

Biopsie testiculaire et fécondation in vitro en ICSI au centre hospitalo-universitaire de Strasbourg

Charles Pax

▶ **To cite this version:**

Charles Pax. Biopsie testiculaire et fécondation in vitro en ICSI au centre hospitalo-universitaire de Strasbourg. Sciences pharmaceutiques. 2017. hal-01932138

HAL Id: hal-01932138

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01932138

Submitted on 23 Nov 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

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

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.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2017

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE
du **DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**
de Biologie Médicale

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le **21 avril 2017**

Par **Charles PAX**
né (e) le **28.02.1988**

Conformément aux dispositions de l'arrêté

du 4 octobre 1988 tient lieu de

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

Titre

Biopsie testiculaire et fécondation in vitro en ICSI au centre hospitalo-universitaire de Strasbourg

---

Membres du Jury

Président : Jean-Marc LESSINGER, Professeur

Juges : Pascal ESCHWEGE, Professeur
Marius TELETIN, Maitre de Conférences
Fabienne SCHNEIDER, Docteur en Pharmacie
Jeanine OHL, Docteur en Médecine

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

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Mariette 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

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Gabriel TROCKLE
Maria WELLMAN-ROUSSEAU
Colette ZINUTTI

ENSEIGNANTS	*Section*	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique et Epidémiologie*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique, Audioprothèse*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND	*87*	*Eau, Santé, Environnement*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Alexandre HARLE	*82*	*Biologie cellulaire oncologique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Xavier BELLANGER	*87*	*Parasitologie, Mycologie médicale*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*

François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Anthony GANDIN	*87*	*Mycologie, Botanique*
Caroline GAUCHER	*86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie, Sécurité sanitaire*
ENSEIGNANTS (suite)	*Section*	*Discipline d'enseignement*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Julie LEONHARD	*86/01*	*Droit en Santé*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie environnementale*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Marianne PARENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Sophie PINEL	*85*	*Informatique en Santé (e-santé)*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Guillaume SAUTREY	*85*	*Chimie analytique*
Rosella SPINA	*86*	*Pharmacognosie*
Sabrina TOUCHET	*86*	*Pharmacochimie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

¤ *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 :

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

Ð'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.

Ðe 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

A mon président de thèse, Professeur Jean-Marc LESSINGER, pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A mon directeur de thèse, Docteur Marius TELETIN, pour m'avoir proposé ce sujet, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour le temps que tu m'as accordé. Je garderai un excellent souvenir de ta positivité et de ta bienveillance.

Au Professeur Pascal ESCHWEGE, praticien hospitalier urologue et cancérologue au CHRU de Nancy, pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Aux membres du jury :

Docteur Jeanine OHL, gynécologue obstétricien, pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance. Merci également pour les conseils et pour toutes les discussions que nous avons eu lors de mon passage au CMCO.

Docteur Fabienne SCHNEIDER, pharmacien d'officine, pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance. Je vous remercie sincèrement pour tous ce que vous avez faits pour moi depuis ma première année de faculté.

Mes remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire de Biologie de la reproduction du CHU de Strasbourg, et notamment à Dr. Isabelle LICHTBLAU, Dr. Cécile GREZE, Dr. Laetitia LADUREAU et Dr. Catherine CELIBI pour tous les conseils et toutes les explications que vous m'avez données. Je n'oublie pas les techniciens, techniciennes et secrétaires qui m'ont également beaucoup aidé.

Je dédie cette thèse :

A la femme de ma vie qui m'a soutenu et supporté toutes ces années, malgré mon caractère. Je te dois tout, si j'en suis là c'est beaucoup grâce à toi, ta patience, ta gentillesse… et à toutes tes qualités qui font ce que tu es pour moi.

A mes parents… je vous dois tellement de choses que je ne saurais les énumérer. Merci de m'avoir permis de faire les bons choix, d'avoir tout fait pour que ces années d'études passent facilement et surtout de m'avoir offert cet avenir.

A ma sœur,

A mon frère,

A mes Grands-parents, Manou, Mamie, Papi et Bon-Papa, pour votre indéfectible soutien.

A tous mes amis, de fac ou non, je ne vous citerai pas tous, vous êtes tellement nombreux à compter pour moi. Depuis 2007 on s'est éclaté entre Strasbourg, Reims, Metz et Nancy. Vous m'avez fait passer tellement de moments inoubliables, je vous remercierai jamais assez de faire partie de ma vie.

Et à mon futur fils ! J'ai vraiment hâte que tu sois là !!!

Table des matières

A. INTRODUCTION : 12

1. HISTOIRE 13
2. RAPPELS 16
   a. *Anatomie de l'appareil génitale mâle :* *16*
   b. *Régulation hormonale :* *17*
   c. *La spermatogénèse :* *19*
3. DÉFINITIONS 20
   a. *Azoospermie Excrétoire* *20*
   b. *Azoospermie Sécrétoire* *21*
   c. *Bilan devant une azoospermie* *21*
   d. *Chirurgie :* *22*
4. GÉNÉTIQUE ET AZOOSPERMIE 31
5. ACTUALITÉ: 32

B. MATERIELS & METHODES 33

1. PÉRIODE D'ÉTUDE : 34
2. PATIENTS : 34
3. BILAN ANDROLOGIQUE : 35
4. LA CONJOINTE : 36
5. PROCÉDURE D'ICSI : 37
6. RÉCAPITULATIF DE LA PRISE EN CHARGE : 39

C. RESULTATS : 40

1. CHOIX DES POINTS DE COMPARAISON : 43
2. RÉSULTATS DE LA BIOPSIE : 44
3. CARACTÉRISTIQUES DE LA POPULATION: 45
4. RÉSULTATS DE L'ICSI : 47
5. NUMÉRATION SPERMATIQUE : 48
6. MOBILITÉE : 50
7. NOMBRE D'OVOCYTE : 52
8. NOMBRE D'EMBRYON : 54
9. TYPE D'AZOOSPERMIE : 56
10. FSH : 58
11. TAUX DE GROSSESSE, FAUSSE COUCHE ET NAISSANCE: 60
12. AUTRES RÉSULTATS STATISTIQUES : 61

D. DISCUSSION : 62

1. ANALYSE DES FACTEURS PRÉOPÉRATOIRES : 63
   a. *L'âge* *63*
   b. *Le tabagisme* *63*
   c. *L'étiologie* *64*
   d. *Le volume testiculaire* *64*
2. LIMITES DE L'ÉTUDE : 65
3. AVANTAGES DE L'ÉTUDE 65
4. CHOIX DE LA MÉTHODE CHIRURGICALE 65
5. UTILISATION DE SPERMATOZOÏDES CONGELÉS : 66
6. ACTE CHIRURGICAL SYSTÉMATIQUE : 66

E. CONCLUSION 68

F. BIBLIOGRAPHIE : 70

G. ANNEXES 76

1. ANNEXE 1 : LISTE DE ABRÉVIATIONS : 77
2. ANNEXE 2: CALCULS STATISTIQUES: 78
   - *a. Numération : 78*
   - *b. Mobilité : 79*
   - *c. FSH 80*
   - *d. Nombre d'ovocyte (NO) 81*
   - *e. Nombre d'embryon (NE) 84*
   - *f. Type d'azoospermie 85*

A. Introduction :

1. Histoire

C'est le 25 juillet 1978, en Angleterre, que naquit le premier enfant conçu par fécondation in vitro (FIV). Ce jour-là, le biologiste Robert Edwards et le gynécologue Patrick Steptoe démontraient à la communauté scientifique que les travaux réalisés depuis plus d'une vingtaine années chez les petits mammifères étaient transposables à l'espèce humaine. Un espoir extraordinaire se levait pour toutes les femmes atteintes de stérilité tubaire définitive.

Trente ans plus tard, on mesure le chemin parcouru. La FIV s'est enrichie de tout un panel de techniques collatérales : cryoconservation, ICSI (intracytoplasmic sperm injection), DPI (diagnostic préimplantatoire), don de gamètes, etc.

De son côté l'ICSI a révolutionné le traitement des stérilités masculines.

Entre 1 et 3 % des enfants, en Europe, sont issus de ces techniques et, pour l'année 2002, on estimait leur nombre à 230 000 environ dans le monde (1). En 2012, pour le vingtième anniversaire de l'ICSI, A. Van Steirteghem publiait dans Human Reproduction que le nombre d'enfants nés grâce à cette technique avait dépassé les 2.5 millions(2).

Si l'on fait un petit tour de la préhistoire de la FIV, on constate que les prémices de la culture in vitro d'embryon de mammifères, au préalable conçu in vivo, se situent vers 1880 grâce à Schenk (3). Il tenta également, sans succès, la fécondation in vitro dans le milieu extérieur. La première fécondation in vitro fût réalisée par G. Pincus en 1930 chez le lapin, malheureusement aucune naissance n'est observée. Enzmann, en 1934, découvre qu'il faut environ 12 heures de culture pour qu'un ovocyte, prélevé dans un follicule immature, reprenne la méiose et atteigne le stade de métaphase 2 (4). En 1954 a lieu la première fécondation in vitro réussie, chez le lapin, documentée scientifiquement et attribuée au français François Charles Thibault (5). En 1963, la première FIV chez le hamster aboutit grâce à Yanagimachi et Chang (6).Puis vint le tour de la souris (1968), de la vache, du porc,… Tous ces essais menant à la naissance de Louise Brown en 1978.

Étudions maintenant l'histoire de la FIV humaine. Celle-ci commence en Angleterre avec le généticien Robert G. Edwards et son fort intérêt pour la maturation ovocytaire. Un de ses buts était de réaliser d'une part la fécondation et d'autre part le développement embryonnaire in vitro. Il commence par confirmer que cette maturation ovocytaire in vitro nécessite 12h chez le rongeur, pour passer du stade de vésicule germinative à celui de métaphase 2. Il découvre par la suite avec stupéfaction que chez les ruminants et les primates cette maturation nécessite environ 37h, et il semble qu'il en soit de même chez l'humain (7). En 1969, le Dr Edwards réussi enfin la fécondation ovocytaire humaine in vitro avec une technique reproductible et efficace (8,9), Il est donc possible de s'essayer aux premiers transferts d'embryons directement dans l'utérus, et ainsi de passer au chapitre « clinique » de l'histoire. Tout étant à inventer, il faut définir les conditions du transfert (non

traumatique, aseptique, avec le minimum de milieu possible). Une fois ces contraintes respectées, l'équipe commence à réaliser le transfert *in utero* des embryons clivés chez des femmes atteintes de stérilité tubaire définitive, de manière à ce qu'il n'y ait aucun doute quant à la réalité d'un éventuel succès. Cependant, aucune grossesse n'est obtenue. Parmi toutes les causes qui auraient pu expliquer ces échecs, Dr. Edwards désigne un responsable, le corps jaune. En effet, le traitement par hMG-hCG entraînant une phase lutéale courte de 8-9 jours, il semblait indispensable de réaliser une supplémentation en progestérone pour compenser ce déficit lutéal et favoriser l'implantation et le début de la grossesse.

Cependant les échecs se poursuivent. Le choix de la molécule de substitution (un progestatif retard à effet lutéolytique inconnu à cette époque) ne s'avère pas efficace, tout du moins pas totalement.

Heureusement, les dosages plasmatiques de la BhCG sont devenus disponibles et se révèlent positifs, 8 jours après le transfert embryonnaire, chez plusieurs des patientes prises en charge. L'implantation avait donc bien eut lieu, mais la grossesse s'était rapidement interrompue : le terme de grossesse « biochimique » était né. En 1973, en Australie, le Dr Kretzer rapporte 2 grossesses biochimiques (10), puis en 1975 la première grossesse extra-utérine post transfert in utéro est publiée (11). Le 25 juillet 1978 le premier bébé issu de la FIV était né (12).

Après ce bref rappel des débuts de l'assistance médicale à la procréation, recentrons-nous sur la technique d'AMP dont ce document fait l'objet : l'ICSI (pour Intra-Cytoplasmic Sperm Injection), technique consistant à micro-injecter un spermatozoïde vivant directement dans le cytoplasme de l'ovocyte.
Cette technique, qui est en quelque sorte une évolution de la FIV dite « classique », est mise au point en 1990, en Belgique, par A. Von Steirteghem. Elle est d'ailleurs presque immédiatement utilisée sur les embryons humains, puisque à peine 2 ans plus tard, Palermo et al. (13) publiaient la première naissance obtenue en ICSI.
L'ICSI est ainsi devenue le traitement de choix des patients présentant des altérations spermatiques sévères. Cependant, il existe certains patients dont les paramètres spermatiques sont tellement catastrophiques que même l'ICSI ne suffit pas.
Pour ces patients est mis au point, en 1993, le prélèvement chirurgical de spermatozoïdes. Ce prélèvement a révolutionné la prise en charge des patients souffrant d'azoospermie (absence totale de spermatozoïde observé dans l'éjaculat) (14). Avant l'avènement de ces techniques, pour avoir un enfant, la seule possibilité pour un homme présentant une azoospermie ou une oligozoospermie extrême, était le recours au don de spermatozoïdes.
Par la force des choses, il est mis en place une « hiérarchisation » des patients, de manière à définir quelle technique leur serait proposée.

En cas d'absence de spermatozoïde à l'examen direct du sperme, deux situations sont envisageables:

- Soit le patient est réellement azoosperme (absence de spermatozoïde même après centrifugation du sperme) et il faut envisager une biopsie testiculaire (14) ;

- Soit des spermatozoïdes sont observés après centrifugation du sperme et on parle alors de cryptozoospermie. Dans cette situation, des tentatives d'autoconservations puis des tentatives d'ICSI sur sperme éjaculé pourront alors être réalisées (15,16).

D'autres patients présenteront d'emblée à l'examen direct du sperme quelques rares spermatozoïdes (oligozoospermie extrême). La prise en charge thérapeutique sera alors similaire et tout aussi délicate que celle des patients présentant une cryptozoospermie (15,16).
Toutes ces situations constituent un véritable challenge pour les médecins et biologistes de la reproduction. En effet, la prise en charge des patients pour lesquels une quantité extrêmement faible de spermatozoïdes est observée dans l'éjaculat, reste indiscutablement difficile.

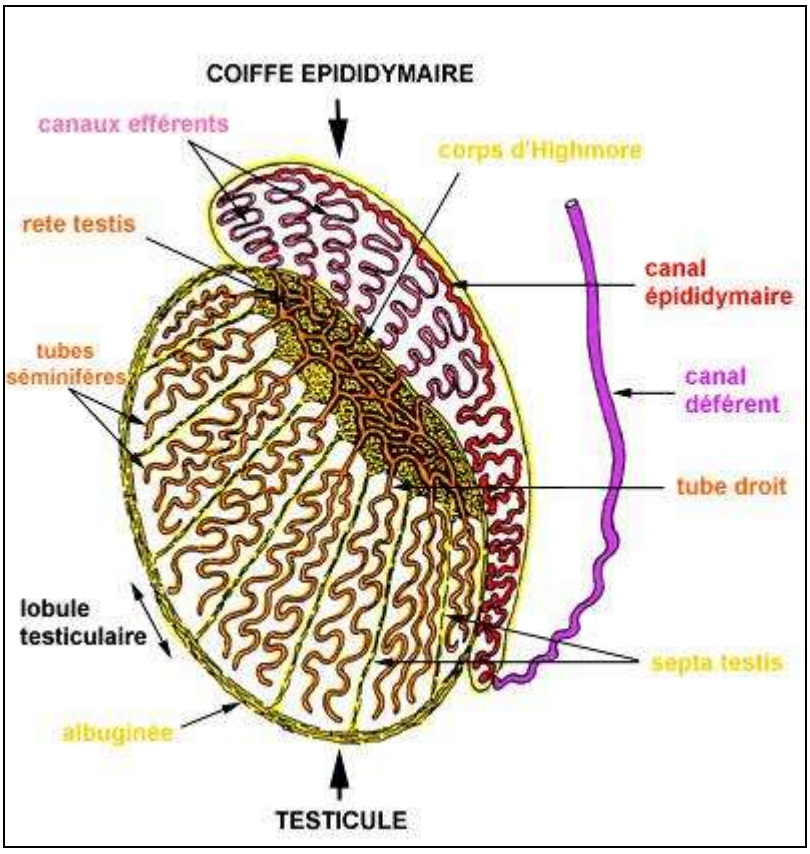
Ainsi, certaines équipes ont proposé le recours à la biopsie testiculaire chez ces patients dont la numération spermatique est extrêmement faible (17–20).

2. Rappels

Avant de donner des précisions sur les termes employés dans les premiers paragraphes, détaillons quelques points techniques concernant l'appareil génital mâle, la spermatogénèse et les régulations hormonales qui y ont lieu.

a. Anatomie de l'appareil génitale mâle :

Il est composé des testicules, des voies excrétrices intra et extra-testiculaires : tubes droits, rete-testis, canaux efférents, épididyme, canal déférent, urètre. Ainsi que des glandes annexes : vésicules séminales, prostate et glande de cowper.



Référence : http://infirmi.e-monsite.com/pages/schema/testicule.html

Les testicules ont deux fonctions distinctes : Exocrine (production de spermatozoïdes) et endocrine (production d'hormones androgènes). La production des spermatozoïdes est réalisée dans la lumière des tubes séminifères. Deux types de cellules sont essentiels, les cellules de Sertoli ayant un rôle de soutien et les cellules germinales qui sont les précurseurs des cellules de la lignée spermatique.

b. Régulation hormonale :

Comme beaucoup de glandes endocrines les testicules ne fonctionnent pas de manière indépendante mais sont placés sous le contrôle du complexe hypothalamo-hypophysaire. Il en résulte que l'activité génitale est en permanence régulée par les hormones qui y sont produites, la production de celles-ci étant par ailleurs dépendante d'un certain nombre d'influences centrales liées à des stimuli d'origine externe, tels que la lumière, ou interne, tels que l'état psychique du sujet.

Situé au centre de l'encéphale, l'hypothalamus est une petite structure nerveuse constituée de plusieurs noyaux gris recevant de multiples afférences d'origine sensorielle et émettant de nombreuses efférences ascendantes et descendantes. Il participe ainsi à bon nombre de fonctions centrales et intervient également dans de nombreuses régulations hormonales par l'intermédiaire de l'hypophyse, située juste en dessous.

Le fonctionnement des testicules est placé sous le contrôle de deux gonadostimulines hypophysaires (FSH et LH) et d'une gonadolibérine hypothalamique (GnRH).

FSH et LH sont synthétisées par les cellules de l'antéhypophyse. Ce sont deux glycoprotéines formées d'une chaîne α de 90 acides aminés commune aux deux molécules et d'une chaîne β de 115 acides aminés spécifique à chaque gonadostimuline. Les deux sont identiques dans les deux sexes mais ayant d'abord été découvertes chez les femelles de mammifères, leur appellation fait référence à la physiologie féminine :

- FSH pour *Follicle Stimulating Hormone* (= Hormone folliculo-stimulante),
- LH pour *Luteinizing Hormone* (= Hormone lutéinisante).

La GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*) est quant à elle un décapeptide fabriqué par les neurones du noyau arqué de l'hypothalamus. Elle est libérée de manière pulsatile à raison d'une décharge toutes les 90 minutes en moyenne. Comme elle stimule les cellules productrices de LH et de FSH, il en résulte que ces dernières sont également libérées de manière pulsatile dans la circulation sanguine.

Ces hormones étant de nature peptidique, elles ne pénètrent pas dans leurs cellules-cibles. Leur action s'exerce en se fixant sur des récepteurs membranaires spécifiques, ce qui déclenche une cascade de réactions enzymatiques faisant intervenir un messager intracellulaire (l'AMP cyclique désigné pour cette raison second messager hormonal).

Schématiquement, on peut considérer que la FSH agit sur la fonction exocrine du testicule (spermatogenèse) alors que la LH agit sur son activité endocrine (production de testostérone).

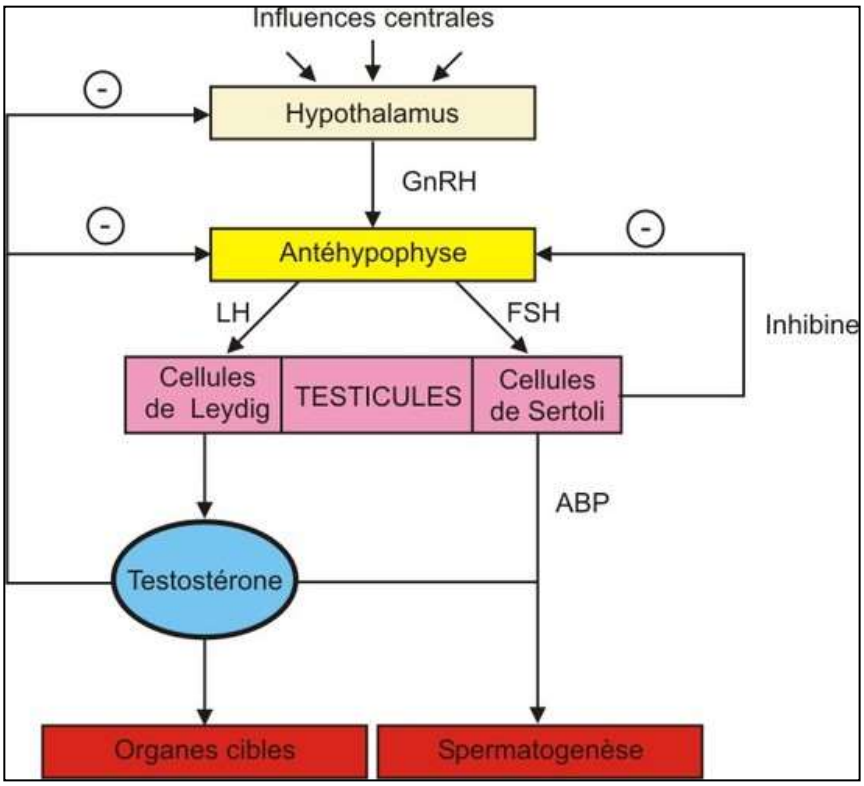
La LH agit directement sur les cellules de Leydig en stimulant la production de testostérone. Comme elle est libérée de manière pulsatile, il s'ensuit que la sécrétion de testostérone obéit au même rythme et qu'elle se traduit par de brefs épisodes de libération intense séparés dans le temps par des intervalles plus ou moins longs, variables au cours de la journée et pouvant atteindre plusieurs heures.

La FSH agit indirectement sur la spermatogenèse en stimulant la production d'ABP (*Androgen Binding Protein*) par les cellules de Sertoli. Cette glycoprotéine de liaison, libérée dans la lumière des tubes séminifères, présente une grande affinité pour la testostérone et la dihydrotestostérone. L'ABP a un rôle de stockage, de transport des androgènes vers les organes cibles de l'appareil génital et a également une action sur la maturation des cellules de la lignée spermatique. Elle est à l'origine d'une augmentation de la concentration des hormones qu'elle transporte au niveau de la lumière des tubes séminifères et donc en contact direct avec les cellules germinales et libère progressivement les androgènes de ces tubes jusque dans l'épididyme.

La LH et la FSH exercent ainsi en permanence leurs effets sur le testicule et lui permettent d'assurer ses fonctions exocrine et endocrine de manière continue. Toutefois, leur libération se faisant sous le contrôle de la GnRH, toute modification des paramètres centraux est susceptible d'entraîner des répercussions sur la production de testostérone et de spermatozoïdes. Enfin, il faut signaler que le fonctionnement du complexe hypothalamo-hypophysaire est lui-même soumis à deux rétrocontrôles négatifs :

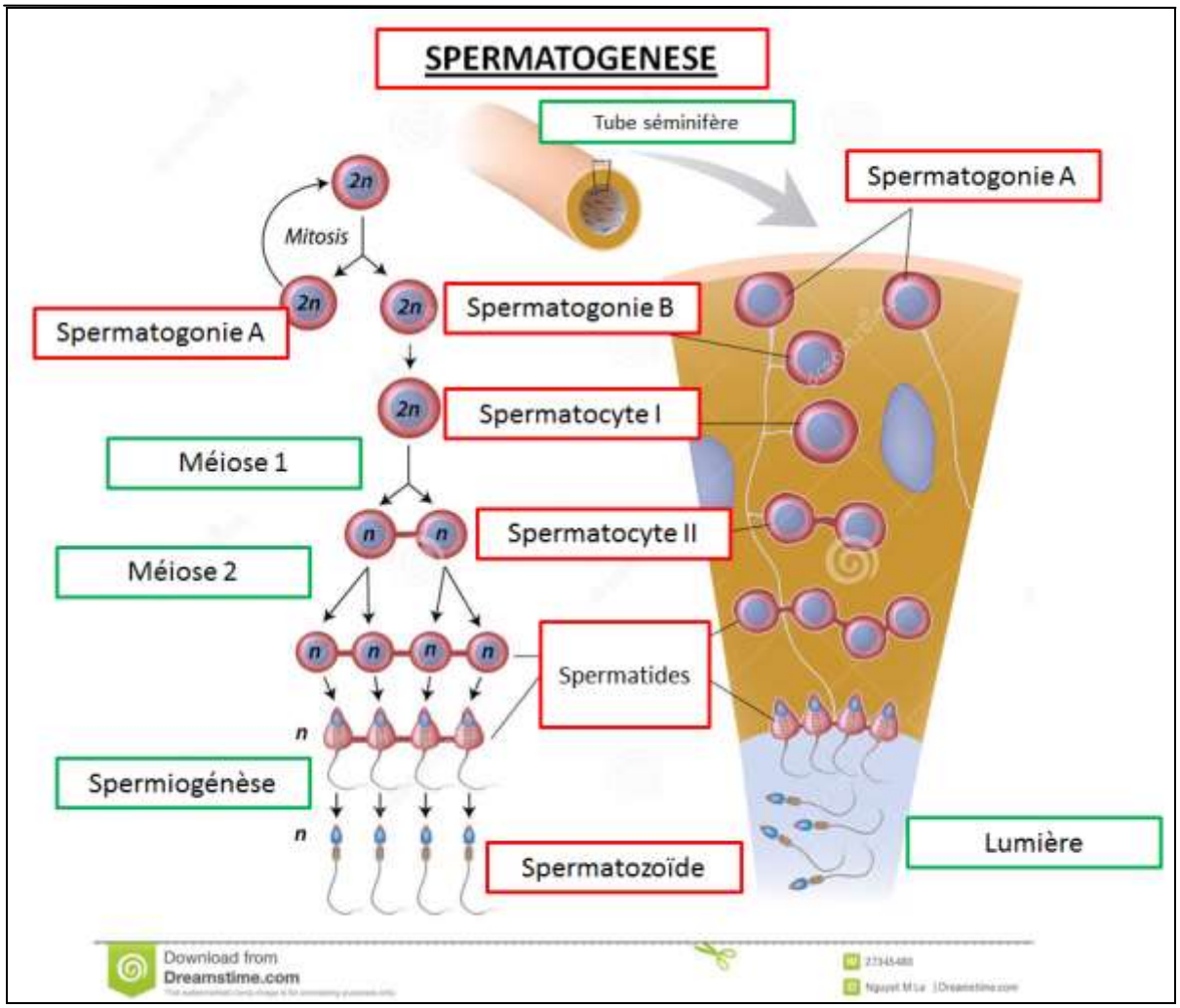
- d'une part, le taux de testostérone circulante exerce un effet inhibiteur sur la production de LH et de GnRH ;
- d'autre part, les cellules de Sertoli fabriquent une glycoprotéine, l'inhibine, libérée de manière pulsatile en même temps que la testostérone, qui exerce un effet inhibiteur sur la production de FSH.

On aboutit ainsi à une régulation dynamique de la production hormonale qui intègre de nombreux facteurs.



http://passeport.univ-lille1.fr/site/biologie/scbio/procreation/procreation_web.publi/web/co/04_2_Regul_homme.html

c. La spermatogénèse :



La spermatogenèse est le fruit de l'interaction étroite entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales à l'intérieur des tubes séminifères ainsi que des interactions entre les cellules de Sertoli et de Leydig à l'extérieur de ces mêmes tubes. Le tout rythmé par les productions hormonales.

La spermatogenèse se définit comme étant l'ensemble des processus qui transforment la cellule germinale immature (spermatogonie initiale et diploïde) en une cellule haploïde très spécialisée (le spermatozoïde). C'est un processus complexe et fragile qui débute à la puberté et est efficace jusqu'à un âge très avancé. À partir du moment où elle est entamée, c'est un processus continu qui ne s'interrompt pas. La durée d'un cycle de spermatogenèse est fixe dans chaque espèce. Chez les humains, il est de 74 jours. Il aboutit à la production de plusieurs millions de spermatozoïdes en continu. Toute altération peut être responsable d'une diminution de la quantité et/ou de la qualité des spermatozoïdes.

3. Définitions

Reprenons le titre de l'étude ci présente, Biopsie testiculaire et prise en charge en AMP, on comprend assez aisément que les patients qui vont être étudiés font partie, principalement, de deux catégories : cryptozoosperme et azoosperme. Et donc que la technique qui va être employée est de loin la plus fine et la plus méticuleuse. Il s'agit en effet de récupérer des spermatozoïdes issus d'un prélèvement testiculaire de manière à les injecter directement dans le cytoplasme de l'ovocyte. De cette façon les enfants issus de cette technique sont l'aboutissement de dizaines d'années de recherches croisant et mettant en étroite relation différents corps médicaux (Biologie, Urologie, Gynécologie, etc). Dans ces cas de figure on mêle stimulation ovarienne, ponction ovocytaire, biopsie testiculaire, ICSI…

Pour que le sujet soit parfaitement posé il nous reste à définir quelques termes. Commençons par ceux relevant de la spermiologie :

L'azoospermie se définit comme l'absence de spermatozoïdes dans le sperme éjaculé. Le diagnostic est formel lorsqu'aucun spermatozoïde n'est retrouvé après centrifugation de la totalité de l'éjaculat. Avant d'affirmer une azoospermie, il convient de renouveler l'examen sur 2 recueils à 3 mois d'intervalle (rappelons que 3 mois équivalent à un cycle de spermatogenèse, 74 jours exactement).

Il existe deux types d'azoospermie : Excrétoire par obstacle sur les voies génitales ou sécrétoire par défaut de production des spermatozoïdes. La distinction repose sur plusieurs arguments : données cliniques, spermiologiques, hormonales, échographiques, génétiques et histologiques.

a. <u>Azoospermie Excrétoire</u>

Dans ce cas de figure, on observe les caractéristiques suivantes : FSH plasmatique normale, testicules normaux.

Il existe notamment quatre grandes étiologies à ce type d'azoospermie :

- agénésie/ atrésie des canaux déférents et/ou vésicules séminales autrement nommé ABCD (anomalie lié à une mutation du gène CFTR).
- séquelles d'infections génitales
- antécédent de vasectomie
- plus rare, kyste prostatique compressif.

b. Azoospermie Sécrétoire

Il s'agit d'un déficit sécrétoire de cause périphérique ou centrale, associant FSH plasmatique élevée et testicules régulièrement atrophiés :

- **Cause périphérique**
  - origine génétique (syndrome de Klinefelter, micro-délétions du chromosome Y, mutations inhibitrices du récepteur de la FSH)
  - origine acquise (cryptorchidie, chirurgie inguino-scrotale, toxiques, traumatismes, orchites, torsion testiculaire, rôle cofacteur de la varicocèle…)
  - idiopathique

- **Cause centrale**
  - hypogonadisme hypo-gonadotrope congénital : syndrome de Kallmann de Morsier, syndrome de Prader-Willy, mutations des gènes de récepteur à la GnRH, FSH ou LH, mutations du gène GPR 54…
  - hypogonadisme hypo-gonadotrope acquis : tumeur hypophysaire, atteinte prostatique, iatrogénie médicamenteuse

c. Bilan devant une azoospermie

L'interrogatoire et l'examen clinique sont des étapes cruciales pour préciser les facteurs susceptibles d'altérer la fertilité.

Le spermogramme permet de préciser le volume de l'éjaculat, le pH séminal. La biochimie séminale est prescrite lorsqu'une anomalie des glandes génitales est suspectée afin d'en préciser le niveau.

Les dosages hormonaux comportent : FSH et inhibine B (fonction sertolienne), testostéronémie (fonction leydigienne), LH et prolactine en cas d'hypotestostéronémie.

L'échographie scrotale est systématiquement réalisée. Elle permet de déterminer le volume testiculaire avec précision (valeur seuil fixée à 16 ml pour l'hypotrophie), d'étudier le carrefour prostato-vésiculo-déférentiel, d'éliminer une pathologie tumorale.

Le caryotype est également systématique chez les azoospermes. L'anomalie la plus fréquente est le syndrome de Klinefelter (47, XXY) (11 % environ). D'autres mutations sont recherchées en fonction des constatations clinico-biologiques précédentes. Si une anomalie génétique est mise en évidence, un conseil génétique est réalisé avant la poursuite de l'AMP.

d. Chirurgie :

La deuxième grande partie du sujet concerne un monde relativement éloigné de la biologie médicale. Le versant chirurgical est absolument fondamental dans ce contexte et nécessite d'être compris.

C'est en 1940 que sont publiées les premières biopsies testiculaires pour le diagnostic des infertilités masculines (20). Puis se succèdent les publications. Tout ceci permettant, au fur et à mesure, la mise en place d'une classification histologique précise de l'ensemble des troubles de la spermatogenèse.

Définissons maintenant les techniques permettant de prélever des spermatozoïdes directement au sein du testicule. La première chose qu'il faut savoir c'est que l'activité de prélèvement chirurgical de tissu testiculaire, en vue d'utilisation procréative, **doit** être faite par un chirurgien en possession des agréments délivrés par arrêtés ministériels après avis de la Commission Nationale de Biologie de la Reproduction (CNBDR), maintenant remplacée par l'Agence de Bio-Médecine (ABM). Son innocuité doit être totale, aussi les techniques chirurgicales et histologiques nécessitent une grande rigueur afin d'apporter des renseignements précis et complets.

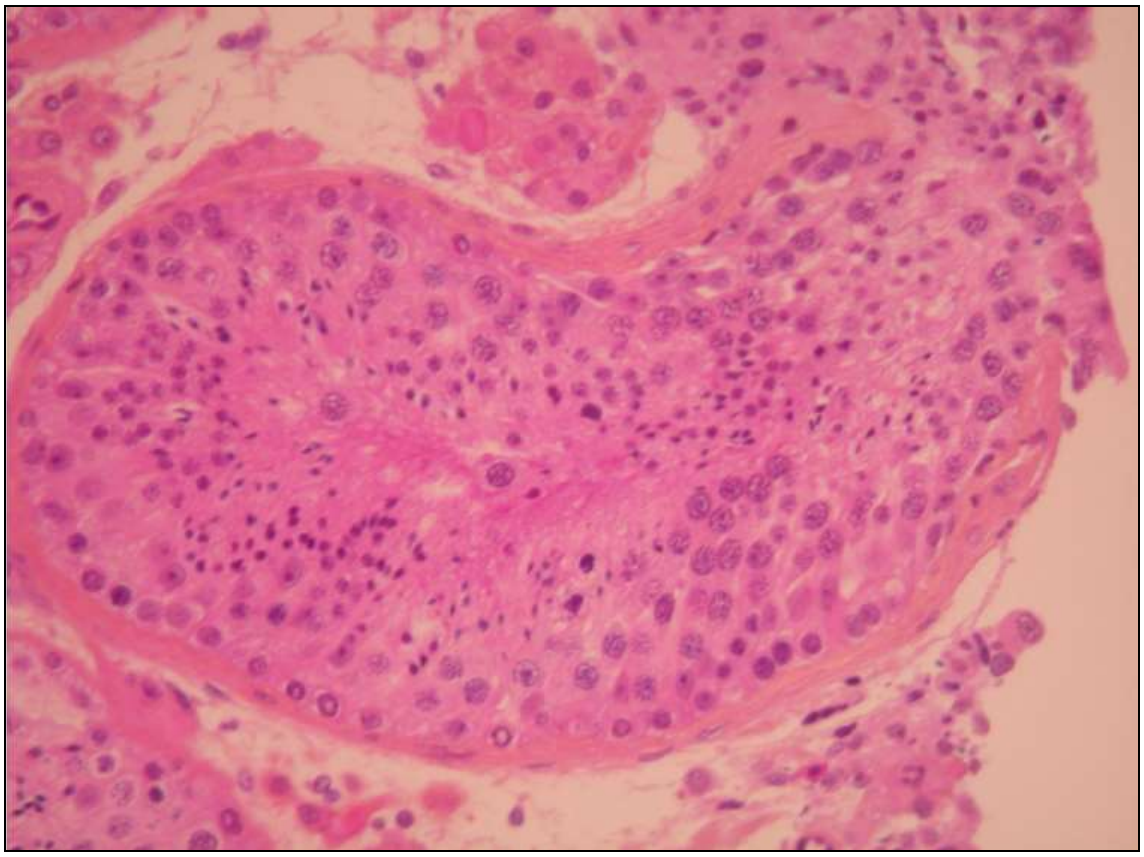
I.Rappels histologique :

La biopsie testiculaire est réalisée dans le but, évidemment de préserver la fertilité du patient, mais aussi de manière à déterminer l'étiologie de l'azoospermie touchant le patient. Il est indispensable de comprendre de quelle manière sont atteints les tubes séminifères. Quatre catégories sont définies : Normal, Hypo-spermatogénèse, Blocage de maturation et Cellules de Sertoli isolées. Les résultats histologiques apportés par la biopsie influencent la conduite ultérieure.

Grâce à cette biopsie, nous espérons avoir un aperçu de ce qui se passe au niveau testiculaire et ainsi déterminer la ou les anomalies potentielles.

L'ensemble des acteurs responsables de la spermatogenèse, sont-ils tous présents?
Voyons-nous les spermatozoïdes à toutes les étapes de leur maturation?
Y a-t-il suffisamment de zone où la spermatogenèse est active?
C'est sur la base de ces questions simples, que nous pouvons décrire ce qui se passe au niveau de la biopsie.

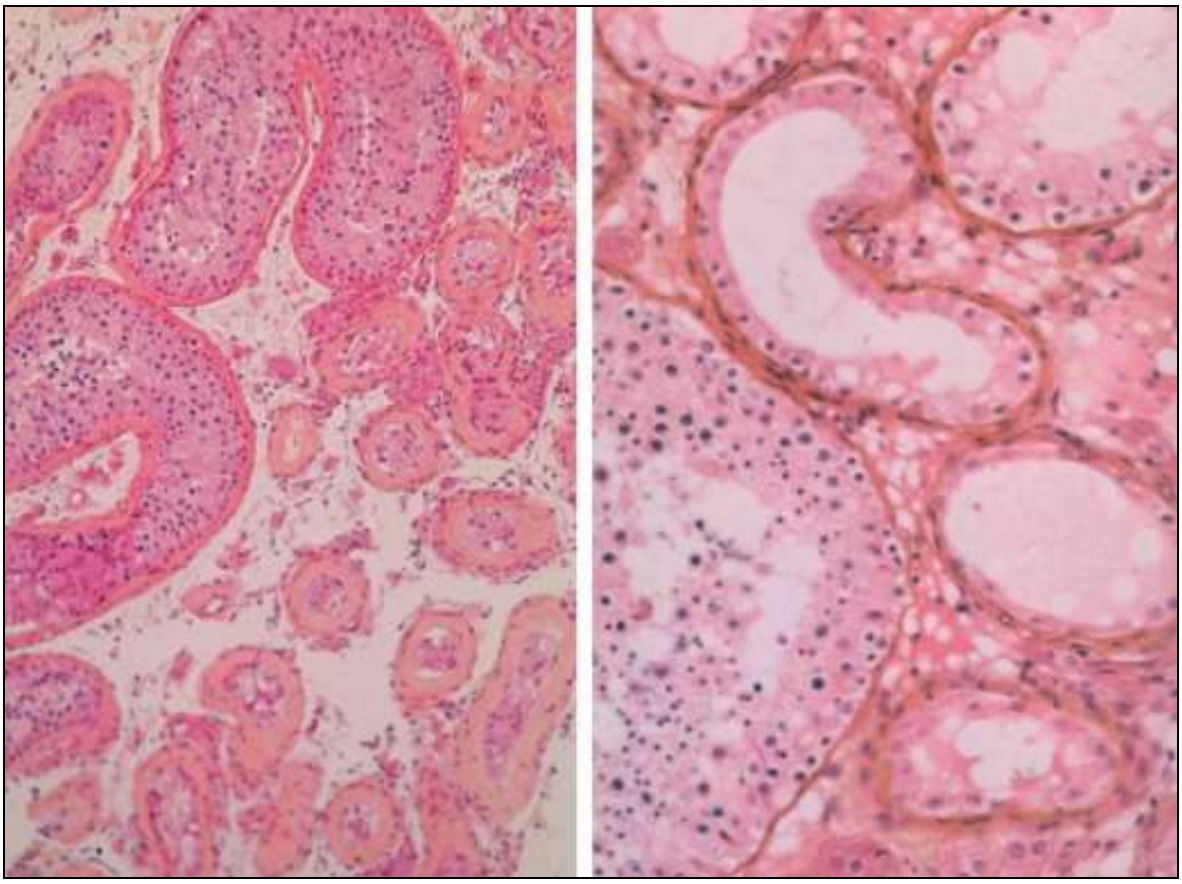
i. Normal



http://anabible.webethan.org/spip.php?article2793&lang=fr

On observe l'ensemble de la lignée cellulaire spermatique. Les cellules de Leydig et de Sertoli sont présentes. La majorité des tubes séminifères sont remplis de spermatozoïdes qui vont se diriger vers l'épididyme afin d'acquérir leur mobilité.

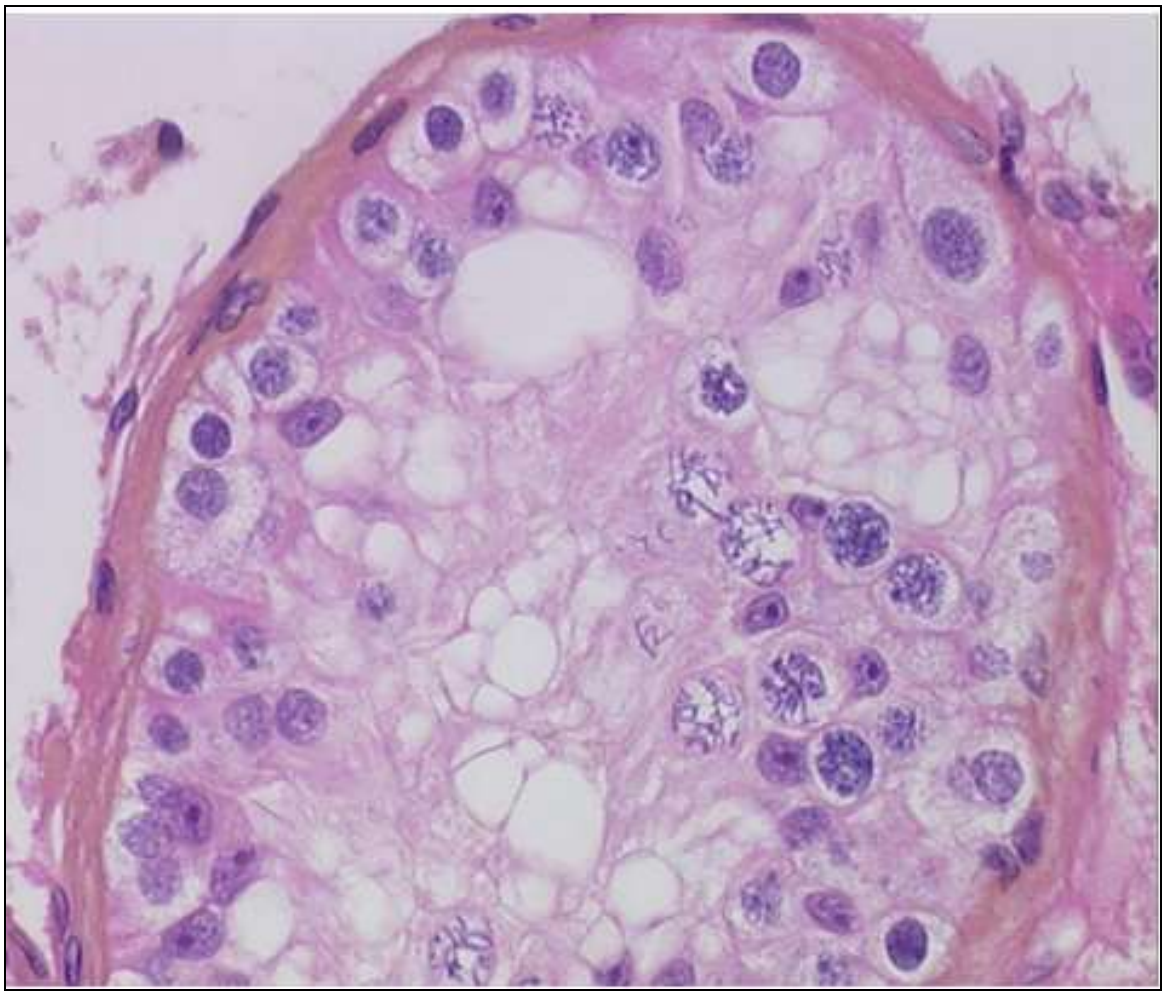
ii. Hypospermatogénèse



http://anabible.webethan.org/spip.php?article2793&lang=fr

Les spermatozoïdes sont observés à tous les stades de maturation. Malheureusement, un nombre très insuffisant de tubes séminifères sont actifs, à tel point que la recherche de spermatozoïdes à l'examen direct ne permet pas leur mise en évidence.

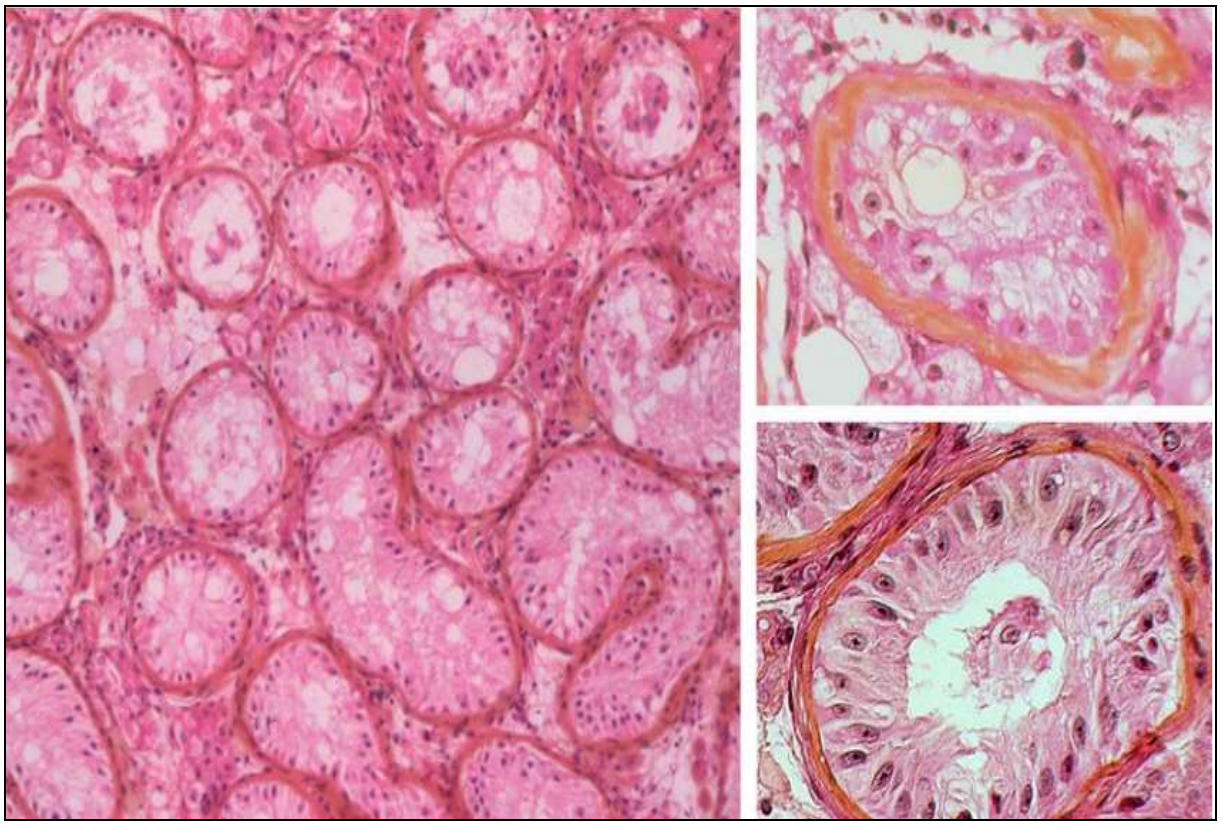
iii. Blocage de Maturation



http://anabible.webethan.org/spip.php?article2793&lang=fr

Dans ce contexte, l'ensemble des acteurs responsables de la fabrication des spermatozoïdes sont présents, mais leur maturation est stoppée prématurément.

iv. Cellule de Sertoli isolée



http://anabible.webethan.org/spip.php?article2793&lang=fr

Seules persistent les cellules de Sertoli, ces cellules ayant, exclusivement, un rôle de soutien pour les cellules germinales de la lignée spermatique, l'absence de ces dernières rend donc impossible la mise en place de la spermatogénèse.

II.Les Techniques chirurgicales

i. L'aspiration percutanée ou TESA (testicular sperm aspiration)

Réalisés à l'aide d'une aiguille ou d'un pistolet automatique. Plusieurs échantillons sont aspirés au même site de ponction. Cette technique est la moins invasive mais ne permet pas d'analyse histologique et possède une moins bonne rentabilité par rapport à la biopsie chirurgicale (22–25).

Ses risques sont : hémorragies, fragments ininterprétables du fait de leur taille, souvent dilacérés, développement d'anticorps anti-spermatozoïdes décrits.



http://southwestvasectomyreversal.com/testicular-microdissection/

ii. La biopsie chirurgicale ou TESE (testicular sperm extraction)

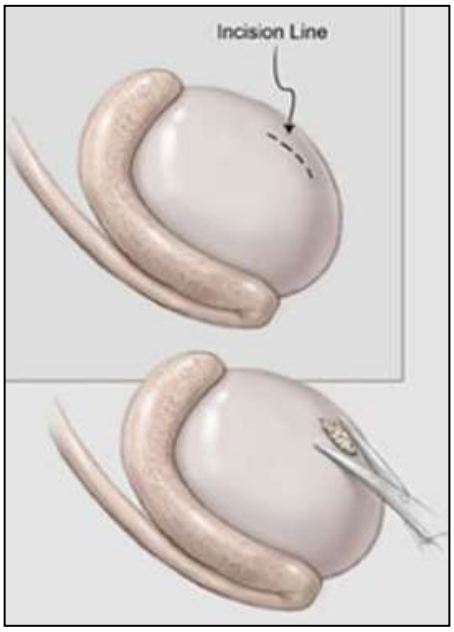
Elle a lieu au bloc opératoire sous anesthésie générale le plus souvent.
Une scrototomie est réalisée, puis ouverture de la vaginale, et incision de l'albuginée transversale. Par pression manuelle, la pulpe testiculaire fait saillie au travers de cette incision et saisie par un coup de ciseau. Systématiquement un 2^{e} fragment est fixé pour l'analyse histologique.
Le prélèvement est par la suite analysé par un biologiste de la reproduction
Si des cellules germinales sont retrouvées, les fragments doivent être immédiatement congelés pour utilisation ultérieure. Dans le cas contraire, un nouveau fragment peut être prélevé.

Enfin, après vérification définitive de l'hémostase, un ou deux points en X au fil résorbable assurent la fermeture de l'albuginée, puis de la vaginale. L'incision scrotale est également refermée.
Le prélèvement testiculaire est dans la grande majorité des cas bilatéral. Un abord unilatéral peut être réalisé en cas d'anomalie parenchymateuse controlatérale (micronodules) constatée lors de l'échographie préopératoire. Dans ce cas, on évite d'intervenir sur ce testicule afin de ne pas l'altérer d'avantage.
Des complications peuvent survenir telles que : blessure épididymaire, hématome, infection (orchite ou épididymite). Une atteinte vasculaire peut également conduire à une atrophie testiculaire, surtout si les biopsies sont multifocales (23).
Cette méthode est celle qui permet un taux élevé d'extraction de spermatozoïdes et l'obtention d'un examen histologique dans le même temps.

Le Pr. Jacqmin, référent à Strasbourg, utilise uniquement cette technique pour deux raisons principales. De manière général, une seule intervention est nécessaire et la BT peut être réalisée de manière asynchrone (BT et stimulation ovarienne réalisées en décalé) évitant ainsi toute stimulation inutile en cas d'absence de spermatozoïde dans le prélèvement.

Au laboratoire de biologie de la reproduction, le tissu testiculaire est dilacéré de façon mécanique à l'aide d'un scalpel. Le produit de dilacération est ensuite aspiré et introduit dans un tube conique stérile de 2 ml.
Puis, grâce à des mouvements de frottements rotatifs exercés par une aiguille, les cellules germinales sont séparées des cellules somatiques. A partir de la suspension obtenue, plusieurs gouttes calibrées sont déposées dans une boîte de culture stérile, mise sous huile et incubées à 37°C sous 5% de CO2. Après 20 minutes d'incubation, chacune des gouttes est observée au microscope inversé en contraste de phase, équipé d'une platine chauffante. En présence de spermatozoïdes, le reste de la préparation est congelé après l'avoir mélangé

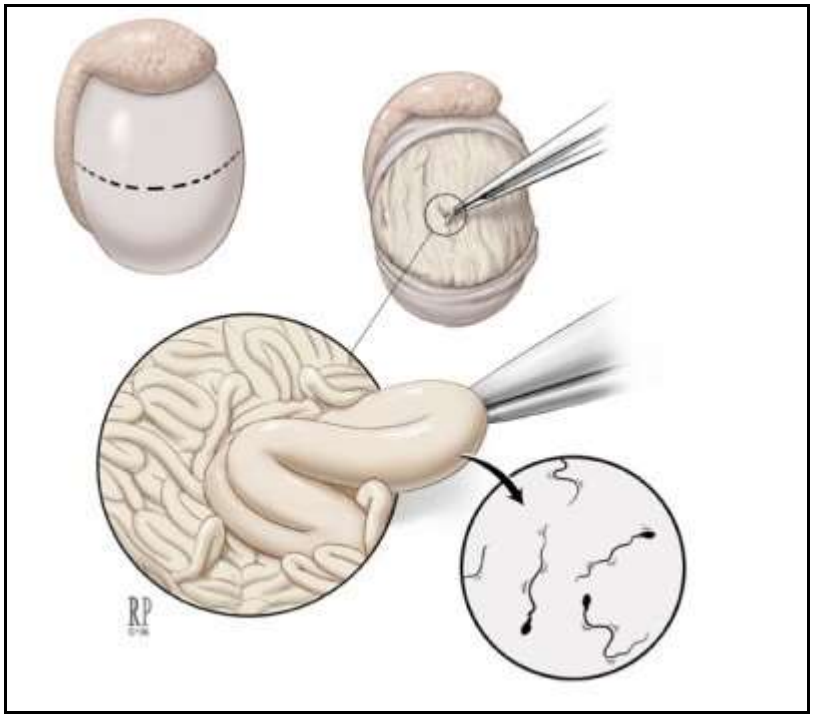
volume à volume à un cryoprotecteur. Des paillettes hautes sécurité sont ensuite confectionnées, et cryopréservées à moins 196°C dans des cuves contenant de l'azote liquide (26).



http://southwestvasectomyreversal.com/testicular-microdissection/

iii. Microdissection TESE

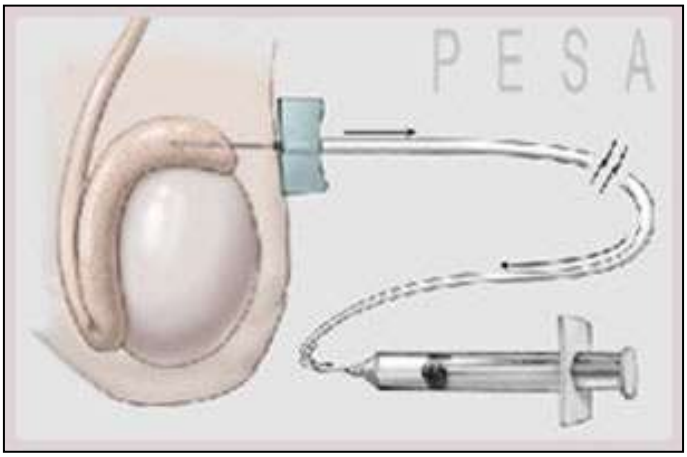
Cette technique limite les prélèvements aux seuls tubes séminifères susceptibles de présenter une spermatogenèse en les détectant au microscope et en les micro-disséquant. En effet, les tubes séminifères qui présentent une spermatogenèse sont de diamètres plus importants et plus opaques que les autres. Le rendement d'extraction est ainsi amélioré, avec limitation des complications vasculaires (23).



http://southwestvasectomyreversal.com/testicular-microdissection/

iv. Les prélèvements épididymaires ou PESA

Plusieurs techniques peuvent être appliquées : ponction transcutanée ou PESA (percutaneous epididymal sperm aspiration), ou abord direct MESA (microsurgical epididymal sperm aspiration) sous contrôle microchirurgical attentif.



http://southwestvasectomyreversal.com/testicular-microdissection/

4. Génétique et Azoospermie

Il faut souligner l'ampleur considérable que revêt la génétique dans la problématique qui nous occupe. De plus en plus de gènes candidats dans la stérilité masculine sont découvert chaque année (CFTR, NR5A1, TAF4B, ZMYND15, SOHLH1, Wt1, NPAS2, TEX11, BOULE…)(27).

Pour être précis, il existe 2 grandes catégories d'anomalies distinctes :

- Anomalie chromosomique (de nombre : Syndrome de Klinefelter,… ou de structure : Translocation t(13 ;14), microdélétion de l'Y,…)
- Anomalie d'un gène (CFTR, NR5A1,…)

5. Actualité:

Après la préhistoire, puis l'histoire de la FIV/ICSI, abordons l'actualité. Le 15 juillet 2016, F. Belva et associés, présentaient la première publication concernant la qualité des paramètres spermatiques des jeunes adultes issus eux-mêmes de l'AMP et notamment suite à une ICSI (26). Cette étude compare 54 jeunes hommes issus d'ICSI à un groupe contrôle, il s'agit en fait de la plus ancienne cohorte existante. Cette étude comparative permet de confirmer quelques hypothèses émises et notamment celle concernant la crainte de voir apparaitre des anomalies spermatiques chez ces enfants ayant un père atteint de trouble sévère de la procréation. Ce suivi a permis de révéler une baisse, par rapport au groupe contrôle, de deux paramètres spermatiques parmi les plus importants : la numération et la mobilité totale.

B. MATERIELS & METHODES

Ce travail sera présenté sous la forme d'une étude rétrospective, et aura pour objectif principal de dévoiler les résultats statistiques concernant les ICSI réalisées au CMCO et utilisant des spermatozoïdes issus de prélèvement testiculaire (ICSI(BT)).
Voici, en résumé, les points importants à connaitre pour bien comprendre ce document et les choix qui y sont faits :

- Notion d'assistance médicale à la procréation
- Notions d'infertilité masculine et féminine
- La biopsie testiculaire (pour qui, par qui et comment)
- La cryoconservation des spermatozoïdes
- La stimulation ovarienne
- La ponction ovarienne, qualité ovocytaire
- La technique d'ICSI
- Développement embryonnaire
- Transfert d'embryon frais/congelé
- Béta-hCG plasmatique

Pour effectuer ce projet, nous nous sommes servis de tous ces points de manière à définir le nombre d'années à étudier, quels couples inclurent et lesquels exclurent tout en limitant un maximum les biais de sélection.

1. Période d'étude :

C'est à partir de 2013 que la plupart des informations, concernant les couples pris en charge en AMP au CMCO, ont été informatisées. L'étude va donc commencer au début de l'année 2013 pour se terminer en octobre 2016.

2. Patients :

119 couples, dont le conjoint est azoosperme, ont été pris en charge par le CMCO dans le but de réaliser une ICSI, avec des spermatozoïdes d'origine testiculaire.
Chez 28 patients aucun spermatozoïde n'a été retrouvé à la biopsie testiculaire.
7 couples ont abandonné en cours de stimulation et pour 2 couples la ponction ovocytaire n'a pas fonctionné (PO blanche), ces 9 couples ont donc été exclus de l'étude.
Tous les couples dont la conjointe présente une insuffisance ovarienne précoce ont été écartés (1 couples en 2015 et 1 couple en 2014). L'insuffisance ovarienne précoce étant définie ici comme une déplétion prématurée des follicules ovariens avant l'âge de 40 ans et pour l'étude les limites d'exclusion sont les suivantes : AMH < 1 ng/mL **et** âge < 35 ans.

Ces exclusions se justifient de manière à ce que la seule anomalie majeure de la fertilité présente au sein du couple soit l'absence de spermatozoïdes.
L'étude porte donc sur 80 couples, ce qui représente sur 4 années 137 tentatives et 177 cycles de stimulations.
Parmi les conjoints, 53 ont une azoospermie d'origine excrétoire, 17 ont une azoospermie d'origine sécrétoire, 2 ont une cryptozoospermie et 8 ont une azoospermie d'origine indéterminée.

3. Bilan andrologique :

Les patients ont tous été suivis au CHU de Strasbourg.
Pour chaque patient, ont été répertoriés l'âge au moment de la tentative et/ou l'âge au moment de la biopsie testiculaire ainsi que l'existence d'antécédents ou de facteurs pouvant altérer la spermatogenèse (tabagisme, alcoolisme, obésité, antécédent de cryptorchidie, traumatisme testiculaire, traitement gonado-toxique, chirurgie de hernie inguinale et infections génitales) (29,30).

Chaque patient a bénéficié:

- D'un examen clinique précisant les volumes testiculaires, permettant d'éliminer la présence de nodules ou de varicocèle, de visualiser les voies excrétrices spermatiques (canaux déférents ; épididymes), de vérifier leur présence ainsi que l'absence de dilatation et d'évaluer le degré d'androgénisation.

- D'une échographie scrotale pour mesurer précisément le volume testiculaire. L'hypotrophie testiculaire étant définie par un volume inférieur à 16 ml (31,32). En cas de suspicion d'atteinte des voies excrétrices profondes (absence de canaux déférents, dilatation épididymaire), une échographie par voie endorectale était pratiquée pour étudier plus précisément le carrefour prostato-vésiculo-déférentiel.

- D'un bilan hormonal avec dosage de la FSH plasmatique par chimiluminescence et de l'inhibine B par ELISA afin d'évaluer la fonctionnalité des cellules de Sertoli et de la testostérone totale par RIA (Radio-Immuno-Assay) afin d'explorer celle des cellules de Leydig.

- D'un caryotype constitutionnel

- De la recherche de micro-délétions des régions AZFa, AZFb et AZFc situées sur le bras long du chromosome Y.

- D'une spermoculture afin d'éliminer une infection spermatique.

- Des sérologies virales (VIH, VHC, VHB, syphilis) obligatoires avant toute prise en charge en assistance médicale à la procréation en France.

4. La conjointe :

Les conjointes bénéficient d'un bilan hormonal complet (œstradiol, FSH, LH, AMH, testostérone, prolactine, TSHus), d'une échographie pelvienne entre le 2ème et le 5ème jour du cycle menstruel afin d'évaluer leur réserve ovarienne, ainsi qu'une hystérosalpingographie.
À l'issue de ce bilan, nous pouvons distinguer différents groupes de patientes. Celles présentant une baisse de la réserve ovarienne (AMH inférieure à 1,5 ng/mL ou 11 pmol/l (33) et/ou moins de 5 follicules / ovaire à l'échographie*)*, ou celles atteintes d'un syndrome des ovaires polykystiques (défini selon les critères de Rotterdam) (34), d'une endométriose ou d'une pathologie tubaire et bien sûr celles sans anomalie.
Les patientes ont bénéficié d'un protocole de stimulation ovarienne contrôlée associant un agoniste ou un antagoniste de la GnRH (Gonadotrophin-releasing hormone) et des gonadotrophines (FSH recombinante ou urinaire ou HMG). La dose quotidienne de gonadotrophine est choisie en tenant compte de l'âge, de l'IMC, de l'AMH et du compte de follicules antraux. Au cours de la stimulation, les patientes bénéficient d'un monitorage consistant en des dosages hormonaux (taux d'œstradiol et de LH) couplés à une échographie pelvienne par voie vaginale. Lorsque la réponse est jugée satisfaisante (plus de 3 follicules > 17 mm), une injection sous-cutanée de 250 µg d'HCG recombinante (*OVITRELLE, Merck-Serono Lyon, France*) est réalisée pour assurer la maturation folliculaire et ovocytaire terminale.
La ponction ovocytaire, échoguidée, a lieu 36 heures après l'injection d'HCGr, sous diazanalgésie, au bloc opératoire, par voie transvaginale. Les ovocytes ainsi recueillis sont immédiatement placés dans une étuve à 37°C et transportés au laboratoire de biologie de la reproduction afin d'y être analysés.
Dès le soir de la ponction, les patientes reçoivent un soutien de phase lutéale par progestérone en intravaginale à raison de 200 mg, 3 fois par jour, jusqu'à la réalisation du test de grossesse.

5. Procédure d'ICSI :



https://prezi.com/wj4yeimps2fc/in-vitro-fertilization/

Dans un premier temps le patient vient en personne au CECOS pour signer les documents nécessaires à la sortie de ses paillettes, auto-conservées à partir de sa biopsie testiculaire. Le nombre de paillettes utilisées est fonction du nombre d'ovocytes matures en métaphase II obtenus lors de la ponction ovocytaire et du nombre de spermatozoïdes mobiles ou vivants injectables observés après décongélation par paillette. Les spermatozoïdes sont sélectionnés en fonction de leur mobilité et de leur morphologie. Lorsque les spermatozoïdes observés sont immobiles, un test hypo-osmotique permet d'évaluer la vitalité spermatique. Seuls les spermatozoïdes vivants seront utilisés pour l'injection des ovocytes. Le spermatozoïde choisi est aspiré par une pipette dite « d'injection » et est déposé directement dans le cytoplasme d'un ovocyte mature (en métaphase II), à l'aide d'un micromanipulateur. Si cela est possible, tous les ovocytes matures sont micro-injectés (nécessitant parfois de décongeler plusieurs pailles).

Le lendemain de l'injection ovocytaire, les signes de fécondation sont observés : la fécondation sera dite normale en présence de 2 pronucléi (PN) au sein du cytoplasme ovocytaire. L'ovocyte à ce stade est un zygote.

La cinétique et la qualité embryonnaire sont ensuite observées au 2ème jour (J2) et/ou au 3ème jour (J3) suivant la ponction ovocytaire. Dans certaines situations, l'embryon pourra continuer d'évoluer en culture in vitro jusqu'au 5ème voire jusqu'au 6ème jour suivant la ponction ovocytaire.

Les embryons « top quality » sont définis par la présence de 4 à 5 blastomères à J2 ou de 7 à 8 blastomères à J3, blastomères typiques, réguliers et avec un taux de fragmentation inférieur à 10% (29).

Le transfert intra-utérin du ou des embryons se fait généralement à J3 ou à J5 par le médecin gynécologue à l'aide d'un cathéter**.** La patiente est installée en position gynécologique avec

mise en place d'un spéculum. Le cathéter contenant l'embryon choisi, est introduit dans la cavité utérine puis celui-ci est déposé à environ 2 centimètres du fond de la cavité. Le cathéter est ensuite immédiatement examiné au microscope après le geste afin de s'assurer que l'embryon a bien été déposé dans la cavité utérine.

En fonction de leur qualité, les embryons surnuméraires sont cryo-conservés. Dans tous les cas, 2 semaines après la ponction ovocytaire, les patientes réalisent un dosage d'HCG plasmatique quantitatif. En cas de positivité, le traitement par progestérone en intra-vaginal sera poursuivi jusqu'à 8 semaines d'aménorrhée.

On parle de grossesse clinique, lorsque l'on visualise un sac embryonnaire en échographie. Les grossesses évolutives sont définies par l'évolution favorable de la grossesse au-delà de 12 semaines d'aménorrhée.



http://www.zoomdici.fr/actualite/FIV-Saint-Etienne-7e-centre-en-France-id130633.html

6. Récapitulatif de la prise en charge :

Résumons maintenant tous les faits précédemment évoqués, et mettons chronologiquement en place tous les éléments de la prise en charge des couples consultant pour infertilité d'origine masculine, de type azoospermie et ayant recours à l'ICSI(BT).
Le plus souvent la prise en charge du couple infertile fait suite à une demande provenant de leur gynécologue de ville. Les patients sont directement mis en relation avec un gynécologue du CMCO qui va réaliser les premières observations.
Il est important que les deux membres du couple, homme et femme, soient associés à égalité dans la recherche du diagnostic.
Une investigation, non invasive, de base est réalisée et met rapidement en évidence la cause de l'infertilité.
Le diagnostic est apporté par un faisceau d'arguments associant biologistes, généticiens, gynécologues et urologues.
La première étape post diagnostic est l'autoconservation de spermatozoïdes. L'homme doit alors subir une intervention chirurgicale indispensable pour la suite de la démarche.
Si et seulement si les résultats chirurgicaux sont concluants, la stimulation ovarienne est alors envisagée. En effet, cette dernière est réalisée dans tous les cas de manière asynchrone. On décongèle alors les paillettes du patient, la ponction ovocytaire est réalisée et les ovocytes matures sont fécondés. Pour finir, le transfert embryonnaire est effectué principalement à J3 de la PO, et parfois, lorsque la qualité embryonnaire le permet, à J5 de la PO.

C. RESULTATS :

L'ensemble des tests statistiques réalisés dans cette étude suivent une loi Normale centrée réduite N(0,1).

Trois types de calculs sont réalisés :

- La comparaison de 2 pourcentages non appariés, selon les hypothèses et formules suivantes :

pA = proportion du groupe A
pB = proportion du groupe B

nA = nombre d'échantillon du groupe A
nB = nombre d'échantillon du groupe B

pC = proportion commune = (nApA + nBpB)/(nA + nB)
qC = 1 – pC

Hypothèse H0 = absence de différence entre les 2 groupes
Hypothèse H1 = différence entre les 2 groupes
Avec une valeur **α = 0.05 (seuil d'interprétation)**

Formule :

$$z = \frac{p_A - p_B}{\sqrt{\frac{p_c q_c}{n_A} + \frac{p_c q_c}{n_B}}} \rightarrow \mathcal{N}(0\,;1)$$

Si Z > Zα H0 n'est pas vérifié
Si Z < Zα H0 est vérifié

Avec Zα = 1.96 si on recherche une différence (Valeur statistique répertoriée dans les tables statistiques)
Ou avec Zα = 1.645 si on recherche une supériorité/infériorité.

- Le calcul de l'Odd Ratio, lorsque il est pertinent de le réaliser.

Il s'agit d'une mesure d'effet relatif calculé comme un rapport d'odds (ou de cotes). Un « odd » correspond au rapport de deux probabilités complémentaires : la probabilité P de survenue d'un événement divisée par la probabilité (1-P) que cet événement ne survienne pas.

Méthode :

	événement	Absence d'événement	Effectif total	Odd Ratio
Groupe 1	A	B	n1	OR = (A.D)/(B.C)
Groupe 2	C	D	n2	

Si l'odd ratio est (en prenant l'exemple du taux de grossesse) :

- proche de 1, le taux de grossesse est indépendante du groupe ;
- supérieur à 1, le taux de grossesse est plus fréquente dans le groupe 1 que dans le groupe 2 (attention dans cette condition il faut que la p value soit < 0.05 pour conclure à une amélioration significative) ;
- bien supérieur à 1, le taux de grossesse est beaucoup plus fréquente dans le groupe 1 que dans le groupe 2 ;
- inférieur à 1, le taux de grossesse est moins fréquente dans le groupe 1 que dans le groupe 2 (attention dans cette condition il faut que la p value soit < 0.05 pour conclure à une diminution significative) ;
- proche de zéro, le taux de grossesse est beaucoup moins fréquent dans le groupe 1 que dans le groupe 2.

- Le calcul de la « p value » est pour sa part réalisé à l'aide d'un logiciel (GMRC shinystats)

Valeurs de p :

p value	Interprétation statistique
>0.05	PS = pas significatif
0.05 à 0.01	* = faible différence
0.01 à 0.001	** = moyenne différence
<0.001	*** = forte différence

1. Choix des points de comparaison :

L'idée principale de ce document est de tenter d'éclairer certaines zones d'ombre concernant la réalisation des ICSI(BT), la compréhension du rôle des différents paramètres spermatiques et les chances de réussite pour les couples ayant recours à cette méthode.

La première partie à détailler, et surement l'une des plus importantes, concerne le choix des patients chez lesquels il est possible de réaliser une biopsie testiculaire dans de bonnes conditions. Le Pr. Jacqmin est la seule personne, à Strasbourg, autorisée à pratiquer cet acte, c'est également lui qui définit les critères d'acceptation des patients. Selon le Pr Jacqmin, la meilleure indication à la biopsie testiculaire est l'azoospermie excrétoire (ABCD, échec de Vaso-vasostomie, sténose post-infectieuse,…), il n'exclut pas les autres étiologies même si la concentration en FSH plasmatique est élevée. La seule situation pour laquelle il conseille de dissuader le patient est lorsque celui-ci a une azoospermie sécrétoire associant FSH haute et testicule de petite taille, mais malgré tout si le patient insiste l'opération pourra être réalisée.

Mais d'autres questions fondamentales s'imposent. Comment répartir les patients pour effectuer des comparaisons sensées ? Quels paramètres choisir ? Quels seuils définir ?
Pour cela nous nous sommes concentrés sur les notions de base de la procréation, soit la numération spermatique, la mobilité des spermatozoïdes, le type d'anomalie porté par le patient, la concentration en FSH plasmatique ou encore le nombre d'embryon(s) disponible(s) et leurs qualités respectives.
Pour définir les seuils (par exemple : répartition des patients en fonction de leur numération spermatique) nous nous sommes appuyés sur des publications préexistantes et sur la façon de faire au LBDR-CMCO. Nous avons repris des bornes identiques pour créer nos cohortes/groupes de comparaison (tout en gardant des populations suffisamment grande pour pouvoir réaliser des tests statistiques respectant les critères de la loi Normal.)

2. Résultats de la Biopsie :

Au total, entre le 1er janvier 2013 et le 31 octobre 2016, 119 patients ont eu une biopsie testiculaire, dans le cadre de l'AMP. Pour 28 d'entre eux le prélèvement n'a pas permis de congeler de spermatozoïdes et parmi eux 23 ont une azoospermie d'origine sécrétoire. Autrement dit, sur ces 4 années près de 82% des patients n'ayant des spermatozoïdes ni dans l'éjaculat ni dans la biopsie, présentent une azoospermie sécrétoire (FSH élevée par ailleurs). Ces patients étant éliminés de la cohorte un biais de sélection est inévitable, faussant certains résultats détaillés plus bas. Le volume testiculaire n'étant pas régulièrement renseigné, nous n'avons pas calculé de moyenne ni réalisé de comparaison statistique entre les différents groupes. Cependant, sur les quelques valeurs utilisable, il apparaît une baisse nette du volume testiculaire dans le groupe ayant une biopsie négative.

3. Caractéristiques de la population:

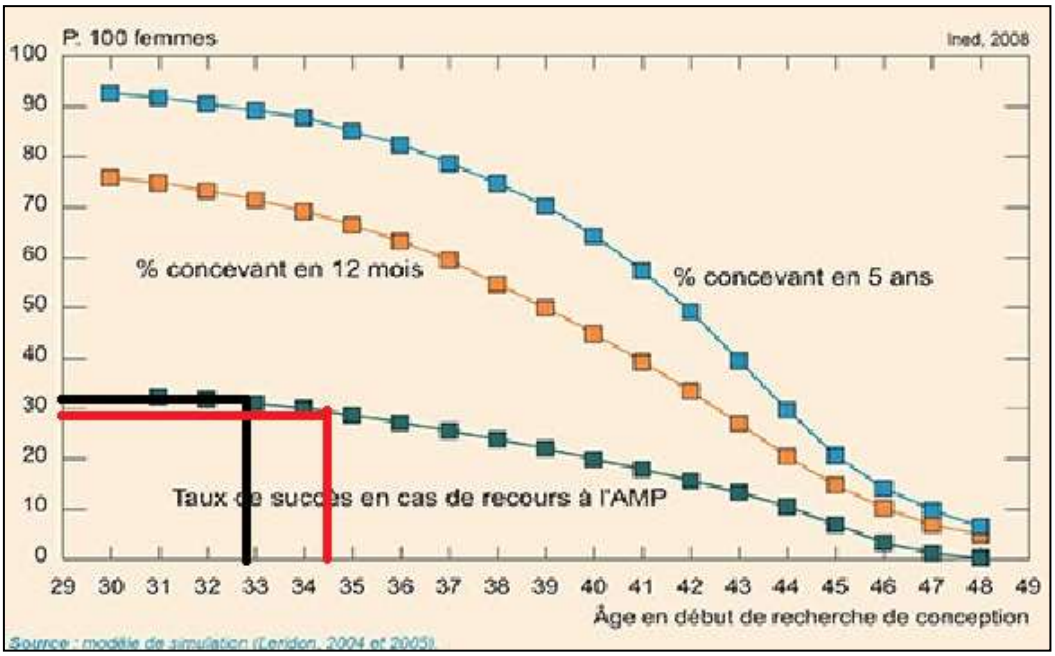
	Population d'intérêt	Population générale
Nombre de couple pris en charge **Entre : 01/01/2013 et 31/10/2016**	**119 (au total)** **80 (retenus pour l'étude)**	**1902**
Nombre de cycle	177	2910
Age moyen Homme	39.8 ans (25-64)	40.2 ans
Age moyen Femme	**32.9 ans** (24-39)	**34.5 ans**
BMI moyen Homme	24.9 (15.49-36.57)	25.90
BMI moyen Femme	23.4 (17.63-36.2)	23.98
Tabac Homme (%)	27.73 % (n = 33)	24.50 %
Tabac Femme (%)	35.29 % (n = 42)	13.92 %
Cryptorchidie	**31.09 %** (n=37)	**13.81 %**
Anomalie génétique (%)	**8.04 %** (n = 10)	**0.6%**
Taux de Grossesse / Tentative	48.2 %	42% (résultats CMCO 2015 pour toutes ICSI confondues)
Taux de Grossesse / cycle	37.3 %	35%(résultats CMCO 2015 pour toutes ICSI confondues)

Les transferts d'embryons issus d'ICSI utilisant des spermatozoïdes d'origine testiculaire représentent 6% des actes réalisés au CMCO sur la période étudiée. Même si ce n'est pas l'activité principale du laboratoire, les ICSI(BT) font partie du paysage de l'AMP Strasbourgeoise.

On observe relativement peu d'écart entre la population générale et celle retenue pour l'étude.

A l'exception de trois points remarquables :

- <u>L'âge moyen des femmes</u>, de la population étudiée, lors de la prise en charge est de 2 années inférieures à l'âge de la population générale prise en charge au CMCO. La courbe ci-dessous montre une corrélation entre l'âge maternel et le taux de succès en cas de recours à l'AMP, plus l'âge maternel avance plus les chances de réussite en AMP sont minces. Cet effet est également largement décrit dans la littérature. (35)



- <u>La fréquence des anomalies testiculaires</u> est nettement supérieure dans le groupe d'intérêt (cryptorchidie pour la plus large majorité, mais aussi hypotrophie testiculaire et bien d'autre…),

- <u>Les anomalies génétiques</u> sont beaucoup plus fréquentes (47XXY, microdélétion de l'Y, Translocation t(13 ;14)…)

4. Résultats de l'ICSI :

Les résultats de l'ICSI sont détaillés dans le tableau 1 si dessous :

Tableau 1	
Nombres de cycles	177
Nombre d'ovocytes récoltés	1421
Nombre d'ovocytes injectés	418
Nombre d'ovocytes fécondés	238 (56.94%)
Moyenne d'embryons transférés	1.1
Nombre de grossesses	66 (37.3%)

Le taux de fécondation obtenu est honorable, d'après le tableau 2 (36) comparant divers études réalisées sur le sujet.
Le taux de grossesse par cycle est remarquablement élevé (37.3%), si on compare ce résultat à celui des groupe ayant une population statistiquement équivalente.

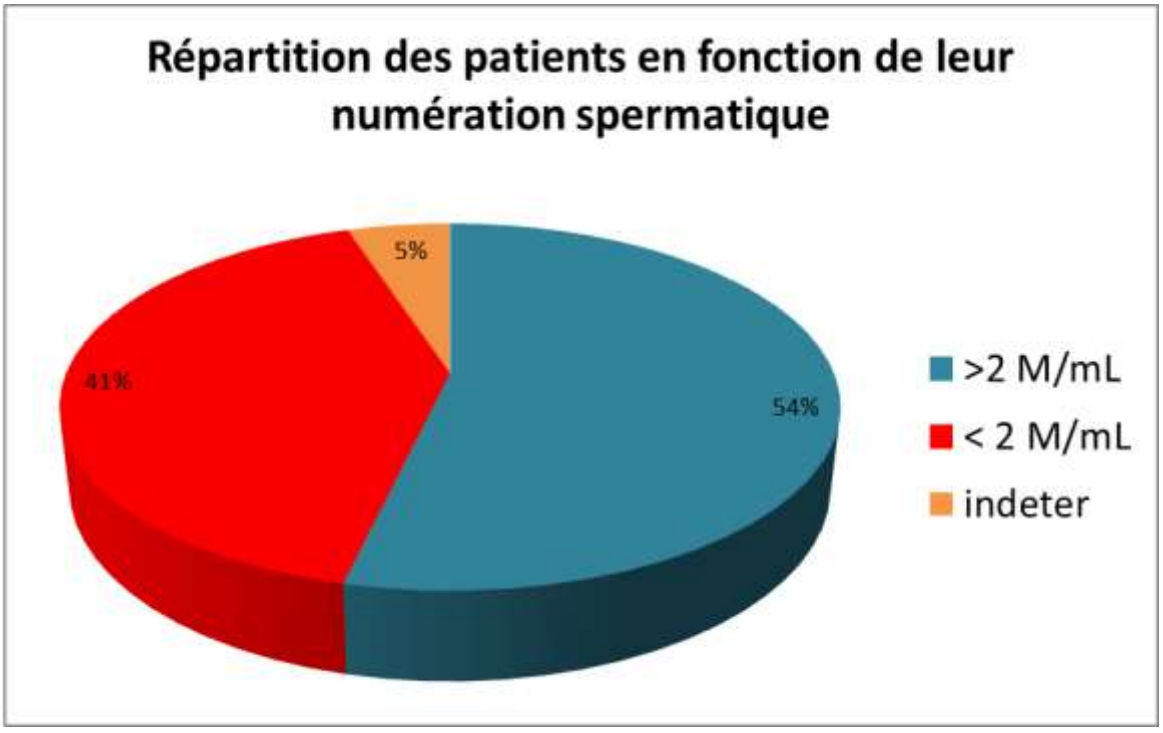
Retenons que les résultats du laboratoire de biologie de la reproduction du CMCO sont bons.

Tableau 2

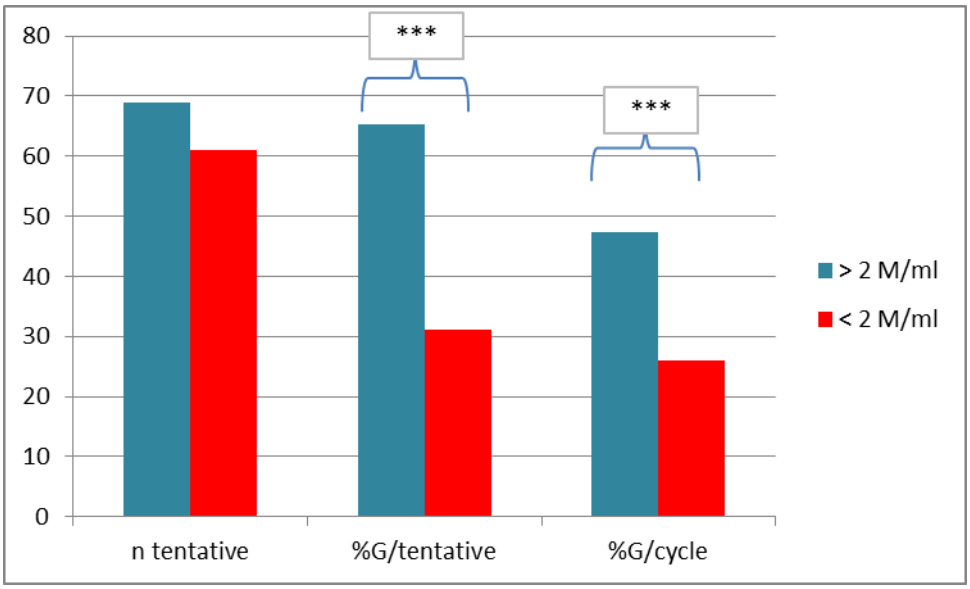
Tableau 2: Résultats de l'ICSI couplée à l'injection des spermatozoïdes testiculaires. Revue de la littérature.

Auteurs	Année	Type de prélèvement	Type de PMA	Taux de fécondation (%)	Taux de grossesses cliniques par cycle Nombre	(%)
Craft [3]	1995	PESA	ICSI	33	10/42	24
Hovatta [7]	1995	MESA	ICSI	53,7	1/6	12,6
Lisek [11]	1997	PESA/TESE	ICSI	59	14/43	32
Magdar [12]	1996	MESA/TESE	ICSI	34,4	7/37	19
Mansour [14]	1996	TESE	ICSI	59	4/7	57
Rosenlund [19]	1997	TESE	ICSI	68	2/12	16,6
Schiegel [20]	1995	MESA	ICSI	48	28/49	56
Sharma [21]	1997	MESA	ICSI	52	2/19	22
Silber [23]	1994	MESA	ICSI	41	8/17	47
Silber [22]	1995	TESE	ICSI	46	5/12	43
Son [26]	1996	MESA	ICSI	48,6	9/28	32
Tournaye [30]	1994	MESA	ICSI	47,7	362/1275	28,4
Tsirigotis [32]	1995	PESA/MESA	ICSI	48,3	8/32	25
Tucker [33]	1995	MESA	ICSI	39,5	4/9	44,4
Ubaldi [35]	1996	MESA	ICSI	58	50/128	39
CMCO	2016	TESE	ICSI	56,9	66/177	37,3
Grynberg	2010	TESE	ICSI	58,27	16/60	26,7
CHRU Brest	2011	PESA	ICSI	NC	46/177	25,9

5. Numération spermatique :



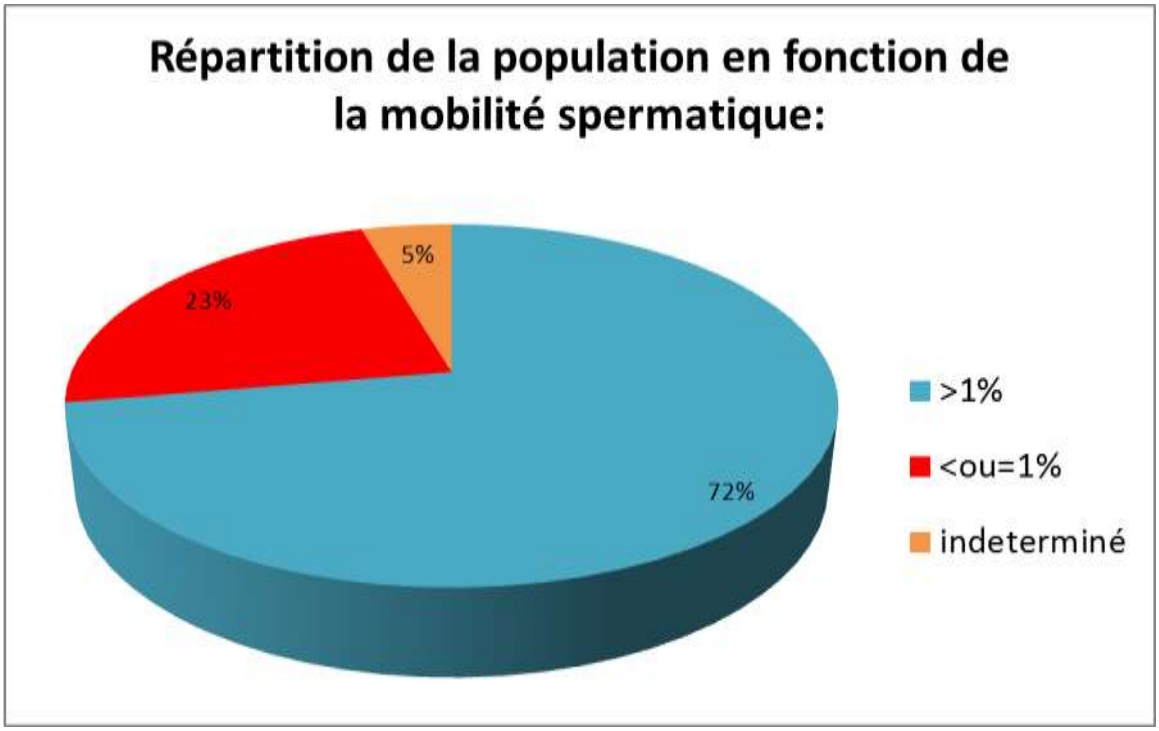
Numération	n tentative	n transfert	n Grossesse	%G/tentative	%G/transfert
>2 M/ml	69	95	45	65,2	47,4
< 2 M/ml	61	73	19	31,1	26,02
Indéterminé	7	9	2	28,6	22,2
Total	137	177	66	48,2	37,3



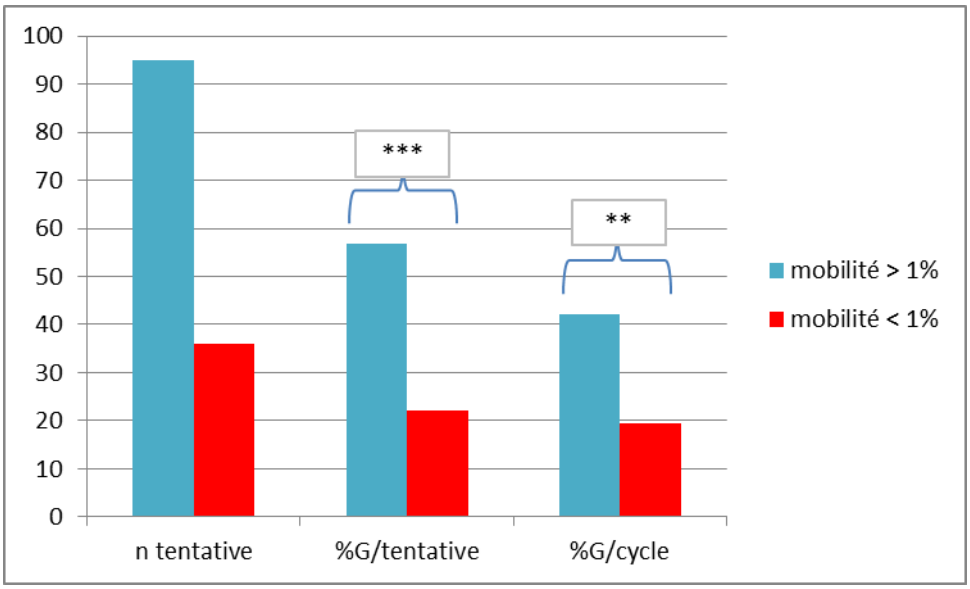
Après extraction des données, 2 groupes d'individus se détachent. En effet, le taux de grossesse apparaît comme nettement meilleur lorsque la concentration en spermatozoïdes testiculaire dépasse les 2 millions de spécimens par millilitre de sperme ($p<0.001$).
Il s'agit de bornes choisies de manière à ce que les deux groupes soient comparables (nombre d'échantillons du groupe 1 statistiquement équivalent au nombre d'échantillons du groupe 2) et que la valeur soit simple à retenir.
Il faut noter qu'il s'agit de la numération spermatique avant congélation à -196°C.
Plus on a de spermatozoïdes dans le prélèvement de départ, plus on en retrouve après décongélation et plus la sélection du/des spermatozoïde(s) pour l'ICSI est simple et donc meilleur est le rendement.

6. Mobilitée :

Trois groupes sont définis ici, plus de 1% de spermatozoïdes mobiles, moins de 1 % et mobilité indéterminée (non réalisée, non réalisable, absence de donnée…). Ce seuil de 1% a été fixé arbitrairement.



mobilité	n tentative	n cycle	n grossesse	%G/tentative	%G/cycle
>1%	95	128	54	56,84	42,19
<ou=1%	36	41	8	22,22	19,5
indeterminé	6	8	4	66,7	50
total	137	177	66	48,2	37,3



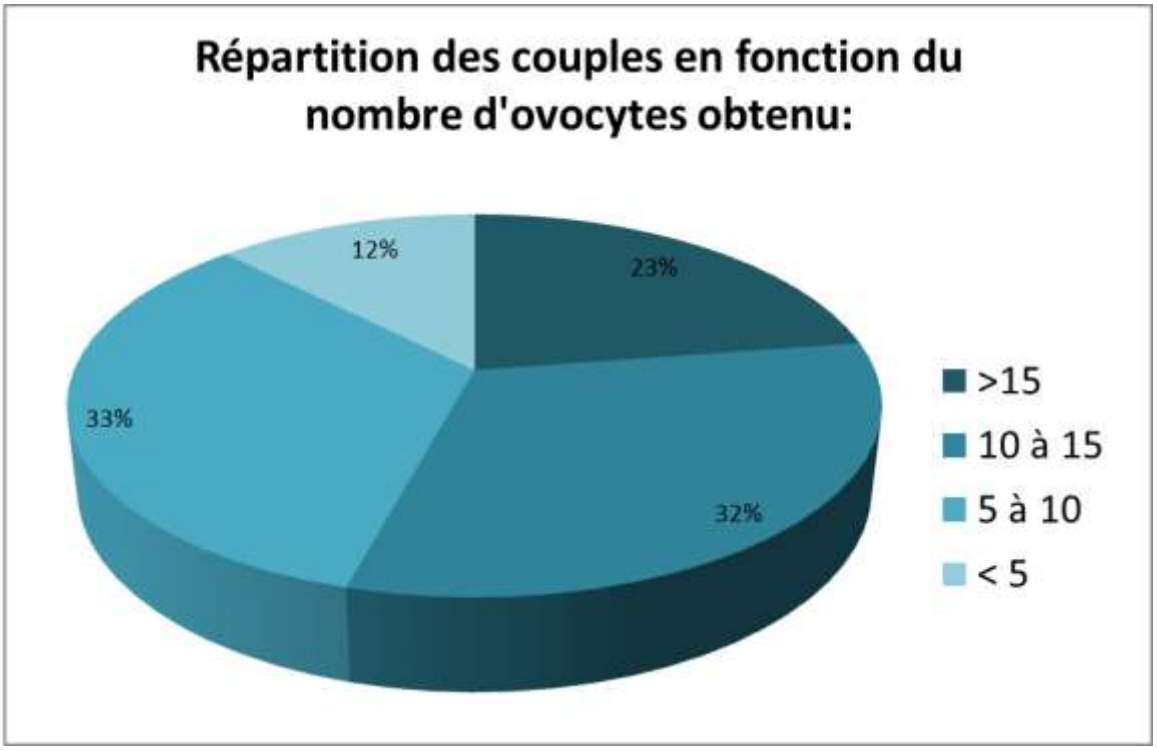
Ces chiffres sont en lien direct avec les résultats, obtenus au point précédent, concernant la numération. Meilleure est la mobilité, meilleurs sont les taux de réussite/fécondation/grossesse ($z(\%G/tentative)=3.54$, $OR = 4.6$ et $p < 0.001$).

Les 2 catégories représentent, finalement, pour l'une les mobiles et pour l'autre ceux qui ne le sont pas.

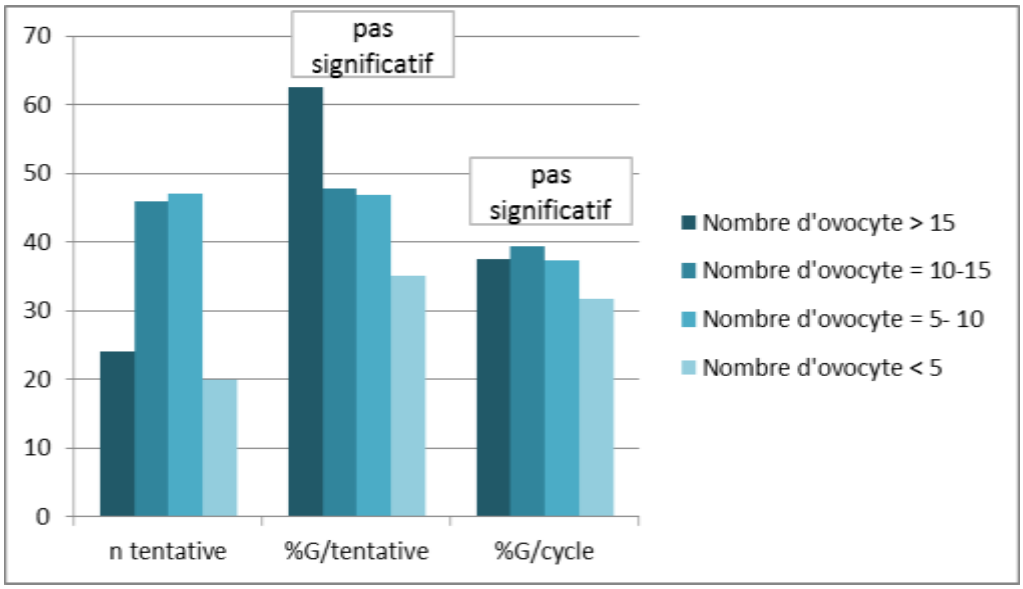
Aucune publication ne fait mention de mobilité spermatique post-TESE.

7. Nombre d'ovocyte :

Il s'agit d'une répartition des individus de la cohorte suivant des critères arbitraires. Ces critères sont définis de manière à ce que chaque groupe soit comparable statistiquement.

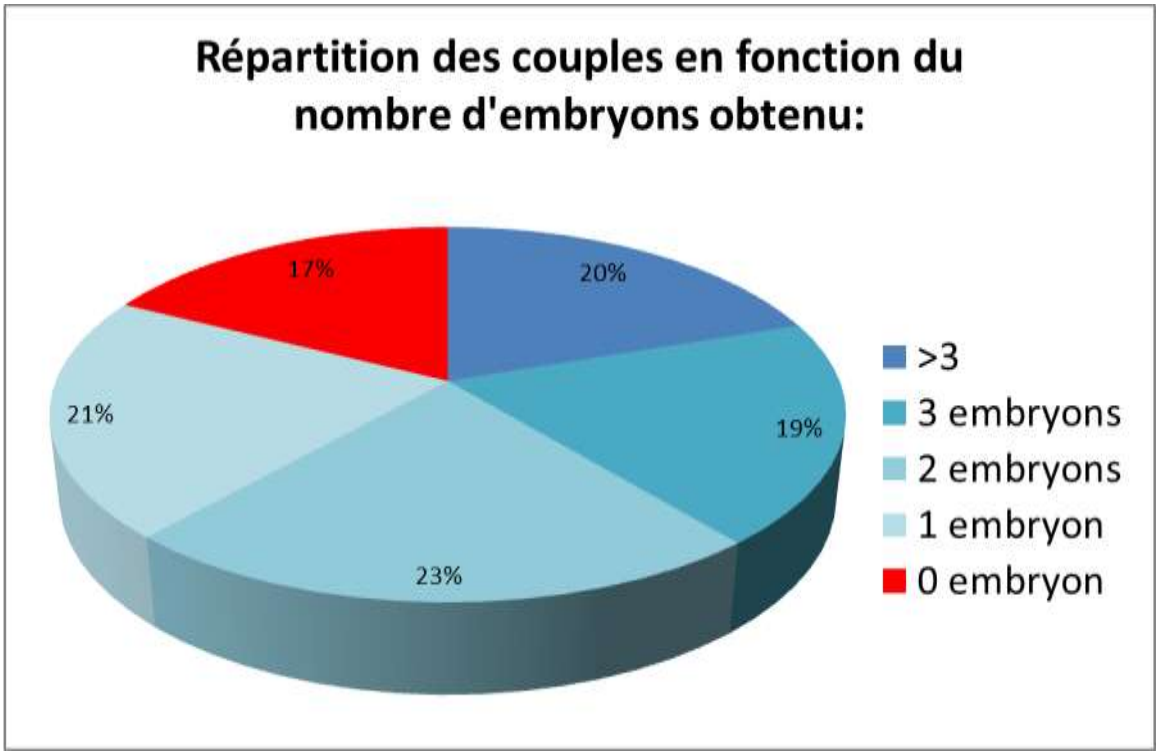


nombre d'ovocyte	n tentative	n cycle	n grossesse	%G/tentative	%G/cycle
>15	24	40	15	62,5	37,5
10 à 15	46	56	22	47,8	39,3
5 à 10	47	59	22	46,8	37,3
< 5	20	22	7	35	31,8
total	137	177	66	48,2	37,3



Le taux de grossesse par cycle ne dépend pas, statistiquement ($p>0.05$), du nombre d'ovocytes obtenu à la ponction. Ce qui confirme l'adage : la quantité ne fait pas la qualité.

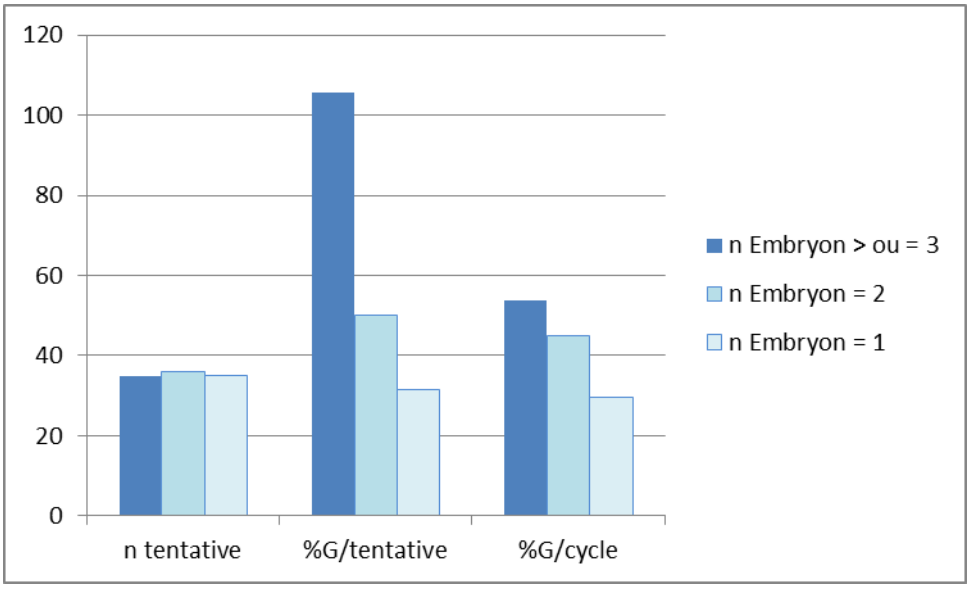
8. Nombre d'embryon :



nombre d'embryon	n tentative	n cycle	n grossesse	%G/tentative	%G/cycle
>3	16	35	21	131,25	60
3 embryons	19	34	16	84,2	47,05
2 embryons	36	40	18	50	45
1 embryon	35	37	11	31,4	29,7
0 embryon	31	31	0	/	/
total	137	177	66	48,2	37,3

La répartition des groupes est modifié pour permettre de réaliser des tests statistiques respectant les conditions de la loi Normale N (0 ; 1), autrement dit n ≥ 30 :

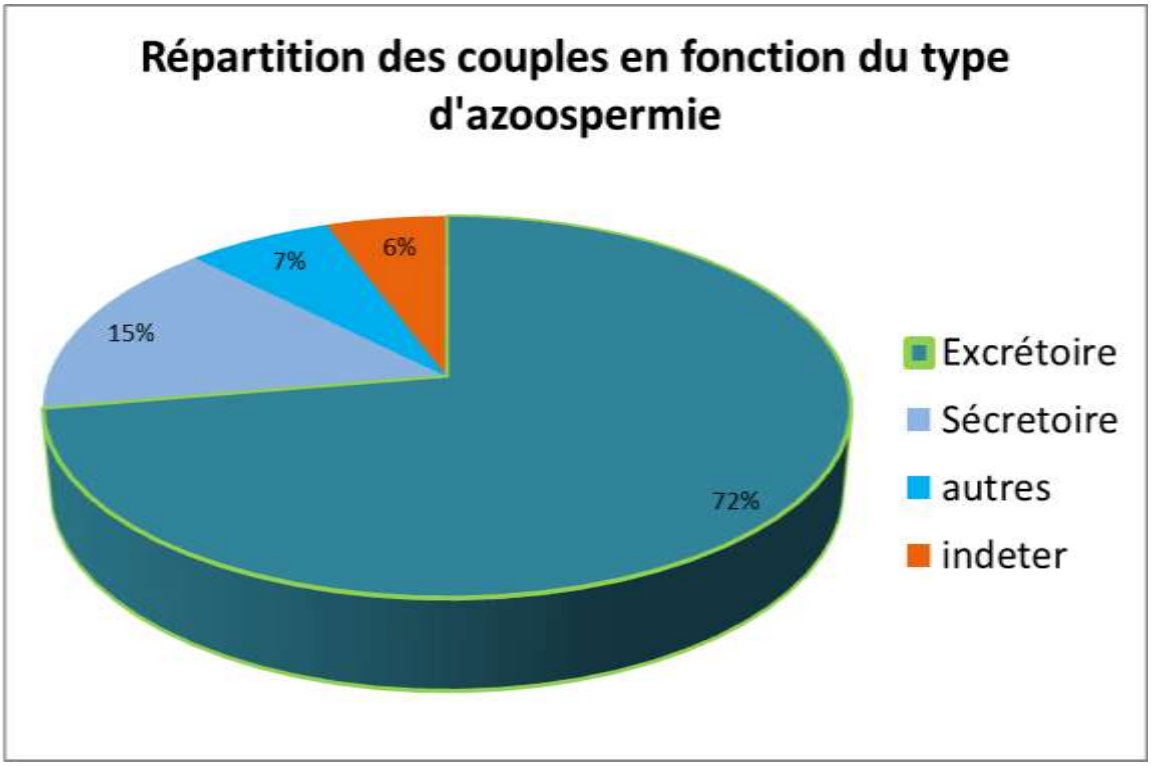
nombre d'embryon	n tentative	n cycle	n grossesse	%G/tentative	%G/cycle
> ou = 3	35	69	37	105,7	53,6
2 embryons	36	40	18	50	45
1 embryon	35	37	11	31,4	29,7
0 embryon	31	31	0	/	/
total	137	177	66	48,2	37,3



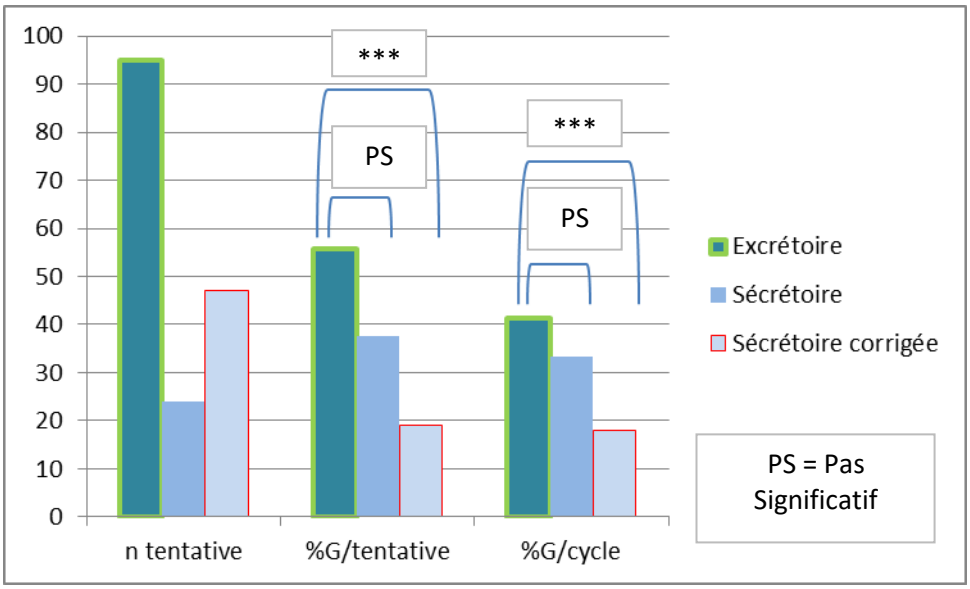
Lorsque les gamètes utilisés pour l'ICSI sont de bonne qualité, les chances de voir plusieurs embryons évolutifs augmentent et leur chance de conduire à une grossesse est également plus importante. Le nombre d'embryons obtenus et à distinguer du nombre d'ovocytes obtenus à la ponction, en effet, il n'y a pas de relation entre le nombre d'ovocyte récupérés et le taux de grossesse, ce qui n'est pas le cas du nombre d'embryons. Chaque embryon transféré apporte une chance de grossesse identique quelques soit l'importance de sa cohorte de départ ($p = 0.77$), le taux de grossesse par cycle est donc statistiquement identique pour chaque embryon. A contrario, le taux de grossesse par tentative augmente très nettement en fonction du nombre d'embryons obtenus. En effet, chaque embryon apportant une chance identique de grossesse, les cohortes d'embryons les plus importantes apportent plus de réussite.

9. Type d'azoospermie :

Dans ce découpage, on obtient 4 groupes. Azoospermie excrétoire (de très loin majoritaire), azoospermie sécrétoire (groupe amputé de 23 patients en raison de l'absence de spermatozoïdes à la biopsie testiculaire), le groupe « autres » dont les OATS sévères et les cryptozoospermies font partie quasi intégrante et un groupe « indéterminé » pour lesquels nous ne possédons pas assez d'information.



type d'azoo	n tentative	n cycle	n grossesse	%G/tentative	%G/cycle
Excrétoire	95	128	53	55,7	41,4
Sécrétoire	24	27	9	37,5	33,3
autres	11	12	2	18,2	16,7
indeter	7	10	2	25	20
total	137	177	66	48,2	37,3
sécrétoire corrigé	47	50	9	19,1	18

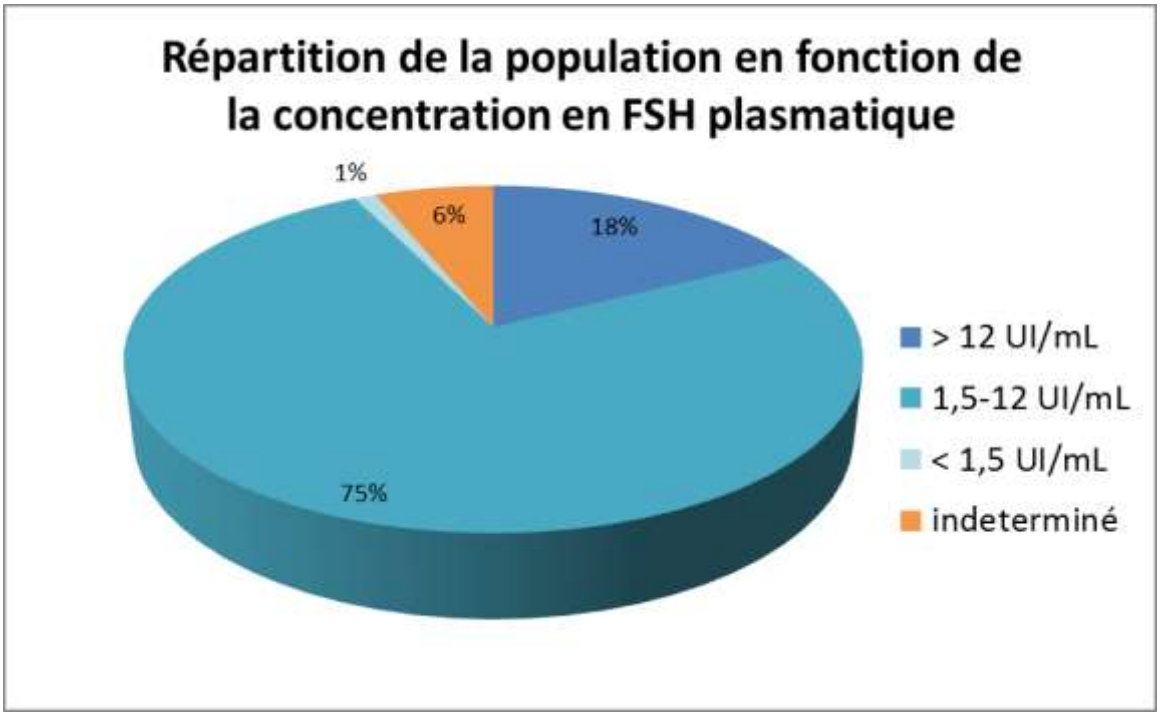


Une attention particulière est à porter à l'interprétation du taux de grossesse du groupe atteint d'azoospermie sécrétoire. En effet, il existe un biais de sélection important. Il convient de corriger cette anomalie en rentrant dans le calcul les patients ayant une BT négative.

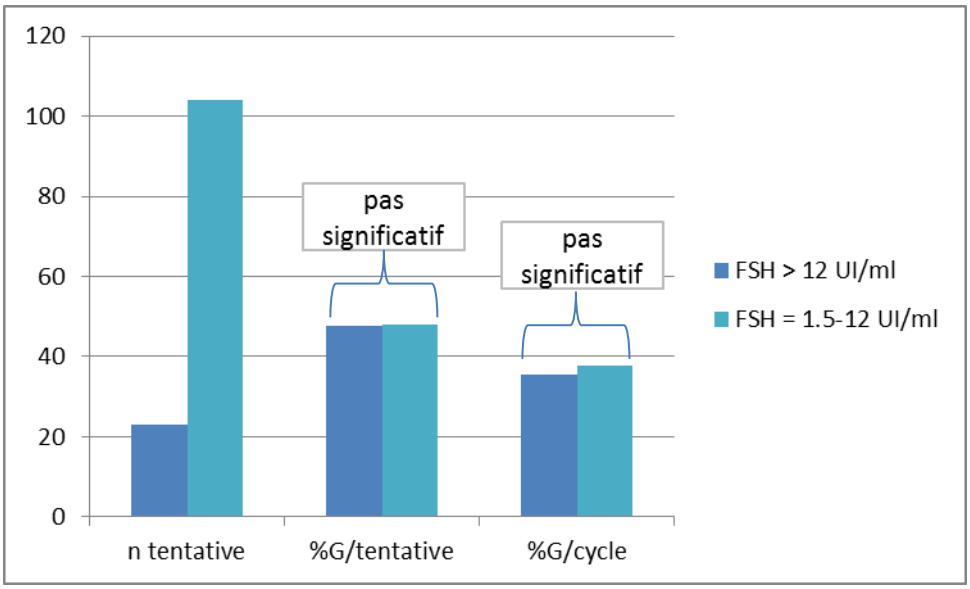
Le taux de grossesse ne dépend pas du type d'azoospermie mais de la présence de spermatozoïdes. En effet, le fait d'être atteint d'une azoospermie sécrétoire préjuge seulement d'une probabilité de présence plus rare de spermatozoïdes.

10. FSH :

À nouveau un groupe se montre largement majoritaire, celui correspondant, d'ailleurs, aux valeurs usuelles de la population générale.



[FSH]	n tentative	n cycle	n grossesse	%G/tentative	%G/cycle
> 12 UI/mL	23	31	11	47,8	35,5
1,5-12 UI/mL	104	133	50	48,1	37,6
< 1,5 UI/mL	2	2	2	100	100
indéterminé	8	11	3	37,5	27,3
total	137	177	66	48,2	37,3



Seuls deux groupes sont significatifs statistiquement (n>30) : Concentration en FSH plasmatique de 1.5 à 12 UI/mL (valeurs normales) et Concentration en FSH plasmatique supérieure à 12 UI/mL (ou supérieur à la normale).

Le groupe majoritairement représenté étant celui dont la concentration est normale. Le choix des groupes est réalisé ici suivant les valeurs biologiques usuelles reconnues. Il faut noter que le graphique ci-dessus est superposable à celui montrant la répartition des patients en fonction du type d'azoospermie, ce qui confirme ce qui est souvent décrit dans la littérature : Azoospermie d'origine excrétoire associée à une FSH plasmatique normale.

11. Taux de grossesse, fausse couche et naissance:

Tableau 3

	Etude	Population général
Nombre de grossesse total	66	659
Nombre de grossesse en Cours	10	94
Nombre de grossesse terminée	56	565
Nombre de naissance vivante	35 (62,5%)	381 (67,4%)
Nombre de Grossesse arrêtée	21	184
Nombre de Grossesse Biochimique	2	41
Nombre de Fausse Couche Spontanée (FCS)	17	129
Nombre de Grossesse Extra-Utérine (GEU)	1	5
Nombre d'IMG après 22 SA	1	9
Taux de Grossesse / cycle	37,30%	35%
Taux de Grossesse / Tentative	48,20%	42%

Finalement, les résultats obtenus pour les deux populations sont similaires (tableau 3). Cette observation est réconfortante. À partir du moment où l'embryon est considéré transférable les chances de réussite sont identiques quelle que soit l'origine des gamètes utilisés au départ.

12. Autres résultats statistiques :

Les points précédents comparent tous les taux de grossesses par tentative ou par cycle en fonction d'un paramètre hormonal, spermatique, ou ovocytaire propre à chaque groupe.

Il s'agit maintenant d'établir un lien entre d'une part les différents paramètres étudiés plus haut (numération spermatique, mobilité) (tableau 4) et d'autre part l'observation ou non d'une grossesse. C'est une façon différente de voir les choses, mais les conclusions sont similaires.

Tableau 4

Moyenne	Absence Grossesse	Grossesse	p value	Interprétation : différence oui/non
[FSH] plasmatique	8.96	8.09	0.2966	Non
Concentration Spz	2.24	2.53	0.02	Oui
Mobilité spermatique	14.44	20.05	0.03	Oui
Nombre d'ovocyte	11.12	11.98	0.44	Non
Nombre d'embryon	1.69	2.44	0.0005	Oui

D. DISCUSSION :

L'étude révèle un premier problème, la sélection des patients candidats à la biopsie testiculaire. Cette sélection doit être faite en analysant l'ensemble des facteurs cliniques et biologiques préopératoires.
Existe-t-il des hommes pour lesquels l'exploration testiculaire est inutile, leur faisant perdre espoir d'une paternité génétique, mais permettant de proposer d'emblée le recours à l'insémination avec sperme de donneur (IAD) ou à l'adoption ?
Selon une étude rétrospective réalisée en 2012 à Nancy (37), l'étiologie présumée et le volume testiculaire étaient les deux principaux facteurs significativement associés aux résultats des prélèvements testiculaires avec un risque augmenté d'extraction négative si le volume testiculaire est faible ou en cas d'azoospermie d'origine sécrétoire.

1. Analyse des facteurs préopératoires :

a. L'âge

L'âge moyen des patients est de 39.8 ans (de 25 à 64 ans), il n'est pas observé de rapport entre l'âge paternel et le taux de grossesse, mettant en évidence le caractère indépendant de ce facteur. En effet, même si l'âge maternel a clairement un rôle sur la fertilité, il existe encore des controverses quant à l'influence de l'âge paternel dans la littérature. Certains décrivent une augmentation des anomalies structurales chromosomique des spermatozoïdes, d'autres des maladies génétiques du conceptus, et une augmentation du nombre des fausses couches.
Kidd et al. (38) ont conclu à une diminution du liquide séminal, de la mobilité, et de morphologie typique des spermatozoïdes mais pas de leur concentration dans le sperme. D'autres auteurs suggèrent une modification de la vascularisation testiculaire et une raréfaction des cellules de Sertoli et de Leydig, avec diminution du taux de testostérone (39).

b. Le tabagisme

En ce qui concerne le tabagisme, 27.8% des patients de l'étude sont exposés à ce facteur. Dans la population générale on recense plus du tiers des hommes comme étant fumeurs réguliers (plus d'une cigarette par jour).
Les investigations sur la répercussion du tabac dans la fertilité masculine n'ont été que récemment proposées. Elles font suite à la constatation de la baisse de la conception naturelle chez les fumeurs (40). La numération (41), la vitalité (42), la mobilité (43) ainsi que la morphologie des spermatozoïdes semblent altérées en cas d'exposition tabagique. Il s'agit d'une altération globale de la qualité du sperme et probablement d'une diminution du

pouvoir fécondant. Cependant il n'existe pas d'azoospermie vraie en relation avec la quantité de cigarettes fumées, tout au plus une oligospermie.
Il est admis que les chances de fécondation en AMP seraient inversement proportionnelles à la quantité de tabac consommé chez l'homme et réversible après deux ans de sevrage (44). Ce qui incite à proposer à chaque homme consultant pour infertilité une aide au sevrage tabagique.

c. L'étiologie

L'étiologie de l'azoospermie est le facteur qui a le plus d'influence sur la concentration en spermatozoïde dans la biopsie, ainsi que sur le taux de grossesse.
La concentration moyenne en spermatozoïde est significativement inférieure chez les patients atteints d'une azoospermie du type sécrétoire (2.5M/mL pour les AE contre 1.5M/mL pour les AS).
82% (23/28) des Biopsies Testiculaires négatives, sur la période d'intérêt, sont d'étiologie sécrétoire (n=28). Cette information explique les résultats étonnants obtenus en C.8.
La cause obstructive est inversement plus largement retrouvée chez les patients pour lesquels on a obtenu une biopsie testiculaire positive (72%).
Le phénotype histologique observé est plus fréquemment celui d'une spermatogenèse complète, sauf si le phénomène obstructif est ancien, alors la spermatogenèse sera plus altérée.
Les troubles de la fertilité masculine restent assez souvent inexpliqués puisque 6% des patients ont une étiologie étiquetée comme idiopathique dans notre série. Tüttelmann et al. obtiennent d'ailleurs des résultats proches avec 12 % de leur cohorte (45).

d. Le volume testiculaire

Dans la littérature, il est démontré à plusieurs reprises que le volume testiculaire est corrélé au résultat de la biopsie. Est également observé une différence significative de la taille testiculaire moyenne entre le groupe de patients ayant une biopsie négative et le groupe pour lequel la biopsie se révèle positive, notamment avec un volume plus faible chez les hommes ayant une extraction négative. En général, une hypotrophie testiculaire était mise en évidence chez les patients ayant une azoospermie sécrétoire. (46)

2. Limites de l'étude :

Mon étude possède cependant quelques limites.
Premièrement, l'analyse des dossiers a été faite de manière rétrospective. Ce type d'étude amène notamment des biais de sélection à prendre en compte pour l'interprétation des résultats. Le meilleur exemple est celui concernant le rejet des biopsies testiculaires négatives concernant majoritairement les azoospermies sécrétoires.
Deuxièmement, l'homogénéité des résultats biologiques qui en ressort est discutable.
En effet, les prélèvements sanguins ont été réalisés dans différents laboratoires de ville, utilisant des techniques de dosage et des méthodes d'interprétation de résultats différentes.
Les biopsies testiculaires sont réalisées dans leur plus large majorité par un seul chirurgien-urologue, le professeur Jacquemin, étant également la seule personne choisissant les patients éligibles au prélèvement testiculaire. Le choix des patients a pour effet principal d'améliorer les résultats de l'AMP pratiquée par la suite, ce qui en soi n'est pas vraiment un problème, mais doit être pris en compte dans l'interprétation des résultats.
La mise en paillette et la cryoconservation des spermatozoïdes testiculaires sont réalisées par différentes techniciennes de laboratoire. Le compte des spermatozoïdes testiculaires, particulièrement difficile à réaliser et peu reproductible, est sujet à variation en fonction de l'opérateur, un biais important est attendu sur la numération spermatique.

3. Avantages de l'étude

Il y a bien sûr des points positifs. Le nombre de patients inclus est suffisamment grand pour pouvoir comparer différents groupes selon divers paramètres. L'étude étant rétrospective, on peut sélectionner aisément les patients selon des critères d'inclusion prédéfinis et ainsi obtenir comme seule anomalie majeure de la fertilité d'un couple: l'azoospermie (L'avantage principal d'une étude rétrospective est de pouvoir étudier des maladies rares). Et ainsi montrer que ces patients peuvent finalement, assez largement même, espérer être parents.
De plus le cout est uniquement « temporel », récupérer tous les dossiers manuscrits aux archives et en sortir les données prend du temps mais n'est en aucun cas compliqué.

4. Choix de la méthode chirurgicale

Tous nos prélèvements ont été réalisés par biopsie chirurgicale testiculaire du type TESE. Ceci est non seulement dû à une habitude opératoire dans notre service mais aussi à une bonne reproductibilité de la technique. Actuellement, il est admis que le choix de la méthode d'extraction des spermatozoïdes est essentiellement guidé par la clinique, et l'habitude de l'opérateur. La meilleure méthode consiste à assurer le prélèvement avec un

nombre suffisant de spermatozoïdes et de minimiser le traumatisme testiculaire. Mais il est difficile de recommander une méthode plutôt qu'une autre(47).

5. Utilisation de spermatozoïdes congelés :

Dans notre étude, la biopsie testiculaire était non synchrone à la tentative d'ICSI. En effet, il est maintenant admis que les résultats des tentatives d'ICSI sont identiques, que celle-ci soit réalisée en parallèle de la stimulation ovarienne ou non (48–50). Les spermatozoïdes, dans leur très large majorité, supporte très bien le processus de cryoconservation.
Il est préférable d'avoir les résultats de la biopsie avant de commencer le traitement de la conjointe. Lorsqu'on réalisait la biopsie testiculaire en parallèle de la stimulation on exposait le couple à un risque d'échec de la tentative en cas d'absence de spermatozoïde. La ponction pouvait avoir lieux malgré tout, mais la congélation des ovocytes ne présente pas un rendement aussi bon que celle de la congélation d'embryon.

6. Acte chirurgical systématique :

La question se pose de réaliser systématiquement, chez tous les patients atteints d'azoospermie, une TESE. En effet, la biopsie testiculaire n'est pas sans risque et est donc éthiquement discutable.
La première chose à laquelle on pense est évidemment le risque infectieux, potentiellement occasionné par tout acte chirurgical, la gêne occasionnée par les douleurs post-opératoires ou encore les risques liés à l'anesthésie générale, sont clairement non négligeables (51).
Schlegel et al. (52) ont suivi 64 patients ayant bénéficié d'une TESE. Trois mois plus tard, 82% des patients opérés présentaient des anomalies échographiques avec remaniements inflammatoires et hématomes même si la majorité d'entre eux restait asymptomatique. Après 6 mois apparaissaient des cicatrices et des calcifications parenchymateuses en échographie. Pour 2 patients, il y a eu des altérations de la circulation sanguine avec dévascularisation du testicule. D'autres auteurs ont reporté la survenue d'anomalies échographiques après TESE comme des lésions hypo-échogènes évocatrices d'hématomes ou des lésions échogènes de fibrose (46,53). Des perturbations endocriniennes comme une diminution de la testostérone après TESE ou élévations de la FSH et de la LH ont également été rapportées traduisant une atteinte directe des fonctions sertoliennes et leydigiennes (54–56).
Dans notre série, il ne s'agit que de TESE avec biopsie unique par testicule.
Par ailleurs, c'est au niveau de l'épididyme que le spermatozoïde achève sa maturation. Ainsi, la chromatine va subir un processus de condensation (remplacement des histones par les protamines) qui débute au cours de la spermiogenèse et se termine lors du transit

épididymaire (57). Cette condensation est indispensable à la protection du génome paternel contre les agressions extérieures. De plus, les spermatozoïdes acquièrent leur pouvoir fécondant au cours de leur passage dans l'épididyme, ce qui leur permet, outre l'obtention des capacités fusogènes, de participer au développement embryonnaire précoce (57,58).
Enfin, l'ADN spermatique va subir au cours de la spermatogenèse, mais également au cours du transit épididymaire, des modifications épigénétiques qui se traduisent sur le plan moléculaire par des modifications du profil de méthylation de certains gènes (59). Ces phénomènes de méthylation ont un rôle important dans le développement embryonnaire précoce (60). Tous ces processus physiologiques de maturation post-testiculaire des spermatozoïdes conduisent à se poser la question légitime du risque de malformations ou de pathologies génétiques en cas d'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires. Malgré tout, dès lors que rien ne contre-indique le prélèvement, on ne peut refuser la réalisation de la biopsie à un patient. Puisque, si l'on trouve des spermatozoïdes, le patient aura de grandes chances de réaliser son projet parental avec succès

E. CONCLUSION

La biopsie testiculaire s'impose comme un outil thérapeutique indispensable pour la prise en charge de l'infertilité masculine et est parfaitement irremplaçable pour les patients présentant une azoospermie. C'est en effet leur seule et unique possibilité de procréer.
Les facteurs décisionnels se résument en facteurs cliniques (un volume testiculaire normal, une étiologie obstructive, et l'absence d'exposition tabagique) et hormonaux (un taux de FSH normal) Tous ces facteurs sont de bon pronostic quant à l'obtention de spermatozoïdes dans le prélèvement testiculaire.
Le geste chirurgical doit toujours être proposé (37), quel que soit le résultat de la prise en charge clinique et paraclinique préopératoire, au risque d'obtenir un résultat médiocre. Effet dans cette étude on note près de 15% de biopsies négatives, dont la plus large majorité possède une FSH supérieure à la norme, mais pour certaines biopsies dont le résultat est positif la FSH est également supérieur à la normale. Cette étude montre également que lorsqu'il y a des spermatozoïdes dans le prélèvement alors le taux de grossesse ne dépend plus de l'étiologie. Finalement on en revient toujours au fait qu'aucun paramètre n'apparaît comme clairement rédhibitoire.

Par ailleurs, seule l'analyse histologique définitive permet de poser un diagnostic précis concernant « l'avenir » de la spermatogenèse. Elle permet entre autres de noter la présence de cellules germinales et permet également de donner une réponse diagnostique précise au patient.

Pour finir, il semble, d'après les résultats obtenus, que la numération spermatique est directement corrélée au taux de réussite de l'ICSI. Ceci pouvant notamment s'expliquer par une plus grande facilité d'exécution lors de la réalisation d'une ICSI avec un prélèvement de bonne qualité.

La maturation des cellules germinales de la lignée spermatique en spermatozoïdes matures et féconds sera, dans l'avenir, une réponse supplémentaire au problème d'infertilité masculine.

F. BIBLIOGRAPHIE :

1. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology, de Mouzon J, Lancaster P, Nygren KG, Sullivan E, Zegers-Hochschild F, et al. World collaborative report on Assisted Reproductive Technology, 2002. Hum Reprod Oxf Engl. 2009 Sep;24(9):2310–20.

2. Van Steirteghem A. Celebrating ICSI's twentieth anniversary and the birth of more than 2.5 million children--the "how, why, when and where." Hum Reprod Oxf Engl. 2012 Jan;27(1):1–2.

3. Schenck SL. Das Säugethierei künstlick befruchtet ausserhalb des Mutterthieres. In 1880.

4. Pincus G, Enzmann EV. Can Mammalian Eggs Undergo Normal Development in Vitro? Proc Natl Acad Sci U S A. 1934 Feb;20(2):121–2.

5. Dauzier L, Thibault C, Wintenberger S. [Fecundation in vitro of rabbit egg]. Comptes Rendus Hebd Seances Acad Sci. 1954 Feb 15;238(7):844–5.

6. Yanagimachi R, Chang MC. FERTILIZATION OF HAMSTER EGGS IN VITRO. Nature. 1963 Oct 19;200:281–2.

7. Edwards RG. Maturation in vitro of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. Nature. 1965 Oct 23;208(5008):349–51.

8. Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization in vitro of human oocytes matured in vitro. Nature. 1969 Feb 15;221(5181):632–5.

9. Bavister BD, Edwards RG, Steptoe PC. Identification of the midpiece and tail of the spermatozoon during fertilization of human eggs in vitro. J Reprod Fertil. 1969 Oct;20(1):159–60.

10. De Kretzer D, Dennis P, Hudson B, Leeton J, Lopata A, Outch K, et al. Transfer of a human zygote. Lancet Lond Engl. 1973 Sep 29;2(7831):728–9.

11. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. Lancet Lond Engl. 1976 Apr 24;1(7965):880–2.

12. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet Lond Engl. 1978 Aug 12;2(8085):366.

13. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet Lond Engl. 1992 Jul 4;340(8810):17–8.

14. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal-Bertin G, van de Casseye M. Successful fertilization by testicular spermatozoa in an in-vitro fertilization programme. Hum Reprod Oxf Engl. 1993 Aug;8(8):1339–40.

15. Ron-El R, Strassburger D, Friedler S, Komarovski D, Bern O, Soffer Y, et al. Extended sperm preparation: an alternative to testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. Hum Reprod Oxf Engl. 1997 Jun;12(6):1222–6.

16. Koscinski I, Wittemer C, Lefebvre-Khalil V, Marcelli F, Defossez A, Rigot JM. Optimal management of extreme oligozoospermia by an appropriate cryopreservation programme. Hum Reprod Oxf Engl. 2007 Oct;22(10):2679–84.

17. Ben-Ami I, Raziel A, Strassburger D, Komarovsky D, Ron-El R, Friedler S. Intracytoplasmic sperm injection outcome of ejaculated versus extracted testicular spermatozoa in cryptozoospermic men. Fertil Steril. 2013 Jun;99(7):1867–71.

18. Weissman A, Horowitz E, Ravhon A, Nahum H, Golan A, Levran D. Pregnancies and live births following ICSI with testicular spermatozoa after repeated implantation failure using ejaculated spermatozoa. Reprod Biomed Online. 2008 Nov;17(5):605–9.

19. Bendikson KA, Neri QV, Takeuchi T, Toschi M, Schlegel PN, Rosenwaks Z, et al. The outcome of intracytoplasmic sperm injection using occasional spermatozoa in the ejaculate of men with spermatogenic failure. J Urol. 2008 Sep;180(3):1060–4.

20. Hauser R, Bibi G, Yogev L, Carmon A, Azem F, Botchan A, et al. Virtual azoospermia and cryptozoospermia--fresh/frozen testicular or ejaculate sperm for better IVF outcome? J Androl. 2011 Oct;32(5):484–90.

21. Charny CW. Testicular biopsy: Its value in male sterility. ResearchGate. 1940 Jan 1;115(17):1429–33.

22. Ezeh UI, Moore HD, Cooke ID. A prospective study of multiple needle biopsies versus a single open biopsy for testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. Hum Reprod Oxf Engl. 1998 Nov;13(11):3075–80.

23. Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Soffer Y, Komarovsky D, Ron-El R. Testicular sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. Hum Reprod Oxf Engl. 1997 Jul;12(7):1488–93.

24. Rosenlund B, Kvist U, Plöen L, Rozell BL, Sjöblom P, Hillensjö T. A comparison between open and percutaneous needle biopsies in men with azoospermia. Hum Reprod Oxf Engl. 1998 May;13(5):1266–71.

25. Tournaye H. Surgical sperm recovery for intracytoplasmic sperm injection: which method is to be preferred? Hum Reprod Oxf Engl. 1999 Sep;14 Suppl 1:71–81.

26. LBDR CMCO. Mode Opératoire: Mise en paillettes de l'échantillon et congelation des paillettes. 2012.

27. El Inati E, Muller J, Viville S. Autosomal mutations and human spermatogenic failure. Biochim Biophys Acta. 2012 Dec;1822(12):1873–9.

28. Belva F, Bonduelle M, Roelants M, Michielsen D, Van Steirteghem A, Verheyen G, et al. Semen quality of young adult ICSI offspring: the first results. Hum Reprod Oxf Engl. 2016 Dec;31(12):2811–20.

29. Huyghe E, Izard V, Rigot J-M, Pariente J-L, Tostain J, les membres du Comité d'andrologie de l'association française d'urologie (CCAFU). [Optimal evaluation of the infertile male. 2007 French urological association guidelines]. Progres En Urol J Assoc Francaise Urol Soc Francaise Urol. 2008 Feb;18(2):95–101.

30. Rigot J-M. [The clinical workup is already a prognostic factor]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2007 Dec;36 Suppl 3:S74-77.

31. Schiff JD, Li PS, Goldstein M. Correlation of ultrasonographic and orchidometer measurements of testis volume in adults. BJU Int. 2004 May;93(7):1015–7.

32. Taskinen S, Taavitsainen M, Wikström S. Measurement of testicular volume: comparison of 3 different methods. J Urol. 1996 Mar;155(3):930–3.

33. BIOMNIS. Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées – Hormone Anti-Mullérienne. 2012.

34. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 2004 Jan;81(1):19–25.

35. Khoshnood B, Bouvier-Colle M-H, Leridon H, Blondel B. [Impact of advanced maternal age on fecundity and women's and children's health]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2008 Dec;37(8):733–47.

36. Aspiration microchirurgicale des spermatozoïdes épididymaires (MESA), biopsie testiculaire et injection intra-cytoplasmique du spermatozoïde (ICSI) dans le traitement de l'infertilité masculine | Urofrance [Internet]. [cited 2016 Dec 20]. Available from: http://www.urofrance.org/nc/science-et-recherche/base-bibliographique/article/html/aspiration-microchirurgicale-des-spermatozoides-epididymaires-mesa-biopsie-testiculaire-et-inje.html

37. Garcia-Legname M, Cordonnier J-L, Eschwege P, Foliguet B, Ayav C, Hubert J. [In search of the surgical sperm cell: do we have to perform a testicular biopsy systematically?]. Progres En Urol J Assoc Francaise Urol Soc Francaise Urol. 2013 Jan;23(1):58–65.

38. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. Fertil Steril. 2001 Feb;75(2):237–48.

39. Deslypere JP, Vermeulen A. Leydig cell function in normal men: effect of age, life-style, residence, diet, and activity. J Clin Endocrinol Metab. 1984 Nov;59(5):955–62.

40. Hughes EG, Brennan BG. Does cigarette smoking impair natural or assisted fecundity? Fertil Steril. 1996 Nov;66(5):679–89.

41. Vine MF, Margolin BH, Morrison HI, Hulka BS. Cigarette smoking and sperm density: a meta-analysis. Fertil Steril. 1994 Jan;61(1):35–43.

42. Zavos PM, Correa JR, Antypas S, Zarmakoupis-Zavos PN, Zarmakoupis CN. Effects of seminal plasma from cigarette smokers on sperm viability and longevity. Fertil Steril. 1998 Mar;69(3):425–9.

43. Gandini L, Lombardo F, Lenzi A, Culasso F, Pacifici R, Zuccaro P, et al. The in-vitro effects of nicotine and cotinine on sperm motility. Hum Reprod Oxf Engl. 1997 Apr;12(4):727–33.

44. Zitzmann M, Rolf C, Nordhoff V, Schräder G, Rickert-Föhring M, Gassner P, et al. Male smokers have a decreased success rate for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 2003 Jun;79 Suppl 3:1550–4.

45. Tüttelmann F, Werny F, Cooper TG, Kliesch S, Simoni M, Nieschlag E. Clinical experience with azoospermia: aetiology and chances for spermatozoa detection upon biopsy. Int J Androl. 2011 Aug;34(4):291–8.

46. Tsujimura A, Matsumiya K, Miyagawa Y, Takao T, Fujita K, Koga M, et al. Prediction of successful outcome of microdissection testicular sperm extraction in men with idiopathic nonobstructive azoospermia. J Urol. 2004 Nov;172(5 Pt 1):1944–7.

47. Van Peperstraten A, Proctor ML, Johnson NP, Philipson G. Techniques for surgical retrieval of sperm prior to intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) for azoospermia. Cochrane Database Syst Rev. 2008 Apr 16;(2):CD002807.

48. Karacan M, Alwaeely F, Erkan S, Çebi Z, Berberoğlugil M, Batukan M, et al. Outcome of intracytoplasmic sperm injection cycles with fresh testicular spermatozoa obtained on the day of or the day before oocyte collection and with cryopreserved testicular sperm in patients with azoospermia. Fertil Steril. 2013 Oct;100(4):975–80.

49. Rigot JM. Secretory azoospermia or non-obstructive azoospermia? Folia Histochem Cytobiol. 2009;47(5):S51-53.

50. Tavukcuoglu S, Al-Azawi T, Al-Hasani S, Khaki AA, Khaki A, Tasdemir S. Using Fresh and Frozen Testicular Sperm Samples in Couples Undergoing ICSI-MicroTESE Treatment. J Reprod Infertil. 2013 Apr;14(2):79–84.

51. Wood S, Thomas K, Sephton V, Troup S, Kingsland C, Lewis-Jones I. Postoperative pain, complications, and satisfaction rates in patients who undergo surgical sperm retrieval. Fertil Steril. 2003 Jan;79(1):56–62.

52. Schlegel PN, Su LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. Hum Reprod Oxf Engl. 1997 Aug;12(8):1688–92.

53. Souza C a. B, Cunha Filho JS, Santos D, Gratão A, Freitas FM, Passos EP. Predictive factors for motile sperm recovery using testicular biopsy in nonobstructive azoospermic patients. Int Urol Nephrol. 2003;35(1):53–7.

54. de Souza CAB, Cunha Filho JS, Santos D, Gratão AA, Filippon L, Tedesco C, et al. [Follicle stimulating hormone as predictor of mobile spermatozoa in testicular biopsy of azoospermic patients]. Rev Assoc Medica Bras 1992. 2003 Jun;49(2):167–72.

55. de Kretser DM, Burger HG, Hudson B. The relationship between germinal cells and serum FSH levels in males with infertility. J Clin Endocrinol Metab. 1974 May;38(5):787–93.

56. Mulhall JP, Burgess CM, Cunningham D, Carson R, Harris D, Oates RD. Presence of mature sperm in testicular parenchyma of men with nonobstructive azoospermia: prevalence and predictive factors. Urology. 1997 Jan;49(1):91-95; discussion 95-96.

57. AbdelHafez F, Bedaiwy M, El-Nashar SA, Sabanegh E, Desai N. Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa: a systematic review. Hum Reprod Update. 2009 Apr;15(2):153–64.

58. Aoki VW, Wilcox AL, Thorp C, Hamilton BD, Carrell DT. Improved in vitro fertilization embryo quality and pregnancy rates with intracytoplasmic sperm injection of sperm from fresh testicular biopsy samples vs. frozen biopsy samples. Fertil Steril. 2004 Dec;82(6):1532–5.

59. Akbal C, Mangir N, Tavukçu HH, Ozgür O, Simşek F. Effect of testicular sperm extraction outcome on sexual function in patients with male factor infertility. Urology. 2010 Mar;75(3):598–601.

60. Hasegawa H, Terada Y, Ugajin T, Yaegashi N, Sato K. A novel culture system for mouse spermatid maturation which produces elongating spermatids capable of inducing calcium oscillation during fertilization and embryonic development. J Assist Reprod Genet. 2010 Sep;27(9–10):565–70.

G. ANNEXES

1. Annexe 1 : Liste de abréviations :

- AE = Azoospermie Excrétoire
- AMH = Anti-Mullerienne Hormone
- AMP = Assistance Médicale à la Procréation
- AS = Azoospermie Sécrétoire
- BhCG = Béta human Chorionique Gonadotrophine
- BT = Biopsie Testiculaire
- CMCO = Centre Médico-Chirurgical Obstétrique
- DPI = Diagnostic Préimplantatoire
- FIV = Fécondation In Vitro
- FSH = Folliculo-Stimulante Hormone
- GnRH = Gonadotrophin Releasing Hormone
- hCGr = human Chorionique Gonadotrophine recombinante
- hMG-hCG = human Menopause Gonadotrophin - human Chorionique Gonadotrophine
- ICSI = Intra-Cytoplasmique Sperm Injection
- ICSI(BT) = Intra-Cytoplasmique Sperm Injection with testicular spermatozoïde
- IMC (=BMI) = Indice de Masse Corporelle
- LBDR = Laboratoire de Biologie de la Reproduction
- LH = Hormone Lutéinisante
- PESA = Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration
- PN = Pronucléi
- PO = Ponction ovarienne
- RIA = Radio Immuno Assay
- TESA = Testicular Sperm Aspiration
- TESE = Testicular Sperm Extraction
- TSHus = Thyroid Stimulating Hormone ultra-sensible

2. Annexe 2: Calculs Statistiques:

a. Numération :

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 **>2M/ml** et G2 **<2M/ml**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	3.88	1.645	g1 > g2
Z(%G/cycle)	2.82	1.645	g1 > g2

Calcul de l'Odd Ratio : G1 **>2M/ml** et G2 **<2M/ml :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 > 2M/ml	45	24	69	OR = 4.14	<0.001
G2 <2M/ml	19	42	61	IC=[1.99-8.64]	

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par cycle

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 > 2M/ml	45	50	95	OR = 2.56	<0.001
G2 <2M/ml	19	54	73	IC=[1.32-4.95]	

b. Mobilité :

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 **>1%** et G2 **<1%**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	3.54	1.645	g1 > g2
Z(%G/cycle)	2.62	1.645	g1 > g2

Calcul de l'Odd Ratio : G1 **>1%** et G2 **<1% :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 >1%	54	41	95	OR = 4.6	<0.001
G2 <1%	8	28	36	IC=[1.9-11.6]	

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par cycle

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 >1%	54	74	128	OR = 3.01	0.01
G2 <1%	8	33	41	IC=[1.29-7.03]	

c. FSH

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 FSH **>12UI/ml** et G2 **FSH = 5-12 UI/ml**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	0.026	1.645	g1 = g2
Z(%G/cycle)	0.22	1.645	g1 = g2

Calcul de l'Odd Ratio : G1 FSH **>12UI/ml** et G2 **FSH = 5-12 UI/ml :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 FSH >12UI/ml	11	12	23	OR = 0.99 IC=[0.4-2.4]	0.98
G2 FSH = 5-12 UI/ml	50	54	104		

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par cycle

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 FSH > 12 UI/ml	11	20	31	OR = 0.91 IC=[0.4-2.06]	0.83
G2 FSH = 5-12 UI/ml	50	83	133		

d. Nombre d'ovocyte (NO)

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 **NO > 15** et G2 **NO = 10-15**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	1.17	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	0.18	1.645	g1 = g2

Calcul de l'Odd Ratio : G1 **NO > 15** et G2 **NO = 10-15 :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 NO>15	15	9	24	OR = 1.82	0.24
G2 NO=10-15	22	24	46	IC=[0.66-4.98]	

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par cycle

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 NO>15	15	25	40	OR = 0.93	0.86
G2 NO=10-15	22	34	56	IC=[0.4-2.1]	

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G2 **NO = 10-15** et G3 **NO = 5-10**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	0.17	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	0.22	1.645	g1 = g2

Calcul de l'Odd Ratio : G1 **NO = 10-15** et G2 **NO = 5-10 :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 NO=10-15	22	24	46	OR = 1.04	0.92
G2 NO=5-10	22	25	47	IC=[0.46-2.35]	

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par cycle

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 NO=10-15	22	34	56	OR = 1.09	0.90
G2 NO=5-10	22	37	59	IC=[0.51-2.31]	

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G3 **NO = 5-10** et G4 **NO < 5**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	0.89	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	0.46	1.645	g1 = g2

Calcul de l'Odd Ratio : G1 **NO = 5-10** et G2 **NO < 5 :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 NO=5-10	22	25	47	OR = 1.63	0.37
G2 NO<5	7	13	20	IC=[0.55-4.82]	

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par cycle

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 NO=5-10	22	37	59	OR = 1.27	0.65
G2 NO<5	7	15	22	IC=[0.45-3.61]	

Comparaison de pourcentage entre les groupes : g1 **NO > 15** et g4 **NO < 5**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	1.82	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	0.45	1.645	g1 = g2

e. Nombre d'embryon (NE)

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 NE ≥ 3 et G2 NE = 2

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	5.62	1.645	g1 > g2
Z(%G/transfert)	0.87	1.645	g1 = g2

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G2 NE = 2 et G3 NE = 1

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	1.59	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	1.38	1.645	g1 = g2

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 NE ≥ 3 et G3 NE = 1

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	6.69	1.645	g1 > g2
Z(%G/transfert)	2.36	1.645	g1 > g2

f. Type d'azoospermie

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 **AE** et G2 **AS**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	1.6	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	0.78	1.645	g1 = g2

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 **AE** et G2 **AS corrigé**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	**4.14**	1.645	**g1 > g2**
Z(%G/transfert)	**2.95**	1.645	**g1 > g2**

Calcul de l'Odd Ratio : **G1 AE** et G2 **AS/AS corrigé :**

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par tentative

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 AE	53	42	95	OR = 2.10/**5.31**	0.11/**<0.001**
G2 AS/AS corrigé	9/**9**	15/**38**	24/**47**	IC=[0.8-5.3]/**[2.3-12.2]**	

Odd Ratio pour le pourcentage de Grossesse par transfert

	Grossesse	Absence de Grossesse	effectif	Odd Ratio	p value
G1 AE	53	75	128	OR = 1.41/**3.22**	0.44/**<0.001**
G2 AS/AS corrigé	9/**9**	18/**41**	27/**50**	IC=[0.6-3.4]/**[1.4-7.2]**	

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G2 **AS** et G3 **Autre**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	1.14	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	1.07	1.645	g1 = g2

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G2 **AS corrigé** et G3 **Autre**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	0.07	1.645	g1 = g2
Z(%G/transfert)	0.11	1.645	g1 = g2

Comparaison de pourcentage entre les groupes : G1 **AE** et G3 **Autre**

	Valeur de Z	Valeur de Zα	Hypothèse statistique
Z(%G/tentative)	2.36	1.645	g1 > g2
Z(%G/transfert)	1.68	1.645	g1 > g2

FACULTE DE PHARMACIE UNIVERSITE DE LORRAINE

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : : 21.04.2017

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : Charles PAX

Sujet :

Biopsie testiculaire et fécondation in vitro avec ICSI au Centre Hospitalo-Universitaire de Strasbourg

Jury :

Président : M. Jean-Marc LESSINGER, Professeur
Directeur : M. Marius TELETIN, Maitre de conférences
Juges : M. Pascal ESCHWEGE, Professeur
Mme Fabienne SCHNEIDER, Pharmacien
Mme Jeanine OHL, Médecin

Vu,

Nancy, le

Le Président du Jury — Directeur de Thèse

M. Jean-Marc LESSINGER — M. Marius TELETIN

Vu et approuvé,

Nancy, le

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 12 OCT. 2017

Le Président de l'Université de Lorraine,

Université de Lorraine — Le Président

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 10044

N° d'identification :

TITRE

Biopsie testiculaire et fécondation in vitro avec ICSI au Centre Hospitalo-Universitaire de Strasbourg

Thèse soutenue le 21 avril 2017

Par Charles PAX

RESUME :

L'infertilité est un problème de santé public ayant un impact mondial. La prévalence de l'infertilité est estimée à environ 10%. Les origines sont autant féminines que masculines. On estime la fréquence de l'azoospermie, parmi les hommes infertiles, à 5%.

La seule technique d'assistance médicale à la procréation permettant à ces hommes de mener à bien leur projet parental est l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde d'origine testiculaire (ICSI(BT)). L'objectif de cette thèse est de calculer quel pourcentage de chance ont ces hommes d'obtenir une naissance s'ils sont pris en charge au CMCO, et le constat est très rassurant à partir du moment ou un spermatozoïde mobile est retrouvé les chances de paternité sont aussi élevées que pour les patients ayant recours aux autres techniques d'AMP comme la FIV classique ou l'ICSI utilisant un spermatozoïde éjaculé.

MOTS CLES : Assistance Médicale à la Procréation ; Azoospermie ; Biopsie testiculaire ; ICSI ; Taux de Grossesse ;

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Docteur Marius TELETIN	**Laboratoire de biologie de la reproduction - LBDR - CMCO**	**Expérimentale** ■ **Bibliographique** ☐ **Thème** ☐

Thèmes **1** – Sciences fondamentales **2 – Hygiène/Environnement**
3 – Médicament **4 –** Alimentation – Nutrition
5 - Biologie **6 –** Pratique professionnelle