



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITE DE LORRAINE**

**2017**

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**MEMOIRE**

**du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**

**de BIOLOGIE MEDICALE**

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 16 Octobre 2017

Par **Alexandre SAULA**

né le 22 mai 1985 à Schiltigheim

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

**THESE pour le DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR en  
PHARMACIE**

---

Infertilité masculine et obésité :

*Etude rétrospective sur une cohorte de patients du Centre Médico-  
Chirurgical Obstétrique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg*

---

**Membres du Jury**

**Président :** M le Professeur LESSINGER Jean-Marc, PU-PH CHU Strasbourg

**Juges :** M le Docteur TELETIN Marius, MCU-PH CHU Strasbourg

M le Professeur KLEIN Marc, PU-PH CHU Nancy

Mme le Docteur OHL Jeanine, PH CHU Strasbourg



**UNIVERSITE DE LORRAINE**

**2017**

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**MEMOIRE**

**du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**

**de BIOLOGIE MEDICALE**

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 16 Octobre 2017

Par **Alexandre SAULA**

né le 22 mai 1985 à Schiltigheim

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

**THESE pour le DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR en  
PHARMACIE**

---

Infertilité masculine et obésité :

*Etude rétrospective sur une cohorte de patients du Centre Médico-  
Chirurgical Obstétrique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg*

---

**Membres du Jury**

**Président** : M le Professeur LESSINGER Jean-Marc, PU-PH CHU Strasbourg

**Juges** : M le Docteur TELETIN Marius, MCU-PH CHU Strasbourg

M le Professeur KLEIN Marc, PU-PH CHU Nancy

Mme le Docteur OHL Jeanine, PH CHU Strasbourg

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2016-2017**

***DOYEN***

Francine PAULUS

***Vice-Doyen***

Béatrice FAIVRE

***Directeur des Etudes***

Virginie PICHON

***Conseil de la Pédagogie***

Président, Brigitte LEININGER-MULLER

***Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier***

Président, Béatrice DEMORE

***Commission Prospective Facultaire***

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

***Commission de la Recherche***

Président, Raphaël DUVAL

***Responsable de la filière Officine***

Béatrice FAIVRE

***Responsables de la filière Industrie***

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

***Responsable de la filière Hôpital***

Béatrice DEMORE

***Responsable Pharma Plus ENSIC***

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

***Responsable Pharma Plus ENSAIA***

Raphaël DUVAL

***Responsable Pharma Plus ENSGSI***

Igor CLAROT

***Responsable de la Communication***

Marie-Paule SAUDER

***Responsable de la Cellule de Formation Continue  
et individuelle***

Béatrice FAIVRE

***Responsable de la Commission d'agrément  
des maîtres de stage***

Béatrice FAIVRE

***Responsable ERASMUS***

Mihayl VARBANOV

***DOYENS HONORAIRES***

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

***PROFESSEURS EMERITES***

Jeffrey ATKINSON  
Jean-Claude BLOCK  
Max HENRY  
Alain MARSURA  
Claude VIGNERON

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Pierre DIXNEUF  
Marie-Madeleine GALTEAU  
Thérèse GIRARD  
Michel JACQUE  
Pierre LABRUDE  
Vincent LOPPINET  
Janine SCHWARTZBROD  
Louis SCHWARTZBROD

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE  
Annie PAVIS

**MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES**

Monique ALBERT  
Marianne BEAUD  
Gérald CATAU  
Jean-Claude CHEVIN  
Jocelyne COLLOMB  
Bernard DANGIEN  
Marie-Claude FUZELLIER  
Françoise HINZELIN  
Marie-Hélène LIVERTOUX  
Bernard MIGNOT  
Jean-Louis MONAL  
Blandine MOREAU  
Dominique NOTTER  
Christine PERDICAKIS  
Marie-France POCHON  
Anne ROVEL  
Gabriel TROCKLE  
Maria WELLMAN-ROUSSEAU  
Colette ZINUTTI

**ENSEIGNANTS**

*Section CNU\**

*Discipline d'enseignement*

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

|                                |    |   |
|--------------------------------|----|---|
| Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ | 82 | <i>Thérapie cellulaire</i>                              |
| Jean-Louis MERLIN              | 82 | <i>Biologie cellulaire</i>                              |
| Alain NICOLAS                  | 80 | <i>Chimie analytique et Bromatologie</i>                |
| Jean-Michel SIMON              | 81 | <i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i> |
| Nathalie THILLY                | 81 | <i>Santé publique et Epidémiologie</i>                  |

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

|                               |    |   |
|-------------------------------|----|---|
| Christine CAPDEVILLE-ATKINSON | 86 | <i>Pharmacologie</i>                          |
| Igor CLAROT                   | 85 | <i>Chimie analytique</i>                      |
| Joël DUCOURNEAU               | 85 | <i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i> |
| Raphaël DUVAL                 | 87 | <i>Microbiologie clinique</i>                 |
| Béatrice FAIVRE               | 87 | <i>Biologie cellulaire, Hématologie</i>       |
| Luc FERRARI                   | 86 | <i>Toxicologie</i>                            |
| Pascale FRIANT-MICHEL         | 85 | <i>Mathématiques, Physique</i>                |
| Christophe GANTZER            | 87 | <i>Microbiologie</i>                          |
| Frédéric JORAND               | 87 | <i>Eau, Santé, Environnement</i>              |
| Isabelle LARTAUD              | 86 | <i>Pharmacologie</i>                          |
| Dominique LAURAIN-MATTAR      | 86 | <i>Pharmacognosie</i>                         |
| Brigitte LEININGER-MULLER     | 87 | <i>Biochimie</i>                              |
| Pierre LEROY                  | 85 | <i>Chimie physique</i>                        |
| Philippe MAINCENT             | 85 | <i>Pharmacie galénique</i>                    |
| Patrick MENU                  | 86 | <i>Physiologie</i>                            |
| Jean-Bernard REGNOUF de VAINS | 86 | <i>Chimie thérapeutique</i>                   |
| Bertrand RIHN                 | 87 | <i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>        |

#### **MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

|                 |    |  |
|-----------------|----|--|
| Béatrice DEMORE | 81 | <i>Pharmacie clinique</i>                                |
| Alexandre HARLE | 82 | <i>Biologie cellulaire oncologique</i>                   |
| Julien PERRIN   | 82 | <i>Hématologie biologique</i>                            |
| Marie SOCHA     | 81 | <i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i> |

#### **MAITRES DE CONFÉRENCES**

|                   |    |   |
|-------------------|----|---|
| Sandrine BANAS    | 87 | <i>Parasitologie</i>                          |
| Xavier BELLANGER  | 87 | <i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>      |
| Emmanuelle BENOIT | 86 | <i>Communication et Santé</i>                 |
| Isabelle BERTRAND | 87 | <i>Microbiologie</i>                          |
| Michel BOISBRUN   | 86 | <i>Chimie thérapeutique</i>                   |
| François BONNEAUX | 86 | <i>Chimie thérapeutique</i>                   |
| Ariane BOUDIER    | 85 | <i>Chimie Physique</i>                        |
| Cédric BOURA      | 86 | <i>Physiologie</i>                            |
| Joël COULON       | 87 | <i>Biochimie</i>                              |
| Sébastien DADE    | 85 | <i>Bio-informatique</i>                       |
| Dominique DECOLIN | 85 | <i>Chimie analytique</i>                      |
| Roudayna DIAB     | 85 | <i>Pharmacie galénique</i>                    |
| Natacha DREUMONT  | 87 | <i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i> |
| Florence DUMARCAY | 86 | <i>Chimie thérapeutique</i>                   |

|                            |                     |  |
|----------------------------|---------------------|--|
| François DUPUIS            | 86                  | <i>Pharmacologie</i>                   |
| Adil FAIZ                  | 85                  | <i>Biophysique, Acoustique</i>         |
| Anthony GANDIN             | 87                  | <i>Mycologie, Botanique</i>            |
| Caroline GAUCHER           | 86                  | <i>Chimie physique, Pharmacologie</i>  |
| Stéphane GIBAUD            | 86                  | <i>Pharmacie clinique</i>              |
| Thierry HUMBERT            | 86                  | <i>Chimie organique</i>                |
| Olivier JOUBERT            | 86                  | <i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i> |
| <b>ENSEIGNANTS (suite)</b> | <b>Section CNU*</b> | <b>Discipline d'enseignement</b>       |

|                         |       |  |
|-------------------------|-------|--|
| Alexandrine LAMBERT     | 85    | <i>Informatique, Biostatistiques</i>         |
| Julie LEONHARD          | 86/01 | <i>Droit en Santé</i>                        |
| Christophe MERLIN       | 87    | <i>Microbiologie environnementale</i>        |
| Maxime MOURER           | 86    | <i>Chimie organique</i>                      |
| Coumba NDIAYE           | 86    | <i>Epidémiologie et Santé publique</i>       |
| Marianne PARENT         | 85    | <i>Pharmacie galénique</i>                   |
| Francine PAULUS         | 85    | <i>Informatique</i>                          |
| Caroline PERRIN-SARRADO | 86    | <i>Pharmacologie</i>                         |
| Virginie PICHON         | 85    | <i>Biophysique</i>                           |
| Sophie PINEL            | 85    | <i>Informatique en Santé (e-santé)</i>       |
| Anne SAPIN-MINET        | 85    | <i>Pharmacie galénique</i>                   |
| Marie-Paule SAUDER      | 87    | <i>Mycologie, Botanique</i>                  |
| Guillaume SAUTREY       | 85    | <i>Chimie analytique</i>                     |
| Rosella SPINA           | 86    | <i>Pharmacognosie</i>                        |
| Sabrina TOUCHET         | 86    | <i>Pharmacochimie</i>                        |
| Mihayl VARBANOV         | 87    | <i>Immuno-Virologie</i>                      |
| Marie-Noëlle VAULTIER   | 87    | <i>Mycologie, Botanique</i>                  |
| Emilie VELOT            | 86    | <i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i> |
| Mohamed ZAIUO           | 87    | <i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>     |

**PROFESSEUR ASSOCIE**

|                    |    |                   |
|--------------------|----|-------------------|
| Anne MAHEUT-BOSSER | 86 | <i>Sémiologie</i> |
|--------------------|----|-------------------|

**PROFESSEUR AGREGE**

|                    |    |                |
|--------------------|----|----------------|
| Christophe COCHAUD | 11 | <i>Anglais</i> |
|--------------------|----|----------------|

✂ *En attente de nomination*

*\*Disciplines du Conseil National des Universités :*

*80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes*

# SERMENT DES APOTHICAIRES

**Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

## Remerciements

### **Aux membres du Jury**

**Monsieur Jean-Marc Lessinger**

**Président du Jury**

**PU-PH, laboratoire de Biochimie, CHU de Strasbourg**

Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Merci également pour votre disponibilité durant les quatre années d'internat. Merci enfin pour la qualité de vos enseignements tout au long de mon cursus universitaire, et en particulier pour l'aide à la préparation du concours de l'internat.

Soyez assuré de mon plus grand respect et de ma sincère reconnaissance.

**Monsieur Marc Klein**

**PU-PH, Endocrinologie, CHU de Nancy**

C'est pour moi un grand honneur de vous compter parmi les membres du jury. J'apprécie le fait que vous puissiez juger mon travail en qualité de clinicien et spécialiste. Veuillez trouver ici l'expression de mes très sincères remerciements.

**Monsieur Marius Teletin**

**MCU-PH, Biologie de la reproduction, CHU Strasbourg**

Je te remercie grandement de m'avoir donné ce sujet passionnant. Merci également pour ton aide dans la réalisation de ce travail. Je te suis également très reconnaissant pour tout ce que tu as pu m'apprendre durant mes six mois au CMCO. Ton sourire et ta bonne humeur sont contagieux, ce fût un réel plaisir de travailler avec toi. J'espère avoir la chance de continuer à te côtoyer, au niveau professionnel comme en dehors.

**Madame Jeanine Ohl**

**PH, Gynécologie, CHU Strasbourg**

Je te suis très reconnaissant d'avoir accepté de compter parmi les membres de ce jury. Je te remercie également pour ton accueil et tout ce que tu m'as enseigné lors de mon stage au centre d'AMP. Ta gentillesse et ta disponibilité de tous les instants me touchent énormément. Trouve ici l'expression de ma plus profonde gratitude et de tout mon respect.

**A toutes celles et ceux qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail,**

**A l'ensemble de l'équipe d'AMP,**

**Dr Isabelle Lichtblau**

Merci pour votre accueil et votre sympathie à mon égard. Merci également pour la relecture de ce travail.

**Dr Cécile Greze**

Ta disponibilité et tes connaissances m'ont beaucoup apporté, toujours avec l'humour et l'énergie qui te caractérisent.

**Dr Laetitia Ladureau-Fritsch, Catherine Celebi**

Merci pour vos réponses à mes nombreuses questions lors de mon passage au laboratoire.

**Dr Rongières, Dr Pirrello, Dr Bettahar**

Merci entre autres, pour vos précieux conseils lors de la présentation de mes résultats.

**Elodie, Cerise et toutes les techniciennes du laboratoire,**

Merci pour votre accueil chaleureux qui a grandement facilité mon intégration au sein du laboratoire. Merci aussi de continuer à m'inviter aux soirées de fin d'année du service.

**A mes proches, ma famille, mes amis,**

**A mes parents** évidemment, pour votre soutien durant ces très très très longues années d'études.

**A Sofien et Laura,** vous pourrez toujours compter sur moi.

**Mes grands-parents,** qui ont suivi tout mon parcours dans les moindres détails.

**A Cécile,** pour ta patience, ta présence et ton soutien inconditionnel depuis toutes ces années.

**Ainsi qu'à tous mes amis, de toujours comme les plus récents.**

## Table des matières

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Remerciements .....</b>  | <b>11</b> |
| <b>Table des matières .....</b>   | <b>15</b> |
| <b>Index des tableaux .....</b>   | <b>17</b> |
| <b>Index des figures .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>Liste des abréviations .....</b>   | <b>19</b> |
| <b>Introduction .....</b>   | <b>20</b> |
| <b>Généralités.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>I. Obésité .....</b>   | <b>21</b> |
| 1. Définition.....  | 21        |
| 2. L'IMC.....   | 21        |
| 3. Epidémiologie.....   | 22        |
| 4. Physiopathologie du surpoids et de l'obésité .....                             | 25        |
| <b>II. Rappel anatomique et physiologie de la reproduction chez l'homme .....</b> | <b>31</b> |
| 1. Anatomie .....   | 32        |
| 2. La spermatogénèse .....  | 34        |
| 3. Rôle hormonal dans l'épididyme.....  | 38        |
| 4. Le plasma séminal .....  | 41        |
| <b>III. L'infertilité masculine .....</b>   | <b>44</b> |
| <b>IV. Le spermogramme - spermocytogramme .....</b>                               | <b>46</b> |
| 1. Volume de l'éjaculat.....  | 47        |
| 2. Mobilité des spermatozoïdes .....  | 47        |
| 3. Vitalité des spermatozoïdes .....  | 48        |
| 4. Numération des spermatozoïdes .....  | 49        |
| 5. Nombre total de spermatozoïdes dans tout l'éjaculat.....                       | 50        |
| 6. Spermocytogramme.....  | 50        |
| <b>V. Les techniques d'AMP .....</b>  | <b>52</b> |
| 1. L'insémination intra utérine .....   | 52        |
| 2. La Fécondation <i>In Vitro</i> .....   | 53        |
| <b>VI. Obésité et spermatogénèse.....</b>   | <b>55</b> |
| 1. Modifications hormonales de l'obésité et impact sur la fertilité .....         | 58        |
| 2. Obésité et taux de fragmentation de l'ADN spermatique.....                     | 61        |
| 3. Obésité et composition en acide gras des spermatozoïdes .....                  | 61        |
| 4. Perte de poids et paramètres spermatiques.....                                 | 62        |
| <b>Objectif de l'étude.....</b>   | <b>64</b> |
| <b>Matériel et Méthode .....</b>  | <b>66</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I. Comparaison des paramètres spermatiques.....</b>                                    | <b>66</b> |
| 1. Critères d'inclusion.....  | 67        |
| 2. Critères d'exclusion.....  | 67        |
| <b>II. Comparaison des issues de tentatives en AMP.....</b>                               | <b>67</b> |
| 1. Critères d'inclusion.....  | 68        |
| 2. Critères d'exclusion.....  | 68        |
| <b>Résultats.....</b>   | <b>69</b> |
| <b>I. Analyse des spermogrammes.....</b>  | <b>69</b> |
| 1. Volume de l'éjaculat.....  | 72        |
| 2. Numération en spermatozoïdes.....  | 74        |
| 3. Nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat.....                                | 76        |
| 4. Mobilité des spermatozoïdes.....   | 79        |
| 5. Vitalité des spermatozoïdes.....   | 80        |
| 6. Morphologie des spermatozoïdes.....  | 82        |
| <b>II. Analyse des issues des tentatives en AMP.....</b>                                  | <b>84</b> |
| 1. Résultats des Inséminations intra utérines.....  | 84        |
| 2. Résultats des FIV.....   | 85        |
| <b>Discussion.....</b>  | <b>87</b> |
| <b>I. Revue bibliographique.....</b>  | <b>87</b> |
| <b>II. Nos résultats.....</b>   | <b>91</b> |
| 1. Volume de l'éjaculat.....  | 91        |
| 2. Numération en spermatozoïdes et nombre total de spermatozoïdes dans tout l'éjaculat .. | 92        |
| 3. Mobilité des spermaotozoïdes.....  | 92        |
| 4. Vitalité des spermatozoïdes.....   | 93        |
| 5. Morphologie des spermatozoïdes.....  | 93        |
| 6. Cas des patients ayant un IMC inférieur à 18.....                                      | 94        |
| 7. Issues des tentatives en AMP.....  | 95        |
| <b>Conclusion.....</b>  | <b>97</b> |
| <b>Bibliographie.....</b>   | <b>98</b> |

## Index des tableaux

|   |    |
|---|----|
| Tableau 1 : Classification pondérale en fonction de l'IMC .....   | 21 |
| Tableau 2 : Peptides influençant la prise alimentaire .....   | 30 |
| Tableau 3: Composition biochimique du plasma séminal en fonction des différentes portions du tractus génital (25) .....                         | 43 |
| Tableau 4 : Part des facteurs masculins et féminins dans les infécondités du couple (29).....   | 44 |
| Tableau 5 : Analyse descriptive de la population .....  | 70 |
| Tableau 6 : Volume (en ml) de l'éjaculat en fonction de l'IMC .....   | 72 |
| Tableau 7 : Valeurs de p pour les comparaisons deux à deux des volumes de l'éjaculat dans chacun des groupes .....                              | 73 |
| Tableau 8 : Pourcentage (effectif) de patients présentant une hypospermie en fonction de l'IMC.....   | 73 |
| Tableau 9 : Numération des spermatozoïdes (en millions par ml) en fonction de l'IMC .....   | 75 |
| Tableau 10 : Valeurs de p pour les comparaisons deux à deux des numérations en spermatozoïdes par millilitre dans chacun des groupes.....       | 75 |
| Tableau 11 : Pourcentage (effectif) de patients présentant une oligozoospermie en fonction de l'IMC .....                                       | 76 |
| Tableau 12 : Nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat en fonction de l'IMC .....  | 77 |
| Tableau 13 : Valeurs de p pour les comparaisons deux à deux du nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat dans chacun des groupes ..... | 77 |
| Tableau 14 : Pourcentage (effectif) de patients présentant un nombre total de spermatozoïdes diminué en fonction de l'IMC.....                  | 78 |
| Tableau 15 : Mobilité a+b (en %) en fonction de l'IMC .....   | 79 |
| Tableau 16 : Pourcentage (effectif) de patients présentant une asthénozoospermie en fonction de l'IMC .....                                     | 80 |
| Tableau 17 : Vitalité moyenne par groupe d'IMC .....  | 81 |
| Tableau 18 : Pourcentage (effectif) de patients ayant une nécrozoospermie dans chaque groupe d'IMC.....   | 81 |
| Tableau 19 : Pourcentage moyen de formes typiques en fonction des groupe d'IMC .....  | 82 |
| Tableau 20 : Pourcentage (Effectif) de patients présentant une tératozoospermie en fonction de l'IMC .....                                      | 83 |
| Tableau 21 : Résultat des tentatives en IIU pour les différents groupes .....   | 85 |
| Tableau 22 : Résultat des tentatives en FIV ICSI et TEC pour les différents groupes .....   | 86 |

## Index des figures

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 : Prévalence de l'obésité dans les 16 départements de France métropolitaine couverts par la cohorte Constances (d'après le Bulletin épidémiologique hebdomadaire, octobre 2016) (1) ..... | 24 |
| Figure 2 : Les différents mécanismes liant obésité et cancer (10) .....  | 27 |
| Figure 3 : Les différents modes d'action de la Leptine (20).....   | 29 |
| Figure 4 : Schéma anatomique du testicule (25).....  | 32 |
| Figure 5 : Coupe transversale d'un tube séminifère observé au microscope (26) .....  | 33 |
| Figure 6 : Les étapes de la spermatogénèse (27) .....  | 35 |
| Figure 7 : Morphogénèse du spermatozoïde au cours de la spermiogénèse (25) .....   | 36 |
| Figure 8 : Voies de synthèse de la testostérone (28) .....   | 39 |
| Figure 9 : Voie de signalisation des androgènes .....  | 41 |
| Figure 10 : Les différentes étiologies des hypofertilités / infertilités masculines .....  | 45 |
| Figure 11 : Schéma d'une cellule de Neubauer modifiée.....   | 49 |
| Figure 12 : Les différentes anomalies morphologiques du spermatozoïde (31) .....   | 51 |
| Figure 13 : Micro Injection d'un spermatozoïde dans un ovocyte (35).....   | 54 |
| Figure 14 : Nombre de spermatozoïdes par ml chez 1351 donneurs de 1973 à 1992 (36).....  | 55 |
| Figure 15 : Mobilité des spermatozoïdes en % chez 1351 donneurs entre 1973 et 1992 (36) .....  | 56 |
| Figure 16 : Morphologie des spermatozoïdes en % de forme typique chez 1351 donneurs entre 1973 et 1992 (36).....   | 57 |
| Figure 17 : Taux d'élévation de la testostéronémie en fonction de la réduction pondérale (40).....   | 58 |
| Figure 18 : Différents mécanismes aboutissant à l'hypotestostéronémie chez l'homme obèse .....   | 60 |
| Figure 19 : <i>Flow chart</i> de la cohorte de patients.....   | 71 |
| Figure 20 : Evolution intra individuelle de la numération (d'après Paulsen 1984 données non publiées).....   | 74 |
| Figure 21 : Association entre le nombre total de spermatozoïdes (oligozoospermie et azoospermie) et l'IMC (56) .....   | 88 |
| Figure 22 : Effet de l'obésité sur le taux de grossesse (60) .....   | 90 |
| Figure 23 : Effet de l'obésité sur le taux de naissance vivante (60).....  | 90 |

## Liste des abréviations

AMP : Aide médicale à la procréation  
ARC : Noyau arqué  
ATP : Adénosine tri phosphate  
CMCO : Centre médico-chirurgical obstétrique  
DHA : Acide docosahexaénoïque  
DHT : Dihydrotestostérone  
FIV : Fécondation *in vitro*  
FSH : Hormone foliculo stimulante  
HCG : Hormone chorionique gonadotrope  
HOMA : Homeostasis Model Accessment of Insuline Resistance  
ICSI : Intra cytoplasmic sperm injection  
IGF : Insulin growth factor  
IIU : Insémination intra utérine  
IL 6 : InterLeukine 6  
IMC : Indice de masse corporelle  
IOP : Insuffisance ovarienne précoce  
LH : Hormone lutéinisante  
MMPs : Métalloprotéases matricielles  
NPY : Neuropeptide Y  
OATS : Oligoasthénotérazoospermie  
OMS : Organisation mondiale de la santé  
PAI 1 : Plasminogen activator inhibitor 1  
PPAR : proliférateurs des peroxysomes activés  
RA : Récepteur des androgènes  
SHBG : Sex hormone binding globulin  
SOPK : Syndrome des ovaires polykystiques  
TGF : Transforming growth factor  
TNF $\alpha$  : Tumeur necrosis factor  $\alpha$   
VTA : Aire ventrale tegmentale  
HUS : Hôpitaux universitaires de Strasbourg

## Introduction

L'obésité est aujourd'hui un fléau partagé par presque toutes les régions du monde. Longtemps considérée comme une maladie affectant essentiellement les adultes des pays occidentaux, elle touche désormais massivement les enfants et sa prévalence augmente largement dans les pays en voie de développement. Parallèlement, on constate depuis quelques décennies une considérable baisse de qualité du sperme chez l'homme et de plus en plus de consultations de couples en aide médicale à la procréation (AMP). Les effets néfastes d'un poids excessif sur la santé sont déjà bien décrits, on pense notamment aux conséquences cardio-métaboliques. En revanche, certains pans, comme l'impact sur la fertilité masculine, ont pour le moment été bien moins explorés. Il paraît donc légitime de se poser la question des relations entre ces deux phénomènes. Pour se faire, nous avons réalisé une étude rétrospective sur une période de plus de trois ans sur une cohorte de patients venant au Centre Médico-Chirurgical Obstétrique (CMCO) des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS).

Dans une première partie, nous nous intéresserons à l'obésité, son épidémiologie et sa physiopathologie puis à la reproduction masculine, en effectuant les rappels anatomiques et physiologiques qui s'imposent sur la spermatogénèse et les moyens de l'explorer. Nous reviendrons donc sur le spermogramme-spermocytogramme et son interprétation ainsi que sur les modifications que l'obésité peut induire sur le bon fonctionnement de l'appareil reproducteur de l'homme.

La seconde partie sera consacrée aux résultats de notre étude. Celle-ci se divise en deux phases puisque nous avons d'une part analysé les résultats des spermogrammes des patients du CMCO en fonction de leur Indice de masse corporelle (IMC) et dans un deuxième temps, nous nous sommes concentrés sur les issues des tentatives des couples en AMP afin de voir si le poids de l'homme a un retentissement sur les taux de grossesse et de naissance. Nous exposerons puis discuterons ainsi les résultats obtenus ici au regard de la littérature afin de dégager des enseignements sur un sujet pour lequel peu de certitudes existent pour l'instant.

# Généralités

## I. Obésité

### 1. Définition

L'obésité est une maladie chronique d'évolution pandémique (1). Elle se définit comme un excès de masse grasse associé à une augmentation du risque de développer de multiples pathologies cardio-métaboliques (dyslipidémies, diabète de type 2, hypertension artérielle), articulaires, psychiatriques (dépression) et de nombreux cancers.

### 2. L'IMC

Le moyen de mesure standard le plus simple de l'obésité est la mesure de l'indice de masse corporelle (IMC) qui est le rapport du poids (en kg) et de la taille (en m) au carré.

L'IMC est un paramètre couramment utilisé aujourd'hui, l'OMS a ainsi établi une classification pondérale en fonction de la valeur calculée.

Tableau 1 : Classification pondérale en fonction de l'IMC

| Classification         | IMC (kg/m <sup>2</sup> ) |
|------------------------|--------------------------|
| Insuffisance pondérale | < 18,5                   |
| Poids normal           | 18,5 – 24,9              |
| Surpoids               | 25 – 29,9                |
| Obésité (classe 1)     | 30 – 34,9                |
| Obésité (classe 2)     | 35 – 39,9                |
| Obésité (classe 3)     | ≥ 40                     |

Si la mesure de l'IMC est un moyen évident de caractériser l'obésité, il existe néanmoins plusieurs limites à cette mesure. En effet il ne s'agit que d'une approximation de la masse grasse de l'individu (qui peut être mesurée plus précisément par hydrodensitométrie, absorptiométrie biphotonique à rayon X ou encore par des radio-isotopes) et cet outil n'est pas recommandé aux âges extrêmes de la vie, que ce soit chez l'enfant comme chez la personne âgée.

### 3. Epidémiologie

#### a) Obésité dans le monde

Depuis plusieurs dizaines d'années, partout dans le monde, la prévalence du surpoids et de l'obésité tend à augmenter à un rythme préoccupant, touchant aussi bien les pays développés que les pays en voie de développement.

Ainsi, on peut constater que dans de nombreux pays, la prévalence de l'obésité a doublé, triplé voire quadruplé ces trente dernières années.

Si les tendances séculaires se confirment, 38 % de la population mondiale devrait se retrouver en surpoids ou obèse d'ici à 2030. Il paraît évident que la croissance économique, l'industrialisation, l'urbanisation, les nouveaux moyens de transports, la sédentarité ou encore les changements de comportement vis à vis de l'alimentation sont autant de paramètres qui alimentent la progression du surpoids et de l'obésité dans les pays occidentaux. Il est aussi étonnant de constater qu'aucun pays n'échappe à cette progression, y compris les pays les plus pauvres. En effet, on y constate aujourd'hui une coexistence de la malnutrition, plutôt dans les régions rurales, et de l'obésité, davantage présente dans les zones urbaines. (1, 2, 3)

Un autre phénomène particulièrement inquiétant est l'augmentation impressionnante de la prévalence de l'obésité chez l'enfant. Longtemps mésestimée, il s'agit aujourd'hui d'un problème majeur de santé publique. Devant certains chiffres alarmants (jusqu'à 49% des garçons et 42% des filles seraient en surpoids et jusqu'à 26 % des garçons et 17 % des filles seraient obèses selon une étude menée sur 12 pays européens pour des enfants âgés de 6 et 9 ans) l'OMS a lancé plusieurs campagnes de grande envergure pour tenter d'inverser le cours des choses (2, 4).

## b) Obésité en France

La France n'échappe bien entendu pas à cette tendance. Deux études majeures ont été réalisées ces dernières années à l'échelle nationale, l'étude Obépi/Roche (5) en 2012 et l'étude Constance (1) en 2016.

Dans la première, menée sur 25714 individus âgés d'au moins 18 ans et représentatifs de la population française, 32,3% des français sont en surpoids et 15 % sont obèses. On constate également qu'en 15 ans (de 1997 à 2012), la prévalence de l'obésité a doublé et celle de l'obésité de classe 3 a quadruplé.

La seconde étude, menée sur 28895 individus âgés de 30 à 69 ans, conclut que 41 % des hommes et 25,3 % des femmes sont en surpoids et que 15,8 % des hommes et 15,6 % des femmes sont obèses en France en 2016. Elle met également en évidence la relation inversée qui existe entre le niveau socio-économique et l'IMC. En effet, plus le niveau de revenu est faible plus la prévalence de l'obésité est importante et ceci aussi bien pour l'homme que pour la femme. Ainsi, on constate que 9,1% des hommes gagnant plus de 4200 euros brut mensuel sont obèses contre 23% pour ceux gagnant moins de 1500 euros. Enfin, l'étude Constance a mis en évidence l'existence d'un véritable gradient de l'obésité en France lorsque l'on se déplace du Sud-Ouest vers le Nord Est (1). La prévalence de l'obésité est plus faible dans les régions du Sud-Ouest (13,3 % dans les Pyrénées, Atlantiques ou en Haute Garonne) que dans le Nord et l'Est (22,9 % en Meurthe et Moselle ou 25,6 % dans le département du Nord).

### Prévalence (%) de l'obésité dans les 16 départements de France métropolitaine couverts par la cohorte Constances\*

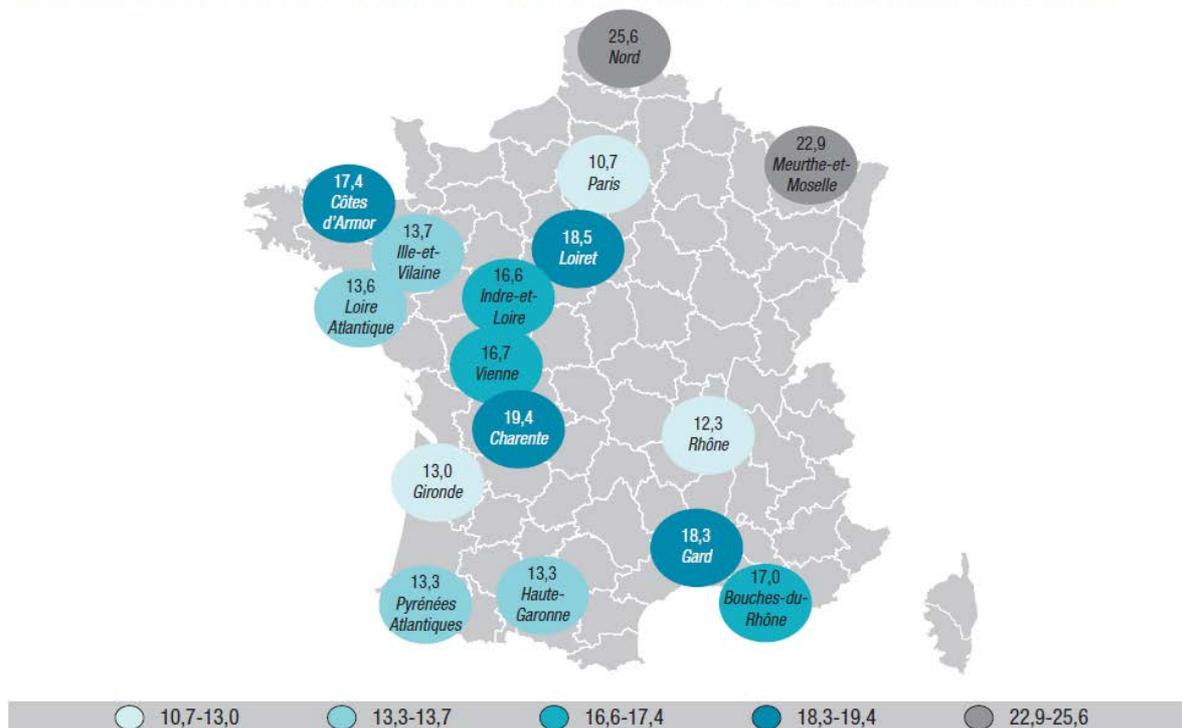


Figure 1 : Prévalence de l'obésité dans les 16 départements de France métropolitaine couverts par la cohorte Constances (d'après le Bulletin épidémiologique hebdomadaire, octobre 2016) (1)

#### c) Obésité en Alsace

D'après les résultats de l'étude Obépi/Roche, l'Alsace n'est pas épargnée et suit la même trajectoire que le reste du territoire. Les chiffres montrent que 9,1 % des alsaciens étaient obèses en 1997, 12,2 % en 2000, 16,2 % en 2006 et 18,6 % en 2012. La prévalence de l'obésité y est supérieure à celle de la population française en général (15 %) et ceci peut être mis en parallèle avec les résultats de l'étude Constances où l'on observe l'augmentation de l'obésité à mesure que l'on se déplace vers le Nord et l'Est du pays. (5)

Une autre source d'inquiétude est celle de l'obésité infantile. Selon l'Agence régionale de Santé, l'Alsace est en 2016 la première région de France touchée par le surpoids et l'obésité chez les enfants. Parmi les enfants de 7 et 8 ans, 15,3 % sont en surpoids avec le tiers d'entre eux (5,4%) obèses (6). Lorsque l'on connaît l'évolution de l'obésité infantile à l'âge adulte et la difficulté pour ces derniers de retrouver un jour un poids normal, on comprend aisément que ce sera une des problématiques majeures de santé publique dans les années à venir.

#### 4. Physiopathologie du surpoids et de l'obésité

##### a) Phases de constitution et de stabilisation

La physiopathologie de l'obésité relève de causes multifactorielles dont les mécanismes soulignent l'importance cruciale du contrôle pondéral pour le maintien d'une bonne santé.

Il s'agit d'une maladie chronique évoluant en plusieurs phases, la première étant la prise de poids (ou phase de constitution), qui résulte naturellement d'un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports et les dépenses. Si les dépenses sont pour les trois quarts imputables au métabolisme de repos (65 %) et à la thermorégulation (10%), un quart d'entre elles est lié à l'activité physique sur laquelle le sujet peut intervenir. Les apports quant à eux peuvent augmenter le plus souvent par modification du comportement alimentaire tel qu'une destruction du rythme (prise d'aliments extra prandiale), une teneur calorique des repas augmentée en fin de journée, une baisse des glucides complexes au profit d'une augmentation des rations lipidiques, etc. Même si le terrain génétique, environnemental ou encore émotionnel du sujet est susceptible de favoriser le développement de l'obésité (en intervenant sur les systèmes de contrôle de la balance énergétique), il est bel et bien démontré que ce sont les modifications rapides des habitudes alimentaires et la promotion des activités sédentaires de plus en plus importantes ces dernières années qui ont toutes deux contribué largement à cet accroissement de prévalence.

Lors de cette phase de constitution, peu de complications sont observées. Au contraire, lors de la phase de stabilisation où un équilibre s'installe entre les apports et les dépenses, les complications apparaissent. (7)

##### b) Les pathologies secondaires au surpoids et à l'obésité

###### *L'insulinorésistance*

Sur le plan métabolique, l'obésité est le plus souvent associée à une insulinorésistance. L'insulinorésistance est définie comme un défaut d'action de l'insuline sur ses tissus cibles que sont le muscle cardiaque, le muscle squelettique, le tissu adipeux et le foie. Elle conduit à terme au diabète de type 2 où coexistent un défaut de sensibilité à l'insuline et une baisse de sa sécrétion. Elle serait liée à l'infiltration des tissus, notamment musculaires, par des lipides en raison d'un flux permanent et accru d'acides gras libres plasmatiques. Ces perturbations métaboliques s'accompagnent

généralement d'un dysfonctionnement mitochondrial du muscle squelettique via une diminution de la phosphorylation oxydative, dysfonctionnement qui a été récemment proposé comme le principal facteur causal responsable des pathologies métaboliques associées à l'obésité. (8)

#### *Les pathologies cardiovasculaires*

L'augmentation de la prévalence des pathologies cardiovasculaires en cas d'obésité est démontrée depuis longtemps. Si les causes sont multifactorielles, le syndrome métabolique qui associe hypertension artérielle, hypercholestérolémie et insulino-résistance n'y est pas étranger. En revanche, il semblerait que l'IMC ne soit pas le meilleur indicateur du risque cardiovasculaire en cas d'obésité puisque le tour de taille ou le ratio tour de taille sur tour de hanche serait mieux corrélé à l'apparition d'évènements de ce type. (9)

#### *Les pathologies articulaires*

Sur le plan articulaire, on comprend aisément que l'excès de poids expose les articulations à une usure prématurée, due aux forces supplémentaires qui s'exercent sur elles. En outre, ces forces sont anormalement réparties par rapport à un individu de morphologie classique. Dès lors, les premières cibles touchées sont les genoux puis les hanches et ainsi de suite. L'atrophie musculaire qui s'ajoute (suite à l'infiltration des lipides dans les tissus musculaires) ne permet pas de contrebalancer le phénomène mais au contraire l'amplifie.

#### *Les cancers*

L'augmentation de la prévalence des cancers dans la population obèse est aujourd'hui indéniable. De nombreux facteurs y contribuent. On constate ainsi l'existence d'un environnement pro-inflammatoire chez le patient obèse, avec une augmentation des médiateurs de l'inflammation comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 ou le PAI-1 qui potentialisent le développement tumoral. En outre, l'insulino-résistance dont nous avons déjà parlé précédemment provoque une stimulation d'IGF et une baisse d'adiponectine (voir chapitre suivant) favorisant également le développement de cellules cancéreuses. Enfin, l'hypoxie inhérente à l'obésité amplifie le développement de molécules pro angiogéniques (TGF  $\beta$ , MMPs) créant ainsi un microenvironnement idéal pour le développement de cellules tumorales (10). Ces différents mécanismes associant obésité et cancers sont résumés dans la figure 2.

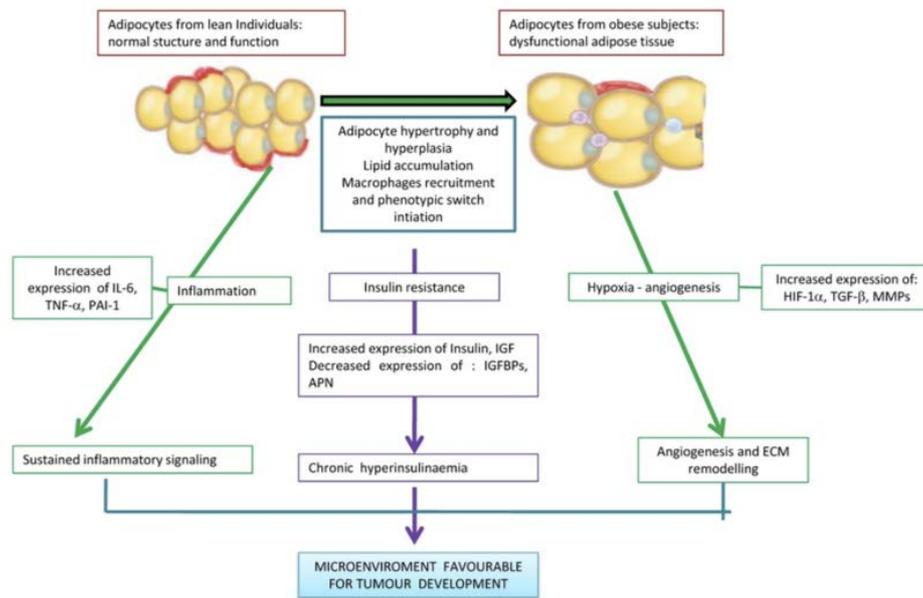


Figure 2 : Les différents mécanismes liant obésité et cancer (10)

### Les maladies psychiques

Enfin, on peut également ajouter les maladies psychologiques à la longue liste des troubles associés à l'obésité, en particulier la dépression, liée probablement à la fois aux interactions sociales mais également à des perturbations au niveau des neuromédiateurs et en particulier la sérotonine. (11)

### c) Les médiateurs de l'obésité

#### L'adiponectine

L'accumulation de tissu adipeux en cas de prise de poids massive mérite que l'on s'y attarde. Ce tissu possède des caractéristiques métaboliques uniques lui conférant un véritable statut de glande endocrine. Il est capable de sécréter des substances médiatrices de l'inflammation, de l'athérosclérose, de l'hypertension et bien d'autres potentiellement impliquées dans le développement du syndrome métabolique et des complications qui lui sont associées. Parmi ces hormones adipeuses, encore appelées adipokines, on trouve notamment l'adiponectine, physiologiquement diminuée chez le patient obèse. Ses propriétés sont multiples puisqu'elle a un rôle anti-inflammatoire, qu'elle augmente la sensibilité à l'insuline et qu'elle améliore la fonction endothéliale. Sa concentration plasmatique basse chez le patient en surpoids pourrait être en partie

responsable des désordres cardiovasculaires et de l'augmentation de la prévalence des cancers dans cette population (voir figure 2).

### *La leptine*

La seconde adipokine ayant un rôle majeur est la leptine. C'est en 1994 que l'équipe de Friedman (12) a cloné le gène ob codant pour la leptine, protéine de 16 KDa, dont la mutation à l'état homozygote est responsable de l'obésité chez la souris. Ce gène est porté chez l'homme par le chromosome 7 (12, 13).

Si la leptine est principalement sécrétée à partir du tissu adipeux, des récepteurs à la leptine ont été localisés dans le système nerveux central et dans tous les tissus périphériques, avec une expression préférentielle dans l'hypothalamus, le poumon, le rein, le muscle et les gonades (14, 15, 16).

La leptinémie est fortement corrélée avec l'IMC même si à poids équivalent, il existe des variations interindividuelles importantes. Une réduction pondérale d'environ 10 % chez un individu obèse se traduit par une baisse de la leptinémie de plus de 50 % et l'inverse se vérifie également, puisqu'on a constaté qu'une augmentation de 10 % du poids provoque une multiplication par 3 des taux de leptine plasmatique (17). L'hypothèse principale émise pour justifier l'hyperleptinémie de l'obèse est l'augmentation de sa synthèse adipocytaire associée à une forme de résistance acquise et non une baisse de sa clairance (18). On peut ajouter à cela que l'environnement pro-inflammatoire présent chez l'individu obèse participe à son augmentation. Lors d'un sepsis par exemple, les concentrations circulantes de leptine tendent à augmenter de façon spectaculaire sous l'effet du TNF- $\alpha$  ou de l'IL 1 (19).

Les effets de la leptine sur la prise alimentaire en font une hormone satiétogène via l'inhibition de médiateurs orexigènes comme le neuropeptide Y (NPY) au niveau du noyau arqué (ARC) mais également sur les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (VTA) et sérotoninergiques dans le tronc cérébral (20). La résistance à la leptine présente dans la population obèse serait donc une des nombreuses causes de la prise de poids.

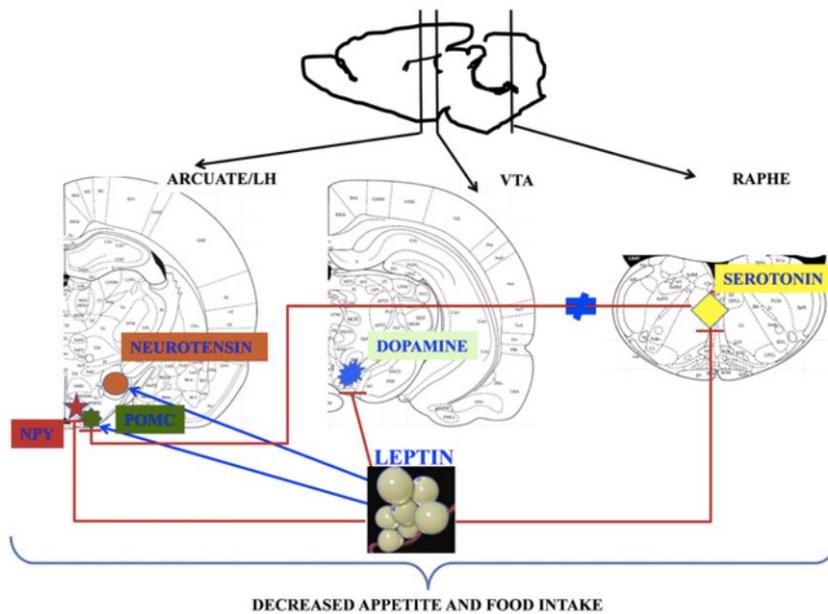


Figure 3 : Les différents modes d'action de la Leptine (20)

Il est également important de préciser les effets pléiotropes de la leptine. Elle semble notamment jouer un rôle dans la mise en place de l'insulinorésistance, indépendamment du degré d'adiposité du sujet (21, 22) mais aussi au niveau testiculaire où elle est corrélée négativement à la testostéronémie. En effet, elle pourrait réguler l'axe gonadotrope par l'intermédiaire des kisspeptines. Des mutations homozygotes du gène de la leptine sont responsables d'un hypogonadisme hypogonadotrope associé à une obésité sévère et précoce. Des mutations homozygotes et hétérozygotes composites du gène du récepteur à la leptine donnent le même phénotype et représenteraient 3 % des obésités sévères à début précoce (23).

Enfin, une action directe de la leptine au niveau des gonades est décrite, puisqu'elle exerce une diminution de la réponse des cellules de Leydig à la stimulation par la LH via une diminution du nombre de récepteurs LH/HCG leydigiens, aboutissant ainsi à une baisse de testostérone, comme nous le verrons dans la suite (24).

#### *Les autres médiateurs*

Toute une série d'autres médiateurs sont encore impliqués dans la mise en place ou le maintien de l'obésité. Nous les citerons brièvement en précisant leur action principale sur la prise alimentaire sans entrer davantage dans les détails.

Tableau 2 : Peptides influençant la prise alimentaire

| Peptide          | Effet sur la prise alimentaire |
|------------------|--------------------------------|
| Cholecystokinine | Diminue                        |
| Oxyntomoduline   | Diminue                        |
| GLP 1            | Diminue                        |
| Peptide YY       | Diminue                        |
| Apéline          | Diminue                        |
| Sérotonine       | Diminue                        |
| Enterostatine    | Diminue                        |
| Ghréline         | Augmente                       |

d) Les autres théories

D'autres pistes récentes permettent d'expliquer le développement rapide de l'obésité dans nos pays. Il s'agit de la théorie microbienne, notamment de la microflore intestinale et de « l'empreinte » fœtale. En effet, le changement de flore microbienne intestinale est capable à la fois de modifier nos capacités digestives et d'activer l'inflammation postprandiale physiologique. Ainsi, tout changement alimentaire provoque un changement de flore susceptible de favoriser le développement de l'obésité. C'est probablement ce qui se passe dans les pays subissant la « transition nutritionnelle » comme en Asie du sud-est et qui explique aussi la prévalence de l'obésité dans ces pays émergents (cf plus haut). D'autres facteurs semblent également être déterminants pour le devenir métabolique et notamment la vitesse de croissance durant les premières années de vie, la précocité du « rebond d'adiposité » (phase de croissance rapide de la masse grasse après 6 ans), l'alimentation maternelle pendant la grossesse ou encore l'existence ou non d'un diabète gestationnel. Enfin, d'autres explications ont été avancées telles que la dette de sommeil, l'utilisation de psychotropes ou la présence de perturbateurs endocriniens. Toutefois, des études de grandes envergures sont encore nécessaires pour mesurer leur importance dans ce processus (7).

#### e) Les solutions

Si l'excès d'énergie perturbe de nombreuses fonctions dans l'organisme, toute stratégie visant d'une part à réduire la disponibilité en acides gras, par la voie des lipides alimentaires, et d'autre part à augmenter leur utilisation au cours de l'exercice est une approche pertinente de prévention des maladies consubstantielles à l'expansion du tissu adipeux. D'autres approches visent à modifier les comportements sur le long terme à travers une démarche d'éducation thérapeutique. L'ensemble permet ainsi de mettre en place des stratégies nutritionnelles, physiques ou médicamenteuses pour lutter contre le développement de l'obésité et ses complications (7).

Nous allons maintenant revenir sur l'anatomie et la physiologie de la reproduction chez l'homme, notions indispensables à la bonne compréhension de la suite de ce travail.

## **II. Rappel anatomique et physiologie de la reproduction chez l'homme**

Le sexe est déterminé lors de la fécondation. Il dépend du chromosome sexuel transmis par le spermatozoïde X ou Y donnant ainsi un embryon génétiquement femelle ou mâle qui engendrera une cascade d'évènements complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire, aboutissant à un appareil génital féminin ou masculin. C'est l'anatomie et la physiologie de cet appareil génital masculin que nous rappelons ici, afin de mieux comprendre les perturbations qui pourront être engendrées par le surpoids ou l'obésité.

## 1. Anatomie

### a) Les testicules

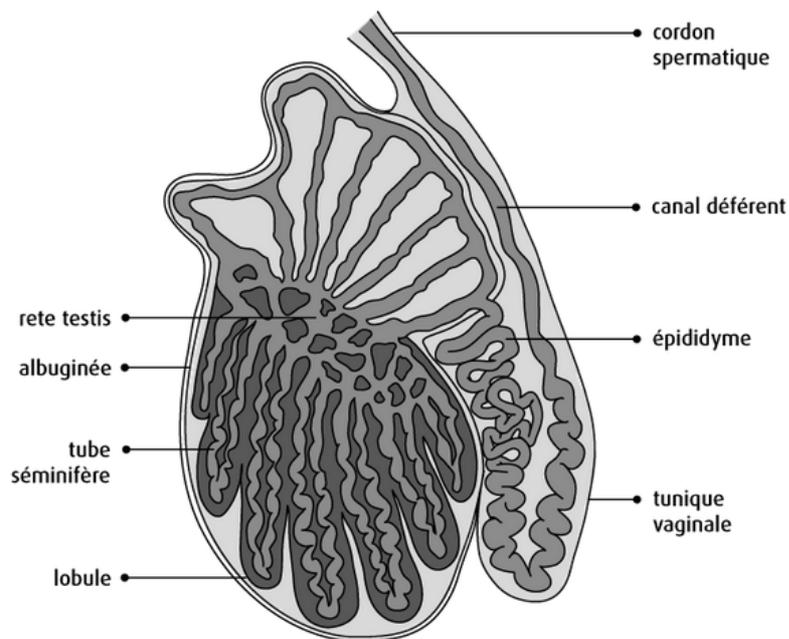


Figure 4 : Schéma anatomique du testicule (25)

Les testicules, organes génitaux masculins, sont des organes pairs. Un testicule adulte normal, représenté figure 4, présente une forme ovoïde non symétrique avec un grand axe mesurant 4 à 5 centimètres pour 3 centimètres de petit axe et une épaisseur de 2.5 centimètres. Le testicule est recouvert par une capsule fibreuse constituée de collagène et de cellules musculaires lisses : l'albuginée. Celle-ci présente des prolongements en profondeur formant des cloisons dans la glande testiculaire délimitant ainsi jusqu'à 300 lobules, chacun contenant un à quatre tubules séminifères pelotonnés. Le tissu interstitiel situé entre les tubules comporte notamment des vaisseaux et des îlots de cellules endocrines : les cellules de Leydig. Ces dernières sont responsables de la production de testostérone.

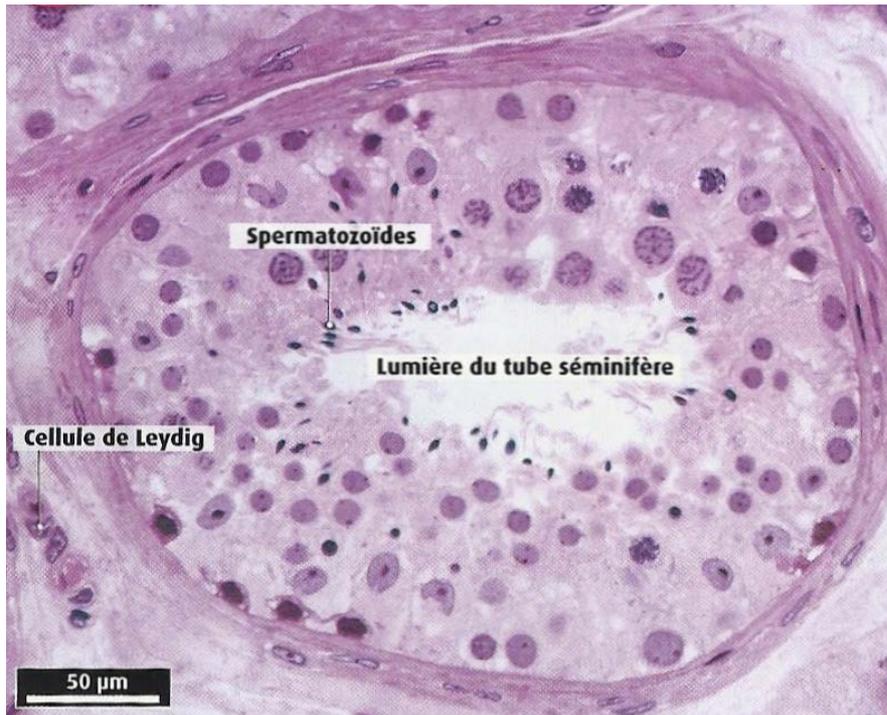


Figure 5 : Coupe transversale d'un tube séminifère observé au microscope (26)

Les tubules séminifères sont en connexion avec le rete testis qui assure le lien avec les canaux efférents, assurant la jonction entre testicule et épiddyme. Les tubes séminifères sont principalement constitués de cellules germinales à tous les stades de maturation, et de cellules de soutien, les cellules de Sertoli.

Le testicule est localisé dans le scrotum à l'extrémité du cordon spermatique. Il est recouvert par le muscle crémaster dans lequel cheminent les vaisseaux, l'artère testiculaire, les veines testiculaires et épiddymaires, le canal déférent et les artères et veines déférentielles. Les veines testiculaires se regroupent sous la forme du plexus pampiniforme apposé à l'artère testiculaire à la partie dorsale du testicule.

L'innervation du testicule est réalisée par un réseau de fibres nerveuses suivant la même arborisation que celle des vaisseaux sanguins.

A l'intérieur du scrotum, la température est inférieure de 3 à 5 degrés à celle du corps. C'est une condition indispensable au bon déroulement de la spermatogénèse. Différentes situations aboutissant à une température excessive dans le scrotum peuvent ainsi influencer négativement la spermatogénèse telles qu'une varicocèle (dilatation variqueuse importante des veines du cordon spermatique), une exposition importante à la chaleur ou encore une obésité abdominale.

Le testicule possède donc une fonction gamétogène avec la production de spermatozoïdes à partir de la puberté et une fonction endocrine avec la production de testostérone par les cellules de Leydig (25).

## b) L'épithélium séminifère

Il existe trois grands types de cellules germinales : les spermatogonies, les spermatocytes et les spermatozoïdes sur lesquelles nous reviendrons plus loin. Ces cellules sont localisées, dans l'ordre mentionné, de la base vers la lumière du tube séminifère. Les cellules de Sertoli assurent le soutien des cellules germinales et sont présentes tout le long de l'épithélium séminifère. Elles sont également primordiales pour la protection et la nutrition des cellules germinales et permettent la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Elles ont une activité de synthèse (inhibine B notamment) et de phagocytose et sont stimulées par la FSH (25).

## c) Le tractus urogénital

A la sortie du testicule, le tractus génital comprend tout d'abord les épидидymes puis viennent les canaux déférents et les canaux éjaculateurs. Ces derniers confluent avec l'urètre prostatique. A partir de là, le tractus devient urogénital et médian avec les différentes portions de l'urètre (prostatique, membraneux et pénien). Les glandes associées au tractus sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales encore appelées glandes de Cowper. Les rôles principaux du tractus sont de permettre le transport et la maturation des spermatozoïdes depuis les testicules vers l'extérieur, ainsi que de fournir les sécrétions nécessaires à la formation du sperme.

Nous allons maintenant revenir sur la spermatogénèse, phénomène central de la reproduction masculine.

## 2. La spermatogénèse

La spermatogénèse se met en place lors de la puberté. Elle se définit comme un processus de multiplication et de différenciation cellulaire, partant des cellules souches et aboutissant à la formation des spermatozoïdes testiculaires.

Elle est divisée en trois grandes étapes que sont la phase de multiplication des cellules souches, la méiose (ou phase de maturation) et enfin la spermiogénèse (ou phase de différenciation).

a) Les grandes étapes

La phase de multiplication concerne les spermatogonies, cellules souches diploïdes localisées à la périphérie du tube, contre la membrane basale. Ces cellules subissent une succession de mitoses (maintien du pool de spermatogonies), dont la dernière aboutit à la formation de spermatocytes primaires, également diploïdes (une spermatogonie donne quatre spermatocytes primaires).

Au terme de ces divisions commence la méiose qui concerne les deux générations de spermatocytes (primaires I ou secondaires II). Un spermatocyte I à  $2n$  chromosomes subit la première division de méiose et donne ainsi deux spermatocytes II à  $n$  chromosomes. Chaque spermatocyte II subit la deuxième division de méiose et donne deux spermatozoïdes à  $n$  chromosomes. Ce processus de divisions successives des spermatocytes diploïdes aboutit à la formation de spermatozoïdes haploïdes.

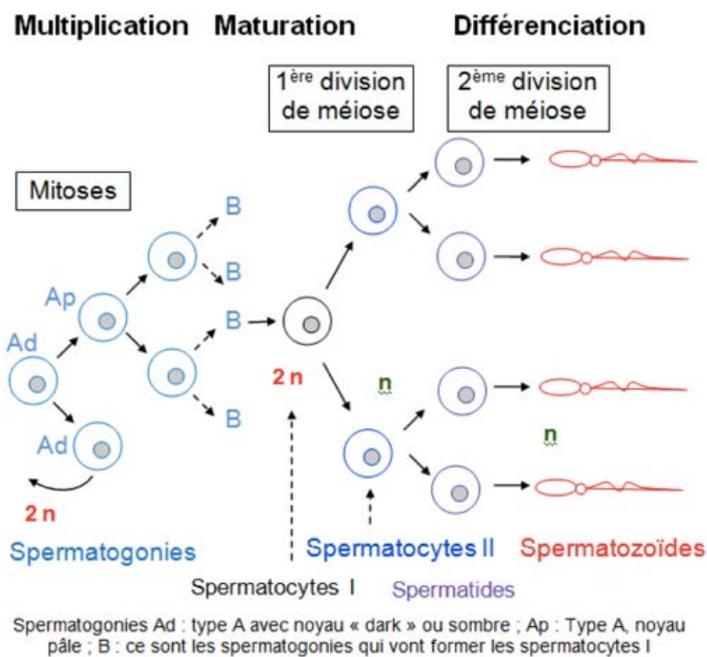


Figure 6 : Les étapes de la spermatogénèse (27)

Enfin, lors de la spermiogénèse, les spermatozoïdes deviennent spermatozoïdes. Il n'y a alors plus de divisions cellulaires mais des processus morphogénétiques très complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire permettant la réorganisation du noyau, la mise en place de l'acrosome, la perte de la majeure partie du cytoplasme et l'assemblage des structures du flagelle. Les spermatozoïdes matures qui sont ainsi devenues spermatozoïdes testiculaires, se détachent de l'épithélium séminifère et sont excrétés dans la lumière des tubules. Le cycle complet de spermatogénèse dure environ soixante jours (25).

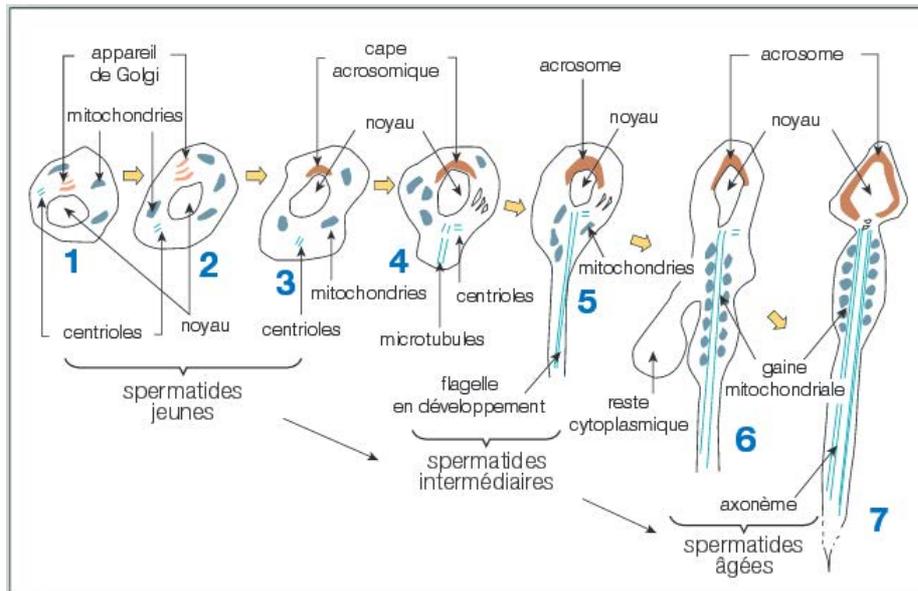


Figure 7 : Morphogénèse du spermatozoïde au cours de la spermiogénèse (25)

S'en suit une maturation des spermatozoïdes au niveau de l'épididyme, prérequis indispensable pour la fécondation. Au cours de son transit, le spermatozoïde rencontre des environnements variés, notamment dans la composition en protéines. Dans la partie proximale de l'épididyme, il est soumis à l'action d'enzymes et est exposé à des protéines susceptibles de modifier sa membrane. Dans le corps de l'épididyme prédominent des protéines et des enzymes associées au transport des stérols, modulant ainsi la composition membranaire et permettant l'ancrage de protéines ayant un rôle majeur dans la liaison à la zone pellucide. Enfin dans la queue de l'épididyme, le spermatozoïde est confronté à des activités antimicrobiennes de plus en plus importantes, ainsi qu'à des enzymes lytiques et des protéines qui permettront la fusion ovocytaire.

Dans l'épididyme, les spermatozoïdes sont aussi décapacités au contact du liquide séminal : les spermatozoïdes perdent alors momentanément leur possibilité de fusion avec les autres membranes, qu'ils retrouveront plus tard dans le tractus génital féminin.

C'est aussi lors du passage dans l'épididyme que le spermatozoïde acquiert sa mobilité, condition nécessaire (mais pas suffisante) à la fécondation. On observe donc un pourcentage croissant de spermatozoïdes mobiles de la tête à la queue de l'épididyme. Les mécanismes permettant au spermatozoïde de devenir mobile ne sont encore que partiellement connus, mais il a été mis en

évidence le rôle important des fortes concentrations en AMP cyclique et en calcium et des conditions strictes de pH.

Les gamètes mâles peuvent également être stockés dans l'épididyme et y survivre jusqu'à trois semaines environ.

#### b) Activité métabolique

L'activité métabolique du spermatozoïde est quasi nulle : il n'y a pas de synthèse d'ARN, comme en témoignent la compaction de la chromatine ainsi que l'absence de nucléole et de pore nucléaire ; il n'y a pas de synthèse de protéine, comme en atteste l'absence de ribosome. Seule persiste l'activité respiratoire des mitochondries, le mouvement flagellaire exigeant un apport important d'ATP.

#### c) Patrimoine génétique

Du point de vue de l'équipement chromosomique, il y a deux sortes de spermatozoïdes. En effet, la méiose séparant les deux éléments de la paire XY, elle fournit en nombre égal des spermatozoïdes à 22 autosomes + X et d'autres à 22 autosomes + Y. Ils ne sont pas distinguables morphologiquement les uns des autres, mais il existe des moyens de les séparer *in vitro*.

#### d) Production de spermatozoïdes au cours de la vie

La production de spermatozoïdes commence à la puberté et dure jusqu'à un âge très avancé, quatre-vingt ou même quatre-vingt-dix ans, avec toutefois un rendement de plus en plus réduit. Les premières spermatogonies apparaissent au cours de la vie fœtale dès la fin du troisième mois du développement et se multiplient jusqu'avant la naissance sans phase de maturation. A la puberté, la multiplication reprend et c'est seulement à ce moment-là que sont produits les premiers spermatocytes primaires, qui entameront leur phase de maturation nucléaire et cytoplasmique. La multiplication des spermatogonies, et partant de là la production de spermatozoïdes, dure ensuite grâce au maintien d'un pool de spermatogonies souches.

La production de spermatozoïdes augmente jusqu'à l'âge de 20 ans et diminue ensuite progressivement ; elle est estimée à 250 millions par jour à 20 ans, à 120 millions à 50 ans et à 50

millions à 70 ans. Ce sont là des chiffres moyens, car il y a de très nombreuses variations inter individuelles, on voit ainsi des concentrations en spermatozoïdes allant de 0 à 200 millions par ml (différences liées d'abord au nombre de cellules de Sertoli). Il existe également des variations intra individuelles, avec des concentrations allant couramment du simple au quintuple, qui sont apparemment anarchiques, car dépendantes d'un grand nombre de paramètres et en premier lieu le rythme des éjaculations. La fréquence des cas de non production de spermatozoïdes (azoospermie) augmente avec l'âge, de 5% à 30 ans jusqu'à 50% à 80 ans, associée à une baisse dans le temps de la mobilité et du nombre de formes typiques.

### 3. Rôle hormonal dans l'épididyme

#### a) Voie de synthèse des androgènes

La fonction épидидymaire est contrôlée de manière complexe par plusieurs hormones et facteurs de croissance. La testostérone étant le facteur principal intervenant à la fois dans le développement, le maintien et la maturation des spermatozoïdes. On trouve également de la 5- $\alpha$ -DHT qui a un rôle central dans la maturation des spermatozoïdes.

La testostérone est l'androgène le plus important chez l'homme. Elle est synthétisée dans les gonades et la corticosurrénale (une très faible partie est également attribuée au foie et au tissu adipeux) à partir du cholestérol d'abord converti en prégnénolone. A partir de cette dernière, il existe deux voies qui aboutissent à la production de testostérone, la voie  $\Delta 5$  passant par la synthèse d'androstènediol et la voie  $\Delta 4$  empruntant le chemin de la fabrication de progestérone.

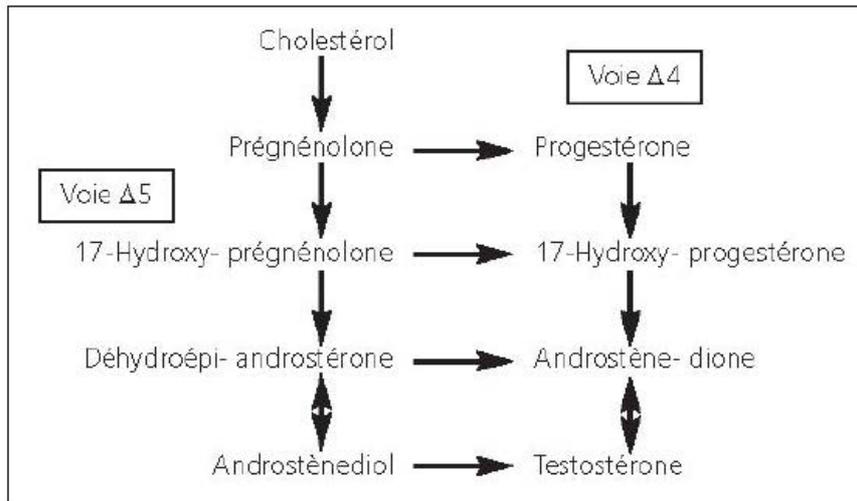


Figure 8 : Voies de synthèse de la testostérone (28)

Dans le testicule, la testostérone est synthétisée dans les cellules de Leydig où la voie  $\Delta 5$  est prépondérante et semble responsable de la quasi-totalité de la production chez l'homme adulte.

#### b) Voie de signalisation des androgènes

Une fois synthétisées, la testostérone et la 5- $\alpha$ -DHT assurent l'essentiel de l'action androgène chez l'homme en activant la transcription de nombreux gènes. Bien que la testostérone soit l'androgène prédominant dans la circulation périphérique avec une concentration dix à douze fois supérieure à la 5- $\alpha$ -DHT, celle-ci peut être plus élevée localement au niveau tissulaire.

#### *Le récepteur des androgènes (RA)*

L'action des androgènes sur l'expression génomique passe par un capteur spécifique unique : le récepteur des androgènes (RA). Celui-ci est largement distribué dans l'organisme. Les concentrations les plus élevées sont présentes dans les organes sexuels que sont la prostate et les testicules chez l'homme, mais aussi dans le cœur, le muscle et le foie, alors que les concentrations dans les autres tissus androgéno-sensibles, comme l'os par exemple, sont beaucoup plus basses. Ce facteur de transcription dépendant d'un ligand (la testostérone ou la 5- $\alpha$ -DHT) appartient à la super-famille des récepteurs nucléaires qui comprend le récepteur des hormones stéroïdes (récepteur des œstrogènes, récepteur de la progesterone, récepteur des glucocorticoïdes et récepteur des minéralo-corticoïdes), des hormones thyroïdiennes, de la 1-25 di-hydroxy-vitamine D et les récepteurs de l'ecdysone et des

proliférateurs des peroxysomes activés (PPAR). De plus, de nombreuses protéines nucléaires ont une structure analogue au RA sans ligand identifié (récepteurs orphelins). Des analyses comparatives de la structure et de la fonction des récepteurs stéroïdes nucléaires ont montré une grande homologie avec une organisation structurale commune comprenant quatre domaines différents : domaine de transactivation N-terminal, domaine de liaison à l'ADN, domaine de liaison du ligand C-terminal et une région charnière. Bien que les domaines soient distincts, ils interagissent entre eux : par exemple, tant que le domaine de liaison du ligand n'est pas occupé par un androgène, il bloque la transactivation par le domaine N-terminal qui lui-même empêche la liaison avec l'ADN. L'interaction entre les extrémités amine et carboxyl est nécessaire à la stabilisation du RA activé par un androgène et la disposition spatiale du dimère, ainsi qu'au recrutement de protéines co-activatrices telles que SRC1, TIF2 et CBP.

Le RA est une protéine de 110-114 kda composée de 910-919 acides aminés. Les variations de longueur tiennent au nombre variable des répétitions de triplets dans l'exon 1 du gène du récepteur. En effet, si les domaines de liaison à l'ADN et de liaison au ligand ont une très forte homologie, il n'en va pas de même pour le domaine N-terminal qui possède un allongement polyglutamine de longueur variable.

#### *Mécanisme d'action des androgènes*

La testostérone circulante est pour sa plus grande part sous forme liée et notamment à la Sex hormone binding globulin (SHBG). La testostérone libre va passer la membrane cytoplasmique par diffusion passive où elle sera prise en charge par la 5  $\alpha$  réductase pour devenir la dihydrotestostérone (DHT). Le RA cytoplasmique inactif se lie alors à la DHT, entraînant un changement conformationnel qui l'active. Le premier complexe RA-DHT s'unit alors à un second pour former un homodimère qui migre dans le noyau et se lie avec une très haute affinité à des sites de liaison spécifiques de la chromatine nucléaire contigus aux gènes androgéno-dépendants (régions ARE). C'est ainsi qu'intervient le recrutement de protéines co-activatrices, puis l'activation de la transcription de très nombreux gènes ayant un rôle dans la maturation et la différenciation sexuelle, ainsi que dans l'initiation et le maintien de la spermatogénèse.

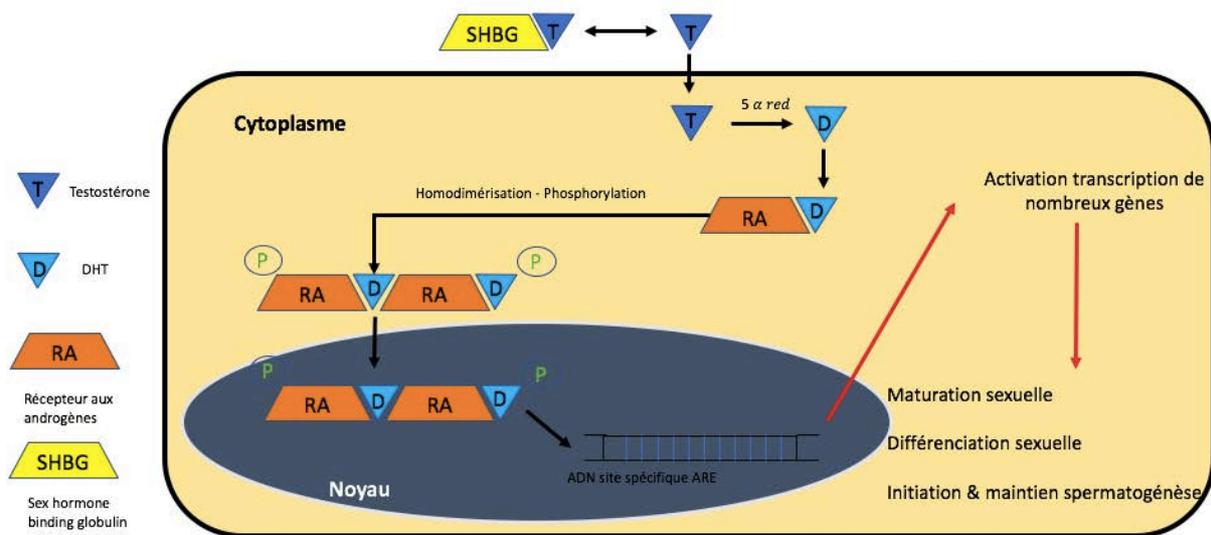


Figure 9 : Voie de signalisation des androgènes

Nous venons de voir la spermatogénèse et le mécanisme d'action des hormones qui la régule. Mais l'éjaculat n'est pas composé uniquement de spermatozoïdes. Nous allons donc maintenant nous intéresser au plasma séminal, liquide dans lequel baignent les gamètes mâles après l'éjaculation.

#### 4. Le plasma séminal

Le plasma séminal, milieu de transport et de survie des spermatozoïdes, entre en contact avec ces derniers au moment de l'éjaculation. Il s'agit d'un fluide biologique complexe contenant un très grand nombre de substances sécrétées à différents niveaux de l'appareil génital.

Tout d'abord l'épididyme qui est, comme nous l'avons vu précédemment, le lieu de maturation des spermatozoïdes où de nombreuses modifications ont lieu. La composition du fluide épидидymaire est riche en ions (Ca, P, Cl, Na...), en composés sucrés (glycérol, inositol...), en enzymes ( $\alpha$  1-4 glucosidase, glycosyltransférase...), ainsi qu'en protéines et en stéroïdes (testostérone, DHT).

Ensuite viennent les sécrétions provenant des vésicules séminales. La fonction la plus connue est la coagulation du sperme, qui se produit immédiatement après l'éjaculation et implique principalement la séménogéline et la fibronectine. Le fructose et le glucose participent au métabolisme énergétique

des spermatozoïdes, la sphingomyéline aurait un effet stabilisant de membrane, les prostaglandines un effet antibactérien et la lactoferrine des vertus immunomodulatrices.

Enfin, la sécrétion prostatique intervient dans la liquéfaction du sperme éjaculé. Le PSA (prostatic specific antigen) hydrolyse la séménogéline et la fibronectine, toutes deux responsables, comme on l'a vu, de la coagulation du sperme. La PAP (phosphatase acide prostatique) et d'autres protéases comme le pepsinogène C contribuent à la dissolution du coagulum (25).

Le tableau 3 récapitule les principaux composants du plasma séminal en fonction de lieu de sécrétion.

Tableau 3: Composition biochimique du plasma séminal en fonction des différentes portions du tractus génital (25)

|  | <b>Epididyme</b>  | <b>Vésicules séminales</b>                             | <b>Prostate</b>   |
|--|---|--|---|
| <b>Ions</b>  | Ca P Cl Na ...  | +/-  | Zn Na K ...   |
| <b>Composés sucrés et azotés</b>                   | Glycérol, inositol, acide sialique, carnitine ...                 | Acides aminés, prostaglandines, fructose, glucose      | Citrate, spermine, spermidine, putrescine   |
| <b>Stéroïdes</b>                                   | Testostérone, DHT   |  |   |
| <b>Enzymes</b>                                     | $\alpha$ 1-4 glucosidase, glycosyltransférase, GGT, Catalase, SOD | Anhydrase carbonique, 5-nucléotidase                   | PAP, pepsinogène, lactate deshydrogénase, protéines kinases, GGT, diamine oxydase ... |
| <b>Lipides</b>                                     | Glycérophosphoryl choline   | Sphingomyéline, phosphatidylsérine                     | Cholestérol   |
| <b>Protéines</b>                                   |   | Transferrine, lactoferrine, séménogéline, fibronectine | Albumine, $\alpha$ -1 glycoprotéine acide, PSA, EGF ...                               |
| <b>pH</b>  | Acide   | Alcalin  | Acide   |
| <b>Proportion en volume dans le plasma séminal</b> | 5 %   | 65 %   | 30 %  |

De manière générale, l'activité sécrétoire est, tout au long du tractus génital, sous le contrôle des androgènes. Un déficit androgénique, quelle que soit son origine, réduit de façon significative les sécrétions, tant de l'épididyme que des vésicules séminales ou de la prostate. La testostérone atteint l'épididyme par la circulation mais surtout par le fluide testiculaire. Elle est convertie dans les cellules de l'épithélium épидидymaire ainsi que dans la prostate et les vésicules séminales en son dérivé actif, la 5  $\alpha$ -DHT (voir figure 9). D'autres hormones comme les œstrogènes, l'aldostérone ou la prolactine

semblent également susceptibles d’agir au niveau de l’épididyme, sur les vésicules séminales et sur la prostate. Enfin, les innervations adrénergique et cholinergique des parois du tractus génital interviennent également dans la régulation des activités sécrétoires.

De nombreux acteurs sont donc indispensables au bon fonctionnement de l’appareil reproducteur masculin. Il est évident que des dysfonctionnements peuvent intervenir à chacune des étapes, pouvant ainsi avoir un retentissement sur la qualité du sperme et aboutir à une hypofertilité, voire une infertilité.

### III. L’infertilité masculine

Pendant bien longtemps, lorsqu’un couple se retrouvait en situation de problème de fertilité, la femme était systématiquement mise en cause, et des explorations lourdes, parfois risquées ou coûteuses étaient entreprises. Avec l’avènement de l’aide médicale à la procréation (AMP) et le développement de techniques diagnostiques et thérapeutiques de biologie de la reproduction, on remarque que les facteurs en cause concernent dans des proportions pratiquement identiques chacun des partenaires. C’est ce que l’on observe dans le tableau 4.

Tableau 4 : Part des facteurs masculins et féminins dans les infécondités du couple (29)

|                   |   | Causes féminines |      |
|-------------------|---|------------------|------|
|                   |   | +                | -    |
| Causes masculines | + | 38 %             | 20 % |
|                   | - | 34 %             | 8 %  |

Aujourd'hui, la stratégie de prise en charge d'un couple consultant pour un problème de fertilité a changé et les investigations du versant masculin sont systématiques, en particulier avant toute prise en charge en AMP. Ces examens sont sans risques, relativement simples, peu coûteux et permettent finalement dans bon nombre de cas (Tableau 4) de trouver une étiologie (Figure 10) à l'hypofertilité du couple. Les pratiques actuelles pour l'exploration de la fertilité de l'homme sont assez homogènes en France. On commence par un interrogatoire précis et un premier spermogramme – spermocytogramme. En fonction des résultats, d'autres examens complémentaires peuvent être envisagés, comme un bilan hormonal (dosage sanguin de la testostérone, de la FSH, de la LH de l'inhibine B et de la prolactine), une échographie des voies génitales, un caryotype ou encore une recherche de microdélétion du chromosome Y.

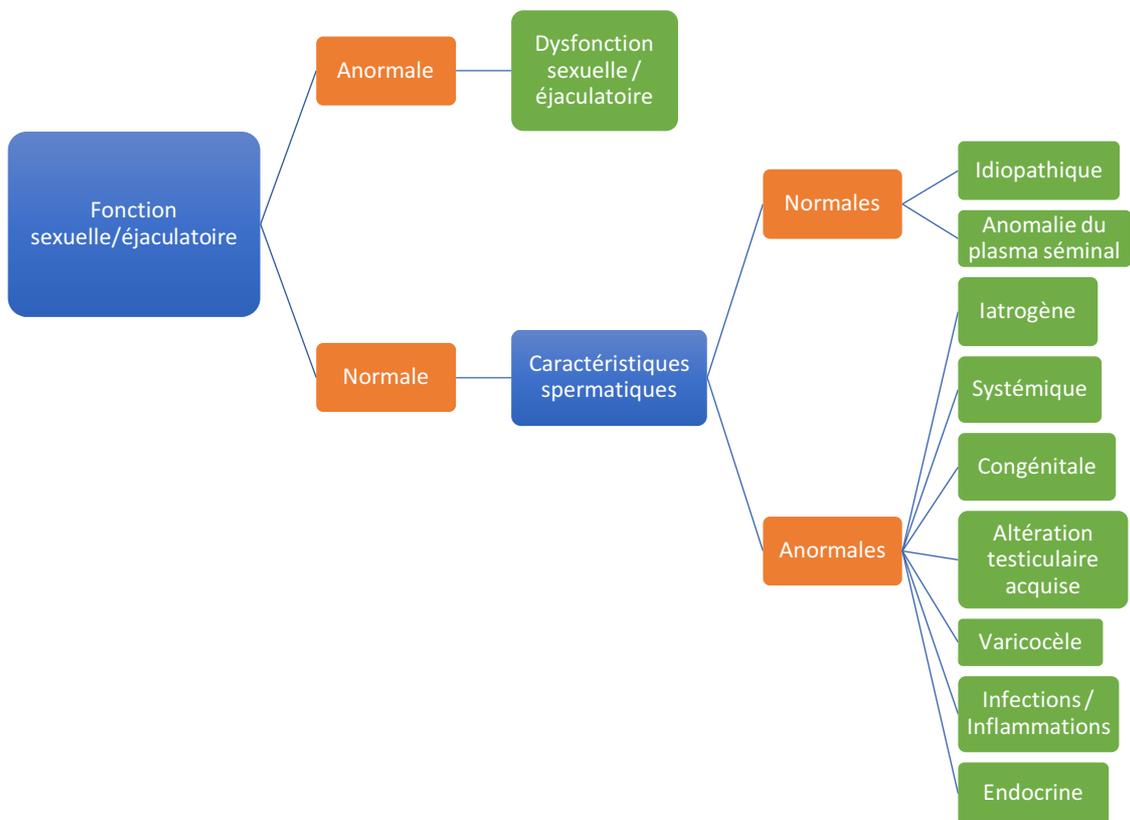


Figure 10 : Les différentes étiologies des hypofertilités / infertilités masculines

Le spermogramme – spermocytogramme est donc l'examen de première intention pour l'exploration de la fertilité masculine. Il convient d'en rappeler le principe et la technique afin de mieux appréhender les résultats obtenus dans l'étude réalisée ici.

#### **IV. Le spermogramme - spermocytogramme**

Le spermogramme regroupe tous les tests réalisés sur le sperme à l'état frais. Le spermocytogramme désigne l'analyse cytologique faite dans un second temps à partir d'un frottis coloré.

Le spermogramme-spermocytogramme reflète, entre autres, les étapes de production, formation et maturation des spermatozoïdes dans les soixante-quatorze jours qui précèdent l'examen. Cette période correspond à la durée d'un cycle complet de spermatogénèse suivi de la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme comme nous avons pu le voir précédemment.

Cet examen fournit d'une part des informations indirectes sur l'état de la voie génitale et des glandes associées que sont la prostate et les vésicules séminales, et d'autre part une évaluation globale des aspects qualitatifs et quantitatifs concernant les spermatozoïdes.

Il est important de préciser que cet examen ne peut en aucun cas définir la capacité fécondante des spermatozoïdes d'un individu, puisqu'il mesure un ensemble de caractéristiques globales du sperme et n'évalue pas les capacités fonctionnelles des spermatozoïdes susceptibles d'atteindre le site de fécondation.

Il est nécessaire de noter que la qualité d'un échantillon de sperme est très variable en fonction des conditions dans lesquelles il a été produit. La collecte du sperme s'effectue dans l'idéal au sein du laboratoire, dans une pièce dédiée. Le délai d'abstinence, le stress, la prise de médicament ou encore le niveau d'excitation sont autant de paramètres qui peuvent influencer de façon significative sur la qualité de l'éjaculat.

Ainsi seront recherchés sur l'éjaculat :

- Le volume de l'éjaculat
- La viscosité
- Le pH
- La présence éventuelle d'agrégats
- La présence éventuelle d'agglutinats (pouvant témoigner de la présence d'anticorps anti spermatozoïdes et motivant des tests immunologiques)
- La mobilité (anciennement classée a, b, c, d et maintenant P, NP, et I)
- La numération des spermatozoïdes
- La numération des cellules rondes
- La vitalité des spermatozoïdes

Nous allons rappeler ici comment sont mesurés les différents paramètres que nous tenterons ensuite d'interpréter.

## 1. Volume de l'éjaculat

Le volume est obtenu par pesée avec une balance à deux décimales. La densité étant voisine de 1, la mesure du réceptacle s'effectue avant et après le recueil. La différence correspond au volume de l'éjaculat du patient. La norme OMS est de 1,5 ml minimum par éjaculat (sous réserve d'un délai d'abstinence conforme), seuil en dessous duquel le patient présente une hypospermie.

## 2. Mobilité des spermatozoïdes

La mobilité se lit après la liquéfaction du sperme dans une étuve entre trente minutes et une heure après l'émission. Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, une goutte de 10 µl de sperme est déposée sur une lame de verre et recouverte d'une lamelle de taille standard de 22 x 22 mm, permettant ainsi d'obtenir une profondeur calibrée de 20 µm où les spermatozoïdes peuvent bouger librement sans qu'ils soient écrasés.

L'évaluation de la mobilité se fait ensuite par comptage de 200 spermatozoïdes sur au moins cinq champs différents, au microscope à contraste de phase. Pour une estimation la plus proche de la réalité, il est préconisé de changer souvent de champs de manière aléatoire et de ne pas attendre que les spermatozoïdes mobiles arrivent dans le champ. Pour se faire, l'OMS recommande d'utiliser un microscope muni d'une platine chauffante (en particulier si l'on veut distinguer les a et les b).

Dans chaque champ observé, les spermatozoïdes sont évalués comme étant :

- Immobilé (I) : Aucun déplacement n'est observé, la tête et le flagelle ne bougent pas.
- Non Progressif (NP) : Le déplacement observé est inférieur à deux longueurs de tête par seconde ou aucun déplacement n'est observé, mais l'on peut voir des oscillations de la tête ou de simples mouvements flagellaires.
- Progressif (P) : Cette classe concerne tous les autres spermatozoïdes non I et non NP.

Dans la classification précédente, l'OMS recommandait d'utiliser quatre catégories, qui correspondaient en réalité à la répartition précédente en partageant les spermatozoïdes P « progressifs » en a « progressifs rapides » et b « progressifs lents ». Pour des questions de subjectivité de l'observateur aboutissant à des variations inter individuelles trop importantes et un intérêt clinique loin d'être certain, cette manière de procéder n'est plus recommandée.

Le seuil OMS pour une mobilité normale est de 30 % au moins de P (anciennement a + b) ou de 40 % au moins de P + NP (anciennement a + b + c). En deçà, le patient est considéré comme présentant une asthénozoospermie.

### 3. Vitalité des spermatozoïdes

La vitalité des spermatozoïdes est estimée par l'intégrité de la membrane des spermatozoïdes. Elle est déterminée de façon systématique sur tous les échantillons ayant une mobilité totale (P + NP) inférieure à 40 %. Ce test permet également de réaliser un contrôle sur l'évaluation de la mobilité puisque le pourcentage de spermatozoïdes morts ne doit pas dépasser le pourcentage de spermatozoïdes immobiles.

Le pourcentage de spermatozoïdes vivants est évalué en identifiant ceux qui ont une membrane cellulaire intacte par exclusion du colorant vital (colorant Eosine-Nigrosine). Les spermatozoïdes morts ont leur membrane cellulaire endommagée, le colorant peut donc pénétrer dans la tête du spermatozoïde et la colorer en rose. Les spermatozoïdes vivants apparaîtront avec une tête blanche.

Le test est réalisé en mélangeant 50 µl de colorant avec 50 µl de sperme homogénéisé, puis en faisant un frottis à partir de la préparation. Après séchage à l'air, celui-ci est examiné au microscope à fond clair au plus fort grossissement (X100) sous huile.

L'observation de 100 spermatozoïdes permet de classer les blancs (ou non colorés) comme étant vivants, et les rouges ou roses comme morts. Lorsque les spermatozoïdes sont colorés uniquement dans la pièce intermédiaire, ils sont considérés comme vivants.

La détermination de la vitalité doit être réalisée immédiatement après la lecture de la mobilité, c'est-à-dire au maximum une heure après l'éjaculation.

L'OMS établit à 58 % de spermatozoïdes vivants le seuil en dessous duquel le patient présente une nécrozoospermie.

#### 4. Numération des spermatozoïdes

La numération des spermatozoïdes s'effectue sur une cellule de Neubauer modifiée après dilution et immobilisation des spermatozoïdes. Le choix de la dilution est déterminé au moment de la mobilité en fonction du nombre de spermatozoïdes observés par champ, sachant que plus l'échantillon sera riche en spermatozoïdes, plus la dilution sera importante.

Le mélange est alors déposé dans une cellule de Neubauer qui contient un quadrillage où le volume est connu (Figure 11). Le principe est de compter 200 spermatozoïdes au moins et de toujours finir une ligne. Puis de calculer en fonction du nombre de lignes comptées dans la cellule pour parvenir aux 200 spermatozoïdes et en fonction de la dilution de départ, le nombre de spermatozoïdes par millilitre de sperme. Le résultat obtenu est exprimé en millions par millilitre sachant qu'en dessous de 15 millions, le patient est considéré oligozoospermique.

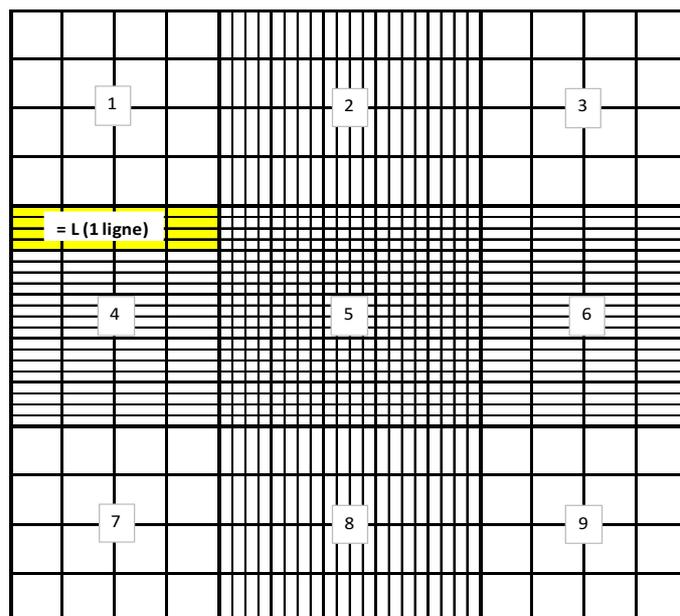


Figure 11 : Schéma d'une cellule de Neubauer modifiée

## 5. Nombre total de spermatozoïdes dans tout l'éjaculat

C'est la numération par millilitre (obtenue ci-dessus) multipliée par le volume. D'après l'OMS, le nombre de spermatozoïdes doit être supérieur à 39 millions par éjaculat (sous réserve d'un délai d'abstinence adéquat).

## 6. Spermocytogramme

Au sein d'un éjaculat, les spermatozoïdes morphologiquement normaux et donc supposés féconds sont minoritaires si l'on se réfère aux valeurs de référence de l'OMS (14 à 30 % de spermatozoïdes qualifiés de « typiques » en fonction de la classification utilisée). Les spermatozoïdes morphologiquement anormaux ont un potentiel fécondant considéré comme réduit, et ceci d'autant plus qu'ils cumulent les anomalies.

Néanmoins, depuis plusieurs années, le véritable impact clinique des altérations morphologiques des spermatozoïdes est remis en cause. La méta-analyse de Gatimel de 2017 conclut d'ailleurs qu'en dehors des anomalies franches (souvent d'origine génétique) telles que la globozoospermie, la macrocéphalie ou la dysplasie de la gaine fibreuse, le pronostic d'un pourcentage de spermatozoïdes typiques diminué est pauvre *in vivo* comme *in vitro* (30).

L'examen morphologique des spermatozoïdes s'effectue sur un frottis lu au microscope (grossissement X 100) en queue de frottis après coloration. Plusieurs colorations sont reconnues aujourd'hui : Papanicolaou, Shorr...

La classification aujourd'hui recommandée par l'OMS est celle de Krüger. Les anomalies sont distribuées en quatre classes :

- Anomalie de la tête
- Anomalie de la pièce intermédiaire
- Anomalie du flagelle
- Présence de restes cytoplasmiques

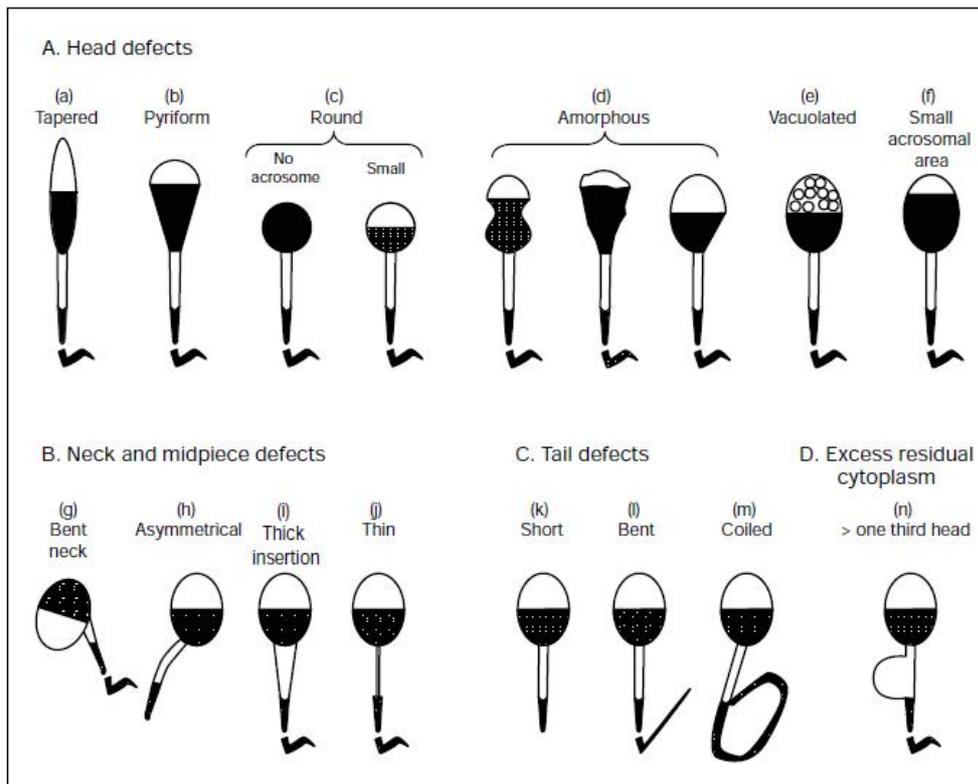


Figure 12 : Les différentes anomalies morphologiques du spermatozoïde (31)

Dans le cadre de notre étude, la classification utilisée pour la morphologie des spermatozoïdes est celle de David modifiée. En effet, les différents laboratoires se mettent peu à peu en harmonie avec les recommandations de l’OMS, ainsi, sur la période où a été effectué le recueil d’informations, les laboratoires n’avaient pas encore adopté la classification de Krüger.

Les principales difficultés du spermocytogramme tiennent au manque d’harmonisation des multiples classifications existantes, ainsi qu’au caractère subjectif de l’analyse microscopique de la morphologie du spermatozoïde. La variabilité inter et même intra opérateur est importante et rend les comparaisons parfois difficiles.

Le spermogramme-spermocytogramme est donc un examen complet qui permettra le plus souvent d’écarter un problème chez l’homme. Cependant, il faut garder à l’esprit que des résultats dans les valeurs usuelles n’excluent pas formellement une infertilité masculine.

Il permettra également, en cas de besoin, d’orienter vers la technique la plus appropriée en AMP.

## V. Les techniques d'AMP

Etant donné l'étude réalisée ci-après, il convient de rappeler brièvement le principe des différentes techniques d'aide médicale à la procréation (AMP) aujourd'hui utilisées.

### 1. L'insémination intra utérine

L'insémination est la plus ancienne des techniques d'AMP. C'est en 1791 qu'a été rapportée la première naissance d'un enfant après insémination artificielle. Elle serait attribuée à John Hunter, un chirurgien anglais qui avait introduit dans les voies génitales d'une femme le sperme de son époux porteur d'une malformation du pénis et de l'urètre. Depuis la seconde moitié du XXème siècle, avec le développement des techniques de préparation du sperme et la meilleure maîtrise de l'ovulation, l'insémination intra-utérine est devenue la méthode d'AMP la plus largement pratiquée (32). Ses indications en ont été précisées : l'impossibilité du transport des spermatozoïdes dans la cavité utérine du fait d'un problème au niveau du col de l'utérus, le plus souvent dû à un mucus cervical de mauvaise qualité et ne pouvant être amélioré, et certaines anomalies qualitatives et quantitatives du sperme.

Une fois l'indication posée, deux événements clés doivent être parfaitement maîtrisés pour optimiser les chances de réussite. La stimulation mono ou bi folliculaire de la partenaire d'une part, associée à un suivi échographique et hormonal précis et d'autre part, la réalisation de la préparation de sperme au laboratoire.

Le monitoring de l'ovulation est indispensable, permettant de surseoir à l'insémination si plus de trois follicules matures sont mis en évidence, sauf exceptions documentées. La stimulation de l'ovulation et son déclenchement tiennent compte de l'âge de la patiente, de l'indication, du nombre de tentatives déjà effectuées et des réponses aux stimulations antérieures.

La préparation de sperme consiste à faire migrer les spermatozoïdes à travers un colloïde aux propriétés physico-chimiques bien précises. Cela permettra de sélectionner des spermatozoïdes mobiles capables de féconder et d'éliminer tout le reste de l'éjaculat, potentiellement toxique pour les spermatozoïdes (plasma séminal, germes, spermatozoïdes morts, etc).

Ces deux étapes clés maîtrisées, l'insémination consiste à déposer la préparation à l'aide d'un cathéter directement dans la cavité utérine le jour J (en pratique 24 à 48 heures après le déclenchement de l'ovulation).

## 2. La Fécondation In Vitro

C'est le 25 juillet 1978 au Royaume-Uni qu'est née Louise Brown, le premier enfant issu de fécondation *in vitro*. Quatre ans plus tard, c'est Amandine, premier bébé français issu de FIV, qui a vu le jour à l'hôpital Bicêtre de Clamart (33, 34). Depuis, ce sont des dizaines de milliers d'enfants qui naissent chaque année dans le monde grâce aux techniques d'AMP.

La fécondation *in vitro* peut être proposée aux couples d'emblée, ou après échecs de plusieurs stimulations simples ou inséminations, en fonction de l'étiologie de l'infertilité. Une étape de stimulation ovarienne est nécessaire, mais cette fois, contrairement à l'insémination intra utérine, l'objectif est d'obtenir un maximum de follicules matures chez la partenaire. A l'issue de cette phase de stimulation hormonale, une ponction ovocytaire aura lieu sous contrôle échographique afin de récupérer un nombre suffisant d'ovocytes matures et potentiellement fécondables. Parallèlement, un recueil de sperme du conjoint sera récupéré puis préparé de la même manière que pour l'insémination. Pour la FIV « simple », les ovocytes et les spermatozoïdes seront alors mis en contact au laboratoire dans le but d'obtenir des embryons. L'évolution du processus est régulièrement observé au microscope pendant plusieurs jours (trois à cinq en règle générale). En cas de fécondation réussie et de bonne maturation (répondant à des critères précis), un à deux embryons seront transférés in utéro.

### a) FIV avec ICSI

Parfois, il est indispensable d'avoir recours à l'injection du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte (ICSI). C'est le cas, la plupart du temps lorsque la qualité du sperme du conjoint n'est pas satisfaisante, ou après plusieurs échecs en FIV classique. Un spermatozoïde est alors choisi (uniquement sur des critères de mobilité et de morphologie), et injecté dans l'ovocyte à l'aide d'une pipette. La maturation et la sélection de l'embryon est alors la même que pour une FIV classique et les taux de réussite comparables.



Figure 13 : Micro Injection d'un spermatozoïde dans un ovocyte (35)

#### b) FIV après transfert d'embryon congelé

Bien évidemment, le nombre d'embryons récupérés après une FIV peut être supérieur à celui transféré, en particulier si la tentative a bien fonctionné. Pendant longtemps, le devenir des embryons non transférés, aussi appelés embryons surnuméraires, a posé des soucis aussi bien éthiques que techniques. Aujourd'hui, la vitrification ovocytaire avec l'accord préalable du couple permet de résoudre ces problèmes et d'augmenter sensiblement les chances des couples ayant recours à ce procédé. Il s'agit d'une congélation ultrarapide, permettant d'éviter la formation de cristaux de glace et de récupérer la quasi totalité des embryons lors de l'étape de décongélation préalable à une nouvelle tentative.

## VI. Obésité et spermatogénèse

En parallèle de cette franche augmentation de la prévalence du surpoids et de l'obésité, on constate une augmentation des problèmes de fertilité masculine depuis plus de quarante ans. En effet, on observe que certains paramètres spermatiques tels que la numération en spermatozoïdes, la mobilité ou le nombre de formes typiques ont largement chuté entre les années 1970 et 2000. L'étude qui fait foi dans le domaine est celle de J. Auger dans *The New England Journal Of Medicine*. Elle montre une baisse du nombre de spermatozoïdes de 2.5 % par an sur vingt ans, soit un passage de 89 millions/ml à 60 millions/ml alors que le volume de sperme reste inchangé (36) (Figure 14).

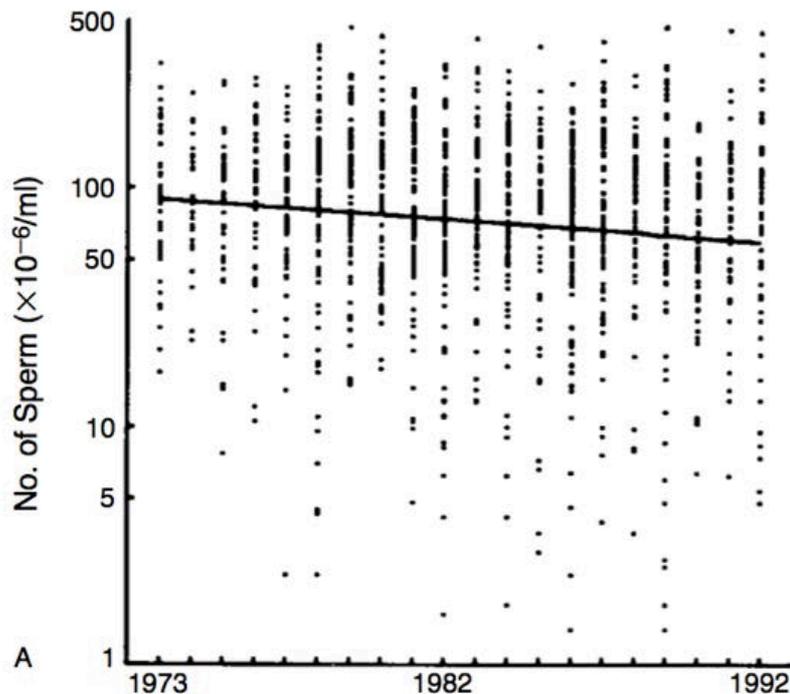


Figure 14 : Nombre de spermatozoïdes par ml chez 1351 donneurs de 1973 à 1992 (36)

La mobilité des spermatozoïdes est également touchée. On constate une diminution de 0,6 % par an sur vingt ans, soit en moyenne une baisse de 12 % (Figure 15).

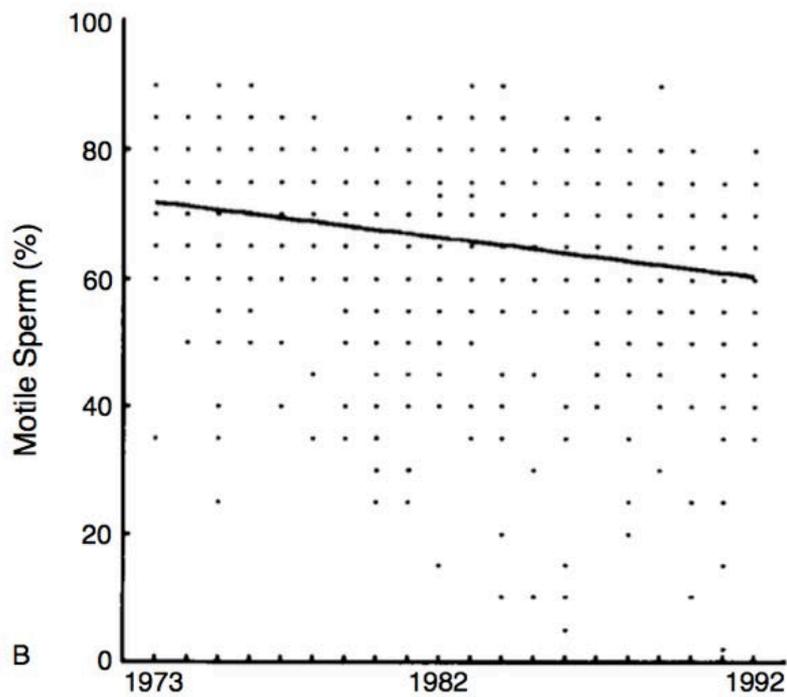


Figure 15 : Mobilité des spermatozoïdes en % chez 1351 donneurs entre 1973 et 1992 (36)

Enfin, pour ce qui concerne la morphologie des spermatozoïdes, on observe une baisse du pourcentage de formes typiques de 0,5 % par an sur vingt ans (classification de David), ce qui aboutit à une moyenne de 10 % de spermatozoïdes morphologiquement anormaux en plus à l'issue de l'étude (Figure 16).

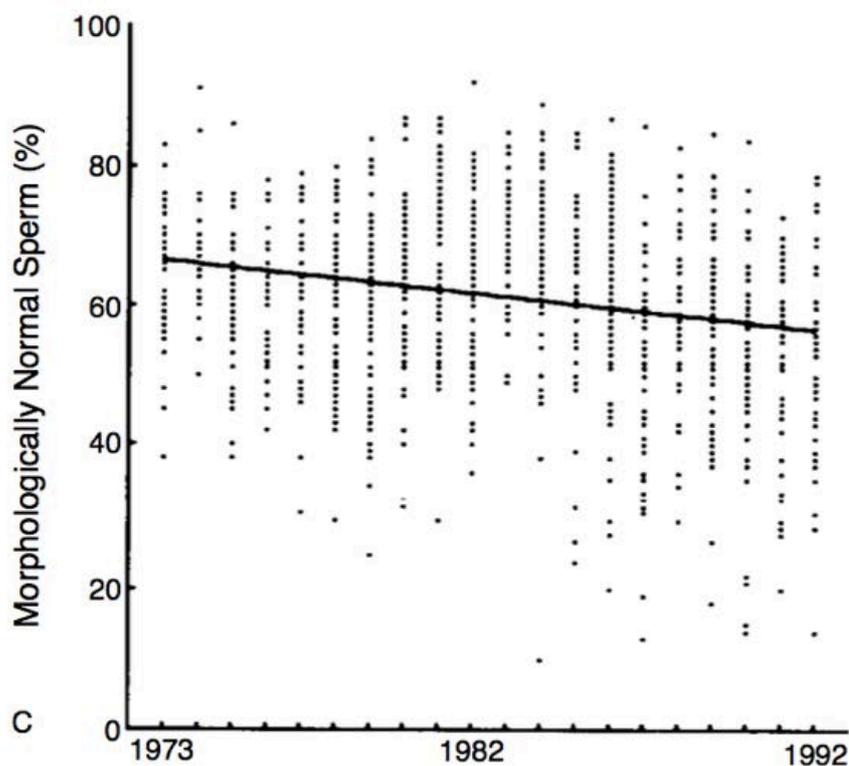


Figure 16 : Morphologie des spermatozoïdes en % de forme typique chez 1351 donneurs entre 1973 et 1992 (36)

Même si de nombreuses autres hypothèses peuvent être faites pour expliquer cette altération franche des paramètres spermatiques depuis de nombreuses années, il paraît légitime de mettre en parallèle l'inquiétante augmentation du surpoids et de l'obésité avec la dégradation manifeste de la qualité du sperme. Ceci est d'autant plus approprié que les modifications hormonales résultant de l'hypertrophie et de l'hyperplasie des adipocytes ont déjà largement été explorées et ont permis de mettre en lumière des liens étroits entre l'obésité et la spermatogénèse. Il faut cependant préciser qu'aujourd'hui le niveau de preuve reste faible. En 2011, la HAS a établi un rapport qui fixait à 3 le niveau (considéré comme faible) de preuve du retentissement de l'obésité sur la fertilité (37).

## 1. Modifications hormonales de l'obésité et impact sur la fertilité

Il a été clairement montré que l'obésité représente un facteur majeur de réduction des taux de testostérone totale et libre et s'associe à une augmentation de l'insulinémie par comparaison à un patient de poids normal (38, 39). L'ascension très significative de la testostéronémie observée après perte de poids comme on le voit dans l'étude de Grossmann (40) (Figure 17) et en particulier après la spectaculaire réduction pondérale qui suit les interventions de chirurgie bariatrique (41), en constitue une démonstration quasi-expérimentale.

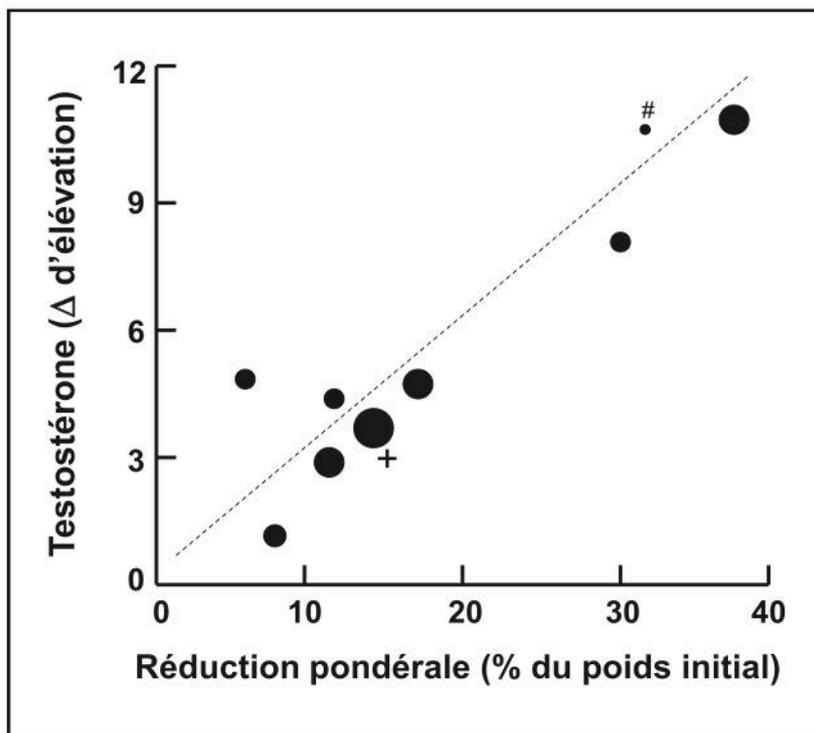


Figure 17 : Taux d'élévation de la testostéronémie en fonction de la réduction pondérale (40)

Les mécanismes physiopathologiques liant surpoids et hypotestostéronémie apparaissent pluriels, tant dans leur nature que dans leurs points d'impact. L'insulinorésistance, en partie liée au surpoids, joue manifestement un rôle à différents niveaux du système hypothalamo-hypophyso-testiculaire. Au cours d'une étude longitudinale effectuée chez 262 patients, une corrélation négative a été mise en évidence entre les variations de la testostéronémie totale et la sensibilité à l'insuline, appréciée par l'index HOMA (Homeostasis Model Assessment of Insuline Resistance) (39). L'hypogonadisme satellite de l'obésité ne s'accompagne pas d'une élévation du taux des gonadotrophines, ce qui traduit une

inertie de la commande gonadotrope. De fait, les obésités massives s'associent à une atténuation des paramètres de la pulsativité de la sécrétion des gonadotrophines, tant sur l'amplitude que sur la fréquence des pics spontanés de LH. Par ailleurs, la réponse de la cellule gonadotrope hypophysaire à la stimulation aiguë par la GnRH est normale, ce qui plaide en faveur d'une altération rythmique d'origine hypothalamique plutôt que d'une paresse de la réponse hypophysaire (42).

Parmi les facteurs potentiellement responsables, qui ne sont cependant pas tous précisément identifiés, certaines interleukines impliquées dans les mécanismes d'insulinorésistance (TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-1 $\beta$  notamment) inhibent la sécrétion de GnRH dans des modèles animaux (43). Par ailleurs, les souris KO pour le récepteur neuronal de l'insuline, modèle murin qui présente certaines analogies avec l'insulinorésistance, développent un hypogonadisme hypogonadotrope (44).

Le deuxième mécanisme liant l'obésité et l'hypotestostéronémie est celui impliquant l'aromatase. En effet, le tissu adipeux est particulièrement riche en aromatase, enzyme qui assure la transformation des androgènes en œstrogènes. Le traitement d'hommes obèses par inhibiteur de l'aromatase induit une élévation nette de la LH et de la testostéronémie ce qui montre que l'augmentation de l'œstradiol circulant issu de la conversion de la testostérone par l'aromatase adipocytaire est un des facteurs clés expliquant l'inertie gonadotrope du patient obèse (45).

On a également pu remarquer que la réponse à la stimulation gonadotrope du testicule de l'homme obèse est réduite par rapport à celle de l'adulte normo-pondéral (46). En effet, comme nous l'avons vu plus haut, l'obésité s'accompagne, outre d'un hyperinsulinisme, d'une augmentation proportionnelle à l'IMC du taux plasmatique de leptine. Les cellules de Leydig du testicule expriment à la fois les récepteurs de l'insuline et de la leptine. L'un et l'autre de ces peptides hormonaux exercent un effet inhibiteur direct sur la stéroïdogénèse testiculaire et pourraient contribuer ainsi à l'atténuation de la réponse du testicule endocrine à la stimulation gonadotrope via le récepteur LH/hCG Leydigien (47) ; c'est ce qu'on appelle la « paresse Leydigienne ».

Enfin, plusieurs études se sont penchées sur l'augmentation de la température scrotale et ses effets sur l'équilibre hormonal et sur la qualité du sperme.

On peut aisément émettre l'hypothèse qu'en moyenne, plus l'indice de masse corporelle du patient est élevé, plus la température scrotale sera importante. Dans une étude chez le chien, les auteurs avaient déplacé et fixé les testicules dans la poche inguinale superficielle pendant un an et 80 % des chiens étaient devenus azoospermiques à l'issue de l'expérimentation. En parallèle, la testostérone

sanguine avait chuté de façon significative. Trois mois après avoir replacé les testicules en position physiologique, les paramètres spermatiques et la testostérone s'étaient normalisés. Une autre étude a alors été réalisée par l'équipe de Mieusset à Toulouse sur 28 volontaires âgés de 36 à 43 ans ayant tous eu des enfants et ayant un bilan andrologique normal. Les testicules avaient été placés en suspension dans la poche inguinale superficielle 24 heures sur 24 pendant un an. A l'issue de l'étude, le volume testiculaire moyen était diminué de 37 % (20 % à 6 mois), les taux sanguins de testostérone significativement diminués et non modifiés pour la LH et la FSH et les paramètres spermatiques étaient effondrés avec 68 % d'azoospermiques. Les 32 % restant avaient moins de 10 millions de spermatozoïdes par millilitre. Après arrêt de l'expérience, les taux hormonaux se sont normalisés en 3 mois, les paramètres spermatiques en 6 mois et le volume testiculaire en environ un an. Devant ces résultats incontestables, on peut supposer que l'augmentation de la température au niveau du scrotum chez le patient obèse, certes moindre que lorsque les testicules sont fixés dans la poche inguinale superficielle mais néanmoins significative, pourrait induire une hypotrophie testiculaire responsable d'une hypotestostéronémie secondaire (Mieusset, Soufir, 2012).

L'abaissement du taux de testostérone plasmatique observé chez l'homme obèse semble donc relever de plusieurs mécanismes conjugués, qui concourent à l'établissement d'un profil combinant hypogonadisme hypogonadotrope, paresse Leydigienne, augmentation de la conversion de la testostérone en œstrogène via l'aromatase adipocytaire et hypotrophie testiculaire secondaire à l'augmentation de la température scrotale (Figure 18).

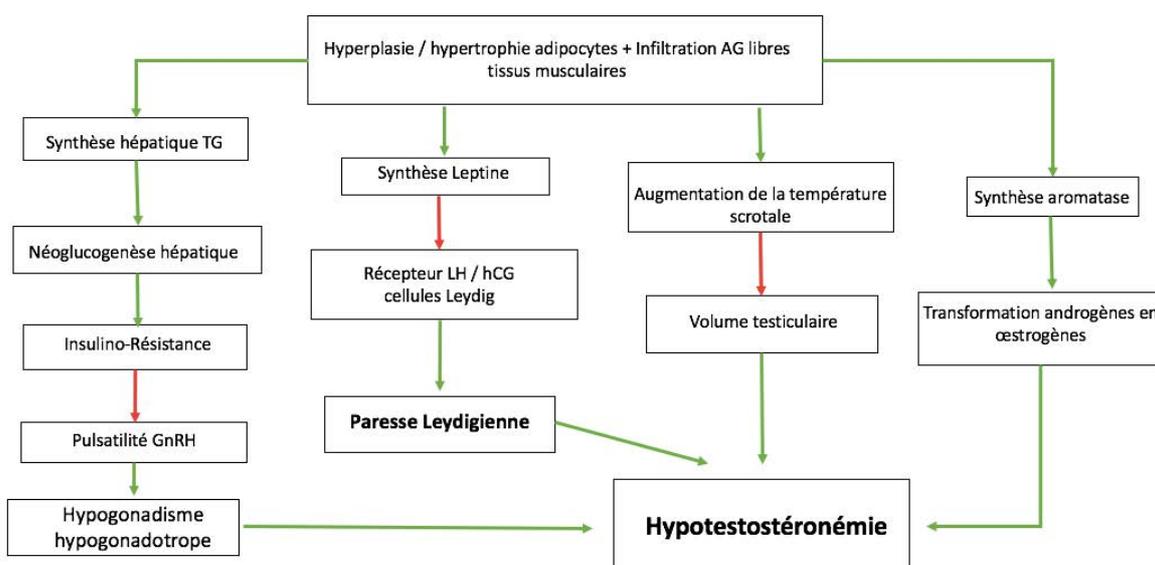


Figure 18 : Différents mécanismes aboutissant à l'hypotestostéronémie chez l'homme obèse

L'obésité semble donc avoir un impact hormonal conséquent, mais d'autres causes pourraient être responsables d'une baisse de fertilité chez l'homme.

## 2. Obésité et taux de fragmentation de l'ADN spermatique

L'évaluation de la fragmentation de l'ADN spermatique permet d'identifier des cassures au niveau de l'ADN du gamète mâle. Le principe est d'incorporer des nucléotides marqués par un fluorochrome au niveau de l'ADN fragmenté puis de mesurer l'intensité de fluorescence. Le taux de fragmentation est considéré comme normal lorsqu'il est inférieur à 30%. Au-delà de ce seuil, le pronostic est considéré comme péjoratif pour concevoir avec ou sans AMP.

De manière générale, le taux de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes est augmenté dans le sperme éjaculé par rapport au taux de fragmentation des spermatozoïdes testiculaires, ce qui suppose que les altérations de l'ADN des spermatozoïdes ont lieu au niveau post testiculaire, c'est-à-dire lors de la maturation épидидymaire, voire lors du contact avec le plasma séminal au moment de l'éjaculation (48).

Si l'environnement pro-inflammatoire retrouvé chez le patient obèse est responsable de l'augmentation de la prévalence des cancers (10), il semble également responsable d'une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique. C'est en tout cas ce que l'on retrouve dans l'étude de Kort de 2006 (49). En effet, quantité de médiateurs pro-inflammatoire tels que le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$  ou encore l'IL-6 sont sécrétés en excès lorsque l'on se trouve en présence d'une hypertrophie et d'une hyperplasie du tissu adipeux, créant ainsi un stress oxydant, qui aura pour effet d'induire une augmentation des radicaux libres de l'oxygène et ainsi d'augmenter l'index de fragmentation de l'ADN spermatique.

## 3. Obésité et composition en acide gras des spermatozoïdes

La composition en acides gras de la membrane des spermatozoïdes s'avère être d'une grande importance pour leurs fonctions. L'étude d'Andersen a montré qu'il existe un lien entre l'IMC et la composition en acide gras des spermatozoïdes. En effet, elle relève qu'il existe une corrélation négative entre l'IMC et les taux d'acide docosahexaénoïc (DHA) et d'acide palmitique dans le sperme.

Or, la teneur en DHA et en acide palmitique dans le sperme est corrélée à la numération, la vitalité, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes. De plus, les taux de DHA sont corrélés négativement à l'index de fragmentation de l'ADN. On constate par ailleurs que la composition en acide gras des spermatozoïdes n'est pas directement liée au type d'acide gras retrouvé dans les phospholipides du sérum ce qui sous-tend que l'obésité affecte la composition en acide gras des spermatozoïdes via une régulation de leur métabolisme qui aurait lieu au niveau du testicule (50).

#### 4. Perte de poids et paramètres spermatiques

D'après ce que l'on vient de relater, on pourrait s'attendre à ce qu'une perte massive de poids, comme par exemple ce que l'on peut observer après une chirurgie bariatrique, entraîne une amélioration des paramètres du spermogramme. En réalité, les résultats ne sont pas si tranchés que cela. Plusieurs études contradictoires sur le sujet ont été publiées ces dernières années. Dans une étude portant sur une cohorte de 46 patients, des résultats encourageants ont été retrouvés pour des patients qui avaient une numération en spermatozoïdes diminuée avant une chirurgie par sleeve-gastrectomy et qui se retrouvent avec des meilleurs résultats de spermogramme à un an post opération. Ainsi, des patients azospermiques avant la chirurgie bariatrique se retrouvent avec des paramètres spermatiques certes toujours inférieurs à la normale, mais permettant d'envisager une autoconservation pour une potentielle utilisation en FIV-ICSI. Pour ces patients, le gain est énorme dans la mesure où leur seule alternative pour concevoir était le recours au don de sperme. D'autres patients oligozoospermiques passaient à des numérations permettant d'envisager le recours à l'insémination plutôt qu'à la FIV et d'autres parvenaient même à éviter les techniques d'AMP. En revanche, les statistiques sur l'ensemble des patients de l'étude ne montraient ni d'augmentation significative de la numération, ni du volume de sperme ou de la mobilité. Seule la testostéronémie était significativement plus élevée après l'opération (51).

D'autres articles font état de résultats encore bien moins probants, puisqu'un *case report* de 2012 montre une aggravation dramatique des paramètres du spermogramme chez deux patients ayant subi une chirurgie bariatrique. Le premier est passé d'une numération à 59 millions par millilitre avec une mobilité à 42 % et un cytogramme avec 31 % de formes typiques, à une numération à 21 millions avec mobilité à 17 % et seulement 18 % de formes typiques. Le second patient quant à lui avait une numération totalement normale avant d'être azospermique après l'opération et aucun spermatozoïde n'a été retrouvé dans la biopsie testiculaire (52).

Un autre *case report* relate des résultats semblables puisque les trois patients concernés avaient des paramètres spermatiques moins bons qu'avant de se faire opérer durant les dix-huit mois de suivi post opératoire. Si aucun ne s'est retrouvé en azoospermie, deux d'entre eux ressortaient avec une oligoasthénotérazoospermie sévère (53).

Des études de plus grandes ampleurs devront être réalisées sur le sujet afin de définir le risque et d'en trouver les explications, mais il est clair que le gain d'une perte de poids franche et rapide sur les paramètres de sperme, qui semblait évident au départ, est à relativiser aujourd'hui. La correction de l'hypotestostéronémie secondaire à l'opération semble être contrebalancée par de probables carences alimentaires et en particulier une carence en vitamine A, élément indispensable au bon fonctionnement de la spermatogénèse. Si davantage de cas se présentaient, une autoconservation de sperme préalable à la chirurgie pourrait s'avérer nécessaire.

## Objectif de l'étude

Comme nous avons pu le voir jusqu'à présent, l'obésité est, à ce jour, une maladie chronique déjà bien installée en France dont l'évolution pour les décennies à venir est loin d'être réjouissante, aussi bien au niveau local qu'au niveau national ou international. Parallèlement à ce phénomène inquiétant, on observe une franche augmentation des consultations de couples pour des problèmes de fertilité dans les différents centres spécialisés et ceci depuis des années. Si des causes évidentes peuvent être mises en avant pour expliquer cela, comme, en premier lieu, le recul de l'âge auquel les femmes désirent concevoir, d'autres facteurs tels que l'environnement, le tabac ou l'alimentation pourraient être mis en avant pour expliquer ce problème. De plus, si l'on se penche sur le versant uniquement masculin, on a pu se rendre compte précédemment que la qualité du sperme diminue sensiblement depuis des décennies sans qu'aucune explication claire ne puisse être donnée.

Dans ce travail, nous avons tenté de relier les deux phénomènes que sont l'obésité masculine et la qualité du sperme. Nous avons essayé d'établir des corrélations entre eux, d'autant que, comme nous avons pu nous en apercevoir plus haut, les modifications hormonales secondaires à l'obésité impactent directement la fonction testiculaire.

L'objectif de ce travail est donc de répondre à plusieurs questions. La première étant de savoir si l'on observe des modifications significatives du spermogramme chez le patient obèse par rapport à celui qui possède un IMC standard. Pour cela, l'idée était de comparer les paramètres spermatiques de tous les patients venant faire des spermogrammes dans notre laboratoire, ainsi que tous ceux ayant recours à l'AMP dans notre centre et ayant réalisé leur spermogramme ailleurs. Les différents paramètres importants de l'examen du sperme ont été étudiés et nous avons tenté d'en tirer des conclusions quant à une éventuelle relation de causalité. L'intérêt est double puisque la population alsacienne est particulièrement touchée par l'obésité d'une part, et parce que d'autre part, cela permet de se focaliser sur l'impact sur notre population de patients. Il est clair que l'obésité, en particulier lorsqu'elle est mesurée par l'IMC, peut être très variable d'un patient à l'autre et d'une région à l'autre.

La deuxième question s'intéresse à la qualité intrinsèque du spermatozoïde chez l'homme obèse par rapport à l'homme ayant un IMC normal et non plus seulement à des paramètres quantitatifs et

observationnels. Pour tenter d'y répondre, nous nous sommes cette fois-ci focalisés sur les issues des tentatives en AMP dans notre hôpital en termes de taux de grossesse par tentative et de taux de naissance vivante par grossesse, en tentant autant que possible de s'affranchir des troubles féminins. La population concernée cette fois, cible les couples venant réaliser une insémination intra utérine ou une fécondation *in vitro* dans notre centre. Le but est de comparer les taux de réussite des différentes techniques d'AMP en fonction de l'IMC de l'homme, afin de voir si l'obésité impacte les chances de réussite, et donc si la capacité fécondante des spermatozoïdes est altérée par le surpoids ou l'obésité.

In fine, l'idée est d'une part, d'observer si les modifications hormonales ayant lieu lors de la prise massive de poids se traduisent par un réel retentissement sur le sperme, aussi bien quantitativement que qualitativement. D'autre part, il s'agit de tenter de mesurer ce retentissement sur les techniques actuelles en AMP pour, si tel est le cas, essayer de convaincre nos patients de maigrir et ainsi augmenter les chances de réussite pour concevoir.

## Matériel et Méthode

L'étude a été réalisée en deux temps. D'une part, nous avons effectué une analyse des paramètres spermatiques afin d'essayer de dégager une tendance de chacun d'eux en fonction de l'IMC des patients. D'autre part, nous avons observé les issues des prises en charge en AMP des couples en termes de taux de grossesse et de taux de naissance vivante en fonction de l'IMC de l'homme, en tentant autant que possible de s'affranchir des éventuels troubles féminins, et ce dans le but d'avoir une population comparable sur ce seul critère de l'IMC masculin.

### **I. Comparaison des paramètres spermatiques**

Nous avons réalisé une extraction, à partir du Logiciel Médifirst, des résultats des spermogrammes de tous les patients présents dans la base de données du laboratoire de biologie de la reproduction du Centre Médico Chirurgical et Obstétrique (CMCO) des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.

Les paramètres étudiés étaient les suivants :

- Volume de l'éjaculat
- Numération des spermatozoïdes par millilitre
- Nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat
- Mobilité (a+b)
- Vitalité
- Morphologie (mesuré en pourcentage de « forme typique »)

## 1. Critères d'inclusion

Nous avons inclus tous les patients ayant un résultat de spermogramme présent dans le logiciel Médifirst entre le 1<sup>er</sup> janvier 2013 et le 30 septembre 2016, en gardant à chaque fois uniquement le premier spermogramme du patient.

## 2. Critères d'exclusion

Nous avons exclu tous les seconds spermogrammes, ou les suivants si les patients en avaient réalisé plusieurs afin d'éviter un biais pour les patients revenant plusieurs fois du fait de résultats pathologiques.

Nous avons également exclu tous les patients pour lesquels l'IMC n'était pas répertorié dans le logiciel.

Enfin, nous avons exclu les valeurs aberrantes ou physiologiquement impossibles, probablement dues à des erreurs dans la saisie des données.

## **II. Comparaison des issues de tentatives en AMP**

Nous avons effectué une extraction à partir du Logiciel Médifirst du centre d'AMP du CMCO des résultats en termes de taux de grossesse et de taux de naissance vivante de toutes les tentatives des couples ayant recours aux différentes techniques proposées : Insémination Intra utérine (IIU), Fécondation *In Vitro* avec micromanipulation (ICSI) ou sans (FIV) et Transfert d'Embryon Congelé (TEC).

Il faut préciser que l'Agence de Biomédecine (ABM) récupère chaque année les résultats des différents centres d'AMP et fait des statistiques qui sont ensuite rendues publiques.

La grossesse a été définie comme la présence d'un  $\beta$  HCG supérieur à 100 sur une prise de sang.

## 1. Critères d'inclusion

Les tentatives en IIU, FIV - ICSI et TEC de tous les couples venus au CMCO lorsque la femme n'avait pas de cause d'infertilité connue ou lorsque l'infertilité était d'origine cervicale ou tubaire pure ont été incluses. La période sur laquelle s'est effectué le recueil des données s'étend du 1<sup>er</sup> janvier 2013 au 31 mars 2016.

## 2. Critères d'exclusion

Nous avons tout d'abord exclu les tentatives n'allant pas au bout, c'est-à-dire les abandons en cours de stimulation (pour quelque raison que ce soit) afin de tenir compte uniquement des résultats lorsqu'eut lieu le transfert (pour les TEC, FIV – ICSI) ou lorsqu'eut lieu l'insémination (pour les IIU).

Ensuite, nous avons exclu tous les couples pour lesquels la partenaire avait une cause d'infertilité connue et objectivée par les gynécologues travaillant avec le centre ; que ce soit une cause génétique, un hypogonadisme hypogonadotrope, un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), une insuffisance ovarienne précoce (IOP) ou encore de l'endométriose.

Nous avons également exclu tous les couples où la partenaire avait un IMC supérieur à 30 et un âge supérieur à trente-huit ans.

Enfin, nous avons exclu les couples où une étiologie masculine était objectivée comme une oligoasthénotérazoospermie (OATS) génétique, iatrogène ou secondaire à une cryptorchidie ou un hypospadias.

# Résultats

## I. Analyse des spermogrammes

### Statistiques descriptives

Les résultats ci-dessous représentent les analyses descriptives de l'ensemble des variables.

Le tableau 5 récapitule les caractéristiques générales de notre échantillon.

*Variable :*

- n : Effectif de la variable
- Min : Minimum
- q1 : Quartile à 25%.
- Médiane.
- Moyenne
- q3 : Quartile à 75%
- Max : Maximum
- s : Ecart-type de la variable
- IQR : Ecart interquartile :  $q3 - q1$
- #NA : Nombre de valeurs manquantes

Tableau 5 : Analyse descriptive de la population

| Variable             | n    | Min  | q1   | Médiane | Moyenne      | q3    | Max  | s     | IQR   | #NA  |
|----------------------|------|------|------|---------|--------------|-------|------|-------|-------|------|
| Age                  | 2947 | 20   | 32   | 36      | <b>36,9</b>  | 41    | 72   | 6,7   | 9     | 0    |
| IMC                  | 2947 | 14,5 | 23,1 | 25,3    | <b>26,1</b>  | 28,1  | 80   | 4,6   | 5     | 0    |
| Formes typiques      | 1389 | 0    | 6    | 12      | <b>16,1</b>  | 23    | 88   | 14,4  | 17    | 1558 |
| Volume de l'éjaculat | 1740 | 0,1  | 2,3  | 3,3     | <b>3,5</b>   | 4,5   | 10,9 | 1,7   | 2,2   | 1207 |
| Numération           | 1793 | 0    | 6,2  | 28      | <b>49,1</b>  | 67,7  | 936  | 64,8  | 61,5  | 1154 |
| Nombre total         | 1704 | 0    | 18,6 | 87,9    | <b>167,6</b> | 219,8 | 6552 | 275,3 | 201,2 | 1243 |
| Mobilité (a+b)       | 971  | 0    | 26   | 41      | <b>39,6</b>  | 55    | 93   | 20,3  | 29    | 1976 |
| Vitalité             | 959  | 0    | 56   | 67      | <b>65,7</b>  | 79    | 98   | 17,9  | 23    | 1988 |

Au total, 7899 spermogrammes ont été récupéré dans le logiciel du laboratoire de biologie de la reproduction du CMCO entre janvier 2013 et septembre 2016 qui représentent 4519 patients.

Les IMC sont répertoriés chez 65.2 % des patients ce qui correspond à 2947 personnes. L'âge est compris entre 20 et 72 ans, l'âge moyen étant de 36,9 ans.

Après arrangement du tableau issu de l'extraction en fonction des critères d'inclusion et d'exclusion, on obtient des résultats de « volume de l'éjaculat » chez 1740 patients, des résultats de « forme typique » pour 1389 patients, des « numérations » pour 1793 patients, un « nombre total de spermatozoïdes dans tout l'éjaculat » pour 1704 patients, une « mobilité » pour 971 patients et enfin une « vitalité » pour 959 patients comme on peut le voir Figure 19.

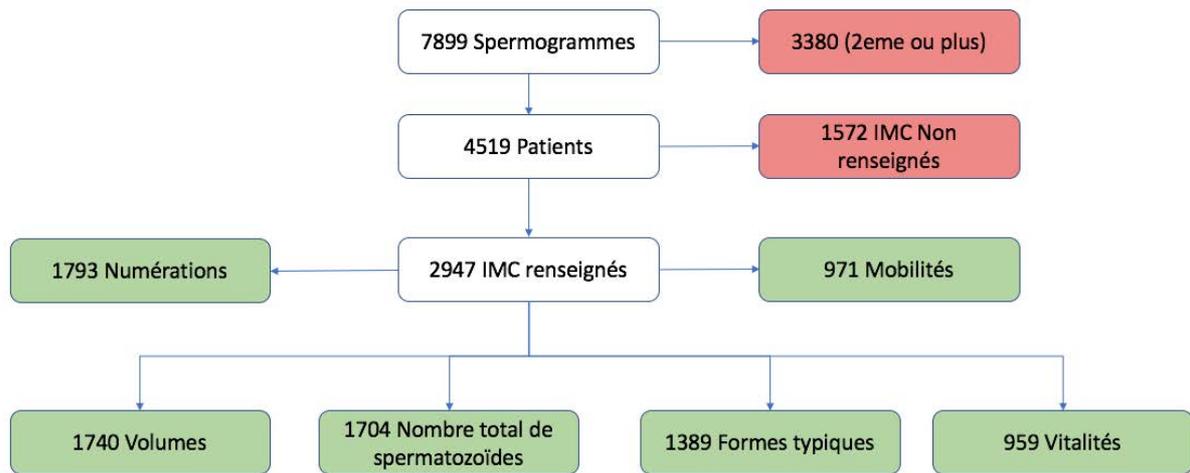


Figure 19 : Flow chart de la cohorte de patients

### Statistiques inférentielles

La population étudiée a été divisée en cinq groupes en fonction de l'IMC :

- $IMC < 18$
- $18 \leq IMC < 25$
- $25 \leq IMC < 30$
- $30 \leq IMC < 35$
- $IMC \geq 35$

Pour chaque paramètre spermatique étudié, nous avons calculé l'effectif, la moyenne, la médiane et l'écart type pour tous les groupes d'IMC.

## 1. Volume de l'éjaculat

Le volume de l'éjaculat est un paramètre simple mais clé de l'examen du sperme. En effet, une hypospermie peut motiver des examens complémentaires pouvant mettre en évidence des pathologies diverses, telles qu'une agénésie bilatérale congénitale des canaux déférents (ABCD) présente chez l'homme atteint de mucoviscidose, une éjaculation rétrograde (que l'on peut retrouver chez le diabétique), une obstruction des canaux éjaculateurs ou encore un hypogonadisme.

Néanmoins, avant de s'aventurer dans des investigations plus complexes, il convient de s'assurer que le recueil de sperme a bien été complet et que le délai d'abstinence recommandé de deux à huit jours a bien été respecté.

Les résultats obtenus pour la mesure du volume de l'éjaculat en fonction de l'IMC sont retranscrits dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Volume (en ml) de l'éjaculat en fonction de l'IMC

|            | Total | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 |
|------------|-------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Effectif   | 1740  | 10       | 919         | 600         | 153         | 58       |
| Moyenne    | 3,53  | 1,64     | 3,63        | 3,47        | 3,50        | 3,00     |
| Médiane    | 3,3   | 1,9      | 3,4         | 3,2         | 3,3         | 2,8      |
| Ecart-type | 1,69  | 0,85     | 1,67        | 1,73        | 1,62        | 1,4      |

Le test statistique effectué est un test de Kruskal-Wallis qui permet de comparer les différents groupes. Ici on obtient **p < 0,001**.

Il existe ainsi une association significative entre les deux variables. Les valeurs ne sont donc pas identiques pour tous les groupes d'IMC.

Nous pouvons de ce fait comparer les groupes deux à deux.

Ici, comme pour chacun des paramètres spermatiques étudiés ci-après, nous effectuons un test de comparaison des moyennes entre le groupe IMC normal (IMC compris entre 18 et 25) et le groupe IMC supérieur à 35.

On obtient un **p = 0,04**.

Nous pouvons donc conclure que le volume de l'éjaculat est significativement inférieur (3,00 ml contre 3,63 ml) dans le groupe ayant un IMC supérieur à 35 par rapport au groupe ayant un IMC normal.

Tableau 7 : Valeurs de p pour les comparaisons deux à deux des volumes de l'éjaculat dans chacun des groupes

|         | < 18   | > 35  | 18 - 25 | 25 - 30 |
|---------|--------|-------|---------|---------|
| > 35    | 0,028  |       |         |         |
| 18 - 25 | 0,0006 | 0,040 |         |         |
| 25 - 30 | 0,002  | 0,242 | 0,175   |         |
| 30 - 35 | 0,002  | 0,242 | 0,801   | 0,801   |

Dans un deuxième temps, nous avons comparé les pourcentages de patients présentant une hypospermie en fonction de l'IMC.

Tableau 8 : Pourcentage (effectif) de patients présentant une hypospermie en fonction de l'IMC

|                           |             | Volume ≥ 1,5 ml     | Volume < 1,5 ml   | Total       |
|---------------------------|-------------|---------------------|-------------------|-------------|
| Pourcentage<br>(Effectif) | IMC < 18    | 60 (6)              | 40 (4)            | 10          |
|                           | IMC 18 - 25 | 91,51 (841)         | 8,49 (78)         | 919         |
|                           | IMC 25 - 30 | 89,33 (536)         | 10,67 (64)        | 600         |
|                           | IMC 30 - 35 | 92,81 (142)         | 7,19 (11)         | 153         |
|                           | IMC > 35    | 86,21 (50)          | 13,69 (8)         | 58          |
| <b>Somme</b>              |             | <b>90,52 (1575)</b> | <b>9,48 (165)</b> | <b>1740</b> |

Le seuil OMS pour conclure à une hypospermie (sous réserve de récupérer un recueil complet et de respecter un délai d'abstinence compris entre deux et huit jours) est de 1,5 ml par éjaculat.

Dans le groupe ayant un IMC normal, il y a **8,49 %** des patients qui présentent une hypospermie. Dans le groupe ayant un IMC supérieur ou égal à 35, il y a **13,69 %** des patients qui présentent une hypospermie.

Le test statistique utilisé ici est un test d'indépendance (ou test exact de Fischer).

On obtient **p= 0,015**.

Ainsi, nous pouvons conclure qu'il existe une association entre l'IMC du patient et le fait qu'il présente une hypospermie.

## 2. Numération en spermatozoïdes

La numération des spermatozoïdes est très variable d'un individu à l'autre mais également au cours du temps chez un même individu. La figure 20 nous montre les variations dans le temps de la numération en spermatozoïdes chez un donneur sain.

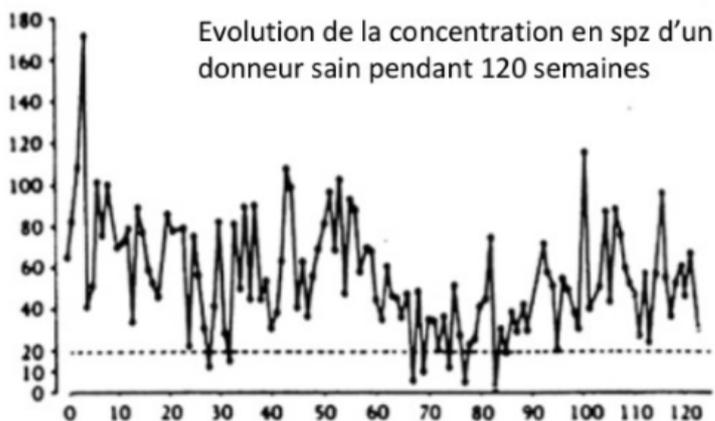


Figure 20 : Evolution intra individuelle de la numération (d'après Paulsen 1984 données non publiées)

De la même manière que pour le volume de l'éjaculat, voici le résultat de la numération en spermatozoïde par millilitre en fonction de l'IMC.

Tableau 9 : Numération des spermatozoïdes (en millions par ml) en fonction de l'IMC

|            | Total | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 |
|------------|-------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Effectif   | 1793  | 11       | 946         | 619         | 157         | 60       |
| Moyenne    | 49,06 | 16,16    | 47,57       | 52,72       | 49,21       | 40,22    |
| Médiane    | 28    | 0,80     | 27          | 30          | 31,2        | 17,6     |
| Ecart-type | 64,77 | 39,17    | 59,48       | 74,56       | 56,62       | 57,80    |

Le test statistique de Kruskal-Wallis donne  $p = 0,003$ .

Il existe ainsi une association significative entre les deux variables. Les valeurs ne sont donc pas identiques pour tous les groupes d'IMC.

Nous pouvons alors comparer les groupes deux à deux.

En effectuant un test de comparaison des moyennes entre le groupe de patients ayant un IMC normal et celui ayant un IMC supérieur à 35 on obtient  $p = 0,041$ .

Nous pouvons donc conclure que la numération de spermatozoïdes par millilitre est significativement inférieure (40,22 contre 47,57) dans le groupe ayant un IMC supérieur à 35 par rapport au groupe ayant un IMC normal.

Le tableau 10 nous montre les valeurs de  $p$  lorsque l'on compare les groupes deux à deux.

Tableau 10 : Valeurs de  $p$  pour les comparaisons deux à deux des numérations en spermatozoïdes par millilitre dans chacun des groupes

|         | < 18  | > 35  | 18 - 25 | 25 - 30 |
|---------|-------|-------|---------|---------|
| > 35    | 0,203 |       |         |         |
| 18 - 25 | 0,014 | 0,041 |         |         |
| 25 - 30 | 0,014 | 0,203 | 0,950   |         |
| 30 - 35 | 0,014 | 0,169 | 0,999   | 0,961   |

Dans un second temps, nous avons comparé le pourcentage de patients présentant une oligozoospermie selon les différents groupes d'IMC.

Les résultats sont les suivants :

Tableau 11 : Pourcentage (effectif) de patients présentant une oligozoospermie en fonction de l'IMC

|              |             | Numération ≥ 15     | Numération < 15    | Total       |
|--------------|-------------|---------------------|--------------------|-------------|
| Pourcentage  | IMC < 18    | 18,18 (2)           | 81,82 (9)          | 11          |
|              | IMC 18 - 25 | 62,05 (587)         | <b>37,95</b> (359) | 946         |
| (Effectif)   | IMC 25 - 30 | 64,14 (397)         | 35,86 (222)        | 619         |
|              | IMC 30 - 35 | 64,97 (102)         | 35,03 (55)         | 157         |
|              | IMC > 35    | 51,67 (31)          | <b>48,33</b> (29)  | 60          |
| <b>Somme</b> |             | <b>62,41 (1119)</b> | <b>37,59 (674)</b> | <b>1793</b> |

La valeur seuil de l'OMS pour parler d'oligozoospermie chez un patient est de 15 millions de spermatozoïdes par millilitre.

Il y a **37,95 %** des patients qui présentent une oligozoospermie dans le groupe ayant un IMC normal et **48,33 %** dans le groupe ayant un IMC supérieur ou égal à 35.

Le test d'indépendance (ou test de Fischer) retrouve **p = 0,011**.

Il y a donc une association entre l'IMC et le fait de présenter ou non une oligozoospermie.

### 3. Nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat

C'est le paramètre reflétant le plus la production de spermatozoïdes au niveau testiculaire. En cela, il ne doit donc pas être négligé dans l'analyse du spermogramme. En effet, la numération par millilitre prend également en compte les variations de volume de l'éjaculat, pouvant être sujettes à des modifications importantes en fonction des sécrétions épидидymaires, prostatiques ou encore

provenant des vésicules séminales, et peuvent conduire à une mauvaise interprétation du spermogramme en cas de volume très faible ou à l'inverse, en cas de volume trop important.

Tableau 12 : Nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat en fonction de l'IMC

|            | Total | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 |
|------------|-------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Effectif   | 1704  | 10       | 896         | 595         | 149         | 54       |
| Moyenne    | 167,6 | 6,1      | 165,4       | 178,7       | 166,8       | 114,0    |
| Médiane    | 87,9  | 0,5      | 92,6        | 87,3        | 98,4        | 45       |
| Ecart-type | 275,3 | 12,3     | 231,1       | 352,5       | 193,0       | 166,4    |

Le test de Kruskal-Wallis donne  $p = 0,0001$ .

Il existe bien une association significative entre le nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat et l'IMC. Les valeurs ne sont donc pas identiques pour chacun des groupes.

Ainsi, nous avons donc comparé le groupe dont l'IMC est supérieur ou égal à 35 avec le groupe d'IMC normal (165,4 Millions contre 114 millions). Nous obtenons un  $p = 0,04$ . Il y a donc un nombre total de spermatozoïdes significativement plus faible chez les patients obèses de classe 2 et 3.

En comparant chacun des groupes deux à deux, nous obtenons les résultats suivants.

Tableau 13 : Valeurs de p pour les comparaisons deux à deux du nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat dans chacun des groupes

|         | < 18   | > 35  | 18 - 25 | 25 - 30 |
|---------|--------|-------|---------|---------|
| > 35    | 0,006  |       |         |         |
| 18 - 25 | 0,0001 | 0,048 |         |         |
| 25 - 30 | 0,0003 | 0,111 | 0,970   |         |
| 30 - 35 | 0,0001 | 0,048 | 0,981   | 0,970   |

L'OMS considère comme normal le nombre de spermatozoïdes lorsque celui-ci est supérieur ou égal à 39 millions sur tout l'éjaculat.

Nous avons alors comparé les groupes de patients en regard de ce seuil.

Tableau 14 : Pourcentage (effectif) de patients présentant un nombre total de spermatozoïdes diminué en fonction de l'IMC

|              |             | Nombre ≥ 39        | Nombre < 39       | Total       |
|--------------|-------------|--------------------|-------------------|-------------|
| Pourcentage  | IMC < 18    | 0 (0)              | 100 (10)          | 10          |
|              | IMC 18 - 25 | 67,1 (601)         | <b>32,9</b> (295) | 896         |
| (Effectif)   | IMC 25 - 30 | 65,4 (389)         | 24,6 (206)        | 595         |
|              | IMC 30 - 35 | 67,1 (100)         | 32,9 (49)         | 149         |
|              | IMC > 35    | 53,7 (29)          | <b>46,3</b> (25)  | 54          |
| <b>Somme</b> |             | <b>65,7 (1119)</b> | <b>34,3 (585)</b> | <b>1704</b> |

On peut voir qu'il y a **32,9%** des patients de notre cohorte ayant un IMC normal qui ont un nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat diminué, alors qu'il y en a **46,3 %** lorsque l'IMC est supérieur ou égal à 35.

Le test de Fischer nous donne : **p < 0,01**

Le test est significatif, le risque de présenter un nombre diminué de spermatozoïde est bien dépendant de l'IMC.

#### 4. Mobilité des spermatozoïdes

La mobilité est également une donnée centrale du spermogramme et l'asthénozoospermie semble bien corrélée à l'hypofertilité masculine. Ce paramètre nous renseigne également indirectement sur le nombre de spermatozoïdes vivants dans l'échantillon, puisqu'un spermatozoïde mobile est par définition en vie. A l'inverse, il peut arriver en cas de dyskinésie ciliaire primitive, de se retrouver avec une dyskinésie flagellaire aboutissant à une akinétozoospermie (aucun spermatozoïde mobile), les spermatozoïdes étant pour autant vivants. Le recours à l'ICSI est alors indispensable pour concevoir.

Ci-dessous, les résultats de la mobilité moyenne pour chaque groupe d'IMC

Tableau 15 : Mobilité a+b (en %) en fonction de l'IMC

|            | Total | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 |
|------------|-------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Effectif   | 971   | 3        | 496         | 344         | 99          | 29       |
| Moyenne    | 39,6  | 15,7     | 40,6        | 37,9        | 42          | 37,6     |
| Médiane    | 41    | 15       | 43          | 40          | 45          | 37       |
| Ecart-type | 20,3  | 16,0     | 20,5        | 20,1        | 19,9        | 19,7     |

Le test de Kruskal-Wallis donne **p = 0,07**.

La mobilité n'est pas significativement différente en fonction du groupe d'IMC.

La comparaison des moyennes pour le groupe ayant un IMC normal et le groupe ayant un IMC supérieur ou égal à 35 n'est donc pas pertinente.

Le seuil fixé par l'OMS pour parler d'asthénozoospermie est de 30% pour les spermatozoïdes progressifs (P ou a+b). Nous avons de ce fait regardé s'il y avait significativement plus de patients asthénozoospermiques dans le groupe ayant un IMC supérieur à 35.

Tableau 16 : Pourcentage (effectif) de patients présentant une asthénozoospermie en fonction de l'IMC

|              |             | a + b ≥ 30        | a + b < 30        | Total      |
|--------------|-------------|-------------------|-------------------|------------|
| Pourcentage  | IMC < 18    | 33,3 (1)          | 66,7 (2)          | 3          |
|              | IMC 18 - 25 | 66,7 (331)        | 33,3 (165)        | 496        |
| (Effectif)   | IMC 25 - 30 | 65,7 (226)        | 34,3 (118)        | 344        |
|              | IMC 30 - 35 | 56,6 (70)         | 43,4 (29)         | 99         |
|              | IMC > 35    | 70,7 (20)         | 29,3 (9)          | 29         |
| <b>Somme</b> |             | <b>66,7 (648)</b> | <b>33,3 (323)</b> | <b>971</b> |

Pour ce paramètre, le test de Fischer n'est pas concluant. On obtient : **p = 0,11**

La probabilité de présenter une asthénozoospermie n'est pas différente selon le groupe de patients.

## 5. Vitalité des spermatozoïdes

La vitalité correspond au pourcentage de spermatozoïdes vivants dans l'éjaculat. Ce paramètre permet de mettre en évidence l'existence d'une nécrozoospermie. L'étiologie principale concerne les infections du tractus urogénital. Dans ce cas, la vitalité se normalise le plus souvent sur le spermogramme de contrôle à trois mois après un traitement antibiotique ou anti-inflammatoire adéquat. Certains médicaments peuvent également être responsables de ce phénomène. Enfin, d'autres causes plus gênantes sont parfois retrouvées, comme la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes, une affection génétique (comme la polykystose rénale) ou encore un liquide séminal toxique. Dans ces derniers cas, le recours à la FIV-ICSI avec parfois même une biopsie testiculaire au préalable peut s'avérer indispensable.

Le tableau suivant nous montre la vitalité moyenne dans chacun des groupes d'IMC.

Tableau 17 : Vitalité moyenne par groupe d'IMC

|            | Total | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 |
|------------|-------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Effectif   | 959   | 4        | 509         | 333         | 88          | 25       |
| Moyenne    | 65,7  | 47,3     | 64,7        | 67,2        | 67,3        | 65,3     |
| Médiane    | 67    | 42,5     | 66          | 68          | 69          | 66       |
| Ecart-type | 17,9  | 25,4     | 18,1        | 17,6        | 17,9        | 13,9     |

Le test de Kruskal-Wallis n'est pas significatif :  $p > 0,05$ .

La moyenne des vitalités dans chaque groupe n'est pas significativement différente.

La comparaison des groupes deux à deux n'est donc pas pertinente.

Le seuil OMS pour parler de nécrozoospermie est de 58 %. Nous avons ainsi voulu voir s'il y avait un pourcentage plus élevé de patients ayant une nécrozoospermie lorsque l'IMC est très élevé, c'est l'objet du tableau suivant.

Tableau 18 : Pourcentage (effectif) de patients ayant une nécrozoospermie dans chaque groupe d'IMC

|                               |             | Vitalité $\geq 58\%$ | Vitalité $< 58\%$ | Total      |
|-------------------------------|-------------|----------------------|-------------------|------------|
| Pourcentage<br><br>(Effectif) | IMC < 18    | 25 (1)               | 75 (3)            | 4          |
|                               | IMC 18 - 25 | 70,7 (360)           | 29,3 (149)        | 509        |
|                               | IMC 25 - 30 | 78,7 (262)           | 21,3 (71)         | 333        |
|                               | IMC 30 - 35 | 77,3 (68)            | 22,7 (20)         | 88         |
|                               | IMC > 35    | 76 (19)              | 24 (6)            | 25         |
| <b>Somme</b>                  |             | <b>74 (710)</b>      | <b>26 (249)</b>   | <b>959</b> |

Le test exact de Fischer n'est pas significatif :  $p > 0,05$ .

Nous pouvons considérer là, que le risque de présenter une nécrozoospermie est indépendant de l'IMC du patient.

## 6. Morphologie des spermatozoïdes

L'analyse morphologique des spermatozoïdes permet de détecter une éventuelle tératozoospermie, potentiellement responsable d'une infertilité. Elle peut être légère ou sévère en fonction du pourcentage de formes typiques restant, isolée ou associée à une anomalie du spermogramme (oligozoospermie, asthénozoospermie, nécrozoospermie...). Si une infection, une varicocèle ou une anomalie génétique peuvent par exemple en être la cause, d'autres facteurs comme l'hygiène de vie ou l'environnement semblent susceptibles de la provoquer.

Le tableau suivant compare le nombre moyen de formes typiques dans chaque groupe d'IMC.

Tableau 19 : Pourcentage moyen de formes typiques en fonction des groupe d'IMC

|            | Total | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 |
|------------|-------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Effectif   | 1389  | 5        | 705         | 494         | 141         | 44       |
| Moyenne    | 16,1  | 24,4     | 16,2        | 15,7        | 17,2        | 14,7     |
| Médiane    | 12    | 16       | 13          | 12          | 13          | 10,5     |
| Ecart-type | 14,4  | 24,2     | 14,7        | 13,8        | 14,3        | 14,8     |

Le test statistique de Kruskal Wallis n'est pas significatif :  $p > 0,05$ .

La distribution est homogène entre les groupes. Les comparaisons des groupes deux à deux n'est pas pertinente ici.

Nous avons néanmoins cherché à voir s'il y avait plus de patients présentant une tératozoospermie dans le groupe des patients obèses (classe 2 et 3) que chez les patients ayant un IMC standard.

Nous obtenons les résultats suivants :

Tableau 20 : Pourcentage (Effectif) de patients présentant une térazozoospermie en fonction de l'IMC

|                               |             | FT ≥ 15 %         | FT < 15 %         | Total       |
|-------------------------------|-------------|-------------------|-------------------|-------------|
| Pourcentage<br><br>(Effectif) | IMC < 18    | 60 (3)            | 40 (2)            | 5           |
|                               | IMC 18 - 25 | 40,1 (283)        | 59,9 (422)        | 705         |
|                               | IMC 25 - 30 | 39,3 (194)        | 60,7 (300)        | 494         |
|                               | IMC 30 - 35 | 45,4 (64)         | 54,6 (77)         | 141         |
|                               | IMC > 35    | 34,1 (15)         | 65,9 (29)         | 44          |
| <b>Somme</b>                  |             | <b>40,2 (559)</b> | <b>59,8 (830)</b> | <b>1389</b> |

Le seuil pour parler de térazozoospermie est variable en fonction des classifications. Lors de la période d'étude, c'est la classification de David modifiée qui était celle utilisée. Le seuil a donc été placé à 15 %. Depuis, la classification de Krüger a été mise en place. C'est celle recommandée par l'OMS actuellement.

Le test d'indépendance (test exact de Fischer) n'est pas significatif :  $p > 0,05$ .

Le taux de patients térazozoospermiques n'est pas significativement supérieur dans le groupe de patients ayant un IMC supérieur ou égale à 35.

Pour résumer l'analyse des paramètres du spermogramme, nous pouvons affirmer que le volume, la numération ainsi que le nombre total de spermatozoïdes sont les trois paramètres significativement impactés par l'IMC. Le volume moyen est diminué chez le patient obèse de classe 2 et 3 et on retrouve un pourcentage de patients avec une hypospermie plus important que dans la population globale. De même, la numération en spermatozoïde moyenne est diminuée dans le groupe de patients obèses de classe 2 et 3, et le pourcentage de patients présentant une oligozoospermie est plus important dans ce groupe que dans la population globale. Enfin et sans surprise, il en va de même pour le nombre total de spermatozoïdes sur tout l'éjaculat puisqu'il s'agit du volume multiplié par la numération et que ces deux paramètres sont significativement touchés.

En revanche, la mobilité, la vitalité et la morphologie ne semblent pas liés au poids, tout du moins sur notre échantillon de patients.

Nous avons également remarqué que les résultats sont effondrés dans le groupe présentant un IMC inférieur à 18 pour presque tous les paramètres, même s'il faut les prendre avec précaution étant donné les faibles effectifs de ce groupe.

Ces comparaisons purement quantitatives et descriptives, mais néanmoins utiles, ayant été réalisées, nous allons maintenant observer les résultats en termes de grossesses et de naissances vivantes en fonction du poids de l'homme. C'est l'objet de la deuxième partie de notre étude.

## **II. Analyse des issues des tentatives en AMP**

Ici, il faut prendre le terme « tentative » au sens de l'insémination du sperme en cas d'IUI ou de transfert d'embryon en cas de fécondation *in vitro* (avec ou sans ICSI et avec ou sans embryon congelé). Tous les cas de figures pour lesquels la tentative a été abandonnée prématurément ne sont pas répertoriés car ils n'apportent rien dans l'interprétation de l'analyse réalisée, ils diminuent artificiellement les taux de réussite relatés et ils gonflent faussement les effectifs.

### **1. Résultats des Inséminations intra utérines**

Dans un premier temps, nous avons regroupé les tentatives en insémination dont voici les résultats :

Tableau 21 : Résultat des tentatives en IUI pour les différents groupes

|  | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 | Total |
|--|----------|-------------|-------------|-------------|----------|-------|
| Nombre de tentatives                           | 3        | 206         | 100         | 27          | 4        | 340   |
| Nombre de grossesse                            | 0        | 21          | 13          | 4           | 2        | 40    |
| Nombre de naissances vivantes                  | 0        | 19          | 11          | 4           | 2        | 36    |
| Pourcentage de grossesse par tentative         | 0        | 10,19       | 13          | 14,81       | 50       | 11,76 |
| Pourcentage de naissance vivante par grossesse | /        | 90,5        | 84,6        | 100         | 100      | 90    |

Les effectifs des différents groupes sont ici bien plus faibles que pour la comparaison des paramètres du spermogramme. Le test Z de comparaison des proportions effectué n'est pas significatif :

- Ni pour le taux de grossesse par tentative :  $p > 0,05$
- Ni pour le taux de naissance vivante par grossesse :  $p > 0,05$ .

Il n'y a donc aucune différence en termes de taux de grossesse ou de taux de naissance en fonction de l'IMC de l'homme dans notre population de patients.

Par la suite, nous avons regroupé les tentatives des couples en fécondation *in vitro*, avec ou sans ICSI, avec des transferts d'embryon frais et congelés.

## 2. Résultats des FIV

Les résultats obtenus sont retranscrits dans le tableau suivant :

Tableau 22 : Résultat des tentatives en FIV ICSI et TEC pour les différents groupes

|  | IMC < 18 | IMC 18 - 25 | IMC 25 - 30 | IMC 30 - 35 | IMC > 35 | Total |
|--|----------|-------------|-------------|-------------|----------|-------|
| <b>Nombre de tentatives</b>                    | 2        | 219         | 141         | 18          | 10       | 390   |
| <b>Nombre de grossesse</b>                     | 2        | 49          | 38          | 4           | 2        | 95    |
| <b>Nombre de naissances vivantes</b>           | 2        | 35          | 29          | 4           | 2        | 72    |
| <b>Taux de grossesse par tentative</b>         | 100      | 22,37       | 26,95       | 22,22       | 20       | 24,36 |
| <b>Taux de naissance vivante par grossesse</b> | 100      | 71,4        | 76,3        | 100         | 100      | 75,8  |

De la même manière que pour les inséminations, le test Z de comparaison de proportion n'est significatif :

- Ni pour le taux de grossesse :  $p > 0,05$
- Ni pour le taux de naissance vivante :  $p > 0,05$ .

L'IMC de l'homme n'est donc pas prédictif d'un meilleur taux de réussite des tentatives.

## Discussion

Devant l'évolution dramatique de l'obésité dans les pays occidentaux et dans le monde en général, et au vu de l'inquiétante altération de la qualité du sperme constatée ces dernières décennies, il paraît légitime de s'interroger sur l'impact potentiel d'un phénomène sur l'autre, en l'occurrence de l'obésité sur la qualité du sperme. Comme nous l'avons décrit précédemment, de nombreuses modifications physiopathologiques surviennent chez l'homme obèse. Ces modifications pourraient avoir un retentissement sur la fonction testiculaire et ainsi engendrer des conséquences néfastes sur sa fertilité. Nous allons dans un premier temps revenir sur les principales données de la littérature à ce sujet pour, dans un second temps, mettre en perspective nos résultats exposés précédemment afin de tirer des conclusions sur notre cohorte de patients.

### **I. Revue bibliographique**

De nombreuses études mettant en parallèle l'IMC de l'homme et les paramètres spermatiques ont déjà été réalisées dans un nombre important de centres à travers le monde. Afin d'être le plus précis possible tout en étant suffisamment exhaustif, nous allons revenir essentiellement sur deux méta-analyses réalisées sur le sujet.

La première, publiée dans Human Reprod en 2010 par Mac Donald (54), ne montrait pas d'association significative entre l'IMC et les paramètres spermatiques. Bien que cette méta-analyse regroupe trente et une études en rapport avec l'obésité et l'infertilité masculine, seulement six études sur les paramètres spermatiques et l'IMC répondaient aux critères de sélection imposés.

Si nous nous y intéressons de plus près, nous nous apercevons que les résultats sont variables en ce qui concerne la numération en spermatozoïdes, puisque parmi les six études retenues, celle de Qin de 2007 (55) montre un lien significatif avec l'IMC, contrairement aux cinq autres. L'auteur explique cette différence par les critères d'inclusions très stricts de l'équipe de Qin qui écarte les fumeurs, les hommes qui consomment de l'alcool régulièrement, ou encore ceux qui présentent des maladies chroniques. Les résultats pour ce paramètre de numération sont donc contradictoires entre les diverses publications et les conclusions difficilement exploitables.

Pour la mobilité et le volume de l'éjaculat en revanche, tous les articles sur le sujet aboutissent à la même conclusion, à savoir qu'il n'y a pas de lien de cause à effet avec l'IMC.

Enfin, concernant la morphologie spermatique, là encore aucun lien ne peut être objectivé, mais les différentes classifications et la grande variabilité de ce paramètre en fonction des laboratoires et des observateurs invitent à la plus grande prudence.

Trois ans plus tard, une seconde méta-analyse de Sermondade parue dans Human Reprod (56) met cette fois en évidence une association significative entre le nombre total de spermatozoïdes et l'IMC. Les principales différences entre les deux études résident d'une part dans les nouveaux articles publiés entre les deux périodes et d'autre part dans le mode d'analyse. En effet, Sermondade ne cherche pas à établir de corrélation entre l'IMC et le nombre de spermatozoïdes mais évalue plutôt le risque de présenter une oligozoospermie, voire une azoospermie dans différents groupes d'IMC, comme cela a d'ailleurs été réalisé dans notre travail. La distribution des numérations en spermatozoïdes étant très large, ce mode d'analyse paraît plus approprié et l'intérêt clinique semble supérieur car plus adapté à la réalité. Le calcul des odds ratio en fonction de l'IMC est représenté ci-après (Figure 21).

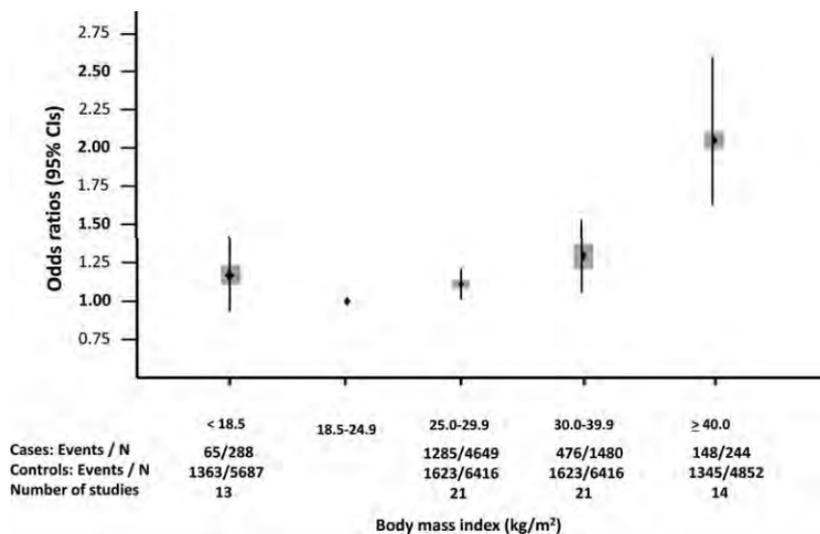


Figure 21 : Association entre le nombre total de spermatozoïdes (oligozoospermie et azoospermie) et l'IMC (56)

D'autres indicateurs de la fertilité masculine ont également été étudiés ces dernières années, comme par exemple la mesure du taux de fragmentation de l'ADN spermatique qui est plus élevé chez le patient obèse. En effet, on retrouve dans une étude chez 520 hommes en bonne santé, un index moyen à 19,9 % dans la population ayant un IMC normal, alors qu'il est à 25,8 % chez les hommes ayant un surpoids et à 27,0 % chez les obèses (49). Pour rappel, un index supérieur à 30 % est considéré comme péjoratif autant pour les techniques de FIV et d'insémination que pour une conception hors AMP.

D'autres publications parues depuis remettent en cause ces résultats mais sur des populations de patients plus faibles, suggérant que des investigations supplémentaires seraient nécessaires pour affirmer un lien définitif.

Enfin, les modifications hormonales survenant chez le patient obèse ont révélé des résultats intéressants. Giagulli a montré qu'une faible augmentation de l'IMC n'a de retentissement ni sur la pulsativité de la LH ni sur la testostéronémie libre ; en revanche, l'impact est franc lorsque le patient présente une obésité morbide (57). De plus, l'aromatisation périphérique de la testostérone en œstrogène déjà décrite précédemment a pour effet non seulement d'engendrer une hypotestostéronémie mais également un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (58). Ces découvertes relativement anciennes ont été largement confirmées depuis et notamment dans une étude de 2006 de Derby qui montre sur 942 hommes âgés de 40 à 70 ans que l'IMC est négativement corrélé à la testostéronémie, à la testostérone libre ainsi qu'à la Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) (59).

La littérature est en revanche bien plus pauvre sur la deuxième partie de notre travail qui se focalise sur les issues des tentatives en AMP en fonction de l'IMC de l'homme. On peut le comprendre aisément, dans la mesure où l'étude de l'impact d'un facteur masculin sur des résultats impliquant un couple est, par définition, nécessairement biaisée par toute une série de facteurs provenant de la femme, et ayant possiblement un retentissement sur la fertilité. En effet, au-delà de toutes les causes de troubles de la fertilité féminine connues et pouvant fausser les résultats, tels que l'insuffisance ovarienne, l'hypogonadisme hypogonadotrope, les troubles hormonaux, l'endométriome ou encore les problèmes génétiques, bien d'autres données comme le poids, l'âge, ou encore la consommation de tabac ne peuvent être négligées tant leur rôle est important dans la procréation. C'est d'ailleurs une des principales difficultés à laquelle nous avons été confronté dans cette étude. Ainsi, pour s'affranchir du maximum de biais dans l'analyse des résultats, nous n'avons pas hésité à réduire drastiquement l'échantillon en retirant de l'étude toutes les femmes ayant un IMC supérieur à 30, un âge supérieur à 38 ans ou un trouble de la fertilité connu en dehors d'un problème purement tubaire en cas de FIV ou cervical pour l'AMP en général. Ce préalable était indispensable pour pouvoir tenter de tirer des conclusions à partir des résultats de notre population.

Dans une méta-analyse de Campbell en 2015, on retrouve cinq études analysant les issues des tentatives en AMP (60). Les principaux indicateurs utilisés sont le taux de grossesse et le taux de naissance. Les résultats sont très disparates selon les études, puisque dans l'étude de Petersen de 2013

(61) sur une cohorte de plus de 12 000 patients danois, on voit que les taux de naissance sont significativement plus faibles pour les couples ayant un IMC élevé, mais ceci n'est pas confirmé dans l'étude de Schliep parue 2015 (62) où aucun résultat n'est significatif.

Lorsque les données sont poolées dans la méta-analyse de Campbell, on retrouve des résultats non significatifs en termes de taux de grossesse, (Figure 22) alors que le taux de naissance vivante est lui plus faible chez le patient obèse (Figure 23).

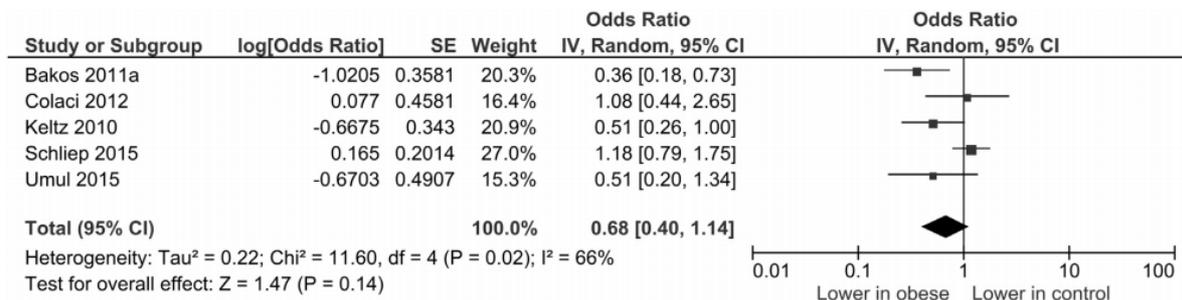


Figure 22 : Effet de l'obésité sur le taux de grossesse (60)

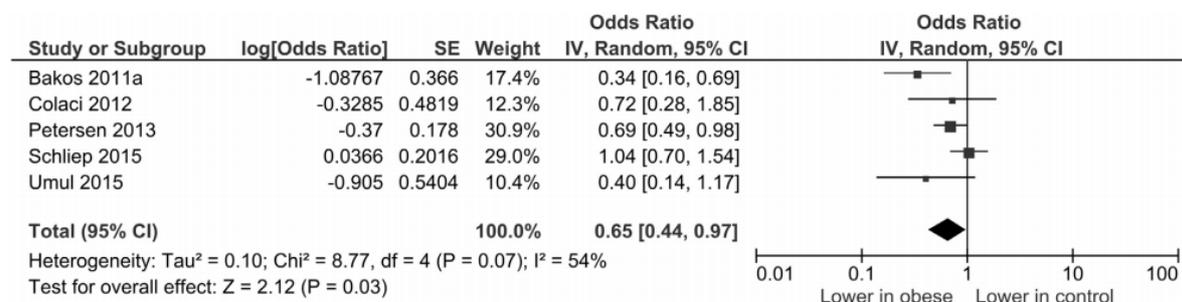


Figure 23 : Effet de l'obésité sur le taux de naissance vivante (60)

En somme, aucun consensus n'existe actuellement sur le sujet, tant les résultats sont contradictoires et le nombre d'études faible. De plus, les seuils définis pour l'obésité, les modèles statistiques utilisés et les cohortes de patients inclus dans les études ci-dessus sont si différents des nôtres qu'ils rendent les comparaisons avec nos résultats pratiquement impossibles.

## II. Nos résultats

La première partie de notre questionnement, sur l'étude des paramètres spermatiques en fonction de l'IMC, montre des résultats significatifs sur trois paramètres que sont le volume de l'éjaculat, la numération et le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat. A l'inverse, la mobilité, la vitalité et la morphologie ne semblent pas affectées. Par ailleurs, on constate que le pourcentage de patients présentant une hypospermie ou une oligozoospermie (selon les seuils OMS) est plus important dans le groupe ayant un IMC supérieur ou égal à 35 que dans le groupe ayant un IMC normal.

### 1. Volume de l'éjaculat

Comme nous l'avons rappelé plus haut, l'éjaculat est composé de l'addition des spermatozoïdes et du plasma séminal. Les modifications du volume seront donc essentiellement dues aux variations des sécrétions provenant de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate. Ces sécrétions étant fortement reliées aux taux d'androgènes circulants, l'hypotestostéronémie physiologique présente chez l'homme obèse pourrait expliquer la baisse globale de volume constatée ici.

Ces résultats vont cependant à rebours des publications sur le sujet (54, 55) où l'on observe que le volume reste constant, quel que soit l'IMC. Ceci peut être expliqué par la différence de méthode de l'étude puisque la méta-analyse de Mac Donald regroupe les patients dès lors que leur IMC est supérieur à 30, alors que les comparaisons dans notre travail s'effectuent entre un groupe ayant un IMC normal et un groupe ayant un IMC supérieur à 35. On constate d'ailleurs que les volumes de sperme sont sensiblement identiques entre le groupe ayant un IMC normal et celui ayant un IMC compris entre 30 et 35 (3,63 ml contre 3,50 ml et 8,49 % contre 7,19 % de patients présentant une hypospermie). Ces résultats suggèrent la présence d'un effet de seuil (autour de 35) au-delà duquel l'IMC impacte significativement le volume de l'éjaculat. Etant donné les liens étroits qui existent entre la testostéronémie et le volume de l'éjaculat, il aurait été particulièrement intéressant de mettre ces résultats en perspective avec des dosages hormonaux. En pratique, il était malheureusement impossible d'en disposer dans le cadre d'une étude rétrospective puisque les patients ayant un spermogramme dans les valeurs usuelles ne sont jamais explorés.

## 2. Numération en spermatozoïdes et nombre total de spermatozoïdes dans tout l'éjaculat

La numération et plus encore le nombre total de spermatozoïdes dans tout l'éjaculat est le reflet de la production testiculaire. De la même manière que le volume, il est indispensable pour pouvoir être correctement interprétés que les délais d'abstinences préconisés soient scrupuleusement respectés. Nous sommes partis du postulat que le respect de ce délai d'abstinence est totalement indépendant de l'IMC afin de s'affranchir de ce biais.

Ainsi, nous retrouvons dans notre étude des résultats sensiblement comparables avec la littérature et les dernières publications sur le sujet (56). En effet, la numération moyenne est plus faible chez les patients en obésité de classe 2 et 3 et le pourcentage de patients oligozoospermiques est plus élevé (37,9 % contre 48,3 %) dans cette population. En outre, il est important de préciser que les résultats sont ici quasiment identiques lorsque l'on compare le groupe ayant un IMC normal avec celui ayant un IMC compris entre 30 et 35. La notion de valeur seuil pour une baisse de production de spermatozoïdes à partir de 35 d'IMC semble donc pertinente. Là encore, il aurait été intéressant de pouvoir mettre en perspective ces résultats avec des dosages hormonaux tant les androgènes exercent un rôle déterminant dans la production et la maturation des spermatozoïdes.

## 3. Mobilité des spermatozoïdes

Comme nous l'avons rappelé précédemment, c'est dans l'épididyme que les spermatozoïdes acquièrent leur mobilité. Le pourcentage croissant de spermatozoïdes mobiles de la tête à la queue en est la parfaite illustration. Si les mécanismes permettant au spermatozoïde de devenir mobile ne sont encore que partiellement connus, la forte imprégnation androgénique au niveau épидидymaire justifiait de se poser la question d'une baisse de mobilité dans le cas d'une hypo androgénie comme celle que l'on peut observer chez l'homme obèse. Dans notre étude comme dans la littérature, cette hypothèse est pour le moment loin d'être confirmée. En effet, nous ne constatons ni diminution de la mobilité moyenne ni augmentation de pourcentage de patients asthénozoospermiques dans le groupe d'IMC supérieur à 35. Il en va de même dans les publications de Qin (55), de Aggerholm (63) et de Jensen (64).

La mobilité spermatique ne semble donc pas affectée par le poids de l'individu. Il faut cependant rester prudent dans la mesure où ce paramètre présente une variabilité importante. En effet, les manières de procéder divergent entre les laboratoires et la subjectivité de l'opérateur intervient largement dans la classification du spermatozoïde. C'est d'ailleurs pour cette raison que l'on parle aujourd'hui de spermatozoïde « progressif » plutôt que de « a » ou de « b ».

#### 4. Vitalité des spermatozoïdes

Parmi les multiples bouleversements survenant chez l'homme obèse, on peut penser que l'augmentation de la température scrotale résultant de la surcharge abdominale a un impact sur la vitalité.

Nos résultats ne vont pas dans ce sens puisque qu'aucune baisse de la vitalité n'est observée ici. De même, le nombre de patients présentant une nécrozoospermie n'est pas plus important dans le groupe ayant un IMC supérieur à 35. Ces résultats sont cependant concordants avec ceux de la mobilité. Il aurait été étonnant d'observer une baisse de vitalité sans que la mobilité ne soit touchée.

#### 5. Morphologie des spermatozoïdes

Au vu de nos résultats, le nombre de « formes typiques » semble totalement indépendant de l'IMC. Si de nombreuses étiologies peuvent être responsables de tératozoospermie, l'obésité ne semble pas en faire partie. Il faut cependant se garder de tirer des conclusions hâtives sur ce paramètre tant la littérature sur le sujet est pauvre. Luque en 2015 (65) retrouve un nombre de formes typiques significativement diminué dans le groupe ayant l'IMC le plus fort. Comparer notre étude à la sienne est complexe dans la mesure où les groupes de patients établis ne suivent pas la catégorisation de l'IMC de l'OMS utilisée ici. Ainsi, les résultats ne sont pas significatifs pour le groupe ayant un IMC compris entre 30 et 40 mais ils le sont pour le groupe ayant un IMC supérieur à 40. De plus, il faut prendre en compte le fait que le spermocytogramme souffre d'une très importante variabilité rendant toute comparaison périlleuse. Une variabilité inter-laboratoire tout d'abord, une variabilité inter-opérateur ensuite et même une variabilité intra-opérateur. Yongxin montre dans une publication de

2010 l'important coefficient de variation de ce paramètre (en particulier pour les anomalies de la tête du spermatozoïde) en classification de David modifiée sur un échantillon de 5296 patients (66). C'est une des explications que l'on peut raisonnablement avancer pour expliquer le manque de données sur le sujet, par rapport aux paramètres classiques du spermogramme, comme la numération ou le volume qui sont bien plus simples à standardiser.

On peut également ajouter que les modes de classification ont largement évolué avec le temps et que la comparaison de résultats utilisant des classifications différentes ne semble pas pertinente.

Enfin, il est important de préciser que le retentissement clinique de la tératozoospermie est aujourd'hui discuté. Si certaines anomalies sont très clairement reliées à une capacité fécondante diminuée voire abolie (globozoospermie par exemple), celles-ci sont plutôt d'origine génétique et ne concernent pas le cas de l'homme obèse (30).

## 6. Cas des patients ayant un IMC inférieur à 18

L'objectif de ce travail réside dans l'analyse des éventuelles baisses de la qualité du sperme chez l'homme obèse plutôt que dans la corrélation des paramètres spermatiques à un IMC. Cependant, on ne peut pas éluder le cas des patients ayant un IMC inférieur à 18. En effet, on observe des résultats catastrophiques dans ce groupe en termes de numération, de volume, de mobilité et de vitalité. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce phénomène. En premier lieu, on constate que l'effectif est systématiquement très faible (entre trois et onze patients selon les paramètres étudiés), ce qui limite considérablement la puissance des tests statistiques effectués et donc la valeur intrinsèque de nos résultats. Le même problème est retrouvé dans la littérature où les échantillons d'hommes ayant un IMC inférieur à 18 ne sont jamais très étoffés.

Si l'on considère maintenant que la qualité spermatique est réellement mauvaise chez les patients dénutris, et non plus qu'il s'agit simplement d'un artefact statistique, la première étiologie qui pourrait expliquer cela est la présence de carences dans l'apport de certains nutriments essentiels à la spermatogénèse. On sait par exemple, que la vitamine A est un élément indispensable au bon fonctionnement de l'appareil reproducteur masculin, et de la même façon qu'après une chirurgie bariatrique (voir plus haut) certains patients se retrouvent azoospermiques par carences alimentaires,

on peut penser que des patients souffrant d'anorexie ne posséderont pas l'arsenal nécessaire à un bon fonctionnement testiculaire (51, 52).

Il ne faut néanmoins pas ignorer que toute une série d'autres raisons pourraient être mises en avant pour bien comprendre les résultats de ce groupe : une pratique sportive excessive, des maladies physiques ou psychiques, des traitements médicamenteux etc. Il faudrait pour cela étudier précisément chacun des patients inclus, ce qui n'était pas l'objet du travail réalisé ici.

## 7. Issues des tentatives en AMP

Tenter d'interpréter des valeurs et de tirer des conclusions sur l'homme, en étudiant des résultats impliquant des couples, est un exercice très périlleux. Nous nous y sommes néanmoins risqués en analysant les issues des tentatives en AMP. Pour se faire, l'élément clé a été d'écartier de l'étude toutes les femmes ayant un trouble de fertilité connu (voir Matériel et Méthode). Les résultats obtenus sont sans équivoque. Aucune technique d'AMP n'a mis en évidence de différences significatives en fonction de l'IMC de l'homme, que ce soit en insémination ou en FIV-ICSI et TEC. Force est de constater que malgré une période de recueil de données relativement longue (plus de 3 ans), les critères d'inclusion stricts des couples n'ont pas permis d'obtenir un échantillon suffisamment large, en particulier pour les IMC élevés.

Devant ces résultats, plusieurs enseignements peuvent néanmoins être dégagés. Tout d'abord, rappelons qu'avant une insémination ou une FIV, a lieu une étape préalable de préparation de sperme, et donc de sélection de spermatozoïdes. Il est donc possible que, même si la qualité initiale du sperme est moins bonne chez le patient obèse, le culot récupéré après centrifugation en gradient de concentration reste satisfaisant puisque les spermatozoïdes sont sélectionnés. En toute logique, comme le nombre de spermatozoïdes récupéré est un des principaux facteurs motivant le recours à une technique plutôt qu'une autre, on peut penser que l'obésité masculine pourrait éventuellement faire changer de technique d'AMP, à cause d'un nombre de spermatozoïdes capacités plus faible mais qu'aucune différence ne devrait être observée sur les taux de réussite au sein d'une même technique. Prenons maintenant le cas des FIV avec ICSI. En utilisant cette méthode, un seul spermatozoïde est choisi uniquement sur des critères de mobilité et de morphologie, avant d'être injecté dans le cytoplasme de l'ovocyte. La question n'est donc plus de savoir si le nombre de spermatozoïdes ou le volume de sperme est suffisant, mais plutôt si la qualité intrinsèque du spermatozoïde est satisfaisante chez l'homme obèse. On en revient donc au fait que si le spermogramme est un examen indispensable

d'exploration de la fertilité masculine, avoir des résultats dans les valeurs usuelles ne garantit pas l'absence d'autres dysfonctionnements spermatiques.

Sur la simple analyse de nos résultats, la qualité intrinsèque du spermatozoïde ne semble pas affectée lorsque l'on observe les taux de réussite des tentatives. Ceci va à l'encontre de ce qu'on retrouve chez Kort (49) qui nous indique que l'index de fragmentation de l'ADN est plus élevé chez l'homme obèse, suggérant l'existence d'anomalies chromosomiques ayant probablement une influence péjorative sur l'évolution de l'embryon. De la même manière, nous avons vu précédemment que la composition en acide gras du spermatozoïde est modifiée en fonction de l'IMC. Ces modifications semblent avoir un retentissement sur certains paramètres spermatiques ainsi que sur l'index de fragmentation de l'ADN, via un métabolisme in situ (50). Toutes ces modifications qualitatives du gamète mâle théoriquement observées lors d'un surpoids massif ne sont, soit pas présentes ici, soit ne troublent pas les résultats des taux de grossesse ou des taux de naissance.

On comprend donc que des limites évidentes nous empêchent de conclure de façon tranchée. En premier lieu, le manque d'effectif pour les IMC élevés mais également l'absence d'analyses complémentaires, comme les taux de fragmentation de l'ADN, la composition en acide gras des spermatozoïdes ou plus simplement des dosages hormonaux.

## Conclusion

Nous avons tenté dans ce travail de mettre en lumière les liens encore flous entre deux phénomènes inquiétants de ces dernières décennies : l'augmentation de l'obésité et la baisse de qualité du sperme. S'il paraît aujourd'hui évident qu'il existe un bouleversement physiopathologique pouvant impacter la fertilité en cas de surpoids massif, son retentissement sur la qualité du sperme reste sujet à débat.

Cette étude rétrospective sur une cohorte de patients alsaciens aura permis de faire émerger des données claires et précises comme la diminution du volume moyen de l'éjaculat et la baisse du nombre moyen de spermatozoïdes chez les patients présentant une obésité de classe 2 et 3 (OMS). En revanche, les résultats sur les autres paramètres spermatiques observés ici ne sont pas toujours en accord avec la littérature sur le sujet, et les informations obtenues sur les issues des tentatives en AMP souffrent d'un effectif trop restreint, et mériteraient de faire pratiquer des examens complémentaires pour pouvoir conclure plus sereinement.

De nombreuses questions ont émaillé ce travail. Certaines évidentes, comme les conséquences précises d'un excès de masse grasse sur les paramètres spermatiques, à laquelle nous avons tenté de répondre, et d'autres plus complexes, comme celle de la prise en charge en AMP d'un homme ayant un IMC supérieur à 35. Est-il judicieux de lui conseiller de maigrir pour améliorer ses chances en AMP ? Haussera-t-il ses chances de concevoir sans avoir recours à la biologie de la reproduction en cas de perte de poids ? Ces multiples interrogations dépassent finalement largement l'objet de cette thèse, et reste aujourd'hui un terrain relativement inconnu et donc propice à de futurs travaux.

## Bibliographie

1. **Zins et al.** CONSTANCES: A French cohort for medical research and public health. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 2016.
2. **Hruby et al.** The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*, 2015.
3. **World Health Organization.** Prévalence mondiale et tendance séculaire de l'obésité. Genève 2003.
4. **Flemming et al.** Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 2014.
5. **Eschwege et al.** Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité. *Obépi Roche*, 2012.
6. [www.grand-est.ars.sante.fr](http://www.grand-est.ars.sante.fr)
7. **Basdevant.** Médecine de l'obésité. Paris : *Flammarion-Médecine-Science*, 2004.
8. **Abdul-Ghani et al.** Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol*, 2010.
9. **Czernichow et al.** Body mass index, waist circumference and waist-hip ratio: which is the better discriminator of cardiovascular disease mortality risk? Evidence from an individual-participant meta-analysis of 82 864 participants from nine cohort studies. *Obesity Rev*, 2011.
10. **Divella et al.** Obesity and cancer: the role of adipose tissue and adipo-cytokines-induced chronic inflammation. *Journal of Cancer*, 2016.
11. **Pan et al.** Bidirectional association between depression and obesity in middle-aged and older women. *Int J Obes*, 2012.
12. **Zhang et al.** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994.
13. **Geffroy et al.** Localization of the human OB gene (OBS) to chromosome 7q32 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1995.
14. **Sinha et al.** Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 1996.

15. **Tartaglia et al.** Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 1995.
16. **Löllmann et al.** Detection and quantification of the leptin receptor splice variants Ob-Ra, b and, e in different mouse tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1997.
17. **Considine et al.** Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996.
18. **Klein et al.** Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes* 1996.
19. **Zumbach et al.** Tumor Necrosis Factor increases serum leptin levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997.
20. **Pénicaud et al.** Leptin and the Central Control of Feeding Behavior. *Biochimie*, 2012.
21. **Kim-Motoyama et al.** Serum leptin levels are associated with hyperinsulinemia independent of body mass index but not with visceral obesity. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997.
22. **Tuominen et al.** Leptin synthesis is resistant to acute effects of insulin in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997.
23. **Roze et al.** Congénital hypogonadotropic hypogonadism. *Annals of Endocrinology*, 2009.
24. **Jones et al.** Hypogonadism in men with type 2 diabetes. *Practical Diabetes*, 2007
25. **Bioforma.** Exploration de la fonction de reproduction. Versant masculin. 2009.
26. <https://sites.google.com/site/bantegnies/>
27. [http://www.bio-top.net/Transmission\\_vie/5\\_gametogenese.html](http://www.bio-top.net/Transmission_vie/5_gametogenese.html)
28. **Nahoul et al.** Age-related decline of plasma bioavailable testosterone in adult men. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 1990.
29. **Thonneau et al.** Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Humann Reprod*, 1991
30. **Gatimel et al.** Sperm morphology: assessment pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017. *Andrology*, 2017.
31. **World Health Organization.** Examination and processing of human semen. 2010.
32. <https://www.agence-biomedecine.fr/>

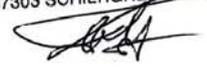
33. **Cohen et al.** The early days of IVF outside the UK. *Human Reprod*, 2005.
34. **Testart et al.** Full-term delivery after intrauterine implantation of an embryo obtained by *in vitro* fertilization, *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 1982.
35. <http://www.nrmvt.com/fertility-services/in-vitro-fertilization/intra-cytoplasmic-sperm-injection-icsi/>
36. **Auger et al.** Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *The New England Journal Of Medicine*, 1995.
37. **Haute Autorité de Santé.** Recommandation de bonnes pratiques. Surpoids et obésité de l'adulte : prise en charge médicale de premier secours. 2011.
38. **Jones et al.** Hypogonadism in men with type 2 diabetes. *Practical diabetes*, 2007.
39. **Pasquali et al.** Insulin regulates testosterone and sex hormone binding globulin concentrations in adult normal weight and obese men. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 1995.
40. **Grossmann et al.** Low testosterone levels are common associated with insulin resistance in men with diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993.
41. **Reis et al.** Erectil dysfunction and hormonal imbalance in morbidly obese is reversed after gastric bypass surgery: a prospective randomized controlled trial. *Journal of Andrology*, 2010.
42. **Tripathy et al.** Hypogonadotropic hypogonadism in erectil dysfunction associated with type 2 diabetes mellitus: a common defect. *Metabolic syndrom related disorder*, 2003.
43. **Russel et al.** *The in vitro role of TNF alpha and IL 6 in the hypothalamic-pituitary gonadal axis.* *Journal of Neuroendocrinology*, 2001.
44. **Brüning et al.** Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science*, 2000.
45. **Loves et al.** Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism. *Journal of Endocrinology*, 2008.
46. **Lima et al.** Decreased androgen levels in massively obese men may be associated with impaired function of gonadostat. *Journal of obesity and related metabolic disorders*, 2000.
47. **Pitteloud et al.** Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity and mitochondrial function in men. *Diabetes Care*, 2005.

48. **Greco et al.** Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICSI with testicular spermatozoa. *Human Reprod*, 2005.
49. **Kort et al.** Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl* 2006.
50. **Andersen et al.** Fatty acid composition of spermatozoa is associated with BMI and with semen quality. *Andrology*, 2016.
51. **El Bardisi et al.** Effect of bariatric surgery on semen parameters and sex hormone concentrations : a prospective study. *Reproductive Biomedicine*, 2016
52. **Lazars et al.** Dramatic reduction in sperm parameters following bariatric surgery: report of two cases. *Andrologia*, 2012
53. **Sermondade et al.** Sperm parameters and male fertility after bariatric surgery: three case series. *Reproductive BioMedicin*, 2012.
54. **Mac Donald et al.** The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. *Human Reprod* 2010
55. **Qin et al.** Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality? *Asian J Androl* 2007.
56. **Sermondade et al.** BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Human reprod* 2013.
57. **Giagulli et al.** Pathogenesis of the decreased androgen levels in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994.
58. **Kley et al.** Enhanced conversion of androstenedione to estrogens in obese males. *J Clin Endocrinol Metab* 1980
59. **Derby et al.** Body mass index, waist circumference and waist to hip ratio and change in sex steroid hormones: the Massachusetts male ageing study. *Clin Endocrinol*, 2006.
60. **Campbell et al.** Paternal obesity negatively affects male fertility and assisted reproduction outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2015
61. **Petersen et al.** The influence of female and male body mass index on live births after assisted reproductive technology treatment: a nationwide register-based cohort study. *Fertil Steril*, 2013.

62. **Schliep et al.** Effect of male and female body mass index on pregnancy and live birth success after *in vitro* fertilization. *Fertil Steril*, 2015.
63. **Aggerholm et al.** Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil Steril*, 2008.
64. **Jensen et al.** Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril*, 2004.
65. **Luque et al.** Body mass index and human sperm quality: neither one extreme nor the other. *Reproduction. Fertility and Development*, 2015.
66. **Yongxin et al.** Variability in the morphologic assessment of human sperm: use of the strict criteria recommended by the World Health Organization in 2010. *Fertil Steril*, 2014.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 16 octobre 2017

|   |   |
|---|---|
| <p><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR<br/>EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : Alexandre SAULA</p> <p><u>Sujet</u> : Infertilité masculine et obésité : <i>étude rétrospective sur une cohorte de patients du Centre Médico-Chirurgical Obstétrique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg</i></p> <p><u>Jury</u> :</p> <p>Président : M. Jean-Marc LESSINGER, Professeur Pharmacie<br/>Directeur : M. Marius TELETIN, Maître de Conférences<br/>Juges : M. Marc KLEIN, Professeur Médecine<br/>Mme Jeanine OHL, Médecin</p> | <p>Vu,<br/>Nancy, le 5.09.2017</p> <p><br/><del>Professeur Jean-Marc LESSINGER<br/>Le Président du Jury</del> Directeur de Thèse</p> <p><del>Laboretoire de Biochimie et Biologie Moléculaire<br/>NOUVEL HOPITAL CIVIL - HOPITAL DE HAUTE</del> <b>Docteur Marlus TELETIN</b><br/>Biologie de la Reproduction<br/>SIHCLUS - CMCO<br/>19 rue Louis Pasteur<br/>67303 SCHILTIGHEIM Cedex</p> <p>M. </p> |
| <p>Vu et approuvé,<br/>Nancy, le 19.09.2017</p> <p>Doyen de la Faculté de Pharmacie<br/>de l'Université de Lorraine,</p> <p><br/>Francine PAULUS</p> <p></p>  | <p>Vu,<br/>Nancy, le</p> <p>Le Président de l'Université de Lorraine,</p> <p><br/>Pierre MUTZENHARDT</p> <p></p> <p>N° d'enregistrement : 10039</p>   |

N° d'identification :

**TITRE**

**Infertilité masculine et obésité : Etude rétrospective sur une cohorte de patients du Centre Médico-Chirurgical Obstétrique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.**

**Thèse soutenue le 16/10/2017**

**Par Alexandre SAULA**

**RESUME :**

L'obésité est un fléau qui touche de plus en plus de personnes à travers le monde. Parallèlement, on constate, depuis plusieurs décennies, une baisse de la qualité du sperme chez l'homme. Nous avons donc tenté ici de mettre en relation ces deux phénomènes. Pour cela, nous avons réalisé une étude rétrospective, en deux temps, sur une cohorte de patients du Centre Médico-Chirurgical Obstétrique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg. Nous avons tout d'abord observé les résultats des spermogrammes des patients en fonction de leur IMC puis dans un second temps, nous avons analysé les issues des tentatives, en insémination intra utérine et en fécondation *in vitro*, en fonction de l'IMC de l'homme. Nous obtenons des modifications significatives du spermogramme pour certains paramètres, comme le volume de l'éjaculat et la numération en spermatozoïdes, alors que d'autres ne sont pas touchés par l'obésité. Pour les issues des tentatives en AMP, l'IMC de l'homme ne modifie pas les taux de réussite. Ces résultats suggèrent que l'obésité a un impact sur la fonction de reproduction masculine, mais que des études supplémentaires, avec des examens complémentaires, comme un bilan hormonal ou la mesure du taux de fragmentation de l'ADN spermatique, mériteraient d'être réalisées afin de mieux comprendre les mécanismes qui interviennent.

**MOTS CLES :** Obésité – Infertilité – spermogramme – IMC

| Directeur de thèse              | Intitulé du laboratoire                                  | Nature  |
|---------------------------------|--|---|
| <b><u>Dr Marius TELETIN</u></b> | <b><u>Laboratoire de biologie de la reproduction</u></b> | Expérimentale <input checked="" type="checkbox"/> |
|                                 |  | Bibliographique <input type="checkbox"/>          |
|                                 |  | Thème <input type="checkbox"/>                    |

**Thèmes**

1 – Sciences fondamentales

2 – Hygiène/Environnement

3 – Médicament

4 – Alimentation – Nutrition

**5 - Biologie**

6 – Pratique professionnelle