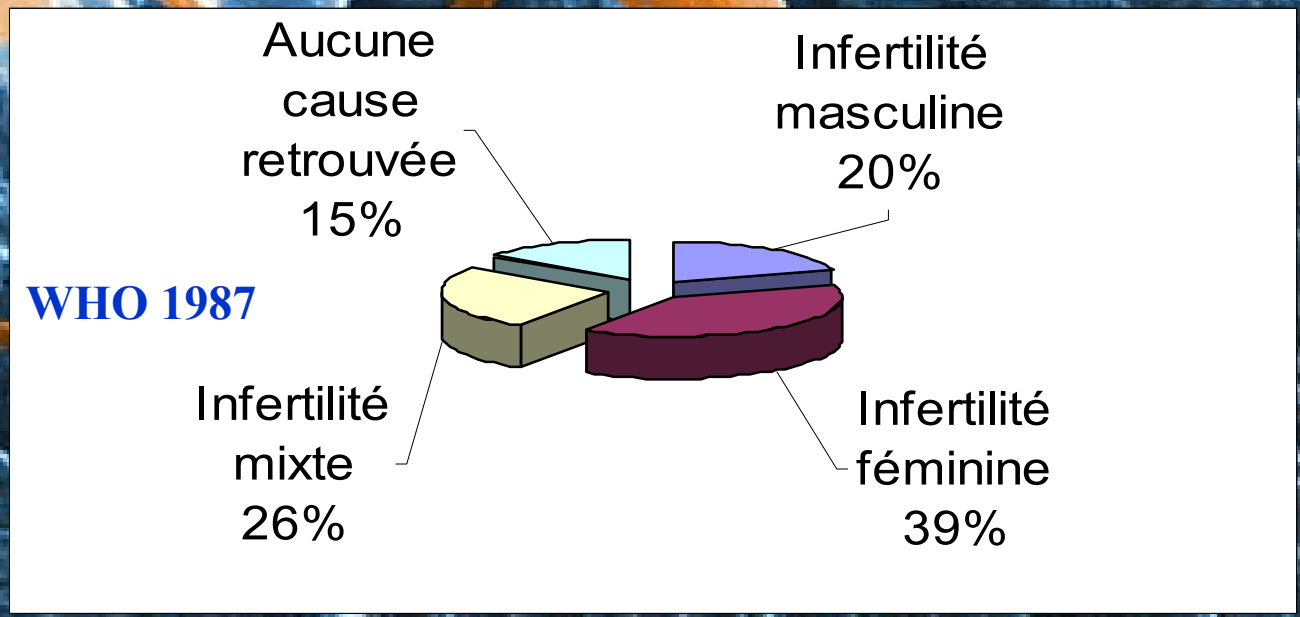
Implication du Laboratoire dans le Diagnostic d'Infertilité Masculine

Hervé LUCAS, Biologiste, Andrologue

LES CAUSES D'INFERTILITE MASCULINE

Consultation de Stérilité Masculine

Endocrinologue
Urologue
Généticien
Psychiatre-Sexologue
Biologiste PMA
Biologiste hormonologie



LA FECONDABILITE

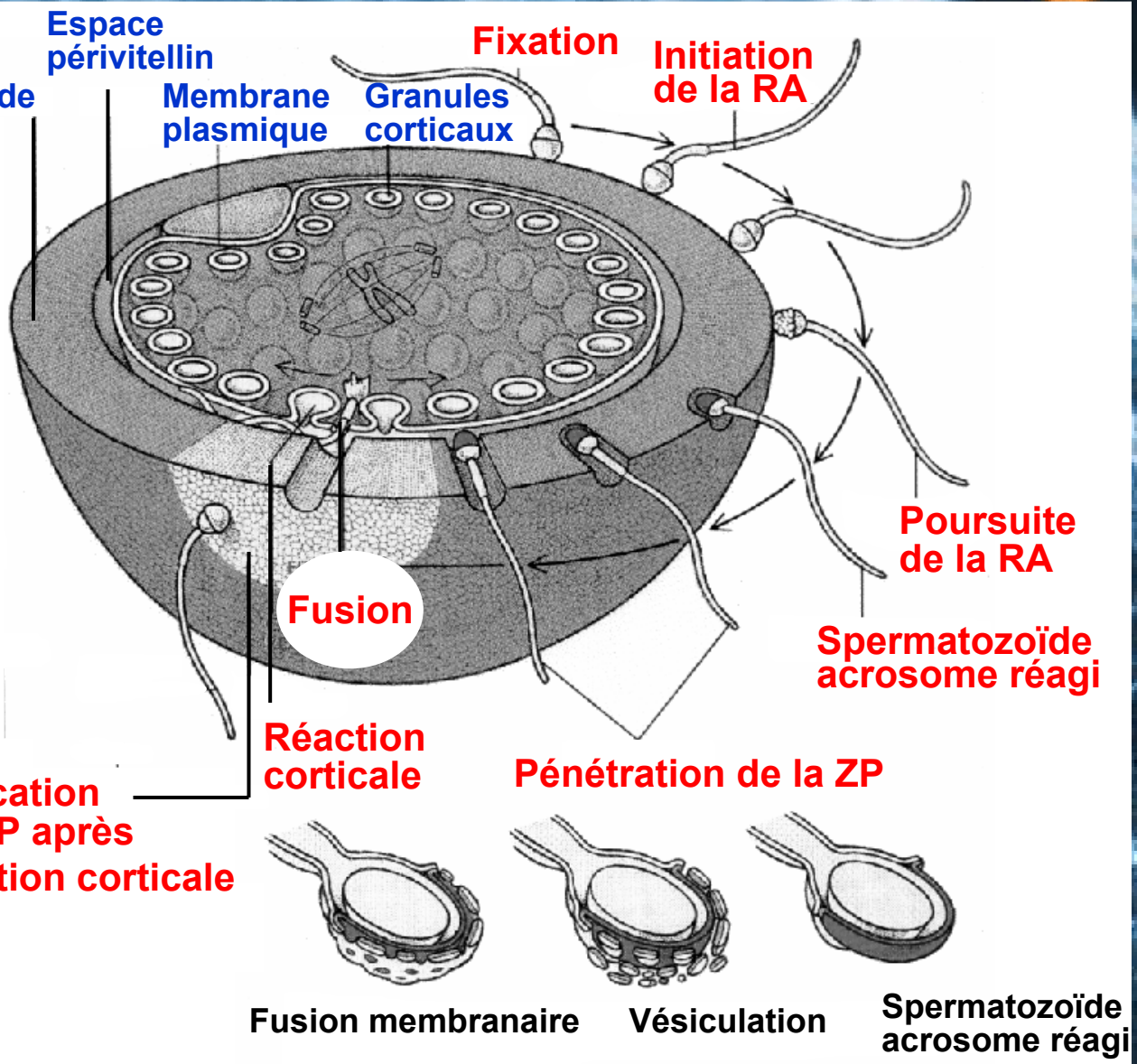
La Fécondabilité : Probabilité mensuelle de conception (Nale 25%)*(Schwarz, 1986)*.

	Nombre d'années d'essai de conception			
	0	1	2	5
Fécondabilité	25%	12%	7,9%	4%

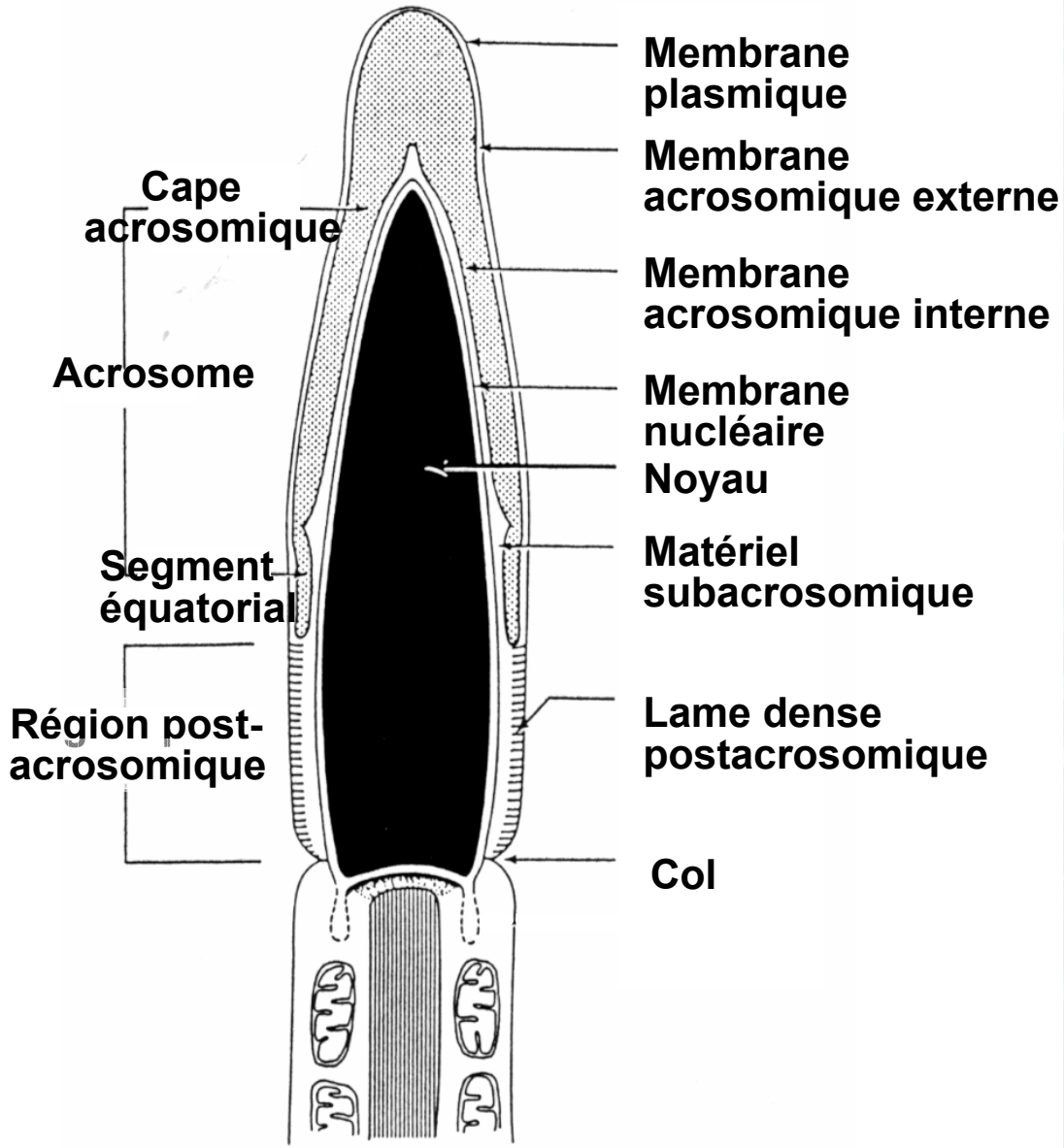
Prévalence de l 'infertilité : Un couple sur 7 consulte pour un problème d'infertilité *(Thonneau, 1991)*.

L'OMS défini le sperme normal selon des critères précis, qui font l'objet d'un consensus mais qui sont basés sur peu d'évidences.

Rappel : Les différentes étapes du processus d'interaction gamètique



D 'après P. Wassarman



MP et MAI :

Reconnaissance et fixation I puis II

Base :

Fusion gamètique

Flagelle :

Traversée de la ZP

IMPLICATION DU LABORATOIRE DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE INFERTILITE MASCULINE

Bilan biologique « orienté »

Replacer l'interprétation des analyses dans le contexte clinique.

Une analyse sans interprétation ou orientation diagnostique n'a que peu d'intérêt

BILAN ANDROLOGIQUE

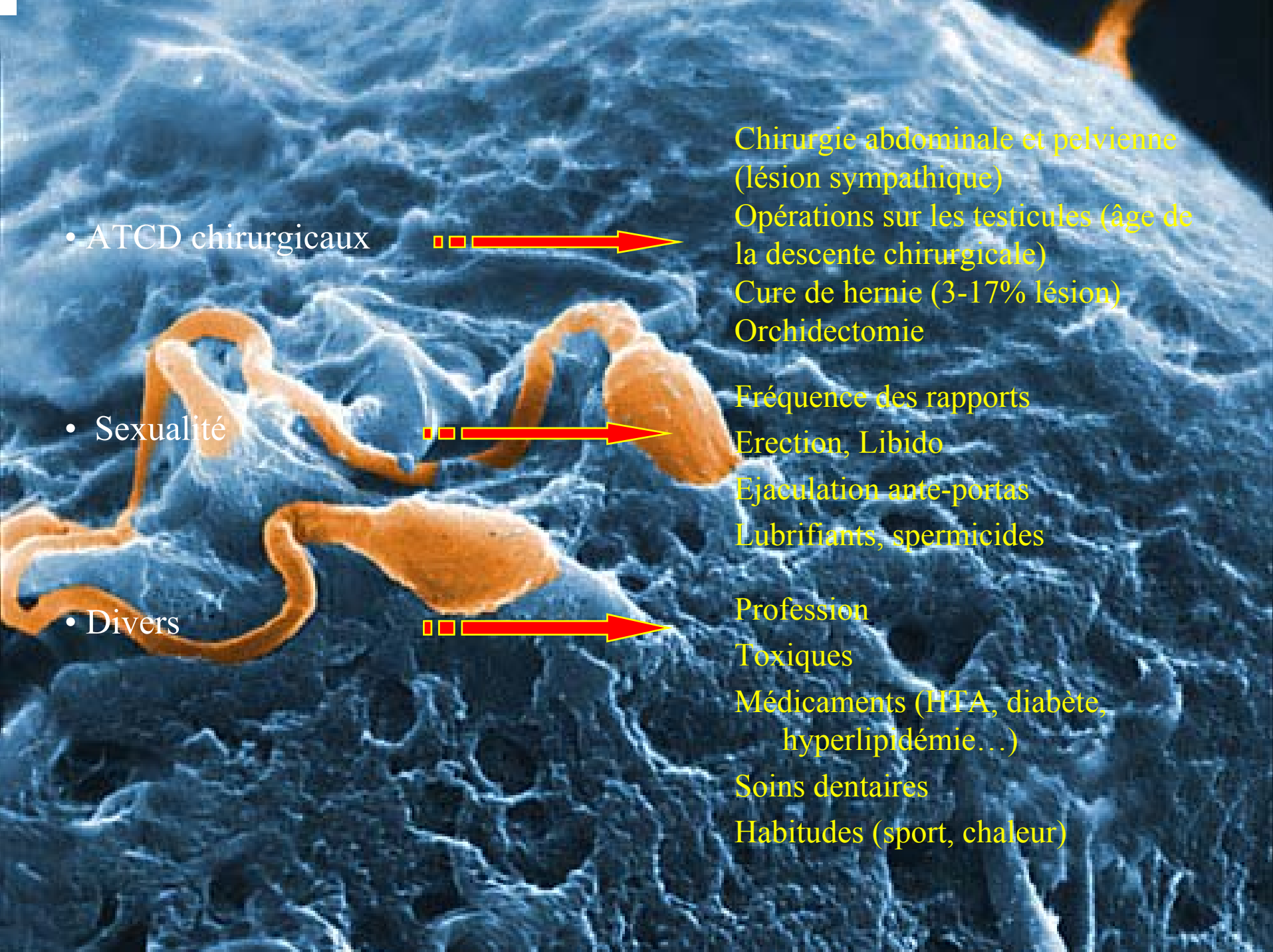
Anamnèse de l'homme

- Fertilité personnelle et familiale

Histoire du désir de grossesse
Analyses sperme antérieures
Unions antérieures
ATCD PMA
Consanguinité parentale
Délais à concevoir des parents

- ATCD médicaux

Cryptorchidie (50-90% subfertiles)
MST, Infection génito-urinaire
Maladie génétique
Oreillons (10-30% subfertiles)
Radio-chimiothérapie
HTA, Diabète
Fièvre récente


• ATCD chirurgicaux
Chirurgie abdominale et pelvienne (lésion sympathique)
Opérations sur les testicules (âge de la descente chirurgicale)
Cure de hernie (3-17% lésion)
Orchidectomie
• Sexualité
Fréquence des rapports
Erection, Libido
Ejaculation ante-portas
Lubrifiants, spermicides
• Divers
Profession
Toxiques
Médicaments (HTA, diabète, hyperlipidémie…)
Soins dentaires
Habitudes (sport, chaleur)

Examen Clinique

- Aspect général (phénotype)
- Caractères sexuels
- Palpation abdominale, Pelvienne

Organes génitaux

- Testicules
  - 15-30 ml, fermes
- Epididymes
  - fins et indolores
- Canaux déférents
  - agénésie, dysgénésie
- Méat urétral, Gland
  - emplacement, rougeur, HPV
- Prostate et Vésicules Séminales
  - souple et Indolore, dilatation
- Varicocèle
  - Grade I, II, ou III
  - Valsalva, Doppler

Bilans complémentaires

- Génétique
  - Chromosome Y, gène CFTR, conseil génétique
- Imagerie
  - Echographie (Prostate-VS et testis)
  - Radiographie (reins)
- Bilan Psycho-sexologique
- Bilan Endocrinien
  - Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique
  - Bilan glucidique et lipidique

- Spermogramme
- Biochimie du PS
- Migration dans glaire (TH)
- Préparation du sperme
- Spermoculture, PCR Chlam.
- Sérol. HIV, Hépatites, syphilis
- Ac anti-spermatozoïdes
- Bilan hormonal
- Analyses fonctionnelles

LE SPERMOGRAMME (OMS 1994)

Conditions de réalisation de l'analyse :

- Abstinence sexuelle 48 H .... 7 days
- Température adaptée 20° C - 40° C
- Collection adaptée
  - réceptable non toxique
  - masturbation
  - sans préservatif
- Délai d'acheminement vers le laboratoire

  ≤ 1 heure après l'obtention

LE SPERMOGRAMME (OMS 1994)

- Volume ≥ 2ml
- Consistance filance < 2 cm
- pH 7.2 - 7.8
- Viabilité ≥ 75 %
- Concentration spz ≥ 20 x 10^6 /ml
- Nombre total de spz ≥ 40 x 10^6 /ml

LE SPERMOGRAMME : quelques définitions

• Spermogramme normal	Normospermie
• Pas d'éjaculat	Aspermie
• Nombre de spz diminué	Oligozoospermie
• Nombre de spz < 1M/éjac	Cryptozoospermie
• Pas de spermatozoïdes	Azoospermie
• Mobilité spz diminuée	Asthénozoospermie
• Vitalité des spz diminuée	Nécrozoospermie
• Morphologie des spz diminuée	Tératozoospermie

Concentration spermatique et Fertilité

Rehan et al., 1975 *Fertil. Steril.*, 26: 492

Sperm count (10^6/ml)	Fertile men (n=1300) (%)
<20	7
20 - 39	16
40 - 59	18
> 60	59

Analyse de la mobilité : OMS 1994

- Mobilité après 60 minutes
  - linéaire rapide (a): ≥ 20 µm/sec ≥ 25 %
  - mobilité progressive (a+b): b < 20 µm/sec ≥ 50 %
- Morphologie ≥ 30 % formes normales (Kruger > 14 %)

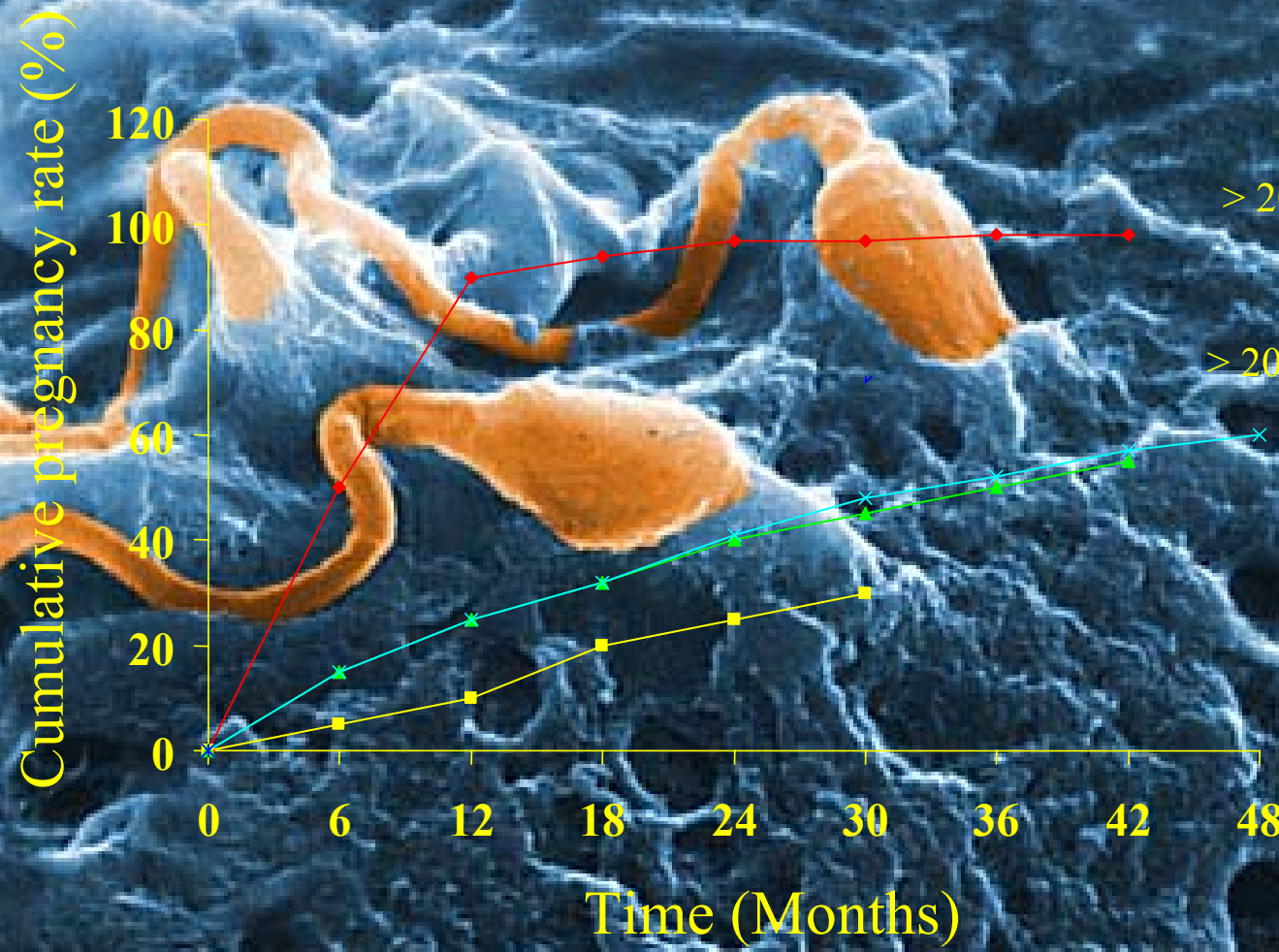
Concentration / Mobilité et Fertilité

Smith et al., 1977 *Fertil. Steril.*, 28: 1314

Motility sperm count	Pregnancy rate (%)
< 5.1	33.3
5.1 - 10	27.8
10 - 20	52.9
20 - 40	57.1
40 - 60	60
60 - 100	62.5

Résultats du Spermogramme et Fertilité

Steinberger et al. 1996 *Reprod. Med.*, New York Raven, 187-197



Morphologie des spermatozoïdes et Fertilité

(Kruger et al., 1988-1998)

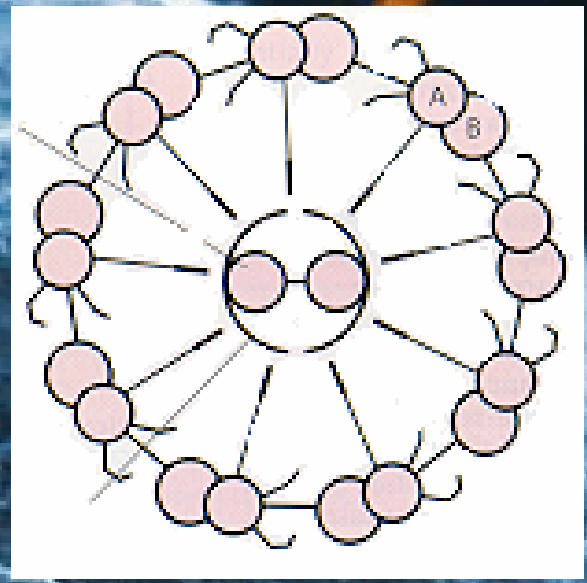
Table 6 HZA results according to sperm morphology classification. Normal morphology = >14% normal forms; 'good prognosis' pattern = 5–14% normal forms; 'poor prognosis' pattern ≤4% normal forms (values followed by different letters (a and b) are significantly different – $p<0.05$)

	Morphology (%)	Concentration (%)	Motility (%)	HZA		HZI	Fertilization rate (%)
				Test	Control		
'Poor' prognosis (≤4% normal forms) ($n = 13$)	2.0 ± 0.3	38.3[a] ± 9.8	49.5[a] ± 5.9	25.8[a] ±13.1	68.2[a] ± 6.8	38.2[a] ± 9.1	29.0[a] ±11.9
'Good' prognosis (5–14% normal forms) ($n = 14$)	7.0 ± 0.4	115.6[b] ± 15.2	62.1[b] ± 4.2	72.5[a] ±15.5	82.7[a] ±15.8	70.1[b] ± 9.3	67.0[a] ±11.8
Normal morphology (>14% normal forms) ($n = 13$)	16.3 ± 0.3	89.0[b] ±18.5	75.3[b] ± 4.8	90.2[b] ±14.5	78.3[a] ±17.2	82.4[b] ± 6.1	92.0[b] ± 7.7

TROUBLES DE LA MOBILITÉ

LES DYSKINESIES FLAGELLAIRES

En Microscopie Electronique



BRAS EXTERNES DE DYNÉINE :

SPZ mobiles mais Tests Pénétration dans Glaire Négatif

BRAS INTERNES DE DYNÉINE :

SPZ immobiles. Syndrome Cils Immobiles, Kartagener (situs inversus, bronchectasie).

TUBULES CENTRAUX :

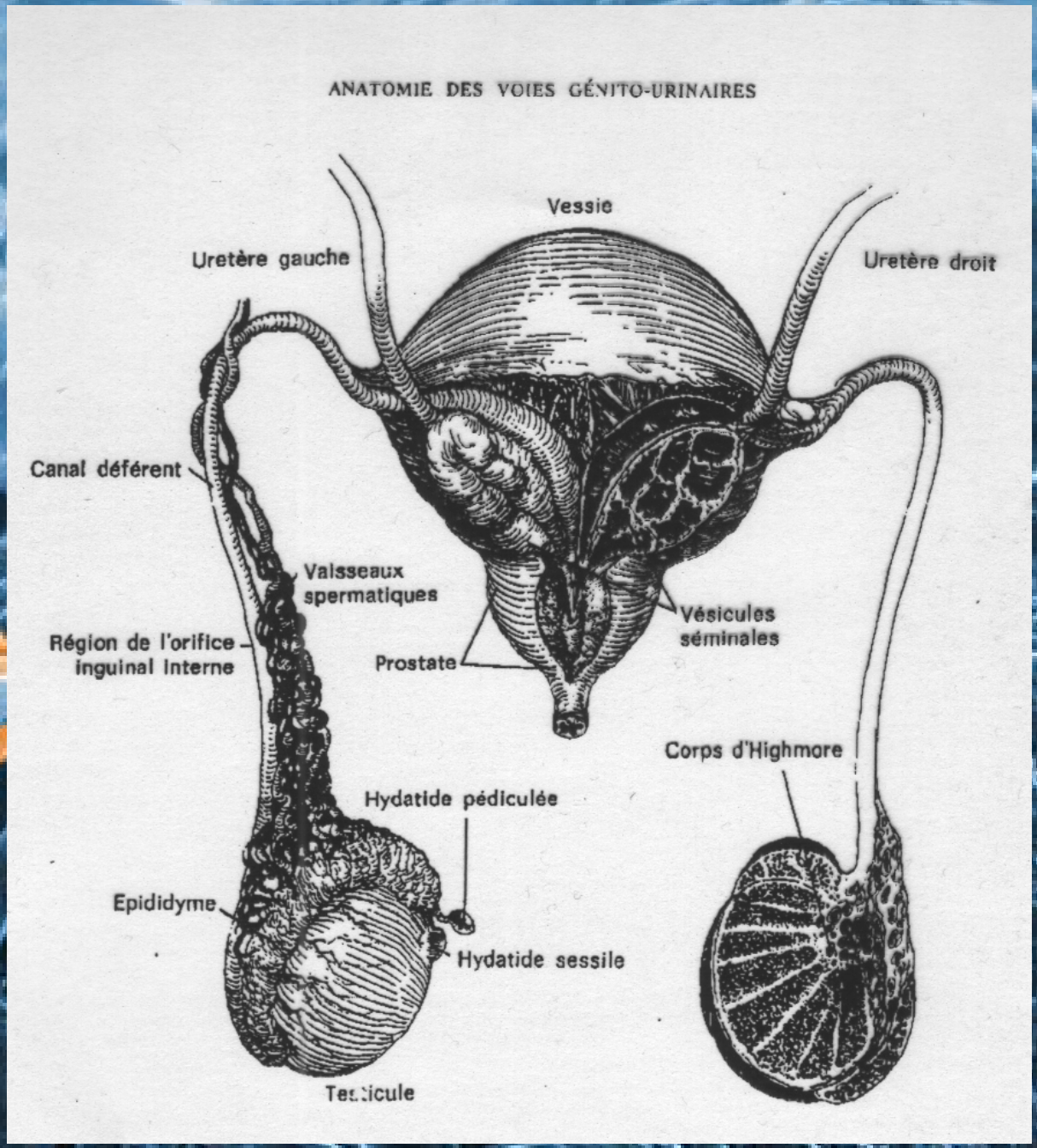
SPZ immobiles. 9+0 Syndrome *(Neugebauer et al., 1990)*

<u>rôle gènes</u> : dynéines, RFx

Autres anomalies de la mobilité

- Syndromes polymalformatifs des complexes axonémaux et péri-axonémaux, syndrome des flagelles courts.

- Altération secondaire de la mobilité spermatique, rôle des facteurs inflammatoires



Anatomie des voies génito-urinaires masculines

Spermogramme : OMS 1994

- Leucocytes $\leq 10^6$ /ml
- Mixed antiglobulin Reaction Test (MAR) ≤ 10 %
- Immunobeads test (IgG, IgA) ≤ 20 %

Infertilités masculines auto-immunes

- ANTICORPS ANTI-SPERMATOZOÏDES (ACAS) , IgG ou IgA.

- RUPTURE DE LA BARRIÈRE HÉMATO-TESTICULAIRE.

  3-20% DES PATIENTS INFERTILES *(Jones, 1986)*.

- LOCALISER LES ACAS SUR LES SPERMATOZOIDES.

- ACAS ↘ LA MOBILITE SPERMATIQUE

  ↘ LA PENETRATION DE LA GLAIRE

  Perturbent L'INTERACTION GAMETIQUE

- PREPARATION DU SPERME SPECIFIQUE.

Que faire dans les infertilité masculines « immunologiques »

- < 50% des SPZ avec anticorps : chercher d 'autres facteurs d 'infertlité
- > 50% des SPZ avec anticorps : PMA en fonction du test de migration

> 10^6 SPZ / ml		IAC
> 10^6 - 5x 10^5 SPZ / ml	< 80 %	FIV
	> 80 %, tête.	FIV
	> 80 %, tête et mixte.	ICSI
< 5 x 10^5 SPZ / ml		ICSI

Aspect du sperme

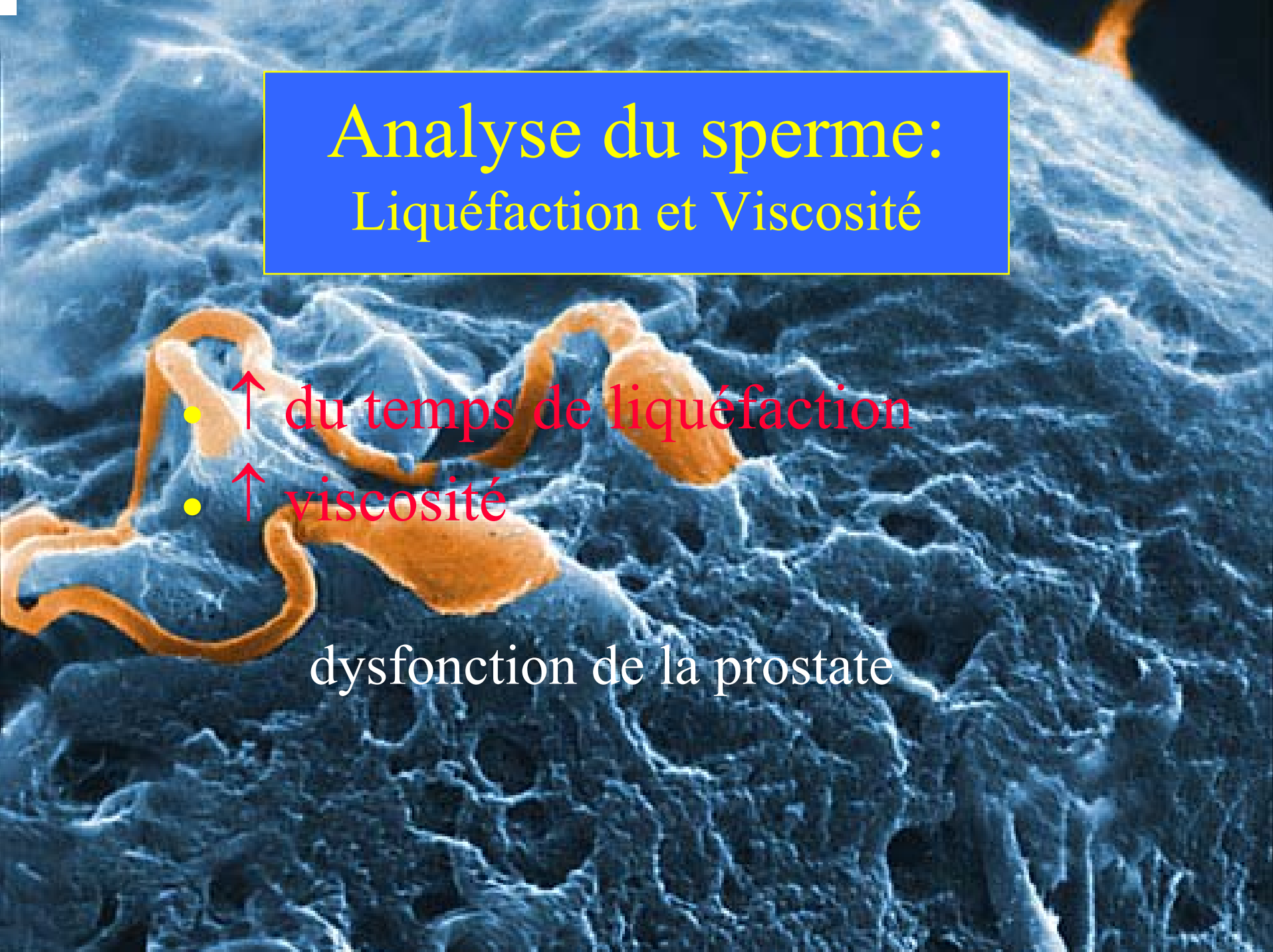
- Très clair

  low sperm count

- Marron

  Hémospermie

Analyse du sperme:
Liquéfaction et Viscosité



- ↑ du temps de liquéfaction
- ↑ viscosité

dysfonction de la prostate

Analyse du sperme : volume

- Volume bas < 2 ml
  - collection incomplète
  - agénésie des vésicules séminales
  - obstruction du canal éjaculateur
  - éjaculation rétrograde : récupération du sperme dans les urines
- Volume augmenté > 6 ml
  - Abstinence longue
  - varicocèle

Analyse du sperme: le pH

- ↑ pH
  - dysfonction prostatique
- ↓ pH
  - dysfonction vésiculaire
  - agénésie vésiculo-déférentielle
  - obstacle du canal éjaculateur
  - collection incomplète

Biochimie du plasma séminal : OMS 1994

Vésicules séminales :

- Fructose ≥ 13 µmol par éjaculat

Prostate :

- Zinc ≥ 2.4 µmol par éjaculat
- Acide citrique ≥ 52 µmol par éjaculat
- Phosphatase acide ≥ 200 µmol par éjaculat

Epididyme :

- α-glucosidase ≥ 20 mU par éjaculat

Dysfonction prostatique et analyse du sperme

- Liquéfaction différée ou impossible
- Viscosité augmentée
- pH augmenté
- Marqueurs biochimiques de la prostate diminués dans le plasma séminal

Dysfonction vésiculaire et analyse du sperme

- Volume diminué
- Diminution du fructose
- pH diminué

Infection du tractus génital

SPERMOGRAMME

- Volume ↘ (<2 ml)
- Vitalité ↘ (< 50%)
- Mobilité ↘ ou Asthénozoospermie 2aire
- Leucospermie > 1M/ml
- Flagelles enroulés > 10%

- Biochimie perturbée (Fruct., Zinc, Carn., α-Glucosidase)

- Spermoculture positive

+ Contexte Clinique +++

+ Bilan Echographique (dilatation VS, foyer prostatique, vascularisation)

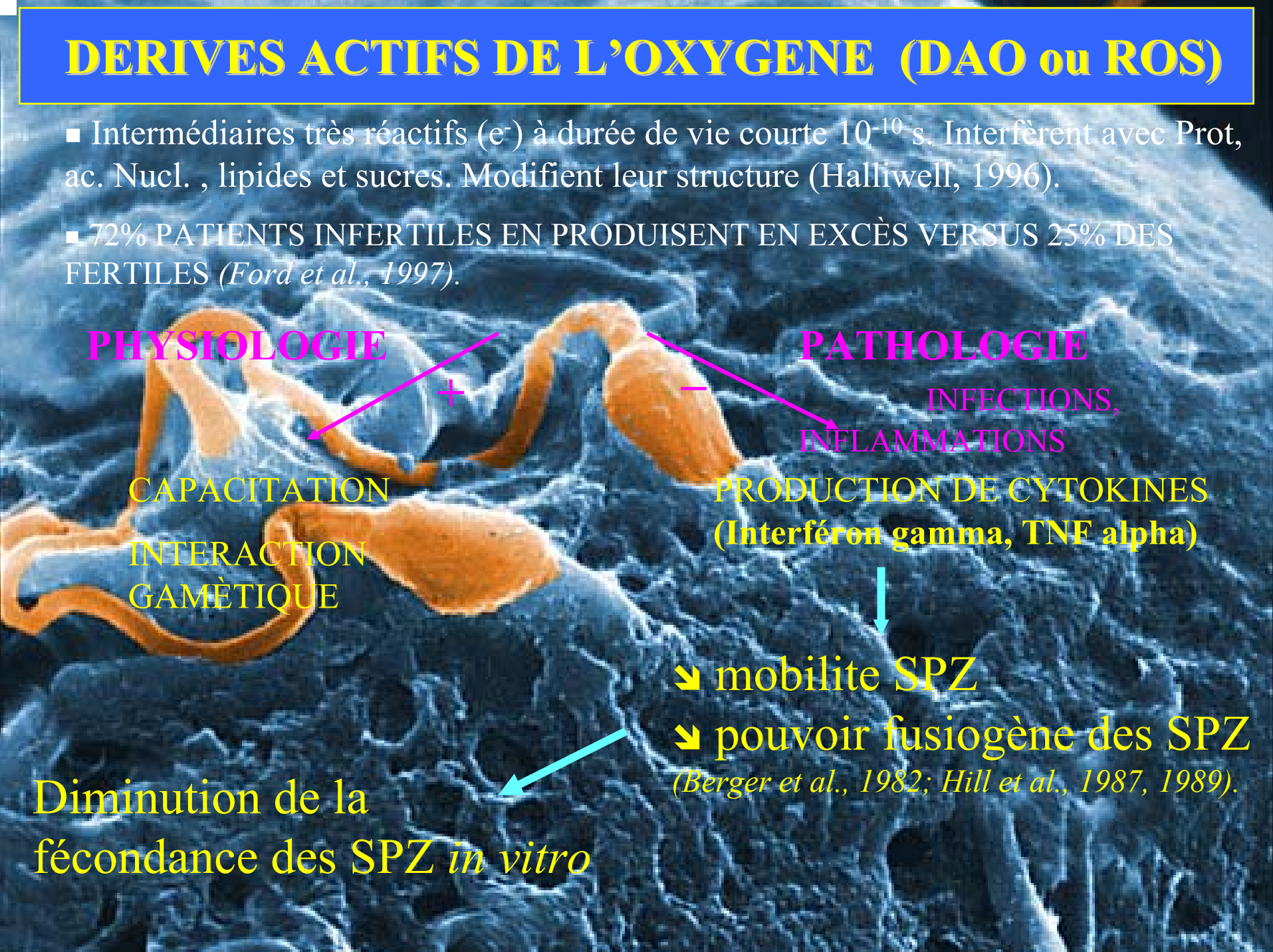
→ **Infection-Inflammation**

↓

Traitement

DERIVES ACTIFS DE L'OXYGENE (DAO ou ROS)

- Intermédiaires très réactifs (e^-) à durée de vie courte 10^{-10} s. Interfèrent avec Prot, ac. Nucl. , lipides et sucres. Modifient leur structure (Halliwell, 1996).
- 72% PATIENTS INFERTILES EN PRODUISENT EN EXCÈS VERSUS 25% DES FERTILES *(Ford et al., 1997).*



LE ZINC

Prostatite

↓

↘ Zinc

↓

Instabilité de la chromatine

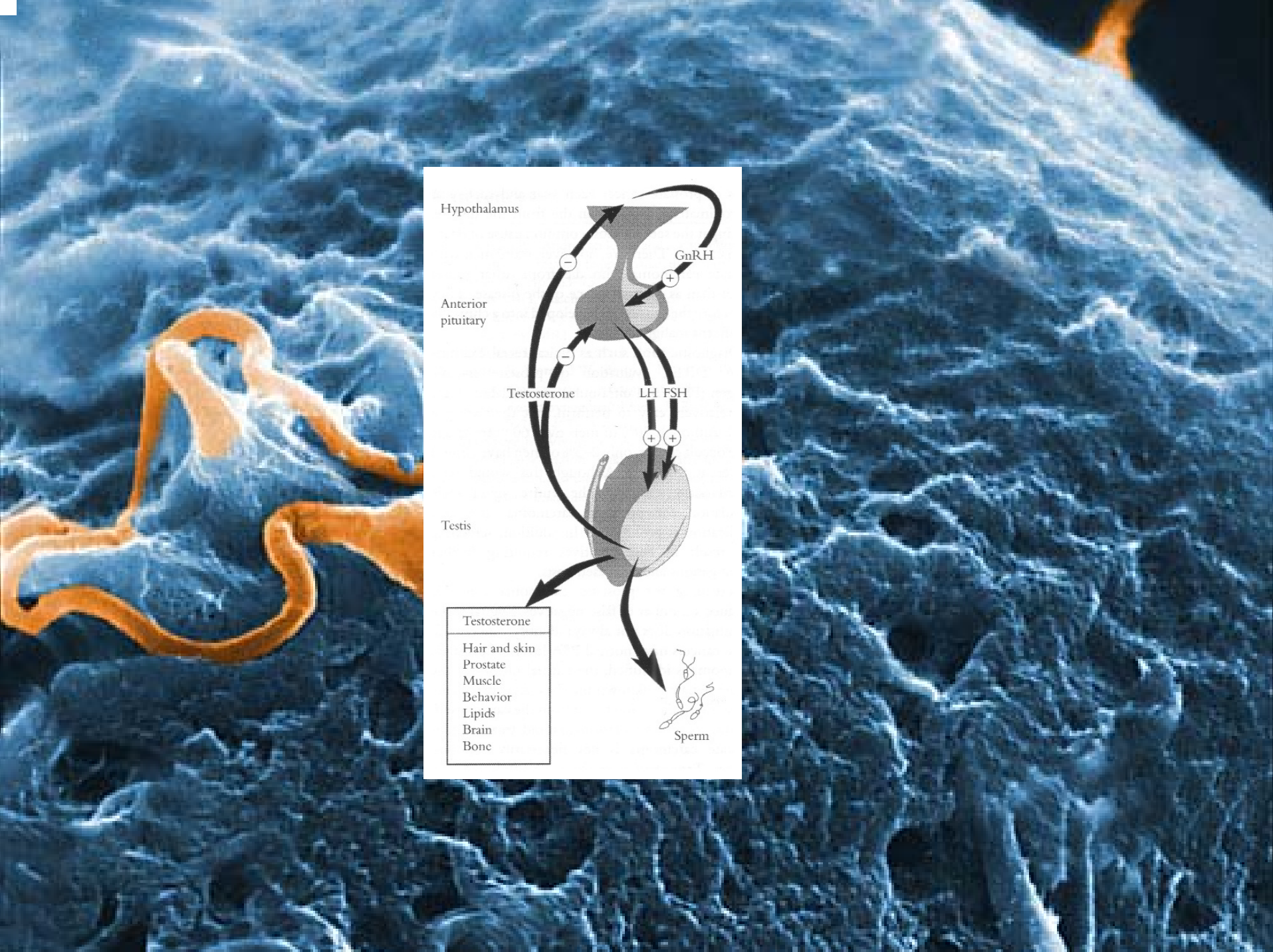
(Kvist et al., 1987, 1988). (Kvist et Eliason, 1980; Blazak et Overstreet, 1982).

115 hommes infertiles 26% avec chromatine instable, corrélé à la ↘ du Zinc *(Kjellberg et al., 1992).*

↘ chez les fumeurs *(Oldereid et al., 1994).*

Analyse du sperme : l'azoospermie

- Aspermie
  - émission impossible de cause neurologique
  - éjaculation rétrograde complète
- Volume diminué
  - Agénésie vésiculo-déférentielle bilatérale (CFTR)
  - Obstacle du canal éjaculateur


Hypothalamus
GnRH
Anterior pituitary
Testosterone
LH FSH
Testis
Testosterone
Hair and skin
Prostate
Muscle
Behavior
Lipids
Brain
Bone
Sperm

Bilan hormonal masculin

- FSH, LH : Fonction hypophysaire
- Testostérone : Fonction testiculaire
  T/libre Le matin à jeun
- Prolactine: Hommes ayant un trouble de la libido et/ou de l'érection. Interroger sur les traitements.
- TSH: Hypothyroïdisme.
- Inhibine B … Hormone antimulérienne …

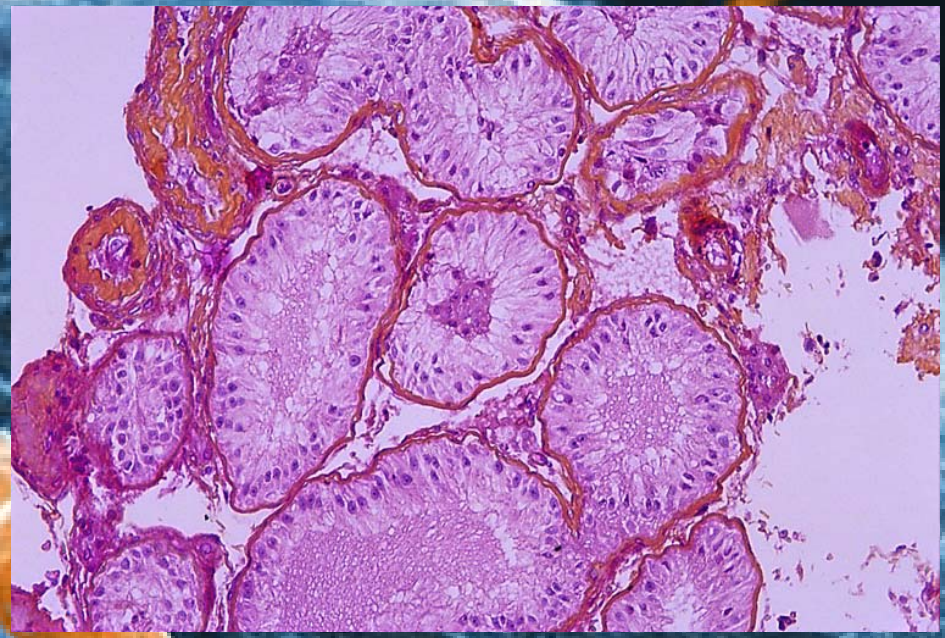
Analyse du sperme : l'azoospermie

- Volume normal
  - FSH plasmatique élevée
    - absence de spermatogénèse (Sertoli cell syndrome)
  - FSH plasmatique normale
    - Obstacle post-inflammatoire (infectieux, traumatique)
    - Blocage de la spermatogénèse
    - Syndrome de Young
    - Malunion des *vas deferent* et de l'épididyme
  - FSH plasmatique diminuée
    - hypogonadisme hypogonadotrophique

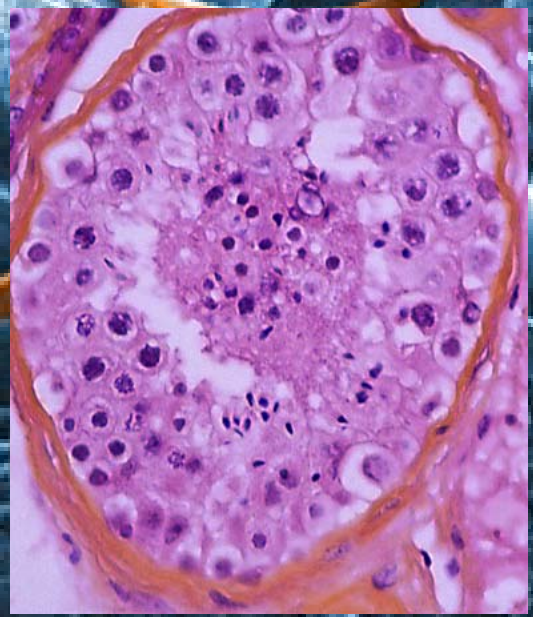
Diagnostic anatomopathologique des biopsies testiculaires

- Absence complète de cellules de la lignée germinale
- Blocage de la lignée germinale (défaut méïotique)
- Hypospermatogénèse
- Spermatogénèse focale
- Spermatogénèse complète

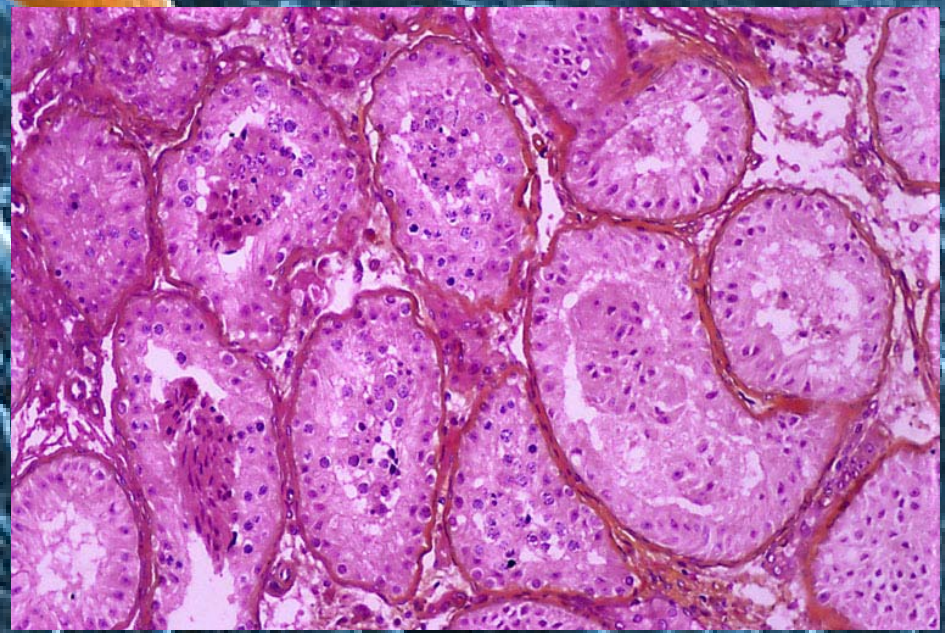
Sertoli Cell Only Syndrome (SCOS)



Pulpe Normale



100 x



Bilan Génétique et Infertilité

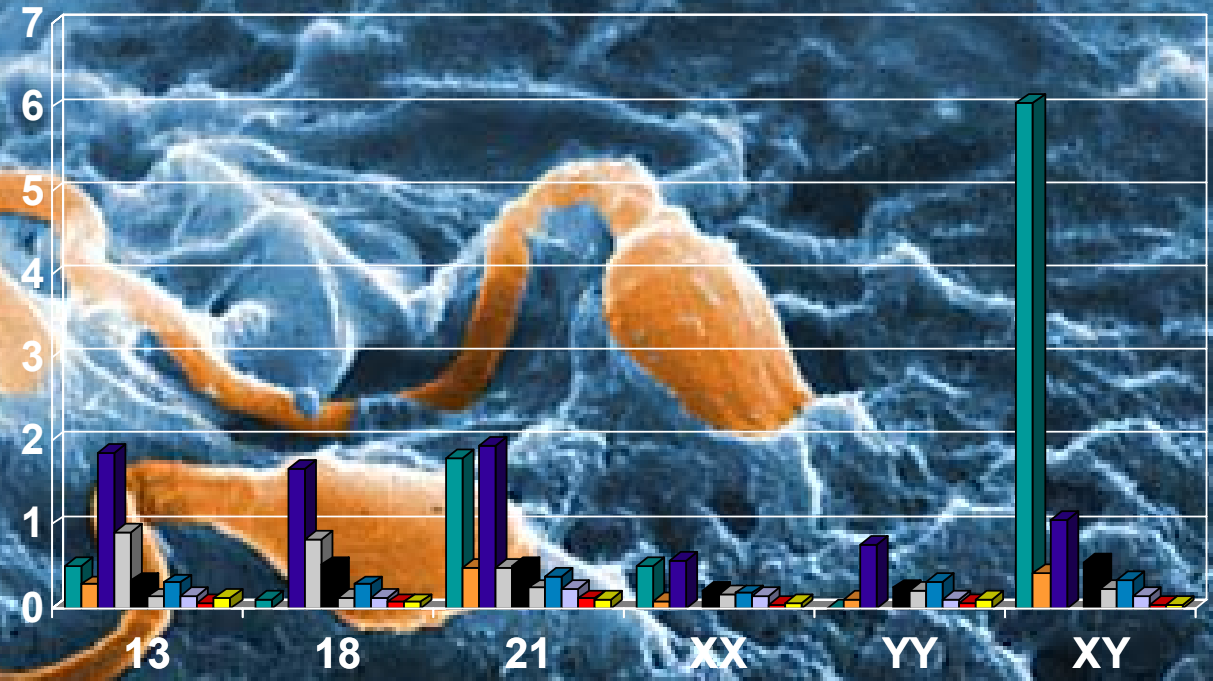
Anomalies géniques

- Gène CFTR
- Chromosome Y

Anomalies de nombre

OAT et Disomie

Shi et Martin *Hum. Reprod.* 2001

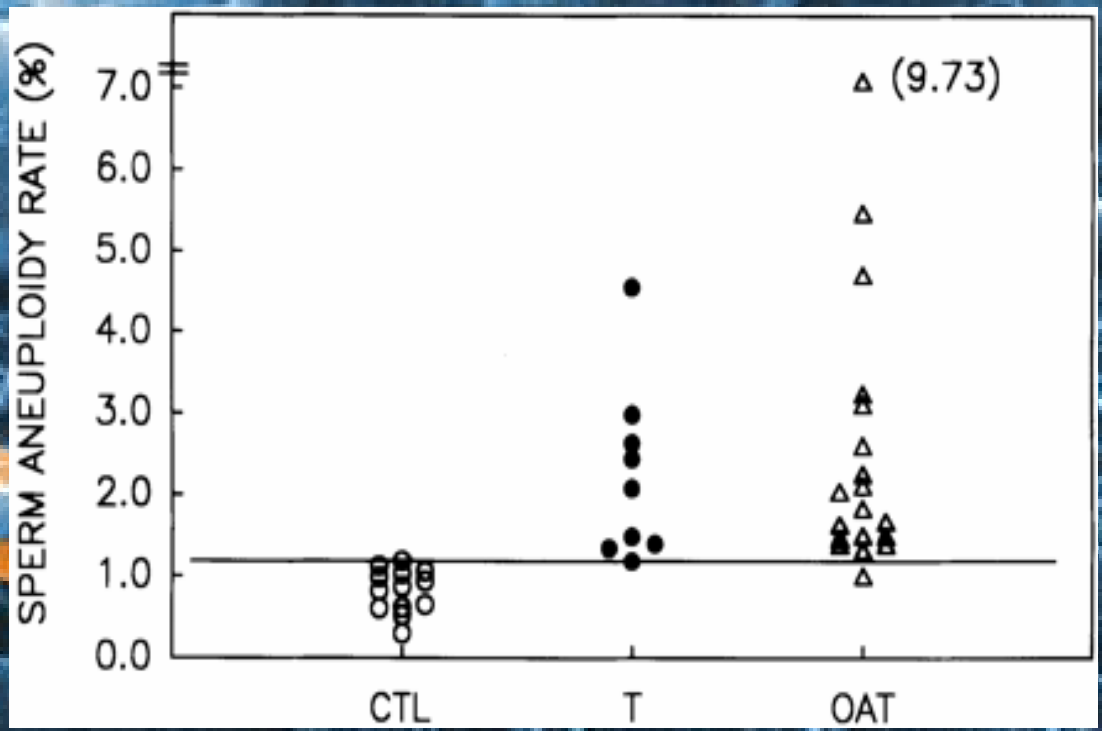


- Multicolores sondes 1,12,13,21,X,Y sur 10 000 spermatozoïdes (100 patients) résultats variables selon les séries

- Augmentation significative des non disjonctions pour les chromosomes sexuels en accord avec les données prénatales => nondisjonctions XY 14 fois + que témoins

Aneuploidies et Tératospermie / OAT

Calogero et al. *Hum. Reprod.* 2001



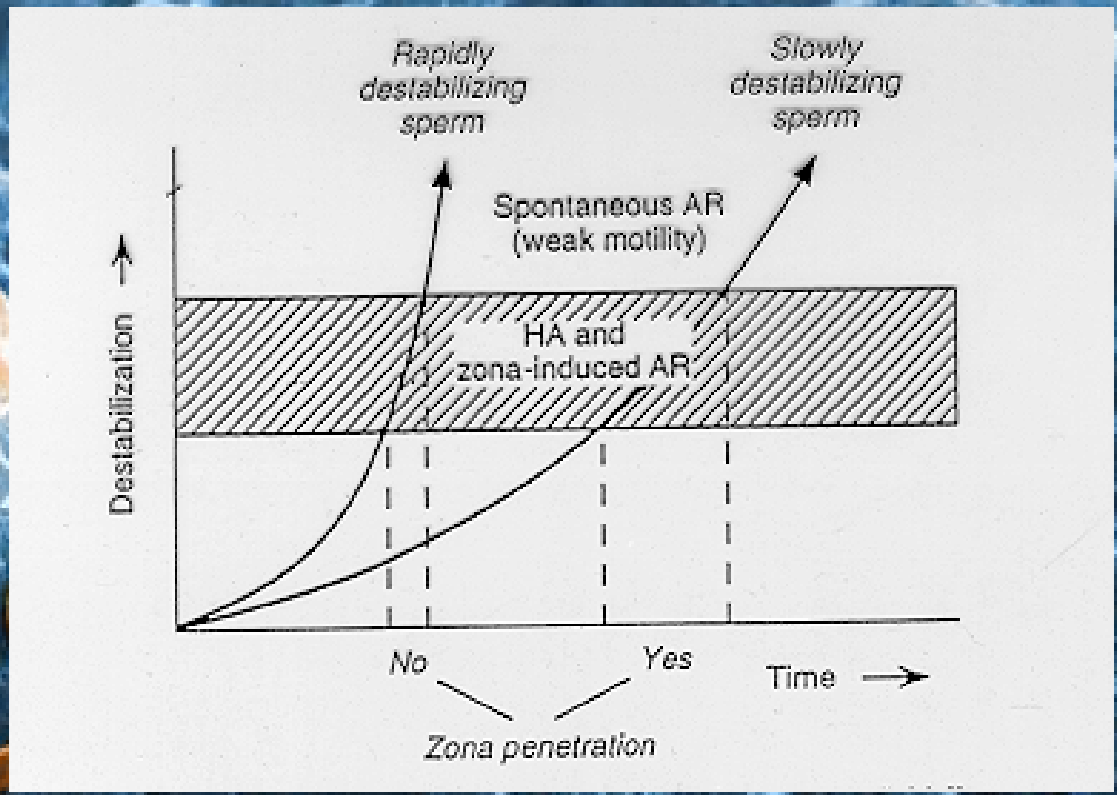
Association entre aneuploidies et morphologie

2,08% Térato
1,83% OAT
0,87% contrôles

Autres analyses du sperme

- Tests d'aptitude migratoire, swim-up et dans une glaire
- Test de survie des spermatozoïdes
- Analyse automatisée du mouvement des spermatozoïdes.
- Etude de la fonction acrosomique
- Tests de fixation à la zone pellucide
- Test du hamster
- Qualité nucléaire des spermatozoïdes

LA REACTION ACROSOMIQUE



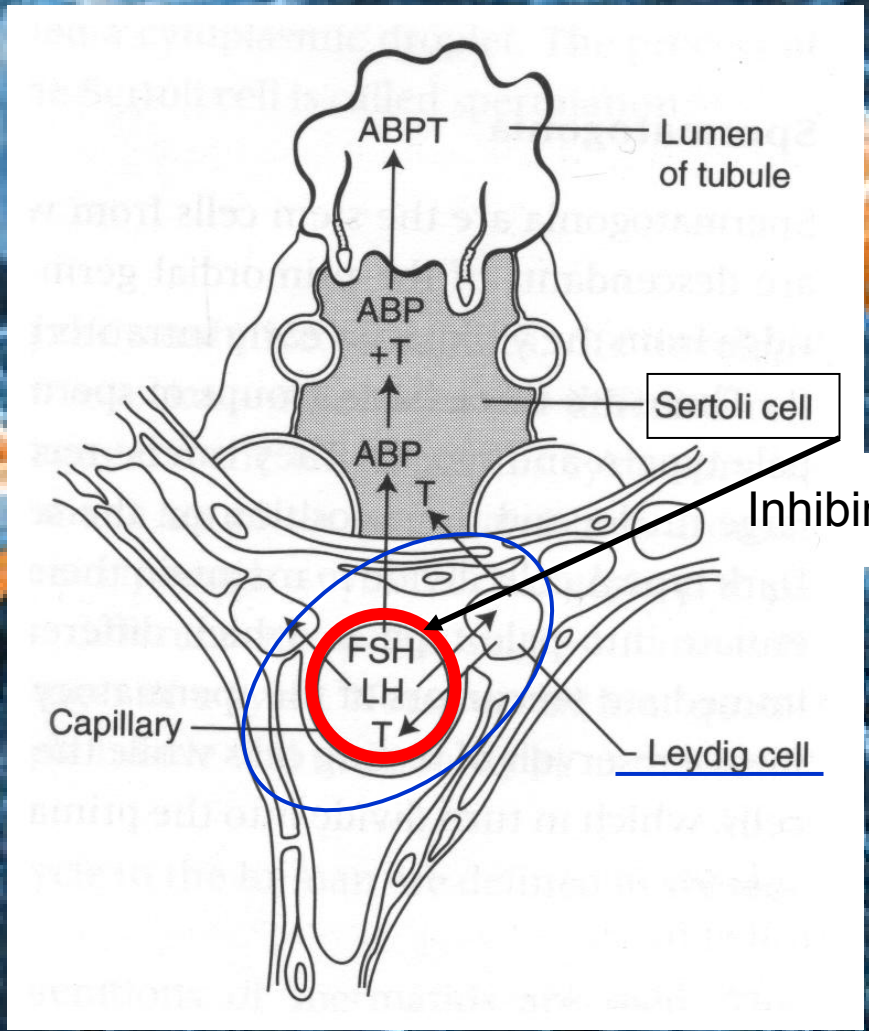
HA (hyperactived motility) CORRELATION POSITIVE avec :

Fixation pellucidaire, Induction RA, Hamster test, Pouvoir fécondant *in vitro*.

BILAN MASCULIN MINIMAL avant PMA

- SPERMOGRAMME, SPERMOCYTOGRAMME
- RECHERCHE d'Anticorps anti-spermatozoïdes
- MIGRATION SPZ DANS LA GLAIRE
- BIOCHIMIE DU PLASMA SEMINAL
- SPERMOCULTURE, PCR Chlamydia Urines
- SEROLOGIES HIV, HCV, HBV

Altération de la fonction sécrétoire hormonale des testicules



Marqueur de la cellule de Sertoli… l'inhibine B

[Inhibine B] ↘

↓

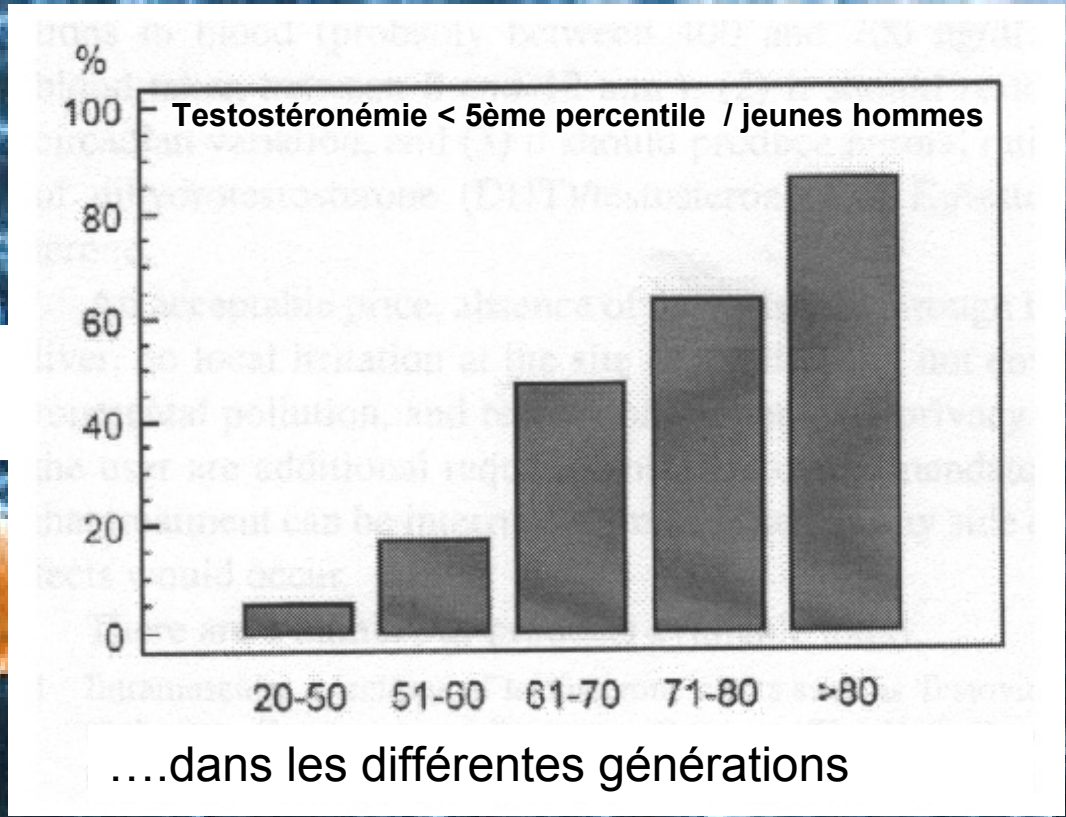
Témoin d'une altération de la fonction testiculaire

↓

Et la sécrétion de Testostérone ?

Variation de la Testostéronémie avec l'âge

% d'hommes concernés par une hypotestostéronémie …..



….dans les différentes générations

…..Notion d'hypogonadisme

Symptomes d'hypogonadisme chez l'homme agé

- Diminution de la masse musculaire > 25%
- Augmentation de la masse grasse abdominale > 10-15 Kg
- Diminution de la masse osseuse : ostéoporose
- Diminution exponentielle de l'activité sexuelle avec l'âge
- Baisse des fonctions cognitives
- Perturbation du sommeil
- Anxiété

SHBG - testostérone libre

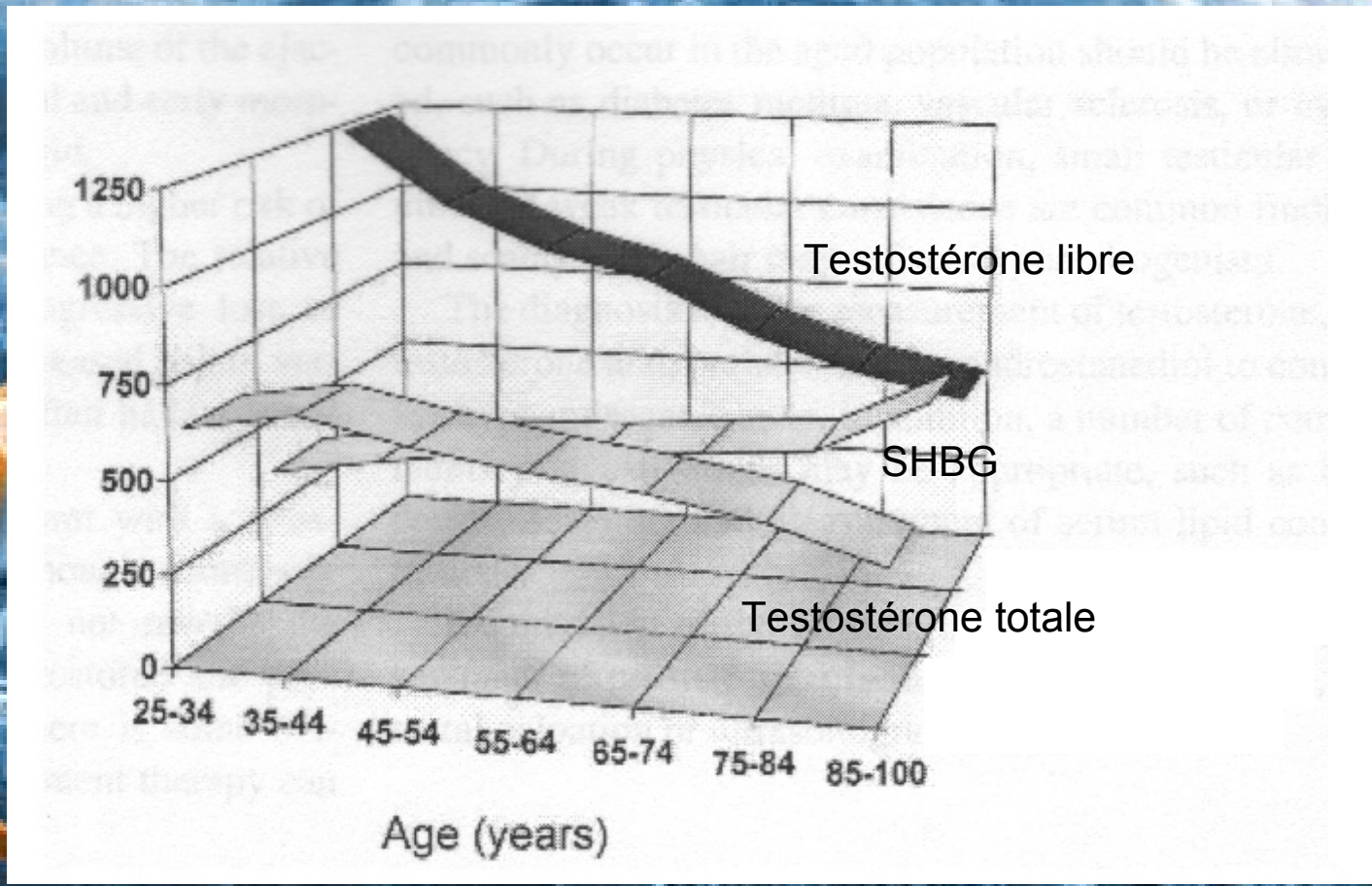
La SHBG (Sex Hormone Binding Globulin)

Se lie à la testostérone

Sa capacité de liaison augmente avec l'âge

Notion de fraction libre, bioactive….

…..qui diminue encore plus vite que la Testostérone totale

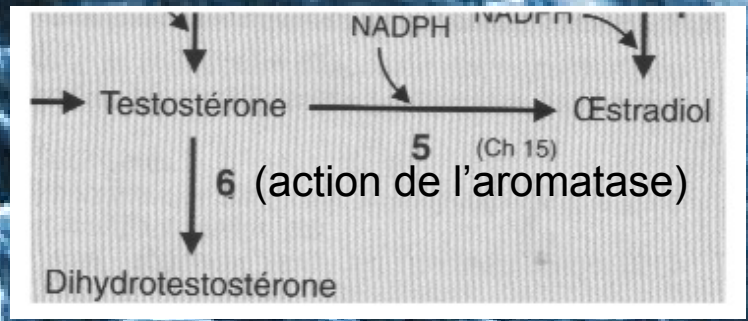


Une autre hormone importante chez l'homme, l'estradiol…..

Ratio Estradiol - Testostérone

E2 plasmatique stable
ou augmente avec l'âge

Influence de la masse grasse



Ratio E2 / Testostérone ↗

Induit la synthèse de SHBG par le foie….

…..ce qui diminue la fraction libre de testostérone