

PRISE EN CHARGE DES CRYPTOZOOSPERMIES ET DES OLIGOSPERMIES EXTRÊMES

2. Les Bilans spécifiques et les facteurs prédictifs chez l'homme

Ethel SZERMAN¹, Paul BARRIERE², Martine ALBERT³

1 Département Génétique et Reproduction, CHU, Caen 2 Biologie de la Reproduction CHU-HME, Nantes

3 Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Biologie de la Reproduction et Génétique Médicale, Centre Hospitalier Intercommunal de Poissy-Saint Germain

I. INTRODUCTION

Les bilans effectués chez les patients présentant une oligospermie sévère ou une cryptozoospermie recrutés par les six centres volontaires sont analysés de manière à rechercher d'éventuels facteurs prédictifs de fécondance des spermatozoïdes.

L'aspect quantitatif nous a tout d'abord interrogé. En effet sur un plan pratique, il est beaucoup plus difficile de retrouver un spermatozoïde à injecter lors d'une ICSI quand la numération effectuée lors des spermogrammes de bilan n'indique que quelques milliers de spermatozoïdes que dans le cas où il y en a plusieurs dizaines de milliers. Aussi, pour analyser les bilans spécifiques effectués chez les patients recrutés, nous avons divisé notre population en 2 sous-groupes en fonction du nombre de spermatozoïdes des différents spermogrammes.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'analyse des résultats porte sur les 2 catégories de patients suivantes :

Groupe 1 : cryptozoospermie ; numération inférieure à 10 000 spermatozoïdes par éjaculat.

Groupe 2 : oligospermie sévère ; numération comprise entre 10 000 et 100 000 spermatozoïdes par éjaculat.

Nous avons alors étudié la fréquence des différents antécédents médicaux, chirurgicaux et uro-génitaux des patients dans ces deux groupes rapportés dans les questionnaires proposés (page 1 du questionnaire ; voir page 210 du présent numéro). La même analyse a été faite en ce qui concerne les examens cliniques et échographiques de l'appareil génital (page 2 du questionnaire), les examens biologiques complets (page 3 du questionnaire) et les bilans hormonaux et génétiques (page 4 du questionnaire).

III. RÉSULTATS

Les 118 dossiers enregistrés se répartissent entre 32 patients dans le Groupe 1 et 86 patients dans le Groupe 2.

1. Les antécédents du patient

L'enquête rétrospective s'est intéressée aux antécédents médicaux, chirurgicaux, uro-génitaux.

Le taux de réponses (questionnaire page 1) sur les 118 dossiers est hétérogène et varie globalement de 44 à 73% suivant les centres et les items, le plus faible étant de 51 réponses pour la prise d'alcool et le plus élevé de 86 réponses pour l'ectopie testiculaire bilatérale.

Les antécédents généraux médicaux ne font pas apparaître d'éléments particuliers à cette population d'hommes infertiles (Tableau 1). On retiendra que 8 patients (10%) présentent des antécédents carcinologiques, 7 des antécédents broncho-pulmonaires et que 40 d'entre eux (40,8%) présentent au moins un facteur de risque parmi les antécédents spécifiques suivants : broncho-pulmonaires, carcinologiques, prise de tabac ou d'alcool, exposition à des toxiques ou à la chaleur, ou encore d'autres antécédents médicaux ou chirurgicaux. Le nombre de fumeurs est de 26 (40,6%).

Les antécédents uro-génitaux sont plus informatifs avec 17 patients présentant des antécédents d'ectopies bilatérales (20%), majoritaires dans le Groupe 2 bien que non significatif, et 26 patients (30,9 %) ayant eu des infections uro-

Correspondance :

Dr Ethel SZERMAN - Spermologie-CECOS, Département Génétique et Reproduction, CHU Avenue de la côte de Nacre 14033 CAEN Cedex - Tel 02 31 06 45 55 - Fax 02 31 06 45 08 - Email szerman-e@chu-caen.fr

génitales ou orchites également réparties dans les deux groupes (Tableau 2).

Compte tenu des données recueillies, l'évaluation des facteurs prédictifs parmi les antécédents se limite aux pathologies urogénitales (Tableau 3) : l'existence d'une "ectopie bilatérale" (testicule mal descendu) n'est pas plus péjorative que celle d'un passé d'infection uro-génitale sur le taux de grossesse par couple, respectivement de 64% (11/17) et 38% (10/26 ; $\chi^2 = 0,096$).

2. Le bilan clinique et échographique

Le bilan clinique n'est communiqué que dans 83/118 dossiers soit parce qu'il a été réalisé avant la consultation en centre spécialisé et qu'il n'a pas été transmis au centre d'AMP, soit parce qu'il n'a pas été réalisé. Les résultats de l'échographie scrotale sont rapportés seulement pour 19 dossiers.

Le volume testiculaire rapporté dans 42 dossiers est inférieur à 10 ml pour 35% des patients. La présence d'un épидидyme anormal est également rapportée dans près de 23% des dossiers renseignés soit 15/65 (dont 9 bilatéral) et s'associe fréquemment à la notion d'antécédents infectieux (7 cas). Une varicocèle est retrouvée chez 16/76 patients examinés (21%), 7 dans le Groupe 1 et 9 dans le Groupe 2.

3. Examens biologiques

a) Spermogramme et spermocytogramme

Près de 75% des patients ont eu 2 à 3 spermogrammes avant leur prise en charge en AMP, certains 4. Seulement 10% (12 patients) n'ont eu qu'un seul spermogramme avant l'ICSI. Trente deux patients relèvent du Groupe 1 avec une numération totale toujours inférieure à 10 000 spermatozoïdes et 86 ont été classés dans le Groupe 2 dès qu'un seul spermogramme a montré une numération totale supérieure à 10 000 spermatozoïdes.

La mobilité est évaluée dans 105 des 118 dossiers (22 pour le Groupe 1 et 83 pour le Groupe 2) sur un nombre restreint de spermatozoïdes et rapportée à 100. La mobilité (a+b) est globalement de 19,5% (Groupe 1 : 18,6% et Groupe 2 : 19,9%). Elle est inférieure à 10% dans 43 cas et, dans 16 cas, aucun spermatozoïde mobile n'est trouvé à l'examen direct.

La morphologie a été analysée seulement pour 35 des 118 dossiers (Groupe 1 : 4 et Groupe 2 : 31). Le taux moyen de spermatozoïdes typiques est de 19% alors que dans 7 cas il est de 0%.

La réalisation technique du spermogramme sera discutée plus loin (voir présent numéro page 223).

b) Spermoculture

La spermoculture est réalisée presque systématiquement (114/118 dossiers). L'expression du taux de germes est hétérogène. L'analyse complète des questionnaires indique très souvent la présence d'une contamination bactérienne non spécifique. La présence de germes pathogènes n'a été découverte que chez 9 patients (*streptocoque* ou *staphylo-*

coque avec une numération >10 000 ufc/ml, *Escherichia coli* ou *enterocoque* quelque soit le nombre de germes).

c) Biochimie du liquide séminal

L'analyse des marqueurs séminaux a été réalisée chez 61 patients. En moyenne, trois à cinq paramètres sont dosés pour chaque patient en fonction des centres. Les résultats montrent un taux de fructose (marqueur des vésicules séminales) abaissé dans 4/56 cas ; un taux de citrate (marqueur prostatique) diminué dans 9/60 cas, et un taux d' α -1-4 glucosidase (marqueur épидидymaire) abaissé dans 11/45 cas, dont 5 avec une FSH normale en faveur d'une étiologie excrétoire. Aucune corrélation n'est retrouvée entre la présence d'une spermoculture positive ou la présence de polynucléaires et l'altération des marqueurs séminaux.

d) Bilan hormonal

La FSH a été dosée chez 95 patients, elle est augmentée par rapport à la valeur de référence de chaque centre chez 64 d'entre eux (67%) et normale pour 31 (33%). La LH est augmentée dans 8 cas sur 50. La testostérone est abaissée dans 4 cas sur 61. Le dosage d'Inhibine B n'a été réalisé que pour 12 patients et dans un seul centre.

Pour ce qui est du caractère prédictif du taux de FSH (Tableau 4), les taux de grossesse par couple ne sont pas significativement différents en cas de FSH augmentée (48%) versus FSH normale (35%) (28/64, versus 11/31 ; $\chi^2 = 0,45$).

e) Bilan génétique

L'analyse du caryotype a été réalisée dans 111 dossiers. Il est anormal dans trois cas qui sont un isochrome 15p sur-numéraire, une translocation robertsonnienne, et une translocation réciproque.

La recherche de microdélétions du chromosome Y n'est pas effectuée de façon systématique. Nous avons trouvé 5 patients porteurs d'une microdélétion AZFc pour 53 cas explorés.

IV. DISCUSSION

Cette étude rétrospective a été effectuée dans six centres sensibilisés à l'andrologie dans la mesure où elle était pilotée par des membres de la SALF. Néanmoins, on constate une hétérogénéité dans les pratiques en ce qui concerne les bilans.

L'interrogatoire du patient est effectué soit par le biologiste soit par l'andrologue sur des items non définis au préalable ce qui explique l'hétérogénéité des réponses. L'examen clinique n'est pas toujours effectué et décrit. Il est souvent mal renseigné car non transmis par l'urologue ou l'andrologue quand il a été consulté, celui-ci étant le plus souvent extérieur à l'équipe d'AMP. L'examen clinique n'est pas standardisé. Effectivement, la consultation spécialisée n'est pas systématique chez l'homme, cela peut s'expliquer par l'asynchronisme entre l'évolution des connaissances des mécanismes de régulation hormonale féminines et masculines. Chez la femme, il est aisé d'améliorer une dysovulation alors que chez l'homme, aucune thérapie hormonale spécifique ne peut être utilisée pour améliorer la production

Tableau 1 : Fréquence des antécédents médicaux chez 118 patients.

Antécédents	Information communiquée Groupe 1 + 2	Fréquence de l'antécédent Groupe 1 + 2 n (%)	Répartition Groupe 1	Répartition Groupe 2
Broncho-pulmonaires	80	7 (8,7%)	1/21	6/59
Carcinologique	80	8 (10 %)	1/22	5/58
Prise de tabac	64	26 (40,6%)	8/17	18/47
Prise d'alcool	51	2 (3,9%)	1/15	1/36
Exposition à des toxiques	64	4 (6,2%)	0/18	4/46
Exposition à la chaleur	53	5 (9,4%)	2/15	4/38
Irradiation	56	2 (3,5%)	1/18	1/38
Chimiothérapie	65	7 (10,7%)	3/20	4/45
Ayant au moins un facteur	98	40 (40,8%)	10/25	30/73

Groupe 1 (32 patients) : numération < 10⁴ spermatozoïdes/éjaculât.

Groupe 2 (86 patients) : numération comprise entre 10⁴ et 10⁵/éjaculât.

Tableau 2 : Fréquence des antécédents uro-génitaux chez 118 patients..

Antécédents	Information communiquée Groupe 1 + 2	Fréquence de l'antécédent Groupe 1 + 2 n (%)	Répartition Groupe 1 (%)	Répartition Groupe 2 (%)
Ectopie bilatérale	86	17 (20%)	2/21 a (10%)	15/65 a (23%)
Ectopie unilatérale	69	4 (6%)	1/20 (5%)	3/49 (6%)
Infection uro-génitale, orchite	84	26 (30,9 %)	6/25 (24%)	20/59 (33,9%)
Traumatisme	76	2 (2%)	1/22 (4%)	1/54 (2%)
Torsion testiculaire	74	4 (5%)	1/21 (4%)	4/53 (7%)
Hernie inguinale	77	6 (8%)	0/20 (0)	6/57 (10%)
Hypogonadisme	72	3 (4%)	1/20 (4%)	2/52 (4%)

a : Test chi 2 observé = 1,83 d.d.l. = 1 Résultats non significativement différents (chi 2 < 3,84)

Groupe 1 (32 patients) : numération < 10⁴spermatozoides/éjaculât.

Groupe 2 (86 patients) : numération comprise entre 10⁴ et 10⁵/éjaculât.

Tableau 3 : Relation entre antécédents uro-génitaux et résultats des tentatives d'ICSI.

Antécédents	Groupe 1		Groupe 2		Total : Groupe 1+2	
	Nb de patients	Grossesse	Nb de patients	Grossesse	Nb de patients	Grossesse
Ectopie bilatérale	2	1	15	10	17	11
Ectopie unilatérale	1	0	3	0	4	0
Infection uro-génitale,orchite	6	0	20	10	26	10

Groupe 1 (32 patients) : numération < 10⁴ spermatozoïdes/éjaculât.

Groupe 2 (86 patients) : numération comprise entre 10⁴ et 10⁵/éjaculât.

Tableau 4 : Relation entre paramètres hormonaux et résultats des tentatives d'ICSI dans les 2 groupes de patients sélectionnés.

Antécédents	Groupe 1		Groupe 2		Total : Groupe 1+2	
	Nb de patients	Grossesse	Nb de patients	Grossesse	Nb de patients	Grossesse
FSH augmentée	15	5	49	23	64	28
FSH normale	12	5	19	6	31	11

Groupe 1 (32 patients) : numération < 10⁴spermatozoïdes/éjaculat.

Groupe 2 (86 patients) : numération comprise entre 10⁴ et 10⁵/éjaculat.

spermatique en dehors des hypogonadismes hypogonadotropes. C'est donc le biologiste qui a la charge de récupérer les quelques spermatozoïdes nécessaires à la fécondation sans que soit établi le diagnostic précis des causes de l'infertilité. On considère à tort qu'une oligoasthénospermie est un diagnostic alors que ce n'est que le symptôme d'un problème méconnu [6].

On peut s'étonner que l'exposition aux toxiques soit si mal renseignée. Alors que le gynécologue questionne systématiquement sa patiente sur la prise de cigarettes, seulement 50% des patients masculins ont été interrogés sur cet item dans notre étude. Les effets délétères de l'environnement et de la cigarette sur les peroxydations membranaires et l'altération testiculaire sont bien connus [7, 8]. On peut déplorer un manque de prévention et d'information, argumenté par le fait que 17% des patients présentent en fait une infertilité secondaire.

Nous avons basé notre étude sur des critères de numération. L'effectif des patients dont le nombre de spermatozoïdes est inférieur à 10 000 étant faible, il ne nous est pas possible de définir une valeur « seuil ». Plusieurs collègues nous ont présenté des dossiers où le patient avait été recusé pour une ICSI avec sperme éjaculé car le nombre de spermatozoïdes trouvé à l'examen direct était inférieur à 10 alors que pour d'autres centres la tentative d'ICSI était réalisable dans ce cas. Tout dépend de l'habileté du manipulateur et du risque que souhaite prendre le centre de stimuler inutilement une patiente. Sur les critères de mobilité et de morphologie, les équipes ont également des attitudes divergentes. Pour certains, il faut absolument trouver des spermatozoïdes mobiles au bilan alors que pour d'autres qui utilisent le test hypoosmotique ou l'addition de pentoxyfilline [5] pour repérer un spermatozoïde vivant, ce critère n'est pas indispensable. L'analyse morphologique est rarement réalisée alors qu'il est possible de miniaturiser la technique classique du spermocytogramme afin d'examiner une vingtaine de spermatozoïdes [12].

Les examens permettant d'évaluer le caractère obstructif ou non obstructif de l'azoospermie ne sont pas approfondis. Au début de notre étude, le dosage d'inhibine B sérique n'était encore qu'expérimental d'où sa faible fréquence ; ce dosage fait maintenant partie du bilan systématique dans la plupart des centres. Dans notre étude, 31 patients présentent un taux de FSH normal ; si l'examen clinique ainsi que les dosages des marqueurs épидидymaires avaient été

effectués chez ces patients, il aurait peut-être été possible de poser le diagnostic d'un obstacle partiel ou d'une anomalie du *rete testis* [10].

Bien que la spermoculture soit pratiquée de façon systématique, son interprétation est difficile. L'expression des résultats montre une extrême divergence quant au seuil de significativité retenu dans les différents centres. L'évaluation de la quantité de polynucléaires par un test spécifique [2] n'est signalée que dans de rares examens alors que cette analyse serait essentielle pour interpréter correctement une spermoculture. De plus, il est connu que les polynucléaires induisent la formation d'espèces radicalaires de l'oxygène (ROS) qui altèrent la membrane du spermatozoïde [9]. Un traitement antioxydant ou anti-inflammatoire pourrait également dans certaines indications améliorer les caractéristiques du sperme avant la tentative d'ICSI et augmenter les taux de grossesse [13]. A noter également que l'information sur une éventuelle bactériurie contaminante n'a pas été renseignée.

Le caryotype est également réalisé de façon quasi systématique dans tous les centres. Dans cette série, le nombre d'anomalies gonosomiques (trois) est inférieur au pourcentage habituellement trouvé dans cette indication [1]. Le taux de microdélétions AZFc de 10% (recherche effectuée pour seulement la moitié des patients) est comparable à celui observé dans des indications similaires [3, 11]. Ce n'est pas un facteur prédictif de fécondance [4] mais la recherche de cette délétion devrait être pratiquée de façon systématique de manière à informer le couple lors d'un conseil génétique de la transmission de cette délétion à un garçon.

V. CONCLUSION

Cette étude rétrospective sur les bilans effectués dans les six centres d'AMP face à une cryptozoospermie ne permet pas de mettre en évidence des facteurs prédictifs efficaces de la fécondance. D'autres examens pourraient être envisagés comme l'évaluation de l'intégrité nucléaire des spermatozoïdes injectables où la recherche de peroxydations membranaires [6]. Devant l'hétérogénéité des pratiques et le nombre important d'examen cliniques incomplets, nous pensons qu'il est indispensable d'organiser une étude prospective multicentrique en définissant au préalable les examens cliniques et biologiques nécessaires à l'inclusion des patients.

REFERENCES

1. BOURROUILLOU G., DASTUGUE N., et COLOMBIES P. : Chromosome studies in 952 infertile males with sperm count below 10 million/ml. *Hum. Genet.*, 1985, 71 : 366-367.
2. ENDTZ A.W. : A rapid staining method for differentiating granulocytes from "germinal cells" in Papanicolaou-stained semen. *Acta cytol.*, 1974, 18 : 2-7.
3. FORESTA C., MORO E., FERLIN A. : Y Chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr. Rev.*, 2001, 22 : 226-239.
4. KIHAILÉ P.E., KISANGA R.E., AOKI K. et al. : Embryo outcome in Y-chromosome microdeleted infertile males after ICSI. *Mol. Reprod. Dev.*, 2004, 68 : 176-181.
5. MATYAS S., PAPP G., KOVACS P. et al. : Intracytoplasmic sperm injection with motile and immotile frozen-thawed testicular spermatozoa (The Hungarian experience). *Andrologia*, 2005, 37 : 25-28.
6. MORTIMER D. : The future of male infertility management and assisted reproduction technology. *Hum. Reprod.*, 2000, 15 Suppl : 98-110.
7. SALEH R.A., AGARWAL A., NADAE A. et al. : Negative effects of increased DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil. Steril.*, 2003, 79 : 1597-1605.
8. SALEH R.A., AGARWAL A., SHARMA R.K. et al. : Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men : a prospective study. *Fertil. Steril.*, 2003, 79 : 1469-1470.
9. SHARMA R.K., PASQUALOTTO A.E., NELSON D.R., THOMAS A.J. Jr, AGARWAL A. : Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic. *J. Androl.*, 2001, 22 : 575-583.
10. SOUFIR J.C., SZERMAN-JOLY E., VIEILLEFOND A., WEBER P. : Azoospermia with normal plasma FSH and unlowered seminal carnitine. Utilization for diagnosis and treatment. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1988, 28 : 1363-1374.
11. SZERMAN E. : Génétique de l'infertilité masculine : données actuelles. *Andrologie*, 2003, 13 : 134-138.
12. SZERMAN E., DENIS I. : Mode opératoire dans les oligospermies extrêmes. *Andrologie*, 2000, 10 : 374-378.
13. VICARI E., LA VIGNERA S., CALOGERO A.E. : Antioxydant treatment with carnitines is effective in infertile patients with prostatovesiculopididymitis and elevated seminal leukocyte concentrations after treatment with nonsteroidal anti-inflammatory compounds. *Fertil. Steril.*, 2002, 78 : 1203-1208.

Communication au XX^e Congrès de la Société d'Andrologie de Langue Française, Orléans, 11-13 Décembre 2003.