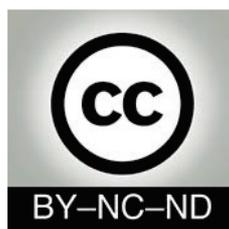




<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -  
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>



Université Claude Bernard



**FACULTE DE MEDECINE ET DE MAIEUTIQUE LYON-SUD CHARLES MERIEUX**

Année 2019

N° 84

## **Nouvelles indications de biopsies testiculaires**

**en cas de fragmentation de l'ADN spermatique élevée,**

**de tératozoospermie sévère ou de trouble éjaculatoire :**

**Résultats en Fécondation *In Vitro* avec micro injection (FIV-ICSI)**

### **Thèse d'exercice en Médecine**

Présentée à l'Université Claude Bernard-Lyon 1

Et soutenue publiquement le 29 Avril 2019

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

Sous la direction de Madame le Docteur Sandrine Giscard d'Estaing

Par **Karoui Sara Nadia**

Née le 05 Décembre 1989

A Amiens (80)

**Nouvelles indications de biopsies testiculaires**  
**en cas de fragmentation de l'ADN spermatique élevée,**  
**de tératozoospermie sévère ou de trouble éjaculatoire :**  
**Résultats en Fécondation *In Vitro* avec micro injection (FIV-ICSI)**

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1

---

2018-2019

Président de l'Université	Frédéric FLEURY
Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales	Pierre COCHAT
Directeur Général des Services	Damien VERHAEGUE

## **SECTEUR SANTE**

UFR DE MEDECINE LYON EST	Doyen : Gilles RODE
UFR DE MEDECINE ET DE MAIEUTIQUE LYON SUD - CHARLES MERIEUX	Doyen : Carole BURILLON
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES (ISPB)	Directeur : Christine VINCIGUERRA
UFR D'ODONTOLOGIE	Doyen : Dominique SEUX
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE READAPTATION (ISTR)	Directeur : Xavier PERROT
DEPARTEMENT DE FORMATION ET CENTRE DE RECHERCHE EN BIOLOGIE HUMAINE	Directeur : Anne-Marie SCHOTT

## **SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIE**

UFR DE SCIENCES ET TECHNOLOGIES	Directeur : Fabien DE MARCHI
UFR DE SCIENCES ET TECHNIQUES DES ACTIVITES PHYSIQUES ET SPORTIVES (STAPS)	Directeur : Yannick VANPOULLE
POLYTECH LYON	Directeur : Emmanuel PERRIN
I.U.T. LYON 1	Directeur : Christophe VITON
INSTITUT DES SCIENCES FINANCIERES ET ASSURANCES (ISFA)	Directeur : Nicolas LEBOISNE
OBSERVATOIRE DE LYON	Directeur : Isabelle DANIEL
ECOLE SUPERIEUR DU PROFESSORAT ET DE L'EDUCATION (ESPE)	Directeur Alain MOUGNIOTTE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (Classe exceptionnelle)

ADHAM Mustapha	Chirurgie Digestive
BONNEFOY Marc	Médecine Interne, option Gériatrie
BERGERET Alain	Médecine et Santé du Travail
BROUSSOLLE Emmanuel	Neurologie
BURILLON-LEYNAUD Carole	Ophthalmologie
CHIDIAC Christian	Maladies infectieuses ; Tropicales
FLOURIE Bernard	Gastroentérologie ; Hépatologie
FOUQUE Denis	Néphrologie
GEORGIEFF Nicolas	Pédopsychiatrie
GILLY François-Noël	Chirurgie générale
GLEHEN Olivier	Chirurgie Générale
GOLFIER François	Gynécologie Obstétrique ; gynécologie médicale
GUEUGNIAUD Pierre-Yves	Anesthésiologie et Réanimation urgence
LAVILLE Martine	Nutrition - Endocrinologie
LAVILLE Maurice	Thérapeutique - Néphrologie
LINA Gérard	Bactériologie
MALICIER Daniel	Médecine Légale et Droit de la santé
MION François	Physiologie
MORNEX Françoise	Cancérologie ; Radiothérapie
MOURIQUAND Pierre	Chirurgie infantile
NICOLAS Jean-François	Immunologie
PIRIOU Vincent	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
RODRIGUEZ-LAFRASSE Claire	Biochimie et Biologie moléculaire
SALLES Gilles	Hématologie ; Transfusion
SIMON Chantal	Nutrition
THIVOLET Charles	Endocrinologie et Maladies métaboliques
THOMAS Luc	Dermato – Vénérologie
TRILLET-LENOIR Véronique	Cancérologie ; Radiothérapie
VALETTE Pierre Jean	Radiologie et imagerie médicale
VIGHETTO Alain	Neurologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (1ère Classe)

ALLAOUCHICHE Bernard	Anesthésie-Réanimation Urgence
ANDRE Patrice	Bactériologie – Virologie
BERARD Frédéric	Immunologie
BONNEFOY- CUDRAZ Eric	Cardiologie
BOULETREAU Pierre	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
CERUSE Philippe	O.R.L
CHAPET Olivier	Cancérologie, radiothérapie
DES PORTES DE LA FOSSE Vincent	Pédiatrie
DORET Muriel	Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale
FARHAT Fadi	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
FESSY Michel-Henri	Anatomie – Chirurgie Ortho
FEUGIER Patrick	Chirurgie Vasculaire
FRANCK Nicolas	Psychiatrie Adultes
FREYER Gilles	Cancérologie ; Radiothérapie
GIAMMARILE Francesco	Biophysique et Médecine nucléaire
JOUANNEAU Emmanuel	Neurochirurgie
KASSAI KOUPAI Behrouz	Pharmacologie Fondamentale, Clinique
LANTELME Pierre	Cardiologie
LEBECQUE Serge	Biologie Cellulaire
LIFANTE Jean-Christophe	Chirurgie Générale

LONG Anne  
LUAUTE Jacques  
PAPAREL Philippe  
PEYRON François  
PICAUD Jean-Charles  
POUTEIL-NOBLE Claire  
PRACROS J. Pierre  
RIOUFFOL Gilles  
RUFFION Alain  
SALLE Bruno  
SANLAVILLE Damien  
SAURIN Jean-Christophe  
SERVIEN Elvire  
SEVE Pascal  
THOBOIS Stéphane  
TRONC François

Médecine vasculaire  
Médecine physique et Réadaptation  
Urologie  
Parasitologie et Mycologie  
Pédiatrie  
Néphrologie  
Radiologie et Imagerie médicale  
Cardiologie  
Urologie  
Biologie et Médecine du développement et de la reproduction  
Génétique  
Hépto gastroentérologie  
Chirurgie Orthopédique  
Médecine Interne, Gériatrique  
Neurologie  
Chirurgie thoracique et cardio

#### PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (2ème Classe)

BARREY Cédric  
BELOT Alexandre  
BOHE Julien  
BREVET-QUINZIN Marie  
CHO Tae-hee  
CHOTEL Franck  
COTTE Eddy  
COURAND Pierre-Yves  
COURAUD Sébastien  
DALLE Stéphane  
DEVOUASSOUX Gilles  
DISSE Emmanuel  
DUPUIS Olivier  
FRANCO Patricia  
GHESQUIERES Hervé  
GILLET Pierre-Germain  
HAUMONT Thierry  
LASSET Christine  
LEGA Jean-Christophe  
LEGER FALANDRY Claire  
LUSTIG Sébastien  
MOJALLAL Alain-Ali  
NANCEY Stéphane  
PASSOT Guillaume  
PIALAT Jean-Baptiste  
REIX Philippe  
ROUSSET Pascal  
TAZAROURTE Karim  
THAI-VAN Hung  
TRAVERSE-GLEHEN Alexandra  
TRINGALI Stéphane  
VOLA Marco  
WALLON Martine  
WALTER Thomas  
YOU Benoît

Neurochirurgie  
Pédiatrie  
Réanimation urgence  
Anatomie et cytologie pathologiques  
Neurologie  
Chirurgie Infantile  
Chirurgie générale  
Cardiologie  
Pneumologie  
Dermatologie  
Pneumologie  
Endocrinologie diabète et maladies métaboliques  
Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale  
Physiologie - Pédiatrie  
Hématologie  
Biologie Cell.  
Chirurgie Infantile  
Epidémiologie., éco. Santé  
Thérapeutique – Médecine Interne  
Médecine interne, gériatrie  
Chirurgie. Orthopédique,  
Chirurgie. Plastique.,  
Gastro Entérologie  
Chirurgie Générale  
Radiologie et Imagerie médicale  
Pédiatrie -  
Radiologie imagerie médicale  
Médecine Urgence  
Physiologies - ORL  
Anatomie et cytologie pathologiques  
O.R.L.  
Chirurgie thoracique cardiologie vasculaire  
Parasitologie mycologie  
Gastroentérologie – Hépatologie  
Cancérologie

PROFESSEUR ASSOCIE sur Contingent National

PIERRE Bernard

Cardiologie

PROFESSEURS - MEDECINE GENERALE (2ème Classe)

BOUSSAGEON Rémy  
ERPELDINGER Sylvie

PROFESSEUR ASSOCIE - MEDECINE GENERALE

DUPRAZ Christian  
PERDRIX Corinne

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (Hors Classe)

ARDAIL Dominique	Biochimie et Biologie moléculaire
CALLET-BAUCHU Evelyne	Hématologie ; Transfusion
DIJOURD Frédérique	Anatomie et Cytologie pathologiques
LORNAGE-SANTAMARIA Jacqueline	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction
MASSIGNON Denis	Hématologie – Transfusion
RABODONIRINA Meja	Parasitologie et Mycologie
VAN GANSE Eric	Pharmacologie Fondamentale, Clinique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS (1ère Classe)

BRUNEL SCHOLTES Caroline	Bactériologie virologie ; Hygiène .hospitalière.
COURY LUCAS Fabienne	Rhumatologie
DECAUSSIN-PETRUCCI Myriam	Anatomie et cytologie pathologiques
DESESTRET Virginie	Cytologie – Histologie
FRIGGERI Arnaud	Anesthésiologie
DUMITRESCU BORNE Oana	Bactériologie Virologie
GISCARD D’ESTAING Sandrine	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction
LOPEZ Jonathan	Biochimie Biologie Moléculaire
MAUDUIT Claire	Cytologie – Histologie
MILLAT Gilles	Biochimie et Biologie moléculaire
PERROT Xavier	Physiologie - Neurologie
PONCET Delphine	Biochimie, Biologie cellulaire
RASIGADE Jean-Philippe	Bactériologie – Virologie ; Hygiène hospitalière
NOSBAUM ép ROSSIGNOL Audrey	Immunologie
SUJOBERT Pierre	Hématologie - Transfusion
VALOUR Florent	Mal infect.
VUILLEROT Carole	Médecine Physique Réadaptation

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (2ème Classe)

BOLZE Pierre-Adrien	Gynécologie Obstétrique
DEMILY Caroline	Psy-Adultes
HALFON DOMENECH Carine	Pédiatrie
JAMILLOUX Yvan	Médecine Interne - Gériatrie
KOPPE Laetitia	Néphrologie
PETER DEREK	Physiologie - Neurologie
PUTOUX DETRE Audrey	Génétique

RAMIERE Christophe  
SKANJETI Andréa  
SUBTIL Fabien  
VISTE Anthony

Bactériologie-virologie  
Biophysique. Médecine nucléaire.  
Bio statistiques  
Anatomie

#### MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES – MEDECINE GENERALE

SUPPER Irène

#### PROFESSEURS EMERITES

Les Professeurs émérites peuvent participer à des jurys de thèse ou d'habilitation. Ils ne peuvent pas être président du jury.

ANNAT Guy  
BERLAND Michel  
CAILLOT Jean Louis  
CARRET Jean-Paul  
ECOCHARD René  
FLANDROIS Jean-Pierre  
DUBOIS Jean-Pierre  
LLORCA Guy  
MATILLON Yves  
PACHECO Yves  
PEIX Jean-Louis  
SAMARUT Jacques  
TEBIB Jacques

Physiologie  
Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale  
Chirurgie générale  
Chirurgie Orthopédique  
Bio-statistiques  
Bactériologie – Virologie; Hygiène hospitalière  
Médecine générale  
Thérapeutique  
Epidémiologie, Economie Santé et Prévention  
Pneumologie  
Chirurgie Générale  
Biochimie et Biologie moléculaire  
Rhumatologie

## **COMPOSITION DU JURY**

### **PRESIDENT DU JURY**

Monsieur le Professeur Hervé LEJEUNE

### **DIRECTRICE DE THESE**

Madame le Docteur Sandrine GISCARD D'ESTAING

### **MEMBRES ASSESSEURS**

Monsieur le Professeur Bruno SALLE

Madame le Professeur Christine VINCIGUERRA

Madame le Docteur Jacqueline LORNAGE

Monsieur le Docteur Mehdi BENCHAIB

## LE SERMENT D'HIPPOCRATE

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans discrimination.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance.

Je donnerai mes soins à l'indigent et je n'exigerai pas un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement la vie ni ne provoquerai délibérément la mort.

Je préserverai l'indépendance nécessaire et je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je perfectionnerai mes connaissances pour assurer au mieux ma mission.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.  
Que je sois couvert d'opprobre et méprisé si j'y manque.

## REMERCIEMENT

**Aux membres du Jury,**

**A Monsieur le Professeur Hervé LEJEUNE**, président du jury, vous me faites l'honneur de présider cette thèse et je vous en remercie. Soyez assuré de ma grande admiration et de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Bruno SALLE**, je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. Soyez assuré de ma grande admiration et de mon profond respect.

**A Madame le Professeur Christine VINCIGUERRA**, veuillez recevoir mes plus sincères remerciements pour avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

**A Madame le Docteur Sandrine GISCARD D'ESTAING**, directrice de thèse, je vous remercie infiniment pour votre disponibilité, votre soutien, et votre bienveillance tout au long de ce travail de thèse. Merci pour tout ce que vous m'avez appris durant ces 3 semestres. J'espère que ce travail est à la hauteur de vos attentes. Soyez assurée de ma grande admiration et de mon profond respect.

**A Madame le Docteur Jacqueline LORNAGE**, je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Merci pour tout ce que vous m'avez inculqué durant ces 3 semestres et de m'avoir transmis votre savoir et votre passion pour cette spécialité. Merci pour votre esprit critique, vos remarques, et vos conseils qui m'ont été d'une aide précieuse dans la poursuite et l'aboutissement de ce travail de thèse. Soyez assurée de ma grande admiration et de mon profond respect.

## **A Monsieur le Docteur Mehdi BENCHAIIB**

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Je vous remercie pour votre disponibilité, pour votre aide et pour vos conseils lors de la réalisation de ce travail. Recevez l'expression de mon admiration et de mon profond respect.

## **A tous ceux qui m'ont accompagné au cours de ma formation,**

### **A l'équipe de PMA,**

A Gaëlle Soignon, merci pour ton soutien et ta disponibilité durant ces 3 semestres. Les consultations en ta compagnie ont été très enrichissantes. Je te remercie pour tes conseils et aussi pour toutes les fois où tu as signé mon cahier d'habilitation ! J'espère qu'on restera en contact après mon départ.

A Elsa Labrune, merci pour ta bonne humeur, ton optimisme et tes bons conseils. C'était un plaisir de travailler à tes côtés.

A Nicolas Reynaud, merci pour ta gentillesse et pour ton soutien durant ce travail de thèse. C'était un plaisir de travailler à tes côtés.

A ma super co-interne Pauline (petit chat) et bientôt super assistante, merci pour ces moments de rires partagés ensemble, pour ton soutien et tes conseils. Nous avons formé une belle équipe tu vas beaucoup me manquer.

A Dorian, merci pour ton aide durant ces 2 semestres et ta gentillesse. J'espère que Grenoble te plairas.

A Marc, merci pour ces moments de rires partagés ensemble (Allez ! ;)). Merci d'avoir été notre assistant, merci pour tes cours et pour tout ce que tu nous as appris.

A Camille P, merci pour ton soutien. J'espère que Paris te plait et que tu trouveras ce que tu cherches.

A Anne-Sophie (duo de choc le vendredi 05/04 : ), Chloé (on a eu peur pour ta bague : ), Aude (une super maman), Yanniv (qui a un bon dossier), Camille (trop forte au duel quizz) , Manon (courage les spermocultures contaminés c'est bientôt fini : ), Maeva (ou Manon 2 ou 1 : ), Clémence Sapet( Sapeeeet comme jamais), Sarah Glachant, Gabriel Thiberville, Marine Rebotier, Mathilde Leport, merci pour ces moments qu'on a partagé ensemble.

A toute l'équipe de techniciens : Une super équipe, grâce à vous j'ai pu acquérir les compétences nécessaires pour l'avenir. Je vous en suis très reconnaissante.

A Didier, merci pour tout ce que tu m'as appris. Merci pour ton soutien, pour ton temps et ta disponibilité. Merci pour toutes tes qualités humaines : ta bienveillance, ta grande gentillesse et ta générosité. J'espère qu'on restera en contact après mon départ.

A Geneviève, merci pour tout ce que tu m'as appris, merci pour ta patience, ta bonne humeur et ta gentillesse.

A Nicole, merci de m'avoir formé en technique. Merci pour ta gentillesse et ta bienveillance.

A Odile, merci de m'avoir formé en technique et d'avoir été patiente surtout au début (*chien fofou* :)  
Merci pour ces moments de rire partagés ensemble, pour ta rigueur au travail et ta bonne humeur.

A Salomé, merci de m'avoir formé en technique, merci pour ta gentillesse et pour tous ces moments partagés ensemble surtout autour d'un verre :)

A Jennifer, merci de m'avoir formé en technique, merci pour ta gentillesse et ta douceur.

A Emeric, *Naddiiiiiaa* :) Merci pour tes conseils et de m'avoir formé en technique, j'ai adoré tes improvisations musicales !

A Gilles, merci de m'avoir formé en spermiologie et en traitement de sperme. Merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur.

A Bernadette, merci de m'avoir formé en technique. Merci pour ta bonne humeur et ton sens de l'humour.

A Hélène, merci de m'avoir formé au CECOS. Merci pour ta patience (surtout quand je te posais pleins de questions sur les containers d'azote :) Merci pour ta gentillesse et ta rigueur au travail.

A Katy, merci de m'avoir formé au CECOS. J'espère que tu ne m'en veux pas pour toutes les fois où je venais te voir avec 10 paillettes de BDR à congeler :)

A Laëtitia, merci de m'avoir formé en technique et en frag :) Merci pour tous ces moments partagés ensembles à discuter de tout et de rien. J'ai beaucoup apprécié ton humour et ton franc parler.

A Marine merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur au travail.

A Lucie, merci pour ces moments partagés ensembles, pour ta douceur et ta gentillesse.

A Marie Hélène, merci pour ces moments partagés ensembles. Merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur au travail.

A Laurence, merci pour ces moments partagés ensembles et pour ta gentillesse. J'ai beaucoup apprécié ton humour et ton franc parler.

A Quiteria, merci pour ces moments partagés ensembles, pour ta gentillesse et ton humour.

A Claudia, merci pour ces moments partagés ensembles et pour ta gentillesse.

A toute l'équipe de gynécologues, aux Docteurs Agnès Bordes, Laurence Pral, Clementine Sciard, Marine De Ciantis et Audrey Badoil. Merci pour votre gentillesse et pour les moments partagés ensembles.

Aux sages-femmes, Sophie, Maria, Marie Pierre, Elsa, Florence et Caroline. Merci pour votre bonne humeur et votre gentillesse.

Aux secrétaires de gynécologie et d'andrologie merci pour votre gentillesse et votre bonne humeur au travail.

### **A mes anciens co-internes :**

A Flora (*Kaczo petit canard* :), merci pour ces 2 années d'internat partagés ensembles main dans la main. Tu as été une super co-interne et amie. J'espère que tu vas réussir dans tes projets (je n'en doute pas) et je te souhaite beaucoup de bonheur dans ta vie personnelle.

A Corentin (*Cocowww*), merci pour tous ces moments de rires partagés avec toi et à écouter de la bonne musique tout en regardant des lames de palu (et surtout de globules rouges). Tu as été un super co-

interne et ami je te souhaite beaucoup de succès en hémostase je n'en doute pas tu es au top dans ce que tu fais.

A Maud, nous avons partagé un semestre en bactériologie qui nous a beaucoup rapprochés depuis. Tu as été une super co-interne et amie. Je te souhaite beaucoup de succès en Immuno (je n'ai pas de doute là dessus) et beaucoup de bonheur dans ta vie personnelle.

A Julie Barbier, une amie et pendant un moment une co-interne. Merci pour tous ces moments partagés ensemble. Merci d'avoir pris de mes nouvelles régulièrement. On ne se voit pas souvent mais j'espère qu'on va vite se rattraper.

A Pauline L, Thibaut D, Charlotte P, Stéphanie D, Thibaut B, Camille A, Alexia B, Jean Victor R, Florian G, Anatole L, Sarah H, merci pour ces moments partagés ensemble.

## **A ma famille,**

### **A mes parents**

**A Papa,** merci pour tout ce que tu as fait pour nous. Sans toi rien de tout cela n'aurait été possible. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir été présent tout au long de mes études, à toujours m'encourager et à m'apprendre à ne pas baisser les bras malgré la difficulté. Merci pour toutes les valeurs que tu m'as transmises et qui ont fait de moi une femme accomplie. J'ai toujours eu un grand respect pour tout ce que tu as accompli, pour ton courage et ta force face à tout ce que tu as pu traverser dans la vie. Je t'aime très fort mon papa chéri.

**A Maman,** merci pour tout ce que tu as fait pour nous. Merci pour toutes les valeurs que tu m'as transmises et qui ont fait de moi une femme accomplie. J'ai toujours été admirative de ton courage, ta force, de ton positivisme face à toute épreuve et pour tout ce que tu as accompli. Tu es ma maman, mon modèle et ma meilleure amie. Tu as toujours été là pour moi, débordante d'amour et d'attention. Je n'y serai jamais arrivée sans toi. Je t'aime très fort ma maman chérie.

**A ma sœur Inès** (*nounou azizti*), merci pour tout l'amour et le soutien que tu m'as apporté. Je t'ai toujours admirée pour ton courage et ta force face à tout ce que tu as pu traverser dans la vie. Je t'aime très fort, et sache que je serai toujours là pour toi ma petite sœur chérie.

**A ma sœur Syrine** (*sissouti katousou kalbi*), 15 ans d'écart entre nous ma petite sœur chérie, ta venue au monde a été un cadeau du ciel. Tu es ma petite sœur mais aussi mon bébé même si tu as 14 ans aujourd'hui. Je t'aime plus que tout, je serai toujours là pour te protéger et aussi pour t'acheter des cadeaux et des bonbons :)

**A mon Mari Khaled,** merci pour ton soutien sans faille et de m'avoir supporté durant cette période où je travaillais ma thèse :) Tu es ma force et ma joie de vivre, quelqu'un d'exceptionnel (même si tu ne sais pas cuisiner...d'ailleurs ça va bientôt changer :) J'ai beaucoup de chance de t'avoir dans ma vie. Je t'aime plus que tout.

**A mon beau père tonton Khalil,** merci pour tout ce que tu fais pour nous, pour tes conseils et ton implication dans notre vie professionnelle. J'ai un grand respect pour tout ce que tu as accompli. Ton humilité et ta rigueur dans le travail sont un exemple à suivre pour Khaled et moi.

**A ma belle belle-maman Chahra,** tu m'as accueillie les bras grands ouverts depuis le premier jour et tu m'as donné beaucoup d'amour tout en sachant comment me taquiner :) Merci pour tout ce que tu fais pour nous, j'admire ta force et ton courage. Tu es un modèle à suivre pour nous tous. Je t'aime très fort.

**A mon beau-frère Kais et sa femme Hana,** merci pour votre soutien, d'être là pour nous et de prendre soin de Khaled et moi. Je vous adore.

**A ma belle-sœur Chiraz,** merci *ma chichi* d'être là pour nous. Ne crois pas qu'on va te laisser tranquille on viendra toujours t'embêter pour pleins d'histoires... :) Je vous adore Bachbouch et toi.

**A Inès, Lina et Béchir,** merci pour tout le bonheur que vous nous apportez.

**A mes grands-parents maternels Papi et Mamie**, merci pour vos encouragements et votre soutien depuis le début de mes études. Merci d'avoir pris soin de nous et merci pour tout l'amour que vous nous avez donné. Que dieu vous garde et vous protège.

**A mes grands-parents paternels Yammi et Baba Abdelatif**, j'espère que vous me regardez d'en haut et que vous êtes fiers de ce que je suis devenue. Vous resterez à jamais dans nos cœurs et dans nos pensées.

**A mes oncles,**

**A tonton Samir** (*tonton jus*), merci pour tout l'amour que tu m'a donné, pour ton soutien sans faille, pour tes conseils et ta bonne humeur, **à tonton Hichem** merci pour toutes les parties de cartes (rami) qu'on a joué ensemble, les films qu'on a regardé et pour toutes les fois où tu nous as aidé à préparer nos fournitures scolaires, **à tonton Riadh** merci pour les cours de physique chimie que tu m'a enseigné, **a tonton Imed et tonton Atef**, merci pour tout l'amour que vous m'avez donnés, votre présence et pour tous les moments partagés en famille.

**A mes tantes,**

**A tata Ilhem**, merci tata pour tout l'amour que tu m'a donné, pour ta gentillesse et ta bienveillance, les bons plats que tu nous a cuisiné et merci pour ta présence dans les moments importants, **à tata Bahja**, merci tata d'avoir été présente pour nous, de nous avoir si souvent rendu visite quand je rentrais en Tunisie, merci pour ta bonne humeur et pour tous les moments partagés en famille, **à tata Afifa**, merci tata d'être une tante si cool, de nous apporter à chaque visite ta joie et ta bonne humeur, **à tata Basma**, on ne cesse pas de penser à toi...tu restes présente avec nous à chaque évènement important.

**A mes cousins et cousines,**

**A Asma** (*Assousti*), merci pour ta gentillesse et ta douceur, pour toutes les crêpes (ratées) qu'on a préparé ensemble, nos pyjamas party à deux en jouant à vache taureau et pour tous ces souvenirs et ces moments partagés ensemble, **à Sonia** (*Sousou*), ma cousine chérie merci d'avoir été si gentille, d'avoir pris soin de moi et pour tous nos souvenirs d'enfance qu'on a partagés ensemble, **à Rim** (*Ramroumti*) merci pour tous les moments partagés ensemble, pour toutes les fois où on se prenait pour Jennifer Lopez (à chanter *Play..*), **à Hela**, **à Sana**, **à Sami** (mon camarade de jeu) , **Mohamed**, **à Abdeltif** , **à Mohamed**, **à Maya et à Selima**, merci pour ces moments partagés en famille qui resteront gravés à jamais.

**A mes Amis,**

**A mes meilleures amies Zeineb** (*Zoubi*), **Mariem** (*Boghette*), **et Chiraz** (*Chouchou*), vous êtes mes 3 fantastiques. Notre complicité est unique. Nous avons partagé tellement de choses ensemble, des moments de joie de tristesse et de fous rires. Vous m'avez apporté tellement de joie et de bonheur, j'ai beaucoup de chance vous avoir dans ma vie. Je vous aime fort.

**A Rayhane** (*houhou*), tu es une si bonne amie, merci pour tous ces moments partagés ensemble. Tu as toujours été disponible pour moi, à me consoler, m'encourager et à me soutenir. Merci pour tout ce que tu m'as apporté. Je t'aime fort.

**A Mehdi** (*Mehdouch*), ma petite encre d'imprimante, mon petit sucre vanillé des îles :) Merci pour tous les fous rires qu'on a eu ensembles. Tu as toujours été comme un grand frère pour moi à prendre ma défense et à me protéger. Merci d'être un si bon ami.

A Ramzi (*coccus*), à Sami (*pops*), à Hana (*Hanou*), à Leila (*Lili*), à Mariem (*Bajbouj*), à Salah (*Dja*), à Arij (*Rija*), à Ihssen (*Babouta*), à Emna (*Gaabouta*), à Mehdi (*Doudou*), à Omar (*aasifer*), à Asma (*Babou*), à Kostis, à Anais, à Zyed (*Spectre*), à Selim (*Moula half ten past :*), à Khaled (*Pila*), à Omar (*3ou*), à Hanén (*saucisse*), à Hedhili (*Eddy*), merci pour tous les moments qu'on a partagé ensembles.

## Table des matières

<b>I. INTRODUCTION :</b>	<b>21</b>
<b>II. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES :</b>	<b>23</b>
II.1 Anatomie et physiologie du testicule :	23
II.2 Biopsies testiculaires (TESE) et ICSI :	28
II.3 Azoospermie obstructive et TESE :	32
II.4 Azoospermie sécrétoire et TESE :	34
II.5 La fragmentation de l'ADN spermatique :	36
II.6 La tératozoospermie sévère :	39
II.7 Le trouble éjaculatoire :	42
<b>III. MATERIELS ET METHODES :</b>	<b>43</b>
III.1 Sélection des patients :	43
III.2 Données recueillies :	46
III.3 Extraction des spermatozoïdes testiculaires :	47
III.4 Ponctions ovocytaires :	49
III.5 Micro-injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes testiculaires (TESE-ICSI) :	49
III.6 La grossesse :	50
III.7 Analyse de données :	51
<b>IV. RESULTATS :</b>	<b>52</b>
IV.1 Description de la population :	52
IV.1.1 Groupe « Autre » (BTa) :	52
IV.1.2 Groupe « Obstructif » (BTo) :	55
IV.1.3 Groupe « sécrétoire » (BTs) :	56
IV.2 Résultats TESE-ICSI :	58
IV.2.1 Dans le groupe « autre » (BTa) :	58
IV.2.2 Dans le groupe « Obstructif » (BTo) :	60
IV.2.3 Dans le groupe « Sécrétoire » (BTs) :	61
IV.3 Résultats du taux de fragmentation de l'ADN spermatique :	62
IV.4 Résultats TESE-ICSI avec les spermatozoïdes congelés <i>versus</i> spermatozoïdes frais :	64
<b>V. DISCUSSION :</b>	<b>66</b>
<b>VI. CONCLUSION :</b>	<b>74</b>
<b>Bibliographie :</b>	<b>77</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

AMH : Hormone anti-müllérienne

AMP : Assistance Médicale à la Procréation

ARNm : Acide RiboNucléique messenger

AZF : Azoospermia factor

BT : Biopsie testiculaire

BTa : Groupe de patients de l'étude avec un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé, une tératozoospermie sévère et/ou un trouble éjaculatoire

BTob : Groupe de patients de l'étude avec une azoospermie obstructive

BTs : Groupe de patients de l'étude avec une azoospermie sécrétoire

C : Celsius

CFA : Compte des Follicules Antraux

CFTR: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

DFI : Index de fragmentation de l'ADN spermatique

FIV: Fécondation *In Vitro*

FSH: Hormone Folliculostimulante

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone

hCG : hormone Chorionique Gonadotrope humaine

ICSI : Injection intra cytoplasmique de spermatozoïde

IL 8 : Interleukine 8

IL-1 $\beta$  : Interleukine 1 $\beta$

LH : Luteinizing Hormone

MESA: Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration

MSOME: Motile Sperm Organelle Morphology Examination

ng : nano gramme

OATS : oligo-astheno-tératozoospermie

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ROS : Substances Oxygénées Réactives

TEC : Transfert d'Embryon(s) Congelé(s)

TESE : Testicular Sperm Extraction : biopsie testiculaire

TESE-ICSI : Injection intra cytoplasmique de spermatozoïde testiculaire

SRY: Sex-determining Region of Y chromosome

TNF  $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor- $\alpha$

WT1: Wilms Tumor 1

# I. INTRODUCTION :

L'infertilité est définie comme l'incapacité d'un couple à concevoir un enfant après une année de rapports sexuels et sans moyen de contraception. Environ 186 millions de personnes dans le monde sont concernés par une infertilité avec un facteur masculin dans environ 50% [1]. L'altération des caractéristiques spermatiques tel qu'une numération inférieure à 15 millions par millilitres (ml) (oligozoospermie), une mobilité progressive inférieure à 32% (asthénozoospermie) et une morphologie anormale des spermatozoïdes inférieure à 20% selon la classification de David (térazoospermie) est une des indications principales masculines à la prise en charge en Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Le plus souvent, les 3 types d'anomalies sont associés.

Une autre cause d'infertilité masculine est l'azoospermie, qui se définit par une absence totale de spermatozoïde dans l'éjaculat, vérifiée par centrifugation et lecture approfondie du culot de centrifugation sur deux recueils de sperme à trois mois d'intervalle. Cette azoospermie peut être d'origine obstructive (obstacle au niveau des voies spermatiques) ou non-obstructive dite sécrétoire (par trouble de la spermatogenèse) ou mixte. Le diagnostic différentiel entre les deux étiologies repose sur un ensemble d'arguments cliniques, spermiologiques, génétiques, hormonaux et échographiques.

La prise en charge de cette infertilité masculine sévère s'est considérablement améliorée depuis une vingtaine d'années grâce à la technique d'ICSI (micro-injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes) avec utilisation de spermatozoïdes issus d'une extraction testiculaire chirurgicale (TESE-ICSI) et est devenue une alternative possible au don de sperme. D'abord proposée dans les azoospermies obstructives par extraction épидидymaire des spermatozoïdes par aspiration (MESA), la technique de TESE s'est ensuite étendue aux patients présentant une azoospermie obstructive mais aussi non obstructive permettant ainsi aux couples de devenir parents avec leurs propres gamètes [2] [3].

Ces dernières années, les indications de TESE-ICSI se sont encore élargies. Depuis 2015, nous proposons dans le service de médecine et de biologie de la reproduction à l'hôpital Femme-Mère-Enfant à Bron, des biopsies testiculaires en cas de fragmentation de l'ADN spermatique élevée dans le sperme éjaculé, de tératozoospermie sévère ou de trouble éjaculatoire. Nous travaillons avec l'hôpital Henry Gabrielle (service de médecine physique et de réadaptation neurologique) pour les blessés médullaires où nous prenons régulièrement en charge ces patients en TESE-ICSI lorsque les tests éjaculatoires ne nous permettent pas d'obtenir des caractéristiques spermatiques de bonne qualité (vitalité et mobilité altérées, fragmentation de l'ADN spermatique élevée).

A travers une étude rétrospective monocentrique, nous avons évalué les résultats des fécondations *in vitro* assistées de la micro-injection intra-cytoplasmique avec spermatozoïdes testiculaires (TESE-ICSI) proposées en dehors des azoospermies obstructives ou sécrétoires à savoir en cas de fragmentation élevée de l'ADN spermatique, de tératozoospermie sévère ou de trouble éjaculatoire.

L'objectif principal de ce travail était de déterminer s'il y avait un intérêt à proposer une TESE-ICSI pour ce groupe de patients, avec une numération suffisante en spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat, ayant eu des échecs d'implantation lors des tentatives précédentes avec les spermatozoïdes éjaculés.

L'objectif secondaire était de comparer les résultats de cette population en termes de taux de fécondation, de taux de clivage, de taux de grossesse et de taux de grossesse cumulée avec les résultats obtenus après TESE-ICSI en cas d'azoospermie obstructive ou sécrétoire.

## II. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES :

### II.1 Anatomie et physiologie du testicule :

Les testicules sont situés dans le scrotum et sont de forme ovoïde (5 cm de long ; 3 cm de large ; 2,5 cm d'épaisseur). Leur volume normal est de 15 ml.

Au pôle supérieur de chaque testicule, il existe un épaissement conjonctif qui constitue le corps de *Highmore*. Celui-ci est relié à l'albuginée par des cloisons radiaires, les *septa testis*, qui délimitent 200 à 300 lobules testiculaires. Chaque lobule contient 2 ou 3 tubes séminifères pelotonnés, mesurant entre 30 cm et 1,5 mètres de long pour un diamètre de 150 à 300  $\mu\text{m}$  (*figure 1*).

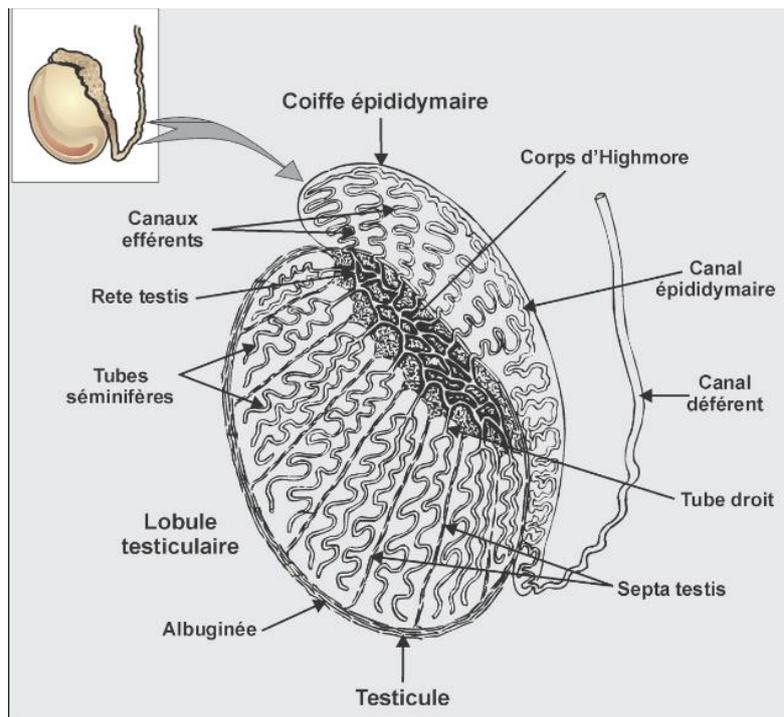
Les tubes séminifères contiennent les cellules germinales qui vont évoluer en spermatozoïdes au cours de la spermatogenèse, ainsi que des cellules de soutien indispensables au bon fonctionnement de la spermatogenèse : les cellules de Sertoli. Entre les tubes séminifères, se trouve un tissu interstitiel de soutien contenant les cellules de Leydig qui assurent la production de testostérone.

Les tubes séminifères se rejoignent par un tube droit qui va déboucher ensuite dans un réseau de canaux appelé le rete testis.

Chaque testicule est coiffé d'un épидидyme situé en haut et en arrière, il a un rôle dans le transport, le stockage et la maturation des spermatozoïdes.

L'épididyme se poursuit ensuite par le canal défèrent. Testicules et épидидymes sont recouverts d'une séreuse, la vaginale, et de plusieurs enveloppes fibreuses et musculaires dont le muscle crémaster.

**Figure 1 : Anatomie du testicule** (Copyright © 2019 marstravel.be)



La spermatogénèse se déroule dans la paroi des tubes séminifères avec une évolution des spermatogonies jusqu'au stade spermatozoïde. Elle comprend 3 étapes :

- la multiplication des spermatogonies qui dure 27 jours.
- la 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> division méiotique qui conduit à la formation des spermatocytes I et spermatocytes II. Cette phase dure 24 jours.
- la spermiogénèse, étape finale de la spermatogénèse, qui conduit à la différenciation des spermatides rondes en spermatozoïdes. Cette phase dure 23 jours.

Le testicule a deux fonctions :

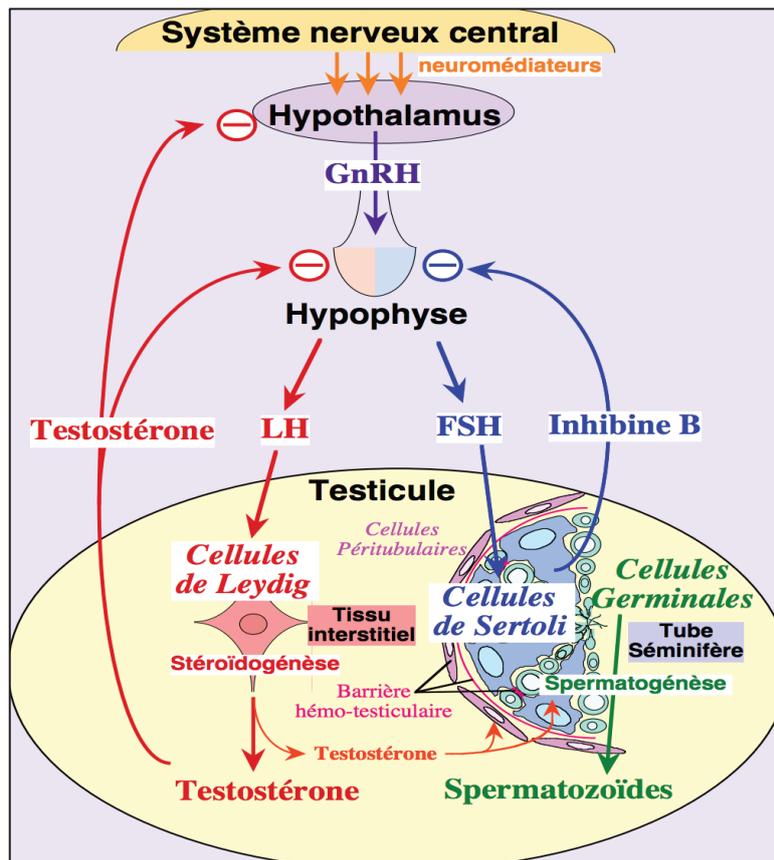
Une fonction exocrine avec la spermatogénèse qui dure 74 jours et abouti à la formation des spermatozoïdes qui seront ensuite relargués dans la lumière des tubes séminifères.

Une fonction endocrine avec la production par les cellules de Leydig de la testostérone, hormone stéroïdienne, qui joue un rôle clé dans le fonctionnement sexuel de l'homme et le développement des caractères sexuels secondaires.

La testostérone exerce un effet de rétrocontrôle négatif au niveau hypothalamique en ralentissant la pulsativité de la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) grâce aux récepteurs aux androgènes situé dans l'hypothalamus.

De la même manière, la testostérone exerce un rétrocontrôle négatif au niveau hypophysaire en freinant la sécrétion de la FSH (Hormone folliculostimulante) et la LH (Hormone lutéinisante) (*figure 2*).

**Figure 2 : Principe de la régulation physiologique de l'axe hypothalamo-hypophysaire chez l'homme** (<http://aigm.asso.fr>)



La FSH est une gonadotrophine sécrétée par l'hypophyse sous l'action de la GnRH. Elle vise à activer indirectement la spermatogénèse en stimulant les cellules de Sertoli.

La LH est aussi une gonadotrophine sécrétée par les cellules gonadotropes sous l'action de la GnRH. Son action est de stimuler les cellules de Leydig et donc la production de testostérone.

Lorsqu'il existe une difficulté pour un couple à obtenir une grossesse naturellement, le spermogramme est l'examen de première intention dans le bilan d'infertilité.

Le spermogramme est un examen codifié selon les normes OMS (Organisation Mondiale de la Santé) au cours duquel sont analysées les caractéristiques spermatiques.

Le recueil de sperme se fait au laboratoire par masturbation sans préservatif avec un délai d'abstinence entre 2 et 7 jours dans un récipient stérile pour l'examen bactériologique. Le sperme est recueilli après avoir uriné et après une désinfection soigneuse du gland, et en dehors d'une période de fièvre. Il est conseillé au patient de boire un litre et demi d'eau la veille de l'examen.

Au niveau macroscopique sont analysés :

- le volume spermatique qui doit être supérieur à 1.5 ml.
- la viscosité
- le pH qui doit être supérieur à 7.2

Au niveau microscopique sont mesurés :

- la numération en spermatozoïdes
- la mobilité progressive et non progressive
- la vitalité spermatique
- la morphologie spermatique

Les valeurs seuils sont fixées selon les normes de l'OMS 2010 (*tableau 1*).

**Tableau 1 : Spermogramme : normes de l'OMS 2010**

	Norme OMS 2010
Volume	>1.5 ml
pH	7.2 – 8
Numération	15 millions/ml > 39 millions/éjaculat
Mobilité	>40% de mobilité totale (a+b+c) >32% de mobilité progressive (a+b)
Morphologie	>20% de spermatozoïdes typiques (David) >4% de spermatozoïdes typique (Krüger)
Vitalité	>58% de spermatozoïdes vivants
Leucocytes	<1 million/ml

En cas de paramètres spermatiques anormaux, un deuxième spermogramme est prescrit systématiquement à 3 mois d'intervalle.

La Fécondation *In Vitro* classique (FIVc) est indiquée pour les infertilités féminines et/ou lorsque le nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs sélectionnés est compris entre 0,5 et 1 million/préparation. Dans les cas d'altération sévère des caractéristiques spermatiques ou après échec de FIVc, la fécondation assistée de la micro injection intra cytoplasmique du spermatozoïde (ICSI) est recommandée (1<sup>ère</sup> grossesses en 1992) [4].

## II.2 Biopsies testiculaires (TESE) et ICSI :

L'avènement de la micro injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) en 1992 a révolutionné la prise en charge en Fécondation In Vitro (FIV) dans le traitement de l'infertilité masculine sévère [4].

L'azoospermie est retrouvée chez 10 à 20% des hommes présentant une infertilité [5]. La première biopsie testiculaire a été pratiquée en 1993 suite à un échec d'aspiration des spermatozoïdes au niveau épидидymaire chez un patient avec une azoospermie obstructive se traduisant par une absence quasi complète de l'épididyme et des canaux déférents [6] . Les spermatozoïdes retrouvés après extraction testiculaire ont été injecté dans 13 ovocytes matures : Un taux de fécondation normal de 50% a été obtenu avec ensuite 3 embryons clivés et transférés mais sans grossesse rapportée.

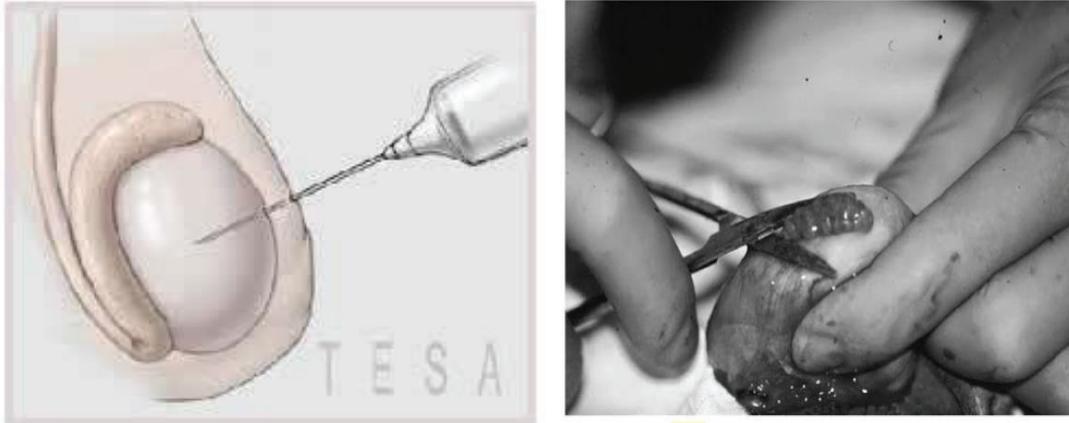
Différentes techniques sont utilisées au niveau testiculaire, pour l'extraction des spermatozoïdes en vue d'une prise en charge en AMP dont le choix repose sur l'étiologie de l'azoospermie et les compétences du chirurgien [7].

Au niveau épидидymaire, 2 techniques peuvent être utilisées pour l'extraction des spermatozoïdes : la ponction transcutanée (*Percutaneous epididymal sperm aspiration* ou PESA) ou la microchirurgie : (*Microsurgical epididymal sperm aspiration* ou MESA) [8].

Au niveau testiculaire, il existe aussi 2 techniques d'extraction des spermatozoïdes (*Figure 3*) : le prélèvement par voie transcutanée à l'aiguille fine au niveau des tubes séminifères (*Testicular sperm aspiration* ou TESA), ou la biopsie testiculaire proprement dite (*Testicular sperm extraction* ou TESE).

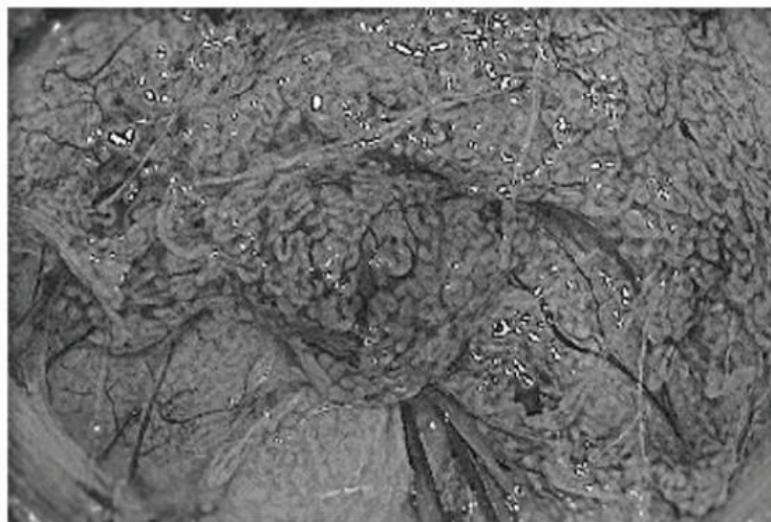
Certains auteurs rapportent des taux d'extraction de spermatozoïdes pour l'azoospermie non obstructive d'environ 50% avec les techniques de chirurgie ouverte, par rapport à 12% avec l'aspiration par voie transcutanée des tubes séminifère à l'aiguille (TESA) [9, 10, 11].

**Figure 3 : Aspiration par voie transcutanée à l'aiguille fine (TESA) et abord chirurgicale direct testiculaire (TESE)** (turkey-ivf.com/ Complications and Outcomes of Assisted Reproduction)



Par ailleurs, la biopsie testiculaire microchirurgicale ou Micro-TESE pourrait améliorer les résultats d'extraction des spermatozoïdes testiculaires en identifiant sous microscope les tubes séminifères distendus susceptibles de contenir des spermatozoïdes tout en limitant les dommages testiculaires (figure 4) [12] [13].

**Figure 4 : Biopsie testiculaire microchirurgicale : Micro-TESE** (Complications and Outcomes of Assisted Reproduction)



Certaines études suggèrent aussi une augmentation des taux de récupération des spermatozoïdes en optant pour des biopsies multiples uni ou bilatérales [14].

Concernant le traitement de la biopsie testiculaire, un examen extemporané est effectué sur place par le biologiste selon les indications de l'azoospermie. Le fragment de la pulpe testiculaire au laboratoire est ensuite dilacéré finement (*Figure 5*) et mis en incubation pour augmenter les chances de retrouver les spermatozoïdes testiculaires.

Le choix des techniques d'extraction des spermatozoïdes au laboratoire ont été débattus. Initialement, la dilacération des tubes séminifères était faite mécaniquement quelle que soit l'indication de la biopsie testiculaire. Certains auteurs suggèrent une préparation enzymatique avec de la DNase et de la collagénase en plus de la dilacération mécanique pour augmenter les chances de récupération des spermatozoïdes chez les sujets atteints d'azoospermie sécrétoire ayant eu une biopsie testiculaire négative (taux d'extraction de spermatozoïdes testiculaire de 33% [15] [16]).

**Figure 5: Techniques de dilacérations mécaniques des tubes séminifères au laboratoire**



De nombreuses études se sont intéressées au taux de succès des biopsies testiculaires chez les patients azoospermiques dans le cas d'une prise en charge en AMP mais certaines se sont penchées sur les complications de celles-ci après

chirurgie. En générale, l'extraction d'une partie du tissu testiculaire est une procédure sûre et fiable avec un faible taux de complications post chirurgicales (hématome, défaut de cicatrisation ou infection). La complication la plus fréquente est l'apparition d'un hématome de la bourse pouvant se résorber tout seul si celui-ci est limité. Mais une ré intervention peut être nécessaire pour drainer l'hématome s'il est extensif. Une infection de la cicatrice peut aussi survenir avec une prise en charge par un traitement antibiotique et des soins locaux.

D'autres complications plus spécifiques peuvent survenir à distance de la biopsie testiculaire comme un déficit en testostérone responsable d'une fatigabilité, d'une diminution de la libido et d'un trouble de l'humeur, surtout lorsque la testostérone de base est initialement basse ou lorsqu'il existe une hypotrophie testiculaire avant la biopsie ce qui est souvent le cas chez les patients présentant une azoospermie sécrétoire. Un traitement substitutif est alors envisagé.

## II.3 Azoospermie obstructive et TESE :

L'azoospermie obstructive est due à une anomalie d'acheminement des spermatozoïdes du fait d'un obstacle ou d'une absence des voies spermatiques.

Les principales étiologies sont :

- une agénésie bilatérale des canaux déférents (ABCD) due à une mutation du gène de la mucoviscidose CFTR (*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*)
- une malformation congénitale au niveau des voies séminales avec une absence bilatérale des canaux déférents associée à des anomalies rénales (facteur de Wilms WT1).
- des séquelles d'infections des voies génitales à l'origine d'une obstruction : (épididymite, prostatite)
- les antécédents de chirurgie pelvienne
- la radiothérapie pelvienne

La spermatogenèse dans l'azoospermie obstructive est conservée. Lors d'un bilan hormonal, le taux de FSH (Hormone Folliculostimulante) est normal.

Au niveau du spermogramme on retrouve une hypospermie associée à une azoospermie. Les marqueurs biochimiques du plasma séminal tel que le fructose ou l'alpha glucosidase sont perturbés.

Dans le cas d'une ABCD, l'hypospermie est associée à des valeurs du fructose et du zinc normales mais un taux effondré de l'alpha glucosidase, marqueur sécrété normalement par l'épididyme.

Approximativement deux tiers des hommes ayant une ABCD sont porteurs d'une mutation du gène CFTR. L'ABCD est observée chez 2 à 6% des patients présentant une azoospermie obstructive et est responsable d'infertilité masculine dans 1% des cas [17, 18].

Le traitement des azoospermies obstructives est l'extraction des spermatozoïdes soit au niveau épидидymaire par PESA ou MESA, ou au niveau testiculaire avec la TESE.

Quelle que soit la méthode d'extraction des spermatozoïdes testiculaires, il a été démontré un taux de succès de récupération des spermatozoïdes de l'ordre de 90% à 100% dans l'azoospermie obstructive [19, 20].

Il a été démontré que lorsque le spermatozoïde d'origine testiculaire ou épидидymaire est utilisé en ICSI chez les patients avec une azoospermie obstructive, le taux de fécondation et de grossesse étaient similaires à ceux obtenus en ICSI avec spermatozoïdes éjaculés [21].

De plus, l'étiologie de l'obstruction et l'utilisation de spermatozoïdes d'origine épидидymaire ou testiculaire ne semblent pas avoir un impact significatif sur les taux de fécondations, de grossesses ou de fausses couches [19, 22].

Les résultats de la littérature rapportent un taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes qui vont respectivement de 26 à 57% et de 18 à 55% lors de l'utilisation des spermatozoïdes testiculaires ou épидидymaires en ICSI en cas d'azoospermie obstructive.

## II.4 Azoospermie sécrétoire et TESE :

L'azoospermie sécrétoire est définie par une atteinte au niveau de la spermatogenèse. Dans de rares cas, celle-ci peut être d'origine centrale comme une atteinte congénitale ou acquise de l'axe hypothalamique ou hypophysaire. La FSH dans ce cas sera effondrée.

L'azoospermie sécrétoire peut être d'origine périphérique ou testiculaire. Dans la majorité des cas, le volume testiculaire est diminué, inférieur à 10 ml et la concentration plasmatique de la FSH est augmentée.

La réalisation d'un caryotype chez ces patients est obligatoire en première intention. Il permet de faire le diagnostic d'un syndrome de Klinefelter (47XXY). Ce syndrome associe une azoospermie sécrétoire et une hypotrophie testiculaire.

Les autres étiologies de l'azoospermie sécrétoire sont :

- les micros délétions des régions AZF du bras long du chromosome Y (AZFa, AZFb et AZFc)
- la varicocèle de haut grade qui est une cause fréquente d'azoospermie sécrétoire acquise
- la cryptorchidie bilatérale
- la radio/chimiothérapie pelvienne

Dans le cas de ces patients, l'extraction chirurgicale des spermatozoïdes testiculaires est privilégiée associée à un examen anatomo-pathologique qui permet de poser le diagnostic histologique.

Des études récentes ont montré des taux de récupération de spermatozoïdes testiculaires globaux allant de 30 à 50% [23, 24, 25].

L'efficacité des taux de récupération des spermatozoïdes varie en fonction de la technique d'extraction testiculaire. Un taux d'extraction supérieur a été relevé avec la TESE avec biopsies multiples.

Un taux de récupération de spermatozoïdes testiculaires de 35% en TESE et 52% en Micro-TESE a été récemment rapporté estimant ainsi une performance plus grande de 1.5 fois avec la technique de Micro-TESE, en particulier en cas de *Sertoly Cell Only* et en cas d'arrêt de maturation au niveau des tubes séminifères [12, 25, 26].

Seulement les résultats d'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires (TESE-ICSI) chez les patients présentant une azoospermie sécrétoire sont moindres en terme de taux de fécondation (52,2% vs 73,6%) et de taux de grossesse (25,9% vs 51,3%) par rapport aux résultats de TESE-ICSI des patients avec une azoospermie obstructive [27, 28, 29]. Néanmoins il semblerait que le citrate de clomifène puisse améliorer les résultats chez les patients présentant une azoospermie sécrétoire.

## II.5 La fragmentation de l'ADN spermatique :

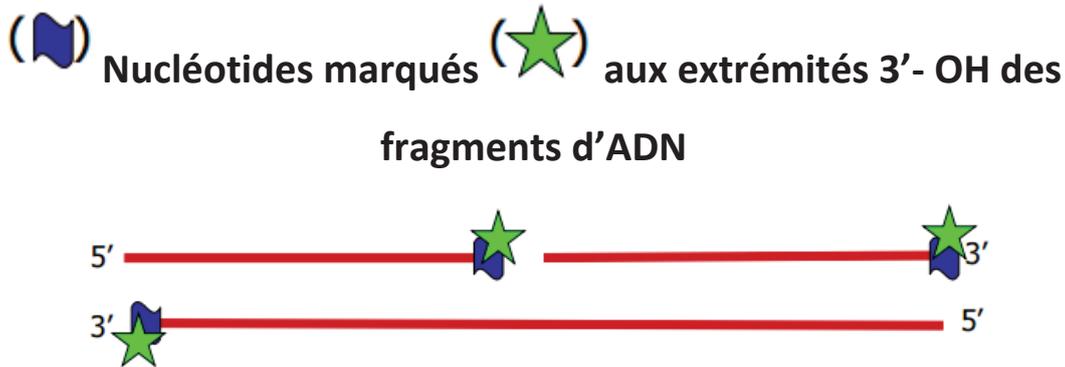
Au cours de la spermiogénèse, la chromatine du noyau spermatique subit une compaction du fait d'un remplacement des histones en protamines (nucléoprotéines de petites tailles). Ces protamines contiennent également de nombreux résidus de cystéine, nécessaires à la réalisation des ponts disulfures entre les molécules de protamines au cours du transit épидидymaire. Ces ponts disulfures entraîneront la condensation de la chromatine du noyau spermatique durant le transit épидидymaire. Les anomalies du noyau spermatique peuvent survenir à différentes étapes, au niveau testiculaire et post testiculaire. Différentes techniques ont été développées afin d'évaluer les dommages au niveau du noyau spermatique.

Certains tests utilisent des fluorochromes et des marqueurs capables d'interagir avec la chromatine ou l'ADN spermatique afin d'identifier chez les patients des anomalies au niveau de l'ADN spermatique et permettre ainsi de fixer un seuil au-dessus duquel il existe un risque d'infertilité masculine en Assistance Médicale à la Procréation.

L'exploration de la fragmentation de l'ADN spermatique est possible avec plusieurs techniques :

- L'analyse unicellulaire sur gel d'électrophorèse (*Single Cell Gel Electrophoresis Assay – COMET*) qui permet de mesurer les dommages liés à l'ADN spermatique en observant la migration des fragments d'ADN sur gel d'agarose lors de l'électrophorèse. La coloration met en évidence une distribution dans le gel sous la forme d'une comète d'où l'appellation de la technique.
- Le test *in situ* de cassures dans l'ADN (*In situ Nick Translation Assay – NT*) qui mesure l'incorporation d'un complexe biotine-dUTP (Deoxyuridine triphosphate) au niveau des cassures simples brins de l'ADN en utilisant l'activité de l'ADN polymérase.
- La technique dite « TUNEL » : *Tdt mediated dUTP Nick End-Labeling*, largement utilisée qui permet l'analyse d'un petit nombre de spermatozoïdes. Les cassures

simples ou doubles brins sont observées grâce à l'incorporation de nucléotides marqués au niveau de l'extrémité 3'OH par l'action d'une enzyme : la *Terminale Deoxynucleotidyl Transferase* (TDT) (Figure 6). La quantification se fait sous microscope classique, à fluorescence, ou par cytométrie en flux.



**Figure 6 : Principe de la technique TUNEL** (J. Auger et F. Eustache. [www.medecine.ups-tlse.fr](http://www.medecine.ups-tlse.fr))

L'étude de la fragmentation de l'ADN spermatique n'est pas un examen de 1<sup>ère</sup> intention. Celui-ci est prescrit lorsque le patient présente des facteurs favorisant l'augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique tel que le tabagisme, l'exposition à la chaleur provoquant une hyperthermie testiculaire, une varicocèle ou un antécédent de traitement par radio/chimiothérapie.

Aussi, lorsqu'il existe une notion de fausses couches répétées ou des échecs répétés des tentatives en Assistance Médicale à la Procréation dans l'histoire de la maladie du couple, cette analyse de la fragmentation de l'ADN spermatique est demandée dans le bilan d'échec d'implantation.

Nombreux articles suggèrent que les hommes qui consultent pour une infertilité ayant une ou plusieurs altérations spermatiques présentent un taux de fragmentation de l'ADN spermatique plus élevé que les patients fertiles [30, 31], cette fragmentation de l'ADN spermatique est réparable par l'ovocyte jusqu'à un certain seuil en fonction de la qualité ovocytaire et de l'âge de la conjointe. Lorsque les capacités de ce dernier sont dépassées et/ou qu'il existe une mauvaise qualité ovocytaire, ces micro-cassures échappent à la réparation ovocytaire et affectent ainsi

la qualité embryonnaire. Un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé s'est alors avéré être un marqueur important d'évaluation de la fertilité masculine pouvant impacter négativement sur le pouvoir fécondant mais surtout sur le développement embryonnaire et ainsi diminuer les chances de grossesse [32, 33]. De plus, certains auteurs ont démontré une relation significative entre un taux élevé de fragmentation de l'ADN spermatique et le taux de fausses couches spontanées précoces [34].

La relation entre la fragmentation de l'ADN spermatique et les caractéristiques spermatozoaires est controversée. Selon certains auteurs, l'index de fragmentation de l'ADN spermatique (DFI) serait plus important en cas d'oligo-asthénospermie qu'en l'absence d'altération des caractéristiques spermatozoaires [35].

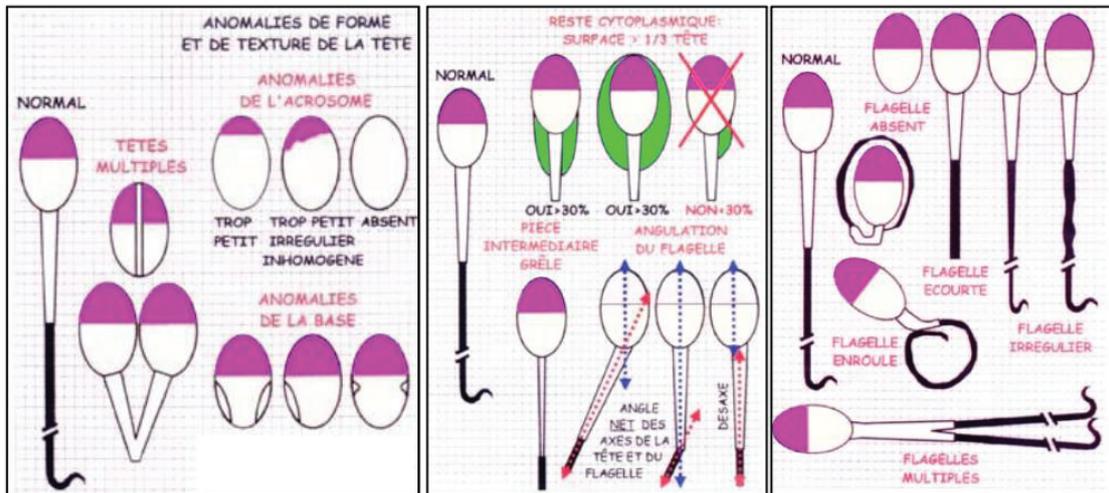
## II.6 La tératozoospermie sévère :

L'évaluation de la morphologie spermatique fait partie intégrante du spermogramme dans le bilan de l'infertilité masculine. Mais son lien avec l'infertilité reste controversé.

Il existe plusieurs classifications en ce qui concerne la morphologie spermatiques :

- la méthode de David proposée en 1972 et publiée en 1975 suggérait initialement 13 types d'anomalies spermatiques : 7 pour la tête des spermatozoïdes et 6 pour le flagelle [36, 37]. Au début des années 90, il y'a eu une redéfinition de cette classification avec l'ajout de nouvelles catégories d'anomalies donnant lieu à la classification de David modifiée.
- la classification de David modifiée répertorie 7 anomalies de la tête du spermatozoïde, 3 anomalies de la pièce intermédiaire et 5 anomalies du flagelle (*figure 7*), permettant le calcul de l'index d'anomalies multiples (IAM) qui correspond au nombre moyen d'anomalies recensées par spermatozoïde anormal. Une tératozoospermie est définie par un taux de spermatozoïdes typiques inférieur à 20%.
- la classification de Kruger : celle-ci présente des critères plus stricts. Les anomalies sont classées par ordre d'importance en 4 groupes : les anomalies de la tête, les anomalies de l'acrosome, les anomalies de la pièce intermédiaire et enfin les anomalies de la pièce principale ou du flagelle. Un index de tératozoospermie (TZI) est calculé. La tératozoospermie est définie par un taux de spermatozoïdes normaux inférieur à 4% [38].

Figure 7 : Anomalies des spermatozoïdes (Classification de David modifiée)



La fécondation *in vitro* assistée (FIV-ICSI) peut pallier à une oligo-asthénozoospermie sévère après capacitation préalable des spermatozoïdes ainsi qu'à la tératozoospermie modérée (pourcentage des spermatozoïdes normaux entre 10% et 20%) en choisissant au moment de l'injection un spermatozoïde mobile progressif ayant une morphologie normale.

Cependant, en cas de tératozoospermie sévère après sélection associée à une oligo-asthénozoospermie, l'ICSI devient difficile. Dans certains cas, le choix des spermatozoïdes est limité, et il est possible que des spermatozoïdes mobiles progressifs atypiques soient injectés.

L'influence de la tératozoospermie a été discutée dans de nombreuses séries. Certaines ont montré un impact négatif de la tératozoospermie sur les résultats de la FIV-ICSI avec une augmentation significative des aneuploïdies au niveau des spermatozoïdes avec une morphologie anormale [39], et pour d'autres, la morphologies spermatique ne semble pas affecter le développement et la qualité embryonnaire [40, 41].

Des résultats ont été observés en comparant l'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires *versus* spermatozoïdes éjaculés. Certains auteurs ont rapporté un taux de grossesse et de naissance vivante supérieure en réalisant la micro injection de spermatozoïdes

testiculaires comparé aux spermatozoïdes éjaculés chez les hommes présentant une cryptozoospermie, une oligo-asthénie ou une tératozoospermie [42, 43].

Mais peu d'études se sont intéressées sur l'intérêt de l'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires chez les patients ayant une tératozoospermie sévère isolée ou associée à d'autres altérations des paramètres spermatiques en cas d'échecs répétés de tentatives d'ICSI avec des spermatozoïdes éjaculés.

## II.7 Le trouble éjaculatoire :

Le trouble éjaculatoire fait partie des indications de prise en charge en AMP.

Les anéjaculations sont définies par une absence d'émission de sperme accompagnée ou non par une sensation orgasmique.

Les éjaculations rétrogrades correspondent à une éjaculation dans la vessie liée un dysfonctionnement du sphincter de la vessie.

Parmi les principales étiologies de ces troubles éjaculatoires, il y'a les causes neurologiques, les neuropathies diabétiques, les causes médicamenteuses et les causes chirurgicales.

Les blessés médullaires représentent une population particulière d'hommes jeunes infertiles. Du fait de leur trouble éjaculatoire, l'éjaculation est obtenue par stimulation vibratoire pénienne ou par électroéjaculation endorectale selon le niveau lésionnel. Concernant les paramètres spermatiques, la numération en spermatozoïdes est normale, en revanche il existe une asthénozoospermie sévère associée à une nécrozoospermie, souvent associée à un délai d'abstinence trop long [44]. Pour ces patients atteint de trouble éjaculatoire, les résultats en FIV-ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés après stimulation pénienne ou électroéjaculation endorectale semblent satisfaisants [45].

Cependant, lorsque l'éjaculation n'est pas possible ou que les caractéristiques spermatiques de l'éjaculat obtenus ne sont pas compatibles avec une FIV-ICSI du fait d'une nécrozoospermie importante et/ou une akinésie, la biopsie testiculaire peut être proposée.

Par ailleurs, les infections urinaires à répétition ainsi que le délai d'abstinence trop long sont des causes d'augmentation du taux de la fragmentation de l'ADN spermatique favorisant les échecs de tentatives en FIV-ICSI.

La biopsie testiculaire en vue d'une prise en charge en AMP, pourrait donc être avantageuse chez ces patients.

# III. MATERIELS ET METHODES :

## III.1 Sélection des patients :

Nous avons réalisé une étude rétrospective observationnelle monocentrique entre janvier 2015 et juin 2018 incluant 182 patients ayant consulté pour une infertilité masculine dans le service de médecine et de biologie de la reproduction de l'Hôpital Femme-Mère-Enfant à Bron.

Les critères d'inclusion ont été :

- les patients ayant bénéficié d'une prise en charge en AMP par FIV avec la technique de micro injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes d'origine testiculaire (TESE-ICSI).
- les conjointes des patients avec un taux d'AMH supérieur à 0.5 ng/ml.

Ces 182 patients ont été répartis en 3 groupes : (*Figure 8*)

- Un groupe **BTa (Groupe Biopsie Testiculaire autre)**, groupe principal de l'étude, avec 45 patients eux même repartis en 3 sous-groupes : (*figure 9*)
  - 12 patients avec un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé et persistant dans l'éjaculat, malgré la prise d'un traitement antioxydant, ayant un index de fragmentation de l'ADN spermatique (DFI) supérieur à 15%.
  - 16 patients avec une tératozoospermie sévère ayant un pourcentage de spermatozoïdes atypiques inférieur à 10% selon la classification de David modifiée.
  - 17 patients avec un trouble éjaculatoire.
- Un groupe **BTb (Groupe Biopsie Testiculaire obstructif)** avec 92 patients dont la majorité présentait une azoospermie obstructive nécessitant une TESE pour une prise en charge en AMP.
- Un groupe **BTc (Groupe Biopsie Testiculaire sécrétoire)** avec 45 patients dont la majorité présentait une azoospermie sécrétoire nécessitant une TESE pour une prise en charge en AMP.

12 patients du groupe BTa ont bénéficié d'une TESE-ICSI dès leur première tentative de FIV dont plus de 50% appartenant au sous-groupe 3 : trouble éjaculatoire.

Deux patients du sous-groupe 2 ne présentaient pas de tératozoospermie mais un pourcentage élevé de spermatozoïdes avec une ou plusieurs vacuoles occupant plus de 16 % de la surface de la tête des spermatozoïdes à l'observation des spermatozoïdes au fort grossissement ou Motile Sperm Organelle Morphology Examination (MSOME), surface vacuolaire qui semble retentir sur les taux de fécondations, d'implantation embryonnaire et les chances de succès en ICSI [46,47]. Le pourcentage de spermatozoïdes de types 1 et 2 selon la classification de Bartoov étant supérieur à 10% chez ces 2 patients, l'IMSI (intracytoplasmic morphologically selected sperm injection) n'était pas indiqué.

Un patient dans le groupe BTa a été exclu de l'étude du fait d'une extraction testiculaire négative.

Dans cette étude, le groupe BTa a été comparé aux groupes témoins BTo et BTs.

Le test de fragmentation de l'ADN spermatique a été réalisé selon la technique TUNEL (*TdT dUTP Nick End-Labelin*).

La morphologie des spermatozoïdes a été analysée en microscopie optique au grossissement x100 sur lame à coloration rapide Testsimplets® (Waldeck) et selon la classification de David modifiée.

L'ensemble des données clinico-biologiques des couples ayant bénéficié d'une fécondation in vitro assistée d'une micro-injection des spermatozoïdes testiculaires a été recueilli à partir d'une base de données informatisée (logiciel d'AMP MediFirst®).

## Répartition des groupes

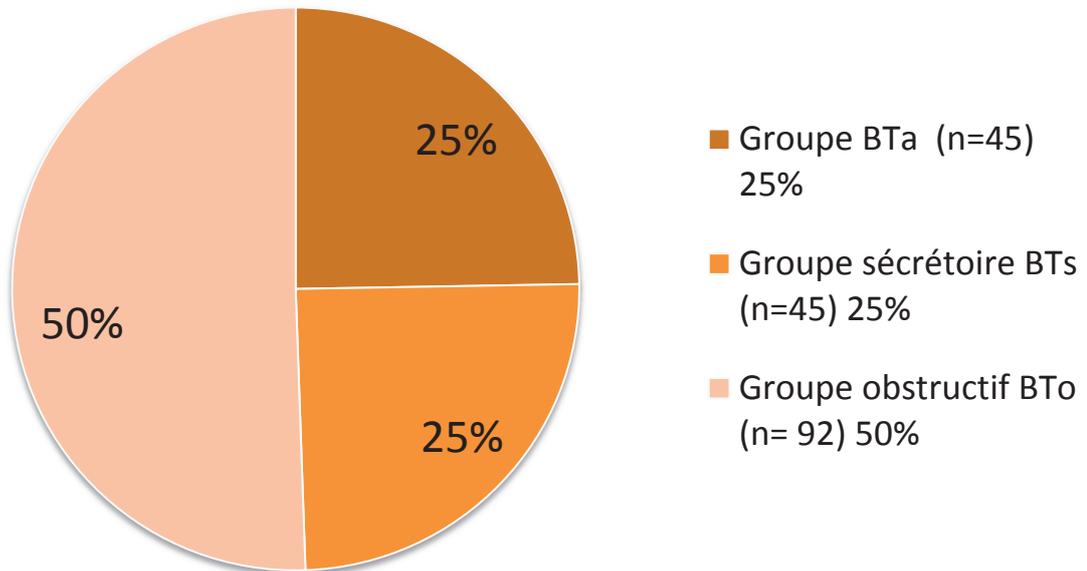


Figure 8 : Répartition des 3 groupes de l'étude

## BTa

- Fragmentation élevée (n=12) 27%
- Tératozoospermie sévère (n=16) 35%
- Trouble éjaculatoire (n=17) 38%

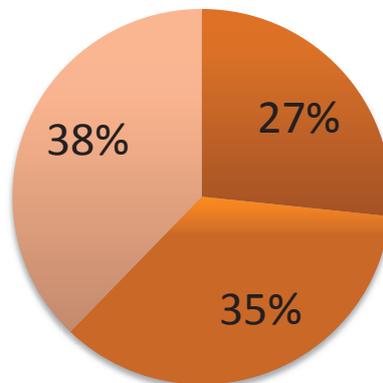


Figure 9 : Répartition des 3 sous-groupes du groupe BTa

## III.2 Données recueillies :

La prise en charge de l'infertilité du couple est multidisciplinaire. L'interrogatoire et l'examen clinique des patients ont été réalisés par les andrologues du service de médecine de la reproduction.

L'interrogatoire porte sur le mode de vie du patient, la recherche des antécédents de cryptorchidie, des antécédents médico-chirurgicaux, d'antécédent de fièvre, d'infections uro-génitales, de traumatisme ou de torsion testiculaire, d'une notion d'exposition à la chaleur et de prise médicamenteuse.

L'examen clinique comporte une évaluation du poids et de la taille, une estimation du volume testiculaire à la palpation à l'aide d'un orchidomètre de Prader, la recherche d'une varicocèle ainsi que des signes d'agénésie bilatérale des canaux déférents et/ou d'une infection uro-génitale.

La réalisation d'un spermogramme et d'un test de migration survie ont été systématiques pour les patients. Une ou plusieurs altérations des paramètres spermatiques ont été confirmées sur un deuxième spermogramme effectué à 3 mois d'intervalle.

L'étude de la fragmentation de l'ADN spermatique est indiquée dans le bilan d'échecs d'implantation, de fausses couches à répétition ou d'infertilité inexplicée. Le mode de vie (stress, tabagisme, obésité, toxiques), l'hyperthermie testiculaire et la présence d'une varicocèle peuvent induire une augmentation du taux de fragmentation de l'ADN spermatique et rendre pertinent la réalisation de ce test.

De même, un bilan hormonal, génétique et échographique des testicules ont été prescrits pour tous les patients. L'exploration hormonale par le dosage de la testostérone, du taux de LH, de FSH et de l'Inhibine B permet d'évaluer le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire sur la spermatogenèse et d'établir s'il existe ou non une insuffisance testiculaire.

Le bilan génétique comprend un caryotype, une recherche de micro-délétion du chromosome Y (Gène SRY : Sex-determining Region of Y chromosome ou dans la région AZF : Azoospermia factor) et la recherche de mutation du gène CFTR de la mucoviscidose en fonction des résultats du bilan hormonal et échographique.

L'échographie testiculaire permet d'objectiver la présence d'une varicocèle et de la classer en fonction de son grade et/ou de mettre en évidence une obstruction des voies séminales ou déférentielle.

Les patients de cette étude ont bénéficié d'un traitement antioxydant qui a été bien suivi (vitamine A, vitamine E, vitamine C, zinc et sélénium) pendant au moins 3 mois sur la ou les tentative(s) précédentes(s) de FIV-ICSI avec spermatozoïdes éjaculés et avant la tentative d'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires.

En ce qui concerne les conjointes des patients, un interrogatoire et un ensemble d'exams complémentaires ont été réalisés par les gynécologues du service. L'interrogatoire a porté sur l'âge, l'ancienneté de l'infertilité du couple, leur mode de vie, la recherche des antécédents médico-chirurgicaux, la notion d'infections et/ou de curetages ou de douleurs pelviennes. La réserve ovarienne a été évaluée par un bilan hormonal avec un dosage de la FSH, LH, AMH et un dosage de la prolactine. Un compte des follicules antraux sous échographie est systématique ainsi qu'une hystérosalpingographie.

### **III.3 Extraction des spermatozoïdes testiculaires :**

L'extraction des spermatozoïdes testiculaires a été réalisée selon la technique de prélèvement à ciel ouvert après une incision de l'albuginée sous anesthésie générale ou rachianesthésie. Au moins 2 biopsies ont été réalisées systématiquement : l'une pour l'extraction des spermatozoïdes testiculaires traitée par les biologistes du service, et l'autre pour un examen anatomopathologique afin d'évaluer la spermatogenèse selon le score de Johnsen (*Figure 10*).

**Figure 10 : Score de Johnsen** (<http://www.ajandrology.com>)

Johnsen's Score	Description	Testicular Pathology	Cell Type Instruction
1	Fibrosis		Leydig Cell and Peritubular Myoid Cell
2	Sertoli only		Sertoli Cell
3	Spermatogonia only		Spermatogonia
4	Few spermatocytes		
5	Many spermatocytes		Spermatocyte
6	Few early spermatids		
7	No spermatozoa, no late spermatids, many early spermatids		Round Spermatid
8	Less than five spermatozoa, few late spermatids		Elongated Spermatid
9	Slightly impaired, many late spermatids, disorganized		
10	Normal spermatogenesis		Spermatozoon

La biopsie testiculaire a eu lieu soit le jour même de la ponction ovocytaire (TESE synchrone) ce qui a permis de réaliser dans le même temps la FIV-ICSI après extraction des spermatozoïdes, soit dans un premier temps afin de s'assurer de la présence de spermatozoïdes avant de réaliser la FIV-ICSI ce qui a nécessité une congélation des spermatozoïdes testiculaires pour une utilisation postérieure en FIV-ICSI (TESE asynchrone).

Au laboratoire, une dilacération soigneuse de ou des biopsies testiculaires a été effectuée à l'aide d'aiguilles fines courbée à 90° dans un milieu de culture l'IVF medium (Origio) puis les biopsies dilacérées ont été incubées à 37°C pendant au moins 30 minutes.

Le surnageant de la dilacération a ensuite été récupéré, déposé sur un gradient de densité 50% (50% de PureSperm® (JCD) et 50% d'IVF medium (Origio)) puis centrifugé pendant 20 minutes à 1500 tours/min (394g). Le surnageant et le culot globulaire de la fraction 50 % ont été lavés séparément dans un milieu de culture pour préparation des spermatozoïdes le Fercult™ (FertiPro) par centrifugation pendant 10 minutes à

2000 tours/min (701g) pour éliminer le PureSperm® (JCD). Le culot de centrifugation a ensuite été repris dans un volume adapté d'IVF medium (Origio).

Les spermatozoïdes testiculaires surnuméraires, après traitement, ont été cryoconservés à -196°C dans de l'azote liquide avec un milieu de congélation contenant un cryoprotecteur le Spermfreeze™ (FertiPro) en cas de TESE synchrone et asynchrone.

Une étude de la fragmentation a été réalisée dans la mesure du possible si la numération en spermatozoïdes totaux a été supérieure à 1 millions/ml.

### **III.4 Ponctions ovocytaires :**

Lors de la prise en charge en FIV, les conjointes ont bénéficié d'une stimulation ovarienne par de la FSH recombinante associée à un agoniste de la GnRH (protocole long) ou à un antagoniste de la GnRH (protocole court).

La ponction des ovocytes a été réalisée sous anesthésie générale ou locale par voie transvaginale au bloc opératoire par un gynécologue du service 36 heures après le déclenchement de l'ovulation par un analogue de l'hCG.

### **III.5 Micro-injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes testiculaires (TESE-ICSI) :**

La fécondation in vitro (FIV) a été réalisée par la technique de FIV-ICSI.

Une recherche ainsi qu'une préparation des ovocytes par décoronisation ont été effectuées pour éliminer les cellules folliculaires par action de la hyaluronidase et par action mécanique.

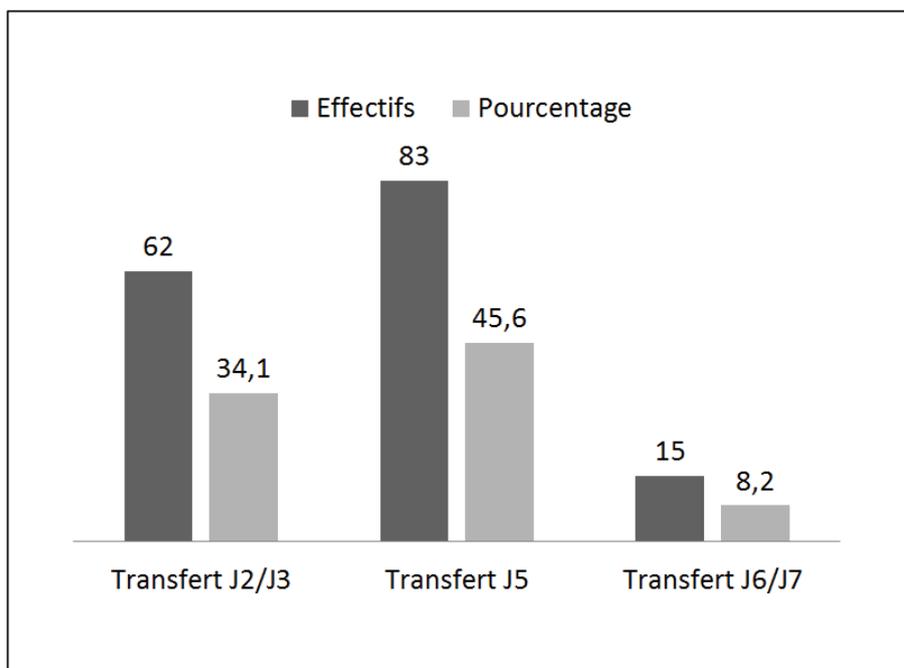
Les spermatozoïdes frais (TESE synchrone) ou décongelés (TESE asynchrone) ont été sélectionnés et incubés à 37°C avec un inhibiteur de la phosphodiesterase pendant 10 minutes pour induire la mobilité des spermatozoïdes [48]. Ils ont été ensuite sélectionnés selon leur mobilité et leur morphologie et injectés dans chaque ovocyte.

La culture embryonnaire a varié entre 2 jours à 5/6 jours.

Le choix de la date du transfert d'un ou deux embryons au stade précoce (J2-J3) ou au stade tardif (J5-J6) a tenu compte de l'âge maternel, du type d'infertilité du couple, de la qualité embryonnaire et des résultats des précédentes tentatives en FIV.

Les embryons surnuméraires ont été congelés au stade J2-J3 ou vitrifiés au stade J5-J6 si les critères morphologiques le permettaient (Classification BLEFCO) [49] et (Classification Gardner) [50].

**Figure 11 : Répartition des stades de transfert embryonnaire pour les 3 groupes**



### III.6 La grossesse :

Un début de grossesse est défini par un taux sérique des  $\beta$ -hCG 15 jours après le transfert embryonnaire, supérieur au seuil de positivité selon la norme du laboratoire.

Une échographie endovaginale a été réalisée entre 6 et 8 semaines d'aménorrhée afin d'affirmer la présence d'un ou plusieurs sacs gestationnels intra-utérin.

Une activité cardiaque de l'embryon à plus de 7 semaines d'aménorrhée définit une grossesse évolutive.

Le terme de grossesse évolutive regroupe les grossesses en cours et celles ayant conduit à au moins une naissance vivante.

Le terme de grossesses cumulées regroupe les grossesses en cours ou celles ayant conduit à au moins une naissance vivante après un transfert d'embryons frais ou congelés (TEC) issue de la même tentative de TESE-ICSI.

### **III.7 Analyse de données :**

Les données ont été extraites de la base de données MediFirst (MediFirst, Montigny le Bretonneux, France). Les données ont été décrites sous la forme de leur distribution pour les variables qualitatives, et sous la forme de moyenne  $\pm$  écart-type pour les variables quantitatives.

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SPSS version 21.0 (IBM, EU).

Le test du Chi 2 a été utilisé pour analyser les paramètres qualitatifs.

Pour la comparaison des paramètres quantitatifs, le test t de Student, une analyse de variance à mesure répétée et l'ANOVA ont été utilisés. Les coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés. Les tests statistiques étaient considérés comme significatives si  $p < 0,05$ .

## IV. RESULTATS :

### IV.1 Description de la population :

#### IV.1.1 Groupe « Autre » (BTa) :

46 patients ont bénéficié d'une biopsie testiculaire avec une prise en charge en FIV-ICSI durant la période d'inclusion, 45 patients ont eu une biopsie testiculaire positive et un patient a été exclu de l'étude pour une extraction testiculaire négative.

L'âge moyen des patients du groupe BTa était de 39,09 +/- 6,64. L'âge moyen de leur conjointes était de 33,89 +/- 3,97. La moyenne des rangs des tentatives de TESE-ICSI était de 3,02 +/- 1,70 (*tableau 4*).

Le groupe BTa est composé de trois sous-groupes :

- **Sous-groupe 1 BTa pour taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé dans le sperme éjaculé :**

12 patients avaient un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé et persistant dans l'éjaculat, avec un index de fragmentation (DFI) supérieur à 15% malgré la prise d'antioxydants (vitamine C, vitamine A, vitamine E, zinc et sélénium) depuis au moins 3 mois ont été inclus. A l'exception de 2 patients, les caractéristiques spermatiques étaient altérées (*Tableau 2*).

41% des patients présentaient une nécrozoospermie dans le sperme éjaculé. La moyenne du taux de fragmentation de l'ADN spermatique chez les patients du sous-groupe 1 dans le sperme éjaculé était de 34,08% +/- 11,89. La moyenne du taux d'AMH des conjointes était de 2.96 +/- 1.81.

Le rang moyen des tentatives de TESE-ICSI était de 2.5 +/- 1,3 (*figure 12*).

**Tableau 2: Caractéristiques spermatisques des patients avec un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé**

Caractéristiques spermatisques du groupe BTa	Normal	1 paramètre spermatisque altéré	≥2 paramètres spermatisques altérés
Nombre de patients avec DFI ≥ 15 % (n=12)	2	5	10

- **Sous-groupe 2 BTa pour tératozoospermie sévère :**

16 patients ont été inclus dans ce sous-groupe :

- 14 patients présentaient une tératozoospermie sévère isolée (pourcentage de spermatozoïdes atypiques inférieur à 10% selon la classification de David modifiée) ou associé à d'autres altérations des caractéristiques spermatisques (OATS).
- 2 patients du sous-groupe 2 n'avaient pas de tératozoospermie mais un pourcentage élevé de spermatozoïdes avec une ou plusieurs vacuoles occupant plus de 16 % de la surface de la tête des spermatozoïdes à l'observation des spermatozoïdes au fort grossissement (MSOME).

La moyenne du taux de fragmentation de l'ADN spermatique des spermatozoïdes éjaculés était de 20,98% +/-15,84. La moyenne du taux d'AMH des conjointes était de 2.8 +/- 1.27.

Le rang moyen des tentatives de TESE-ICSI était de 3,4 +/- 1,7 (*figure 12*).

- **Sous-groupe 3 BTa pour trouble éjaculatoire :**

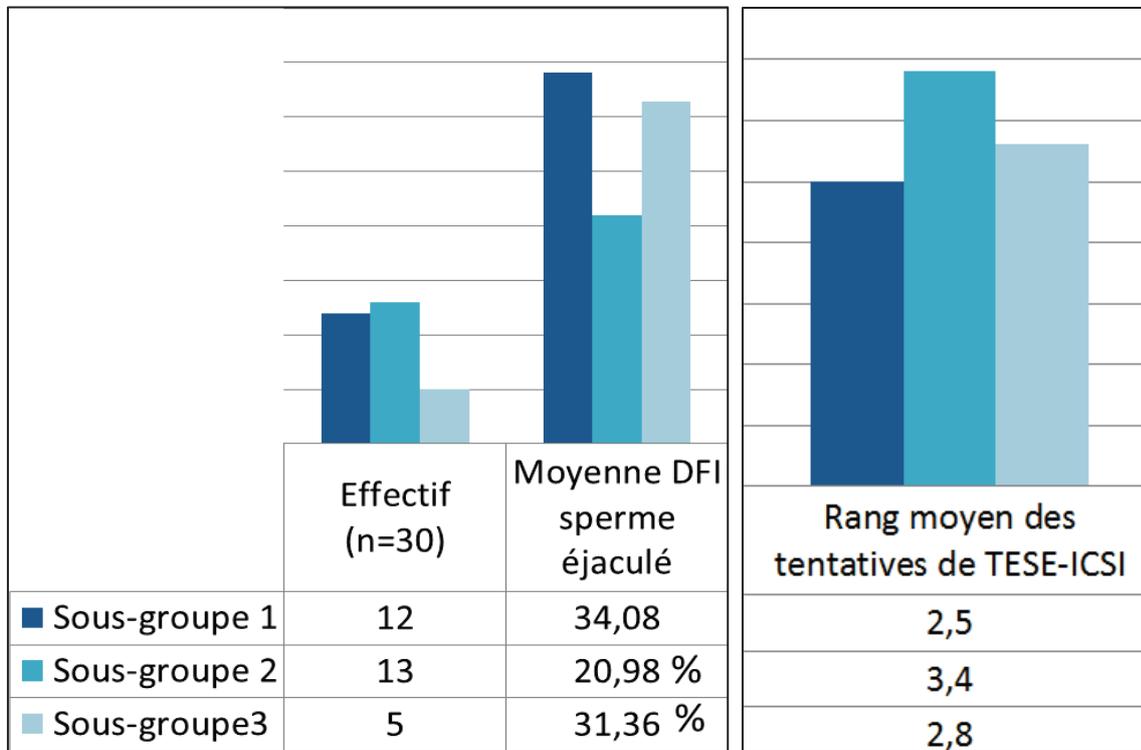
17 patients ont été inclus avec un trouble éjaculatoire :

- 5 patients (30%) présentaient une éjaculation rétrograde et ont bénéficié d'une TESE-ICSI car les caractéristiques spermatisques du sperme éjaculé ne permettaient pas la FIV-ICSI ou du fait de plusieurs échecs de tentatives de FIV-ICSI après sélection des spermatozoïdes à partir des urines.
- 12 patients (70%) blessés médullaire ont bénéficié d'une TESE-ICSI car les caractéristiques spermatisques du sperme éjaculé ne permettaient pas la FIV-

ICSI ou du fait d'une anéjaculation après des essais de recueil de sperme par stimulation pénienne et/ou électroéjaculation endorectale.

Le taux de la fragmentation de l'ADN spermatique n'a pu être déterminé que chez 5 patients dans le sperme éjaculé. La moyenne du taux de fragmentation de l'ADN spermatique pour ces 5 patients avec un trouble éjaculatoire était de 31,36% +/- 15,90. La moyenne du taux d'AMH des conjointes était de 5.26 +/- 4.47. Le rang moyen des tentatives de TESE-ICSI était de 2,8 +/- 1,8 (figure 12).

**Figure 12 : Taux de fragmentation de l'ADN spermatique dans le sperme éjaculé et rang moyen des 3 sous-groupes**



## IV.1.2 Groupe « Obstructif » (BTo) :

Dans le groupe obstructif (BTo), 92 patients ont été inclus au total et ont bénéficié d'une biopsie testiculaire avec une prise en charge en FIV-ICSI avec extraction positive de spermatozoïdes testiculaires.

45 patients présentaient une azoospermie due à une Agénésie Bilatérale des Canaux Déférents (ABCD) dans un contexte de mutation du gène CFTR de la mucoviscidose (n=41) ou secondaire à une vasectomie (n=4) (Tableau 3).

Les autres causes d'obstruction dans ce groupe ont été les épидидymites chroniques, les traumatismes testiculaires et les obstructions post infectieuses des voies spermatiques (n=47). 4 patients présentaient une cryptozoospermie et 4 patients avaient une oligozoospermie sévère inférieur à 2 millions/ml.

L'âge moyen des patients était de 37 +/- 6,8. L'âge moyen de leur conjointe était de 33 +/- 4,6. Le rang moyen des tentatives de TESE-ICSI dans le groupe BTo était de 2.3 +/- 1,6 (Tableau 4). L'étude de la fragmentation de l'ADN spermatique des spermatozoïdes éjaculés n'a pas pu être réalisée pour la majorité des cas en raison de l'absence ou du faible nombre de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat.

**Tableau 3 : Étiologies des 3 groupes**

Groupes	Étiologies	Effectif	Pourcentage
<b>BTo</b>	<b>Mutation CFTR</b>	41	22,5%
	<b>Etiologies autres</b>	51	28,0%
<b>BTs</b>	<b>Syndrome de Klinefelter (47 XXY)</b>	10	5,5%
	<b>Varicocèle</b>	11	6,0%
	<b>Étiologies autres</b>	24	13,3%
<b>BTa</b>	<b>DFI de l'ADN spermatique élevé</b>	12	6,6%
	<b>OATS</b>	16	8,8%
	<b>Trouble éjaculatoire</b>	17	9,3%
	<b>Total</b>	182	100%

### IV.1.3 Groupe « sécrétoire » (BTs) :

45 patients ont bénéficié d'une biopsie testiculaire avec une prise en charge en FIV-ICSI avec extraction positive de spermatozoïdes testiculaires.

Parmi les 45 patients, 10 présentaient un syndrome de Klinefelter (47, XXY), 11 avaient une varicocèle de grade 3 déjà embolisée.

Les 24 patients restants présentaient soit une micro délétion du chromosome Y au niveau la région AZFc (4 patients), soit une extrophie vésicale (1 patient), soit un antécédent de médulloblastome en post radio/chimiothérapie (1 patient), soit un hypogonadisme périphérique (1 patient), soit un trouble de la spermatogenèse isolé (17 patients) (*Tableau 3*).

35 patients présentaient une azoospermie, 6 patients présentaient une cryptozoospermie et 4 patients présentaient une oligozoospermie sévère inférieur à 2 millions/ml.

L'âge moyen des patients était de 37 +/- 6,1. L'âge moyen de leur conjointe était de 33 +/- 3,6. Le rang moyen des tentatives de TESE-ICSI dans le groupe BTs était de 2,2 +/- 1,5 (*Tableau 4*).

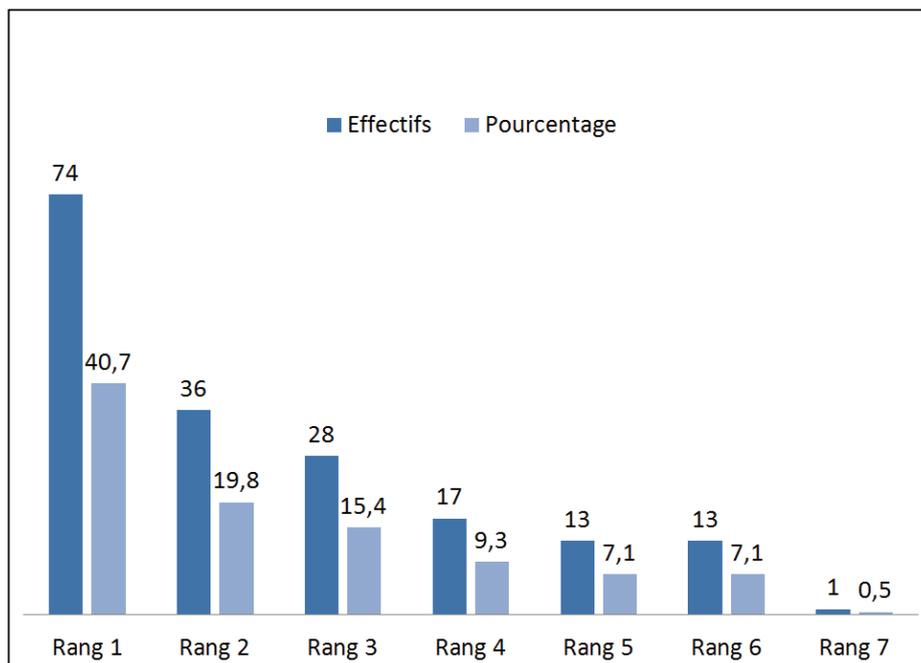
L'étude de la fragmentation de l'ADN spermatique des spermatozoïdes éjaculés avant la biopsie testiculaire n'a pas pu être réalisée en raison de l'absence ou du faible nombre de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat.

Les 182 patients de l'étude étaient comparables au niveau de l'âge ( $p=0,238$ ), de l'âge de la conjointe ( $p=0,791$ ) et du taux d'AMH de la conjointe ( $p=0,305$ ). Toutefois le rang de la tentative a été significativement différent entre les groupes ( $p=0,028$ ) (*Tableau 4*).

**Tableau 4 : Caractéristiques des 3 groupes de l'étude**

Population : moyenne +/- SD	BTa (n= 45)	BTo (n= 92)	BTs (n= 45)	Total (n= 182)	Test ANOVA (p ≤ 0,05)
<b>Rang tentative</b>	3,02 +/- 1,70	2,29 +/-1,61	2,24 +/- 1,51	2,46 +/- 1,63	p =0,028
<b>Age Mr</b>	39,09 +/- 6,64	37,04 +/- 6,85	37,87 +/- 6,13	37,75 +/- 6,64	p = 0,238
<b>Age conjointe</b>	33,89 +/-3,97	33,42 +/- 4,65	33,33 +/- 3,68	33,51 +/- 4,24	p =0,791
<b>AMH conjointe</b>	3,85 +/- 3,25	3,22 +/- 2,84	2,92 +/- 2,29	3,11 +/- 2,65	p =0,305

**Figure 13 : Répartition des rangs des tentatives pour les 3 groupes**



## **IV.2 Résultats TESE-ICSI :**

### **IV.2.1 Dans le groupe « autre » (BTa) : (Tableau 5)**

#### ***IV.2.1.1 Sous-Groupe 1 : taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé dans le sperme éjaculé :***

72% des biopsies testiculaires ont été réalisées en asynchrone et 28 % en synchrone. Le taux de fécondation était de 41,8% +/- 26,8 et de 40,2% +/- 27,5 pour le taux de clivage.

Le taux de grossesse clinique était de 41,7 % (5 grossesses sur 12) et le taux de grossesses cumulées de 58,3 % (7 grossesses sur 12) (*Figure 14*).

#### ***IV.2.1.2 Sous-Groupe 2 : tératozoospermie sévère :***

50 % des biopsies testiculaires ont été réalisées en asynchrone et 50% en synchrone. Le taux de fécondation était de 51,7% +/- 26 et le taux de clivage était de 51.9% +/- 28.

Le taux de grossesse clinique était de 37,5% (6 grossesses sur 16) et le taux de grossesse cumulée de 50 % (8 grossesses sur 16) (*Figure 14*).

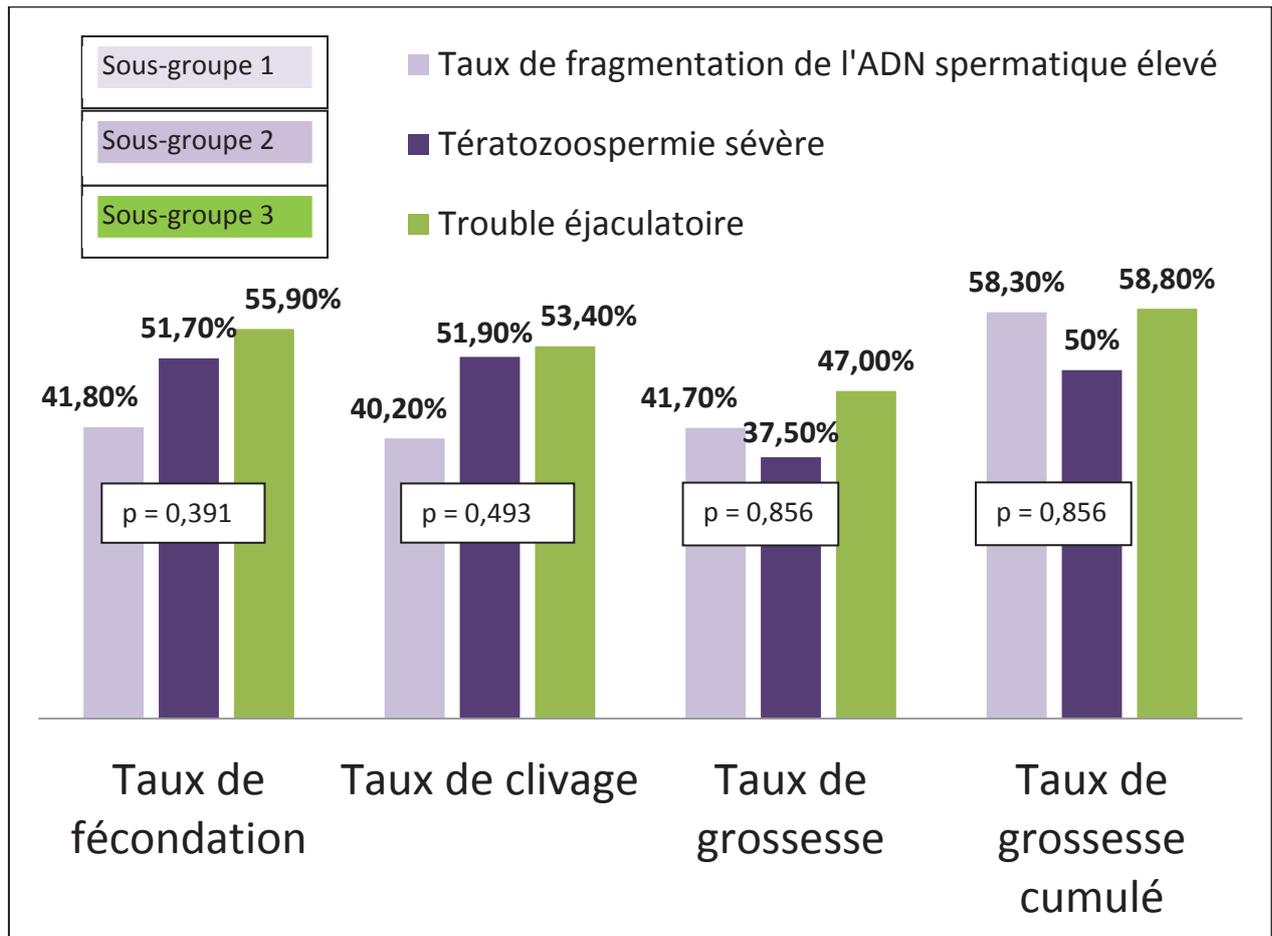
#### ***IV.2.1.3 Sous-Groupe 3 : trouble éjaculatoire :***

76,4 % des biopsies testiculaires ont été réalisées en asynchrone et 23.6 % en synchrone. Le taux de fécondation était de 55,9% +/- 29 et le taux de clivage était de 53,4% +/- 29.

Le taux de grossesse évolutive était de 47 % (8 grossesses sur 17) et de 58,8 % (10 grossesses sur 17) pour le taux de grossesse cumulée (*Figure 14*).

D'après les tests statistiques (test du Chi deux), nous avons constaté dans ce travail que les résultats étaient comparables entre les 3 sous-groupes pour ce qui est du taux de fécondation, taux de clivage, taux de grossesse et taux de grossesse cumulée sans différence significative (Figure 14).

**Figure 14 : Résultats en TESE-ICSI dans les 3 sous-groupes du groupe BTa**



Les p correspondent à la différence globale entre les 3 groupes

**Tableau 5 : Résultats groupe BTa**

Groupe BTa	Age Mr Moyenne ( $\pm$ ET)	Taux de fécondation Moyenne ( $\pm$ ET)	Taux de clivage Moyenne ( $\pm$ ET)	Taux de grossesse	Taux de grossesse cumulée
<b>Fragmentation élevée</b>	40,1 $\pm$ 8,6	41,8 $\pm$ 26,8	40,2 $\pm$ 27,5	41,7%	58,3%
<b>Tératozoospermie sévère</b>	37,5 $\pm$ 4,9	51,7% $\pm$ 25,1	51,9% $\pm$ 29,5	37,5%	50%
<b>Trouble éjaculatoire</b>	39,7 $\pm$ 6,5	55,9 $\pm$ 29,8	53,4 $\pm$ 29,6	47,1%	58,8%
<b>Signification (<math>p \leq 0.05</math>)</b>	$p = 0,238$	$p = 0,391$	$p = 0,493$	$p = 0,856$	$p = 0,856$
<b>Total</b>	39,0 $\pm$ 6,6	<b>50,9%</b> <b><math>\pm</math>27,4</b>	<b>48,2%</b> <b><math>\pm</math>28,8</b>	<b>42,1%</b>	<b>55,7%</b>

Nous avons étudié dans le groupe BTa le taux de fécondation, le taux de clivage, le taux de grossesse et le taux de grossesse cumulée et nous avons comparé ces résultats avec les patients du groupe obstructif (BTo) et du groupe sécrétoire (BTs).

#### **IV.2.2 Dans le groupe « Obstructif » (BTo) :**

Dans le groupe obstructif (BTo), les biopsies testiculaires ont été réalisées en asynchrone dans 70.6 % des cas (*Tableau 6*). Le taux de fécondation était de 58,8% +/- 26 et le taux de clivage était de 57,2% +/- 26.

Le taux de grossesse évolutive était de 30,4% (28 grossesses) et le taux de grossesse cumulée était de 40,3% (38 grossesses) (*Figure 15*).

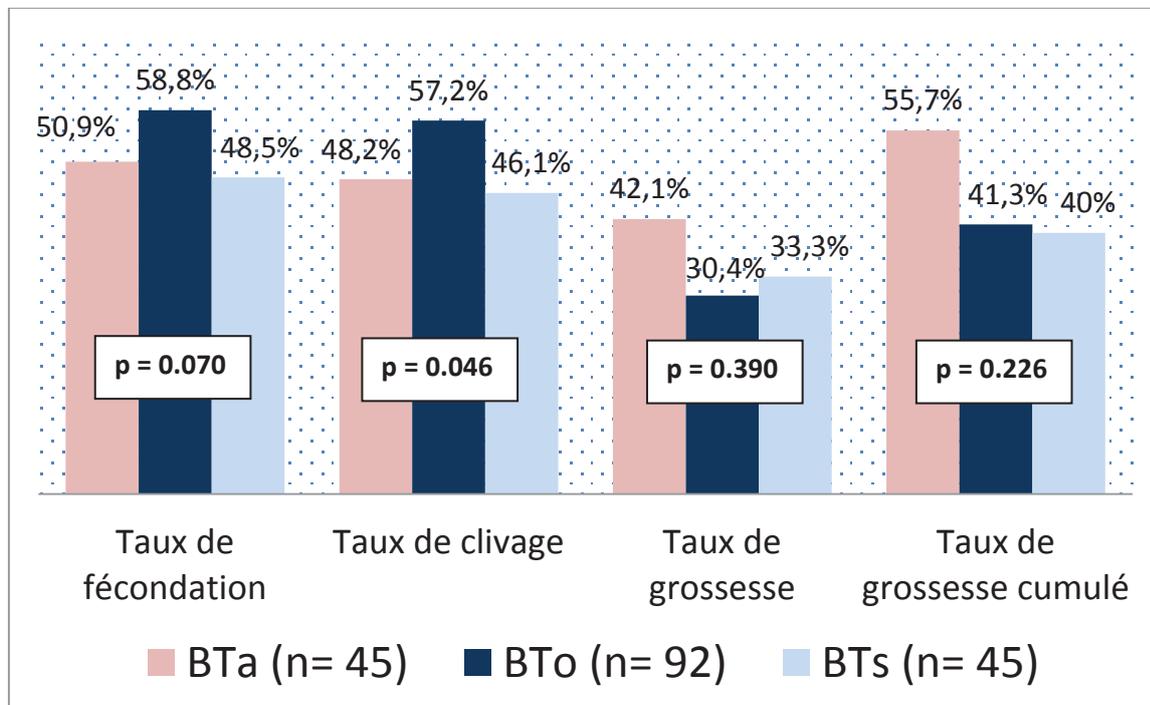
**Tableau 6 : Répartition des TESE synchrones et asynchrones dans les 3 groupes**

	TESE Synchrones	TESE Asynchrone
<b>BTa (n= 45)</b>	35.6%	64.4%
<b>BTo (n= 92)</b>	29.4%	70.6%
<b>BTs (n= 45)</b>	22.2%	77.8%

### IV.2.3 Dans le groupe « Sécrotoire» (BTs) :

Dans le groupe sécrétoire (BTs), les biopsies testiculaires ont été réalisées en asynchrone dans 77.8 % (Tableau 6). Le taux de fécondation était de 48,5% +/- 27 et le taux de clivage était de 46,1% +/- 27. Le taux de grossesse évolutive était de 33,3% (15 grossesses) et le taux de grossesse cumulée était de 40% (18 grossesses) (Figure 15).

**Figure 15 : Résultats des TESE-ICSI dans les 3 groupes**



Les p correspondent à la différence globale entre les 3 groupes

Le taux de fécondation était plus élevé pour le groupe BTo (58,85% ± 26,64) comparé aux groupes BTa et BTs, toutefois la différence globale n'était pas significative ( $p = 0,070$ ). Cependant, le taux de fécondation était significativement différent entre le groupe BTo (58,85% ± 26,64) et le groupe BTs (48,46% ± 27,53) ( $p = 0,036$ ) (figure 15).

Pour le taux de clivage il existe une différence significative entre les trois groupes ( $p = 0,046$ ), et cette différence est significative entre le groupe BTo (57,21% ± 26,45) et le groupe BTs (46,10% ± 27,61) ( $p = 0,036$ ) (figure 15).

Le taux de grossesse n'étaient pas significativement différent entre les 3 groupes de BT ( $p = 0,390$ ). Les taux de grossesse cumulée n'étaient pas significativement différent entre les 3 groupes de BT ( $p = 0,226$ ) (figure 15).

### IV.3 Résultats du taux de fragmentation de l'ADN spermatique :

Pour le groupe BTa : (Tableau 7)

- Le taux de fragmentation de l'ADN spermatique testiculaire dans le sous-groupe 1 était de 18.12% +/- 11.60 vs 34,08% +/- 11.89 pour les spermatozoïdes éjaculés.
- Dans le sous-groupe 2, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique testiculaire était de 15,99% +/- 12,24 vs 20,98% +/- 15,84 pour les spermatozoïdes éjaculés.
- Dans le sous-groupe 3, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique était de 13,41% +/- 10,89 vs 31.36% +/- 15.90 pour les spermatozoïdes éjaculés.

**Tableau 7 : Résultats du taux de fragmentation de l'ADN spermatique testiculaire versus spermatozoïdes éjaculés dans les 3 sous-groupes du groupe BTa**

Sous-groupes BTA		Fragmentation testiculaire	Fragmentation sperme éjaculé
Sous-groupe 1	N	8	12
	Moyenne	18,1250	34,0833
	Ecart-type	11,60723	11,89238
Sous-groupe 2	N	11	13
	Moyenne	15,9996	20,9846
	Ecart-type	12,24804	15,84097
Sous-groupe 3	N	13	5
	Moyenne	13,4154	31,3600
	Ecart-type	10,89509	15,90748

Indépendamment de l'étiologie des 3 sous-groupes dans le groupe BTa, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique testiculaire ( $16,07\% \pm 11,22$ ) était statistiquement inférieur au taux de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes éjaculés ( $29,71\% \pm 15,96$ ) ( $p = 0,006$ ).

Dans le groupe BTo, le taux de fragmentation testiculaire ( $7,55\% \pm 5,81$ ) n'était pas statistiquement inférieur à celui des spermatozoïdes éjaculés ( $8,05 \pm 3,24$ ) ( $p = 0,809$ ). Toutefois, l'effectif était petit ( $n=4$ ), donc le test statistique a peu de valeur.

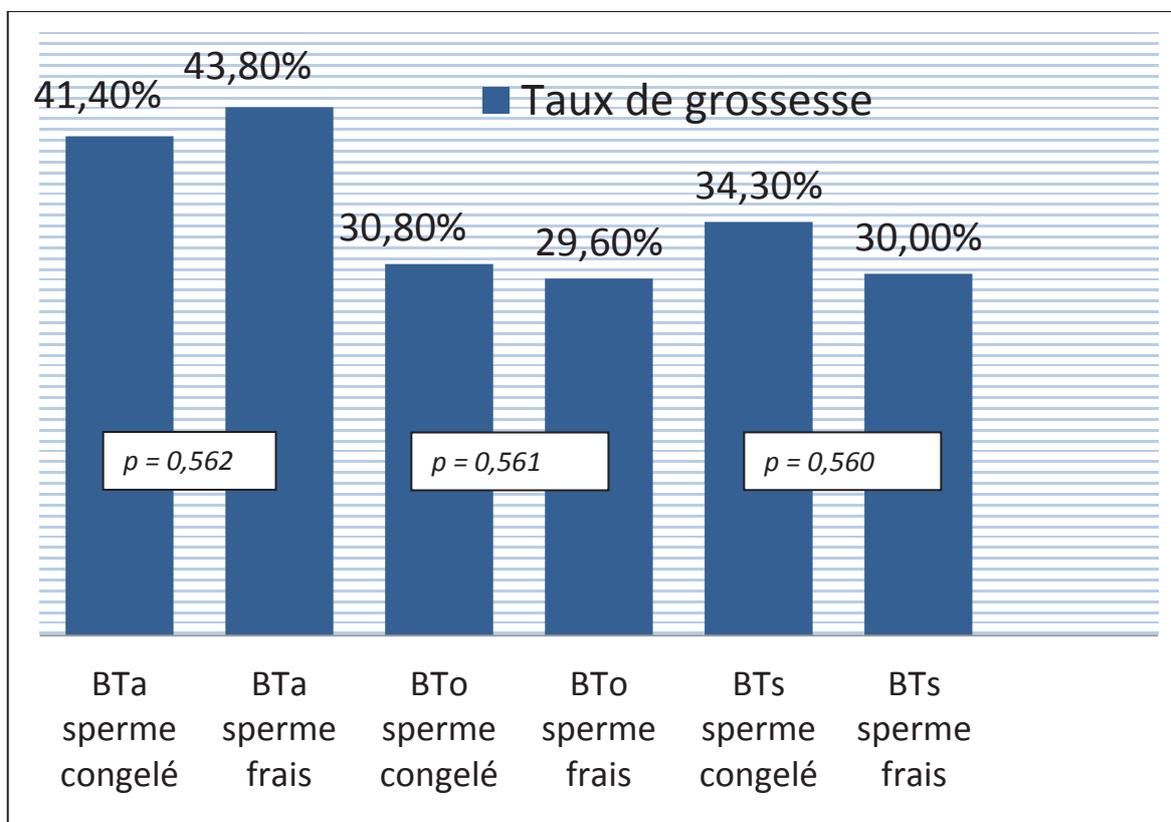
Dans le groupe BTs, le test de fragmentation de l'ADN spermatique n'a pas été réalisable du fait d'une numération spermatique insuffisante pour la réalisation de cet examen.

#### IV.4 Résultats TESE-ICSI avec les spermatozoïdes congelés *versus* spermatozoïdes frais :

Dans les TESE synchrones et asynchrones, les taux de grossesses n'étaient pas significativement différents entre les 3 groupes lorsque les spermatozoïdes ont été utilisés frais ou après décongélation ( $p = 0,562$  dans le groupe BTa ;  $p = 0,561$  dans le groupe BTo,  $p = 0,560$  dans le groupe BTs) (figure 16).

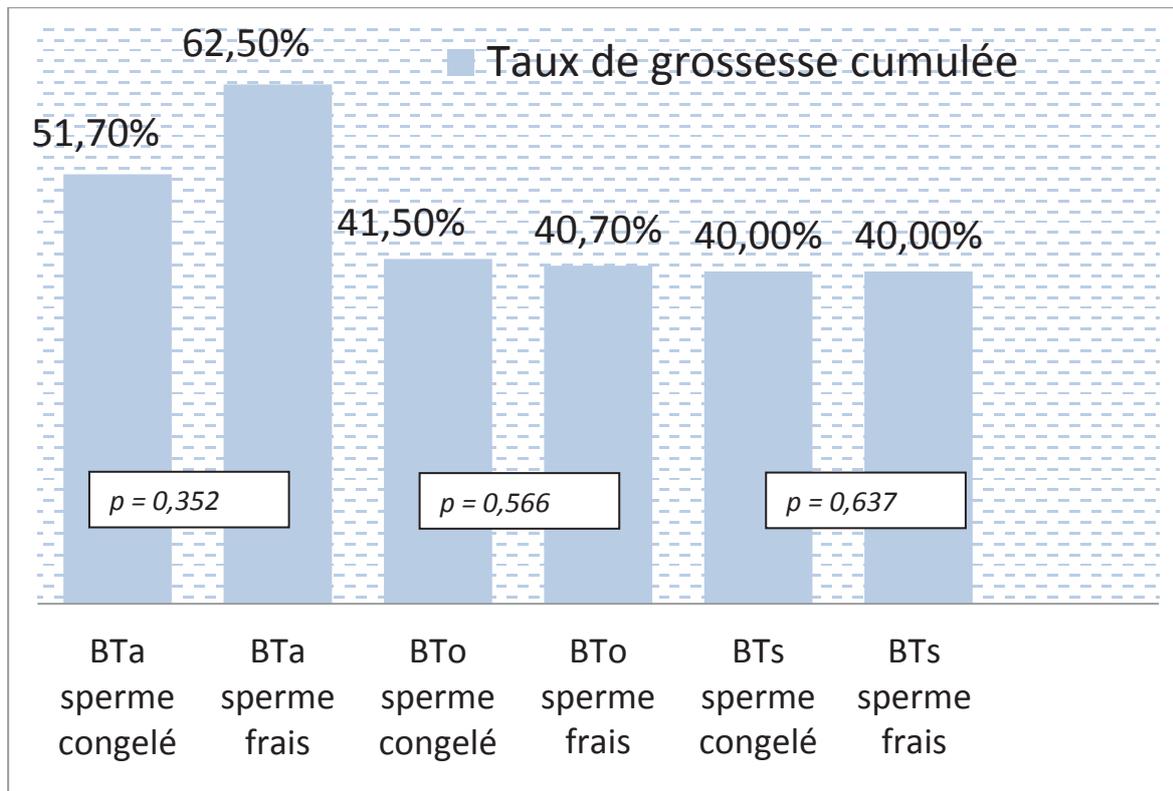
De même, les taux de grossesses cumulées n'étaient pas significativement différents dans les 3 groupes en fonction de l'utilisation des spermatozoïdes congelés ou frais ( $p = 0,352$  dans le groupe BTa ;  $p = 0,566$  dans le groupe BTo,  $p = 0,637$  dans le groupe BTs) (figure 17).

Figure 16 : Taux de grossesse dans les 3 groupes en fonction de l'utilisation des spermatozoïdes testiculaire congelés ou frais



Les p correspondent à la différence globale entre les 3 groupes

**Figure 17 : Taux de grossesse cumulée dans les 3 groupes en fonction de l'utilisation des spermatozoïdes testiculaires congelés ou frais**



Les p correspondent à la différence globale entre les 3 groupes

## V. DISCUSSION :

Cette étude rétrospective observationnelle monocentrique portant sur 45 patients (Groupe BTa) ayant consulté pour infertilité masculine et ayant bénéficié d'une biopsie testiculaire hors indications usuelles (azoospermie obstructive: groupe BTo, azoospermie sécrétoire: groupe BTs ou d'origine mixte) sur une période de 3 ans (2015 – 2018) avait pour but :

- d'évaluer l'intérêt de la TESE-ICSI dans le groupe BTa après une moyenne de 3 échecs d'implantation en FIV-ICSI avec sperme éjaculé.
- de comparer les résultats des TESE-ICSI du groupe BTa aux groupes témoins BTo et BTs.

Le groupe BTa est composé de 3 sous-groupes : sous-groupe 1 pour taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé dans le sperme éjaculé, sous-groupe 2 pour tératozoospermie sévère et sous-groupe 3 pour trouble éjaculatoire.

Cependant 12 patients du groupe BTa ont bénéficié d'emblée d'une TESE-ICSI dès la première tentative. Cela concerne majoritairement les patients du sous-groupe 3 (trouble éjaculatoire) du fait d'une anéjaculation totale, ce qui pourrait constituer un biais dans cette étude.

La population étudiée est comparable avec celle des autres études de la littérature en termes d'âge moyen des patients (33 ans pour les femmes et 39 ans pour les hommes), de la technique de mesure de la fragmentation de l'ADN spermatique (Technique TUNEL) [51,52].

Dans ce travail, la réalisation des TESE-ICSI dans le groupe BTa hors indications usuelles (azoospermie obstructive, sécrétoire ou d'origine mixte) a donné des résultats comparables au groupe BTo et au groupe BTs. L'origine testiculaire des spermatozoïdes ne semble, à priori, pas diminuer les résultats obtenus.

Les TESE-ICSI ont été réalisées en asynchrone avec spermatozoïdes testiculaires congelés dans 64.4% dans le groupe BTa, 70.6% dans le groupe BTo et 77.8% dans le groupe BTs. Il n'y avait pas de différence significative en termes de taux de grossesse

et de taux de grossesse cumulée dans les 3 groupes en fonction de l'utilisation des spermatozoïdes testiculaires congelés ou des spermatozoïdes testiculaires frais.

De nombreuses séries [53, 54, 55, 56] ont rapporté des résultats comparables entre les TESE-ICSI synchrones et asynchrones en termes de taux de fécondation (56% vs 61%), de taux de clivage embryonnaire (92% vs 95%) et de taux de grossesse clinique (33% vs 45%) ( $p > 0.05$ ) [55]. Le fait de pratiquer une FIV-ICSI avec les spermatozoïdes testiculaires frais ou congelés n'influencerait donc pas les résultats.

Nous avons voulu étudier l'intérêt de la TESE-ICSI en cas de taux élevé et persistant de la fragmentation de l'ADN spermatique des spermatozoïdes éjaculés.

Le taux de fragmentation de l'ADN spermatique au niveau testiculaire dans le groupe BTa (32 patients), toute indication confondue, était significativement abaissé ( $16,07\% \pm 11,22$ ) par rapport au taux de fragmentation des spermatozoïdes éjaculés ( $29,71\% \pm 15,96$ ) ( $p = 0.006$ ).

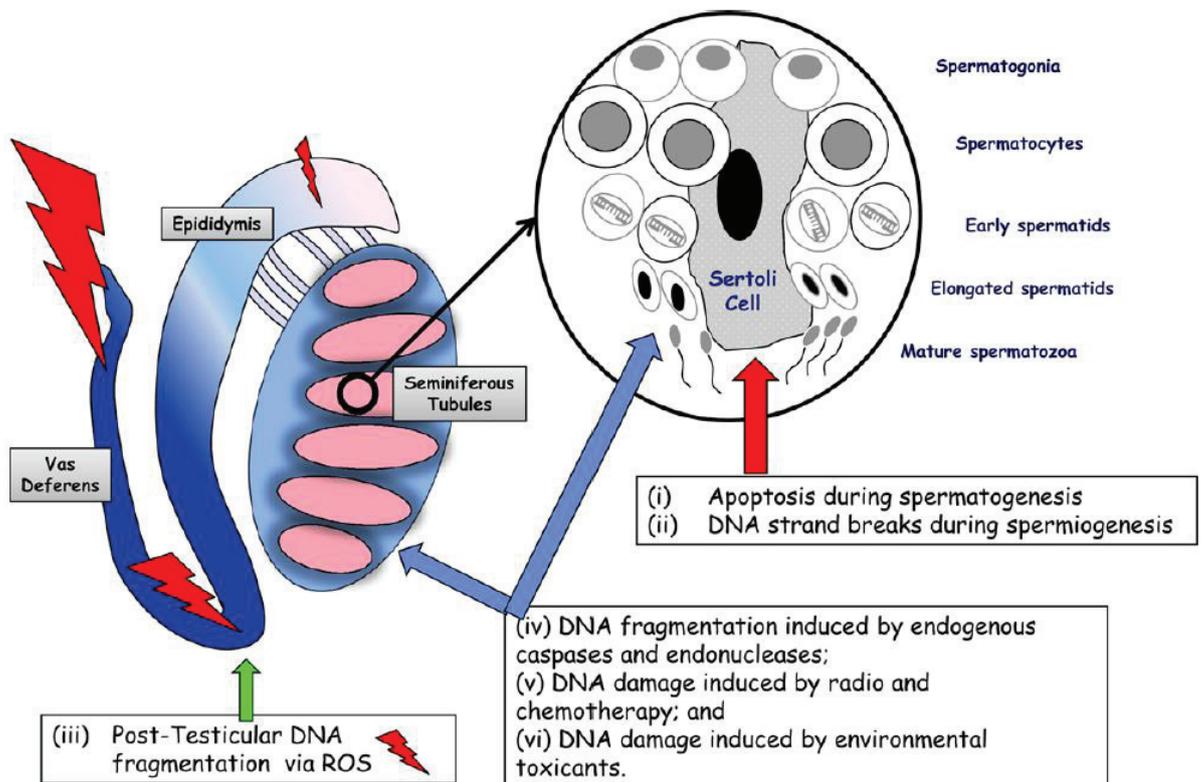
Plus particulièrement dans le sous-groupe 1 BTa, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique était diminué presque de moitié en passant d'une moyenne de  $34,08\% \pm 11,89$  à  $18,12\% \pm 11,60$  au niveau testiculaire. Cette analyse au niveau du sperme éjaculé a été réalisée chez tous les patients du sous-groupe 1 mais seulement pour 8 patients sur 12 au niveau testiculaire (66%), afin de privilégier la congélation des spermatozoïdes testiculaires ou du fait d'une numération insuffisante en spermatozoïdes pour la réalisation de ce test.

Plusieurs séries ont rapporté des résultats similaires, avec une diminution significative du taux de fragmentation de l'ADN spermatique au niveau des spermatozoïdes testiculaires comparé aux spermatozoïdes éjaculés [51, 52, 57, 58].

L'origine exacte de la fragmentation de l'ADN spermatique n'est pas encore établie, plusieurs hypothèses ont été émises (*Figure 18*) [59]:

- Au niveau testiculaire :
  - la survenue d'une apoptose induite par les caspases durant la spermatogenèse.
  - une rupture des brins d'ADN lors du remodelage de la chromatine durant la spermiogénèse.

- Au niveau testiculaire et post-testiculaire :
  - une production de substances oxygénées réactives (ROS) durant le transit des spermatozoïdes dans les tubes séminifère et durant le transit épидидymaire.
  - la radio/chimiothérapie.
  - l'environnement ainsi que les toxiques (tabac, alcool, cannabis) sont connus pour induire une fragmentation de l'ADN spermatique.



**Figure 18 : Mécanismes induisant une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique [59]**

L'intégrité de l'ADN spermatique est capitale pour la fécondation, le développement embryonnaire et l'implantation de celui-ci. Certains auteurs ont émis l'hypothèse que la fragmentation de l'ADN spermatique commencerait après le relargage des spermatozoïdes dans les tubes séminifères et que ceux issus directement du testicule auraient un taux de fragmentation significativement abaissé comparé aux spermatozoïdes éjaculés (4,8% vs 23,6% ) ( $p < 0,001$ ) [51]. L'extraction de spermatozoïdes testiculaires dans les tubes séminifères permettrait chez ces patients

d'éviter l'exposition des spermatozoïdes aux ROS durant le transit épидидymaire en post testiculaire.

En effet, une étude expérimentale a été menée sur un modèle animal avec une spermatogenèse anormale (mutant de souris avec un taux minimal de protéines nucléaires de transition). Ils ont observé que le passage des spermatozoïdes à travers l'épididyme était associé à une perte de l'intégrité de l'ADN spermatique. Ceci est expliqué par une plus grande rétention d'histones donc une moindre compaction de l'ADN spermatique et ainsi une plus grande fragilité de l'ADN spermatique [60].

Une étude menée en 2005 sur 18 couples a retrouvé un taux de fragmentation de l'ADN spermatique inférieur pour les spermatozoïdes testiculaires comparé aux spermatozoïdes éjaculés : 4,8% vs 23,6 % ( $p < 0,001$ ) [51]. Ils ont comparé le taux de fécondation, la morphologie embryonnaire, le taux d'implantation et le taux de grossesse. Le taux d'implantation (20.7% vs 1.8%) et le taux de grossesse (44.4% vs 5,6%) étaient significativement plus élevés après une TESE-ICSI qu'après une ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés ( $p < 0.001$ ). La morphologie embryonnaire et le taux de fécondation étaient similaires dans les deux groupes.

Cela conforte les hypothèses d'études antérieures sur le fait qu'un spermatozoïde avec un ADN endommagé peut féconder correctement un ovocyte et permettre l'obtention d'embryons avec une qualité morphologique « en apparence » normale. Cependant ces embryons aboutissent dans la majorité des cas à un échec d'implantation ou à une fausse couche spontanée précoce [61].

Une autre étude rétrospective sur une cohorte de 71 couples ayant eu au moins deux échecs de tentatives en FIV, dont les conjoints sont normospermiques avec un DFI supérieur à 30%, a montré un taux de grossesses cliniques et évolutives significativement plus élevé dans le groupe TESE-ICSI : 41,9% et 38.7% vs 20% et 15% ( $p < 0.05$ ) [62].

Dans ce travail, le taux de grossesse obtenu est de 41,7% et le taux de grossesses cumulées est de 58,3%. Parmi les 12 couples inclus, 8 naissances vivantes ont été obtenues après transfert d'embryon frais et d'embryon congelé.

L'ADN endommagé au-dessus d'un certain seuil (DFI  $\geq 15\%$ ) génèrerait un blocage du développement embryonnaire soit au moment de l'implantation soit après implantation ayant pour conséquence des fausses couches précoces, certaines études appellent ceci « l'effet paternel tardif » [63, 64].

En ce qui concerne les TESE-ICSI réalisées en cas de tératozoospermie sévère (sous-groupe 2), le taux de fécondation et le taux de clivage embryonnaire chez ces sujets étaient de 52,3 % et 48,6 %. Le taux de grossesse et le taux de grossesse cumulée étaient de 37,5% et 50%. Au total 12 naissances vivantes ont été obtenues après transfert d'embryon frais et d'embryon congelé.

Dans ce travail, la majorité des patients inclus dans le sous-groupe 2 avaient d'autres anomalies spermatiques associées à la tératozoospermie. Cependant l'ICSI avait permis de s'affranchir de l'oligo- et de l'asthénozoospermie dans les premières tentatives.

Le lien entre la qualité spermatique, le développement embryonnaire et les résultats d'ICSI restent controversés. Certaines séries ont rapporté un taux de fécondation (70%) ainsi qu'un taux de grossesse corrects (37%) chez des patients avec une tératozoospermie sévère ou totale [65]. Le seul paramètre ayant une influence négative sur les résultats d'ICSI serait l'injection d'un spermatozoïde immobile dans l'ovocyte [66].

Les résultats de patients avec une oligo-astheno-tératozoospermie (OATS) ont été comparés avec les résultats d'ICSI avec des spermatozoïdes testiculaires chez des patients présentant une azoospermie obstructive. Un taux de fécondation significativement diminué chez les patients OATS a été observé (63.4% vs 71.3%) ( $p < 0.05$ ) suggérant un lien entre le pouvoir fécondant et les paramètres spermatiques [28]. Aussi, un taux de fécondation plus faible a été rapporté chez ces patients OATS comparé aux résultats de patients avec une seule altération des caractéristiques spermatiques (63.4% vs 73.2%) ( $p < 0.05$ ) [28].

Un taux de fausses couches significativement plus élevé a été rapporté dans une autre étude chez un groupe de patients présentant une tératozoospermie et ayant entrepris une FIV-ICSI avec spermatozoïdes éjaculés [67].

D'autres séries [63, 68] mettent en évidence des résultats comparables entre TESE-ICSI et ICSI avec spermatozoïdes éjaculés chez des patients OATS (taux de grossesse évolutive 46.6% vs 39.7%) ( $p > 0.05$ ) [68].

Une étude récente [69] s'est intéressée au lien entre la morphologie spermatique et l'intégrité de l'ADN spermatique en mesurant la quantité des transcrits d'ARNm des protamines 1 et 2 (PRM1 PRM2) et des protéines de transition (TNP2) au niveau des spermatozoïdes de sujets normospermiques et tératozoospermiques. La quantité des transcrits de PRM1 et PRM2 mesurée par PCR quantitative était significativement élevée chez les sujets normospermiques contrairement aux protéines de transition TNP2 dont le nombre de copies d'ARNm était significativement plus élevé chez les sujets avec une tératozoospermie (*tableau 8*). Le degré de protamination par l'étude du noyau des spermatozoïdes avec la chromomycine A3 (CMA3) des sujets tératozoospermiques était significativement plus bas que chez les sujets avec des paramètres spermatiques normaux [69].

**Tableau 8 : Comparaison des transcrits PRM 1, PRM2 et TNP 2 chez les sujets tératozoospermiques et normospermiques [69]**

Gene name/group <sup>a</sup>	Teratozoospermic (n = 72)	Normozoospermic (n = 66)	P-value
PRM1	0.77 ± 0.25	1.02 ± 1.83	$P < 0.001$
PRM2	0.05 ± 0.16	1.34 ± 2.38	$P < 0.001$
TNP2	1.62 ± 2.92	0.24 ± 0.58	$P < 0.001$
PRM1/PRM2	10.69 ± 33.73	1.06 ± 0.61	$P < 0.01$

La coloration au bleu d'aniline a montré une corrélation négative significative entre la morphologie spermatique et l'intégrité de l'ADN spermatique [69]. Un défaut de protamination serait donc corrélé à une altération de la morphologie spermatique.

Lors de la spermiogénèse, le noyau spermatique se compacte sous l'effet du remplacement des histones par des protéines de transition (TNP 2) puis par des protamines (PRM 1 et PRM 2). Protamines et protéines de transition jouent un rôle fondamental dans la compaction et l'intégrité du génome paternel et par conséquent dans la fécondation et le développement embryonnaire.

Au cours du trajet post testiculaire et lors du transit épидидymaire, la chromatine du noyau spermatique se condense. En cas de défaut de protamination lors de la spermiogénèse, la chromatine du noyau spermatique va avoir un défaut de condensation durant le trajet post testiculaire qui va donc être fragilisée et être source d'anomalies morphologiques de la tête des spermatozoïdes.

Une de nos hypothèses serait que l'extraction des spermatozoïdes au niveau testiculaire chez les patients présentant une tératozoospermie avec un défaut de protamination de l'ADN spermatique pourrait s'avérer bénéfique en AMP.

En ce qui concerne les TESE-ICSI en cas de trouble éjaculatoire, lors d'une blessure médullaire les troubles érectiles et éjaculatoires sont très fréquents selon le niveau lésionnel. La majorité des blessures médullaires sont secondaires à des accidents et concernent des hommes jeunes ayant un projet parental. La plupart de ces hommes sont infertiles en raison d'une dysfonction érectile et éjaculatoire associés à une altération des paramètres spermatiques touchant essentiellement la mobilité et la vitalité spermatique [70]. Ceci s'explique en partie par des concentrations élevées en cytokines pro inflammatoires comme le TNF  $\alpha$ , l'IL8 et l'IL-1 $\beta$  dans le plasma séminal du fait de l'inflammation chronique du tractus génito-urinaire contribuant à l'asthénospermie et à la nécrospermie [71, 72].

Dans cette étude, le taux de fécondation était de de 55,9% +/- 29 et le taux de clivage de 53,4% +/- 29. Le taux de grossesse évolutive était de 47% et le taux de grossesses cumulées de 58,8%.

Ces résultats sont comparables avec les résultats du sous-groupe 1 (TESE pour fragmentation de l'ADN spermatique élevée) et du sous-groupe 2 (TESE pour tératozoospermie sévère).

Une étude récente s'est intéressée aux résultats de TESE-ICSI versus ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés chez 231 patients avec une nécrozoospermie persistante. Le taux de fécondation n'était pas significativement différents mais le taux d'implantation et le taux de grossesse étaient significativement plus élevés en TESE-ICSI (23.7% vs 12.7% et 36.8% vs 19.9%) ( $p = 0.0001$ ). Il en est de même pour le taux de naissances vivantes (28.6% vs 13.7%) ( $p = 0.0001$ ) [73].

Une autre étude a relevé chez 6 patients présentant une nécrozoospermie totale et persistante, un taux de fécondation et un taux de clivage en TESE-ICSI respectivement de 67% et 71% avec l'obtention d'une naissance vivante [74]. Cependant, l'effectif de cette étude est réduit et rend difficile l'interprétation des résultats.

Par ailleurs, quelques études ont montré que cette population présente un taux de fragmentation de l'ADN spermatique plus élevé que chez les sujets non atteints de trouble éjaculatoires [70], ceci peut s'expliquer par la nécrozoospermie persistante en raison d'un long délai d'abstinence [75], mais aussi par la présence d'une leucospermie du fait des infections urinaires à répétitions [76]. Le fait de réaliser une TESE-ICSI chez ces patients permettrait d'obtenir un taux de grossesse supérieur qu'avec une ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés

Il a été rapporté dans une autre étude un taux de fécondation (65% vs 77%) ( $p > 0.05$ ) et un taux de grossesse (74% vs 85%) ( $p > 0.05$ ) comparables en TESE-ICSI chez 22 sujets blessés médullaires avec un trouble éjaculatoire et chez 34 patients présentant une azoospermie obstructive [77]. Les résultats obtenus dans ce travail vont aussi dans ce sens.

Les conditions de recueil de sperme chez les patients blessés médullaires sont souvent difficiles, nécessitant une équipe pluridisciplinaire spécialisée. Le recours à la stimulation pénienne et à l'électroéjaculation endorectale est souvent vécu difficilement par les patients et nécessite parfois plusieurs prélèvements. La TESE pourrait aussi conduire à de meilleurs résultats en termes de congélation des spermatozoïdes.

## VI. CONCLUSION :

Les biopsies testiculaires en Assistance Médicale à la Procréation sont les principales indications des azoospermies obstructives et non obstructives. A travers ce travail, nous avons conduit une étude rétrospective observationnelle monocentrique, au sein du service de Procréation Médicalement Assistée de l'Hôpital Femme Mère Enfant de Bron, afin d'évaluer les résultats d'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires chez 45 patients (Groupe BTa) présentant un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé et persistant (12 patients), une tératozoospermie sévère (16 patients) ou un trouble éjaculatoire (17 patients). Ces résultats ont été comparés avec les résultats d'un groupe de 92 patients présentant en majorité une azoospermie d'origine obstructive (Groupe BTo) et avec les résultats d'un groupe de 45 patients dont la majorité présentaient une azoospermie d'origine sécrétoire (Groupe BTs) et pour lesquels la biopsie testiculaire était nécessaire pour une prise en charge en FIV-ICSI intra couple.

L'objectif principal de ce travail était de déterminer s'il y'avait un intérêt à proposer une ICSI avec des spermatozoïdes d'origine testiculaire aux patients du groupe BTa, malgré une numération suffisante en spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat, ayant eu en moyenne 3 échecs d'implantations lors de tentatives précédentes avec les spermatozoïdes éjaculés.

Les patients inclus dans ce groupe principal (Groupe BTa) ayant une moyenne d'âge de 39 ans avaient des paramètres spermatiques qui ont permis de conduire des FIV-ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés mais qui présentaient des caractéristiques laissant craindre un mauvais pronostic de développement embryonnaire à savoir :

- un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé et persistant dans l'éjaculat, malgré un traitement antioxydant, avec un index de fragmentation de l'ADN spermatique (DFI) supérieur à 15% (12 patients inclus).
- une tératozoospermie sévère isolée ou associée à d'autres altérations des caractéristiques spermatiques (16 patients inclus).

- un trouble éjaculatoire chez les patients présentant une blessure médullaire, une anéjaculation ou une éjaculation rétrograde (17 patients inclus).

Au sein de ce groupe BTa, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique des spermatozoïdes d'origine testiculaire était statistiquement inférieur à celui des spermatozoïdes dans le sperme éjaculé.

Par ailleurs, nous avons retrouvé dans cette population un taux de fécondation de 50.9% +/- 27.4 avec un taux de clivage de 48.2% +/- 28.8.

L'utilisation de spermatozoïdes testiculaire en FIV-ICSI a permis d'obtenir 19 grossesses (42%) après transfert d'embryons frais et 25 grossesses (55%) après transfert d'embryons frais et d'embryons congelés dans ce groupe principal BTa ayant eu au préalable une moyenne de 3 échecs de tentatives d'ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés.

En comparant le groupe BTa avec le groupe obstructif (BTo) et le groupe sécrétoire (BTs), nous avons relevé un taux de fécondation significativement plus élevé pour le groupe BTo par rapport au groupe BTs, toutefois la différence globale n'était pas significative.

Concernant le taux de clivage, il existe une différence significative entre le groupe BTo et le groupe BTs mais les taux de grossesses n'étaient pas significativement différents selon les groupes et il en est de même pour les taux de grossesses cumulées.

Au sein de du groupe principal (BTa), nous avons mis en évidence un taux de fragmentation de l'ADN spermatique testiculaire significativement inférieur à celui du sperme éjaculé.

Cette stratégie de prise en charge en ICSI avec spermatozoïdes testiculaires chez les patients du groupe BTa nous a permis d'obtenir des résultats comparables avec un nombre de grossesses non négligeable par rapport aux résultats des patients du groupe BTo et du groupe BTs. L'extraction testiculaire permettrait d'obtenir des spermatozoïdes avec un ADN moins endommagé pouvant conduire à un meilleur développement embryonnaire.

Les résultats de ce travail sont encourageants, néanmoins des études prospectives randomisées avec un effectif plus grand sont nécessaires afin de pouvoir conclure sur l'intérêt de la biopsie testiculaire chez les patients avec un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé, une tératozoospermie sévère ou chez les hommes présentant des troubles éjaculatoires.

Le Président de jury,  
Nom et Prénom  
Signature

P. Hervé LEJEUNE



VU,  
Le Doyen de la Faculté de Médecine  
et de Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux



Professeur Carole BURILLON

Vu et permis d'imprimer  
Lyon, le 26/03/2019

# **Bibliographie :**

- [1] Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe : new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*, 2015, 21 (4) : 411-26.
- [2] Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem A, Silber S. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 1995, 10 (6) : 1457-60.
- [3] Le Lannou D, Griveau JF, Laurent MC, Lobel B. Azoospermie et microinjection. *Andrologie*, 2001, 11 (3) : 142-8.
- [4] Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 1992, 340 (8810) : 17-8.
- [5] Jarow JP, Espeland MA, Lipshultz LI. Evaluation of the azoospermic patient. *J Urol*, 1989, 142 (1) : 62-5.
- [6] Craft I, Bennett V, Nicholson N. Fertilising ability of testicular spermatozoa. *Lancet*, 1993, 342 (8875) : 864.
- [7] Hafhouf E, Taar JP, Demouzon J, Tibi C, Levy R. ICSI with non-ejaculated sperm : What about children ? *Gynecol Obstet Fertil*, 2009, 37 (11) : 873-83.
- [8] Tournaye H, Devroey P, Liu J, Nagy Z, Lissens W, Van Steirteghem A. Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection : a new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral absence of the vas deferens. *Fertil Steril*, 1994, 61 (6) : 1045-51.
- [9] Salzbrunn A, Benson D, Holstein A. A new concept for the extraction of testicular spermatozoa as a tool for assisted fertilisation (ICSI). *Hum Reprod*, 1996, 11 (4) : 752-5.
- [10] Rosenlund B, Kvist U, Ploen L, Rozell BL, Sjoblom P, Hillensjo T. A comparison between open and percutaneous needle biopsies in men with azoospermia. *Hum Reprod*, 1998, 13 (5) : 1266-71.
- [11] Franco G, Scarselli F, Casciani V, De Nunzio C, Dente D, Leonardo C, Greco PF, Greco A, Minasi MG, Greco E. A novel stepwise micro-TESE approach in non-obstructive azoospermia. *BMC Urol*, 2016, 16 (1) : 20.
- [12] Deruyver Y, Vanderschueren D, Van der Aa F. Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia : a systematic review. *Androl*, 2014, 2 (1) : 20-4.

- [13] Turunc T, Gul U, Haydardedeoglu B, Bal N, Kuzgunbay B, Peskircioglu L, Ozkardes H. Conventional testicular sperm extraction combined with the microdissection technique in nonobstructive azoospermic patients : a prospective comparative study. *Fertil Steril*, 2010, 94 (6) : 2157-60.
- [14] Hauser R, Botchan A, Amit A, Ben Yosef D, Gamzu R, Paz G, Lessing JB, Yogev L, Yavetz H. Multiple testicular sampling in non-obstructive azoospermia—is it necessary ? *Hum Reprod*, 1998, 13 (11) : 3081-5.
- [15] Aydos K, Demirel LC, Baltaci V, Unlü C. Enzymatic digestion plus mechanical searching improves testicular sperm retrieval in non-obstructive azoospermia cases, 2005, 120 (1) : 80-6.
- [16] Modarresi T, Sabbaghian M, Shahverdi A, Hosseinfar H, Akhlaghi AA, Gilani MAS. Enzymatic digestion improves testicular sperm retrieval in non-obstructive azoospermic patients. *Iran J Reprod Med*, 2013, 11 (6) : 447-52.
- [17] Jequier AM, Ansell ID, Bullimore NJ. Congenital absence of the vasa deferentia presenting with infertility. *J Androl*, 1985, 6 (1) : 15-9.
- [18] Donat R, McNeill AS, Fitzpatrick DR, Hargreave TB. The incidence of cystic fibrosis gene mutations in patients with congenital bilateral absence of the vas deferens in Scotland. *Br J Urol*, 1997, 79 (1) : 74-7.
- [19] Esteves SC, Verza S, Prudencio C, Seol B. Success of percutaneous sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in obstructive azoospermic (OA) men according to the cause of obstruction. *Fertil Steril*, 2010, 94 (4) : S233.
- [20] American Urological Association Education and Research, Inc. The management of obstructive azoospermia : AUA best practice statement. Linthicum (MD), American Urological Association Education and Research, 2010 : 22.
- [21] Palermo GD, Schlegel PN, Hariprashad JJ, Ergün B, Mielnik A, Zaninovic N, Veeck LL, Rosenwaks Z. Fertilization and pregnancy outcome with intracytoplasmic sperm injection for azoospermic men. *Hum Reprod*, 1999, 14 (3) : 741-8.
- [22] Nagy Z, Liu J, Cecile J, Silber S, Devroey P, Van Steirteghem A. Using ejaculated, fresh, and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 1995, 63 (4) : 808-15.
- [23] Esteves SC, Verza S, Prudencio C, Seol B. Sperm retrieval rates (SRR) in nonobstructive azoospermia (NOA) are related to testicular histopathology results but not to the etiology of azoospermia. *Fertil Steril*, 2010, 94 (4) : S132.

- [24] Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL, Goldstein M, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Success of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90 (11) : 6263-7.
- [25] Turunc T, Gul U, Haydardedeoglu B, Bal N, Kuzgunbay B, Peskircioglu L, Ozkardes H. Conventional testicular sperm extraction combined with the microdissection technique in nonobstructive azoospermic patients : a prospective comparative study. *Fertil Steril*, 2010, 94 (6) : 2157-60.
- [26] Bernie AM, Mata DA, Ramasamy R, Schlegel PN. Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia : a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 2015, 104 (5) : 1099-103.
- [27] Donoso P, Tournaye H, Devroey P. Which is the best sperm retrieval technique for non-obstructive azoospermia ? A systematic review. *Hum Reprod Update*, 2007, 13 (6) : 539-49.
- [28] Verza S Jr, Esteves SC. Sperm defect severity rather than sperm Source is associated with lower fertilization rates after intracytoplasmic sperm injection. *Int Braz J Urol*, 2008, 34 (1) : 49-56.
- [29] Prudencio C, Seol B, Esteves SC. Reproductive potential of azoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection is dependent on the type of azoospermia. *Fertil Steril*, 2010, 94 (4) : S232-3.
- [30] Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation in fertile and infertile men. *Fertil Steril*, 2001, 75 (4) : 674-7.
- [31] Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanaka T. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril*, 1997, 68 (3) : 519-24.
- [32] Benchaib M, Braun V, Lornage J, Hadj S, Salle B, Lejeune H, Guérin JF. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod*, 2003, 18 (5) : 1023-8.
- [33] Guérin P, Matillon C, Bleau G, Lévy R, Ménézo Y. Impact of sperm DNA fragmentation on ART outcome. *Gynécol Obstét Fertil*, 2005, 33 (9) : 665-8.
- [34] Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D, Lewis S, Kirkman-Brown J, Coomarasamy A. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates : a systematic review and meta-analysis Lynne Robinson. *Hum Reprod*, 2012, 27 (10) : 2908-17.

- [35] Moskovtsev SI, Willis J, White J, Mullen JB. Sperm DNA Damage : Correlation to Severity of Semen Abnormalities. *Urol*, 2009, 74 (4) : 789-93.
- [36] David G, Bisson JP, CZyglyk F, Jouannet P, Gernigon C. Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain. 1) Propositions pour un système de classification. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 1975 : 17-36.
- [37] Auger J, Eustache F. Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. *Androl* , 2000, 10 (4) : 358-73.
- [38] Menkveld R, Rhemrev JP, Franken DR, Vermeiden JP, Kruger TF. Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis : relation with acrosin activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro. *Fertil Steril*, 1996, 65 (3) : 637-44.
- [39] Templado C, Hoang T, Greene C, Rademaker AW, Chernos J, Martin R. Aneuploid spermatozoa in infertile men : Teratozoospermia. *Mol Reprod Dev*, 2002, 61 (2) : 200-4.
- [40] French DB, Sabanegh Jr ES, Goldfarb J, Desai N. Does severe teratozoospermia affect blastocyst formation, live birth rate, and other clinical outcome parameters in ICSI cycles ? *Fertil Steril*, 2010, 93 (4) : 1097-103.
- [41] Hotaling JM, Smith JF, Rosen M, Muller CH, Walsh TJ. The relationship between isolated teratozoospermia and clinical pregnancy after in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection : a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 2011, 95 (3) : 1141-5.
- [42] Ben-Ami I, Raziell A, Strassburger D, Komarovskiy D, Ron-El R, Friedler S. Intracytoplasmic sperm injection outcome of ejaculated versus extracted testicular spermatozoa in cryptozoospermic men. *Fertil Steril*, 2013, 99 (7) : 1867-71.
- [43] Weissman A, Horowitz E, Ravhon A, Nahum H, Golan A, Levran D. Pregnancy and live births following ICSI with testicular spermatozoa after repeated implantation failure using ejaculated spermatozoa. *Reprod Biomed Online*, 2008, 17 (5) : 605-9.
- [44] Perrin J, Saïas-Magnan J, Thiry-Escudié I, Gannerre M, Serment G, Grillo JM, Guillemain C, Karsenty G. The spinal cord injured patient : Semen quality and management by Assisted Reproductive Technology. *Gynecol Obstet Fertil*, 2010, 38 (9) : 532-5.
- [45] Brinsden PR, Avery SM, Marcus S, Macnamee MC. Transrectal electroejaculation combined with in-vitro fertilization : effective treatment of anejaculatory infertility due to spinal cord injury. *Hum Reprod*, 1997, 12 (12) : 2687-92.
- [46] Saïdi R, Rives N, Gruel E, Mazurier S, Mousset-Siméon N, Macé B. Nouvelle classification du spermocytogramme à fort grossissement, High magnification

spermatozoa morphology evaluation. *Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, 2008, 10 (5) : 315-24.

[47] Oliveira JBA, Petersen CG, Massaro FC, Baruffi RL, Mauri AL, Silva LF, Ricci J, Franco JR. Motile sperm organelle morphology examination (MSOME) : intervariation study of normal sperm and sperm with large nuclear vacuoles. *Reprod Biol Endocrinol*, 2010, 8 (1) : 56.

[48] Oraibi HH, Mossa HAL, Al-Kawaz UM, Madeed NS. Study of Theophylline Role in Sperm Selection for Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) in Men with Non-Obstructive Azoospermia. *Pharm Sci & Res*, 2017, 9 (11) : 2286-90.

[49] Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Pölz W, Tews G. Embryo fragmentation in vitro and its impact on treatment and pregnancy outcome. *Fertil Steril*, 2001, 76 (2) : 281-5.

[50] Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of human blastocyst. In : Jansen R, Mortimer D, eds. *Towards Reproductive Certainty : infertility and genetics beyond*, Parthenon Press, Carnforth, 1999 : 378-88.

[51] Greco E, Scarselli F, Iacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, Ferrero S, Franco G, Anniballo N, Mendoza C, Tesarik J. Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICSI with testicular spermatozoa. *Hum Reprod*, 2005, 20 (1) : 226-30.

[52] Mehta A, Bolyakov A, Schlegel PN, Paduch DA. Higher pregnancy rates using testicular sperm in men with severe oligospermia. *Fertil Steril*, 2015, 104 (6) : 1382-7.

[53] Verheyen G, Vernaev V, Van Landuyt L, Tournaye H, Devroey P, Van Steirteghem A. Should diagnostic testicular sperm retrieval followed by cryopreservation for later ICSI be the procedure of choice for all patients with non-obstructive azoospermia ? *Hum Reprod*, 2004, 19 (12) : 2822-30.

[54] Karacan M, Alwaeely F, Erkan S, Çebi Z, Berberoğlugil M, Batukan M, Uluğ M, Arvas A, Çamlıbel T. 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, 100 (4) : 975-80.

[55] Habermann H, Seo R, Cieslak J, Niederberger C, Prins GS, Ross L. In vitro fertilization outcomes after intracytoplasmic sperm injection with fresh or frozen-thawed testicular spermatozoa. *Fertil Steril*, 2000, 73 (5) : 955-60.

- [56] Windt ML, Coetzee K, Kruger TF, Menkveld R, Van der Merwe JP. Intracytoplasmic Sperm Injection with Testicular Spermatozoa in Men with Azoospermia. *J Assist Reprod Genet*, 2002, 19 (2) : 53-9.
- [57] Moskovtsev SI, Jarvi K, Mullen JB, Cadesky KI, Hannam T, Lo KC. Testicular spermatozoa have statistically significantly lower DNA damage compared with ejaculated spermatozoa in patients with unsuccessful oral antioxidant treatment. *Fertil Steril*, 2010, 93 (4) : 1142-6.
- [58] Esteves SC, Sanchez-Martin F, Sanchez-Martin P, Schneider DT, Gosalvez J. Comparison of reproductive outcome in oligozoospermic men with high sperm DNA fragmentation undergoing intracytoplasmic sperm injection with ejaculated and testicular sperm. *Fertil Steril*, 2015, 104 (6) : 1398-405.
- [59] Sakkas D, Alvarez JG. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis, 2010, 93 (4) : 1027-36.
- [60] Suganuma R, Yanagimachi R, Meistrich ML. Decline in fertility of mouse sperm with abnormal chromatin during epididymal passage as revealed by ICSI. *Hum Reprod*, 2005, 20 (11) : 3101-8.
- [61] Tesarik J, Greco E, Mendoza C. Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Hum Reprod*, 2004, 19 (3) : 611-5.
- [62] Pabuccu EG, Caglar GS, Tangal S, Haliloglu AH, Pabuccu R. Testicular versus ejaculated spermatozoa in ICSI cycles of normozoospermic men with high sperm DNA fragmentation and previous ART failures. *Andrologia*, 2017, 49 (2) .
- [63] Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C, Coticchio G. Sperm DNA fragmentation : paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod*, 2006, 21 (11) : 2876-81.
- [64] Tesarik J. Paternal effects on cell division in the preimplantation embryo. *Reprod biomed online*, 2005, 10 (3) : 370-5.
- [65] Marcos JJ, Robles DD, Amorocho BB, Lopez DD, Gumbao DD, Landeras JJ. The ICSI result is not related to the strict criteria of sperm morphology. *Fertil steril*, 2009, 92(3) : S164
- [66] Nagy ZP, Liu J, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, Camus M, Derde MC, Devroey P, Van Steirteghem AC. The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Human Reprod*, 1995, 10 (5) : 1123-9.

- [67] Lundin K, Söderlund B, Hamberger L. The relationship between sperm morphology and rates of fertilization, pregnancy and spontaneous abortion in an in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection programme. *Hum Reprod*, 1997, 12 (12) : 2676-81.
- [68] Ching-Chang Tsai CC, Huang FJ, Wang LJ, Lin YJ, Kung FT, Hsieh CH, Lan KC. Clinical outcomes and development of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using extracted testicular sperm or ejaculated extreme severe oligo-asthenoteratozoospermia sperm : a comparative study. *Fertil Steril*, 2011, 96 (3) : 567-71.
- [69] Savadi-Shiraz E, Edalatkhah H, Talebi S, Heidari-Vala H, Zandemami M, Pahlavan S, Modarressi MH, Akhondi MM, Paradowska-Dogan A, Sadeghi MR. Quantification of sperm specific mRNA transcripts (PRM1, PRM2, and TNP2) in teratozoospermia and normozoospermia : New correlations between mRNA content and morphology of sperm. *Mol Reprod Dev*, 2015, 82 (1) : 26-35.
- [70] Brackett NL, Ibrahim E, Grotas JA, Aballa TC, Lynne CM. Higher sperm DNA damage in semen from men with spinal cord injuries compared with controls. *J Androl*, 2008, 29 (1) : 93-9.
- [71] Basu S, Aballa TC, Ferrell SM, Lynne CM, Brackett N. Inflammatory Cytokine Concentrations Are Elevated in Seminal Plasma of Men with Spinal Cord Injuries. *J Androl*, 2004, 25 (2) : 250-4.
- [72] Brackett NL, Cohen DR, Ibrahim E, Aballa TC, Lynne CM. Neutralization of cytokine activity at the receptor level improves sperm motility in men with spinal cord injuries. *J Androl*, 2007, 28 (5) : 717-21.
- [73] Negri L, Patrizio P, Albani E, Morengi E, Benaglia R, Desgro M. ICSI outcome is significantly better with testicular spermatozoa in patients with necrozoospermia : a retrospective study. *Gynecol Endocrinol*, 2014, 30 (1) : 48-52.
- [74] Tournaye H, Liu J, Nagy Z, Verheyen G, Van Steirteghem A, Devroey P. The use of testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in patients with necrozoospermia. *Fertil Steril*, 1996, 66 (2) : 331-4.
- [75] Guérin P, Matillon C, Bleau G, Lévy R, Ménézo Y. Impact of sperm DNA fragmentation on ART outcome. *Gynecol Obstet Fertil*, 2005 ; 33 (9) : 665-8.
- [76] Alvarez JG, Sharma RK, Ollero M, Saleh RA, Lopez MC, Thomas AJ Jr, Evenson DP, Agarwal A. Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril*, 2002, 78 (2) : 319-29.
- [77] Kanto S, Hirofumi U, Toya M, Ohnuma T, Arai Y, Kyono K. Fresh testicular sperm retrieved from men with spinal cord injury retains equal fecundity to that from men with

obstructive azoospermia via intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril, 2009, 92 (4) : 1333-6.

KAROUI Sara Nadia

**Nouvelles indications de biopsies testiculaires en cas de fragmentation de l'ADN spermatique élevée, de tératozoospermie sévère ou de trouble éjaculatoire :  
Résultats en Fécondation In Vitro avec micro injection (FIV-ICSI)**

Thèse de Médecine : Lyon 2019, N° 84

RESUME

**INTRODUCTION :** L'injection intra-cytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI) après extraction testiculaire chirurgicale (TESE) a été développée initialement pour les patients présentant une azoospermie obstructive puis pour les azoospermies d'origine sécrétoire et est devenue une alternative possible au don de sperme. En cas d'augmentation du taux de fragmentation de l'ADN spermatique, d'une altération sévère de la morphologie spermatique ou d'un trouble éjaculatoire, le recours à la TESE pour une prise en charge en AMP pourrait être proposé soit en première intention, soit en cas d'échecs des tentatives précédentes en FIV-ICSI. L'objectif principal de ce travail était d'évaluer les résultats obtenus en TESE-ICSI chez ces patients. L'objectif secondaire était de comparer ces résultats avec les résultats des TESE-ICSI dans le cas d'une azoospermie obstructive ou sécrétoire.

**MATERIELS ET METHODES:** Une étude rétrospective observationnelle monocentrique a été menée entre janvier 2015 et juin 2018 incluant 182 patients ayant consulté pour une infertilité masculine dans le service de médecine et de biologie de la reproduction de l'Hôpital Femme-Mère-Enfant à Bron. La population principale (**groupe BTa**) se composait de 45 patients répartis en 3 sous-groupes : 12 patients avec un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé (sous-groupe 1), 16 patients avec une tératozoospermie sévère (sous-groupe 2) et 17 patients avec un trouble éjaculatoire (sous-groupe 3). Les deux autres groupes se composaient de 92 patients avec une azoospermie obstructive (**groupe BTo**) et 45 patients avec une azoospermie sécrétoire (**groupe BTs**). Le taux de fragmentation de l'ADN spermatique et les résultats des TESE-ICSI ont été étudiés dans chaque sous-groupe du groupe BTa ainsi que dans le groupe BTo et BTs.

**RESULTATS :** Au sein du groupe BTa, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique des spermatozoïdes testiculaires était statistiquement inférieur à celui des spermatozoïdes éjaculés (16,07 % ± 11,22 vs 29,71 % ± 15,96) (p=0.006). Par ailleurs, dans ce groupe BTa, le taux de fécondation était de 50.9 % +/- 27.4 avec un taux de clivage de 48.2 % +/- 28.8. L'utilisation de spermatozoïdes testiculaires en FIV-ICSI a permis d'obtenir 19 grossesses (42%) après transfert d'embryons frais et 25 grossesses cumulées (55%) pour ces 45 couples du groupe principal ayant eu au préalable une moyenne de 3 échecs de tentatives d'ICSI avec les spermatozoïdes éjaculés. En comparant le groupe BTa avec le groupe obstructif (BTo) et le groupe sécrétoire (BTs), le taux de fécondation était plus élevé pour le groupe BTo comparé aux deux autres groupes, toutefois cette différence globale n'était pas significative. Le taux de fécondation et le taux de clivage étaient statistiquement supérieurs pour le groupe BTo par rapport au groupe BTs. Les taux de grossesses n'étaient pas significativement différents entre les groupes et il en est de même pour les taux de grossesses cumulées.

**DISCUSSION :** L'intégrité de l'ADN spermatique est capitale pour la fécondation, le développement embryonnaire et l'implantation de l'embryon. Ce travail a révélé au sein du groupe BTa, une diminution presque de moitié du taux de fragmentation de l'ADN spermatique testiculaire comparé au taux de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes éjaculés. Les résultats comparables, en termes de taux de fécondation, de clivage, de grossesse évolutive et de grossesse cumulée, obtenus entre les 3 groupes sont rassurants et encourageants. L'extraction testiculaire permettrait d'obtenir des spermatozoïdes avec un ADN moins fragmenté pouvant conduire à un meilleur développement embryonnaire. Il semblerait que l'ADN spermatique et la stabilité membranaire se modifient au cours du transit épидidymaire. Il faudrait confirmer ces résultats par une étude prospective randomisée avec un plus grand effectif afin de conclure sur l'intérêt de la biopsie testiculaire dans le cadre d'une prise en charge en AMP chez les patients avec un taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé et persistant, une tératozoospermie sévère ou chez les hommes présentant des troubles éjaculatoires soit en première intention, soit en cas d'échecs en FIV-ICSI avec spermatozoïdes éjaculés.

**MOTS CLES :** Injection intra-cytoplasmique, biopsie testiculaire, TESE, TESE-ICSI, taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé, tératozoospermie sévère, trouble éjaculatoire, azoospermie obstructive, azoospermie sécrétoire.

**JURY :**  
Président : Monsieur le Professeur Hervé LEJEUNE  
Membres : Monsieur le Professeur Bruno SALLE  
Madame le Professeur Christine VINCIGUERRA  
Madame le Docteur Sandrine GISCARD D'ESTAING  
Madame le Docteur Jacqueline LORNAGE  
Monsieur le Docteur Mehdi BENCHAIB

**DATE DE SOUTENANCE :** Lundi 29 Avril 2019

**ADRESSE DE L'AUTEUR :** 223 Avenue Lacassagne 69003 Lyon