La décongélation s'effectue à 37°C pendant 5 minutes. Chaque paillette est divisée en trois échantillons : le premier subit un traitement à la pentoxifylline à la concentration finale de 3,5mM, le second après migration préalable sur gradient de Percoll est divisé en deux aliquots (avec PF à la même concentration finale et sans PF) et le troisième échantillon sans traitement et sans migration (contrôle). Le nombre de spermatozoïdes mobiles est évalué dans 10ml de chaque échantillon au temps 15', 30', 60', 120' et 24 heures.

## RÉSULTATS

PF augmente significativement le nombre de spermatozoïdes testiculaires mobiles décongelés dans les azoospermies sécrétoires et excrétoires. L'effet maximal est obtenu à 60-120'. On peut observer quelques spermatozoïdes à mouvement progressif après traitement par PF. Dans les azoospermies excrétoires, le nombre de spermatozoïdes mobiles est maximum quand la PF est associée à une migration préalable sur gradient de Percoll. Dans les azoospermies sécrétoires, un traitement seul par la PF donne les meilleurs résultats.

## CONCLUSION

PF, en augmentant le nombre de spermatozoïdes mobiles, permet de sélectionner un plus grand nombre de spermatozoïdes vivants. L'association de la cryconservation des spermatozoïdes testiculaires et du traitement post-décongélation par la PF conforte l'intérêt de congeler les spermatozoïdes testiculaires extraits, afin d'éviter la répétition des biopsies et de pouvoir différer le jour de la ponction ovocytaire du jour de la biopsie testiculaire.

•••

# Effet de l'antibiothérapie sur les paramètres spermatiques de patients consultant pour hypofertilité et présentant une infection du plasma séminal.

N. RIVES[1], N. BOURGEAIS[1], L. SIBERT[2], N. SIMEON[1], B. MACE[1].

*1- Laboratoire de Biologie de la Reproduction et 2- Service d'Urologie au CHU Charles Nicolle, 76031 Rouen Cedex.*

## INTRODUCTION

Les retentissements des infections génitales sur la fertilité féminine sont bien connus à l'heure actuelle. En revanche, chez l'homme, les conséquences des maladies sexuellement transmissibles sur la qualité spermatique restent controversées. Il est cependant admis que les infections génitales aiguës, par les lésions obstructives qu'elles génèrent altèrent la fertilité masculine. La relation semble moins évidente lorsqu'il s'agit d'infections chroniques. Le but de notre étude est d'évaluer rétrospectivement les effets de l'antibiothérapie sur les paramètres spermatiques de patients infertiles présentant une infection du plama séminal associée à une altération d'au moins un des paramètres spermatiques.

## SUJETS ET MÉTHODES

56 hommes consultant pour infécondité et présentant une altération d'au moins un des paramètes spermatiques (définis selon les critères de l'O.M.S.) associée à une infection du plasma séminal ont bénéficié d'une antibiothérapie et d'un contrôle du spermogramme et de la spermoculture après traitement.

Autres paramètres retenus : les antécédents urologiques, la durée d'infertilité et la leucocytospermie.

## RÉSULTATS

L'âge moyen est de 34 ans, la durée moyenne d'infertilité de 30 mois. 11 sujets (19,6%) ont signalé un épisode infectieux urogénital, 2 sujets ont subi une cure d'ectopie testiculaire dans l'enfance, un patient présentait une varicocèle.

***Paramètres spermatiques avant traitement :***

Hypospermie chez 5 sujets (8,9%)

Oligospermie chez 33 sujets (59%)

Asthénospermie chez 55 sujets (98,2%)

Tératospermie chez 5 patients, les anomalies flagellaires et des acrosomes sont les plus fréquemment retrouvés.

Leucocytospermie dans 21 cas (37,5%)

***Germes retrouvés :***

Chlamydia trachomatis chez 20 patients (36%)

Ureaplasma Urealyticum chez 20 patients (36%)

Association des deux germes précédents chez 4 patients (7%)

Autres germes chez 12 patients (21%)

***Paramètres spermatiques après traitement :***

Durée moyenne du traitement : trois semaines

Intervalle de temps séparant la fin du traitement du spermogramme de contrôle : 3 à 4 semaines

Spermoculture négative chez 87,5% des sujets

Aucune amélioration significative n'a été observée après traitement en ce qui concerne les différents paramètres étudiés.

## CONCLUSION

L'antibiothérapie a eu un effet bénéfique sur la stérilisation du plasma séminal. En revanche, aucune amélioration des paramètres spermatiques n'a été observée après traitement. Les questions soulevées sont celles de la responsabilité de l'infection du plasma séminal sur les altérations spermatiques observées, de la nécessité de l'antibiothérapie à but curratif ou préventif.

•••

# Prévalence de la nécrozoospermie chez les hommes consultant pour infertilité du couple dans la région de Sfax.

L.AMMAR-KESKES [1], M.KASSIS [2], F.BOUZID [3], T.REBAÏ [1], J.DAMMAK [2], S.REKIK [3].

*1- Laboratoire d'Histologie-Embryologie, Faculté de Médecine, Sfax. 2- Département de Médecine Préventive, Faculté de Médecine, Sfax. 3- Service de Gynéco-Obstétrique, CHU, Hédi Chaker, Sfax, Tunisie.*

## INTRODUCTION

La nécrozoospermie est une cause d'infertilité masculine peu étudiée. Les infections génito-urinaires représentent les causes les plus fréquentes de cette anomalie. Parmi les autres causes figurent l'immunité antisperme et les anomalies du transit ou du stockage épididymaire. D'autres étiologies sont encore mal élucidées du fait du manque d'études rigoureuses et ciblées. Dans le but d'évaluer la prévalence de la nécrozoospermie et de rechercher d'éventuelles relations avec les autres anomalies du sperme chez les hommes consultant pour infertilité du couple, nous avons entrepris une étude rétrospective portant sur des spermogrammes réalisés dans le cadre d'un bilan d'infertilité sur une période d'environ deux ans et demi.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a porté sur 497 spermogrammes pratiqués dans notre laboratoire entre janvier 95 et septembre 97. Un seul spermogramme a été retenu pour chaque patient. L'analyse du sperme était réalisée selon la méthode standardisée de l'OMS. Elle comportait un examen macroscopique (aspect, volume, pH et viscosité) et un examen microscopique incluant l'étude de la mobilité, de la numération, de la vitalité et de la morphologie des spermatozoïdes ainsi que la recherche d'agglutination spontanée. La vitalité était étudiée par le test de Williams utilisant la coloration à l'éosine-nigrosine. Nous avons considéré anormales toutes les valeurs de la vitalité inférieures ou égales à 50% (nécrospermie > 50%). les patients étaient alors divisés en deux groupes N+ (vitalité ≤ 50%) et N- (vitalité > 50%).

## RÉSULTATS

Nous avons trouvé que 35,48% des patients appartenaient au groupe N+. Seulement 16,8% des patients avaient une vitalité normale (≥ 75%, selon les normes de l'OMS). Les résultats des spermogrammes montraient de nombreuses différences significatives entre les deux groupes de patients. Les valeurs moyennes respectives des principaux paramètres du spermogramme dans les deux groupes N+ et N-, étaient les suivantes : 3,6 ± 2 ml et 3,2 ± 1,5ml pour le volume du sperme (p = 0,007) ; 28,4% ± 12,2% et 44,2% ± 13,8 % pour la mobilité totale (p = 0,0001) ; 64,3 x $10^6$ ± 103,4 x $10^6$ et 88 x $10^6$ ± 104,1 x $10^6$ pour la numération (p = 0,03) ; 28,4% ± 14,2% et 34,8% ± 15% pour la morphologie normale (p = 0,0001). Les anomalies morphologiques suivantes, exprimées en nombre d'anomalies par cent spermatozoïdes examinés, étaient significativement plus fréquentes dans le groupe N+ : les angulations du flagelle (13,9± 6,9 contre 11,8 ± 6,5 ; p = 0,0001) et les flagelles enroulés (14,5 ± 10,6 contre 10,5 ± 8,6 ; p = 0,0001).

La détermination des droites de regression et des coefficients de corrélation a montré l'existence de corrélations négatives et significatives entre la vitalité et les paramètres suivants : l'âge des patients (r = - 0,57 ; p = 0,0003) le volume du sperme (r = -0,36 ; p = 0,02), le nombre total des anomalies de la tête (r = -0,59 ; p = 0,0002), les angulations (r = - 0,71 ; p = 0,0001) et les flagelles enroulés (r = - 0,92 ; p = 0,0001). Il existait par ailleurs, des corrélations positives et significatives de la vitalité avec la mobilité totale (r = 0,6 ; p = 0,0001), la numération des spermatozoïdes (r = 0,5 ; p = 0,001) et la morphologie normale (r = 0,93 ; p = 0,0001).

## DISCUSSION

La prévalence de la nécrozoospermie est très élevée dans notre étude. L'incidence de cette anomalie parmi les sujets infertiles est estimée dans la littérature à moins de 5%. Notre résultat pourrait être dû à des effets délétères provoqués par des facteurs toxiques liés à l'environnement géographique et professionnel. En effet, la région de Sfax est réputée par son degré élevé de pollution atmosphérique et maritime, en rapport avec un développement industriel anarchique et par une variété de professions artisanales et agricoles exposant à des produits chimiques, dont les effets néfastes sur la fertilité masculine ont été prouvés dans des études antérieures (hydrocarbures, plomb, pesticides, etc). Ces facteurs toxiques exerceraient leurs effets délétères sur la vitalité des spermatozoïdes par le biais d'une perturbation de la spermatogenèse, comme en témoigne l'étroite association de la nécrospermie avec la baisse de la numération et les anomalies morphologiques, surtout avec les anomalies de la pièce intermédiaire et du flagelle. Ces facteurs entraîneraient aussi un dysfonctionnement des glandes annexes, puisque la nécrospermie était liée dans notre étude, de manière linéaire et proportionnelle, au volume du sperme. Une cause infectieuse est également possible d'autant plus que l'enroulement du flagelle, habituellement attribué aux infections génito-urinaires, est fréquent chez les patients nécrospermiques. Toutes ces hypothèses méritent d'être étayées par des études épidémiologiques rigoureuses, prospectives cherchant à établir une liaison de cause à effet entre les facteurs incriminés et les perturbations de la fonction de reproduction en général et des paramètres du sperme en particulier. Des études comparatives entre hommes fertiles et hommes infertiles permettront de préciser le degré d'implication des facteurs toxiques dans la pathogénie de l'infertilité masculine.

•••

### Δ4- Androsténedione séminale, vitalité et qualité de la progression des spermatozoïdes.

A. LAUDAT[1], J. GUECHOT[1], P. FOUCAULT[1], A.M. PALLUEL[1].

*1- Laboratoire de Biochimie-Biologie de la Reproduction, Centre Hospitalier Général, BP 407, 28018 Chartres. 2- Laboratoire de Biochimie-Hormonologie, Hôpital Saint-Antoine, 184 Fbg Saint-Antoine, 75571 Paris Cedex 12*

## INTRODUCTION

Selon une étude récente, les concentrations en testostérone et en dihydrotestostérone au niveau séminal sont corrélées avec la mobilité des spermatozoïdes. En revanche, la concentration séminale du précurseur de la testostérone, la Δ4-androsténedione (Δ4A), et les éventuelles corrélations pouvant exister entre cet androgène et la qualité de la progression des spermatozoïdes n'ont pas été étudiées.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

A l'occasion d'un spermogramme, la Δ4A a été quantifiée dans le liquide séminal de 23 patients (m± DS ; âge : 35 ± 6 ans ; volume de l'éjaculat : 4,6 ± 1,4 ml ; pH : 7,7 ± 0,2 ; abstinence sexuelle : 5 ± 2 jours ; numération spermatique ($10^6$/ml) : 59,1 ± 36,9). L'appréciation de la vitalité (V) des spermatozoïdes a été réalisée par la coloration éosine (0,67%)/nigrosine (5%), v/v. La qualité de la progression (P) des spermatozoïdes a été quotée de la façon suivante : bonne [4], moyenne [3], médiocre (2), faible [(1) et nulle (0). Afin de prendre en compte la vitalité lors de l'appréciation de la qualité de la progression des spermatozoïdes, un index (P/V) exprimé par le rapport de la qualité de la progression/vitalité (%) a été calculé. La détermination des concentrations en Δ4A séminale a été réalisée par radioimmunologie ($^3$H-RIA bioMérieux, Charbonnières-les Bains, France), après extraction à l'aide d'éther éthylique et purification par chromatographie. L'appréciation de la corrélation entre la Δ4A séminale et l'index P/V a été réalisée par le test de Spearman (logiciel Stat View 4.01, Abacus Concepts,Berkeley, USA).

## RÉSULTATS

Les résultats des divers paramètres étudiés sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

| PARAMÈTRES | M | DS | LIMITES |
|---|---|---|---|
| **Vitalité (%)** | 66 | 12 | 44-86 |
| **Qualité de la progression** | 3,25 | 0,58 | 2,00-4,00 |
| **Index P/V** | 0,050 | 0,011 | 0,035-0,071 |
| **Δ4A (nmol/l)** | 0,96 | 0,47 | 0,50-2,50 |

Une corrélation positive, statistiquement significative, a été mise en évidence par le test de Spearman entre les concentrations séminales en Δ4A et l'index P/V (r = 0,578 ; p = 0,006).

## DISCUSSION

En marge ou de façon concomitante de ses actions sur les cellules de Sertoli et de la lignée germinale, la testostérone, excrétée par les cellules testiculaires de Leydig, ainsi que la DHT semblent être corrélées positivement avec la qualité de la progression des spermatozoïdes. La corrélation positive retrouvée dans notre étude entre la Δ4A séminale et l'index P/V semble indiquer que cette hormone, précurseur de la testostérone au cours de la biosynthèse testiculaire des androgènes, pourrait avoir une influence sur la qualité de la progression des spermatozoïdes. L'évaluation de la Δ4 séminale pourrait être un marqueur intéressant lors de l'exploration d'une asthénozoospermie.

•••

### Détermination de l'activité enzymatique de l'élastase du liquide séminal. Valeur diagnostique et pronostique du dosage chez l'homme infertile.

B. ZORN, I. VIRANT-KLUN, H. MEDEN-VRTOVEC.

*Service d'AMP, Clinique Gynécologique Universitaire, Ljubljana, Slovénie.*

**L'objectif** a été d'évaluer dans le cadre d'une étude prospective, la relation entre l'activité enzymatique de l'élastase - marqueur de l'infection occulte du tractus génital mâle - du liquide séminal et les données de l'anamnèse, des examens cliniques et paracliniques, en particulier des paramètres du sperme, du couple infertile.

## MÉTHODES ET RÉSULTATS

L'étude est en cours depuis 18 mois dans l'unité d'andrologie de la clinique gynécologique de

Ljubljana (Slovénie). Elle concerne à présent 355 patients dont 289 patients oligoasthénozoospermiques et 66 normozoospermiques dont 40 avec au moins 2 échecs préalables en FIV. Les patients ont tous fait l'objet d'un examen clinique et ont bénéficié éventuellement d'une échographie de la prostate. Nous disposions du dossier clinique de la partenaire. Les paramètres du sperme ont été évalués selon la méthodologie préconisée par l'OMS. L'activité enzymatique de l'élastase dans le liquide séminal a été mesurée selon une méthode d'immunoabsorption (PMN elastase ELISA).

Il existe une corrélation significative entre l'activité élastasique et l'infection tubaire constatée par coelioscopie et les signes histologiques d'endométrite chez la partenaire. Les patients avec élastase élevée sont plus âgés et fument plus alors qu'il n'y as pas de lien au niveau de la durée de l'infertilité ni de l'anamnèse infectieuse chez l'homme. L'élastase élevée est en rapport avec une anomalie clinique (augmentation de volume, changement de consistance ou sensibilité) de l'épididyme et des signes d'infection chronique de la prostate à l'échographie.

Au niveau du sperme, l'élastase élevée est en rapport avec un volume moindre de l'éjaculat et en corrélation étroite avec un taux élevé de leucocytes. Dans 2/3 des cas cependant, l'élastase élevée apparaît isolée sans leucocytospermie. Les autres paramètres habituels du sperme ne sont pas affectés. 100 couples ont bénéficié de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI).

Il n'y a aucune corrélation entre l'élastase et les résultats de l'ICSI (fécondation d'ovocytes, nombre d'embryons), au contraire de la leucocytospermie qui a une action délétère sur la féondation.

57 patients ont fait l'objet d'au moins un contrôle après traitement de longue durée associant plusieurs antibiotiques dont obligatoirement de la ciprofloxacine. Alors que le taux moyen des valeurs de l'élastase, le volume séminal et la mobilité des spermatozoïdes restent inchangés, seule la leucocytospermie disparaît ou diminue, ce qui lève l'influence négative sur la fécondation après ICSI. Dans certains cas, l'apparition secondaire d'une leucocytospermie indique la poursuite du traitement.

## CONCLUSION

La valeur anamnestique et étiologique de l'activité élastase est indéniable puisqu'elle corrèle avec les antécédents infectieux tubaires et endométriaux de la partenaire. L'élastase élevée est en rapport avec une anomalie clinique de l'épididyme et des signes d'infection de la prostate à l'échographie. Au niveau du sperme, l'élastase est en rapport avec une leucocytospermie. Si elle dépiste l'infection occulte chez les patients sans leucocytospermie, l'élastase ne représente pas un marqueur pour le suivi après traitement antibiotique. La leucocytospermie se révèle être à cet égard un meilleur critère.

•••

# ASSISTANCE MÉDICALE A LA PROCRÉATION

### Inséminations intra utérines : bilan de 955 cycles

A. TEMSTET[1], B. MARTIN-PONT[1], J.N. HUGUES[2], J.P. WOLF[1].

*1- Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique Biologie de la Reproduction, Hôpital J. Verdier, 93140 Bondy. 2- Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital J. verdier, 93140 Bondy.*

## INTRODUCTION

L'insémination intra utérine a été proposée à l'Hôpital J. Verdier (Centre d'Assistance à la Procréation du CHU de Bondy) à 195 couples : les indications étaient masculines 99 couples, indications féminines 43 couples, infertilités inexpliquées 27 couples et indications mixtes avec facteurs féminins et masculins 26 couples. Une étude rétrospective a été réalisée de janvier 95 à juillet 97.

## MATERIEL

828 cycles intraconjugaux ont été réalisés dont 49,5% pour indications masculines pures. Un test de migration et de sélection des spermatozoïdes mobiles était systématiquement pratiqué et les couples ayant plus de 500 000 spermatozoïdes étaient inclus. Enfin, pour 28 couples un sperme de donneur (127 cycles) a été préparé. L'ovulation était stimulée par des gonadotrophines exogènes et déclenchée par 5000 unités d'HCG en fonction du taux plasmatique d'oestradiol et de l'échographie. Le sperme était préparé par migration ascendante ou par gradient de Percoll et l'insémination réalisée en intra utérine avec un cathéter de Frydman.

## RÉSULTATS

55 grossesses ont débuté pour les inséminations intraconjugales soit 7% par cycle et 29% par couple. Le taux de grossesses évolutives était de 87%. Il n'y a pas de différence selon les indications.

| INDICATION | FÉMININES | IDIOPATHIQUES | MASCULINES | MIXTES |
|---|---|---|---|---|
| **Cycles Nb** | 185 | 119 | 405 | 104 |
| **% G/Cycle** | 7 | 7,6 | 6,4 | 8,7 |
| **% G/Couple** | 30,2 | 33,3 | 27,7 | 34,6 |

Il n'y a pas de grossesse pour moins de 500 000 spermatozoïdes inséminés et seulement 3% quand on a inséminé moins de $10^6$ spermatozoïdes mobiles. Le taux maximum de grossesse a été obtenu quand on a inséminé entre 1 et 10 x $10^6$ spermatozoïdes et a chuté pour plus de 10 x$10^6$ à 4% environ.

Aucune grossesse n'a été obtenue au delà du 3° rang pour les indications idiopathiques, du 5° rang pour les indications féminines, du 7° rang pour les indications masculines et du 3° rang quand les indications étaient mixtes. Les tentatives d'insémination avec donneur ont abouti à 21 grossesses : 16,5% par cycle et 69% par couple. Des grossesses peuvent être obtenues par un nombre plus élevé de cycles, jusqu'à 12 cycles.

## CONCLUSION

Bien que 60% des grossesses surviennent au cours des deux premiers cycles, il est néanmoins justifié de proposer jusqu'à 6 tentatives. Une analyse détaillée de ces résultats a permis d'engager une nouvelle étude prospective. La quantité de spermatozoïdes mobiles préparés pour l'insémination sera ajustée pour inséminer entre $10^6$ et $10^7$ spermatozoïdes mobiles en réunissant deux éjaculats cumulés ou par dilution. Cette étude sera menée par randomisation en fonction des bilans féminins et masculins plus précis. Il est en effet essentiel d'améliorer le taux de réussite de cette technique d'AMP qui a l'avantage d'être simple et peu onéreuse.

•••

### Influence de la dénaturation de l'ADN spermatique sur le potentiel de développement cellulaire embryonnaire après injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI).

I. VIRANT-KLUN, B. ZORN, T. TOMAZEVIC, H. MEDEN-VRTOVEC

*Service d'AMP, Clinique gynécologique universitaire, Ljubljana, Slovénie.*

## INTRODUCTION

On sait que la dénaturation de l'acide désoxyribonucléique (ADN) du spermatozoïde avec atteinte de l'intégrité des deux brins d'ADN, que l'on a quantifié par le test à l'acridine orange, influe négativement sur les processus classiques de fécondation in vitro. Ceci est également valable après ICSI avec une corrélation négative entre la dénaturation et le nombre d'ovocytes fécondés, le taux de fécondation par cycle ainsi que le nombre d'embryons obtenus. Cependant, on connaît peu de choses sur l'effet de la dénaturation sur le potentiel de développement des embryons obtenus en fécondation in vitro, en particulier par l'ICSI.

Le but de l'étude a été d'évaluer l'effet des spermatozoïdes avec ADN à simple brin ou dénaturé sur le pouvoir des embryons à se développer au stade pluricellulaire après ICSI.

## MÉTHODES

Nous avons pratiqué l'ICSI chez 26 patients soit oligoasthénotératozoospermiques, soit ayant déjà fait l'objet d'au moins deux échecs en fécondation in vitro classique. Les embryons ont été cultivés 4 jours en milieu M3 (MediCult, Denmark) jusqu'au stade de plusieurs cellules et de blastocystes.

Le transfert avait lieu au 4° jour. Selon leur stade de développement, les embryons ont été divisés en deux groupes. Le groupe 1 était constitué d'embryons arrêtés au stade 2 à 6 cellules, le groupe 2 d'embryons d'au moins 7 cellules (entre 7 et 9 cellules, d'au moins 10 cellules, stades de morula et de blastocystes). Les corrélations entre la dénaturation de l'ADN spermatique et le stade de développement des embryons ont été analysées à l'aide du coefficient de Spearman (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). La dénaturation de l'ADN était jugée normale lorsqu'elle était supérieure à 55%.

## RÉSULTATS

L'âge moyen des femmes était de 34 +/- 3 ans. Nous avons obtenu 5 +/- 4 ovocytes en moyenne par ponction et au total 62 embryons après ICSI. Après 4 jours de culture, 82% des embryons ont atteint au moins 7 cellules. 18% des embryons (11 embryons) ont arrêté leur développement cellulaire - un embryon au stade 2 cellules, 4 embryons à 3 cellules, 3 autres à 5 cellules enfin 3 embryons au stade 6 cellules. Le tableau représente les taux d'embryons aux différents stades de développement cellulaire et les corrélations entre la dénaturation excessive de l'ADN et le niveau de développement cellulaire ***(voir tableau).***

Il y a une corrélation positive significative entre le nombre d'embryons arrêtés et la dénaturation de l'ADN des spermatozoïdes.

## CONCLUSION

Il semble que la dénaturation excessive de l'ADN spermatique soit associée à un potentiel moindre de développement cellulaire des embryons. La dénaturation de l'ADN paternel contribuerait-elle à l'obtention d'embryons ayant tendance à plus d'apoptose ?

| **STADE DE DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE** | **NOMBRE D'EMBRYONS (%)** | **Corrélation entre le pourcentage de spermatozoïdes éjaculés avec ADN dénaturé et le nombre d'embryons** |
|---|---|---|
| 2-6 cellules (arrêt cellulaire) | 11 (18%) | S* (r= 0.3856, P<0.05) |
| 7-9 cellules | 1 (2%) | NS* |
| ≥ 10 cellules | 8 (13%) | NS* |
| morula | 37 (59%) | NS* |
| blastocystes | 5 (8%) | NS* |
| **ENSEMBLE** | 62 (100%) | NS* |

S* - Statistiquement significatif
NS* - Statistiquement non significatif

•••

## Plaidoyer pour une intervention chirurgicale préalable à l'ICSI.

M. BAILLY[1], F. MERLET[2], T. LEBRET[3], V. IZARD[4], P. MECHALI[5], J.P. BISSON[2].

*1- Gynécologie-Obstétrique, Poissy. 2- Biologie de la Reproduction, Poissy. 3- Urologie Hôpital Foch, Suresnes. 4- Urologie Hôpital Bicêtre, Kremlin-Bicêtre. 5- Urologie Clinique de Parly II, Le Chesnay.*

L'exploration chirugicale épididymo-testiculaire préalable à l'ICSI dans les azoospermies, les nécrospermies totales et les anéjaculations rebelles, répond à trois objectifs :

**1- diagnostique :**

- aide au diagnostic d'anomalie excrétoire par l'exploration du tractus intrascrotal

- précise, par l'histologie, le type d'anomalie sécrétoire.

**2- pronostique :**

- permet d'apprécier les difficultés de recueil des spermatozoïdes

- permet éventuellement de réaliser une anastomose épididymo-déférentielle.

**3- thérapeutique :**

- permet la congélation des spermatozoïdes recueillis, même en très faible nombre, et leur utilisation différée en ICSI.

Les 60 premières interventions réalisées dans le Centre, dont 19 ont été contemporaines d'une ICSI, nous amènent à reconsidérer le moment où doit se situer le geste chirurgical dans le processus de l'ICSI. Ces résultats apportent-ils des arguments en faveur d'une conduite à tenir unique ?

Le bilan étiologique masculin est classique sans oublier la FSH plasmatique et le dosage des marqueurs séminaux. Il permet de classer les patients en pathologie secrétoire, excrétoire ou incertaine.

L'intervention, sous anesthésie loco-régionale ou générale, peut être contemporaine ou non de l'ICSI. Elle consiste en un abord chirurgical vrai, permettant, selon le bilan préalable, l'exploration des voies séminales intrascrotales, des prélèvements étagés épididymaires à l'aiguille et la biopsie testiculaire. La recherche de spermatozoïdes est faite extemporanément au laboratoire, un fragment de la biopsie est adressé en anatomo-pathologie.

Dans tous les cas où des spermatozoïdes mobiles sont retrouvés et non utilisés immédiatement, une «microcongélation spermatique» est tentée selon une méthode permettant la réalisation de paillettes «calibrées» pour la pratique directe d'une ICSI, dont la faisabilité est vérifiée par un test de décongélation.

Les ICSI sont réalisées avec des spermatozoïdes prélevés extemporanément ou congelés.

Dans le groupe des pathologies sécrétoires probables où la FSH plasmatique est supérieure à 10mIU/mL, le taux d'échec de recueil est de 55%, l'absence de spermatozoïdes testiculaires est confirmée par l'histologie qui met en évidence une aplasie germinale ou un arrêt de la spermatogénèse.

Dans le groupe à FSH normale, le recueil spermatique, qu'il soit épididymaire ou testiculaire est positif dans plus de 80% des cas. Une congélation s'est avérée possible dans 51% des cas. Dans ce groupe étiqueté excrétoire, on a cependant observé 3 cas d'anomalies sécrétoires.

Les marqueurs séminaux et en particulier la carnitine apportent un complément d'information non négligeable ; en effet, dans les 15 cas de carnitine basse, 14 prélèvements épididymaires sont positifs.

Parmi ces interventions, 3 anastomoses épididymo-déférentielles ont pu être réalisées avec des congélations spermatiques. Deux reperméations ont été obtenues.

Sur l'ensemble des tentatives d'ICSI faites avec ces patients, les 11 ICSI avec spermatozoïdes épididymaires ou testiculaires congelés, permettent d'obtenir de bons taux de fécondation (70% des ovocytes injectés) et 6 grossesses cliniques.

Plaident en faveur d'une intervention préalable :

- le risque élevé de recueil spermatique négatif

dans les pathologies étiquetées sécrétoires à mettre en balance avec la lourdeur du traitement de la femme,

- la bonne probabilité d'obtenir des spermatozoïdes congelables et utilisables lors d'une ICSI différée dans les pathologies excrétoires,

- les bons taux de grossesse après ICSI avec spermatozoïdes congelés.

L'imminence de la mise en oeuvre de techniques de congélation d'un nombre minime de spermatozoïdes renforcera le bien fondé de cette attitude.

•••

## Etude cytologique per-opératoire de la lignée germinale masculine.

D. MARMOR[1], V. IZARD[2], E. NEMIR[2], A. JARDIN[2].

*1- Unité de Biologie de la Reproduction, Hôpital Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75012 Paris. 2- Service Urologie, Hôpital Bicêtre, 78 rue de Général Leclerc, 94275 Le Kremlin Bicêtre.*

### INTRODUCTION

La biopsie testiculaire fournit une analyse précise, mais différée de la spermatogénèse. l'étude extemporanée de la pulpe testiculaire devient un appoint précieux dans l'abord de l'infécondité masculine : elle permet un recueil optimalisé de gamètes testiculaires en vue d'ICSI (intra cytoplasmic sperm injection) dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation (AMP).

En cas d'azoospermie obstructive, la stratégie découle de l'examen extemporané entre lame et lamelle du liquide de ponction sur le tractus (déférent, épididyme, cône efférent...).

C'est en pathologie non obstructive qu'il est utile de disposer d'une technique immédiate de visualisation de la lignée germinale pour mieux sélectionner le recueil testiculaire.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans l'espèce humaine, où le rendement de la spermatogénèse est faible, l'examen direct immédiat d'un prélèvement de pulpe testiculaire entre lame et lamelle, s'avère parfois difficile, même pour un biologiste entraîné à la cytologie. Aussi, avons-nous mis au point un mode de prélèvement et de coloration des cellules germinales qui fournit un diagnostic très rapide, fiable, prédictif de l'histologie exocrine définitive. Le prélèvement provient d'une biopsie chirugicale de pulpe testiculaire effectuée sous anesthésie générale ou rachi-anesthésie, avec scrototomie du raché médian, fénestration vaginale, incision de l'albuginée du testicule (bistouri-froid lame 11) en respect de vaisseaux vus en transparence.

Après expression bi-digitale douce de la pulpe, quelques anses de tubes séminifères sont excisées aux micro-ciseuax demi-courbes pointe-mousse Castroviejo-Gilbert® Moria. Le fragment est déposé sur lame de verre stérile, éventuellement humidifié par une goutte de sérum physiologique, dissocié par une découpe fine tangentielle en adossant les micro-ciseaux sur le verre, réparti sur la lame.

La lame est confiée par le chirurgien au biologiste, séchée manuellement, puis colorée avec une technique adaptée du May Grunwald Giemsa rapide (Diff Quick®, Laboratoires Dade, France) qui comporte trois solutions successives prêtes à l'emploi (1. fast-green + méthanol, 2. éosine G, 3. colorant thiazidique), rincée à l'eau, séchée et examinée au microscope optique en lumière blanche dans la salle d'opération.

### RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

L'ensemble de la procédure dure moins de cinq minutes et permet de reconnaître précisément les cellules germinales et leur stade de maturation, de compter les spermatides et spermatozoïdes, et même d'apprécier leur morphologie.

Il est ainsi possible de savoir immédiatement si la spermatogénèse est présente, riche, régulièrement répartie sur le prélèvement, si elle est complète ou interrompue, et à quel stade. les lames peuvent être conservées de façon prolongée, ce qui permet leur relecture.

Cette analyse cytologique en salle d'opération

permet de guider le geste du chirurgien de l'AMP, d'étayer une sémiologie nouvelle (couleur et turgescence de la pulpe, cohésion des tubes séminifères), d'optimaliser les recueils à visée diagnostique ou thérapeutique, contemporains ou préalables au recueil d'ovocytes.

•••

## Agénésie vésico-déférentielle (AVD) et ICSI.

J.M. CHINCHOLE, P. TERRIOU, J.P. FRANQUEBALME, C. GIORGETTI, R. ROULIER.

*Institut de Médecine de la Reproduction, 6 rue Rocca, 13008 Marseille.*

L'étude concerne17 patients porteurs d'une AVD.

Dans 12 cas, l'AVD est isolée, dans 5 cas associée à une malformation rénale.

Parmi les 12 patients porteurs d'une AVD isolée, 11 ont bénéficié de la recherche d'une mutation dans le gène CFTR.

Dans 10 cas, une mutation a été retrouvée : hétérozygotes pour la mutation Delta F 508 (dont une double hétérozygotie) dans 5 cas, dans les 5 autres cas une autre hétérozygotie est mise en évidence (double dans tous les cas).

46 cycles d'ICSI ont été réalisés :

- 29 cycles avec ponction épididymaire. Une congélation de gamètes a pu être réalisée dans 8 cas, permettant l'auto-conservation de 6 paillettes en moyenne

- 9 cycles ont utilisé des paillettes épididymaires

- 8 cycles ont utilisé des spermatozoïdes recueillis par biopsie testiculaire

Dans 14 cycles, la ponction épididymaire a été réalisée chirurgicalement, dans 15 cas la voie percutanée à l'aiguille fine a été pratiquée. Une congélation de gamètes a été possible dans 29 et 27% des cas respectivement.

**RÉSULTATS** ***(Tableau 1)***

| | CYCLES = | TAUX DE FÉCONDATION % | GROSSESSES CLINIQUES |
|---|---|---|---|
| Ponctions épididymaires | 29 | 48% | 7 (24%) |
| Paillettes épididymaires | 9 | 42% | 2 (22%) |
| Biopsies testiculaires | 8 | 32% | 2 (25%) |
| **TOTAL** | **46** | **45%** | **11**<br>24% par cycle<br>65% par couple |

Parmi les 11 grossesses observées, 8 sont simples, 3 gémellaires.

2 avortements spontanés précoces ont été enregistrés (18%).

4 accouchements ont permis la naissance de 6 enfants en bonne santé et 5 grossesses sont évolutives (3° trimestre).

## CONCLUSION

- Lorsque seuls sont explorés les cas d'AVD isolés, une mutation du gène CFTR est retrouvé dans 91% des cas de la lignée étudiée.

- Les ponctions épididymaires percutanées réalisées à l'aiguille fine permettent d'obtenir des résultats identiques à ceux de la voie chirurgicale en terme de taux de fécondation, de grossesse et de possibilité de congélation des spermatozoïdes.

- En cas de négativité du prélèvement épididymaire le recours à la biopsie testiculaire permet d'obtenir des résultats identiques en terme de taux de grossesse.

- Les résultats de l'ICSI en cas d'AVD sont comparables à ceux obtenus lorsque des spermatozoïdes éjaculés sont utilisés.

•••

## GENETIQUE

### Recherche de microdélétions du chromosome Y : étude d'un cas de transmission naturelle.

E. SZERMAN[1], C. PATRY[1], G. PLESSIS[2], M. HERLICOVIEZ[3], M.A. DROSDOWSKY[1].

*1- Biochimie A - CHU Côte de Nacre. 2- Cytogénétique. 3- Centre de FIVETE, CHU Clémenceau- 14033 Caen Cedex.*

## INTRODUCTION

Il est maintenant admis que certains cas de stérilité masculine non obstructive peuvent être d'origine génétique. Les travaux de Vogt et coll. [1] ont montré qu'il existait sur le bras long du chromosome Y au moins trois intervalles AZFa, AZFb, AZFc impliqués dans la spermatogenèse. Reijo [2] a mis en évidence l'existence d'un gène DAZ dans la région AZFc. La délétion d'une des ces régions peut perturber de façon importante la production de spermatozoïdes. L'utilisation de l'ICSI comme technique d'AMP permet maintenant à un homme présentant une oligospermie très sévère de procréer avec le risque de transmettre à sa descendance mâle cette anomalie génétique.

Nous présentons les premiers résultats de dépistage effectué chez des patients candidats à l'ICSI ainsi qu'une recherche effectuée chez le père d'un patient délété.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

12 patients présentant un caryotype normal avec oligospermie sévère non obstructive (taux de carnitine séminale supérieur à 350 nM/éjaculat) ont été explorés. L'ADN génomique a été extrait à partir de prélèvements sanguins et amplifié par PCR à partir de 10 paires d'amorces correspondant aux marqueurs génomiques des régions AZFa, AZFb, AZFc (comprenant le gène DAZ) et à l'hétérochromatine. Le marqueur SY14 (gène SRY) a servi de témoin d'amplification pour chaque patient étudié. Les résultats sont considérés comme négatifs après trois PCR négatives. Un témoin positif fertile, deux témoins négatifs sont inclus dans chaque série (une femme et un patient présentant un caryotype anormal avec Yq court).

## RÉSULTATS

Sur les 12 patients présentant une oligospermie sévère avec un nombre de spermatozoïdes variant de quelques dizaines à 9 millions de spermatozoïdes dans la totalité de l'éjaculat, nous avons retrouvé chez deux patients ayant moins de 100 000 spermatozoïdes dans l'éjaculat une microdélétion de la région AZFc. La même anomalie a été retrouvée chez le père d'un des patients, le signe d'appel ayant été un délai de conception de 12 ans.

## DISCUSSION

Nos travaux montrent un taux d'anomalies de la région AZFc comparable à ceux de la littérature. Il semble que la transmission d'une microdélétion du chromosome Y puisse se faire lors d'une conception naturelle ce qui demande à être étudié de manière approfondie.

La recherche de microdélétions du chromosome Y devrait faire partie du bilan systématique lors de la prise en charge de patients candidats à l'ICSI. Le risque de transmission de l'infertilité aux enfants mâles pourrait justifier alors un diagnostic pré implantatoire lors d'une PMA.

1. Vogt et coll. (1996) Human Molecular Genetics, 5, 7, 933-943.
2. Reijo et coll. (1996) The Lancet, 347, 1290-1293.

•••

### Phénotype et génotype chez 33 hommes azoospermes par agénésie des canaux déférents.

M. DAUDIN[1], E. BIETH[2], L. BUJAN[1], R. MIEUSSET[1], C. TOLLON[2], G. MASSAT[1], J. FAUVEL[3], H. CHAP[3], F. PONTONNIER[1].

*1- Service d'Urologie-Andrologie, 2- Laboratoire de génétique Médicale, 3- Laboratoire de Biochimie III, Toulouse.*

## INTRODUCTION

L'absence bilatérale congénitale des canaux déférents (CBAVD) est retrouvée dans 97% des fibroses kystiques (CF). Chez les hommes azoospermes par CBAVD une grande fréquence de mutation du CFTR est constatée indiquant l'étude moléculaire à la recherche de ces mutations. Le but de notre étude est de décrire le phénotype précis de ces patients en relation avec le génotype.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Etude rétrospective de 33 hommes azoospermes inféconds primaires ayant eu une étude du gène CFTR, en raison d'un diagnostic évoquant une agénésie déférentielle bilatérale. Phénotypes établis à partir de l'examen andrologique, de l'anamnèse, du bilan spermatique et hormonal, du dosage (n = 28) des marqueurs biochimiques du plasma séminal des épididymes (L carnitine, Glycérophosphocholine, Alpha-glucosidase), de la prostate (zinc, citrate), des vésicules séminales (fructose, choline) et des canaux déférents (acyl-carnitine), complétés par une échographie endorectale (n = 25), rénale (n = 9) et une exploration chirurgicale scrotale (n = 20) avec micro-aspiration de sperme épididymaire (MESA).

## RÉSULTATS

18/33 patients ont une mutation du gène CFTR. Les patients se répartissent en 26 CBAVD, 1 CUAVD (avec obstruction épididymaire controlatérale), 6 suspicions de CBAVD (pas d'exploration chirurgicale). 23/25 patients ont des anomalies morphologiques des vésicules séminales (6 agénésies bilatérales, 9 agénésies unilatérales avec atrophie ou hypotrophie controlatérale, 8 atrophies ou hypotrophies bilatérales). Une agénésie rénale unilatérale était retrouvée pour 5 patients dont un présente un CFTR muté. Le degré de développement épididymaire était variable : tête-tête n = 6, tête-(corps/queue) n = 4, queue-queue n = 2, (corps/queue)-(corps/queue) n = 8. Le pH du sperme était ≥ chez 10 patients. Les marqueurs biochimiques épididymaires et des vésicules séminales avaient des valeurs très basses chez 27/28 patients mais avec une valeur du fructose normale chez le dernier patient (CBAVD, ΔF508/+).

## CONCLUSIONS

Le polymorphisme génotypique et phénotypique des sujets porteurs de CBAVD souligne l'importance d'une évaluation précise et complète de tels patients, afin de leur permettre à la fois un avis génétique et une approche thérapeutique.

•••

# IMAGERIE

### Apport de l'écho-doppler testiculaire systématique chez l'homme infertile : étude prospective de 240 cas.

E. GOULLET[1], J.M. RIGOT[1], O. VANKEMMEL[1], L. LEMAITRE[2], E. MAZEMAN[1].

*1- Service d'Urologie, 2- Service de Radiologie Ouest, Hôpital Claude Huriez, CHRU, Lille.*

## INTRODUCTION

L'étude du contenu scrotal par l'écho-doppler testiculaire de façon systématique reste très controversée dans l'infertilité masculine. Nous exposons les résultats de notre série prospective et consécutive de 240 patients.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Nous avons pratiqué de façon systématique une échographie et un Doppler testiculaire (sonde de type «barrette» de 7.5 MHz de fréquence) à tous les patients consultant pour des troubles de fertilité, sur une période de deux ans (1er Janvier 1994 au 31 Décembre 1995).

## RÉSULTATS

Nous avons recensé 240 sujets de 21 à 55 ans (moyenne d'âge : 31 ans et 9 mois) qui présentent des troubles de fertilité depuis 35 mois) (extrême : 7 à 180 mois). 180 développent une O.A.T.S. et 60 une azoospermie.

38 hommes (15,8%) ne présentent aucune

lésion clinique et échographique. 28(11,7%) manifestent des anomalies cliniques isolées, alors que l'échographie révèle une anomalie chez 25 (10,5%) patients dont l'examen clinique était normal.

L'anomalie la plus fréquemment retrouvée est l'hypotrophie testiculaire. Elle est diagnostiquée cliniquement chez 75 sujets (31,25%). Pourtant, elle est présente lors de l'examen échographique chez 98 patients (40,8%).

44 anomalies de consistance testiculaire (18,3%) et 67 anomalies épididymo-déférentielles (27,9%) sont observées. Cependant, respectivement 14 (5,8%) et 47 (19,6%) ont une anomalie échographique évidente.

50 patients (20,8%) présentent une varicocèle clinique. Le diagnostic échographique confirme toutes les varicocèles «palpées» et objective 44 varicocèles infracliniques (18,3%).

3 hommes (1,25%) présentent des microcalcifications.

3 patients (1,25%) présentent une tumeur testiculaire. Le diagnostic clinique est effectué uniquement chez un malade, en «seconde main».

Enfin, l'examen clinique est difficile et d'interprétation délicate chez 11 sujets (4,6%). L'examen échographique apporte, dans tous les cas, une réponse claire et sans ambiguïté.

## CONCLUSION

Le bilan écho-doppler testiculaire nous paraît intéressant pour confirmer les données cliniques et diagnostiquer les lésions testiculaires infracliniques ou méconnues. Il est fiable, facile à pratiquer et autorise un traitement plus adapté. En revanche, les conséquences thérapeutiques du diagnostic de la varicocèle infraclinique restent plus controversées.

•••

# Classification échographique des absences de canaux déférentiels à partir de 39 cas.

F. ROBERT, J. ROLLET, J.F. LAPRAY, Y. MOREL.

*Institut Rhonalpin, 1 rue Laborde, 69500 Bron.*

## INTRODUCTION

L'absence de canal déférentiel (ACD) représente 5% des infertilités masculines. Les examens cliniques, échographiques et génétiques permettent d'identifier différents tableaux : ACD unilatérale ou bilatérale, isolée ou associée à une agénésie rénale, avec ou sans mutation de la mucoviscidose. A partir des données de l'échographie qui caractérisent chacun de ces tableaux, nous avons voulu établir une classification de ces différentes malformations.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons étudié 39 patients consultant pour infertilité présentant une ACD sur les données de l'examen clinique et l'échographie endo-rectale, scrotale et rénale. Les patients avaient bénéficié d'un spermogramme avec l'étude de la biochimie séminale et d'une recherche de mutation de la mucoviscidose pour les cas sans agénésie rénale.

## RÉSULTATS

L'ACD pouvait être affirmée cliniquement dans 87% des cas, et échographiquement par l'absence d'ampoule déférentielle dans tous les cas.

Dans les 26 cas d'ACD bilatérale, les deux vésicules séminales (VS) étaient absentes dans 10 cas, une seule était présente dans 13 cas et les 2 VS étaient présentes dans 3 cas. Les VS présentes étaient toutes anormales échographiquement. Lorsqu'une VS était absente, l'ampoule déférentielle homolatérale était toujours absente. L'étude génétique montrait 2 mutations de la mucoviscidose dans 2 cas, une mutation dans 12 cas et aucune mutation dans 12 autres cas. L'allèle 5T était retrouvé chez 5 patients dont 3 étaient associés à une autre mutation.

Sur 6 cas d'ACD unilatérale isolée, la VS était présente dans un seul cas. La VS controlatérale était toujours anormale échographiquement. Aucun patient n'avait de mutation et 5 patients étaient azoospermiques par atteinte sécrétoire du testicule controlatéral.

Chez 7 patients avec ACD unilatérale et agénésie rénale, la VS était absente et la VS controlatérale était normale dans 2 cas. Seuls 3 patients étaient azoospermiques ou oligospermiques sévères et 2 patients avaient une sérilité secondaire.

Dans tous les cas d'ACD, l'échographie épididymaire montrait un épididyme anormal en amont du déférent absent : microdilatations et/ou hypertrophie et/ou kyste de tout ou partie de l'épididyme. L'absence de queue épididymaire était retrouvée dans 25% des cas.

Les données de la biochimie séminale montraient une plus grande sensibilité du fructose par rapport au volume de l'éjaculat en regard du nombre de VS présentes. Le fructose était inférieur à 40 mmol/éjaculat dans 93% des cas. L'α-glucosidase était toujours inférieure à 50 mUI/éjaculat.

## CONCLUSION

Le diagnostic d'absence de canal déférentiel (ACD) suspecté par la clinique est affirmé par l'échographie. Sur 39 cas d'ACD, nous distinguons 4 tableaux échographiques : les ACD bilatérales isolées (25 cas), les ACD bilatérales avec agénésie rénale (1 cas), les ACD unilatérales isolées (6 cas) et les ACD unilatérales avec agénésie rénale (7 cas). Dans les ACD bilatérales, une mutation de la mucoviscidose est présente dans 54% des cas et dans aucun cas d'ACD unilatérale. La poursuite d'investigations échographiques et génétiques permettra de mieux identifier ces malformations.

•••

# SEXOLOGIE

## Mise au point sur le traitement non chirurgical de la maladie de la Peyronie. Analyse critique de la littérature.

D. DELAVIERRE, H. IBRAHIM, M. PENEAU.

*Service d'Urologie-Andrologie, CHR Orléans.*

La maladie de La Peyronie ou induration plastique des corps caverneux se manifeste par une plaque fibreuse de l'albuginée des corps caverneux. Son origine reste mystérieuse malgré des théories immunologiques et génétiques récentes. Elle n'est pas sans conséquence sur la sexualité puisqu'en érection elle entraîne volontiers des douleurs et une déviation de la verge.

Depuis bientôt 100 ans, de nombreux et très divers traitements non chirurgicaux ont été proposés :

* ***Par voie générale*** : la vitamine E (1949), le potaba (1959), la procarbazine (1970), la prostacycline (1988), le tamoxifène (1992), la colchicine (1994).

* ***Par injections locales*** : les stéroïdes (1954), le DMSO (1967), les hormones parathyroïdiennes (1975), l'orgoteïne (1981), la collagénase clostridiale (1985), les antagonistes calciques (1994), l'interféron (1995).

* ***Les ultrasons*** (1960).

* ***La ionophorèse*** : de stéroïdes (1967), d'orgotéïne (1983).

* ***La radiothérapie*** (1912).

Aucun de ces traitements n'a actuellement apporté la preuve de son efficacité malgré certains résultats préliminaires encourageants.

En réalité, la littérature médicale est, en la matière, particulièrement affligeante. Ainsi une analyse critique des publications permet de relever plusieurs erreurs dans la grande majorité des articles :

* ***Etudes rétrospectives***

** Sans contrôle contre placébo ni randomisation*

** Peu documentées et mal renseignées*

Tous les articles sur un (nouveau) traitement non chirurgical de la maladie de La Peyronie comportent inéluctablement 4 parties :

1. **Les traitements non chirurgicaux de la maladie de La Peyronie proposés jusqu'alors sont inefficaces.**
2. **Nous avons utilisé un nouveau traitement chez x patients.**
3. **Les résultats sont encourageants.**
4. **Il faudrait confirmer ces résultats par des études randomisées, contrôlées contre placébo** (la seule réalisée concernait la collagénase et n'a pas confirmé les résultats initiaux !).

L'article le plus récent sur le sujet concerne les instillations locales de Vérapamil (antagoniste calcique) (Journal of urology d'octobre 1997) et n'échappe pas à la règle. Ainsi l'auteur, Laurence LEVINE, commence son article en critiquant les études précédentes *«Studies on most of these treatments, however have been compromized, primarily because of poorly characterized autcome parameters, limited patients numbers, lack of control populations, inadequate follow-up time and inconclusive results»*.

Après avoir présenté ses (bons) résultats chez 38 patients elle conclut *«Clearly, further study at others centers with control populations will be needed etc...»*.

**L'analyse de la littérature permet d'affirmer qu'il n'existe actuellement aucun traitement non chirurgical efficace et validé scientifiquement de la maladie de La Peyronie. Il n'a jamais été prouvé que certains bons résultats thérapeutiques n'étaient pas liés à l'évolution naturelle de la maladie.**

•••

## Intérêt du dosage de la prolactinémie dans le bilan d'une insuffisance érectile. A propos de 341 patients.

D. DELAVIERRE, Ph. GIRARD, H. IBRAHIM, M. PENEAU.

*Service d'Urologie-Andrologie, CHR Orléans.*

### INTRODUCTION

Environ 90% des hyperprolactinémies (HPRL) importantes s'accompagnent de troubles sexuels, notamment baisse de la libido et insuffisance érectile. En conséquence le dosage de la prolactinémie a été proposé dans le bilan de l'insuffisance érectile pour rechercher une HPRL et une endocrinopathie sous-jacente. Mais ce dosage est-il vraiment justifié ?

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

Du 01/09/1992 au 31/08/1996, 401 patients ont consulté en raison d'une insuffisance érectile.

341 (âge moyen = 52,2 ans) ont bénéficié d'un ou plusieurs dosages de la prolactinémie (PRL).

Parmi ces 341 patients, 95 (27,8%) présentaient une baisse de la libido associée à l'insuffisance érectile.

Ce dosage n'a pas été réalisé chez 60 patients (35 étiologies organiques non hormonales évidentes, 15 non respects de la prescription, 10 sans raison précise).

### RÉSULTATS

18 patients avaient une hyperprolactinémie (HPRL) > 25 ng/ml. 12 contrôles ont été effectués et 11 se sont révélés normaux. Il reste donc 7 HPRL (2,1%) dont 6 non contrôlées par un second dosage : 4 HPRL ont une origine médicamenteuse (Sulpiride ou Amisulpride) et 3 une origine imprécise (PRL< 35 ng/ml, pas de contrôle ni bilan car patients perdus de vue ou n'ayant pas respecté la prescription de contrôle). Les 7 patients ont une testostéronémie normale. 2 (28,6%) ont une libido émoussée.

•••

# Rigidimétrie nocturne informatisée dans le bilan d'une insuffisance érectile : mise au point du Comité d'Andrologie de l'Association Française d'Urologie (AFU).

D. DELAVIERRE[1], et le Comité d'Andrologie de l'AFU[2].

*1- Service d'Urologie-Andrologie, CHR Orléans et 2- ont plus particulièrement participé à cette mise au point les Docteurs BONDIL (Chambéry), CHEVALLIER (Nice), CUZIN (Lyon), DELAVIERRE (Orléans), GIULIANO (Kremlin-Bicêtre), MENUT (Brest), LEMAIRE (Lille), OLIVIER (Amiens), SCHOUMAN (Neuilly), STAERMAN (Rennes) et TRITTO (Paris).*

## INTRODUCTION

L'étude des érections nocturnes a été proposée par KARACAN et FISHER dans les années 1970 pour différencier, dans le bilan d'une insuffisance érectile, les patients psychologiques et organiques selon le principe suivant: lors d'insuffisance érectile psychologique les érections nocturnes sont conservées et normales mais elles disparaissent quand l'insuffisance érectile est organique.

## PHYSIOLOGIE

Les érections nocturnes surviennent pendant les phases de sommeil paradoxal. Il y a ainsi au cours de chaque nuit 3 à 5 érections durant chacune 15 à 30 minutes. leur rigidité est souvent fluctuante et la rigidité maximale varie d'une nuit à l'autre. Le mécanisme exact de ces érections nocturnes est inconnu et les érections relationnelles et nocturnes ne seraient pas sous le même contrôle. Elles sont androgéno-dépendantes et on évoque l'hypothèse d'une mise au repos d'un centre inhibiteur hypothalamique.

## MÉTHODES DE MESURE

La rigidimétrie informatisée est la méthode de choix car d'une part elle apprécie le nombre, la durée et la rigidité des érections et d'autre part elle utilise l'informatique pour le recueil et l'analyse des données. Le Rigiscan plus* est l'appareil de référence mais son coût est élevé. La rigidité de la verge, mesurée à la base de la verge et au niveau du sillon balano-préputial, s'exprime en %.

## VALEURS NORMALES

Avec le Rigiscan* le seuil de référence de la rigidité avait été fixé initialement à 70% mais actuellement, compte tenu de l'ensemble des données de la littérature, on admet que la rigidimétrie est normale si le patient présente au moins une érection supérieure ou égale à 60% pendant au moins 10 minutes. L'interprétation des tracés est cependant difficile car le seuil de rigidification de la verge varierait selon les sujets en fonction des qualités biomécaniques des tissus péniens. Ainsi la pression intra-caverneuse nécessaire pour obtenir un angle pénien de 90% varierait de 50 à 300 mm de mercure.

## INTÉRÊT DIAGNOSTIQUE

Pour le diagnostic d'insuffisance érectile la sensibilité de l'exploration est de 60 à 70% alors que la spécificité est de 70 à 80%. Des tracés négatifs n'ont aucune signification en l'absence d'électroencéphalographie concomitante. Par ailleurs certaines insuffisances érectiles organiques s'accompagnent ou s'accompagneraient d'érections nocturnes normales : syndrôme de vol pénien, certaines insuffisances érectiles neurologiques (hypoesthésie du gland, scléroses en plaques) ou endocriniennes. En conséquence il apparaîtrait désormais plus exact d'affirmer que des érections nocturnes normales témoignent de l'intégrité des mécanismes vasculo-tissulaires locaux de l'érection plutôt que de capacités érectiles diurnes conservées.

## CONCLUSION

En raison du coût de l'appareil, des difficultés d'interprétation et d'une valeur diagnostique restreinte il faut admettre que la rigidimétrie nocturne informatisée est d'un intérêt limité dans le bilan d'une insuffisance érectile. Cette exploration reste intéressante en cas de doute diagnostique chez les patients de moins de 50 ans mais elle est surtout recommandée aux centres spécialisés à fort recrutement ayant une vocation scientifique de recherche clinique.

•••

## Physiologie de l'éjaculation chez l'homme

J. HERMABESSIERE, J. ROUANET, F. REYNAUD, J.P. BOITEUX, B. GIRAUD.

*Clermont-Ferrand, France.*

### BUT DU TRAVAIL

Pour étudier l'éjaculation humaine, nous avons enregistré l'éjaculation étudiée par échographie endorectale.

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

8 éjaculations chez 8 sujets différents volontaires d'âge extrême de 32 à 38 ans, sans antécédent urologique, ont été enregistrés.

L'éjaculation a été enregistrée en vidéo à l'aide d'une sonde endorectale biplan de 7,5 ou 10 MégaHertz utilisés en linéaire dans le plan crânio-caudal.

L'éjaculation a été obtenue par masturbation, le sujet étant debout. Un radiologue tenait la sonde dans l'axe de l'urètre pendant l'éjaculation.

### RÉSULTATS

Il nous est apparu que l'éjaculation ne se faisait pas après réunion des différentes parties du sperme dans un espace prostatique virtuellement dilaté entre les deux sphincters.

En fait, la prostate semble se vider en premier grâce à la contraction des muscles lisses puis les canaux éjaculateurs se remplissent et se vident grâce à la contraction de la muculature lisse des vésicules séminales et des ampoules. Cette partie du sperme est directement éjaculée dans l'urètre sous montanal.

### CONCLUSION

Une nouvelle théorie de l'éjaculation est donc proposée et semble démontrée.

•••