



Université Lille 2  
Droit et Santé

UNIVERSITÉ DU DROIT ET DE LA SANTÉ - LILLE 2  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2014

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Résultats des cycles d'ICSI en cas d'oligozoospermie extrême ou  
d'azoospermie non obstructive.**

**Analyse comparative de 311 cycles.**

Présentée et soutenue publiquement le 28 mai 2014 à 16h  
au Pôle Formation  
par **Pauline PLOUVIER**

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Didier DEWAILLY**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Professeur Damien SUBTIL**

**Madame le Docteur Sophie JONARD-CATTEAU**

**Monsieur le Docteur Jean-Marc RIGOT**

**Madame le Docteur Valérie LEFEBVRE-KHALIL**

**Directeur de Thèse :**

**Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN**

## **Avertissement**

**La faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

# SOMMAIRE

<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>3</b>
<b>MATERIEL ET MÉTHODE .....</b>	<b>5</b>
Patients .....	5
Bilan andrologique .....	5
Autoconservations pour les oligozoospermies .....	8
Méthode d'extraction chirurgicale des spermatozoïdes en cas d'azoospermie .....	9
Conjointes, stimulation ovarienne et ponction ovocytaire .....	11
Procédure d'ICSI .....	12
Analyse statistique .....	15
<b>RÉSULTATS .....</b>	<b>16</b>
Description de la population .....	16
Description des résultats des cycles d'ICSI .....	21
Description des résultats cliniques .....	23
Tentatives d'ICSI sur pailles autoconservées : profil andrologique et issue clinico-biologique .....	27
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>42</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>43</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>47</b>

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

AMH :	Hormone Anti-Müllerienne
AMP :	Assistance Médicale à la Procréation
AZF :	Azoospermia Factor
ANO :	Azoospermie Non Obstructive
FIV :	Fécondation In Vitro
FSH :	Follicle Stimulating Hormone
LH :	Luteinizing Hormone
HCG :	Human Chorionic Gonadotropin
HMG :	Human Menopausal Gonadotropin
ICSI :	Intra Cytoplasmic Sperm Injection
TESE :	Testicular Sperm Extraction
WHO :	World Health Organisation

## Introduction

En 1992, Palermo et al. (1) ont publié la première naissance obtenue en ICSI (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection), technique qui consiste à micro-injecter un spermatozoïde vivant directement dans le cytoplasme de l'ovocyte. Depuis, l'ICSI est le traitement de choix des patients présentant des altérations spermatiques sévères. L'année suivante, le prélèvement chirurgical de spermatozoïdes a révolutionné la prise en charge des patients souffrant d'azoospermie (absence totale de spermatozoïde observé dans l'éjaculat) (2). Avant l'avènement de ces techniques, la seule possibilité pour un homme présentant une azoospermie ou une oligospermie extrême, d'avoir un enfant, était le recours au don de spermatozoïdes.

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

- Soit le patient est réellement azoospermique (absence de spermatozoïde après centrifugation du sperme) et il faut envisager, si le diagnostic se confirme, un prélèvement chirurgical de spermatozoïdes (2) ;
- Soit des spermatozoïdes sont observés après centrifugation du sperme et on parle alors de cryptoazoospermie. Dans cette situation, des tentatives d'autoconservations puis des tentatives d'ICSI sur sperme éjaculé pourront alors être réalisées (3,4).

D'autres patients présenteront d'emblée à l'examen direct du sperme quelques rares spermatozoïdes (oligozoospermie extrême). La prise en charge thérapeutique sera alors similaire et tout aussi délicate que celle des patients présentant une cryptoazoospermie (3,4).

Toutes ces situations constituent un véritable challenge pour les médecins et biologistes de la reproduction. En effet, la prise en charge des patients pour lesquels

une quantité extrêmement faible de spermatozoïdes est observée dans l'éjaculat, reste difficile et fastidieuse.

Ainsi, certaines équipes ont proposé le recours à la biopsie testiculaire chez ces patients dont la numération spermatique est extrêmement faible (5–8).

Le but de cette étude est d'évaluer si l'origine spermatique, éjaculat ou testiculaire, influence l'issue clinico-biologique d'une tentative d'ICSI dans les situations d'altérations spermatiques extrêmes. Pour cela, nous avons comparé un groupe de patients présentant une oligozoospermie extrême et/ou une cryptozoospermie ayant bénéficié de tentatives d'ICSI avec sperme éjaculé à un groupe de patients présentant une azoospermie non obstructive, pour lesquels les tentatives ont été réalisées avec spermatozoïdes testiculaires extraits chirurgicalement. Nous nous sommes également intéressés au profil andrologique des patients dans ces deux groupes.

## **Matériel et Méthode**

### **Patients**

Dans cette étude rétrospective, ont été inclus tous les patients présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie non obstructive (ou sécrétoire) et ayant bénéficié d'une ou de plusieurs tentatives d'ICSI entre janvier 2007 et juin 2013 au CHRU de Lille.

Le diagnostic d'oligozoospermie extrême/cryptozoospermie a été évoqué devant au moins trois spermogrammes montrant moins de 10 000 spermatozoïdes dans l'éjaculat après examen du culot de centrifugation (numération spermatique normale > à 39 millions / éjaculat, normes OMS 2010). Tous les spermogrammes ont été réalisés au laboratoire de spermologie du CHRU de Lille dans des conditions optimales d'analyse.

Les caractéristiques phénotypiques de cette population ainsi que les résultats des tentatives d'ICSI ont été comparés à un groupe de patients présentant une azoospermie d'origine sécrétoire. L'azoospermie a été confirmée sur au moins 3 spermogrammes, réalisés à au moins 3 mois d'intervalle. Ces patients ont tous bénéficié d'une extraction chirurgicale de spermatozoïdes testiculaires (TESE, Testicular Sperm Extraction). Les spermatozoïdes étaient cryopréservés au décours de la TESE et utilisés ultérieurement pour réaliser l'ICSI (TESE-ICSI désynchrone).

### **Bilan Andrologique**

Les patients ont été suivis dans le service d'Andrologie du CHRU de Lille. Pour chaque patient, ont été répertoriés l'âge au moment de la tentative (en cas

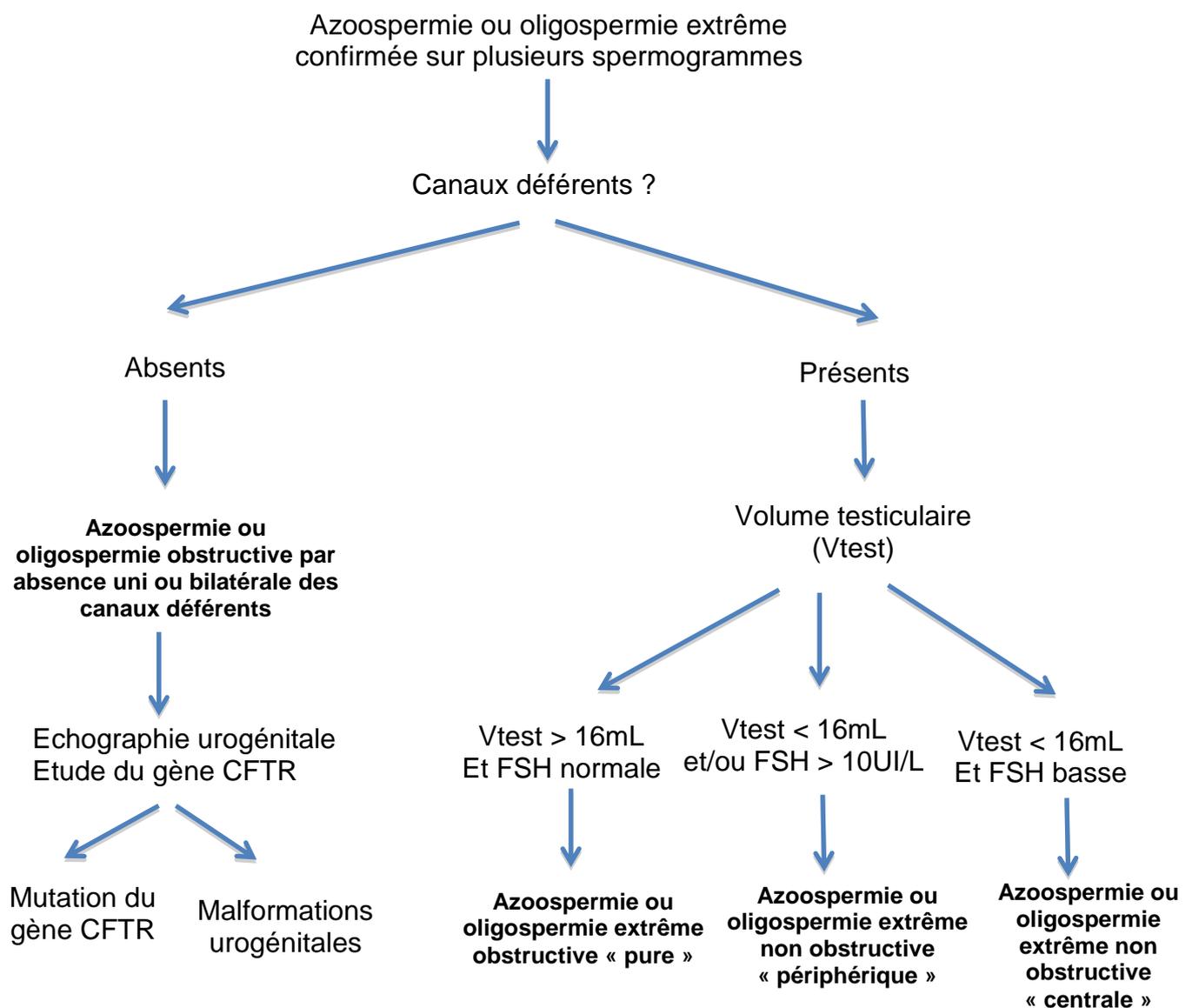
d'oligozoospermie extrême) ou l'âge au moment de la TESE (en cas d'azoospermie non obstructive) et l'existence d'antécédents ou de facteurs pouvant altérer la spermatogenèse (tabagisme, obésité, antécédent de cryptorchidie, traumatisme testiculaire, traitement gonadotoxique, torsion testiculaire, chirurgie de hernie inguinale et infections génitales) (9,10) .

Puis, chaque patient a bénéficié (9,10):

- D'un examen clinique permettant de préciser les volumes testiculaires, d'éliminer la présence de nodule ou de varicocèle, de caractériser les voies excrétrices spermatiques (canaux déférents et épидидymes), de vérifier leurs présences ainsi que l'absence de dilatation et d'évaluer le degré d'androgénisation.
- D'une échographie scrotale, réalisée à l'aide d'une sonde de haute fréquence (minimum 10 MHz) pour une mesure précise du volume testiculaire. L'hypotrophie testiculaire étant définie par un volume inférieur à 16 ml (11,12). En cas de suspicion d'atteinte des voies excrétrices profondes (absence de canaux déférents, dilatation épидидymaire), une échographie par voie endorectale était pratiquée pour étudier plus précisément le carrefour prostatovésiculodéférentiel.
- D'un bilan hormonal avec dosage de la FSH plasmatique par chimiluminescence [2 à 10 UI/L] et de l'inhibine B par la technique ELISA [86 à 268 pg/mL] afin d'évaluer la fonction sertolienne et de la testostérone totale par technique de Radio-Immuno-Assay [2,3 à 6,7 ng/mL] afin d'explorer la fonction leydigienne.

- D'une analyse génétique avec la réalisation d'un caryotype constitutionnel en résolution standard et la recherche de microdélétions des régions AZFa, AZFb et AZFc situées sur le bras long du chromosome Y (par PCR multiplex).
- D'une spermoculture afin d'éliminer une infection spermatique.
- Des sérologies virales réglementaires (VIH, VHC, VHB, syphilis) obligatoires avant toute prise en charge en assistance médicale à la procréation en France.

L'origine sécrétoire ou obstructive des altérations spermatiques est définie par l'algorithme suivant (13):



Au terme de ce bilan, ont été exclus de cette étude les patients présentant une oligozoospermie ou une azoospermie d'origine obstructive (les agénésies des canaux déférents ou des vésicules séminales, les obstructions des voies séminales, les anomalies de la biochimie séminale ou les antécédents de vasectomie...) ou mixte (à la fois sécrétoire et obstructive).

Nous avons donc inclus 75 patients (n= 161 cycles) dans le groupe « oligozoospermie extrême/cryptozoospermie » et 74 patients (n= 150 cycles) dans le groupe « azoospermie non obstructive ».

### **Autoconservation pour les oligozoospermies**

Pour les patients présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie, la numération spermatique peut fluctuer au cours du temps. Pour pallier à une absence de spermatozoïde injectable dans l'éjaculat le jour de la ponction ovocytaire, des autoconservations de sperme sont réalisées et renouvelées plusieurs fois si besoin afin de disposer d'un stock suffisant de spermatozoïdes cryopréservés (4).

En effet, le recueil s'effectue au laboratoire le matin de la ponction ovocytaire après 3 à 4 jours d'abstinence. Après liquéfaction, un examen direct est réalisé en observant une goutte de 20  $\mu$ L de sperme entre lame et lamelle, au microscope inversé, permettant une première estimation de la numération et de la mobilité spermatique. Puis l'ensemble de l'éjaculat est lavé volume à volume dans un milieu de culture (FERTICULT, fertipro). Le culot de centrifugation est ensuite remis en suspension.

La suspension spermatique ainsi obtenue est répartie en 5 microgouttes calibrées de 5  $\mu$ L, recouvertes d'huile, dans une boîte de culture stérile. Celle-ci est incubée au

moins 10 minutes à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>. La lecture se fait goutte par goutte, au microscope inversé, équipé d'une platine chauffante, au grossissement 400.

Le nombre de spermatozoïdes mobiles ou vivants est estimé, ainsi que les principales anomalies morphologiques.

A l'issue de cette procédure, le volume restant est congelé en paillettes haute sécurité et conservé dans l'azote liquide à – 196 °C.

### **Méthode d'extraction chirurgicale en cas d'azoospermie.**

Dans notre centre, le prélèvement de pulpe testiculaire s'effectue sous anesthésie générale. Après exposition du testicule, le chirurgien effectue une incision scrotale centimétrique permettant une ouverture du plan cutané, puis de la vaginale et enfin de l'albuginée. Après extériorisation de la pulpe testiculaire, un fragment est prélevé aux ciseaux et envoyé directement au laboratoire de médecine de la reproduction afin d'y être analysé. Une petite fraction est systématiquement conservée pour analyse histologique (13). Après hémostase, l'albuginée et la vaginale sont refermées par un surjet au Vicryl 2.0 et le plan cutané par des points de Blair Donaty. Un pansement compressif est laissé en place pendant 6 à 8 heures.

Le prélèvement testiculaire est dans la grande majorité des cas bilatéral. Un abord unilatéral peut être réalisé en cas d'anomalie parenchymateuse controlatérale (micronodules) constatée lors de l'échographie pré-opératoire. Dans ce cas, on évite d'intervenir sur ce testicule afin de ne pas altérer la surveillance ultérieure.

Au laboratoire de biologie de la reproduction, le tissu testiculaire est pesé puis dilacéré de façon mécanique à l'aide de scalpels. Le produit de dilacération est ensuite aspiré et introduit dans un tube conique stérile de 2 ml (tube Eppendorf®).

Puis, grâce à des mouvements de frottements rotatifs exercés par une aiguille, les cellules germinales sont séparées des cellules somatiques. A partir de la suspension obtenue, 5 gouttes calibrées de 5  $\mu$ L sont déposées dans une boîte de culture stérile, mise sous huile et incubée à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>. Après 20 minutes d'incubation, chacune des gouttes est observée au microscope inversé en contraste de phase, équipée d'une platine chauffante. En présence de spermatozoïdes, le reste de la préparation est congelé après l'avoir mélangé volume à volume à un cryoprotecteur. Des paillettes haute sécurité sont ensuite confectionnées, et cryopréservées à moins 196°C dans des cuves contenant de l'azote liquide (13).

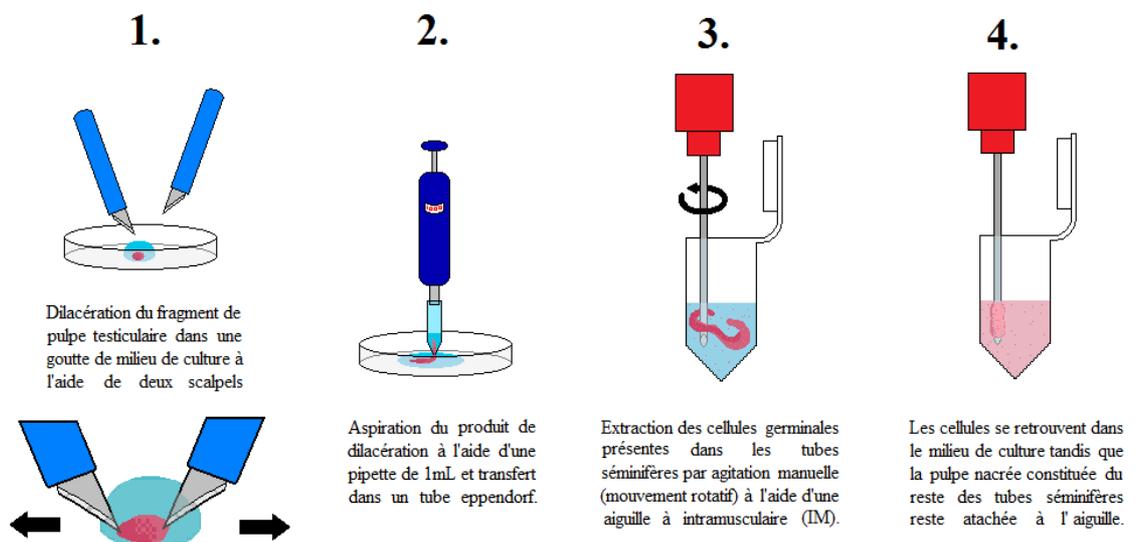


Figure 1 : Traitement de la pulpe testiculaire au laboratoire de biologie de la reproduction (D'après Agathe VICI)

### **Conjointes, stimulation ovarienne et ponction ovocytaire**

Les couples sont tous pris en charge par le service d'Assistance Médicale à la Procréation au CHRU de Lille. Les conjointes bénéficient d'un bilan hormonal complet (oestradiol, FSH, LH, AMH, testostérone totale,  $\Delta$ 4-androstènedione, 17-hydroxyprogestérone, prolactine, TSHus) et d'une échographie pelvienne entre le 2<sup>ème</sup> et le 5<sup>ème</sup> jour du cycle menstruel afin d'évaluer leur réserve ovarienne, ainsi qu'une hystérosalpingographie.

À l'issue de ce bilan, nous avons distingué les patientes présentant une baisse de la réserve ovarienne (AMH inférieure à 12 pmol/l et/ou moins de 5 follicules / ovaire à l'échographie), un syndrome des ovaires micropolykystiques (défini selon les critères de Rotterdam) (14), une endométriose ou une pathologie tubaire.

Les patientes ont bénéficié d'un protocole d'hyperstimulation ovarienne contrôlée associant un agoniste ou un antagoniste de la GnRH (Gonadotropin-releasing hormone) et des gonadotrophines (FSH recombinante ou urinaire ou HMG). La dose quotidienne de gonadotrophines est choisie en tenant compte de l'âge, de l'IMC, de l'AMH et du compte de follicules antraux. Au cours de la stimulation, les patientes bénéficient d'un monitoring consistant en des dosages hormonaux (taux d'oestradiol et de LH) couplés à une échographie pelvienne par voie vaginale. Lorsque la réponse est jugée satisfaisante (plus de 3 follicules > 17 mm), une injection sous cutanée de 250 µg d'HCG recombinante (*OVITRELLE®*, Merck-Serono Lyon, France) est réalisée pour assurer la maturation folliculaire et ovocytaire terminale.

La ponction ovocytaire échoguidée a lieu 36 heures après l'injection d'HCG, sous diazanalgésie, au bloc opératoire, par voie transvaginale. Les ovocytes ainsi

recueillis sont immédiatement placés dans une étuve à 37°C et transportés au laboratoire de biologie de la reproduction afin d'y être analysés.

Dès le soir de la ponction, les patientes reçoivent un soutien de phase lutéale par progestérone en intravaginale à raison de 200 mg, 3 fois par jour, jusqu'à la réalisation du test de grossesse.

### **Procédure d'ICSI (Intra Cytoplasmique Sperm Injection)**

Pour les patients présentant une oligozoospermie extrême, un recueil de sperme a lieu au laboratoire le matin de la ponction ovocytaire. Si cela est possible, le sperme frais est toujours utilisé en priorité. En cas d'absence de spermatozoïde sur l'ensemble de l'éjaculat, un second recueil est effectué quelques heures après le premier. Si aucun spermatozoïde n'est observé sur les 2 recueils, alors l'utilisation d'une ou de plusieurs pailles autoconservées est envisagée pour la réalisation de l'ICSI. Le nombre de pailles autoconservées utilisées est fonction du nombre d'ovocytes matures en métaphase II obtenus lors de la ponction ovocytaire et du nombre de spermatozoïdes mobiles ou vivants injectables observés après décongélation. Pour les patients présentant une azoospermie, nous procédons d'emblée à la décongélation d'une ou de plusieurs pailles. Les spermatozoïdes sont sélectionnés en fonction de leur mobilité et de leur morphologie. Lorsque les spermatozoïdes observés sont immobiles, un test hypo-osmotique permet d'évaluer la vitalité spermatique. Seuls les spermatozoïdes vivants seront utilisés pour l'injection des ovocytes. Le spermatozoïde choisi est aspiré par une pipette dite « d'injection » et est déposé directement dans le cytoplasme d'un ovocyte mature (en métaphase II), à l'aide d'un micromanipulateur.

Si cela est possible, tous les ovocytes matures sont microinjectés (nécessitant parfois de décongeler plusieurs pailles).

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

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

Les embryons « top quality » sont définis par la présence de 4 à 5 blastomères à J2 ou de 7 à 8 blastomères à J3, blastomères typiques, réguliers et avec un taux de fragmentation inférieur à 10% (15).

Le transfert intra utérin du ou des embryons se fait à J2 ou J3 par le médecin gynécologue à l'aide d'un cathéter Ellios®. La patiente est installée en position gynécologique avec mise en place d'un spéculum. Le cathéter contenant le ou les embryon(s) choisi(s), est introduit dans la cavité utérine puis ceux-ci sont déposés à 1,5 - 2 centimètres du fond de la cavité. Le cathéter est ensuite immédiatement examiné au microscope après le geste afin de s'assurer que les embryons ont bien été déposés dans la cavité utérine.

En fonction de leur qualité, les embryons surnuméraires sont cryopréservés.

Dans tous les cas, 14 jours après la ponction ovocytaire, les patientes réalisent un dosage d'HCG plasmatique quantitatif. En cas de positivité, le traitement par progestérone en intravaginal sera poursuivi jusqu'à 8 semaines d'aménorrhée.

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

## **Analyse Statistique**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS version 22.0.

Compte tenu de la distribution discontinue des variables quantitatives, le test non paramétrique de Mann Whitney a été utilisé pour comparer les moyennes et les médianes.

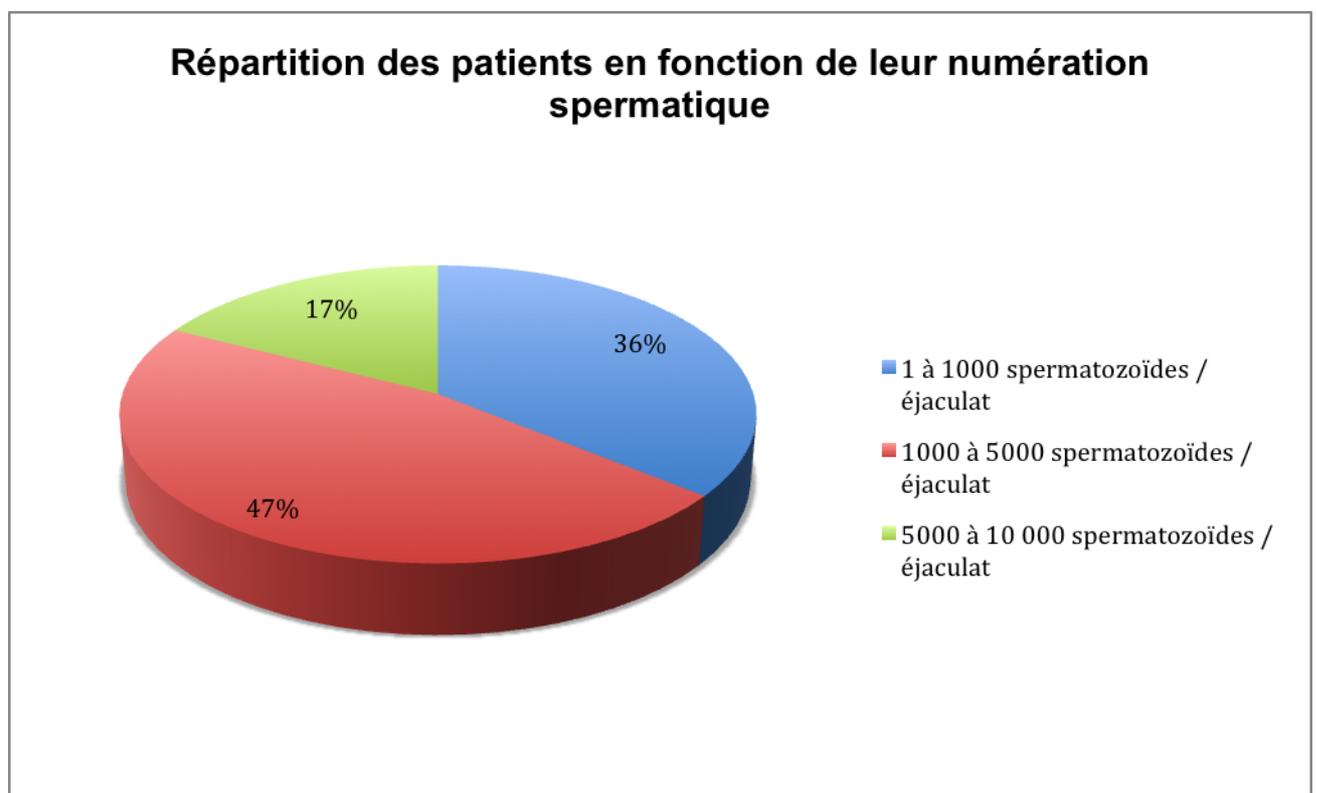
Concernant les variables qualitatives, un test du Chi 2 ou un test Fisher Exact a été réalisé selon les effectifs.

Les différences étaient considérées comme statistiquement significatives lorsque la valeur du p était inférieure à 0,05.

## Résultats

### Description de la population.

Sur la période d'analyse, 75 patients ont présenté une oligozoospermie extrême et/ou une cryptozoospermie non obstructive. Dans ce groupe, 161 cycles d'ICSI ont été réalisés. Le groupe azoospermie non obstructive est constitué de 74 patients qui ont bénéficié au total de 150 cycles d'ICSI.



Les caractéristiques phénotypiques des patients sont présentées dans le **tableau 1**. On remarque une différence significative concernant l'antécédent de cryptorchidie. En effet, 60,8% des patients azoospermiques présentent un antécédent de cryptorchidie uni ou bilatérale contre 22,6 % des oligozoospermies extrêmes/cryptozoospermies ( $p < 0,001$ ). Par ailleurs, le taux de varicocèle clinique

est significativement plus élevé dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie, cependant tous les patients ont été traités par embolisation de la veine spermatique avant le début de la prise en charge en AMP, ce qui n'influe donc pas sur nos résultats.

Les anomalies génétiques dans chaque groupe étaient les suivantes :

- Dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie :
  - o microdélétion du bras long du chromosome Y de type AZFc (n=4)
  - o translocation robertsonienne 14/21 (n=1)
  - o caryotype 47,XYY (n=3)
  - o anomalie génétique Kal-1 de transmission récessive liée à l'X (n=1)
  - o mutation hétérozygote du gène GPR 54, de transmission autosomique dominante (n=1)
  
- Dans le groupe azoospermie non obstructive :
  - o Syndrome de Klinefelter, caryotype 47, XXY (n=5)

Pour les 2 patients qui présentaient une anomalie génétique (KAL-1 et GPR 54) responsable d'un hypogonadisme hypogonadotrope, une atteinte périphérique était associée puisqu'il persistait une oligozoospermie extrême malgré un traitement de stimulation de la spermatogenèse pendant plus d'1 an. Le patient présentant une anomalie génétique KAL-1 avait comme antécédent une cryptorchidie unilatérale ce qui peut expliquer, en partie, l'atteinte périphérique associée.

Au niveau hormonologique, les patients présentant une azoospermie non obstructive ont un taux de FSH plasmatique significativement plus élevé (15,3 UI/L vs 18,9 UI/L,

p=0,001) et une inhibine B plus souvent indosable (10,7% vs 31,1%, p=0,0004) que les oligozoospermies extrêmes. Le seuil de détection de l'inhibine B étant de 15 pg/ml dans notre laboratoire. On constate également une testostéronémie totale significativement plus basse chez les azoospermiques (4,3 ng/ml vs 3,9 ng/ml, p=0,017), mais qui reste néanmoins normale dans les deux groupes.

**TABLEAU 1 Comparaison des phénotypes andrologiques**

	Oligozoospermie extrême/cryptozoospermie	Azoospermie	p
Nombre de patients	75	74	-
Âge*	33 [28-41]	32 [27-41]	0,32
IMC*	24.9 [21,3-32,2]	26.5 [22,3-30,3]	0,25
Tabac	38,6% (n=29)	40,5% (n=30)	0,82
<b>Cryptorchidie</b>	<b>22,6% (n=17)</b>	<b>60,8% (n=45)</b>	<b>&lt;0,001</b>
% de cryptorchidie bilatérale	58,8% (n=10)	57,8% (n=26)	0,89
% de cryptorchidie unilatérale	41,2% (n=7)	42,2% (n=19)	0,89
Cure Hernie Inguinale	5% (n=4)	13% (n=10)	0,087
Traitement Gonadotoxique	9% (n=7)	4% (n=3)	0,32
<b>Varicocèle Clinique</b>	<b>19,4% (n=14)</b>	<b>2,7% (n=2)</b>	<b>0,001</b>
Anomalie Génétique	13,3% (n=10)	6,7% (n=5)	0,18
<b>FSH (UI/L)*</b>	<b>15.3 [5,9-27,0]</b>	<b>18.9 [9,0-46,5]</b>	<b>0,001</b>
Inhibine B (pg/ml)*	42 [19,0-111,4]	39,5 [16,0-81,5]	0,17
<b>Inhibine B indosable (%)</b>	<b>10,7% (n=8)</b>	<b>31,1% (n=23)</b>	<b>0,0004</b>
<b>Testostérone Totale (ng/ml)*</b>	<b>4,3 [2,8-7,2]</b>	<b>3,9 [2,4-5,7]</b>	<b>0,017</b>
Volume testiculaire total (ml) (droit+gauche)*	16,3 [9,0-25,5]	14,8 [6,8-22,8]	0,06
Nodules testiculaires	12% (n=9)	16% (n=12)	0,46
Microcalcifications	20% (n=15)	19% (n=14)	0,86
Nombre de recueils/patient*	3 [1-6]	-	-
Nombre de pailles autoconservées/patient (ICSI compatibles)*	4 [2-9]	5 [2-10]	-

\*les résultats sont exprimés en médiane [10<sup>ème</sup> – 90<sup>ème</sup> percentile]

Inhibine B : ne concerne que les patients avec un taux d'inhibine B supérieur à la limite de détection (soit > 15 pg/ml)

Concernant les conjointes, celles-ci sont comparables sur l'âge, l'IMC et la réserve ovarienne.

Les caractéristiques cliniques féminines sont présentées dans le **tableau 2**.

**Tableau 2: Caractéristiques des conjointes**

	Oligozoospermie extrême/ cryptozoospermie	Azoospermie	p
Nombre de patientes	75	74	-
Âge*	30 [25-37]	30,5 [24-36]	0,84
IMC*	22 [18,8-29,5]	23 [19-30]	0,12
AMH (pmol/l)*	26,3 [11,2-49,6]	28,4 [10,6-55,8]	0,59
Baisse de la réserve ovarienne	14,7% (n=11)	12,1% (n=9)	0,65
SOPK+OPK échographique	18,7% (n=14)	28,4% (n=21)	0,16
Endométriose	5% (n=4)	0%	0,12

\* les résultats sont exprimés en médiane [10<sup>ème</sup> – 90<sup>ème</sup> percentile]

### **Description des résultats des cycles d'ICSI**

Le **tableau 3** résume les résultats des cycles d'ICSI avec l'utilisation de spermatozoïdes éjaculés versus spermatozoïdes testiculaires.

Pour l'ensemble des patients présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie, 142 tentatives ont pu être réalisées avec sperme frais alors que dans 11,8% des cas (19 tentatives) il a été nécessaire de recourir au sperme autoconservé précédemment.

**Tableau 3 : Résultats des cycles d'ICSI par ponction**

	Oligozoospermie extrême/ cryptozoospermie	Azoospermie	p
Nb de couples	75	74	-
Nb de ponctions	161	150	-
Nb d'ovocytes ponctionnés*	10 [4-16,4]	10 [4-17,5]	0,38
Nb d'ovocytes méta II injectés*	6 [1-13,4]	7 [2-13]	0,42
Taux de fécondation <i>(nombre de zygotes / nombre d'ovocytes injectés)</i>	48,9 %	43,3 %	0,43
Nb de zygotes*	3 [0-7]	3 [1-6]	0,86
Nb d'embryons obtenus*	3 [0-6]	2 [0-5,5]	0,37
Nb de Top embryon / Nb total d'embryon	22,4% (n=112)	20,4% (n=85)	0,73
Nombre de TEF + TEC	166	146	-
Nb total d'embryons transférés par tentative ( <i>TEC+TEF</i> )*	2 [0-4]	2 [0-3]	0,56
Taux d'implantation <i>(nombre de sacs échographiques / nombre d'embryons transférés)</i>	17,4 %	15,9 %	0,77
Taux de Fausses Couches Spontanées Précoces	12,8%	12,5%	0,95
% de cycle avec congélation embryonnaire	28,6%	21,3%	0,14
Si congélation embryonnaire : Nb embryons congelés*	2 [1-3]	2 [1-3,8]	0,69
Nb embryons congelés / (Nb embryons total-Nb embryons transférés en frais)	49,3%	40,1%	0,19

\* les résultats sont exprimés en médiane [10<sup>ème</sup> – 90<sup>ème</sup> percentile]

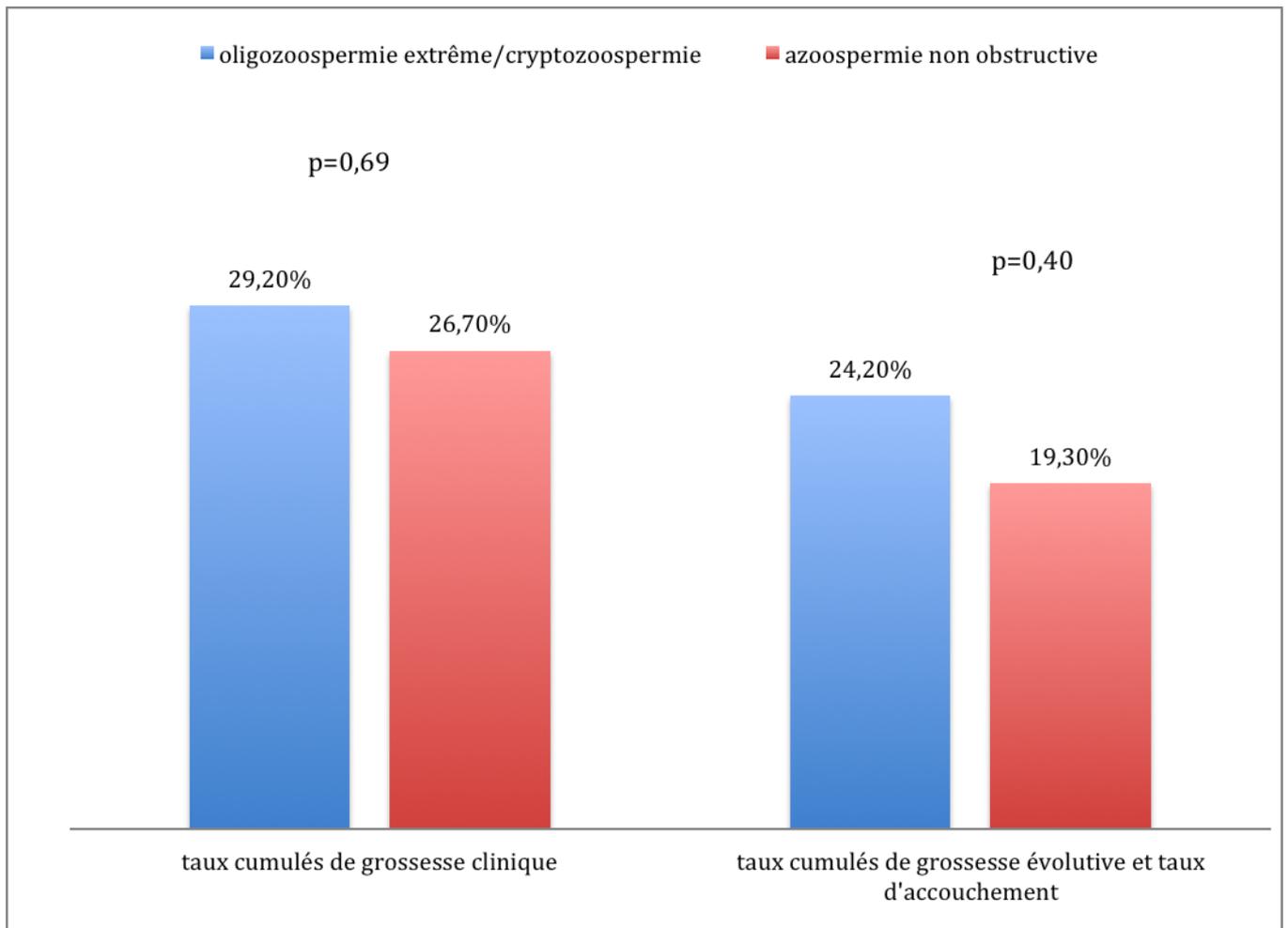
TEF : transfert d'embryons frais ; TEC : transfert d'embryons congelés ;

### **Description des résultats cliniques**

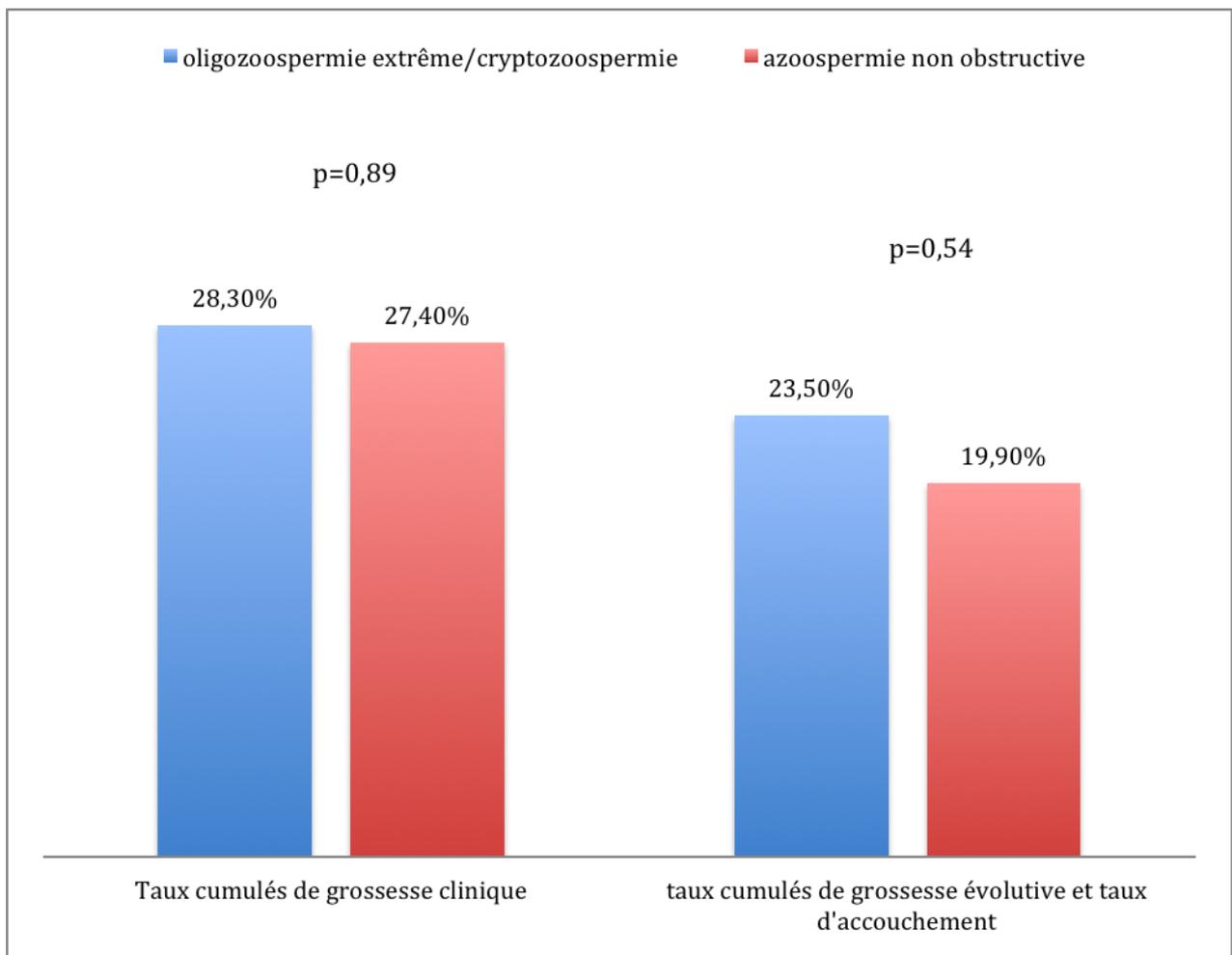
Les résultats sont présentés dans les diagrammes 1, 2 et 3. Il n'y a pas de différence concernant les taux de grossesse clinique, évolutive, taux d'accouchement et taux de fausse couche spontanée que ce soit par ponction ou par transfert entre les deux groupes.

Cependant, lorsque l'on s'intéresse aux taux de grossesse par couple (diagramme 3), il est intéressant de constater un taux de grossesse évolutive et un taux d'accouchement de 52% dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie contre 39,2% dans l'autre groupe. Cette différence n'est certes pas significative ( $p=0,06$ ) mais il existe une tendance en faveur des tentatives réalisées à partir du sperme éjaculé.

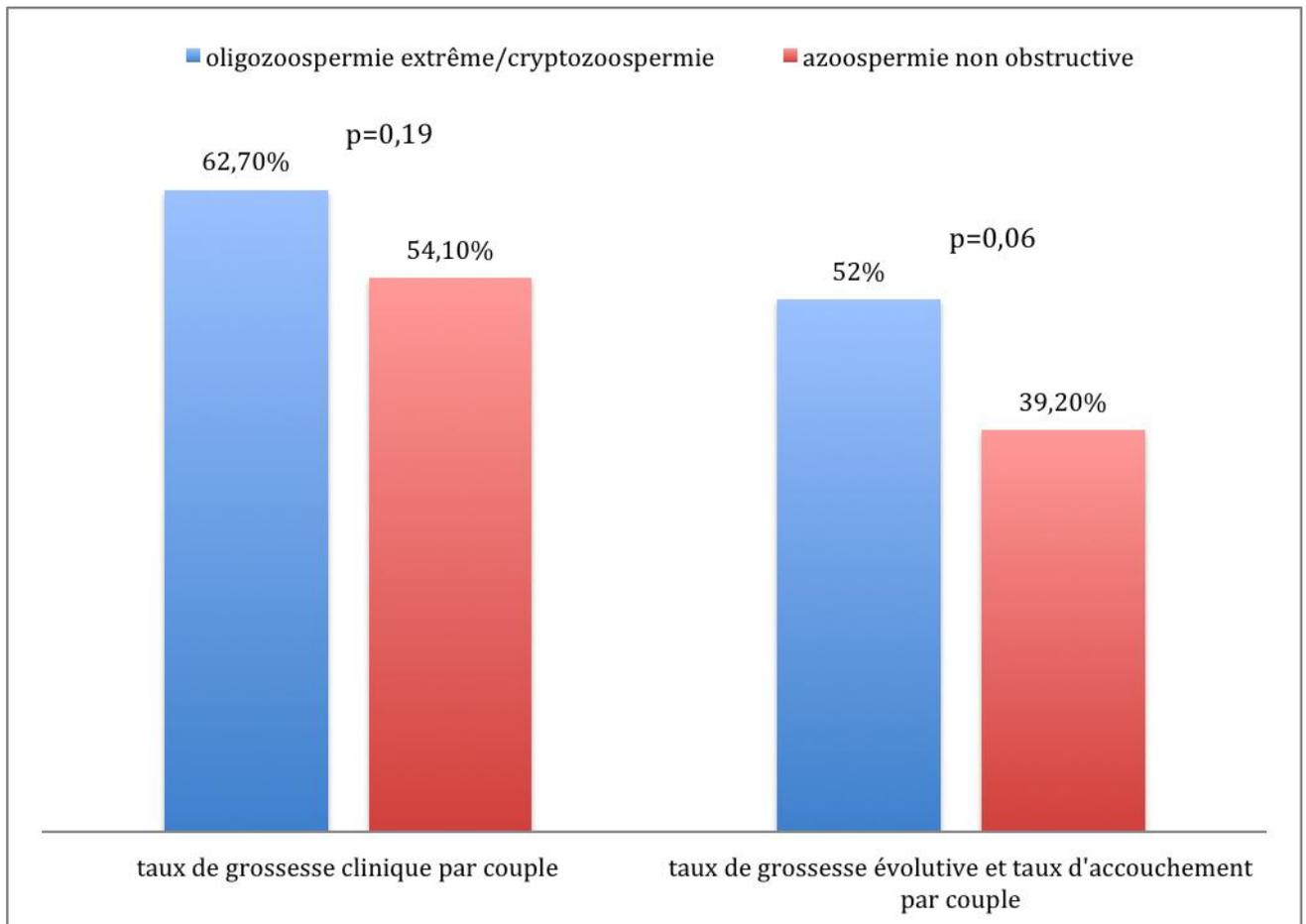
Au total, nous avons obtenu 47 grossesses cliniques dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie avec 39 grossesses évolutives et 39 accouchements. Dans le groupe azoospermie, 40 grossesses cliniques sont survenues avec 29 grossesses évolutives et 29 accouchements. Dans 15,4% des cas il s'agissait de grossesses multiples dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie (5 grossesses gémellaires et une grossesse triple) contre 24,1% (7 grossesses gémellaires) dans le groupe azoospermie ( $p=0,12$ ).



**Diagramme 1 : Résultats des taux cumulés de grossesse clinique, évolutive et des taux d'accouchement par ponction ovocytaire**



**Diagramme 2 : Résultats des taux cumulés de grossesse clinique, évolutive et des taux d'accouchement par transfert**



**Diagramme 3 : Résultats des taux cumulés de grossesse clinique, évolutive et taux d'accouchement par couple**

### **Tentatives d'ICSI sur pailles autoconservées : profil andrologique et issue clinico-biologique.**

Dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie, nous avons eu recours aux pailles autoconservées dans 11,8% des cas (19 tentatives). Sur ces 19 tentatives, 6 grossesses cliniques sont survenues (5 grossesses évolutives avec accouchement et 1 fausse couche spontanée). Le taux de grossesse clinique, dans ce groupe, est donc de 31,6% par ponction et de 30% par transfert. Les taux de grossesse évolutive et d'accouchement sont de 26,3% par ponction et de 25% par transfert. Concernant le taux de fausse couche spontanée, celui ci est de 16,7%.

Les caractéristiques phénotypiques de ces patients, pour lesquels nous avons eu recours aux pailles autoconservées, sont représentées dans le **tableau 4**.

**Tableau 4 : Profil andrologique des patients ayant nécessité le recours aux pailles autoconservées.**

Nombre de patients	17
Nombre de tentatives	19
Âge*	34 [29,8 - 40]
IMC*	26,3 [22,8 - 30,5]
Tabac (%)	29,4% (n=5)
Cryptorchidie (%)	35,3% (n=6)
Varicocèle clinique (%)	17,6% (n= 3)
Anomalies génétiques (%)	11,8% (n=2)
FSH (UI/L)*	22,5 [2,94 - 29,8]
Inhibine B (pg/ml)*	29,4 [19,8 - 95,2]
Inhibine B indosable (%)	30% (n=3)
Testostérone Totale (ng/ml)*	3,9 [2,5 - 5,7]
Volume testiculaire total (ml) (droit+gauche)*	13,8 [7,5 - 20,8]

\* les résultats sont exprimés en médiane [10<sup>ème</sup> – 90<sup>ème</sup> percentile]

Inhibine B : ne concerne que les patients avec un taux d'inhibine B supérieur à la limite de détection (soit > 15 pg/ml)

## Discussion

Dans cette étude, nous avons voulu évaluer si l'origine spermatique influence les résultats des tentatives d'ICSI dites « difficiles ». Pour cela, nous avons comparé des azoospermies non obstructives qui ont bénéficié de tentatives d'ICSI avec spermatozoïdes extraits chirurgicalement à des oligozoospermies extrêmes/cryptozoospermies pour lesquels les tentatives se sont déroulées avec sperme éjaculé (le plus souvent en frais). Pour les azoospermiques, la biopsie testiculaire était désynchrone à la tentative d'ICSI. En effet, il est maintenant admis que les résultats des tentatives d'ICSI sont identiques, que l'on soit en synchrone ou désynchrone (16–18). De plus, cela évite à la patiente une stimulation ovarienne et une ponction ovocytaire inutiles en cas de TESE négative.

Nous avons été confrontés à une difficulté pour définir le « seuil » de l'oligozoospermie extrême. En effet, il n'existe pas, à notre connaissance, de définition consensuelle. Dans la littérature, ces « seuils » sont très variés, pouvant aller de 100 000 spermatozoïdes/éjaculat (19) à 1 million/éjaculat (20) voire 5 millions/éjaculat (21). Le seuil de 10 000 spermatozoïdes/éjaculat a été retenu comme associé à un risque d'ICSI techniquement difficile. Effectivement, dans notre expérience, au delà de ce seuil, nous sommes dans des conditions correctes pour ne pas impacter les taux de fécondation. En dessous de 10 000 spermatozoïdes par éjaculat, le travail de sélection des spermatozoïdes puis de micro-injection est plus fastidieux et donc plus long du fait du très faible nombre de spermatozoïdes disponibles. Ceci peut altérer les résultats des taux de fécondation.

Plusieurs auteurs se sont posés la question de la pertinence de la réalisation d'une TESE chez les patients présentant des altérations spermatiques extrêmes afin d'améliorer les résultats en ICSI. Les données de la littérature sur le sujet sont très controversées. Dans notre étude, les résultats des ICSI sont identiques dans les deux groupes. On ne trouve pas de différence significative en termes de taux de fécondation entre le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie et le groupe azoospermie non obstructive (48,9% vs 43,3%,  $p>0,05$ ). Ben Ami et al. (5) ont reporté des taux de fécondation similaires après ICSI avec spermatozoïdes éjaculés ( $n=68$  cycles) et spermatozoïdes testiculaires ( $n=48$  cycles), chez des patients ( $n=17$ ) présentant une cryptozoospermie (respectivement 38% et 46,7%,  $p>0,05$ ). La cryptozoospermie est définie par l'absence de spermatozoïde à l'examen direct mais présence après centrifugation et examen approfondi de microgouttes au microscope (selon la WHO, 2010 (22)). Dans leur étude, les patients avaient initialement une ou deux tentatives avec sperme éjaculé et en cas d'échec, ils avaient recours à la biopsie testiculaire (5). De même, Amirjannati et al. (20) n'ont pas retrouvé de différence en termes de taux de fécondation entre l'utilisation de spermatozoïdes éjaculés ( $n=208$  cycles) et spermatozoïdes testiculaires ( $n=19$  cycles) chez des hommes « cryptozoospermiques » ( $n=192$ ). Leurs taux de fécondation (68% et 60%) sont supérieurs aux nôtres, ceci peut s'expliquer par le fait qu'ils aient inclus des patients avec une numération spermatique inférieure à 1 million/ml, ce qui représente en réalité des altérations spermatiques sévères mais non extrêmes (20). Bendikson et al. (7) ont comparé également les taux de fécondation chez 16 hommes cryptozoospermiques (présence de spermatozoïdes après centrifugation du sperme). Ces patients bénéficiaient initialement de deux cycles avec sperme éjaculé ( $n=27$  cycles) et en cas d'échec, deux cycles avec spermatozoïdes testiculaires

(n=21cycles). Ils ne retrouvent également pas de différence significative. Toutes les études précédemment citées ont été réalisées en comparant des patients présentant une cryptoazoospermie ou une oligospermie mais pas d'azoospermie non obstructive.

Les études de Demir et al. (23) et d'Oron et al. (24) ont, comme notre étude, comparé les résultats des oligospermies aux azoospermies non obstructives. Contrairement à nous, ils retrouvent des taux de fécondation inférieurs dans le groupe avec spermatozoïdes testiculaires par rapport au groupe sperme éjaculé (respectivement 34,6% vs 55,3%,  $p < 0,05$  et 49% vs 57%,  $p < 0,001$ ) (23,24) ce qui n'est pas le cas dans notre série. Néanmoins, Oron et al. (24) comparent les taux de fécondation uniquement sur les cycles ayant aboutis à une grossesse évolutive, ce qui représente un biais considérable en comparaison avec les données de Demir et al. (23) et celles de notre série. De même, Hourvitz et al. (21) ont comparé des azoospermies non obstructives à des oligospermies sévères et ont retrouvé des taux de fécondation meilleurs dans le groupe sperme éjaculé. Ces différences peuvent s'expliquer par le seuil choisi pour les oligospermies dans ces études (respectivement 100 000/mL, inférieur à 3 millions/mL et inférieur à 5 millions/mL). Ces données ne sont pas confirmées par Hauser et al. (8) qui retrouvent des taux de fécondation meilleurs en TESE par rapport au groupe sperme éjaculé. Leur étude comprenait 13 patients, 5 patients ont eu une TESE d'emblée car azoospermiques et 8 patients cryptozoospermiques (défini selon les critères de la WHO, 2010 (22)) ont d'abord bénéficié d'une tentative sur sperme éjaculé et en cas d'échec ils avaient recours à la TESE. Leur effectif reste néanmoins faible. D'autres auteurs ont comparé des azoospermies non obstructives à des oligospermies sévères (mais pas

exclusivement extrêmes) et n'ont pas retrouvé, comme nous, de différence en termes de taux de fécondation (19,25).

Enfin, Strassburger et al. (26) ont voulu étudier l'influence d'une quantité extrêmement faible de spermatozoïdes sur les résultats d'ICSI. Pour cela, ils ont réparti les patients en 4 groupes selon la numération spermatique : cryptozoospermie, inférieure à 1000/ml, 1000 à 100 000/ml et 100 000 à 1 million/ml. Le taux de fécondation est significativement inférieur dans le groupe cryptozoospermie par rapport aux autres groupes (respectivement 46% vs 52%, 54%, 61%,  $p < 0,0001$ ). Il est également plus bas dans le groupe inférieur à 1000/ml par rapport au groupe 100 000 à 1 million/ml ( $p < 0,001$ ).

Si l'on regarde le taux de fécondation dans notre centre pour les patients ayant bénéficié d'une ICSI dans des conditions techniquement plus « faciles » (plus de 1 million/mL), celui-ci est de 61,4% (les conjointes n'ayant aucune pathologie de la reproduction associée).

Ces données sont en accord avec Strassburger et al. : plus la numération spermatique est faible, plus les taux de fécondation sont altérés (26).

Nous avons évalué la qualité embryonnaire dans chaque groupe et notamment le pourcentage d'embryons « Top Quality ». En effet, il est légitime de se demander si l'origine des spermatozoïdes peut altérer la qualité des embryons. Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les deux groupes avec 22,4% d'embryons « Top » chez les patients présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie et 20,4% en cas d'azoospermie ( $p > 0,05$ ). Ces résultats coïncident avec ceux de Hourvitz et al. et Demir et al. (21,23).

Amirjannati et al. (20) retrouvent plus d'embryons « Top » (grade A) dans le groupe sperme éjaculé que dans le groupe spermatozoïdes testiculaires ( $p < 0,05$ ) (20). En revanche, Hauser et al. (8) et Weissman et al. (6) ont mis en évidence une meilleure qualité embryonnaire après utilisation de spermatozoïdes testiculaires chez des patients cryptozoospermiques.

Un autre paramètre permettant d'évaluer la qualité embryonnaire est le pourcentage d'embryons congelés. En effet, dans notre centre, on ne congèle que des embryons de grade A. Le pourcentage d'embryons congelés sur la cohorte d'embryons restant (après transfert des embryons « frais ») est identique dans les deux groupes (49,3% vs 40,1%,  $p = 0,19$ ), cette donnée n'a jamais été utilisée dans les études précédentes.

Concernant les taux d'implantation, ceux ci sont sensiblement identiques dans les deux groupes (17,4% vs 15,9%,  $p > 0,05$ ). Cette donnée n'est pas confirmée par Ben Ami et al. (5) qui retrouvent un taux d'implantation bien inférieur dans le groupe sperme éjaculé (5,7% vs 20,7%,  $p < 0,05$ ), de même pour Weissman et al. (6) qui ont étudié les taux d'implantation chez quatre couples dont le mari présentait une oligospermie sévère et qui ont eu recours aux spermatozoïdes testiculaires suite à des échecs répétés d'implantation avec sperme éjaculé. Hauser et al. (8) montrent un taux d'implantation plus important dans le groupe TESE synchrone (frais) par rapport aux groupes TESE désynchrone et spermatozoïdes éjaculés (respectivement 18,5% vs 5,7% et 5,1%). Cependant, il s'agit d'une étude sur 13 couples et nos taux d'implantation sont meilleurs et se rapprochent plus de leurs résultats en TESE synchrone.

Pour les taux de grossesse clinique, évolutive et taux d'accouchement, on ne retrouve pas de différence significative entre les deux groupes que ce soit par ponction ou par transfert. Plusieurs études confirment cette absence de différence en termes de taux de grossesse lorsque l'on utilise des spermatozoïdes éjaculés versus testiculaires (8,23,25,27,28). En revanche, les taux de grossesse évolutive et d'accouchement par couple sont de 52% dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie contre 39,2% dans le groupe azoospermie. Cette différence n'est certes pas significative ( $p=0,06$ ) mais il semble se dégager une tendance en faveur de l'utilisation du sperme éjaculé chez les patients présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie. Même si, à notre connaissance, cette étude est l'une des seules à avoir inclus autant de patients avec une oligozoospermie extrême dont le seuil est inférieur à 10 000 spermatozoïdes par éjaculat en comparaison à des azoospermies non obstructives, notre effectif reste insuffisant pour conclure. Une étude de plus grande ampleur est nécessaire pour confirmer cette tendance.

Concernant les tentatives d'ICSI réalisées avec les pailles autoconservées, les résultats des taux de grossesse semblent identiques à l'ensemble du groupe. Il y a donc un intérêt certain aux autoconservations de sperme chez les patients présentant des altérations spermatiques extrêmes puisque l'utilisation de ces pailles n'a, a priori, pas de répercussion néfaste sur l'issue des tentatives. Le recours systématique aux autoconservations est d'autant plus important dans ce groupe de patients puisque compte-tenu des fluctuations physiologiques des paramètres spermatiques, le risque d'azoospermie le jour de la ponction ovocytaire est théoriquement plus important. De plus, les autoconservations spermatiques

présentent également un intérêt pour la préservation de la fertilité masculine ultérieure, d'autant plus que les paramètres spermatiques s'altèrent progressivement avec le temps. Il existe très peu de données dans la littérature sur l'utilisation de pailles autoconservées chez des patients présentant des altérations spermatiques extrêmes et notre groupe était de trop faible effectif pour effectuer des analyses statistiques comparatives. Enfin, l'analyse du phénotype andrologique de ces patients est intéressante puisqu'il semble y avoir une atteinte sécrétoire périphérique très marquée dans ce sous-groupe (cf tableau 4). Ainsi, les autoconservations semblent d'autant plus importantes que l'atteinte sécrétoire est profonde lors du bilan étiologique (clinique, échographique et hormonal).

Les résultats des tentatives d'ICSI sont donc similaires dans les deux groupes. De ce fait, nous pouvons nous interroger sur l'intérêt réel de proposer une TESE en cas d'oligozoospermie extrême/crytozoospermie, comme l'ont proposé certains auteurs (5–7,20).

En effet, la biopsie testiculaire n'est pas sans risque et est donc éthiquement discutable. Schlegel et al. (29) ont suivi 64 patients ayant bénéficié d'une TESE. Trois mois plus tard, 82% des patients opérés présentaient des anomalies échographiques avec remaniements inflammatoires et hématomes même si la majorité d'entre eux restait asymptomatique. Après 6 mois apparaissaient des cicatrices et des calcifications parenchymateuses en échographie. Pour 2 patients, il y a eu des altérations de la circulation sanguine avec dévascularisation du testicule. D'autres auteurs ont reporté la survenue d'anomalies échographiques après TESE comme des lésions hypoéchogènes évocatrices d'hématomes ou des lésions échogènes de fibrose (30,31). Des perturbations endocriniennes comme une

diminution de la testostérone après TESE ou élévation de la FSH et de la LH ont également été rapportées traduisant une atteinte directe des fonctions sertoliennes et leydigiennes (32–34). Sans compter le risque infectieux après tout geste chirurgical, la gêne occasionnée par les douleurs post opératoires (35) et les risques liés à l'anesthésie générale. Si la technique de microdissection testiculaire permet de diminuer la survenue de complications par rapport aux biopsies testiculaires multiples, elle ne les évite pas à 100% (30,32,36). Dans notre série, il ne s'agit que de TESE avec biopsie unique par testicule.

Par ailleurs, c'est au niveau de l'épididyme que le spermatozoïde achève sa maturation. Ainsi, la chromatine va subir un processus de condensation (remplacement des histones par les protamines) qui débute au cours de la spermiogénèse et se termine lors du transit épидидymaire (37). Cette condensation est indispensable à la protection du génome paternel contre les agressions extérieures. De plus, les spermatozoïdes acquièrent leur pouvoir fécondant au cours de leur passage dans l'épididyme, ce qui leur permet, outre l'obtention des capacités fusogènes, de participer au développement embryonnaire précoce (37,38).

Enfin, l'ADN spermatique va subir au cours de la spermatogénèse, mais également au cours du transit épидидymaire, des modifications épигénétiques qui se traduisent sur le plan moléculaire par des modifications du profil de méthylation de certains gènes (39). Ces phénomènes de méthylation ont un rôle important dans le développement embryonnaire précoce (40). Tous ces processus physiologiques de maturation post-testiculaire des spermatozoïdes conduisent à se poser la question légitime du risque de malformations ou de pathologies génétiques en cas d'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires.

Concernant la santé des enfants conçus par ICSI et notamment par ICSI avec utilisation de spermatozoïdes testiculaires, il est actuellement encore très difficile de pouvoir statuer sur ce sujet. En effet, de nombreuses études sur le devenir des enfants issus d'AMP ont déjà été menées (41–45) mais peu d'études ont comparé les résultats des naissances après ICSI avec spermatozoïdes testiculaires versus spermatozoïdes éjaculés et versus conception naturelle (groupe contrôle). Des méta-analyses (46,47) ont mis en évidence une augmentation de la prématurité, de l'hypotrophie, de la mortalité néonatale et de certaines malformations congénitales (urogénitales et musculo-squelettiques) chez les enfants conçus par les techniques d'AMP par rapport à la population générale même si, à ce jour, on ne sait pas encore si ces constatations sont liées aux techniques d'AMP ou à l'infertilité elle-même (48). Fedder et al. (49) ont analysé les résultats de 466 enfants nés au Danemark entre 1995 et 2009 après ICSI avec spermatozoïdes extraits chirurgicalement pour azoospermie. Ils ont comparé les résultats à ceux des enfants nés après ICSI avec spermatozoïdes éjaculés (8 967 enfants), après FIV classique (17 592 enfants) et après conception naturelle (63 854 enfants). Ils ont mis en évidence des plus petits poids de naissance après ICSI avec spermatozoïdes extraits chirurgicalement par rapport aux enfants issus de grossesses spontanées. Le risque de malformations cardiaques semble augmenter avec la sévérité de l'atteinte spermatique. Ils ont également mis en évidence une augmentation significative des ostéosarcomes chez les jumeaux nés après ICSI avec spermatozoïdes non éjaculés versus spermatozoïdes éjaculés et conception naturelle. En revanche, les enfants nés après ICSI avec spermatozoïdes chirurgicaux ne présentent, a priori, pas plus de risque de malformations congénitales que dans les autres groupes. Le principal biais de leur

étude est qu'ils n'ont pas analysé les résultats en distinguant l'origine des spermatozoïdes (épididymaire ou testiculaire). Woldringh et al. (50) ont réalisé une revue de la littérature sur les enfants conçus après ICSI avec spermatozoïdes extraits chirurgicalement. Huit études ont été incluses. Ils n'ont pas mis en évidence de différence significative entre les différents groupes concernant les anomalies du caryotype et les malformations congénitales. Cependant, les populations étaient hétérogènes, les effectifs faibles et là encore ils n'ont pas distingué l'origine chirurgicale des spermatozoïdes (épididymaire ou testiculaire).

Par ailleurs, concernant plus précisément les processus de maturation épigénétique potentiellement incomplets avec les spermatozoïdes testiculaires, il est légitime de se poser la question de l'augmentation du risque de survenue de maladies liées à des anomalies de l'empreinte parentale (comme par exemple, le syndrome de Bieckwith Wiedmann, le syndrome d'Angelman, le syndrome de Silver Russell et le syndrome de Prader Willi). Ainsi, les deux méta-analyses précédemment citées (46,47) avaient montré également une augmentation modérée de la fréquence de ces pathologies chez des enfants conçus par les techniques d'AMP. Plus précisément, d'autres études ont confirmé cette augmentation surtout chez les enfants conçus par FIV classique ou par ICSI (sans précision sur l'influence de l'origine du sperme) (51–55). Néanmoins, Lidegaard et al. (56) n'ont mis en évidence aucune maladie liée à des anomalies de l'empreinte parentale sur une vaste étude de cohorte analysant l'état de santé de 6052 enfants nés grâce à l'assistance médicale à la procréation (FIV ou ICSI) par rapport à des enfants conçus naturellement.

D'autre part, en dehors de l'origine testiculaire des spermatozoïdes, d'autres facteurs propres aux procédures d'AMP seraient susceptibles de modifier le profil épigénétique de l'embryon et donc d'augmenter le risque de maladies liées à des anomalies de l'empreinte parentale (stimulation ovarienne, culture embryonnaire in vitro...). Cependant, ce lien n'est pas très clair puisque l'infertilité elle-même pourrait être un facteur d'altération de l'information épigénétique des gamètes (57). Des anomalies plus fréquentes de la méthylation des gènes soumis à empreinte ont ainsi été décrites chez des patients présentant une oligospermie. Ceci suggère une association entre anomalie d'expression de ces gènes et infertilité (58–60). Concernant plus précisément les spermatozoïdes testiculaires, Marques et al. (57) se sont intéressés à la méthylation des gènes soumis à empreinte parentale chez des patients présentant une azoospermie d'étiologies variées (azoospermie obstructive, azoospermie non obstructive, ou anéjaculation) ayant tous bénéficié d'une TESE. Ils ont mis en évidence des anomalies de méthylation d'un gène (H19) uniquement dans les spermatozoïdes testiculaires des patients présentant une azoospermie non obstructive.

Dans notre étude, il n'a pas été retrouvé de malformations majeures ni de maladies liées à des anomalies de l'empreinte parentale dans les deux groupes mais notre effectif est trop faible (46 enfants dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie et 36 enfants dans le groupe azoospermie) pour mettre en évidence des différences sur des malformations ou maladies génétiques déjà très rares.

Cette étude a mis en évidence des différences de phénotypes entre les deux populations. Nous avons trouvé, dans le bilan initial, plus de varicocèles cliniques dans le groupe de patients présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie (19,4% vs 2,7%,  $p= 0,001$ ). Cependant, tous les patients ont été pris en charge avant les tentatives, par embolisation de la veine spermatique gauche, selon les recommandations de l'Association Française d'Urologie (61) et selon l'American Society for Reproductive Medicine (62), ce qui ne constitue donc pas un biais et n'influence donc pas nos résultats.

Il est intéressant de constater qu'il y a plus d'antécédents de cryptorchidie dans le groupe de patients avec azoospermie non obstructive (60,8% vs 22,6%,  $p < 0,001$ ). La cryptorchidie est une cause fréquente d'infertilité, elle est retrouvée dans 15 à 20% des azoospermies (63,64). Elle s'intégrerait, le plus souvent, dans le cadre du syndrome des « dysgénésies testiculaires » qui est responsable d'altérations des fonctions sertoliennes, leydigiennes et d'altérations de la différenciation des cellules germinales (65). La cryptorchidie serait ainsi le symptôme d'une maladie testiculaire sous jacente. La prévalence augmentée de la cryptorchidie en cas d'azoospermie non obstructive pourrait s'expliquer par la conjonction de plusieurs mécanismes d'infertilité tels que l'hyperthermie gonadique pendant l'enfance, les lésions iatrogènes (orchidopexie) et les anomalies histo-fonctionnelles probablement secondaires à la dysgénésie testiculaire (64).

Les altérations hormonales sont plus marquées en cas d'azoospermie non obstructive. En effet, on retrouve des taux de FSH significativement plus élevés (18,9 UI/L vs 15,3 UI/L,  $p= 0,001$ ) et des taux d'inhibine B plus souvent indosables (31,1% vs 10,7%,  $p= 0,0004$ ). Ces constatations valident l'atteinte plus profonde de la spermatogénèse chez les patients présentant une azoospermie non obstructive. En

cas d'antécédent de cryptorchidie, les taux de FSH sont élevés et les taux d'inhibine B abaissés par rapport à la population générale, ce qui témoigne d'une atteinte des fonctions sertoliennes (64). Ainsi, la prévalence plus élevée de l'antécédent de cryptorchidie dans le groupe des azoospermies non obstructives peut en partie expliquer ces constatations hormonologiques.

## CONCLUSION

La prise en charge des patients présentant une oligozoospermie extrême ou une cryptozoospermie reste complexe et techniquement difficile. Cette étude n'a pas mis en évidence de différence concernant les résultats des cycles d'ICSI entre les patients présentant une oligozoospermie extrême et/ou une cryptozoospermie ayant bénéficié de tentatives avec spermatozoïdes éjaculés et les patients souffrant d'azoospermie non obstructive pour lesquels les tentatives se sont déroulées avec spermatozoïdes testiculaires.

Compte-tenu des risques liés à l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes et des doutes persistants quant à l'utilisation de spermatozoïdes n'ayant pas achevé leur maturation, notamment sur le plan épigénétique, il semble légitime de s'efforcer d'utiliser les spermatozoïdes issus de l'éjaculat dès que celui-ci est techniquement exploitable.

Les paramètres spermatiques fluctuant au cours du temps, un patient présentant une oligospermie extrême et, a fortiori, une cryptozoospermie, peut évoluer vers l'azoospermie. Ainsi, les autoconservations de sperme permettent, à la fois, de pallier à l'absence éventuelle de spermatozoïdes le jour de la ponction ovocytaire, mais également de préserver la fertilité masculine en vue d'un projet parental ultérieur.

## **Annexes**

Tableau résumant les principales études comparant les résultats des tentatives d'ICSI réalisées à partir de sperme éjaculé (en cas de numération spermatique faible) versus spermatozoïdes testiculaires extraits chirurgicalement.

Etudes	Population	Effectif Cycles d'ICSI	Description étude	Taux de fécondation (éjac vs testic)	Qualité embryonnaire (éjac vs testic)	Taux d'implantation (éjac vs testic)	Taux grossesses cliniques (éjac vs testic)	Taux grossesses évolutives (éjac vs testic)
Ben ami et al. Fertil Steril, 2013 (5)	Cryptozoospermie : Absence de spz à l'examen direct mais présence après centrifugation	17 patients 116 cycles	- Etude rétrospective - Tentatives initialement sur sperme éjaculé (68 cycles). - Recours à TESE si échec sur sperme éjaculé (48 cycles).	38% vs 46,7% (p>0,05)	NR	5,7% vs 20,7% <b>p=0,003</b>	Par transfert : 15,1% vs 42,5% <b>p=0,004</b>	Par transfert : 9,4% vs 27,5% <b>p=0,0028</b>
Amirjannati et al. Andrologia 2012 (20)	Cryptozoospermie définie par une numération < à 1 million/ml	192 patients 227 cycles	- Etude rétrospective - Groupe 1 : utilisation sperme éjaculé (208 cycles). - Groupe 2 : micro-TESE (19 cycles)	68% vs 60% (p>0,05)	Nombre moyen d'embryons de grade A : 4,5 (+/-3,76) vs 2,47 (+/-1,67) <b>P&lt;0,05</b>	NR	NR	NR
Bendikson et al. J Urol, 2008 (7)	Cryptozoospermie : Absence de spz à l'examen direct mais présence après centrifugation	16 patients 48 cycles	- Etude rétrospective - 27 cycles avec sperme éjaculé - 21 cycles spz testiculaires - les couples avaient au moins 1 cycle avec sperme éjaculé puis 1 avec micro-TESE si échec	51,7% vs 59,9% (p>0,05)	Pas de différence entre les 2 groupes (critères de comparaison non définis)	7% vs 20,3% <b>p&lt;0,05</b>	20,8% vs 47,4% <b>p&lt;0,05</b>	20,8% vs 42,1% (p>0,05)
Weissman et al. RBMO, 2008 (6)	Oligozoospermie sévère Numération variant de 0,2 à 2 millions/ml	4 patients 28 cycles	- Etude type « case report » - Recours à la TESA <b>avec succès</b> (grossesse clinique) après échec d'ICSI sur sperme éjaculé chez 4 couples	NR	NR	NR	NR	NR
Demir et al. Clin. Exp. Obst Gyn, 2012 (23)	Oligozoospermie sévère (numération < 100 000/ml) vs ANO	53 cycles (oligozoo) 38 cycles (ANO)	- Etude rétrospective - Comparaison résultats entre ANO qui ont eu micro-TESE et oligospermie sévère avec sperme éjaculé	55,3% vs 34,6% <b>p&lt;0,05</b>	Nombre moyen d'embryons de grade 1 : 1,1 (+/-1,3) vs 0,7(+/-1,0) (p>0,05)	NR	NR	Par transfert : 39,2% vs 22,2% (p>0,05)

Etudes	Population	Effectif Cycles d'ICSI	Description étude	Taux de fécondation (éjac vs testic)	Qualité embryonnaire (éjac vs testic)	Taux d'implantation (éjac vs testic)	Taux grossesses cliniques (éjac vs testic)	Taux grossesses évolutives (éjac vs testic)
Hauser et al. J Androl, 2011 (8)	Cryptozoospermie (définie par absence de spz à l'examen direct mais présence après centrifugation) vs ANO	13 Patients 34 cycles sur sperme éjaculé 9 cycles sur TESE synchrone 50 cycles sur TESE désynchrone	- Etude rétrospective - 8 cryptozoo : ICSI sur sperme éjaculé puis TESE si échec - 5 ANO : TESE d'emblée - exclusion des conjointes ayant une baisse de réserve ovarienne	<u>Avec spz mobile</u> : 38,2% (éjac) vs 50% (TESE synchrone) vs 46,7% (TESE désynchrone) <b>p&lt;0,05</b>  <u>Avec spz immobiles</u> : 13,6% (éjac) vs 37,5% (TESE synchrone) vs 28,7% (TESE désynchrone) <b>p&lt;0,05</b>	% d'embryons « top quality » :  53,2% (éjac) vs 58,3% (TESE synchrone) vs 66,7% (TESE désynchrone)  p > 0,05	5,1% (éjac)  18,5% (TESE synchrone)  5,7% (TESE désynchrone)  <b>p&lt;0,05</b>	14,3% vs 42,9% vs 19,1%  p>0,05	14,3% vs 42,9% vs 12,8%  p>0,05
Hourvitz et al. J Assist Reprod Genet 1998 (21)	Oligoasthénospermie (OATS) (Numération < 5 millions/ml) vs ANO	77 patients 40 cycles dans chaque groupe	- Etude rétrospective - Comparaison des résultats entre ANO qui ont eu TESA et/ou TESE et oligospermie sévère avec sperme éjaculé	Nombre moyen de zygotes : 5,69 (+/-3,5) vs 4,14 (+/-2,86)  <b>p=0,005</b>	NR	Taux d'implantation/embryon :  7% vs 10%  p>0,05	Par transfert :  21,6% vs 25%  p>0,05	Par transfert :  16,2% vs 19,4%  p>0,05

Etudes	Population	Effectif Cycles d'ICSI	Description étude	Taux de fécondation (éjac vs testic)	Qualité embryonnaire (éjac vs testic)	Taux d'implantation (éjac vs testic)	Taux grossesses cliniques (éjac vs testic)	Taux grossesses évolutives (éjac vs testic)
Bukulmez et al. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001 (25)	Tentative sur sperme éjaculé Vs AO Vs ANO Vs OATS sévère (< 1million/ml)	890 patients (890 cycles)  780 cycles sur sperme éjaculé  43 cycles chez AO  53 cycles chez ANO  14 cycles chez OATS sévère	- Etude rétrospective - comparaison des résultats des tentatives entre sperme éjaculé vs AO qui ont eu TESA vs ANO qui ont eu TESE et OATS qui ont eu une TESA	66,5% (sperme éjac)  59,9% (AO)  66,4% (ANO)  50,8% (OATS sévère)  p>0,05	Nombre moyen d'embryon de grade 1 :  2,5 +/- 1.7 (sperme éjac) 2,2 +/- 1,6 (AO) 2,2 +/- 1,5 (ANO) 3,1 +/- 1,6 (OATS sévère)  p>0,05	13,1% (sperme éjaculé)  13,1% (AO)  12,9% (ANO)  8,6% (OATS sévère)  p>0,05	NR	27,2% (sperme éjaculé)  27,9% (AO)  34% (ANO)  21,4% (OATS sévère)  p>0,05
Ghazzawi et al. Human Reprod, 1998 (19)	OATS avec numération inférieure à 1 million/mL Vs AO et Vs ANO	77 patients (77 cycles)  28 cycles chez OATS <100 000 spz/mL  30 cycles chez ANO  19 cycles chez AO	- Etude prospective - comparaison des résultats des tentatives entre OATS sur sperme éjaculé vs AO qui ont eu une MESA ou PESA et vs ANO qui ont eu une TESE	79% (OATS)  75% (AO)  69% (ANO)  p>0,05	NR	NR	Par transfert :  25% (OATS)  28% (AO)  21% (ANO)  p>0,05	Par transfert :  21% (OATS)  22% (AO)  10% (ANO)  p>0,05

Spz : spermatozoïdes ; AO : azoospermie obstructive ; ANO : azoospermie non obstructive, TESE : testicular sperm extraction, TESA : testicular sperm aspiration, MESA : microsurgical epididymal sperm aspiration ; PESA : percutaneous epididymal sperm aspiration ; OATS : oligoasthénospermie ; éjac vs testic : spermatozoïdes éjaculés vs testiculaires

## Bibliographie

1. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992 Jul 4;340(8810):17–8.
2. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal-Bertin G, van de Casseye M. Successful fertilization by testicular spermatozoa in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod*. 1993 Aug;8(8):1339–40.
3. Ron-El R, Strassburger D, Friedler S, Komarovski D, Bern O, Soffer Y, et al. Extended sperm preparation: an alternative to testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*. 1997 Jun;12(6):1222–6.
4. Koscinski I, Wittemer C, Lefebvre-Khalil V, Marcelli F, Defossez A, Rigot JM. Optimal management of extreme oligozoospermia by an appropriate cryopreservation programme. *Hum Reprod*. 2007 Oct;22(10):2679–84.
5. Ben-Ami I, Raziel A, Strassburger D, Komarovsky D, Ron-El R, Friedler S. Intracytoplasmic sperm injection outcome of ejaculated versus extracted testicular spermatozoa in cryptozoospermic men. *Fertil Steril*. 2013 Jun;99(7):1867–71.
6. Weissman A, Horowitz E, Ravhon A, Nahum H, Golan A, Levran D. Pregnancies and live births following ICSI with testicular spermatozoa after repeated implantation failure using ejaculated spermatozoa. *Reprod Biomed Online*. 2008 Nov;17(5):605–9.
7. Bendikson KA, Neri QV, Takeuchi T, Toschi M, Schlegel PN, Rosenwaks Z, et al. The outcome of intracytoplasmic sperm injection using occasional spermatozoa in the ejaculate of men with spermatogenic failure. *J Urol*. 2008 Sep;180(3):1060–4.
8. Hauser R, Bibi G, Yogev L, Carmon A, Azem F, Botchan A, et al. Virtual azoospermia and cryptozoospermia--fresh/frozen testicular or ejaculate sperm for better IVF outcome? *J Androl*. 2011 Oct;32(5):484–90.
9. Huyghe E, Iazard V, Rigot J-M, Pariente J-L, Tostain J, les membres du Comité d'andrologie de l'association française d'urologie (CCAFU). Optimal evaluation of the infertile male. 2007 French urological association guidelines. *Prog Urol*. 2008 Feb;18(2):95–101.
10. Rigot J-M. The clinical workup is already a prognostic facto]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2007 Dec;36 Suppl 3:S74–77.

11. Schiff JD, Li PS, Goldstein M. Correlation of ultrasonographic and orchidometer measurements of testis volume in adults. *BJU Int.* 2004 May;93(7):1015–7.
12. Taskinen S, Taavitsainen M, Wikström S. Measurement of testicular volume: comparison of 3 different methods. *J Urol.* 1996 Mar;155(3):930–3.
13. Robin G, Boitrelle F, Leroy X, Peers M-C, Marcelli F, Rigot J-M, et al. Bilan d'une azoospermie et évaluation histologique de la spermatogenèse. *Ann Pathol.* 2010 Jun;30(3):182–95.
14. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2004 Jan;81(1):19–25.
15. Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Valkenburg M, Van de Meerssche M, Ryckaert G, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod.* 1999 Sep;14(9):2345–9.
16. Karacan M, Alwaeely F, Erkan S, Çebi Z, Berberoğlugil M, Batukan M, et al. Outcome of intracytoplasmic sperm injection cycles with fresh testicular spermatozoa obtained on the day of or the day before oocyte collection and with cryopreserved testicular sperm in patients with azoospermia. *Fertil Steril.* 2013 Oct;100(4):975–80.
17. Rigot JM. Secretory azoospermia or non-obstructive azoospermia? *Folia Histochem Cytobiol.* 2009;47(5):S51–53.
18. Tavukcuoglu S, Al-Azawi T, Al-Hasani S, Khaki AA, Khaki A, Tasdemir S. Using Fresh and Frozen Testicular Sperm Samples in Couples Undergoing ICSI-MicroTESE Treatment. *J Reprod Infertil.* 2013 Apr;14(2):79–84.
19. Ghazzawi IM, Sarraf MG, Taher MR, Khalifa FA. Comparison of the fertilizing capability of spermatozoa from ejaculates, epididymal aspirates and testicular biopsies using intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998 Feb;13(2):348–52.
20. Amirjannati N, Heidari-Vala H, Akhondi MA, Hosseini Jadda SH, Kamali K, Sadeghi MR. Comparison of intracytoplasmic sperm injection outcomes between spermatozoa retrieved from testicular biopsy and from ejaculation in cryptozoospermic men. *Andrologia.* 2012 May;44 Suppl 1:704–9.
21. Hourvitz A, Shulman A, Madjar I, Levron J, Levran D, Mashiach S, et al. In vitro fertilization treatment for severe male factor: a comparative study of intracytoplasmic sperm injection with testicular sperm extraction and with spermatozoa from ejaculate. *J Assist Reprod Genet.* 1998 Jul;15(6):386–9.
22. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010 5th edition;

23. Demir B, Arikan II, Bozdogan G, Esinler I, Karakoc Sokmensuer L, Gunalp S. ICSI outcome of patients with severe oligospermia vs. non-obstructive azoospermia. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2012;39(2):141–3.
24. Oron G, Fisch B, Sapir O, Wertheimer A, Garor R, Feldberg D, et al. Pregnancy outcome after ICSI with thawed testicular sperm from men with non-obstructive azoospermia compared to ICSI with ejaculated sperm from men with severe oligoasthenoteratozoospermia and IVF with normal ejaculated sperm. *Gynecol Endocrinol*. 2014 Feb;30(2):103–6.
25. Bukulmez O, Yucel A, Yarali H, Bildirici I, Gurgan T. The origin of spermatozoa does not affect intracytoplasmic sperm injection outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001 Feb;94(2):250–5.
26. Strassburger D, Friedler S, Raziel A, Schachter M, Kasterstein E, Ron-el R. Very low sperm count affects the result of intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet*. 2000 Sep;17(8):431–6.
27. Göker ENT, Sendag F, Levi R, Sendag H, Tavmergen E. Comparison of the ICSI outcome of ejaculated sperm with normal, abnormal parameters and testicular sperm. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2002 Sep 10;104(2):129–36.
28. 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 Apr;63(4):808–15.
29. Schlegel PN, Su LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod*. 1997 Aug;12(8):1688–92.
30. Amer M, Ateyah A, Hany R, Zohdy W. Prospective comparative study between microsurgical and conventional testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia: follow-up by serial ultrasound examinations. *Hum Reprod*. 2000 Mar;15(3):653–6.
31. Ron-El R, Strauss S, Friedler S, Strassburger D, Komarovsky D, Raziel A. Serial sonography and colour flow Doppler imaging following testicular and epididymal sperm extraction. *Hum Reprod*. 1998 Dec;13(12):3390–3.
32. Ishikawa T, Yamaguchi K, Chiba K, Takenaka A, Fujisawa M. Serum hormones in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *J Urol*. 2009 Oct;182(4):1495–9.
33. Ramasamy R, Yagan N, Schlegel PN. Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology*. 2005 Jun;65(6):1190–4.

34. Manning M, Jünemann KP, Alken P. Decrease in testosterone blood concentrations after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic men. *Lancet*. 1998 Jul 4;352(9121):37.
35. Wood S, Thomas K, Sephton V, Troup S, Kingsland C, Lewis-Jones I. Postoperative pain, complications, and satisfaction rates in patients who undergo surgical sperm retrieval. *Fertil Steril*. 2003 Jan;79(1):56–62.
36. Tsujimura A. Microdissection testicular sperm extraction: prediction, outcome, and complications. *Int J Urol*. 2007 Oct;14(10):883–9.
37. Rousseaux S, Faure A-K, Thévenon J, Escoffier E, Lestrat C, Govin J, et al. Epigenetics of the sperm cell. *Gynecol Obstet Fertil*. 2006 Sep;34(9):831–5.
38. Ainsworth C. Cell biology: the secret life of sperm. *Nature*. 2005 Aug 11;436(7052):770–1.
39. Ariel M, Cedar H, McCarrey J. Developmental changes in methylation of spermatogenesis-specific genes include reprogramming in the epididymis. *Nat Genet*. 1994 May;7(1):59–63.
40. Benchaïb M, Ajina M, Braun V, Niveleau A, Guérin J-F. DNA sperm methylation in assisted reproductive techniques. *Gynecol Obstet Fertil*. 2006 Sep;34(9):836–9.
41. Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review. *Hum Reprod*. 2005 Feb;20(2):328–38.
42. Källén B, Finnström O, Nygren KG, Olausson PO. In vitro fertilization (IVF) in Sweden: risk for congenital malformations after different IVF methods. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2005 Mar;73(3):162–9.
43. Ludwig M, Katalinic A. Malformation rate in fetuses and children conceived after ICSI: results of a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online*. 2002 Oct;5(2):171–8.
44. Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde M-P, Camus M, Devroey P, et al. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod*. 2002 Mar;17(3):671–94.
45. Van Steirteghem A, Bonduelle M, Devroey P, Liebaers I. Follow-up of children born after ICSI. *Hum Reprod Update*. 2002 Apr;8(2):111–6.
46. Helmerhorst FM, Perquin DAM, Donker D, Keirse MJNC. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ*. 2004 Jan 31;328(7434):261.

47. Ceelen M, van Weissenbruch MM, Vermeiden JPW, van Leeuwen FE, Delemarre-van de Waal HA. Growth and development of children born after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2008 Nov;90(5):1662–73.
48. Bouillon C, Fauque P. Devenir des enfants issus des techniques d'assistance médicale à la procréation. *Arch Pediatr*. 2013 May;20(5):575–9.
49. Fedder J, Loft A, Parner ET, Rasmussen S, Pinborg A. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study. *Hum Reprod*. 2013 Jan;28(1):230–40.
50. Woldringh GH, Besselink DE, Tillema AHJ, Hendriks JCM, Kremer JAM. Karyotyping, congenital anomalies and follow-up of children after intracytoplasmic sperm injection with non-ejaculated sperm: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2010 Feb;16(1):12–9.
51. Carrell DT, Hammoud SS. The human sperm epigenome and its potential role in embryonic development. *Mol Hum Reprod*. 2010 Jan;16(1):37–47.
52. Fauque P, Jouannet P, Jammes H. Parental imprinting related to Assisted Reproductive Technologies. *Gynecol Obstet Fertil*. 2008 Nov;36(11):1139–46.
53. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet*. 2003 Jan;72(1):156–60.
54. Maher ER. Imprinting and assisted reproductive technology. *Hum Mol Genet*. 2005 Apr 15;14 Spec No 1:R133–138.
55. Gosden R, Trasler J, Lucifero D, Faddy M. Rare congenital disorders, imprinted genes, and assisted reproductive technology. *Lancet*. 2003 Jun 7;361(9373):1975–7.
56. Lidegaard O, Pinborg A, Andersen AN. Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study. *Hum Reprod*. 2005 Apr;20(4):950–4.
57. Marques CJ, Francisco T, Sousa S, Carvalho F, Barros A, Sousa M. Methylation defects of imprinted genes in human testicular spermatozoa. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):585–94.
58. Marques CJ, Costa P, Vaz B, Carvalho F, Fernandes S, Barros A, et al. Abnormal methylation of imprinted genes in human sperm is associated with oligozoospermia. *Mol Hum Reprod*. 2008 Feb;14(2):67–74.
59. Kobayashi H, Sato A, Otsu E, Hiura H, Tomatsu C, Utsunomiya T, et al. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Hum Mol Genet*. 2007 Nov 1;16(21):2542–51.

60. Marques CJ, Carvalho F, Sousa M, Barros A. Genomic imprinting in disruptive spermatogenesis. *Lancet*. 2004 May 22;363(9422):1700–2.
61. Wagner L, Tostain J, Comite Andrologie de l'Association Française d'Urologie. Varicocele and male infertility: AFU 2006 guidelines. *Prog Urol*. 2007 Feb;17(1):12–7.
62. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Report on varicocele and infertility. *Fertil Steril*. 2008 Nov;90(5 Suppl):S247–249.
63. Lee PA, Coughlin MT. Fertility after bilateral cryptorchidism. Evaluation by paternity, hormone, and semen data. *Horm Res*. 2001;55(1):28–32.
64. Robin G, Boitrelle F, Marcelli F, Colin P, Leroy-Martin B, Mitchell V, Dewailly D, Rigot JM. Cryptorchidie : de la physiopathologie à l'infertilité. *Gynecol Obstet Fertil*. 2010 Oct;38(10):588–99.
65. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*. 2001 May;16(5):972–8.

**AUTEUR :** PLOUVIER Pauline

**Date de Soutenance :** mercredi 28 mai 2014

**Titre de la Thèse :** Résultats des cycles d'ICSI en cas d'oligozoospermie extrême ou d'azoospermie non obstructive. Analyse comparative de 311 cycles.

**Thèse - Médecine - Lille 2014**

**Cadre de classement :** Médecine de la Reproduction

**DES + spécialité :** Gynécologie Médicale

**Mots-clés :** oligozoospermie extrême, cryptoazoospermie, azoospermie non obstructive, ICSI, extraction chirurgicale de spermatozoïdes, cryptorchidie

**Résumé :**

**Titre de la thèse :** Résultats des cycles d'ICSI en cas d'oligozoospermie extrême ou d'azoospermie non obstructive.

**Contexte :** L'oligozoospermie extrême et l'azoospermie non obstructive (ANO) constituent les atteintes les plus sévères de la spermatogénèse. Dans ces deux situations une prise en charge en ICSI peut être proposée. La prise en charge de ces patients est techniquement difficile et fastidieuse. Le but de cette étude est de comparer l'issue des tentatives d'ICSI selon l'origine du sperme (éjaculat ou testiculaire) dans les atteintes sévères de la spermatogénèse.

**Méthode :** Etude rétrospective unicentrique comparative de 75 patients (161 cycles) présentant une oligozoospermie extrême/cryptozoospermie et de 74 patients (150 cycles) souffrant d'ANO entre 2007 et 2013. Comparaison du phénotype andrologique puis analyse des résultats biologiques et cliniques des tentatives d'ICSI.

**Résultats :** L'antécédent de cryptorchidie est significativement plus fréquent dans le groupe ANO (60,8% vs 22,6%,  $p < 0,001$ ). Les taux de FSH sont plus élevés (18,9 UI/L vs 15,3 UI/L,  $p = 0,001$ ) et les taux d'inhibine B plus souvent indosables (31,1% vs 10,7%,  $p = 0,0004$ ) dans le groupe ANO. Concernant les taux de fécondation, on ne retrouve pas de différence significative entre les deux groupes (48,9% vs 43,3%,  $p = 0,43$ ). De même, il n'y a pas de différence sur le pourcentage d'embryons « Top quality » (22,4% vs 20,4%,  $p = 0,73$ ) ni pour les taux d'implantation (17,4% vs 15,9%,  $p = 0,77$ ). Il n'a pas été retrouvé de différence significative en termes de taux de grossesse clinique par ponction et par transfert dans les deux groupes (respectivement 29,2% et 28,3% dans le groupe oligozoospermie extrême/cryptozoospermie vs 26,7% et 27,4% dans le groupe ANO). Lorsque l'on s'intéresse aux taux de grossesse évolutive et d'accouchement par couple, on constate une tendance en faveur des tentatives réalisées à partir du sperme éjaculé (52% vs 39,1%,  $p = 0,06$ ).

**Conclusion :** Il n'existe pas de différence concernant les résultats des tentatives d'ICSI entre les oligozoospermies extrêmes/cryptozoospermies pour qui les tentatives ont été réalisées sur spermatozoïdes éjaculés et les ANO qui ont bénéficié de tentatives d'ICSI avec spermatozoïdes testiculaires. De ce fait, il est préférable, dès que cela est possible, de privilégier l'utilisation de spermatozoïdes éjaculés afin d'éviter, entre autres, une extraction chirurgicale de spermatozoïdes testiculaires potentiellement invasive.

**Composition du Jury :**

**Président :** Monsieur le Professeur Didier DEWAILLY

**Assesseurs :** Monsieur le Professeur Damien SUBTIL

Madame le Docteur Sophie JONARD-CATTEAU

Monsieur le Docteur Jean-Marc RIGOT

Madame le Docteur Valérie LEFEBVRE-KHALIL

**Directeur :** Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN

