

Aspects cliniques et biologiques de l'azoospermie chez l'homme infertile en Tunisie

Leila AMMAR-KESKES^{1,3}, Nozha CHAKROUN¹, Afifa Sellami BEN HAMIDA¹, Lobna HADJ-KACEM³, Nouha BOUAYED-ABDELMOULA¹, Hammadi AYADI³, Mohamed NABIL MHIRI², Tarek REBAÏ¹, Ali BAHLOUL²

1 Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

2 Service d'Urologie, Hôpital Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

3 Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

RESUME

Objectifs : L'exploration de l'homme azoospermique est aujourd'hui d'un intérêt capital compte tenu des progrès récents des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation, essentiellement l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde, qui permet désormais à des hommes considérés définitivement infertiles, de devenir pères avec leurs propres gamètes. Nous rapportons ici les résultats d'une étude rétrospective, effectuée sur 54 patients infertiles tunisiens, suivis pour exploration d'une azoospermie et nous discutons les aspects clinico-biologiques et étiologiques de ces perturbations majeures du sperme.

Matériel et Méthodes : L'étude a comporté l'analyse descriptive, rétrospective des données de l'examen clinique et des explorations complémentaires (biologie séminale, bilan hormonal, examens génétiques, etc).

Résultats : Nous avons trouvé que 43 cas d'azoospermie étaient d'origine sécrétoire et 7 cas d'origine excrétoire. Un cas était d'origine mixte et 3 autres d'origine indéterminée. L'azoospermie était associée à une atrophie/hypotrophie testiculaire clinique ou échographique dans 43,9% des cas, à une FSH élevée dans 58,5% des cas et à des anomalies chromosomiques dans 31,4% des cas. Les aberrations étaient à type de syndrome de Klinefelter (9 cas), syndrome de mâle 46,XX (1 cas) et inversion péricentrique d'un chromosome 12 (1 cas). Les microdélétions du chromosome Y, la varicocèle, la cryptorchidie, l'infection urogénitale et les causes obstructives, étaient observées chez, respectivement 25% ; 48,8% ; 13,9% ; 9,5% et 13% des patients azoospermiques. Aucune anomalie génétique et hormonale n'a été trouvée dans les cas de déficiences

spermatiques d'origine excrétoire ; cependant un tableau d'infection uro-génitale a été trouvé dans environ la moitié des cas.

Conclusion : Conformément à la littérature, dans la population tunisienne, l'azoospermie est essentiellement d'origine sécrétoire et est causée principalement par les anomalies génétiques.

Mots clés : azoospermie, anomalies génétiques, exploration, infertilité masculine

I. INTRODUCTION

L'azoospermie est retrouvée chez environ 1% des hommes et 10 à 20% des patients consultant pour infertilité. Il peut s'agir d'une absence de production de spermatozoïdes par les testicules (azoospermie sécrétoire ou non obstructive) ou d'une obstruction des voies génitales avec une production normale de spermatozoïdes par les testicules (azoospermie excrétoire). L'exploration de l'homme azoospermique est aujourd'hui d'un intérêt capital compte tenu des progrès récents des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) et de la percée de la technique d'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI),

Correspondance :

Pr Leila KESKES - Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Avenue Majida Boulila, 3028, Sfax Tunisie
Tel 216 74241888 - Fax 216 74 246946 -
Email lkeskes@yahoo.fr

qui permet désormais à des hommes infertiles, jusque-là sans autre recours que l'utilisation de sperme de donneur ou l'adoption, de devenir pères avec leurs propres gamètes. Elle comporte un interrogatoire complet et un examen attentif afin d'orienter au mieux la thérapeutique. Au terme de l'examen clinique qui explore les organes génitaux externes et la région inguinale, un diagnostic et un pronostic peuvent être posés. Cependant, d'autres arguments en particulier biologiques (spermogramme, bilan hormonal, biochimie séminale) doivent étayer les arguments cliniques avancés [19].

Les dosages plasmatiques de la FSH (Follicule Stimulating Hormone), de la testostérone et accessoirement de la prolactine, rendent compte de l'état sécrétoire testiculaire. Le taux de FSH est le plus souvent augmenté en cas d'azoospermie ou d'oligospermie sévère d'origine sécrétoire et semble normal lorsque la lignée germinale est conservée [16]. Le caryotype permet de rechercher des anomalies du nombre ou de la structure des chromosomes, présentes chez environ 5,8% de la population infertile [22] ; 4,2% concernent les gonosomes et 1,5% les autosomes [22]. La fréquence de ces anomalies chez la population d'hommes ayant une concentration de spermatozoïdes < 10 millions/ml est multipliée par 10 [32]. Le syndrome de Klinefelter est l'anomalie la plus fréquente; c'est un grand pourvoyeur d'azoospermie non obstructive ; il affecte environ 10% des patients présentant une azoospermie [43, 47]. Les microdélétions du locus AZF au niveau du chromosome Y constituent une cause génétique relativement fréquente dans l'azoospermie et l'oligospermie sévère d'origine sécrétoire [26]. Leurs retentissements sur la spermatogenèse dépendent de la région touchée (AZFa, AZFb, AZFc) et de l'étendue de la microdélétion [26, 32, 33, 43].

Les dosages des marqueurs séminaux dans l'éjaculat permettent dans certains cas d'affirmer l'origine de l'azoospermie. Ceux-ci sont normaux dans les anomalies spermatiques d'origine sécrétoire et peuvent être perturbés en cas d'obstruction du tractus génital [41].

La biopsie testiculaire a connu des intérêts fluctuants. Actuellement, le développement des techniques de fécondation *in vitro*, utilisant des spermatozoïdes testiculaires pour féconder des ovocytes, a modifié le caractère diagnostique de la biopsie en geste thérapeutique [42, 45].

Dans le bilan des hypofertilités masculines, l'imagerie a une place différente selon le contexte clinique et biologique. Basée sur l'échographie endorectale et scrotale, elle permet la recherche d'une atrophie testiculaire, d'anomalies de l'épididyme, du déférent,

de la prostate, des vésicules séminales et des ampoules déférentielles [6]. Dans les infertilités excrétoires, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) peut être proposée en complément avec les ultra-sons, en raison de ses possibilités multiplanaires et de la qualité du contraste dans le pelvis, particulièrement favorable au niveau du carrefour urogénital [6].

Si l'anomalie est sécrétoire, le bilan est complété par une recherche de micro-délétions dans le locus AZF, situé sur le bras long du chromosome Y. En effet, dans ce locus, Vogt *et al.* ont identifié 3 régions différentes, nommées AZFa, AZFb et AZFc [46], qui contiennent des gènes candidats pour être impliqués dans l'infertilité masculine d'origine génétique [44].

Nous rapportons ici les résultats d'une étude rétrospective effectuée sur un échantillon de patients infertiles présentant une azoospermie et nous discutons les aspects clinico-biologiques et étiologiques de ces perturbations majeures du sperme.

II. MATERIELS ET METHODES

Notre étude rétrospective a porté sur 54 patients suivis, à la consultation externe d'Urologie de l'hôpital Habib Bourguiba de Sfax et à la Faculté de Médecine de Sfax, pour exploration d'une azoospermie.

L'étude a comporté le recueil et l'analyse rétrospective des antécédents, des données de l'examen clinique et des explorations complémentaires (spermogramme, bilan hormonal, biochimie séminale, imagerie, biopsie testiculaire et examens génétiques). L'exploration génétique a inclus le caryotype et l'analyse par biologie moléculaire (PCR) des marqueurs STS spécifiques du locus AZF sur le chromosome Y, à la recherche de microdélétions dans les gènes de ce locus. L'ensemble des examens cliniques et biologiques a été effectué à l'hôpital Habib Bourguiba et à la faculté de Médecine de Sfax. Les caryotypes et la biochimie séminale ont été réalisés avec la collaboration du service de Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique de l'Hôpital Farhat Hached de Sousse.

Le spermogramme a été réalisé selon la procédure standardisée de l'OMS [2]. L'analyse des données du bilan hormonal a concerné essentiellement la FSH. La biochimie séminale a comporté les dosages des trois principaux marqueurs spécifiques de l'épididyme (α -glucosidase), de la prostate (acide citrique) et des vésicules séminales (fructose). L'étude des marqueurs STS du chromosome Y a été effectuée par PCR multiplex, à l'aide de 3 paires d'amorces spécifiques des régions AZFa (SY84, SY86), AZFb (SY127, SY134) et AZFc (SY254, SY255), selon le protocole proposé par l'Académie Européenne d'Andrologie [44].

L'origine sécrétoire de l'azoospermie a été retenue devant l'existence d'au moins un signe clinique et/ou biologique, tels que un taux élevé de FSH, un caryotype anormal, une microdélétion du chromosome Y, une atrophie ou hypotrophie testiculaire, une ectopie testiculaire uni ou bilatérale, une aplasie ou hypoplasie germinale à la biopsie testiculaire et une biochimie séminale normale.

III. RESULTATS

L'analyse des données clinico-biologiques a montré que l'âge moyen des patients était de 34 ans (27 à 48 ans). Dans tous les cas, l'infertilité était de type primaire et d'une durée moyenne d'environ quatre ans et demi. Les examens complémentaires ont permis de déterminer l'origine sécrétoire de l'azoospermie dans 43 cas et l'origine excrétoire dans 7 cas ; dans un cas l'origine de l'azoospermie était mixte ; celle-ci est restée indéterminée dans 3 cas, du fait du manque d'arguments cliniques et biologiques.

Les caractéristiques cliniques et paracliniques des 7 cas d'azoospermie d'origine excrétoire sont présentées au **Tableau 1**.

L'examen andrologique, notifié chez 36 patients, a noté la présence d'une hypo/atrophie testiculaire chez 15 d'entre eux. L'échographie scrotale et/ou la biopsie testiculaire ont confirmé le diagnostic clinique dans tous les cas ; ces deux examens ont révélé une atrophie testiculaire passée inaperçue à l'examen andrologique, dans 15 cas d'azoospermie sécrétoire. Dans 5 cas d'azoospermie sécrétoire, l'examen physique a retrouvé l'existence d'une ectopie testiculaire (3 bilatérales et 2 droites). Vingt patients (18 cas d'azoospermie sécrétoire et 2 cas d'azoospermie excrétoire) avaient une varicocèle clinique ou échographique.

Les données cliniques et biologiques ont permis également de trouver la notion d'infection urogénitale chez 4 patients présentant une azoospermie excrétoire. Les signes cliniques étaient ceux d'une épидидymite (1 cas), d'une urétrite (2 cas) et d'une orchite (1 cas).

Le bilan hormonal a été réalisé chez 41 patients ; il a montré un taux sérique de FSH élevé dans 24 cas (23 cas d'azoospermie sécrétoire et un cas d'azoospermie mixte) ; le bilan hormonal, pratiqué chez 5 patients ayant une azoospermie excrétoire, était normal dans tous les cas.

Le caryotype, réalisé dans 35 cas, était anormal chez 11 patients ayant une azoospermie sécrétoire. Les anomalies étaient : un syndrome de Klinefelter dans 9 cas, un syndrome de mâle XX (46,XX ; SRY positif) et une inversion péricentrique d'un chromosome 12 dans

un autre cas. Les données clinico-biologiques des patients ayant un caryotype anormal sont données au **Tableau 2**. Dix sept patients ayant une azoospermie sécrétoire avaient un caryotype normal ; 6 d'entre eux avaient aussi une FSH élevée, 8 autres patients avaient une FSH normale, mais une biopsie testiculaire anormale (absence de cellules germinales dans 6 cas et blocage de la spermatogenèse au stade spermatide dans 2 cas). L'origine sécrétoire chez les 3 autres patients ayant un caryotype normal a été retenue devant l'existence d'une atrophie testiculaire clinique et/ou histologique. Dans les 15 autres cas (sans caryotype), l'origine de l'azoospermie sécrétoire a été retenue devant l'existence d'autres signes cliniques et/ou biologiques (FSH élevée dans 9 cas, atrophie testiculaire dans 5 cas et biochimie séminale normale dans 1 cas). L'étude moléculaire du locus AZF, effectuée chez 28 des 54 patients, a révélé l'existence de micro-délétions dans 7 cas (25%), associées au syndrome de Klinefelter dans 5 cas. Les micro-délétions de AZFc étaient les plus fréquentes (5/7).

Le Tableau 3 résume les données des principales explorations pratiquées chez les 54 patients.

IV. DISCUSSION

L'infertilité représente un réel problème de santé, puisque environ 10 à 15% des couples consultent un médecin au moins une fois pour un problème d'infertilité. La responsabilité de l'homme est impliquée dans environ 40 à 50% des cas. Dans 10 à 20% des cas, l'anomalie retrouvée chez l'homme infertile est l'azoospermie qui est due à des causes variées (génétiques, infectieuses ou autres). Conformément à ce qui est décrit dans la littérature, nous avons trouvé dans cette étude rétrospective, que l'origine de l'azoospermie est sécrétoire dans la majorité des cas (79,6%). Les azoospermies sécrétoires représentent 60% des azoospermies pour Jarow [21].

C'est essentiellement l'examen clinique qui a permis d'établir l'origine sécrétoire de l'azoospermie, puisque 20 patients sur les 36 ayant bénéficié de l'examen andrologique, présentaient une hypo/atrophie testiculaire (15 cas) et une ectopie testiculaire (5 cas). Ces signes andrologiques sont révélateurs d'un trouble primitif de la spermatogenèse et sont souvent associés à une augmentation des concentrations plasmatiques de FSH. Les troubles primitifs de la spermatogenèse représentent une situation beaucoup plus fréquente que les déficits gonadotropes [30]. En effet, dans 23/34 des cas d'azoospermie sécrétoire, les taux de FSH étaient élevés. Seulement 11 patients ayant une azoospermie sécrétoire avaient une FSH normale, associée à une

Tableau 1 : Données cliniques et paracliniques des azoospermies d'origine excrétoire (n=7).

N° Cas	Données cliniques et spermiologiques	Caryotype	FSH (UI/ml)	Biochimie séminale	Biopsie testiculaire	Imagerie
1	Hypospermie, PH acide	-	-	Fructose effondré, α-glucosidase diminuée	Spermatogenèse normale	-
2	-	46, XY	Normale (4,1)	Fructose effondré, α-glucosidase diminuée	Spermatogenèse normale	-
3	Urétrite, kyste épидидymaire et hernie inguinale, varicocèle	-	Normale (3,8)	-	-	Kyste épидидymaire
4	Orchite gauche Nodule épидидymaire gauche	46,XY	-	Fructose diminué, α-glucosidase diminuée	-	Ectasie des canaux déférents (écho), obstruction bilatérale du confluent vésiculodéférentiel (IRM)
5	Epididymite urétrite	46,XY	Normale	-	-	Varicocèle gauche
6	-	46, XY	Normale (5,9)	Fructose normal, α-glucosidase diminuée	-	-
7	varicocèle	-	Normale (3,2)	-	Spermatogenèse normale	-

Tableau 2 : Données cliniques et paracliniques des azoospermies sécrétoires avec anomalies du caryotype (n = 11).

Anomalie chromosomique	Données cliniques	Bilan hormonal			Biopsie testiculaire	Echographie scrotale
		FSH (1,7-12UI/ml)	LH (1,1-7UI/ml)	Testostérone (3-10ng/ml)		
47,XXY, mosaïque	Hypotrophie testiculaire bilatérale	-	-	-	Atrophie totale bilatérale (absence de tubes)	-
47,XXY, mosaïque	Hypotrophie testiculaire bilatérale	-	-	-	-	-
47,XXY homogène	Hypotrophie testiculaire bilatérale	20,9	9,3	-	-	Varicocèle bilatérale
47,XXY, mosaïque	Hypotrophie testiculaire bilatérale	33,8	12,1	0,98	-	-
47,XXY homogène	Hypotrophie testiculaire bilatérale	34	15,4	0,5	Quelques tubes séminifères hyalinisés	Hypotrophie bilatérale
47,XXY, homogène	Hypotrophie testiculaire bilatérale	27,2	-	4,29	SCO*	Hypotrophie bilatérale
47,XXY, homogène	Atrophie testiculaire bilatérale	25	13	-	SCO	-
47,XXY, homogène	Atrophie testiculaire bilatérale, hypoandrogénie	-	-	-	-	-
47,XXY, homogène	Atrophie testiculaire	67,2	44,3	4,2	SCO	-
46,XX	Atrophie testiculaire bilatérale, Varicocèle, OGE normaux	18	10,1	5	Atrophie totale bilatérale + sclérose et hyalinose	-
Inversion péricentrique du 12	Atrophie testiculaire bilatérale	33	18,6	-	SCO	-

*SCO : Sertoli Cell Only : syndrome des cellules de Sertoli isolées.

Tableau 3 : Principaux résultats des examens cliniques et biologiques chez les 54 patients azoospermiques.

Résultats des examens cliniques et paracliniques	Azoospermie (n = 54)				Total (%)
	S* (n=43)	E* (n=7)	Ind* (n=3)	M* (n=1)	
FSH ↑	23/34	0/5	0/1	1/1	24/41 (58,5)
Caryotype anormal	11/28	0/4	0/3	-	11/35 (31,4)
Microdélétions du chromosome Y	7/23	0/3	0/1	0/1	7/28 (25)
Hypotrophie/atrophie testiculaire clinique et/ou échographique	18/34	0/5	0/1	0/1	18/41 (43,9)
Ectopie testiculaire	5/29	0/5	0/1	0/1	5/36 (13,9)
Varicocèle clinique ou échographique	18/34	2/5	0/1	0/1	20/41 (48,8)
Biopsie testiculaire anormale	29/29	0/4	0/1	-	29/34 (85,3)
Biochimie séminale perturbée	2/10	3/3	-	-	5/13 (38,5)

* S : Sécrétoire, E : excrétoire, Ind : Indéterminée, M : mixte.

hypoplasie germinale dans 4 cas et à une aplasie germinale totale dans 5 cas.

Les azoospermies sécrétoires à FSH normale posent le problème de leur étiologie : pathologie hypothalamo-hypophysaire ou testiculaire ; en général le volume testiculaire est normal ou à peine diminué. Il peut s'agir d'une simple hypoplasie germinale ou d'un arrêt de la spermatogenèse sans que la FSH soit augmentée [17]. Le dosage de la FSH doit être associé à d'autres marqueurs sériques, tel que l'inhibine B qui aurait une grande valeur prédictive dans l'évaluation des déficits de la spermatogenèse [11].

Dans notre étude, l'analyse des données cliniques et para-cliniques a permis de dégager certaines causes de l'azoospermie. Les anomalies chromosomiques, la varicocèle, la cryptorchidie et l'infection urogénitale, ont été retrouvées chez, respectivement 31,4%, 48,8%, 13,9% et 9,5%.

L'origine excrétoire de l'azoospermie a été déterminée chez 13% de nos patients, associée dans plus de la moitié des cas (4/7) à une diminution de l' α -glucosidase séminale et à des antécédents ou des signes d'infection génitale. Trois patients avaient également un taux de fructose séminal bas. La pathologie infectieuse génito-urinaire représente en effet un grand groupe étiologique dans l'infertilité masculine [35]. L'inflammation associée à la présence de germes pathogènes entraînerait des

remaniements histologiques aboutissant à une réduction de la perméabilité des voies génitales [20].

La biochimie séminale constitue un complément important du spermogramme dans le cadre de l'exploration de l'infertilité masculine [41]. En cas d'obstruction, la biochimie permet de déterminer le niveau et l'étendue des phénomènes obstructifs. L'abaissement de la L-carnitine et de l' α -glucosidase conduit à envisager une obstruction épидидymaire [41]. En cas d'atteinte excrétoire diffuse, on observe aussi un abaissement du fructose d'origine vésiculaire et beaucoup plus rarement un abaissement du citrate [41]. Les azoospermies obstructives représentent selon les séries 1,5% à 7% des infertilités masculines [30].

Le testicule non descendu est également une grande cause d'infertilité et le testicule non descendu bilatéral, traité ou non, conduit dans plus de 50% des cas à une azoospermie [20]. Les effets de la cryptorchidie sur le testicule sont variables [4, 34]. De très nombreux travaux rapportent des lésions touchant le tissu interstitiel, la paroi des tubes séminifères et l'épithélium germinatif sur les biopsies testiculaires [4].

Dans une compilation de 7 séries, Martin-Dupan *et al.* [31], ont rapporté une fréquence de 24% pour la varicocèle, de 7% pour la cryptorchidie, de 11% pour les causes infectieuses et de 3% pour l'azoospermie obstructive. Dans l'étude de Rao *et al.* [40], la fréquence

de la varicocèle était de 22,7% et celle des anomalies génétiques était de 15,1%. Dans notre étude, la varicocèle était fréquente, touchant environ 50% des patients présentant une azoospermie sécrétoire.

Les données les plus anciennes sur les rapports entre les anomalies génétiques et l'infertilité masculine concernent les anomalies du caryotype [40]. Celles-ci sont présentes chez environ 4,6% à 12,6% des hommes infertiles [8, 10, 12, 23, 37] et elles sont fréquemment associées à des arrêts de la spermatogenèse. Le syndrome de Klinefelter représente l'anomalie la plus fréquente, entraînant un hypogonadisme et une stérilité (environ 1 cas sur 500 naissances). Dans 80% à 90% des cas, le testicule est de petite taille, avec très peu ou pas de spermatozoïdes dans l'éjaculat. Dans notre série, ce syndrome était présent chez 9 patients azoospermiques (16,7%). Le chromosome X excédentaire du syndrome de Klinefelter n'induit pas seulement un blocage de la méiose, mais une atrophie testiculaire avec scléro-hyalinose [1, 30]. Une perturbation de l'expression de certains gènes nécessaires à la spermatogenèse pourrait aussi intervenir. Dans notre étude, 5 des patients ayant le syndrome de Klinefelter avaient une aplasie totale des cellules germinales.

Un de nos patients était porteur du syndrome du mâle XX ; ce syndrome représente environ 2% des hommes infertiles [3]. Il est dû à la translocation partielle durant la méiose du gène SRY, créant un phénotype masculin avec un caryotype 46,XX. Ces patients ont habituellement une réduction du volume testiculaire, associée à une azoospermie et un blocage de la spermatogenèse [3]. Notre patient 46,XX avait une hypotrophie testiculaire bilatérale à l'examen clinique, associée histologiquement à une hyalinose et une sclérose du parenchyme testiculaire, ainsi qu'une hyperplasie leydigienne. L'étude des marqueurs STS a confirmé l'absence du chromosome Y, puisque les 6 marqueurs STS étaient absents chez ce patient; le marqueur STS du gène SRY, utilisé comme contrôle positif dans notre technique, était positif.

Avec les progrès de la recherche en biologie moléculaire, des défauts monogéniques ont été identifiés chez des hommes infertiles. Par exemple, les mutations du gène CFTR sont présents chez 80% des hommes ayant une azoospermie obstructive de type Absence Congénitale Bilatérale des Canaux Déférents [32]. De même, les micro-délétions du chromosome Y sont présentes chez 15-20% des cas d'azoospermie idiopathique et environ 5-7% en cas d'oligozoospermie idiopathique [26]. Les micro-délétions de la région AZFa sont les moins fréquentes (1-5%) et, en règle, associées à une aplasie

des cellules germinales (syndrome des cellules de Sertoli isolées). Les délétions de AZFc et de AZFc+b sont les plus fréquentes et associées à des phénotypes variés [3, 32, 43]. Dans notre étude, la fréquence des micro-délétions du chromosome Y était proche de celles rapportées habituellement dans la littérature [7, 9, 13, 18, 25, 40] ; elle est cependant inférieure à celles trouvées chez les patients azoospermiques de Ferlin *et al.* (34,5%) [14] et de Foresta *et al.* (55%) [15]. Ces importantes variations pourraient s'expliquer par les différences d'échantillonnage, des critères d'inclusion et à la position des marqueurs STS choisis. Nos résultats confirment la fréquence élevée des délétions de AZFc par rapport à celles de AZFa et AZFb. Comme il a été rapporté récemment dans l'étude de Mitra *et al.* [36], les microdélétions du chromosome Y étaient associées au syndrome de Klinefelter ; en effet, 5 de nos patients ayant un caryotype 47, XXY (homogène dans deux cas et avec mosaïcisme dans 3 cas), avaient également des délétions au niveau du locus AZF.

Chez les patients porteurs de micro-délétions du chromosome Y, le phénotype d'infertilité peut s'aggraver avec l'âge avec diminution progressive du nombre de spermatozoïdes et passage d'une oligozoospermie sévère à une azoospermie [27]. D'après Bienvenu *et al.* [5], les analyses moléculaires du chromosome Y devraient permettre de déterminer une étiologie à l'infertilité masculine dans près de 10% des cas, d'informer le patient de la transmission de l'anomalie du père au fils et ainsi d'améliorer la prise en charge des patients dans le cadre de la procréation médicalement assistée.

La prise en charge des stérilités masculines a connu un réel essor avec le développement de la technique d'ICSI qui a considérablement modifié le pronostic des azoospermies sécrétoires, en permettant de microinjecter les ovocytes de la femme avec quelques spermatozoïdes prélevés chirurgicalement dans le testicule. Ces progrès techniques posent toutefois le problème de la transmission verticale éventuelle des anomalies génétiques, chromosomiques ou géniques. En effet, il est bien établi que les bébés conçus par ICSI à partir de gamètes issus de pères porteurs d'anomalies chromosomiques ou de microdélétions du chromosome Y, présentent une fréquence élevée de ces anomalies génétiques, avec même la possibilité d'expansion et d'apparition *de novo* de microdélétions du chromosome Y chez les garçons [24, 38, 29]. L'exploration et le conseil génétique représentent aujourd'hui et dans ce contexte une étape indispensable du bilan d'une stérilité en cas d'azoospermie ou d'oligozoospermie non obstructive [24, 38].

La technique d'ICSI a également restreint considérablement les indications des explorations et de la chirurgie des voies séminales masculines, en cas d'azoospermie excrétoire [39]. Cependant, la reperméabilisation chirurgicale des voies séminales permet d'espérer dans certains cas le retour à une fécondation naturelle « non médicalisée » [28]. Dans les azoospermies obstructives, plus de 20% des grossesses sont obtenues après anastomose épидидymo-déférentielle [20]. La vasostomie trans-septale par la transposition des déférents a permis de restituer une éjaculation fertile chez un patient azoospermique, présentant une lésion iatrogène unilatérale du déférent, associée à une hypotrophie testiculaire controlatérale [28]. Différentes pathologies peuvent entraîner cette situation, comme la vasectomie et les traumatismes iatrogènes consécutifs à une chirurgie pelvienne ou inguinale. Dans notre série, un patient azoospermique a présenté respectivement à l'échographie doppler et à l'IRM, une ectasie des canaux déférents et une obstruction bilatérale du confluent vésiculo-déférentiel. Bien que les résultats de la chirurgie soient aléatoires, la reperméabilisation de la voie séminale, permettrait à ce patient de retrouver une fertilité naturelle, sans avoir besoin de faire recours à la procréation médicalement assistée.

L'agénésie vésiculo-déférentielle et/ou l'obstruction des canaux éjaculateurs, constituent un autre groupe d'étiologies de l'azoospermie excrétoire. Elles se caractérisent par un volume spermatique réduit, un pH acide et par une chute du taux de carnitine, de fructose et un taux élevé des phosphatases acides, montrant la participation prédominante de la prostate. Un de nos patients azoospermiques a présenté au spermogramme une hypospermie et un pH acide, avec à la biopsie testiculaire une spermatogenèse normale ; cependant, aucune indication concernant le résultat de l'imagerie n'a été relevée dans son dossier médical.

V. CONCLUSION

L'azoospermie est une anomalie spermatique qui touche environ 10% des hommes consultant pour infertilité du couple. Son origine est essentiellement sécrétoire et plusieurs étiologies peuvent être en cause, dont les anomalies génétiques, de nombre ou de structure, identifiables au caryotype ou par la génétique moléculaire.

Dans cette étude rétrospective portant sur un échantillon d'hommes infertiles de la population tunisienne, nous avons montré que les anomalies génétiques représentent en effet, un groupe étiologique important dans l'azoospermie d'origine sécrétoire, qui avec le développement des

techniques d'AMP et particulièrement l'ICSI, posent le problème de la transmission éventuelle de ces anomalies à la descendance. Ainsi, la recherche des causes génétiques chez les hommes présentant d'importantes anomalies de la spermatogenèse, présente un double intérêt ; elle permet d'abord de déterminer la cause et d'orienter rapidement la prise en charge en AMP ; d'autre part, elle permet de réaliser un conseil génétique éclairé et adapté

REFERENCES

1. AKSGLAEDE L., WIKSTROM A.M., RAJPERT-DE MEYTS E. : Natural history of seminiferous tubule degeneration in Klinefelter syndrome. Hum. Reprod. Update, 2006, 12 : 39-48.
2. AUGER J., JOUANNET P. : Valeurs de référence des caractéristiques du sperme. In : Auger J., Jouannet P. eds. Manuel de laboratoire de l'OMS. Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Paris, INSERM, 1993 : 45-46.
3. BEN HAMED M., MAUDUIT C. : La spermatogenèse. In : Hammamah S., Saliba E., Benhamed M., Gold F. eds. Médecine et biologie de la reproduction. Paris, Masson, 1999: 86-111.
4. BEN JEDDOU F., GHOZZI S., RAIS N.B. : Cryptorchidism in adults. About 81 cases. Tunis Med., 2005, 83 : 742-745.
5. BIENVENU T., PATRAT C., JOUANNET P. : Les méthodes de détection des microdélétions du chromosome Y : intérêt d'une nouvelle approche fondée sur la méthode d'électrophorèse en gradient de gel dénaturant. Gynécol. Obstet. Fertil., 2003, 31 : 639-646.
6. BOYER L., RAVEL A., BOYER-MEDEVILLE C.H. et al. : Imagerie et bilan d'une infertilité masculine. Andrologie, 1999, 9 : 394-404.
7. CHEN S.U., LIEN Y.R., KO T.M. et al. : Genetic screening of karyotypes and azoospermic factors for infertile men who are candidates for ICSI. Arch. Androl., 2003, 49 : 423-427.
8. CRUGER D.G., AGERHOLM I., BYRIEL L. et al. : Genetic analysis of males from intracytoplasmic sperm injection couples. Clin. Genet., 2003, 64 : 198-203.
9. DHILLON V.S., HUSAIN S.A. : Cytogenetic and molecular analysis of the Y chromosome: absence of a significant relationship between CAG repeat length in exon 1 of the androgen receptor gene and infertility in Indian men. Int. J. Androl., 2003, 26 : 286-295.
10. DOHLE G.R., HALLEY D.J., VAN HEMEL J.O. et al. : Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. Hum. Reprod., 2002, 17 : 13-16.
11. DONG Z.Y., ZHANG R.L., HE Z.X. et al : Relationship between pathological alterations of spermatogenic impairment and serum inhibin B concentration in patients with azoospermia. Zhonghua Nan Ke Xue, 2006, 12 : 18-24.
12. DUZCAN F., ATMACA M., CETIN G.O. et al. : Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 2003, 82 : 53-56.
13. FENG H.L. : Molecular biology of male infertility. Arch. Androl., 2003, 49 : 19-27.

14. FERLIN A., MORO E., GAROLLA A. et al. : Human male infertility and Y chromosome deletions : role of the AZF-candidate genes DAZ, RBM and DFFRY. *Hum. Reprod.*, 1999, 14 : 1710-1716.
15. FORESTA C., FERLINA., MORO E. : Deletion and expression analysis of AZFa genes on the human Y chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9 : 1161-1169.
16. FORTI G., KRAUSZ C. : Clinical Review : Evaluation and treatment of the infertile couple. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83 : 4177-4188.
17. GUIVARC'H-LEVÊQUE A., LE LANNOU D., MASSART C. et al. : Oligospermies sévères à FSH normale. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 1993, 22 : 463-466.
18. HADJ-KACEM L., HADJ-KACEM H., AMMAR-KESKES L. et al. : Screening of Y chromosome microdeletions in Tunisian infertile men. *Arch. Androl.*, 2006, 52 : 169-174.
19. HERMABESSIÈRE J. : Eléments cliniques du diagnostic d'azoospermie sécrétoire. *Contracep. Fertil. Steril.*, 1997, 25: 626-629.
20. JARDIN A. : Traitement de l'infertilité masculine. *Presse Médicale*, 1995, 24 : 1511-1513.
21. JAROW J.P., ESPELAND M.A., LIPSHULTZ L.I. : Evaluation of the azoospermic patient. *J. Urol.*, 1989, 142 : 62-65.
22. JOHNSON M.D. : Genetic risks of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility : recommendations for genetic counseling and screening. *Fertil. Steril.*, 1998, 70: 397-411.
23. KALANTARI P., SEPEHRI H., BEHJATI F. et al. : Chromosomal studies in infertile men. *Tsitol. Genet.*, 2001, 35 : 50-54.
24. KENT-FIRST M., KOL S., MUALLEM A. et al. : The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. *Mol. Hum. Reprod.*, 1996, 2 : 943-950.
25. KLEIMAN S.E., YOGEV L., GAMZU R. et al. : Genetic evaluation of infertile men. *Hum. Reprod.*, 1999, 14 : 33-38.
26. KRAUSZ C., MCELREAVEY K. : Y chromosome and male infertility. *Front. Biosci.*, 1999, 15 :1-8.
27. KRAUSZ C., QUINTANA-MURCI L., MCELREAVEY K. : Prognostic value of Y deletion analysis : what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis ? *Hum. Reprod.*, 2000, 15 : 1431-1434.
28. LEBRET T., HERVÉ J.M., MERLET F. et al. : Azoospermie mixte sécrétoire et obstructive. Vasovasostomie trans-septale par transposition des déférents : à propos d'un cas et revue de la littérature. *Prog. Urol.*, 1997, 7 : 1015-1019.
29. LEE S.H., AHN S.Y., LEE K.W. et al. : Intracytoplasmic sperm injection may lead to vertical transmission, expansion, and de novo occurrence of Y-chromosome microdeletions in male fetuses. *Fertil. Steril.*, 2006, 85 : 1512-1515.
30. LEJEUNE H. : Panorama de l'infertilité masculine. *Andrologie*, 1999, 9 : 9-27.
31. MARTIN-DUPAN R.C., BISCHOF P., CAMPANA A. et al. : Relationship between etiological factors and total motile sperm count in 350 infertile patients. *Arch. Androl.*, 1997, 39: 197-210.
32. MC ELREAVEY K., KRAUSZ C., PATRAT C., et al. : Infertilité masculine et les microdélétions du chromosome Y. *Gynécol. Obstet. Fertil.*, 2002, 30 : 405-412.
33. MCELREAVEY K., RAVEL C., CHANTOT-BASTARAU S. et al. : Y chromosome variants and male reproductive function. *Int. J. Androl.*, 2006, 29 : 298-303.
34. MIEUSSET R. : Anomalies de position des testicules dans l'enfance : conséquences à l'âge adulte. *Andrologie*, 1999, 9 : 272-285.
35. MIEUSSET R. : Inflammation de l'appareil génital masculin et reproduction : traitement in vivo. *Andrologie*, 1998, 8 : 259-268.
36. MITRA A., DADA R., KUMAR R. et al. : Y chromosome microdeletions in azoospermic patients with Klinefelter's syndrome. *Asian J. Androl.*, 2006, 8 : 81-88.
37. NAKAMURA Y., KITAMURA M., NISHIMURA K. et al. : Chromosomal variants among 1790 infertile men. *Int. J. Urol.*, 2001, 8 : 49-52.
38. PALERMO G.D., SCHLEGEL P.N., SILLS E.S. et al. : Births after intracytoplasmic injection of sperm obtained by testicular extraction from men with nonmosaic Klinefelter's syndrome. *New Engl. J. Med.*, 1998, 338 : 588-590.
39. PASQUALOTTO F.F., ROSSI L.M., GILHERME P. et al. : Etiology-specific outcomes of intracytoplasmic sperm injection in azoospermic patients. *Fertil. Steril.*, 2005, 83 : 606-611.
40. RAO L., BABU A., KANAKAVALLI M. et al. : Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele and idiopathic infertility of South Indian origin. *J. Androl.*, 2004, 25 : 147-153.
41. ROLLET J. : Biochimie du liquide séminal: Intérêt pour le clinicien. *Andrologie*, 1999, 9 : 468-471.
42. SCHOYSMAN R., DE CASSEYE M.V. : La place actuelle de la biopsie testiculaire dans l'exploration de l'homme azoospermique. *Andrologie*, 1999, 4 : 492-497.
43. SIFFROI J.P., CHANTOT-BASTARAU S., RAVEL C. : Origines génétiques et chromosomiques des anomalies de la spermatogenèse : aspects cliniques et rapports avec les modèles animaux. *Gynecol. Obstet. Fertil.*, 2003, 31 : 504-515.
44. SIMONI M., BAKKER E., EURLINGS M.C.M., et al. : Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *Int. J. Androl.*, 1999, 22 : 292-299.
45. VERNAEVE V., VERHEYEN G., GOOSSENS A. et al. : How successful is repeat testicular sperm extraction in patients with azoospermia ? *Hum. Reprod.*, 2006, 10 :1-4.
46. VOGT P.H., EDELMANN A., KIRSCH S. et al. : Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum. Mol. Genet.*, 1996, 5 : 933-943.
47. WALLERAND H., BERNARDINI S., CHABANNES E. et al.: Infertilité masculine de cause génétique et biologie moléculaire. *Prog. Urol.*, 2003, 13 : 560-563.

Manuscrit reçu : mars 2006 ; accepté octobre 2006.

ABSTRACT

Clinical and laboratory features of azoospermia in Tunisian infertile men

Leila AMMAR-KESKES, Nozha CHAKROUN, Afifa
Sellami BEN HAMIDA, Lobna HADJ-KACEM, Nouha
BOUAYED-ABDELMOULA, Hammadi AYADI,
Mohamed NABIL MHIRI, Tarek REBAÏ, Ali BAHLOUL

Objective: It is now very important to investigate azoospermia because the introduction of the intracytoplasmic sperm injection technique during the last decade has allowed many infertile men to achieve their dreams of fatherhood. The purpose of this study was to define the characteristics of infertile men with azoospermia, and to analyse the clinical and laboratory features and the causes of infertility in Tunisia. The authors also discuss various aspects that they consider to be very important in the diagnosis of male fertility.

Material and Methods: This retrospective study analysed the parameters of physical examination, laboratory tests, semen analysis, radiographic examinations, testicular biopsy, karyotype and AZF microdeletions.

Results: Based on the results of endocrinological and cytogenetic examinations, the aetiology of azoospermia was considered to be secretory in 43 cases of azoospermia. Physical examination revealed a high percentage of hypotrophic/atrophic testes (43.9%). Serum follicle stimulating hormone levels were high in 58.5% of cases. The overall incidence of chromosomal abnormalities was 31.4%. The most frequent anomaly was Klinefelter syndrome (9 cases). Seven out of 28 patients (25%) with nonobstructive azoospermia had AZF deletions. None of the patients with excretory azoospermia and severe oligospermia had an abnormal karyotype or AZF microdeletions. 48.8% of patients presented a varicocele, 13.9% had cryptorchidism and 13.0% had a history of genital tract infection.

Conclusion: In line with the literature, genetic abnormalities are the main causes of severe forms of impaired spermatogenesis in the Tunisian population.

Key-Words: azoospermia, genetic abnormalities, investigation, male infertility