

La contraception masculine

Clément JIMENEZ

Service de Biologie de la Reproduction, CHU Dijon

RESUME

Des méthodes de contraception masculine sont actuellement utilisables, en particulier les méthodes mécaniques comme le préservatif, dont le taux d'échec est important, ou la vasectomie qui présente un caractère irréversible. De plus, ces méthodes ne sont pas acceptées par tous les couples.

Les méthodes hormonales sont basées sur la suppression réversible de la sécrétion des gonadotrophines (LH et FSH) et sur l'inhibition des stéroïdes intra-testiculaires et de la production des spermatozoïdes. En 1990 et 1996, l'OMS a publié les résultats de deux études qui montrent que la testostérone administrée par injection peut être utilisée comme moyen de contraception. Ces études démontrent en effet pour la première fois que si une méthode hormonale est en mesure de provoquer une azoospermie ou à défaut une oligozoospermie sévère, elle représente une méthode contraceptive efficace.

Une autre approche possible consiste à utiliser une combinaison de progestatifs ou d'autres hormones capables de supprimer la sécrétion des gonadotrophines avec les androgènes. L'association permet une meilleure suppression de la spermatogenèse. Les quantités d'androgènes administrées peuvent ainsi être réduites pour diminuer leurs effets indésirables à long terme. Les études sont en cours pour déterminer quelles sont les associations les plus efficaces et les moins dangereuses.

Les antagonistes du GnRH permettent d'obtenir la suppression de l'action du GnRH et ainsi de bloquer la spermatogenèse.

Les agents agissant directement sur la spermatogenèse sont souvent très toxiques avec une irréversibilité de l'atteinte de la spermatogenèse qui les rend difficilement utilisables dans le cadre d'une contraception.

La vaccination contraceptive et, en particulier, l'immunisation avec des protéines impliquées dans l'interaction gamétique, constitue une approche très attractive. Une telle idée n'est pas nouvelle ; en effet, plusieurs essais d'immunocontraception, utilisant des modèles animaux ont été rapportés ces dernières années. Toutefois, les

résultats de ces études restent plutôt décevants. Cela peut s'expliquer d'abord parce que l'immunoneutralisation d'une seule protéine semble insuffisante pour permettre une diminution significative de la fertilité, et ensuite parce que des taux d'anticorps élevés dans le sérum ne sont corrélés ni aux taux observés dans le tractus génital ni à l'efficacité contraceptive.

Mots clés : *contraception masculine, contraception hormonale, immunocontraception, antigène spermatique*

I. INTRODUCTION

Le développement de la contraception féminine, au cours des 50 dernières années, a relayé au second plan la contraception masculine qui pourtant a résumé longtemps l'essentiel de la contraception. Une contraception masculine efficace peut constituer, non seulement une alternative à la contraception féminine, mais compléter le dispositif contraceptif du couple et mettre l'homme et la femme sur un plan d'égalité dans le contrôle des naissances. Selon une estimation de l'OMS [8], chaque jour il y a 100 millions de rapports sexuels qui conduisent à un million de naissances parmi lesquelles 50% ne sont pas planifiées et 25% ne sont pas désirées. Cela conduit à environ 150 000 avortements parmi lesquels 50 000 sont réalisés illégalement. Il apparaît donc clairement que la majorité de ces rapports sexuels n'ont rien à voir avec la volonté de

Correspondance :

Pr Clément Jimenez - Service de Biologie de la Reproduction, Maternité de l'hôpital du bocage, CHU de Dijon, 10 bd de Lattre de Tassigny, 21000 Dijon - Tel : 03.80.29.51.01 - Email : clement.jimenez@chu-dijon.fr

procréer ou de perpétuer l'espèce. Et si l'on ajoute à cela la demande de contrôle de la poussée démographique de certains pays, on trouve alors toutes les raisons pour le développement de techniques de contraception masculine.

Idéalement, la contraception masculine devrait réaliser une interruption transitoire et réversible de la fécondité, de façon efficace, mais inoffensive et acceptable pour l'homme et le couple.

Tous ces points posent encore des problèmes qui ne sont pas totalement résolus. En effet, l'efficacité d'une méthode contraceptive ne peut être garantie que par l'obtention d'une azoospermie ou par la certitude que les spermatozoïdes éventuellement encore présents dans l'éjaculat ont perdu leur capacité féconde. En outre, l'innocuité de nombreux produits actifs sur la spermatogenèse ou sur la maturation des spermatozoïdes est discutable.

Chez l'homme, l'acceptabilité est principalement fonction du maintien de la libido et de la puissance sexuelle.

En dehors des méthodes actuellement utilisées (préservatifs, vasectomie), trois méthodes font actuellement l'objet de recherche en vue de leur développement :

1. Les méthodes hormonales
2. Les méthodes non hormonales agissant soit sur la spermatogenèse soit sur la maturation épидидymaire des spermatozoïdes
3. L'immuno contraception : vaccin contraceptif.

Nous allons passer en revue successivement toutes ces méthodes.

II. LES METHODES MECANIQUES DE CONTRACEPTION MASCULINE

1. Les préservatifs

Correctement utilisés, ils ont l'avantage de permettre la prévention des maladies sexuellement transmissibles. Les échecs de la contraception par préservatifs sont de l'ordre de 12% [166]. Certains préservatifs contiennent un spermicide qui permet de renforcer l'effet contraceptif. L'utilisation de préservatif au sein d'un couple sur le long terme n'est pas toujours bien acceptée.

2. La vasectomie

La première vasectomie a été effectuée en 1775 par HUNTER. Elle est pratiquée aux USA depuis les années 60. Cinq à 10% des couples choisissent ce mode de contraception qui, plus qu'une contraception, est une méthode de stérilisation du fait du caractère incertain de sa réversibilité. Les échecs de la vasectomie sont inférieurs à 1%.

Il faut plusieurs semaines pour que les spermatozoïdes stockés dans le tractus génital soient éliminés. Vingt éjaculations après la vasectomie sont nécessaires. Pendant ce délai, un autre moyen de contraception est donc nécessaire et celui-ci ne sera interrompu que lorsque une azoospermie sera constatée sur deux éjaculats successifs.

III. LES METHODES HORMONALES DE CONTRACEPTION MASCULINE

Les objectifs de la contraception hormonale visent à supprimer la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH, ou FSH seule, et à maintenir un taux physiologique de testostérone circulante sans restimuler la spermatogenèse.

Les méthodes hormonales de contraception sont basées sur l'administration soit d'androgène seul, soit d'un androgène associé à un agent qui induit une suppression des gonadotrophines, comme les progestatifs ou les agonistes ou antagonistes du GnRH.

La suppression de la sécrétion pulsative du GnRH de l'hypothalamus et la diminution de la synthèse de la sécrétion à la fois de la FSH et de la LH qui s'y associe, aboutissent à une faible concentration de testostérone intra testiculaire qui entraîne l'arrêt de la spermatogenèse par activation de l'apoptose des spermatides et des spermatocytes. Les spermatogonies ne sont pas affectées par la suppression hormonale ce qui explique que, à l'arrêt des traitements, il y ait une restauration de la spermatogenèse [65, 154]. Compte tenu du fait que le cycle de la spermatogenèse est de 72 jours, 8 à 12 semaines de traitement sont nécessaires pour observer leur efficacité sur la spermatogenèse. Comme la suppression de la sécrétion de LH conduit à un taux d'androgène circulant faible, l'administration d'un androgène est dans ce cas une obligation pour le maintien de la libido et de la puissance sexuelle.

1. Les androgènes seuls

Dans les années 70, une forme retard injectable de testostérone (Enanthate de testostérone) a été utilisée dans les essais de contraception masculine aux USA et en Europe [131].

Ces premières études ont démontré que lorsqu'elle est administrée à dose appropriée : 200mg IM/semaine, l'énanthate de testostérone induit chez les Caucasiens une azoospermie chez 40 à 50% des individus et une oligozoospermie sévère chez 35 à 45% autres [33, 157].

Entre 1985 et 1995, l'OMS a soutenu deux études multinationales et multicentriques qui ont montré qu'une azoospermie [182] ou une oligozoospermie [183] sévère pouvaient être obtenues grâce à l'administration hebdomadaire de 200mg d'énanthate de testostérone en intra musculaire permettant une contraception efficace.

500 couples ont été suivis pendant 18 mois. Les hommes ont reçu 200mg d'énanthate de testostérone par semaine et en attendant que soient obtenues l'azoospermie ou une sévère oligozoospermie, définie par une concentration spermatique inférieure à 3millions/ml, les couples ont utilisé une autre méthode de contraception.

Une fois ces seuils atteints, les couples n'ont alors utilisé que la seule méthode de contraception hormonale masculine.

Quand il y a eu obtention d'une azoospermie il n'y a eu qu'une seule grossesse pour 1400 mois d'exposition [182],

si on se contente d'une oligozoospermie sévère 4 grossesses sur 280 années femmes ont été observées [183]. Cela abouti à un indice de Pearl qui est de 1,4 pour 100 années femmes ce qui est assez proche du résultat obtenu pour une contraception hormonale féminine.

Le taux de grossesse observé est proportionnel à la concentration de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat avec seulement 8 hommes sur 357 (2,2%) pour lesquels il n'a pas été possible d'obtenir moins de 3 millions/ml de spermatozoïdes après 6 mois. De plus, une fois l'azoospermie obtenue les échappements avec reprise d'une spermatogenèse ont été extrêmement rares si le traitement hormonal a été poursuivi correctement.

Ces dernières années, l'efficacité sur la spermatogenèse de plusieurs formes de testostérone retard a été évaluée [52, 56, 75, 192].

Les implants de testostérone (1200mg) donnent le même résultat que des injections hebdomadaires d'énanthate de testostérone [56]. L'undécanoate de testostérone, que l'on peut utiliser dans les hypogonadismes hypogonadotrope [13, 191], administré à 500 ou 1000mg toutes les 4 semaines chez les Chinois [52, 192] ou toutes les 6 semaines chez les Caucasiens [75] conduit également à une suppression de la spermatogenèse équivalente à celle obtenue avec l'énanthate de testostérone.

Le buciolate de testostérone, un autre ester de testostérone, testé initialement chez les patients ayant un hypogonadisme hypogonadotrope [14] a une demie vie de 29,35 jours [15] et peut également être utilisé comme moyen de contraception [15].

2. Essais combinant progestatifs et androgènes

Dès les années 70 [150], on avait pensé que cette association pourrait être plus efficace et qu'elle permettrait de réduire la quantité de testostérone administrée. Une étude plus récente comparant la testostérone seule (énanthate de testostérone à raison de 100mg intra musculaire par semaine versus testostérone plus levonorgestrel 250mg par jour en administration orale) confirme que l'association induit soit une azoospermie soit une oligozoospermie sévère dans 94% des cas contre 61% des cas avec la testostérone seule. De plus, le résultat est obtenu plus rapidement avec 8,9 semaines pour l'association contre 14,4 semaines pour la testostérone seule [12].

L'énanthate de testostérone a été utilisé avec l'acétate de médroxyprogestérone (DMPA) [184], le Desogestrel [3, 188], l'acétate de cyprotérone [109, 110]. Toutes ces études ont montré l'effet potentialisant des progestatifs sur les androgènes.

L'undécanoate de testostérone a été utilisé avec le lévonorgestrel par voie orale (250mg par jour) [75] avec des injections d'énanthate de noréthistérone en intra musculaire (200mg toutes les 6 semaines) ou quotidiennement per os (10mg par jour) [76, 78].

L'association de l'undécanoate avec la noréthistérone est

très efficace au contraire de l'association avec le lévonorgestrel par voie orale [77]. Dans cette dernière étude il n'y a en effet pas de différence entre le groupe traité par undécanoate plus placebo et le groupe traité par undécanoate plus levonorgestrel par voie orale.

L'association de testostérone injectable avec du DMPA [57] ou du désogestrel par voie orale est très efficace pour obtenir une azoospermie [6]. Dans cette dernière étude, 85% des hommes traités ont une azoospermie et cela quelle que soit l'origine ethnique. Par contre, les patches de testostérone en association avec le levonorgestrel administré par voie oral ou sous forme d'implants ne donnent pas de bons résultats, avec seulement 60% des hommes chez lesquels sont observées une azoospermie ou une oligozoospermie [50].

L'acétate de cyprotérone utilisé seul permet la diminution de la concentration de testostérone aboutissant à un hypogonadisme [172]. En association avec l'énanthate de testostérone (100mg par semaine ou 250mg toutes les 2 ou 3 semaines) il permet d'obtenir une azoospermie ou une oligozoospermie extrême chez presque tous les hommes traités sur des petites séries [109, 110].

3. Androgènes à action sélective

Les androgènes à action sélective comme les MENT (7 alpha-méthyl-19-nortestostérone) encore appelés SARM (selective androgen receptor modulators) sont des androgènes qui peuvent subir une aromatisation et qui ont une action progestative. Leur action sur le muscle et sur l'hypophyse est 10 à 12 fois plus forte que la testostérone [82], ils ne sont pas sensibles à l'action de la 5 alpha-réductase ; et l'action sélective des MENT dans les tissus qui dépendent de la 5 alpha-réductase a été démontrée chez l'homme très récemment [7]. Chez les hommes traités par le 7 alpha-méthyl-19-nortestostérone pour un hypogonadisme, on note la faible action sur la prostate de ces produits. Dans cette étude, l'action sur la prostate a été appréciée par l'étude de son volume.

Les caractéristiques de ces produits en font donc de bons candidats à la contraception hormonale masculine et, compte tenu de leur puissance par rapport à la testostérone, ils sont de bons candidats à une utilisation sous forme d'implant ou par voie orale. Cela est confirmé par les premiers essais réalisés chez le singe [142]. Des études sont en cours pour la mise au point de nouvelles formules pharmaceutiques de MENT [146]. On peut également signaler que des SPRM (selective progesteron receptor modulator) sont également en cours d'étude. Ils pourraient avoir l'effet suppressif de la progestérone sur les gonadotrophines et peu d'action sur les métabolismes lipidiques et glucidiques [122, 159].

4. Association des androgènes avec les agonistes et les antagonistes du GnRH

Contrairement à ce qui est observé chez la femme où les agonistes du GnRH bloquent l'ovulation, chez l'homme, le blocage de la spermatogenèse est loin d'être constant mal-

gré la chute sérique de LH et de FSH [16, 19, 20]. Par contre, les antagonistes administrés en injection sous cutanée quotidienne en association avec les androgènes permettent d'obtenir un arrêt de la spermatogenèse [9, 132, 164] avec une bonne efficacité.

Les premiers antagonistes du GnRH étaient responsables d'effets secondaires cutanés fréquents. Les antagonistes plus récents n'ont pas ces effets [17].

L'action des antagonistes permet d'envisager de n'utiliser que de faibles doses de testostérone juste pour éviter les complications liées au déficit en testostérone. De ce fait, les doses de testostérone sont bien moins importantes que celles qui sont utilisées dans les associations androgènes et progestatifs. Plus récemment, il a été montré que lorsque le blocage de la spermatogenèse a été obtenu grâce à l'association du GnRH et de la testostérone, il est possible de maintenir ce blocage avec la testostérone seule [158].

5. Association d'estrogènes et de testostérone

Les études réalisées chez le rat et le singe ont montré que les implants d'oestrogènes associés à des implants de testostérone permettent une suppression de la spermatogenèse plus efficace que lorsque l'on utilise des androgènes seuls [39]. Une étude réalisée chez l'homme ne confirme toutefois pas les résultats observés chez l'animal [58]. En effet, dans cette étude malgré la mise en évidence de perturbations plus importantes de la spermatogenèse pour l'association, il n'a pas été noté de différences statistiquement significatives en ce qui concerne le nombre d'azoospermies ou d'oligozoospermies sévères qui seules sont en mesure d'assurer l'efficacité du mode de contraception.

6. Qu'en est-il de l'innocuité des méthodes hormonales

Les formes retard de testostérone ont été les plus étudiées. Les androgènes augmentent la masse musculaire et la densité osseuse et diminuent la masse graisseuse. Les doses supra physiologiques induisent une prise de poids et de l'acné. Par contre, les effets sur la prostate ou sur le système cardio-vasculaire n'ont pas encore été évalués sur le long terme. Bien sûr, dans la mesure où la plupart des cancers de la prostate sont hormonaux dépendants, il convient de s'assurer de l'absence de ce type de pathologie avant l'utilisation de la testostérone. Il n'y a toutefois pas d'évidence que la prise des androgènes soit responsable de l'apparition de cancers de la prostate ni même de la progression d'un cancer d'un stade histologique vers un stade clinique [58, 174, 175]. Les androgènes sont administrés à des fins contraceptives à des sujets jeunes dont la partenaire est en âge de procréer, or les cancers de la prostate sont rares dans ce groupe d'hommes âgés de moins de 55 ans. Le risque pour la prostate ne pourra, quoiqu'il en soit, être évalué tant qu'il n'y aura pas une contraception hormonale masculine utilisée dans le cadre du planning familial.

En ce qui concerne le métabolisme lipidique, la testostérone entraîne une légère diminution des HDL sans modifier les LDL ou les triglycérides. Le cholestérol total n'est pas modifié ou très légèrement diminué.

Récemment, il a été montré que la testostérone stimule de manière importante l'activité de la lipase hépatique ce qui, associé à la baisse des HDL et à l'augmentation des LDL, peut être en cause dans une augmentation du risque cardio-vasculaire [62]. Cette observation ne remet pas en cause le fait que l'action des androgènes sur le système cardio-vasculaire est controversée. On a pensé longtemps que leur action était délétère mais des études ont montré l'effet vasodilatateur des androgènes sur les artères coronaires [177].

Chez les hommes âgés, la baisse relative du taux de testostérone pourrait être à l'origine de l'augmentation des risques d'athérosclérose et pourrait expliquer l'incidence plus élevée de la maladie coronarienne chez l'homme [73]. De plus, certaines études anciennes ont été en faveur de l'action antiangineuse de la testostérone [55, 91, 153, 171] ce qui est confirmé par une étude plus récente [37]. Enfin, une étude très récente n'a pas retrouvé l'effet antiangineux de la testostérone [162].

7. Hétérogénéité de la suppression de la spermatogenèse par les androgènes en fonction de l'ethnie

L'énanthate de testostérone permet d'obtenir une azoospermie chez plus de 90% des hommes d'origine asiatique alors que chez les Caucasiens seuls 60% ont une azoospermie avec le même traitement [182, 184].

La testostérone associée au DMPA permet d'obtenir une azoospermie chez 95% des Indonésiens contre seulement 70% chez les Caucasiens.

Le mécanisme responsable de cette différence n'est pas encore clair, néanmoins, la variation ethnique permet d'évoquer une origine génétique.

Parmi les hypothèses émises, il y a la possibilité notamment d'une activité 5α réductasique supérieure chez les hommes «résistant» à l'azoospermie [5].

Une étude a montré que la suppression de l'amplitude de la sécrétion pulsative de LH par la testostérone est plus rapide chez les asiatiques [173].

D'autres ont montré que la production de testostérone basale est plus faible chez les asiatiques alors que la clearance métabolique de la testostérone est la même que celle des Caucasiens [149].

De plus, une étude a montré que l'apoptose des cellules germinales est plus élevée chez les asiatiques [155].

Enfin, une dernière étude met en évidence une différence de réponse aux androgènes liée à un polymorphisme de répétition d'un CAG dans le récepteur aux androgènes [34].

IV. LES METHODES NON HORMONALES AGISSANT SUR LA SPERMATOGENESE ET/OU SUR LA MATURATION EPYDIDYMAIRE

Ces méthodes constituent une approche très intéressante qui permettrait d'éviter le recours aux hormones dont les effets secondaires au long cours ne sont pas encore bien évalués. De plus, une action immédiate et une réversibilité rapide peuvent être envisagées pour des produits dont l'action se situe au niveau post testiculaire.

Le développement de ces méthodes suppose une bonne connaissance des mécanismes cellulaires et moléculaires qui président à la production des spermatozoïdes, à leur maturation et à leur transit dans les voies génitales masculines. Malheureusement, nos connaissances encore sommaires expliquent pourquoi ces méthodes ne sont pas développées davantage.

De nombreux agents physiques ou chimiques sont susceptibles de provoquer un arrêt de la spermatogenèse. Malheureusement, souvent, leur toxicité ou l'irréversibilité de l'atteinte de la spermatogenèse les rend inutilisables dans le cadre d'une contraception. C'est le cas par exemple pour de nombreuses substances anti cancéreuses et/ou immuno-suppressives ainsi que pour les radiations ionisantes.

Parmi les méthodes explorées, on peut citer :

1. Les méthodes thermiques

Dans les régions au climat chaud, les paramètres spermatiques se dégradent en été chez les hommes qui travaillent dans des atmosphères qui ne sont pas climatisées [93] et cela pourrait expliquer pourquoi il y a une diminution des naissances au printemps suivant [92]. En outre, l'exposition professionnelle à la chaleur constitue un facteur de risque d'infertilité [163].

Ces constatations associées à l'observation que l'augmentation de la température scrotale est responsable de troubles de la spermatogenèse [111, 112] permet d'envisager d'utiliser le réchauffement testiculaire comme moyen de contraception. En effet, une augmentation quotidienne de la température scrotale de 1 à 2 degrés suffit pour obtenir des altérations de la spermatogenèse susceptible d'entraîner une infertilité [25, 113].

L'altération de la spermatogenèse est réversible à l'arrêt de l'exposition. L'hyperthermie testiculaire induit une apoptose, spécifique du stade des cellules de la lignée germinale chez le rat, la souris et le singe [105, 106, 148]. Il n'y a pas d'atteinte des spermatogonies ce qui explique la réversibilité observée à l'arrêt de l'exposition à la chaleur. Les acteurs moléculaires mis en œuvre au cours de cette apoptose induite par la chaleur ont été récemment mis en évidence chez le rat [67]. On peut noter qu'une partie des anomalies observées en présence de varicocèles unies ou bilatérales pourrait être liée à l'augmentation de la température testiculaire qui s'y associe et il a été démontré que la cure chirurgicale de varicocèles aboutissait à une diminution de la température des testicules et cela que la varicocèle soit unie ou bilatérale [185].

2. Les méthodes faisant appel à des substances extraites de plantes

Un certain nombre de plantes ont fait l'objet d'études afin d'évaluer leur rôle dans l'infertilité. La plupart de ces études ont été réalisées chez l'animal.

a) parmi les plantes testées chez l'homme on peut citer :

- **Le gossypol** : c'est un polyphénol extrait du coton. La substance pure est une poudre qui est extraite à l'alcool chaud à partir de l'huile de graine de coton.

L'administration quotidienne de gossypol provoque une infertilité chez plusieurs espèces dont l'homme. Chez le rat, la dose qui provoque une infertilité est de 30mg/Kg. Chez l'homme, le gossypol est beaucoup plus efficace et on peut observer une azoospermie avec 0,3mg/Kg [99, 178]. Le gossypol permet à la plante de se défendre contre les insectes qui s'en nourrissent. Ceux-ci en devenant stériles ne peuvent proliférer.

Dans les années 70, en Chine, une très large étude portant sur plus de 8000 hommes a été réalisée. Les hommes prenaient 20mg/jour de gossypol [98, 181]. Les études chinoises ont montré que le gossypol est efficace et est relativement bien toléré [116]. Deux effets secondaires indésirables ont été observés : une hypokaliémie concernant près de 10% des utilisateurs et un taux d'irréversibilité de l'atteinte de la spermatogenèse concernant 10% des utilisateurs. Malgré cela, certains considèrent que le gossypol peut être utilisé comme moyen de contraception et de ce fait poursuivent les études chez l'homme [30].

- ***Tripterygium wilfordii*** : cette plante fait partie des célestées, il s'agit d'une vigne du sud de la Chine utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde [190], la spondylarthrite ankylosante, les hépatites chroniques, le purpura thrombopénique et certaines maladies de peau avec plus ou moins de succès.

C'est en 1983 que l'effet possible de ***tripterygium wilfordii*** sur la fertilité humaine est évoqué pour la première fois.

En 1986, on découvre que l'extrait de plante administré à des patients atteints de polyarthrite est responsable d'une importante chute de la mobilité des spermatozoïdes et à un moindre degré d'une diminution de la concentration des spermatozoïdes dans l'éjaculat [137] et c'est Quian et son équipe qui sont à l'origine des principaux travaux réalisés chez l'homme [138-140].

Des principes actifs de la plante ont pu être isolés, il s'agit de diterpène époxydes (triptolide, triptolidole, triptolidenol, tripchlorolide 16-hydroxytriptolide). Ces substances ont une action principale sur la spermatogenèse [193] et des essais chez le rat [66] ont montré qu'à la dose de 100µg/Kg, le triptolide induit une infertilité après 70 jours de traitement sans atteinte de la spermatogenèse et des cellules de Leydig. Il est essentiellement observé une immobilité des spermatozoïdes épидидymaires due à une absence de membrane plasmique au niveau de la pièce intermédiaire et de la pièce principale [66, 104]. Ces substances ont également une action immuno suppressive

[141] et leur futur dépendra essentiellement des résultats des études qui permettront l'évaluation de leur innocuité.

b) en ce qui concerne les études réalisées chez l'animal, on peut citer :

Les extraits de la menthe des champs administrés par voie orale à raison de 10mg/jour chez la souris, aboutit à un blocage de la fertilité complet au bout de 40 à 60 jours. Il est observé une diminution de la production des spermatozoïdes et une importante asthénozoospermie [123]. Le mode d'action de ce produit pourrait passer par son effet oestrogénique et par l'inhibition de la sécrétion locale des androgènes et/ou de la sécrétion des gonadrophines.

La restauration de la fertilité est complète à l'arrêt de l'exposition et il n'a pas été observé d'effets secondaires chez la souris [123].

Les extraits alcooliques de feuilles de piper betle (famille des pipéracées) administrés à raison de 500mg/Kg et par jour par voie orale chez la souris pendant 30 jours puis à raison de 1000mg/Kg pendant 30 autres jours entraînent une infertilité avec une diminution de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires.

La fertilité est restaurée à l'arrêt du traitement [107].

Les extraits au chloroforme de graine de carica papaya administrés par voie orale à des singes langur à raison de 50mg/Kg et par jour aboutit à une oligo-asthénozoospermie et après 90 jours à une azoospermie qui se maintient pendant toute la durée du traitement [101].

3. Les méthodes faisant appel à d'autres substances

a) l' *alpha-chlorohydrine*

Dans les années 70 et 80, l'*alpha-chlorohydrine* a fait l'objet de très nombreuses études [42, 43, 170]. Ce produit est efficace chez le rat, le hamster, le chien, le cobaye, le bélier, le singe rhésus, le verrat. L'action de ce composé se situe au niveau des spermatozoïdes épидидymaires. Les spermatozoïdes perdent leur pouvoir fécondant du fait de leur impossibilité d'utiliser le métabolisme des sucres. De fortes doses d'*alpha-chlorohydrine* sont responsables d'une neuro toxicité chez la souris et le singe. Ces effets secondaires ont interdit l'utilisation de ce produit chez l'homme.

D'autres substances peuvent être intéressantes dans le cadre d'une contraception.

b) *Inhibiteur calcique*

Le calcium est essentiel pour l'induction de la réaction acrosomique. Dans la membrane du spermatozoïde il y a des canaux calciques voltage dépendant [51, 79, 94].

La nifedipine est un inhibiteur calcique qui est capable d'inhiber la réaction acrosomique induite par la progestérone et qui pourrait expliquer certaines infertilités masculines [36]. De plus, récemment, il a été montré que deux toxines de scorpions qui bloquent les canaux calciques de types D entraîne une inhibition de la réaction acrosomique [102].

Une meilleure connaissance de la structure et de la fonction des canaux calciques spermatiques pourrait permettre la mise au point de contraceptif masculin appartenant à la famille des antagonistes des canaux à ions calcium.

c) *Le N-butyldeoxynojirimycine (NB-DNJ)*.

Il s'agit d'un inhibiteur de la N-glycosylation qui représente la première étape dans la biosynthèse des glucosphyngolipides. Ce produit peut être utilisé dans le traitement de la maladie de Gaucher [31].

Récemment, une étude réalisée chez la souris a mis en évidence qu'après un traitement à raison de 5mg/Kg et par jour pendant 5 semaines il y a une stérilité uniquement chez la souris mâle, cette stérilité est liée à une très sévère tératozoospermie qui porte sur la tête des spermatozoïdes avec des anomalies nucléaires et des anomalies portant sur l'acrosome.

De plus, la mobilité des spermatozoïdes est diminuée de manière très prononcée.

Les souris qui ont été traitées pendant 6 mois avec le NB-DNJ à raison de 15mg/Kg par jour retrouvent leur fertilité à l'arrêt de l'administration du produit.

Il apparaît donc que le NB-DNJ constitue une possible nouvelle approche pour la mise au point d'un moyen contraceptif mais de nombreuses investigations concernant cette substance sont encore nécessaires [168].

V. IMMUNOCONTRACEPTION

La mise au point d'un vaccin contraceptif présente un intérêt considérable aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés où l'on pourrait proposer une méthode de contraception de moindre coût à des populations moins médicalisées. De plus, cela évite les contraintes d'utilisation des méthodes hormonales ou mécaniques.

Au cours des 20 dernières années, on a proposé de nouvelles stratégies pour le développement de vaccins à effet contraceptifs et plusieurs antigènes ont été des cibles potentielles de l'immunocontraception.

L'immunisation doit permettre d'inhiber spécifiquement une étape clé de la reproduction. L'action peut se situer au niveau de la production des gamètes, de la fécondation, de l'implantation de l'embryon, voire du développement de l'embryon.

Les antigènes ou plus exactement les épitopes reconnus par les anticorps doivent être spécifiques pour éviter les immunisations croisées et les risques de maladie auto-immune.

Nous allons limiter notre étude aux antigènes susceptibles d'être utilisés comme agent vaccinant chez l'homme et en même temps chez la femme. Nous n'étudierons pas ceux qui ne peuvent être utilisés que chez la femme. La revue de la littérature ne va donc concerner que les antigènes permettant d'obtenir des anticorps anti-hormone capable

de neutraliser leur action ou des antigènes spermatiques susceptibles d'être utilisés comme agents vaccinaux.

1. Les vaccins basés sur les hormones

Ces vaccins ont été réalisés avec le GnRH ou la FSH.

a) GnRH

Les vaccins anti GnRH conduisent à une inhibition de la sécrétion de la FSH et de la LH ce qui aboutit à un déficit en testostérone qui oblige à une supplémentation en testostérone pour maintenir la libido et les caractères sexuels secondaires.

De ce fait, les vaccins basés sur le GnRH ont été développés pour une utilisation à des fins contraceptives chez l'animal et chez l'homme pour le traitement de maladies dépendantes des hormones sexuelles, comme certains types de cancers [40, 160].

L'efficacité de ce type d'immunocontraception a été démontrée chez l'animal. Une séquence modifiée de GnRH multimérique couplée à de l'ovalbumine et administrée avec un adjuvant aboutit à une véritable immunocastration chez le porc. Ce type d'approche peut constituer une alternative à la castration chirurgicale chez l'homme [124].

L'effet à long terme d'un vaccin anti-GnRH a été étudié chez le daim mâle et femelle [114]. Cette étude a été poursuivie pendant 4 ans et a montré une réduction de 88% de l'incidence des gestations. La vaccination a été efficace pendant 2 ans sans rappel.

b) FSH

La FSH semblait être une bonne candidate à la vaccination. Après des résultats très prometteurs chez le rat et le singe, des essais cliniques phase I chez l'homme ont été conduits par Mougdal et al [115]. Le vaccin, qui a consisté à injecter l'hétérodimère $\alpha\beta$ de FSH d'ovin ou sa chaîne β a permis la production d'anticorps chez tous les individus, mais à des titres faibles, ne permettant pas la suppression de la spermatogenèse.

Ce vaccin devra être amélioré pour permettre une meilleure réponse immunitaire seule en mesure d'entraîner la suppression de la spermatogenèse.

2. Antigènes spermatiques utilisés comme cible pour une immunocontraception

Une des stratégies possible consiste à trouver des antigènes spermatiques qui ont un rôle dans l'interaction gamétique et à les utiliser comme vaccin après les avoir bien caractérisés.

La faisabilité de cette approche découle de l'observation bien documentée de stérilités liées à la présence d'anticorps anti-spermatozoïde [24, 152].

Un antigène spermatique est candidat pour une contraception s'il remplit certains critères importants :

a) idéalement, l'antigène doit être exclusivement exprimé

par les spermatozoïdes ou les cellules de la lignée germinale, pour éviter les réactions immunologiques croisées avec des épitopes communs présents sur des cellules somatiques ;

b) l'antigène doit être exposé à la surface des spermatozoïdes pour être accessible aux anticorps ;

c) et l'antigène doit, de préférence, avoir un rôle important dans la fonction du spermatozoïde même si une agglutination et donc une stérilité peut-être obtenue avec des anticorps ne reconnaissant pas nécessairement des protéines ayant une fonction importante.

De nombreuses protéines spécifiques du spermatozoïdes potentiellement utilisables en immunocontraception ont été identifiées par criblage d'anticorps monoclonaux obtenus chez des souris immunisées avec des extraits de spermatozoïdes humains. Parmi celles-ci, seul un petit nombre a fait l'objet d'études bien documentées et s'est révélé avoir un rôle dans la reconnaissance avec la zone pellucide ou avec la membrane cytoplasmique de l'ovocyte.

SP10 est une protéine intra-acrosomique d'abord identifiée chez l'homme en utilisant un anticorps monoclonal [63], puis le clonage moléculaire et la séquence ont été réalisés chez l'homme [186, 187], la souris [144], le renard [11], le babouin et le macaque [47]. Des études immunologiques ont permis d'identifier SP10 sur les spermatozoïdes de bovins et de porc [29, 64]. Les anticorps anti-SP10 inhibent la fécondation *in vitro* chez les bovins en diminuant la fixation secondaire à la zone pellucide [29] et un anticorps monoclonal HS-63, qui est capable de reconnaître l'homologue de SP10 chez la souris, inhibe également la fécondation *in vitro* chez cette espèce [100]. Ces anticorps inhibent la pénétration des spermatozoïdes dans les ovocytes dépellucidés de hamster [4, 100]. L'efficacité contraceptive de l'immunisation par SP10 n'a été complètement évaluée chez aucune espèce où l'antigène est présent. Néanmoins, des anticorps ont été retrouvés dans les sécrétions vaginales chez la souris immunisée par voie orale [156] et dans le fluide tubaire chez le macaque immunisé par voie intramusculaire [83]. La présence d'anticorps dans le fluide tubaire est essentiel puisque SP10 est localisé dans l'acrosome et n'est donc exposé à la surface des spermatozoïdes et accessible aux anticorps qu'après induction de la réaction acrosomique. Cela conduit à penser que l'antigène peut-être utilisé éventuellement dans le cadre d'une immunocontraception féminine mais probablement pas masculine.

SP17 est une protéine qui a initialement été isolée comme membre de la famille des protéines RSA du lapin [127]. Les anticorps anti-RSA sont en mesure d'inhiber la fécondation *in vitro* et *in vivo* [128, 129]. Le clonage et la séquence de l'ADNc correspondant à SP17 ont été réalisés chez l'homme [86], le babouin [1], le macaque [87], le lapin [80] et la souris [145].

Chez la souris, SP17 est seulement exposée à la surface des spermatozoïdes après leur réaction acrosomique. SP17 est alors retrouvée au niveau de la région équatoria-

le [145] où elle se lie à un composant glucidique de la zone pellucide [130] ; chez le lapin, la fixation se fait sur ZP3 [189]. L'immunisation de souris femelle avec un peptide chimérique comprenant SP17 aboutit à une diminution de la fertilité, cependant, cette diminution n'est corrélée à aucun niveau d'anticorps sérique ou vaginal, et de manière surprenante la réponse s'est révélée variable en fonction de la souche de souris immunisée [88].

FA-1 est une glycoprotéine spécifique du spermatozoïde initialement mise en évidence chez l'homme et la souris puis également retrouvée sur les spermatozoïdes de lapin, de taureau et de macaque. L'ADNc codant pour FA-1 de souris a été cloné et la séquence réalisée [119]. Les anticorps anti-FA-1 inhibent la fécondation *in vitro* chez toutes les espèces précédentes. Le mécanisme de l'inhibition passe par l'inhibition de l'interaction avec la zone pellucide [118] et l'immunisation de lapines et de souris femelles diminue leur fertilité [117, 121].

L'antigène de surface des spermatozoïdes PH-20 a été cloné et étudié chez plusieurs espèces, le cobaye [84], le rat [68], la souris [85], le macaque et l'homme [95].

Cette protéine a une double fonction. D'abord, elle a une activité hyaluronidase qui permet au spermatozoïde n'ayant pas subi la réaction acrosomique de passer dans les couches de cellules folliculaires qui entourent l'ovocyte [96] et ensuite, elle semble nécessaire pour que les spermatozoïdes qui ont subi la réaction acrosomique puissent se fixer à la zone pellucide [70, 135, 151].

Les anticorps anti-PH20 inhibent la liaison à la zone pellucide *in vitro* [151, 134] et *in vivo*, chez le cobaye mâle et femelle, une stérilité de tous les animaux immunisés est observée [136]. Malheureusement, il a été montré que la stérilité observée chez le mâle est due à une orchite qui aboutit à une azoospermie [167].

L'isoenzyme spécifique du testicule β 1-4 galactosyl transférase [103] et Sp56 [26] se lie à la partie glucidique de ZP3 et de ce fait pourraient avoir un rôle dans la liaison des spermatozoïdes à la zone pellucide [72]. Ce sont donc également des cibles potentielles pour la contraception, toutefois, la β 1-4 galactosyl transférase testiculaire et l'enzyme somatique sont très proches l'une de l'autre. On peut donc craindre que l'immunisation ne conduise à une réaction croisée indésirable.

La LDH C-4 est une isoforme spécifique du testicule qui a fait l'objet de travaux et de résultats très encourageants [125, 126] même si l'effet contraceptif doit être attribué à une agglutination plutôt qu'à une inhibition de l'interaction gamétique.

On peut également citer parmi les antigènes spermatiques dont l'étude plus approfondie aurait été justifiée, une glycoprotéine de 26 kDa du spermatozoïde de hamster [18], NZ-1 chez la souris [120], RSA 1 [127], la zonadhésine chez la souris et le porc [49, 60], l'équatorine [165], SOB2 [89] et SIAA chez l'homme [71]. Toutes ces protéines sont spécifiquement exprimées par les cellules de la lignée germinale.

3. Les protéines de la famille ADAM

Il s'agit de protéines intra-membranaires qui possèdent un domaine servant à la fixation qui présente un motif disintégrine et un domaine présentant une activité protéase. Ces protéines appartiennent à une famille appelée ADAM (A Disintegrin And Metalloprotéinase Domain). L'expression de certaines de ces protéines a été mise en évidence dans le testicule de mammifères [21, 44, 45, 69, 81, 179, 180], notamment exprimées sur les cellules de la lignée germinale [44, 45, 97, 180]. Ces protéines pourraient être impliquées dans la fixation à une intégrine ; or, des intégrines ont été mises en évidence sur la membrane plasmique des ovocytes [2, 38, 48, 161].

La fertiline α et β et la cyritestine (également connue sous le nom de tMDC 1) sont des membres de la famille ADAM. Ces protéines ont été bien caractérisées et un rôle dans l'interaction gamétique leur a été attribué. Les fertilines α et β ont d'abord été décrites chez le cobaye où ces protéines se trouvent sur le spermatozoïde sous forme d'un hétérodimère ab [22]. La sous unité β est impliquée dans la fixation à la membrane plasmique de l'ovocyte et la sous unité α est impliquée dans la fusion avec l'ovocyte. Les fertilines α et β ont été clonées et leur séquence obtenue chez le cobaye [23], la souris [180], le rat [44], les bovins [176], le lapin [61], le macaque [133], l'homme [53, 169]. La cyritestine/tMDC 1 a été clonée chez la souris [180], le rat [44], le macaque [10], et l'homme [46].

Chez les rongeurs, la fertiline β et la cyritestine sont exprimées exclusivement par les cellules de la lignée germinale [180, 44, 90], alors que chez le macaque, la fertiline β est spécifique de la lignée germinale mais la cyritestine est également exprimée dans d'autres tissus [45]. La fertiline α est également exprimée dans d'autres tissus à la fois chez les rongeurs [180, 44, 108] et chez le macaque [44]. Chez l'homme, les gènes de la fertiline α et de la cyritestine ne sont pas fonctionnels [46, 74]. Ces protéines n'ont donc pas d'intérêt dans l'espèce humaine mais peuvent être éventuellement utilisées comme agent vaccinant chez d'autres espèces.

Chez les souris dont le gène de la fertiline β est invalidé [27], on observe une diminution de la liaison des spermatozoïdes à la membrane plasmique de l'ovocyte *in vitro*. La diminution de la fertilité observée *in vivo* est largement due à la diminution du nombre de spermatozoïdes capables d'atteindre les trompes.

De plus, *in vitro*, les spermatozoïdes de souris KO pour la fertiline β ne se fixent pas bien à la zone pellucide.

Les essais d'immunisation *in vivo* avec la fertiline b ont été décevants [143].

4. Protéines de sécrétion épididymaire

Certaines glycoprotéines de surface des spermatozoïdes sont acquises au cours de leur transit dans l'épididyme. Parmi celles-ci, gp 20 mise en évidence chez l'homme [41], et la protéine DE chez le rat [32] ont été impliquées

dans l'interaction gamétique. La protéine DE est la mieux caractérisée. C'est une protéine de 37 kDa aussi dénommée AEG (acidic epididymal glycoprotein). *In vitro*, les anticorps anti-DE/AEG inhibent la pénétration d'ovocytes dépellucidés [32] et *in vivo*, la fertilité est diminuée lorsque des inséminations sont réalisées avec des spermatozoïdes préalablement incubés avec des anticorps [54] ou chez le rat mâle immunisé avec les protéines DE/AEG purifiées [35]. De même, la fusion gamétique est diminuée lorsque les ovocytes dépellucidés sont exposés à la protéine DE purifiée [28, 147].

On voit dans ce qui précède que de nombreuses protéines pourraient être de bonnes candidates pour une immuncontraception du fait de leur rôle dans la fécondation mis en évidence par les études réalisées *in vitro*. Force est de constater que les essais d'immunisation *in vivo* ont été toujours très décevants.

L'immunoneutralisation d'une seule protéine spermatique semble insuffisante pour conduire à une perte de la fertilité. On peut émettre l'idée que toute une série de protéines doivent agir ensemble dans une coopération pour aboutir à une capacité fécondante maximale. Par contre, individuellement ces protéines pourraient être redondantes et donc chacune n'être pas absolument indispensable pour le maintien de la fertilité. La perte de l'activité d'une seule de ces protéines conduisant seulement à une diminution modérée de la fertilité.

Il faudra sans aucun doute envisager des immunisations avec des « cocktails » d'antigènes spermatiques pour obtenir le résultat escompté. En outre, le mode d'immunisation doit être revu si on veut pouvoir obtenir des réponses immunitaires locales, au niveau du tractus génital, suffisantes pour être en mesure d'assurer l'effet contraceptif escompté.

VI. CONCLUSION

Des méthodes de contraception masculine sont d'ores et déjà disponibles, elles sont essentiellement mécaniques comme le préservatif et la vasectomie, mais avec les préservatifs, il y a un taux d'échec important et le caractère définitif de la vasectomie en fait plutôt une méthode de stérilisation.

Les méthodes hormonales existent et pourraient être utilisées avec une efficacité tout à fait acceptable. Il reste encore à évaluer l'innocuité de la contraception hormonale sur le long terme et sur des groupes d'individus beaucoup plus importants. Cette évaluation ne sera réellement fiable que lorsque la contraception masculine hormonale sera utilisée dans le cadre du planning familial.

Les méthodes non hormonales de contraception seraient très intéressantes dans la mesure où non seulement elles permettraient d'éliminer les risques hormonaux mais également d'avoir une action immédiate et une réversibilité rapide. Ces deux conditions ne sont pas réunies dans le cas de la contraception hor-

monale. Malgré des efforts soutenus, il n'y a pas pour l'instant de produits disponibles en mesure d'être utilisés. La mise au point d'un tel produit passe sans doute par une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires et cellulaires qui président à la production des spermatozoïdes, à leur maturation et à leur transit dans les voies génitales masculines.

La mise au point d'un vaccin contraceptif masculin constitue sans conteste un challenge. En effet les approches envisagées jusqu'ici se sont révélées décevantes car les problèmes posés par la mise au point d'un vaccin sont complexes. Par exemple, les réponses immunitaires au niveau du tractus génital ne sont pas toujours obtenues et c'est pourtant à ce niveau que cette réponse est indispensable. De plus, il semble de plus en plus évident que le blocage d'une seule protéine, fût-elle apparemment importante dans l'interaction gamétique, ne suffise pas pour obtenir un blocage de la fertilité. Cela explique sans doute pourquoi, malgré les efforts consentis, dont témoigne l'abondance des études réalisées dans la littérature, un vaccin n'a pas encore été mis au point. Il faudra sans doute encore des années avant d'y parvenir.

REFERENCES

1. ADOYO P.A., LEA I.A., RICHARDSON R.T. et al. : Sequence and characterisation of the sperm protein Sp17 from the baboon. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997, 47 : 66-71.
2. ALMEIDA E.A.C., HUOVILLA A.P.J., SUTHERLAND A.E. et al. : Mouse egg integrin $\alpha 6 \beta 1$ functions as a sperm receptor. *Cell*, 1995, 81 : 1095-1104.
3. ANAWALT B.D., HERBST B.D., HERBST K.L. et al. : Desogestrel plus testosterone effectively suppresses spermatogenesis but also causes modest weight gain and high density lipo protein suppression. *Fertil. Steril.*, 2000, 14 : 704-714.
4. ANDERSON D.J., JOHNSON P.M., ALEXANDER N.J. et al. : Monoclonal antibodies to human trophoblast and sperm antigens : report of two WHO sponsored workshops. *J. Reprod. Immunol.*, 1987, 10 : 231-257.
5. ANDERSON R.A., VAN DER SPUIY Z.M., DADA O.A. et al. : Investigation of hormonal male contraception in African men : suppression of spermatogenesis by oral desogestrel with depot testosterone. *Hum. Reprod.*, 2002 ; 17 : 2869-2877.
6. ANDERSON R.A., WALLACE A.M., SATTAR N. et al. : Evidence for tissue selectivity of the synthetic androgen 7 α -methyl-19-nortestosterone in hypogonadal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88 : 2784-2793.
7. ANDERSON R.A., WALLACE A.M., WU F.C.W. : Comparison between testosterone enanthate-induced azoospermia and oligozoospermia in a male contraceptive study. Higher 5α reductase activity in oligozoospermic men administered supraphysiological doses of testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 902-908.
8. ANONYMOUS : Progress in Human Reproductive Research, World Health Organisation, Geneva, 1992, 23 : 4.
9. BAGATELL C.J., MATSUMOTO A.M., CHRISTENSEN R.B. et al. : Comparison of a gonadotropin releasing-hormone anta-

- gonist plus testosterone (T) versus T alone as potential male contraceptive regimens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1993, 77 : 427-432.
10. BARKER H.L., PERRY A.C.F., JONES R., HALL L. : Sequence and expression of a monkey testicular transcript encoding Tmcd i, a novel member of the metalloproteinase-like, disintegrin-like, cysteine-rich (MDC) protein family. *Biochem. Biophys. Acta*, 1994, 1218 : 429-431.
 11. BEATON S., HAVE J., CLEARY A., BRADLEY M.P. : Cloning and partial characterization of the cDNA encoding the fox sperm protein FSA-Acr.1 with similarities to the SP-10 antigen. *Mol. Reprod. Dev.*, 1995, 40 : 242-252.
 12. BEBB R.A., ANAWALT B.D., CHRISTIANSEN R.B. et al. : Combined administration of levonorgestrel and testosterone induces more rapid and effective suppression of spermatogenesis than testosterone alone : A promising male contraceptive approach. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 757-762.
 13. BEHRE H.M., ABSHAGEN K., OETTEL M. et al. : Intramuscular injection of testosterone undecanoate for the treatment of male hypogonadism : phase I studies. *Eur. J. Endocrinol.*, 1999, 140 : 414-419.
 14. BEHRE H.M., NIESCHLAG E. : Testosterone Buciclate in hypogonadal man : pharmacokinetics and pharmacodynamics of the new long acting androgen ester. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1992, 75 : 1204-1210.
 15. BEHRE H.M., BAUS S., KLIESCH S. et al. : Potential of testosterone buciclate for male contraception : endocrine differences between responders and non-responders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995 ; 80 : 2394-2403.
 16. BEHRE H.M., NASHAN D., HUBERT W., NIESCHLAG E. : Depot gonadotropin-releasing hormone agonist blunts the androgen-induced suppression of spermatogenesis in a clinical trial of male contraception. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1992, 74 : 84-90.
 17. BEHRE H.M., KLEIN B., STEINMEYER E. et al. : Effective suppression of luteinizing hormone and testosterone by single doses of the new gonadotropin-releasing hormone antagonist cetorelix (SB-75) in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1992, 75 : 393-398.
 18. BERUBE B., SULLIVAN R. : Inhibition of *in vivo* fertilisation of male hamsters against a 26-KDa sperm glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 1994, 51 : 1255-1263.
 19. BHASIN S., HEBER D., STEINER B.S. et al. : Hormonal effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist and androgen. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1985, 60 : 998-1003.
 20. BHASIN S., HEBER D., STEINER B. et al. : Hormonal effects of GnRH agonist in the human male : II. Testosterone enhances gonadotrophin suppression induced by GnRH agonist. *Clin. Endocrinol.*, 1984, 20 : 119-128.
 21. BLACK R.A., RAUCH C.T., KOZLOSZY C.J. et al. : A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor from cells. *Nature*, 1997, 385 : 729-733.
 22. BLOBEL C.P., MYLES D.G., PRIMAKOFF P., WHITE J.M. : Proteolytic processing of a protein involved in sperm-egg fusion correlates with acquisition of fertilisation competence. *J. Cell Biol.*, 1990, 111 : 69-78
 23. BLOBEL C.P., WOLFSBERG T.G., TURCK C.W. et al. : A potential fusion peptide and an integrin ligand domain in a protein active in sperm-egg fusion. *Nature*, 1992, 356 : 248-252.
 24. RONSON R.G., COOPER G., ROSENFELD D. : Sperm antibodies : their role in infertility. *Fertil. Steril.*, 1984, 42 : 171-182.
 25. BUJAN L., MIEUSSET R. : Contraception masculine par hyperthermie. *Contracept. Fertil. Sex.*, 1995, 23 : 611-614.
 26. CHENG A., LE T., PALACIOS M. et al. : Sperm-recognition in the mouse : characterization of sp56, a sperm protein having specific affinity for ZP3. *J. Cell Biol.*, 1994, 125 : 867-878.
 27. HO C., O'DELL BUNCH D., FAURE J.E., GOULDING E.H. et al. : Fertilization defects in sperm from mice lacking fertilin b. *Science*, 1998, 281 : 1857-1859.
 28. COHEN D.J., MUNUCE M.J., CUASNICU P.S. : Mammalian sperm-egg fusion : the development of rat oolema fusibility during oogenesis involves the appearance of binding sites for sperm protein 'DE'. *Biol. Reprod.*, 1996, 55 : 200-206.
 29. COONROD S.A., HERR J.C., WESTHUSIN M.E. : Inhibition of bovine fertilization *in vitro* by antibodies to SP-10. *J. Reprod. Fertil.*, 1996, 107 : 287-297.
 30. COUTINHO E.M. : Gossypol : a contraceptive for men. *Contraception*, 65, 2002 ; 259-263.
 31. COX T.M., AERTS J.M., ANDRIA G. et al. : The role of the iminosugar N-butyldeoxynojirimycin (miglustat) in the management of type I (non-neuronopathic) Gaucher disease : a position statement. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 2003, 26 : 513-526.
 32. CUASNICU P.S., CONESA D., ROCHWERGER L. : Potential contraceptive use of an epididymal protein that participates in fertilisation. Gamete interaction. Prospects for immunocontraception. Wiley-Liss, 1990 : 143-153.
 33. CUNNINGHAM G.R., SILVERMAN V.E., KOHLER D.O. : Clinical evaluation of testosterone enanthate for induction and maintenance of reversible azoospermia. In Patanelli D.J. ed. *Hormonal control of male fertility*. Bethesda, US DHEW Publication (NIH), N° 78-1097, 1978 : 71-92.
 34. ECKARDSTEIN S.V., SCHMIDT A., KAMISCHKE A. et al. : CAG repeat length in the androgen receptor gene and gonadotrophin suppression influence the effectiveness of hormonal male contraception. *Clin. Endocrinol. (Oxford)*, 2002, 57 : 647-655.
 35. ELLERMAN D.A., BRANTUA V.S., MARTINEZ S.P. et al. : Potential contraceptive use of epididymal proteins : immunization of male rats with epididymal protein D inhibits sperm fusion ability. *Biol. Reprod.*, 1998, 59 : 1029-1036.
 36. ENDERS G. : Clinical approaches to male infertility with a case report of possible nifedipine-induced sperm dysfunction. *J. Am. Board Fam. Pract.*, 1997, 10 : 131-136.
 37. ENGLISH K.M., STEEDS R.P., JONES T.H. et al. : Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina : A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Circulation*, 2000, 102 : 1906-1911.
 38. EVANS J.P., SCHULTZ R.E.M., KOPF G.S. : Identification and localization of integrin subunits in oocytes and eggs of the mouse. *Mol. Reprod. Dev.*, 1995, 40 : 211-220.
 39. EWING L. : Effects of testosterone and estradiol, silastic implants, on spermatogenesis in rats and monkeys. In : Patanelli D.J. ed. *Hormonal Control of Male Fertility*. Bethesda, US DHEW Publication (NIH), N° 78-1097, 1978 : 173-194.

40. FERRO V., STIMSON W.H. : Immunoneutralisation of gonadotrophin-releasing hormone : a potential treatment for oestrogen-dependent breast cancer. *Eur. J. Cancer*, 1997, 33 : 1467-1478.
41. FOCARELLI R., GIUFFRIDA A., CAPPARELLI S. et al. : Specific localization in the equatorial region of gp20, a 20KDa sialoglycoprotein of the capacitated human spermatozoon acquired during epididymal transit which is necessary to penetrate zona-free hamster eggs. *Mol. Hum. Reprod.*, 1998, 4 : 119-125.
42. FORD W.C., HARRISON A., WAITES G.M. : Effects of the optical isomers of alpha-chlorohydrin on glycolysis by ram testicular spermatozoa and the fertility of male rats. *J. Reprod. Fertil.*, 1977, 51 : 105-109.
43. FORD W.C., WAITES G.M. : The control of male fertility by 6-chloro-6-deoxysugars. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1980, 20 : 1101-1109.
44. FRAYNE J., JURY J.A., BARKER H.L., HALL L. : Rat MDC family of proteins : sequence analysis, tissue distribution and expression in prepubertal and adult rat testis. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997, 48 : 159-167.
45. FRAYNE J., JURY J.A., BARKER H.L. et al. : Macaque MDC family of proteins : sequence analysis, tissue distribution and processing in the male reproductive tract. *Mol. Hum. Reprod.*, 1998, 4 : 429-437.
46. FRAYNE J., HALL L. : The gene for the human tMDC I protein is non-functional ; implications for its proposed role in mammalian sperm-egg recognition. *Biochem. J.*, 1998, 334 : 171-176.
47. FREEMERMAN A.J., WRIGHT R.M., FLICKINGER C.J., HERR J.C. : Cloning and sequencing of baboon and cynomolgus monkey intra-acrosomal protein Sp-10 : homology with human Sp-10 and a mouse sperm antigen (MSA-63). *Mol. Reprod. Dev.*, 1993, 34 : 140-148.
48. FUSI F.M., VIGNALI M., GAILIT J., BRONSON R.A. : Mammalian oocytes exhibit specific recognition of the RGD (Arg-Gly-Asp) tripeptide and express oolemmal integrins. *Mol. Reprod. Dev.*, 1993, 36 : 212-219.
49. GAO Z., GARBERS D.L. : Species diversity in the structure of Zonadhesin, a sperm-specific membrane protein containing multiple cell adhesion molecule-like domains. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273 : 3415-3421.
50. GONZALO I.T., SWERDLOFF R.S., NELSON A.L. et al. : Levonorgestrel implants (Norplant II) for male contraception clinical trials : combination with transdermal and injectable testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87 : 3562-3572.
51. GOODWIN L.O., KARABINUS D.S., PERGOLIZZI R.G., BENOFF S. : L-type voltage dependent calcium channel alpha-1C subunit mRNA is present in ejaculated human spermatozoa. *Mol. Hum. Reprod.*, 2000, 6 : 127-136.
52. GU Y.Q., WANG X.H., XU D. et al. : A multicenter contraceptive efficacy study of injectable testosterone undecanoate in healthy Chinese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88 : 559-61, 562-8.
53. GUPTA S.K., ALVES K., O'NEIL P. et al. : Molecular cloning of the human fertilin beta subunit. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, 224 : 318-326.
54. HALL J.C., TUBBS C.E. : Purification and characterisation of protein D/E, a putative sperm-binding protein involved in fertilisation. *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 1997, 27 : 239-251.
55. HAMM L. : Testosterone propionate in the treatment of angina pectoris. *J. Clin. Endocrinol.*, 1942 ; 2 : 325-328.
56. HANDELSMAN D.J., CONWAY A.J., BOYLAN L.M. : Suppression of human spermatogenesis by testosterone implants in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1992, 75 : 1326-1332.
57. HANDELSMAN D.I., CONWAY A.J., HOWE C.J., et al. : Establishing the minimum effective dose and additive effects of depot progestin in suppression of human spermatogenesis by a testosterone depot. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 4113-4121.
58. HANDELSMAN D.J., WISHART S., CONWAY A.J. : Oestradiol enhances testosterone-induced suppression of human spermatogenesis. *Hum. Reprod.*, 2000, 15 : 672-679.
59. HANDELSMAN D.J. : The safety androgens : prostate and cardiovascular disease. In : Wang C. ed. *Male Reproductive Function*. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1999 : 173-189.
60. HARDY D.M., GARBERS D.L. : Species-specific binding of sperm proteins to the extracellular matrix (zona pellucida) of the egg. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269 : 19000-19004.
61. HARDY D.M., HOLLAND M.K. : Cloning and expression of recombinant rabbit fertilin. *Mol. Reprod. Dev.*, 1996, 45 : 107-116.
62. HERBST K.L., AMORY J.K., BRUNZELL J.D. et al. : Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003, 284 : E1112-1118.
63. HERR J.C., FLICKINGER C.J., HOMYK M. et al. : Biochemical and morphological characterization of the intra-acrosomal antigen SP10 from human sperm. *Biol. Reprod.*, 1990, 42 : 181-193.
64. HERR J.C., WRIGHT R.M., JOHN E. et al. : Identification of human acrosomal antigen SP10 in primates and pigs. *Biol. Reprod.*, 1990, 42 : 377-382.
65. HIKIM A.P., WANG C., LEUNG A., SWERDLOFF R.S. : Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rat after gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology*, 1995, 136 : 2770-2775.
66. HIKIM A.P., LUE Y., YAMAMOTO C.M. et al. : Key apoptotic pathways for heat-induced programmed germ cell death in the testis. *Endocrinology*, 2003, 144 : 3167-3175.
67. HIKIM A.P., LUE Y.H., WANG C. et al. : Post-testicular antifertility action of triptolide in the male rat : evidence for severe impairment of cauda epididymal sperm ultrastructure. *J. Androl.*, 2000, 21 : 431-437.
68. HOU S.T., MA A., JONES R., HALL L. : Molecular cloning and characterisation of rat sperm surface antigen 2B1, a glycoprotein implicated in sperm-zona binding. *Mol. Reprod. Dev.*, 1996, 45 : 193-203.
69. HOWARD L., LU X., MITCHELL S. et al. : Molecular cloning of MADM : a catalytically active mammalian disintegrin-metalloprotease expressed in various cell types. *Biochem. J.*, 1996, 317 : 45-50.
70. HUNNICUTT G.R., MAHAN K., LATHROP W. et al. : Structural relationship of sperm soluble hyaluronidase to the sperm membrane protein PH-20. *Biol. Reprod.*, 1996, 54 : 1343-

71. JIMENEZ C., SION B., GRIZARD G. et al. : Characterization of a monoclonal antibody to a human intra-acrosomal antigen that inhibits fertilization. *Biol. Reprod.*, 1994, 51 : 1117-1125.
72. JOHNSTON D.S., WRIGHT W.W., SHAPER J.H. et al. : Murine sperm-zona binding, a fucosyl residue is required for a high affinity sperm-binding ligand. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273 : 1888-1895.
73. JONES R.D., MALKIN C.J., CHANNER K.S., JONES T.H. : Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men : further supportive data. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87 : 3632-3639.
74. JURY J.A., FRAYNE J., HALL L. : The human fertilin a gene is non-functional : implications for its proposed role in fertilisation. *Biochem. J.*, 1997, 321 : 577-581.
75. KAMISCHKE A., PLOGER D., VENHERM S. et al. : Intramuscular testosterone undecanoate with or without oral levonorgestrel : a randomized placebo controlled clinical trial for male contraception. *Clin. Endocrinol. (Oxford)*, 2000, 53 : 351-358.
76. KAMISCHKE A., PLOGER D., VENHERM S. et al. : Intramuscular testosterone undecanoate with or without oral levonorgestrel : a randomized placebo-controlled feasibility study for male contraception. *Clin. Endocrinol. (Oxford)*, 2000, 53 : 43-52.
77. KAMISCHKE A., PLOGER D., VENHERM S. et al. : Intramuscular testosterone undecanoate with or without oral levonorgestrel : a randomized placebo-controlled feasibility study for male contraception. *Clin. Endocrinol. (Oxford)*, 2000, 53 : 43-52.
78. KAMISCHKE A., HEUERMAN T., KRUGER K. et al. : An effective hormonal male contraception using testosterone undecanoate with oral or injectable norethisterone preparations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87 : 530-539.
79. KIRKMAN-BROWN J.C., BARRATT C.L., PUBLICOVER S.J. : Nifedipine reveals the existence of two discrete components of the progesterone-induced $[Ca^{2+}]_i$ transient in human spermatozoa. *Dev. Biol.*, 2003, 259 : 71-82.
80. KONG M., RICHARDSON R.T., WIDGREN E.E., O'RAND M.G. : Sequence and localisation of the mouse sperm autoantigenic protein Sp17. *Biol. Reprod.*, 1995, 53 : 579-590.
81. KRATZSCHMAR J., LUM L., BLOBEL C.P. : Metargidin, a membrane-anchored metallo-protease-disintegrin protein with an RGD integrin binding sequence. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271 : 4593-4596.
82. KUMAR N., DIDOLKAR A.K., MONDER C. et al. : The biological activity of 7 alpha-methyl-19-nortestosterone is not amplified in male reproductive tract as is that of testosterone. *Endocrinology*, 1992, 130 : 3677-3683.
83. KURTH B.E., WESTON C., REDDI P. et al. : Oviductal antibody response to a defined recombinant sperm antigen in macaques. *Biol. Reprod.*, 1997, 57 : 981-989.
84. LATHROP W.F., CARMICHAEL E.P., MYLES D.G., PRIMAKOFF P. : Isolation and characterization of cDNA coding for the mouse homologue of the guinea-pig sperm protein PH-20. *J. Cell Biol.*, 1990, 115(suppl.) : 462a.
85. LATHROP W.F., CARMICHAEL E.P., MYLES D.G., PRIMAKOFF P. : cDNA cloning reveals the molecular structure of a sperm surface protein, PH-20, involved in sperm-egg adhesion and the wide distribution of its gene among mammals. *J. Cell Biol.*, 1990, 111 : 2939-2949.
86. LEA I.A., KURTH B., O'RAND M.G. : Immune response to immunisation with sperm antigens in the macaque oviduct. *Biol. Reprod.*, 1998, 58 : 794-800.
87. LEA I.A., RICHARDSON R.T., WIDGREN E.E., O'RAND M.G. : Cloning and sequencing of cDNAs encoding the human sperm protein Sp17. *Biochem. Biophys. Acta*, 1996, 1307 : 263-266.
88. LEA I.A., VAN LIEROP M.J.C., WIDGREN E.E. et al. : A chimeric sperm peptide induces antibodies and strain-specific reversible infertility in mice. *Biol. Reprod.*, 1998, 59 : 527-536.
89. LEVEVRE A., RUIZ C.M., CHOKOMIAN S., DUQUENNE C. : Characterisation and isolation of SOB2, a sperm protein with a potential role in oocyte membrane binding. *Mol. Hum. Reprod.*, 1997, 3 : 507-516.
90. LEMAIRE L., JOHNSON K.R., BAMMER S. et al. : Chromosomal assignment of three novel mouse genes expressed in testicular cells. *Genomics*, 1994, 21 : 409-414.
91. LESSER M.A. : Testosterone propionate therapy in one hundred cases of angina pectoris. *J. Clin. Endocrinol.*, 1946, 19 : 549-557.
92. LEVINE R.J., BORDSON B.L., MATHEW R.M. et al. : Deterioration of semen quality during summer in New Orleans. *Fertil. Steril.*, 1998, 49 : 900-907.
93. LEVINE R.J., MATHEW R.M., CHENAULT C.B. et al. : Differences in the quality of semen in outdoor workers during summer and winter. *New Engl. J. Med.*, 1990, 323 : 12-16.
94. LIEVANO A., SANTI C.M., SERRANO C.J. et al. : T-type Ca^{2+} channels and alpha 1^E expression in spermatogenic cells, and their possible relevance to the sperm acrosome reaction. *FEBS Lett*, 1996, 388 : 150-154.
95. LIN Y., KIMMEL L.H., MYLES D.G., PRIMAKOFF P. : Molecular cloning of the human and monkey sperm surface protein PH-20. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1993, 90 : 10071-10075.
96. LIN Y., MAHAN K., LATHROP W.F. et al. : A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *J. Cell Biol.*, 1994, 125 : 1157-1163.
97. LINDER B., BAMMER S., HEINLEIN U.A.O. : Delayed translation and post-translational processing of cyritestin, an integral transmembrane protein of the mouse acrosome. *Exp. Cell Res.*, 1995, 221 : 66-72.
98. LIU G.Z. : Clinical studies of gossypol as a male contraceptive. *Reproduction*, 1987, 5 : 189-192.
99. LIU G.Z., LYLE C.K., C.A.O. J. : Trial of gossypol as a male contraceptive. In : Segal S.J. ed. *Gossypol : a potential contraceptive for men*. New York, Plenum Press, 1985 : 9-16.
100. LIU M.S., YANG Y., PAN J. et al. : Purification of an acrosomal antigen recognised by a monoclonal antibody and infertility effects of isoimmune serum. *Int. J. Androl.*, 1989, 12 : 451-463.
101. LOHIYA N.K., MANIVANNAN B., MISHRA P.K. et al. : Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in langur monkey. *Asian J. Androl.*, 2002, 4 : 17-26.
102. LOPEZ-GONZALEZ I., OLAMENDI-PORTUGAL T., De La

- VEGA-BELTRAN J.L. et al. : Scorpion toxins that block T-type Ca²⁺ channels in spermatogenic cell inhibit the sperm acrosome reaction. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 2003, 300 : 408-414.
- 103.LU Q., SHUR B.D. : Sperm from β 1,4-galactosyltransferase-null mice are refractory to ZP3-induced acrosome reactions and penetrate the zona pellucida poorly. *Dev.*, 1997, 124 : 4121-4131.
- 104.LUE Y.H., HIKIM A.P., WANG C. et al. : Triptolide : a potential male contraceptive. *J. Androl.*, 1998, 19 : 479-486.
- 105.LUE Y.H., HIKIM A.P., SWERDLOFF R.S. et al. : Single exposure to heat induces stage-specific germ cell apoptosis in rats : role of intratesticular testosterone on stage specificity. *Endocrinology*, 1999, 140 : 1709-1717.
- 106.LUE Y.H., LASLEY B.L., LAUGHLIN L.S. et al. : Mild testicular hyperthermia induces profound transitional spermatogenic suppression through increased germ cell apoptosis in adult cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Androl.*, 2002 ; 23 : 799-805.
- 107.MADHUMITA S., PARAMITA G., BIYUT B. et al. : The reversible antifertility effect of Piper betle Linn on Swiss albino male mice. *Contraception*, 2000, 62 : 271-274.
- 108.McLAUGHLIN E.A., FRAYNE J., BARKER H.L. et al. : Cloning and sequence analysis of rat fertilin a and b-developmental expression, processing and immunolocalisation. *Mol. Hum. Reprod.*, 1997, 3 : 801-809.
- 109.MERIGGIOLA M.C., BREMNER W.J., PAULSEN C.A. et al. : A combined regimen of cyproterone acetate and testosterone enanthate as a potentially high effective male contraceptive. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, 81 : 3018-3023.
- 110.MERIGGIOLA M.C., BREMNER W.J., CONSTANTINO A. et al. : Low dose of cyproterone acetate and testosterone enanthate for contraception in men. *Hum. Reprod.*, 1998, 13 : 1225-1229.
- 111.MIEUSSET R., BUJAN L., MANSAT A. et al. : Hyperthermia and human spermatogenesis : enhancement of the inhibitory effect obtained by 'artificial cryptorchidism'. *Int. J. Androl.*, 1987, 10 : 571-580.
- 112.MIEUSSET R., BUJAN L., MONDINAT C. et al. : Association of scrotal hyperthermia with impaired spermatogenesis in infertile men. *Fertil. Steril.*, 1987, 48 : 1006-1011.
- 113.MIEUSSET R., BUJAN L. : The potential of mild testicular heating as a safe, effective and reversible contraceptive method for men. *J. Androl.*, 1994, 17 : 186-191.
- 114.MILLER L.A., JOHN B.E., KILLIAN G.J. : Immunoneutralisation of white-tailed deer with GnRH vaccine. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2000, 44 : 262-274.
- 115.MOUDGAL N.R., DIGHE R.R. : Is FSH-based contraceptive vaccine a feasible proposition for the human male ? *Reprod. Immunol.*, 1999, 346-357.
- 116.National Coordinating Group on Male Infertility Agents. : Gosypol : a new antifertility agent for males. *China Med. J. (New Series)*, 1978, 4 : 417.
- 117.NAZ R.K. : The fertilisation antigen (FA-1) causes reduction of fertility in actively immunised female rabbits. *J. Reprod. Immunol.*, 1987, 11 : 117-133.
- 118.NAZ R.K., BRAZIL C., OVERSTREET J. : Effects of antibodies to sperm surface fertilisation antigen-1 on human sperm-zona pellucida interaction. *Fertil. Steril.*, 1992, 57 : 1304-1310.
- 119.NAZ R.K. : Application of sperm antigens in immunoneutralisation. *Front. Biosci.*, 1996, 1 : 87-95.
- 120.NAZ R., ZHU X. : Molecular cloning and sequencing of cDNA encoding for a novel testis-specific antigen. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997, 48 : 449-457.
- 121.NAZ R., ZHU X. : Recombinant fertilisation antigen-1 causes reduction a contraceptive effect in actively immunized mice. *Biol. Reprod.*, 1998, 59 : 1095-1100.
- 122.NEGRO-VILAR A. : New progestins and potential actions. *J. Soc. Gynecol. Investigation*, 2000, 7 (1 Suppl) : S53-54.
- 123.NIDHI S., JACOB D. : Assessment of reversible contraceptive efficacy of methanol extract of *Mentha arvensis L.* leaves in male albino mice. *J. Ethnopharmacol.*, 2002, 80 : 9-13.
- 124.OONK H.B., TURKSTRA J.A., SCHAAPER W.M. et al. : New GnRH-like peptide construct to optimize efficient immunoneutralisation of GnRH. *Vaccine*, 1998, 16 : 1074-1082.
- 125.O'HERN P.A., BAMBRA C.S., ISAHAKIA M., GOLDBERG E. : Reversible contraception in female baboons immunized with a synthetic epitope of sperm-specific lactate dehydrogenase. *Biol. Reprod.*, 1995, 52 : 331-339.
- 126.O'HERN P.A., LIANG Z.G., BAMBRA C.S., GOLDBERG E. : Colinear synthesis of an antigen-specific B-cell epitope with a 'promiscuous' tetanus toxin T-cell epitope : a synthetic peptide immunoneutralisation. *Vaccine*, 1997, 15 : 1761-1766.
- 127.O'RAND M.G., PORTER J.P. : Purification of rabbit sperm autoantigens by preparative SDS gel electrophoresis : Amino acid and carbohydrate content of RSA-1. *Biol. Reprod.*, 1982, 27 : 713-721.
- 128.O'RAND M.G. : Inhibition of fertility and sperm-zona binding by antiserum to the rabbit sperm autoantigen. *Biol. Reprod.*, 1981, 25 : 621-628.
- 129.O'RAND M.G., IRONS G.P., PORTER J.P. : Monoclonal antibodies to rabbit sperm autoantigens I. Inhibition of *in vitro* fertilisation and localisation on the egg. *Biol. Reprod.*, 1984, 30 : 721-729.
- 130.O'RAND M.G., WIDGREN E.E., FISHER S.J. : Characterisation of the rabbit sperm membrane autoantigen, RSA, as a lectin-like zona binding protein. *Dev. Biol.*, 1988, 129 : 231-240.
- 131.PATANELLI D.J. : Hormonal control of male fertility. Bethesda, US DHEW Publication N° 78-1097 (NIH), 1978.
- 132.PAVLOU S.N., WAKEFIELD G.B., ISLAND D.P. et al. : Suppression of pituitary-gonadal function by a potent new luteinizing hormone-releasing hormone antagonist in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1987, 64 : 931-936.
- 133.PERRY A.C.F., GICHUHI P.M., JONES R., HALL L. : Cloning and analysis of monkey fertilin reveals novel subunit isoforms. *Biochem. J.*, 1995, 307 : 843-850.
- 134.PRIMAKOFF P., HYATT H., MYLES D.G. : A role for the migrating sperm surface antigen PH-20 in guinea-pig sperm binding to the egg zona pellucida. *J. Cell Biol.*, 1985, 101 : 2239-2244.
- 135.PRIMAKOFF P., COWAN A., HYATT H. et al. : Purification of

- the guinea-pig sperm PH-20 antigen and detection of a site-specific endoproteolytic activity in sperm preparations that cleaves PH-20 into two disulfide-linked fragments. *Biol. Reprod.*, 1988, 38 : 921-934.
136. PRIMAKOFF P., LATHROP W., WOOLMAN L. et al. : Fully effective contraception in male and female guinea pigs immunized with the sperm protein PH-20. *Nature*, 1988, 335 : 543-546.
137. QIAN S.Z., ZHONG C.Q., XU N., XU Y. : Antifertility effect of *Tripterygium wilfordii* in men. *Adv. Contracept.*, 1986, 2 : 253-254.
138. QIAN S.Z. : *Tripterygium wilfordii*, a Chinese herb effective in male fertility regulation. *Contraception*, 1987, 36 : 335-345.
139. QIAN S.Z., HU Y.Z., WANG S.M. et al. : Effects of *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch on male fertility. *Adv. Contracept.*, 1988, 4 : 307-310.
140. QIAN S.Z., HU Y.Z., TONG J.S. et al. : Studies on the effect of *Tripterygium wilfordii* on the reproduction of men. *Chinese J. Androl.*, 1989, 3 : 129-132.
141. QIAN S.Z., XU Y.E., ZHANG J.W. : Recent progress in research on *Tripterygium* : a male antifertility plant. *Contraception*, 1995, 51 : 121-129.
142. RAMACHANDRA S.G., RAMESH V., KRISHNAMURTHY H.N. et al. : Effect of chronic administration of 7 alpha-methyl-19-nortestosterone on serum testosterone, number of spermatozoa and fertility in adult male bonnet monkeys (*Macaca radiata*). *Reproduction*, 2002, 124 : 301-309.
143. RAMARAO C.S., MYLES D.G., WHITE J.M., PRIMAKOFF P. : Initial evaluation of fertilin as an immun contraceptive antigen and molecular cloning of the cynomolgus monkey fertilin β subunit. *Mol. Reprod. Dev.*, 1996, 43 : 70-75.
144. REDDI P.P., HANSEN S.N., AGUOLNIK I., TSAI J.Y., SILVER L.M. et al. : Complementary deoxyribonucleic acid cloning and characterization of mSp 10 : the mouse homologue of human acrosomal protein Sp10. *Biol. Reprod.*, 1995, 53 : 873-881.
145. RICHARDSON R.T., YAMASAKI N., O'RAND M.G. : Sequence of a rabbit sperm zona pellucida binding protein and localisation during the acrosome reaction. *Dev. Biol.*, 1994, 165 : 688-701.
146. BURSI R., ARIJAN G., VAN DER LOUW J. et al. : Structure-activity relationship study of human liver microsomes-catalyzed hydrolysis rate of ester products of MENT by comparative molecular field analysis (CoMFA). *Steroids*, 2003, 68 : 213-220.
147. ROCHWERGER L., COHEN D.J., CUASNICU P.S. : Mammalian sperm-egg fusion : the rat egg has complementary sites for a sperm protein that mediates gamete fusion. *Dev. Biol.*, 1992, 153 : 83-90.
148. ROCKETT J.C., MAPP F.L., GARGES J.B. et al. : Effects of hyperthermia on spermatogenesis, apoptosis, gene expression, and fertility in adult male mice. *Biol. Reprod.*, 2001, 65 : 229-239.
149. SANTNER S.J., ALBERTSON B., ZHANG G.Y. et al. : Comparative rates of androgen production and metabolism in Caucasian and Chinese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 2104-2109.
150. SCHEARER S.B. : Current efforts to develop male hormonal contraception. *Studies Family Planning*, 1978, 9 : 229-231.
151. SHALGI R., MATITYAHU A., GAUNT S.J., JONES R. : Identification of antigens on rat spermatozoa with a potential role in fertilisation. *Mol. Reprod. Dev.*, 1990, 25 : 286-296.
152. SHULMAN S. : Sperm antigens and autoantibodies : effects on fertility. *J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 1986, 10 : 69-86.
153. SIGLER L.H., TULGAN J. : Treatment of angina pectoris by testosterone propionate NY State. *J. Med.*, 1943, 43 : 1424-1428.
154. SINHA HIKIM A.P., RAJAVASHISTH T.B., SINHA HIKIM I. et al. : Significance of apoptosis in the temporal and stage-specific loss of germ cells in the adult rat after gonadotropin deprivation. *Biol. Reprod.*, 1997, 57 : 1193-1201.
155. SINHA HIKIM A., WANG C., LUE Y.H. et al. : Spontaneous germ cell apoptosis in humans : evidence for ethnic differences in the susceptibility of germ cells to programmed cell death. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 152-156.
156. SRINIVASAN J., TINGE S., WRIGHT R. et al. : Oral immunisation with attenuated Salmonella expressing human sperm antigen induces antibodies in serum and the reproductive tract. *Biol. Reprod.*, 1995, 53 : 462-471.
157. SWERDLOFF R.S., PALAIOS A., MC CLURE R.D. et al. : Clinical evaluation of testosterone enanthate in the reversible suppression of spermatogenesis in the human male : efficacy, mechanism of action and adverse effects. In : Patanelli D.J. ed. *Hormonal control of male fertility*. Bethesda, S DHEW publication, N° 78-1097 (NIH), 1978 : 41-70.
158. SWERDLOFF R.S., BAGATELL C.J., WANG C., et al. : Suppression of spermatogenesis in man induced by Nal-Glu gonadotropin releasing hormone antagonist and testosterone enanthate is maintained by testosterone enanthate alone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 3527-3533.
159. TABATA Y., IIZUKA Y., SHINEI R. et al. : CP8668, a novel orally active nonsteroidal progesterone receptor modulator with tetrahydrobenzindolone skeleton. *Eur. J. Pharmacol.*, 2003, 461 : 73-78.
160. TALWAR G.P. : Vaccines and passive immunological approaches for the control of fertility and hormone-dependent cancers. *Immunol. Rev.*, 1999, 171 : 173-192.
161. TARONE G., RUSSO M.A., HIRSCH E. et al. : Expression of $\beta 1$ integrin complexes on the surface of unfertilized mouse oocytes. *Dev.* 1993, 117 : 1369-1375.
162. THOMPSON P.D., AHLBERG A.W., MOYNA N.M. et al. : Effect of intravenous testosterone on myocardial ischemia in men with coronary artery disease. *Am. Heart J.*, 2002, 143 : 249-256.
163. THONNEAU P., BUJAN L., MULTINGER L., MIEUSSET R. : Occupational heat exposure and male fertility : a review. *Hum. Reprod.*, 1998, 13 : 2122-2125.
164. TOM L., BHASIN S., SALAMEH W. et al. : Induction of azoospermia in normal men with combined Nal-Glu gonadotropin-releasing hormone antagonist and testosterone enanthate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1992, 75 : 476-483.
165. TOSHIMORI K., SAXENA D.K., TANII I., YOSHINAGA K. : An MN9 antigenic molecule, Equatorin, is required for successful sperm-oocyte fusion in mice. *Biol. Reprod.*, 1998, 59 : 22-29.
166. TRUSSEL J., KOST K. : Contraceptive failure in the United States : A critical review of literature. *Studies in Family plan-*

- ning, 1987, 18 : 237-283.
167. TUNG K.S.K., PRIMAKOFF P., WOOLMAN-GAMER L., MYLES D.G. : Mechanism of infertility in male Guinea pigs immunised with sperm PH-20. *Biol. Reprod.*, 1997, 56 : 1133-1141.
168. VAN DER SPOEL A.C., JEYAKUMAR M., BUTTERS T.D. et al. : Reversible infertility in male mice after oral administration of alkylated imino sugars : a nonhormonal approach to male contraception. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2002, 99 : 17173-17178.
169. VIDAEUS C.M., VON KAPP-HERR C., GOLDEN W.L. et al. : Human fertilin beta : identification, characterization, and chromosomal mapping of an ADAM gene family member. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997, 46 : 363-369.
170. WAITES G.M.H. : Male fertility regulation : recent advances. *Bull. World Health Organ*, 1986, 64 : 151-158.
171. WALKER T.C. : Use of testosterone propionate and oestrogenic substance in treatment of essential hypertension, angina pectoris and peripheral vascular disease. *J. Clin. Endocrinol.*, 1942, 2 : 560-568.
172. WANG C., YEUNG K.K. : Use of low-dosage cyproterone acetate as a male contraceptive. *Contraception*, 1980, 21 : 245-272.
173. WANG C., BERMAN N.G., VELDHUIS J.D. et al. : Graded testosterone infusions distinguish gonadotropin negative feedback responsiveness in Asian and White men. A clinical research center study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 870-876.
174. WANG C., SWERDLOFF R.S. : Male contraception in the 21st century. In : Wang C. ed. *Male Reproductive Function*. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1999 : 303-319.
175. WANG C., SWERDLOFF R.S. : Androgen replacement therapy, risks and benefits. In Wang C. ed. *Male Reproductive Function*. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1999 : 157-172.
176. WATERS S.I., WHITE J.M. : Biochemical and molecular characterisation of bovine fertilin (α and β (ADAM 1 and ADAM 2)) : A candidate sperm-egg binding/fusion complex. *Biol. Reprod.*, 1997, 56 : 1245-1254.
177. WEBB C.M., Mc NEILL J.G., HAYWARD C.S. et al. : Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation*, 1999, 100 : 1690-1696.
178. WEINBAURER G.F., ROVAN E., FRICK J. : Toxicity of gossypol at antifertility dosages in male rats. Statistical analyses of lethal rates and body weight responses. *Andrology*, 1983, 15 : 213-221.
179. WESKAMP G., KRATZSCHMAR J., REID M.S., BLOBEL C.P. : MDC9, a widely expressed cellular disintegrin containing cytoplasmic SH3 ligand domains. *J. Cell Biol.*, 1996, 132 : 717-726.
180. WOLFSBERG T.G., STRAIGHT P.D., GERENA R.L. et al. : ADAM, a widely distributed and developmentally regulated gene family encoding membrane proteins with a disintegrin and metalloprotease domain. *Dev. Biol.*, 1995, 169 : 378-383.
181. WONG Y., LOUS Y., TANG X. : Studies on the antifertility actions of cottonseed meal and gossypol. *Acta Pharm. Sinica*, 1979, 14 : 662-666.
182. World Health Organization Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility : Contraceptive efficacy of testosterone-induced azoospermia in normal men. *Lancet*, 1990, 336 : 955-959.
183. World Health Organization Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility : Contraceptive efficacy of testosterone-induced azoospermia and oligozoospermia in normal men. *Fertil. Steril.*, 1996, 65 : 821-829.
184. World Health Organization Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility : Comparison of two androgens plus depo-medroxyprogesterone acetate for suppression to azoospermia in Indonesian men. *Fertil. Steril.*, 1993, 60 : 1062-1068.
185. WRIGHT E.J., YOUNG G.P., GOLDSTEIN M. : Reduction in testicular temperature after varicocelelectomy in infertile men. *Urology*, 1997, 50 : 257-259.
186. WRIGHT R.M., JOHN E., FLICKINGER C.J., HERR J.C. : Cloning and sequencing of cDNAs encoding for the human intra-acrosomal antigen SP10. *Biol. Reprod.*, 1990, 42 : 693-701.
187. WRIGHT R.M., SURI A.K., KORNREICH B. et al. : Cloning and characterization of the gene coding for the human acrosomal protein SP-10. *Biol. Reprod.*, 1993, 49 : 316-325.
188. WU F.C., BALASUBRAMANIAN R., MULDER T.M., COELINGH-BENNINK H.J. : Oral progestogen combined with testosterone as a potential male contraceptive : additive effects between desogestrel and testosterone enanthate in suppression of spermatogenesis, pituitary-testicular axis, and lipid metabolism. *J. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84 : 112-122.
189. YAMASAKI N., RICHARDSON R.T., O'RAND M.G. : Expression of the rabbit sperm protein Sp17 in COS cells and interaction of recombinant Sp17 with the rabbit zona pellucida. *Mol. Reprod. Dev.*, 1995, 40 : 48-55.
190. YU D.Y. : One hundred and forty-four cases of rheumatoid arthritis treated with *Trypterygium wilfordii*. *J. Traditional Chinese Med.*, 1983, 3 : 125-129.
191. ZHANG C.Y., GU Y.Q., WANG X.H. et al. : A pharmacokinetic study of injectable testosterone undecanoate in hypogonadal men. *J. Androl.*, 1998, 19 : 761-768.
192. ZHANG G.Y., GU Y.G., WANG X.H. et al. : A clinical trial of injectable testosterone undecanoate as a potential male contraceptive in normal Chinese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84 : 3642-3647.
193. ZHEN Q.S., YE X., WEI Z.J. : Recent progress in research on *Trypterygium* : a male antifertility plant. *Contraception*, 1995, 51 : 121-129.

ABSTRACT

Male contraception

Clément JIMENEZ

Currently available methods of male contraception include condoms and vasectomy, but condoms have a high failure rate and vasectomy is an irreversible method. These methods are also not accepted by all couples.

Hormonal methods are based on reversible suppression of gonadotrophin (both LH and FSH) and inhibition of intra-testicular steroid and sperm production. In 1990 and 1996, the WHO published results from two studies using testosterone injections as a method of hormonal contraception. These studies demonstrated, for the first time, that if a hormonal method is able to induce azoospermia or at least severe oligozoospermia, it could constitute an effective method of contraception.

Another possible approach consists of using a combination of progestins or other gonadotropin inhibitors together with androgens to ensure more effective suppression of spermatogenesis. The dose of androgens can be lowered to decrease the risk of long-term adverse effects. Ongoing studies are designed to determine the safest and most effective combinations of androgens and progestins. GnRH antagonists interfere with the action of GnRH and suppress gonadotropins and therefore spermatogenesis.

Agents acting directly on the testis are often very toxic and frequently induce irreversible effects on spermatogenesis and therefore cannot be used for contraception.

Immunocontraception, particularly targeting of antibodies to gamete-specific antigens involved in sperm-egg binding and fertilisation, constitutes a very attractive approach. This is not a new idea, as several immunocontraception trials, using animal model systems, have been reported over recent years. However, the results of these studies have been largely disappointing because immunoneutralisation of a single, gamete-specific antigen appears to be insufficient to induce a significant reduction in fertility and secondly, although systemic immunisation regimes may lead to high serum antibody levels, these levels do not correlate with specific antibody levels in the reproductive tract or with contraceptive efficacy.

Key words: *male contraception, hormonal contraception, immunocontraception, sperm antigens*