

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année 2023

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Les hommes atteints de nécrozoospermie : qui sont-ils ? Analyse
rétrospective du phénotype andrologique d'une cohorte de plus de 300
patients**

Présentée et soutenue publiquement le 24 mars 2023 à 16 heures
au Pôle Formation
par **Marianne ABBOUD**

JURY

Président :

Madame la Professeure Sophie JONARD

Assesseurs :

Madame la Professeure Florence BOITRELLE

Madame le Docteur Anne-Laure BARBOTIN

Madame le Docteur Julie PRASIVORAVONG

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN

Table des matières

I. Introduction	4
II. Matériels et méthodes	7
III. Résultats	10
A. Caractéristiques de l'échantillon.....	10
B. Analyse de corrélations sur l'échantillon complet	13
C. Comparaison de moyennes par groupe de sévérité de nécrozoospermie	14
D. Comparaison des valeurs de vitalité selon le tabagisme, la présence d'une anomalie des voies séminales et l'étiologie de nécrozoospermie	15
IV. Discussion	18
V. Conclusion	25
VI. Bibliographie	26

Liste des abréviations

HOS test : Hypo-osmotic swelling test

FIV – ICSI : Fécondation in vitro avec injection intra-cytoplasmique du spermatozoïde

IGAM : Infection des glandes annexes masculines

AMP : Assistance médicale à la procréation

OMS : Organisme mondial de la Santé

IMC : Indice de masse corporelle

AVS : Anomalie des voies séminales

ROS : Dérivés réactifs de l'oxygène ou reactive oxygen species

CECOS : Centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme

AAS : Anticorps anti-spermatozoïdes

TESE : Testicular sperm extraction ou extraction testiculaire de spermatozoïde

Résumé

Introduction : La nécrozoospermie est une cause rare d'infertilité masculine, estimée entre 0,2 à 0,4% des hommes infertiles. Il existe trois catégories d'étiologie : testiculaire, post-testiculaire et mixte. L'objectif principal de ce travail est d'identifier les facteurs pouvant entraîner une nécrozoospermie sévère.

Matériels et méthodes : Ce travail est une étude rétrospective réalisée au centre hospitalier universitaire de Lille entre 2003 et 2021. Les données suivantes ont été collectées : âge, IMC, profession, consommation de toxiques, dosages hormonaux, les volumes testiculaires, les antécédents d'infection génitale ou des glandes annexielles masculines (IGAM), de chirurgie pelvienne, d'hyperthyroïdie, de polykystose rénale, de varicocèle. Les patients ont été répartis en trois groupes selon le degré de vitalité spermatique : nécrozoospermie légère (vitalité entre 40 et 54%), modérée (20-40%) et sévère (<20%). Les différentes étiologies de nécrozoospermie ont été catégorisées de la façon suivante : testiculaire, post-testiculaire, mixte, idiopathique.

Résultats : Les données de régression linéaire montrent une corrélation significative ($p = 0,04$; $r = 0,16$) entre le taux de FSH et la vitalité. En revanche, elle est inversement corrélée à l'âge avec une relation faible ($p = 0,02$; $r = 0,13$). La comparaison des volumes testiculaires totaux montre des valeurs significativement supérieures pour le groupe sévère par rapport aux groupes modéré (+7,9 mL ; $p = 0,0005$) et léger (+ 6,7mL ; $p = 0,0032$). Les patients présentant une anomalie des voies séminales souffrent d'une nécrozoospermie significativement plus sévère (+ 10,78% en moyenne ; $p = 0,0001$).

Discussion : Dans cette série, les patients souffrant d'une nécrozoospermie sévère présentent des taux de FSH et des volumes testiculaires normaux. Ces éléments sont plutôt en faveur d'un secteur Sertolien fonctionnel et évoquent donc une atteinte post-testiculaire pouvant affecter sévèrement la vitalité des spermatozoïdes. La présence d'une anomalie anatomique des voies séminales, telle qu'une dilatation de l'épididyme ou un kyste prostatique, serait un facteur de risque de sévérité de la nécrozoospermie.

Mots clés : Nécrozoospermie ; vitalité spermatique ; FSH ; anomalie des voies séminales ; infertilité masculine

I. Introduction

La nécrozoospermie est une cause rare d'infertilité masculine, estimée entre 0,2 à 0,4% des patients consultant pour un trouble de l'infertilité^[1]. Elle est dépistée lorsque la mobilité spermatique totale est inférieure à 40% et se définit comme une vitalité spermatique inférieure à 54% lors de l'analyse du spermogramme^[2]. Plusieurs techniques existent pour la dépister, parmi elles, le test à l'éosine ou à l'éosine-nigrosine sont les plus fréquemment utilisées. Le colorant utilisé pénètre dans le spermatozoïde mort par altération de sa perméabilité membranaire^[3]. Il apparaît alors rose tandis que les spermatozoïdes vivants restent blancs. Il existe également le hypo-osmotic swelling (HOS) test, dans lequel les spermatozoïdes sont mis au contact d'une solution hypo-osmotique. Les cellules vivantes gonflent et le flagelle s'enroule sur lui-même. Le HOS test n'endommage pas les spermatozoïdes, il est utilisé lorsque la coloration des spermatozoïdes doit être évitée, par exemple lors de la sélection d'un spermatozoïde pour une fécondation in vitro avec injection intra cytoplasmique du spermatozoïde (FIV-ICSI)^[4]. Le test à l'éosine est indiqué en présence d'un pourcentage élevé de spermatozoïdes immobiles pour différencier une asthénozoospermie d'une nécrozoospermie.

Il existe trois catégories d'étiologies responsables de nécrozoospermie : les causes testiculaire, post-testiculaire et mixte^[3,5]. Les causes testiculaires peuvent être liées à la présence d'une varicocèle ou d'une hyperthermie testiculaire. La varicocèle, l'hyperthyroïdie, des facteurs exogènes (position assise permanente comme pour les patients para- ou tétraplégiques, bains ou hammams fréquents), ou l'exposition professionnelle à la chaleur (position assise dans un véhicule plus de 3 heures par jour ou exposition à un four) altèrent la thermorégulation scrotale et diminuent la vitalité spermatique^[6]. La consommation de cannabis et l'exposition à des pesticides tels que les phtalates ou l'éthylène glycol augmentent la nécrozoospermie^[7].

Les causes mixtes ont à la fois un impact testiculaire c'est-à-dire sur la spermatogénèse, mais aussi sur les voies séminales. Chez les patients blessés médullaires, il existe une hyperthermie testiculaire liée à la position assise prolongée, mais la faible fréquence d'éjaculation entraîne également une diminution de la qualité du sperme et une accumulation de débris cellulaires au sein des voies séminales^[8]. Parmi les autres étiologies, le tabagisme, l'obésité, l'âge supérieur à 35 ans et les infections génitales peuvent entraîner une atteinte mixte. Six à dix pourcents des hommes qui souffrent d'infertilité ont un antécédent d'infection des glandes annexes masculines (IGAM) qui peuvent entraîner des séquelles testiculaires et avoir un impact sur la spermatogénèse^[9]. Une atteinte post-testiculaire par anomalie des voies séminales ou altération de la biochimie séminale seule est également possible^[10]. Après traitement antibiotique, les paramètres spermatiques reviennent généralement à la normale mais les séquelles anatomiques peuvent persister^[11]. D'autres anomalies des voies séminales sont à l'origine d'une baisse de la vitalité spermatique. Des cas de dilatation ou de kystes des vésicules séminales, des canaux éjaculateurs ou de la prostate sont rapportés comme étant responsables de nécrozoospermie^[12]. La pathologie kystique peut être en lien avec une polykystose rénale, qui peut s'étendre à d'autres organes, notamment les voies séminales^[13]. Parmi les atteintes post-testiculaires responsables de nécrozoospermie, la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes peut être la conséquence d'une rupture de la barrière hémato-testiculaire lors d'une chirurgie pelvienne (torsion testiculaire, vasectomie, cure de varicocèle...)^[14,15]. Dans 20% des cas de nécrozoospermie, aucune étiologie n'est retrouvée, elle est considérée comme idiopathique^[5].

Actuellement, il n'existe pas de réelle définition de la nécrozoospermie sévère. La revue systématique de Boursier et al^[16] a utilisé trois grades de sévérité. La nécrozoospermie légère était définie par un seuil de vitalité spermatique entre 40 et 54%, modérée entre 20 et 40% et sévère lorsqu'elle était inférieure à 20%. Si les étiologies sont connues, aucun article original

ne s'est encore intéressé à leur impact sur sa sévérité. L'objectif principal de ce travail est d'identifier les facteurs pouvant entraîner une nécrozoospermie sévère.

II. Matériels et méthodes

Ce travail est une étude rétrospective réalisée dans le service d'assistance médicale à la procréation (AMP), de biologie de la reproduction et d'andrologie du centre hospitalier universitaire de Lille entre 2003 et 2021. Les données ont été recueillies à partir des dossiers manuscrits et informatisés des patients, via le logiciel JFIV (Rdservice, Langlade, France). Le critère d'inclusion était : vitalité spermatique inférieure à 54% sur l'analyse du spermogramme entre 2003 et 2021. Les critères d'exclusion : ne pas avoir au moins deux spermogrammes espacés de trois mois, un délai d'abstinence de plus de sept jours et l'absence de suivi dans le service d'AMP ou d'andrologie du centre hospitalier universitaire (CHU) de Lille. Cette étude étant rétrospective et sans intervention, l'avis du comité d'éthique sur l'étude n'était pas requis. Tous les patients avaient donné leur consentement préalable pour l'utilisation de leur dossier clinique, hormonal et échographique. Le 16 décembre 2019, le comité d'éthique institutionnel du CHU de Lille a donné son accord sans restriction pour l'utilisation anonyme des dossiers cliniques, hormonaux et échographiques de tous les patients avec le logiciel JFIV (référence DEC20150715-0002).

Les éjaculats ont été obtenus par masturbation après 2 à 7 jours d'abstinence sexuelle. Après liquéfaction, dans l'heure suivant l'éjaculation, les échantillons ont été analysés pour les paramètres suivants : volume et pH du sperme, concentration des spermatozoïdes, motilité et vitalité. Toutes les analyses de sperme ont été effectuées conformément aux directives de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) qui étaient en vigueur au moment de l'étude^[2]. La vitalité des spermatozoïdes, en particulier, a été évaluée à l'aide d'un test d'exclusion à l'éosine (VitalScreen®, Fertipro), conformément aux instructions du fabricant. Deux gouttes de réactif 1 (éosine) ont été ajoutées à 50 µL de l'échantillon et homogénéisées. Après 30 secondes, 3 gouttes de réactif 2 (nigrosine) ont été ajoutées au mélange. La vitalité des spermatozoïdes a ensuite été évaluée en microscopie optique à fond clair (x400). Un total de 200 spermatozoïdes

a été évalué ; les spermatozoïdes avec des têtes colorées en rouge ou rose foncé ont été considérés comme morts (membrane endommagée), tandis que les spermatozoïdes avec des têtes blanche ou rose pâle ont été considérés comme vivants (membrane intacte).

Les données suivantes ont été collectées : âge, indice de masse corporelle (IMC), profession, consommation de toxiques (tabac, cannabis), dosages hormonaux (FSH, inhibine B), les antécédents d'infection génitale ou des glandes annexielles masculines, de chirurgie pelvienne (cure de hernie inguinale, de torsion testiculaire), d'hyperthyroïdie, de polykystose rénale, de varicocèle. Les comptes-rendus d'échographie testiculaire et/ou des voies génitales profondes ont permis d'obtenir les volumes testiculaires, ainsi que la présence d'une éventuelle anomalie des voies séminales à type de dilatation de l'épididyme, de kyste des vésicules séminales, de la prostate ou des canaux éjaculateurs.

Comme décrit précédemment par Barbotin et al^[17], les dosages sériques de la FSH ont été mesurés par dosage immunologique à l'aide d'un analyseur automatique (Architect, Abbott Laboratories, USA). La limite de quantification était de 0,2 UI/L, avec des coefficients de variation intra- et inter-essais de 3,1 % et 5,6 %. Les valeurs de référence étaient de 1,2 à 7,8 UI/L pour la FSH. Les dosages sériques d'inhibine B ont été mesurés à l'aide du dosage immunoenzymatique de l'inhibine B OBI à deux sites [Oxford Bio-Innovation Ltd, Oxford, Royaume-Uni; distribué par Diagnostic Systems Laboratories/Beckman Coulter (Villepinte, France)]. Afin d'améliorer la plage de mesure, un point de référence supplémentaire (7,8 pg/mL) a été ajouté à la courbe standard. La LOD pour l'inhibine B était de 14 pg/mL. La plage de référence pour l'inhibine B était comprise entre 87 et 317 pg/mL (médiane = 178 pg/mL).

Les patients ont été répartis en trois groupes selon le degré de vitalité spermatique : nécrozoospermie légère (vitalité entre 40 et 54%), modérée (20-40%) et sévère (<20%).

Les différentes étiologies de nécrozoospermie ont été catégorisées selon la façon suivante : testiculaire, post-testiculaire, mixte, idiopathique. La catégorie idiopathique rassemble tous les patients qui n'ont aucune étiologie retrouvée à la nécrozoospermie. Concernant l'étiologie post-testiculaire, les antécédents de chirurgie pelvienne ont été classés comme responsable de la nécrozoospermie en cas de présence d'agglutinats sur les spermogrammes. Les anomalies des voies séminales liées à un antécédent d'IGAM ont été classées en catégorie post-testiculaire s'il n'y avait pas d'autre altération spermatique type oligospermie. Dans le cas contraire, elles étaient classées mixte, l'oligospermie étant le signe d'une atteinte de la spermatogénèse. Si les patients présentaient plusieurs étiologies de catégories différentes, ils étaient classés mixte également.

La normalité de distribution se vérifiait par les tests de Kolmogorov-Smirnov et de Shapiro-Wilk. Les données étaient ensuite analysées par un test ANOVA ou son équivalent non-paramétrique (Kruskal-Wallis). Enfin, des tests post-hoc ont permis d'effectuer des comparaisons multiples (test de Dunn). L'analyse des corrélations a été réalisée par les tests de Spearman ou de Pearson en fonction de la normalité de distribution. L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel GraphPad (GraphPad Prism 9, Dotmatics, Boston, Etats-Unis) . Les données sont présentées en moyenne +/- erreur standard et le seuil de significativité était de $p \leq 0,05$.

III. Résultats

A. Caractéristiques de l'échantillon

Entre 2003 et 2021, parmi les 1870 patients ayant un spermogramme avec une vitalité diminuée, 339 patients ont été inclus dans l'étude.

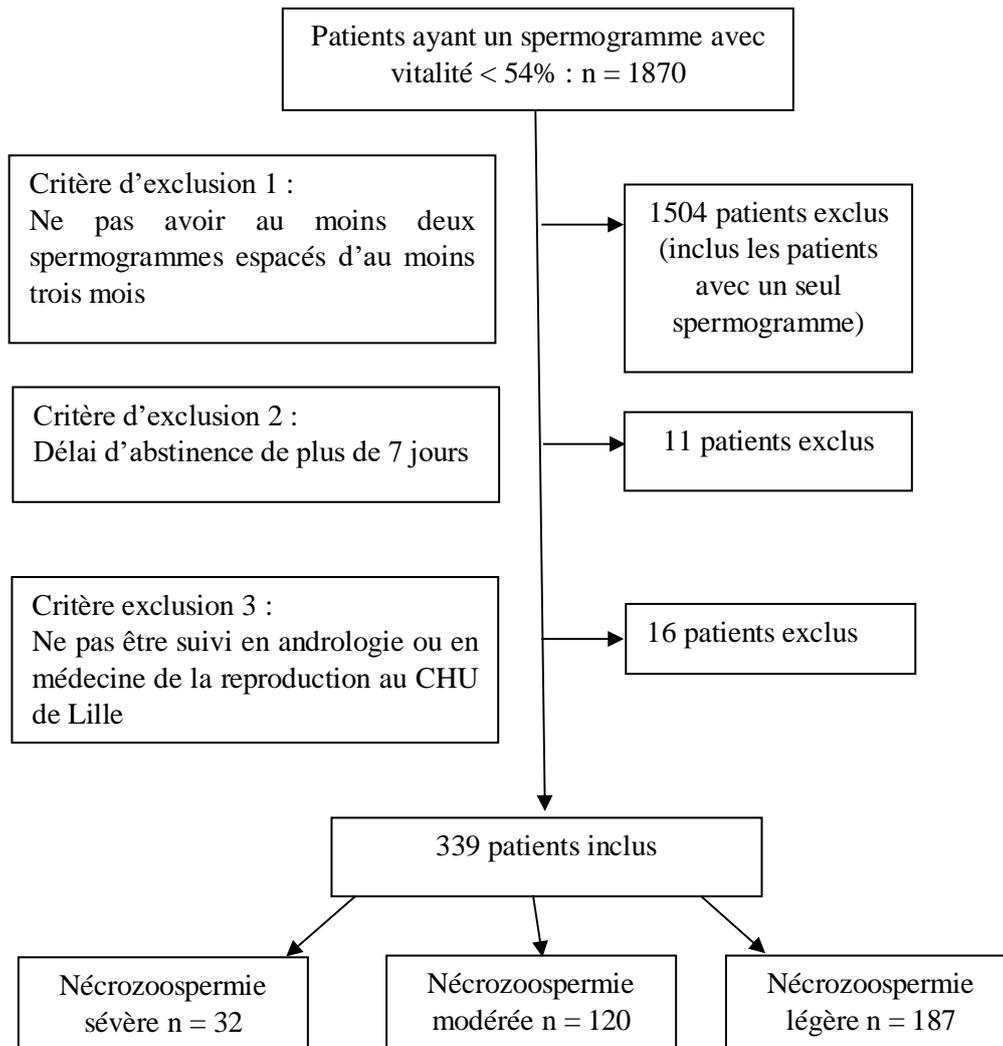


Figure 1 : Diagramme de flux des patients intégrés dans l'étude.

Parmi les patients, 55% avaient une nécrozoospermie légère (n= 187) ; modérée pour 35% (n= 120) et sévère pour 10% (n= 32). D'après la figure 2, la majorité des patients présentaient une étiologie mixte de nécrozoospermie.. Le tableau 1 décrit la répartition précise de chaque étiologie et le tableau 2 décrit les différentes anomalies des voies séminales retrouvées en

échographie. Le tableau 3 décrit les éléments cliniques, hormonaux et spermatiques selon la sévérité de la nécrozoospermie.

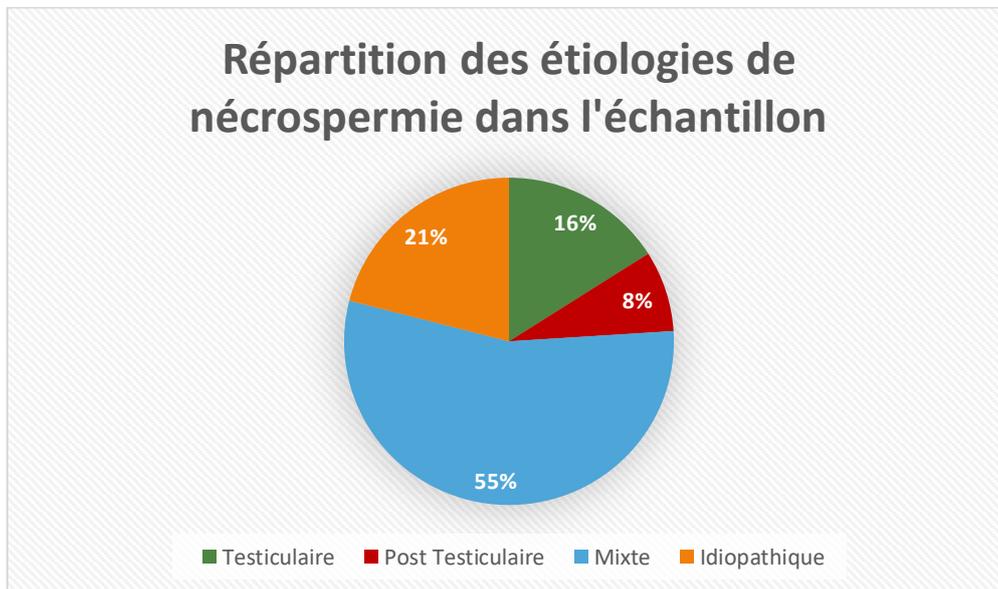


Figure 2 : Répartition des étiologies de nécrozoospermie dans l'échantillon.

Tableau 1 : Descriptif des étiologies de nécrozoospermie dans l'échantillon.

Etiologies	Patients (n=339)
Âge > 35 ans	186
Tabagisme	118
Varicocèle	75
Idiopathique	73
Obésité	66
IGAM aigüe ou chronique	43
AVS	38
Hyperthermie locale	24
Chirurgie inguino-scrotale	14
Exposition aux pesticides	3
PKAD	3
Hyperthyroïdie	2
Intoxication cannabis	1
Blessé médullaire	0

AVS = anomalie des voies séminales ; PKAD = polykystose autosomique dominante ; IGAM = infection des glandes annexielles masculines. Certains patients présentaient plusieurs étiologies de catégories différentes (n = 90).

Tableau 2 : Description des anomalies des voies séminales (AVS) diagnostiquées en échographie testiculaire et/ou des voies profondes. Aucun patient ne présentait plusieurs anomalies.

Description des AVS	Patients (n=38)
Epididyme dilaté	26
Kyste prostatique	7
Canal déférent dilaté	2
Kyste vésicule séminale	2
Kyste corps spongieux	1

Tableau 3 : Caractéristiques des patients selon la sévérité de la nécrozoospermie.

Caractéristiques	Population totale (n=339)	Vitalité <20% (n=32)	Vitalité 20-40% (n=120)	Vitalité >40% (n=187)	P – Valeur
Âge (année)	37 ± 6	39 ± 7	38 ± 6	36 ± 5	p<0.05
IMC (kg/m ²)	26.5 ± 3.9	27.4 ± 3.3	25.8 ± 3.2	26.9 ± 4.4	0.17
FSH (UI/L)	5.5 ± 2.9	4.4 ± 2.2	5.7 ± 3.1	5.5 ± 2.7	0.24
Inhibine B (pg/mL)	146 ± 60	157 ± 54	137 ± 56	150 ± 65	0.64
Concentration (millions/mL)	22.1 ± 24.9	15.1 ± 18.0	25.9 ± 30.8	20.3 ± 21.4	0.15
Volume éjaculat (mL)	3 ± 1.3	2.0 ± 1.0	2.8 ± 1.1	3.3 ± 1.3	p<0.05 a**, b*
pH séminal	7.9 ± 0.2	7.8 ± 0.3	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	0.67
Volume testiculaire total (mL)	25 ± 7	32 ± 8	24 ± 7	25 ± 7	p<0.05 a***, b**

Moyenne ± erreur type à la moyenne Volume testiculaire total : addition des volumes en mL du testicule droit et gauche. a : <20% vs 20-40% ; b : <20% vs >40%. * <0.05 ; ** <0.01 ; *** <0.001

B. Analyse de corrélations sur l'échantillon complet

Les données de régression linéaire montrent une corrélation significative mais faible ($r = 0,16$; $p = 0,04$) entre le taux de FSH et la vitalité. En revanche, elle est inversement corrélée à l'âge avec une relation faible ($p = 0,02$; $r = 0,13$) (Fig 3). Les analyses de l'IMC, du volume testiculaire et du dosage d'inhibine B n'ont pas montré de corrélation significative (Fig 3).

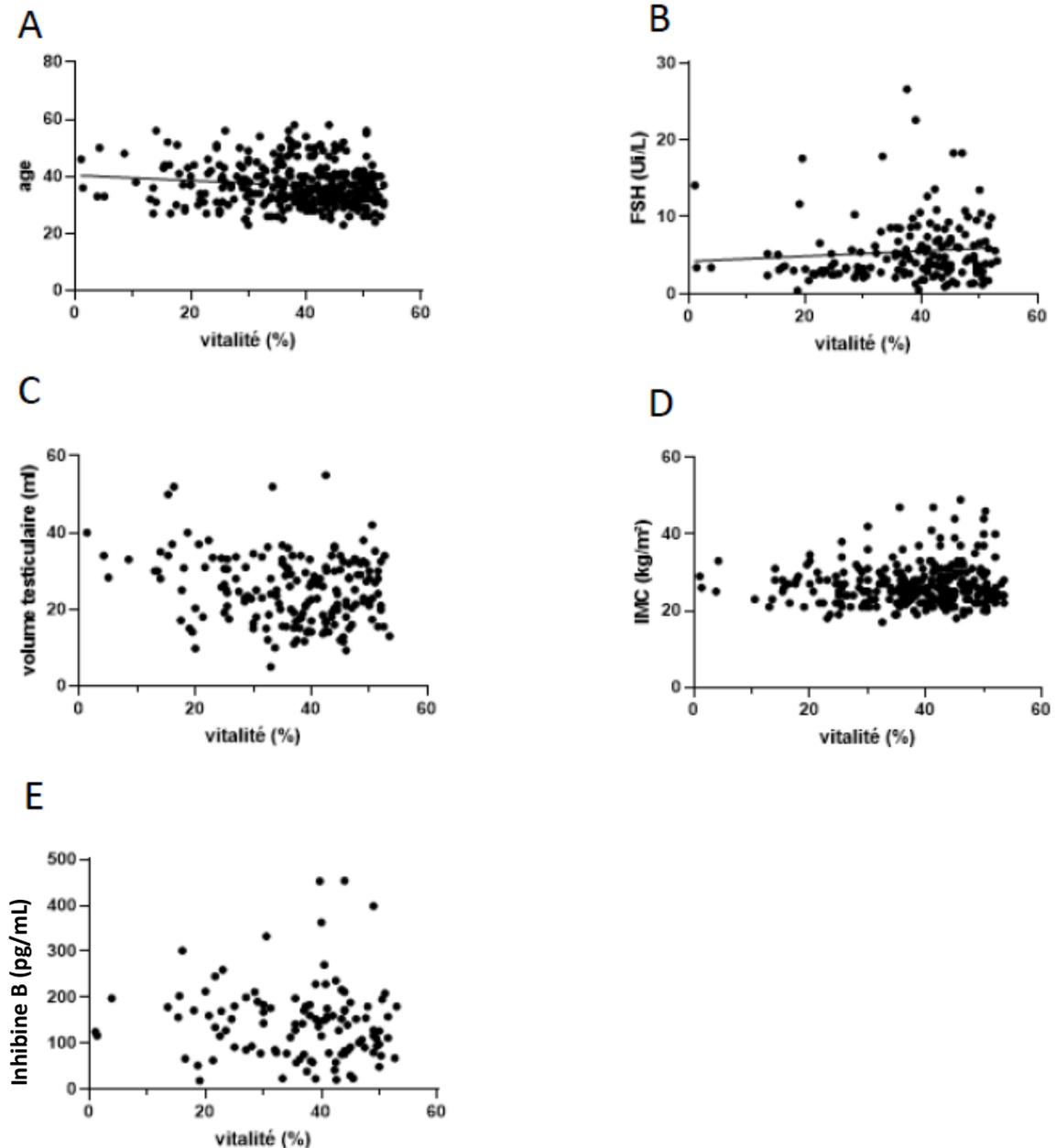


Figure 3 : analyse de corrélation entre la vitalité et l'âge (A, $r = 0,13$; $p = 0,02$), la FSH (B, $r = 0,16$; $p = 0,04$), le volume testiculaire total (C, $r = - 0,12$; $p = 0,10$), l'IMC (D, $r = 0,00$; $p = 0,99$) et l'inhibine B (E, $r = -0,11$; $p = 0,25$).

C. Comparaison de moyennes par groupe de sévérité de nécrozoospermie

L'analyse des spermogrammes montre une diminution significative du volume de l'éjaculat dans le groupe sévère en comparaison aux groupes modéré (- 0,8mL ; $p = 0.0068$) et léger (- 1,3mL ; $p = 0.042$) mais reste supérieur à 1,4mL (normes OMS 2021). En revanche, les analyses du pH et de la concentration en millions/mL n'ont pas retrouvé de différence significative entre les différents groupes de sévérité.

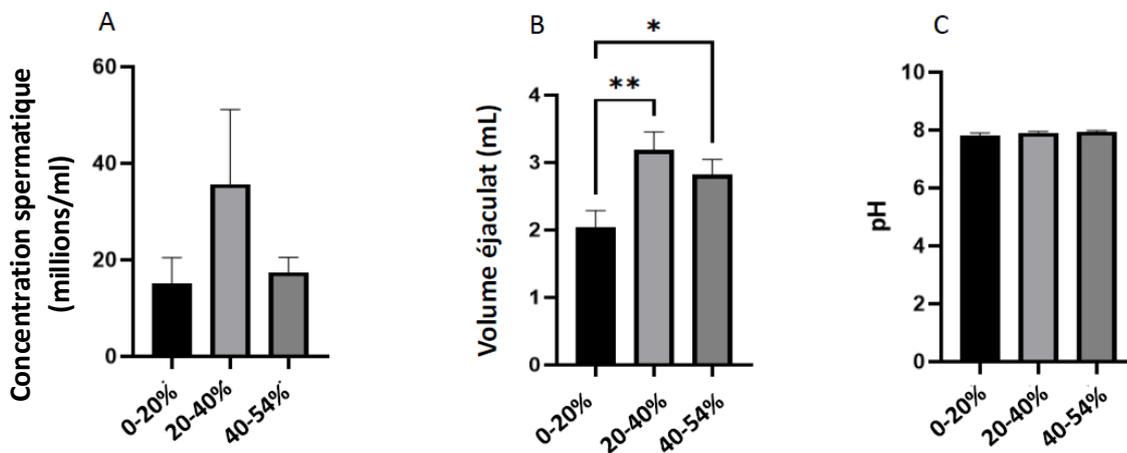


Figure 4 : Graphiques représentant, selon la sévérité de la nécrozoospermie, A) la concentration spermatique en millions/mL, $p = 0.15$, B) Le volume de l'éjaculat en mL, * $p = 0.04$; ** $p = 0.0068$, C) Le pH séminal, $p = 0.67$.

La comparaison des volumes testiculaires totaux montre des valeurs significativement supérieures pour le groupe sévère par rapport aux groupes modéré (+7,9 mL ; $p = 0,0005$) et léger (+ 6,7mL ; $p = 0,0032$) (Fig 5). Ces deux derniers groupes présentent des valeurs proches, sans différence significative ($p = 0,64$). Concernant l'âge, le groupe souffrant d'une nécrozoospermie légère avait un âge inférieur aux deux autres groupes. La différence était à la limite de la significativité par rapport au groupe modéré ($p = 0,054$). Les taux d'inhibine B, de FSH, et l'IMC ne sont pas significativement différents entre les 3 groupes (Fig 5).

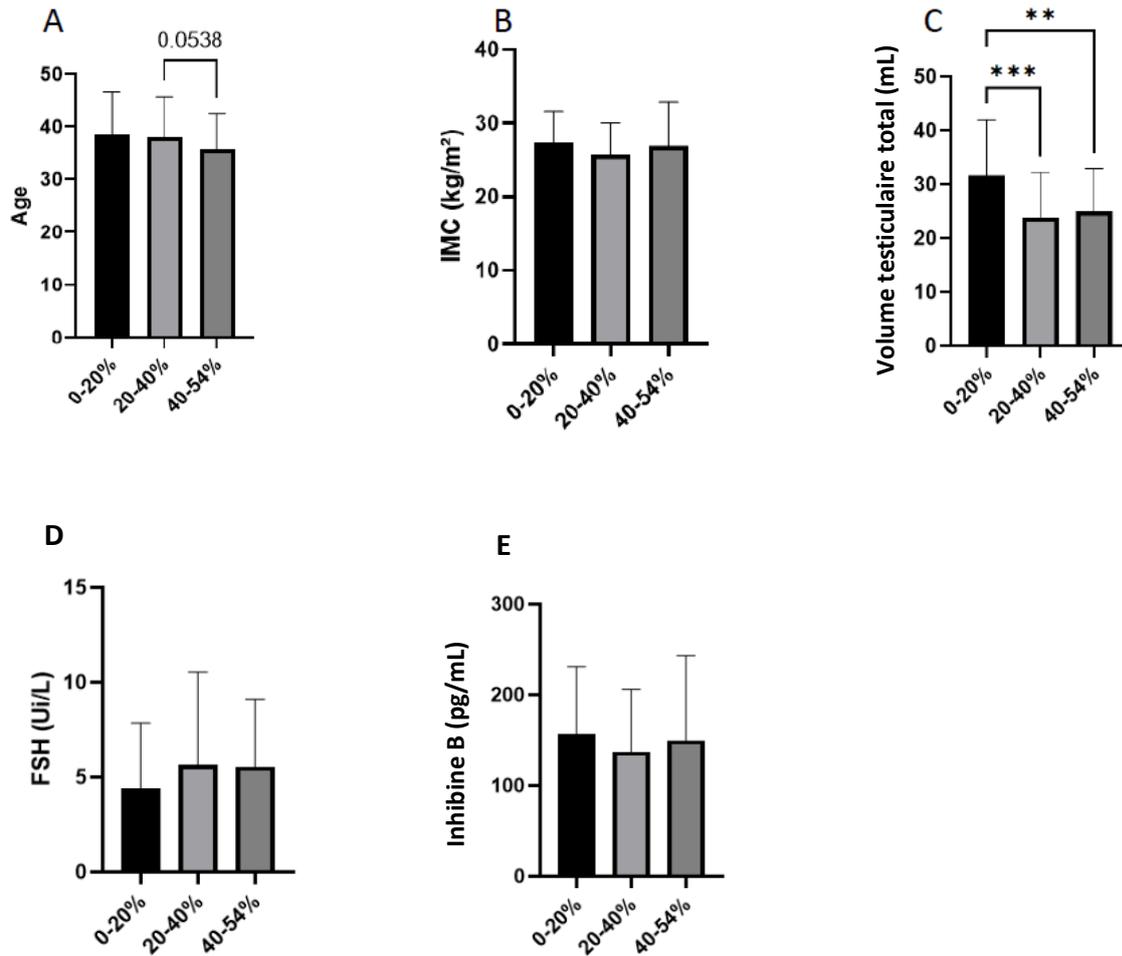


Figure 5 : Graphiques représentant, selon la sévérité de la nécrozoospermie, A) L'âge, $p = 0.053$, B) L'IMC, $p = 0.17$, C) Le volume testiculaire total en mL, ** $p = 0.0032$; *** $p = 0.0005$, D) Le dosage de FSH en UI/L, $p = 0.24$, E) Le dosage d'inhibine B en pg/ml, $p = 0.6$.

D. Comparaison des valeurs de vitalité selon le tabagisme, la présence d'une anomalie des voies séminales et l'étiologie de nécrozoospermie

Le tabagisme n'a pas d'influence sur la sévérité de nécrozoospermie, car aucune différence significative n'a été retrouvée entre les groupes (Fig 6). En revanche, les patients présentant une anomalie des voies séminales souffrent d'une nécrozoospermie significativement plus sévère (- 10,78% de vitalité en moyenne ; $p = 0,0001$) (Fig 6).

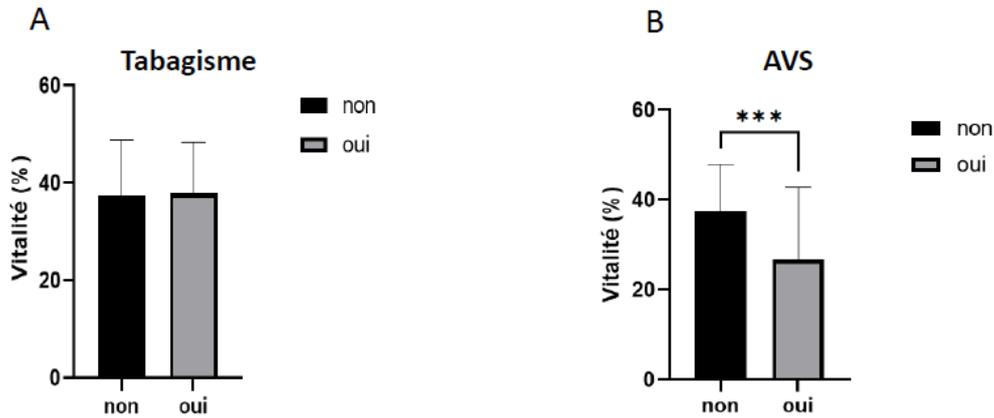


Figure 6 : A) Comparaison de l'impact du tabagisme sur la sévérité de la nécrozoospermie, $p = 0.88$. B) Comparaison de l'impact d'une anomalie des voies séminales sur la sévérité de la nécrozoospermie, $*** p = 0.0001$.

Ceci est confirmé par la figure 7 qui montre un taux moyen de vitalité significativement plus sévère (28%) dans le groupe ayant une étiologie post-testiculaire en comparaison à toutes les autres. Les catégories testiculaire, mixte et idiopathique ont un taux moyen de vitalité proche (entre 38 et 40%) (Fig 7). La répartition des étiologies selon la sévérité de nécrozoospermie rejoint les éléments précédemment décrits, avec 28 % d'étiologie post-testiculaire dans le groupe de nécrozoospermie sévère, 8 % dans le groupe modéré et 4,8 % dans le groupe léger. Les étiologies mixte sont comparables dans les trois groupes de sévérité (Fig 7).

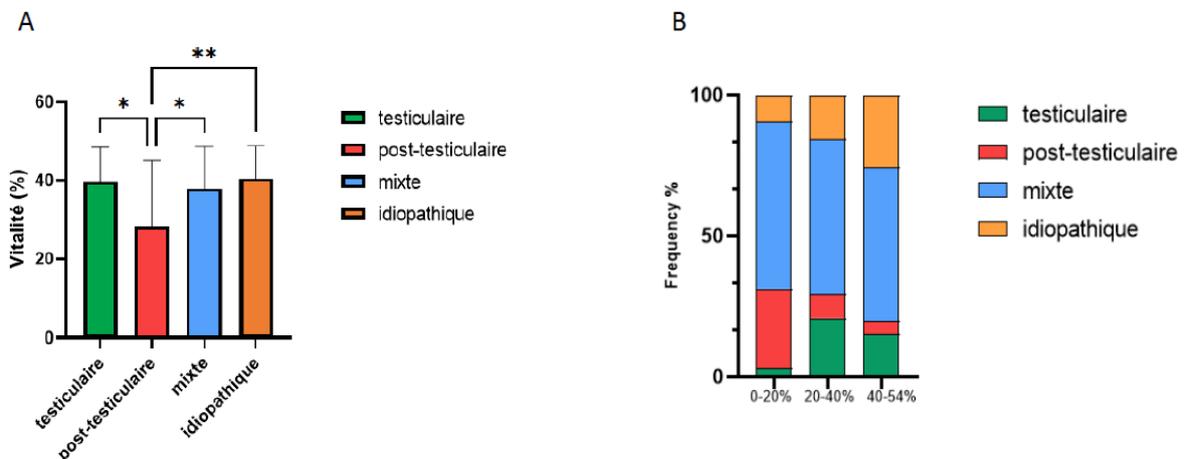


Figure 7 : A) Comparaison de l'impact de l'étiologie de nécrozoospermie sur sa sévérité. $* p = 0,01$; $** p = 0,0075$. B) Répartition des étiologies de nécrozoospermie dans les groupes léger, modéré et sévère.

Une analyse complémentaire a été réalisée pour les patients qui présentaient plusieurs étiologies de nécrozoospermie, afin de déterminer si le cumul de facteurs de risque avait un impact sur la vitalité spermatique. Ce sous-groupe comptait 90 patients et avait une vitalité spermatique moyenne de 38%. L'analyse qualitative à partir d'un test chi2 n'a pas montré de différence significative entre les différents groupes de sévérité de nécrozoospermie (groupe sévère, n = 9, soit 28,1% ; groupe modéré, n = 31, soit 25,8% ; groupe léger, n = 50, soit 26,7% ; p=0.84).

IV. Discussion

Cette étude représente la plus large série décrivant le profil andrologique de patients souffrant de nécrozoospermie de sévérité variable. Les résultats montrent que la présence d'une étiologie post-testiculaire, notamment la présence d'une anomalie des voies séminales, telle qu'une dilatation de l'épididyme, un kyste des vésicules séminales ou un kyste prostatique, est un facteur de risque de sévérité de nécrozoospermie. Les autres étiologies séparées ou combinées ne semblent pas l'aggraver.

L'analyse de la corrélation de l'âge sur la nécrozoospermie montre un effet délétère, mais statistiquement faible. Cette observation a déjà été rapportée dans la littérature, notamment à partir de 35 ans^[18,19]. Elle serait en lien avec une augmentation du taux de fragmentation de l'ADN spermatique et de ROS (dérivés réactifs de l'oxygène ou reactive oxygen species) et une anomalie de la sécrétion des enzymes du plasma séminal qui régulent la vitalité spermatique^[18,20]. Toutefois, l'âge semble n'avoir qu'un impact délétère minime sur la vitalité des spermatozoïdes.

Le taux de FSH est inversement corrélé au taux de nécrozoospermie. Il est à analyser en parallèle du volume testiculaire qui, quant à lui, est significativement plus élevé quand la nécrozoospermie est sévère. La comparaison du taux d'inhibine B entre les groupes de sévérité n'a pas retrouvé de différence significative. La FSH joue un rôle majeur dans la spermatogénèse à travers ses récepteurs sur les cellules de Sertoli. Elle permet aux cellules de Sertoli de stimuler la production de spermatogonies ainsi que leur maturation. En association avec la testostérone intratesticulaire, la FSH exerce un effet anti-apoptotique sur les cellules germinales^[21], ce qui pourrait expliquer que la nécrozoospermie reste modérée voire légère malgré des taux élevés de FSH chez certains patients. L'inhibine B, la FSH ainsi que le volume testiculaire sont des marqueurs du fonctionnement du secteur Sertolien et de la spermatogénèse. Dans cette série,

les patients souffrant d'une nécrozoospermie sévère présentent un taux de FSH dans les normes en regard d'un volume testiculaire normal. De plus, il n'existait pas de différence significative de la concentration spermatique entre les différents groupes de sévérité, contrairement aux volumes séminaux qui étaient significativement abaissés dans le groupe de nécrozoospermie sévère en comparaison aux autres groupes. Ces données évoquent donc la présence d'un secteur Sertolien fonctionnel, et par conséquent une atteinte post-testiculaire pour expliquer cette anomalie sévère de la vitalité des spermatozoïdes. Dans ce travail, les atteintes post-testiculaire sont principalement d'origine épидидymaire. L'épididyme étant responsable d'environ 5% de la sécrétion du plasma séminal à pH légèrement acide, cela explique que le volume de l'éjaculat soit dans les normes de l'OMS (supérieur à 1.4mL) dans le groupe nécrozoospermie sévère et l'absence de différence significative de l'analyse de pH entre les groupes.

Les données de la littérature montrent que l'obésité est associée à une diminution significative de la vitalité des spermatozoïdes [22,23]. L'obésité induit un processus inflammatoire chronique au sein des tubes séminifères et de l'épididyme par une sécrétion importante de ROS et de médiateurs de l'inflammation. Par conséquent, elle provoque une perturbation des fonctions testiculaire et épидидymaire[22]. En outre, l'hyperthermie scrotale induite par l'excès de masse graisseuse abdominale pourrait également impacter la vitalité spermatique[24]. Cependant dans ce travail, Il n'a pas été montré de relation significative entre la sévérité de l'obésité et la gravité de nécrozoospermie. L'étude prospective de Eisenberg et al[25] a comparé les paramètres spermatiques selon l'IMC sur une cohorte de plus de cinq cents hommes. Parmi les patients souffrant de nécrozoospermie, il n'y avait pas d'impact de la valeur de l'IMC sur la vitalité spermatique ni d'ailleurs sur le nombre de patients ayant un index de fragmentation de l'ADN spermatique augmenté.

Dans cette étude, il n'a pas été mis en évidence de corrélation entre la gravité de la nécrozoospermie et la présence d'un tabagisme actif. Une étude prospective réalisée sur 95

patients divisé en deux groupes (fumeurs et non-fumeurs) par Mostafa et al^[26] a démontré qu'il existait un impact important du tabagisme sur la concentration, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes. Le tabagisme favorise la création de ROS ce qui induit par conséquent une diminution significative des propriétés antioxydantes du plasma séminal^[26]. De plus, ce stress oxydatif augmenterait significativement au sein du noyau spermatique la fragmentation de l'ADN et les anomalies de condensation de la chromatine^[24]. Concernant l'impact du cannabis, peu de patients ont déclaré une consommation de cannabis active et régulière dans cette série. Aucune analyse n'a donc pu être effectuée malgré l'impact négatif connu du cannabis sur la vitalité spermatique^[7].

L'équipe de Copens et al^[12] s'est intéressée à l'impact des anomalies des voies séminales sur la fertilité et les symptômes cliniques génito-urinaires. Dans une étude prospective, 65 patients présentaient à l'échographie endorectale un kyste de l'utricule, compliqué ou non d'une anomalie des canaux éjaculateurs ou d'une dilatation des vésicules séminales uni ou bilatérale : 12% des hommes souffraient d'infertilité, parmi eux, 25% présentaient une nécrozoospermie. Les anomalies des voies séminales peuvent être responsables d'une infertilité lorsqu'elles sont associées à d'autres signes d'obstruction comme l'hypovolémie, une anomalie de sécrétion du plasma séminal, l'oligospermie sévère ou l'azoospermie^[12]. Le plasma séminal permet aux spermatozoïdes d'être transportés à travers les voies excrétrices dans des conditions stables (physiques, biochimiques et bactériologiques). Toute modification de sa composition peut altérer la vitalité des spermatozoïdes^[27]. Les kystes épидидymaires fréquemment retrouvés en échographie ne seraient pas associés à l'infertilité^[28].

Les anomalies des voies séminales peuvent être la conséquence d'une infection génitale telle qu'une épидидymite ou une prostatite. Le transit épидидymaire permet aux spermatozoïdes d'acquérir ses fonctions de mobilité et de fécondance. Or, en cas d'épидидymites à répétition, l'épithélium épидидymaire peut s'altérer et perdre ses capacités de sécrétion et de résorption,

expliquant l'altération des paramètres spermatiques^[10]. Les infections bactériennes aiguës, sub-aiguës ou chroniques peuvent également avoir un impact sur la fertilité masculine. Les pathogènes majeurs retrouvés relativement fréquemment dans des situations d'hypofertilité masculine sont : colibacilles, chlamydia trachomatis, ureaplasma urealyticum, mycoplasma hominis et mycoplasma genitalium^[9,29]. La présence de ces bactéries va induire la création d'un micro-environnement inflammatoire au sein des voies séminales via le recrutement de leucocytes et la sécrétion excessive de médiateurs inflammatoires tels que certaines cytokines et/ou des ROS qui vont ensuite perturber la spermatogénèse, les processus de maturation spermatique post-testiculaire, modifier le degré de condensation de la chromatine spermatique et enfin augmenter le taux de fragmentation de l'ADN spermatique^[30,31]. En outre, les lésions tissulaires secondaires à ces infections peuvent provoquer une rupture de la barrière épithéliale (testiculaire, épидидymaire ou déférentielle) et ainsi favoriser une réponse auto-immune anti-spermatozoïdes^[32].

Peu d'études se sont intéressées à l'impact de l'étiologie sur la gravité de la nécrozoospermie. La revue de la littérature récente de Boursier et al.^[16], a mis en évidence que les patients souffrant d'une anomalie post-testiculaire avait une nécrozoospermie plus sévère en comparaison aux patients souffrant d'étiologies mixtes. Ces derniers présentaient plutôt des nécrozoospermies modérées voire légères. Dans cette série, la présence d'une anomalie des voies séminales aggraverait la nécrozoospermie de façon significative. Les analyses complémentaires n'ont pas montré d'effet additif ou synergique du cumul de facteurs de risque et/ou de pathologies pouvant induire des anomalies de la vitalité sur la sévérité de la nécrozoospermie. Selon les groupes de sévérité, entre 26 et 28% des patients présentaient plusieurs étiologies de nécrozoospermie. La présence d'une anomalie post-testiculaire étant le seul facteur de risque retrouvé à la sévérité de la nécrozoospermie, si un patient présente un

autre facteur de risque d'origine mixte ou testiculaire, cela n'aurait – a priori - qu'un faible impact sur la dégradation de la vitalité des spermatozoïdes.

L'épididyme pourrait constituer un environnement hostile pour le transit des spermatozoïdes, où ils subiraient un stress oxydatif important^[3,33]. Wilton et al^[33] ont étudié la composition du plasma séminal ainsi que l'ultrastructure des spermatozoïdes testiculaires et éjaculés chez quatre hommes souffrant d'asthénozoospermie (entre 0 et 16% de mobilité totale) et de nécrozoospermie (vitalité entre 2 et 45%). Dans cette étude rétrospective, il est démontré que la composition du plasma séminal ainsi que l'analyse de la structure du spermatozoïde testiculaire au microscope électronique était normale, contrairement à la structure du spermatozoïde dans l'éjaculat. Cela suggère que la mort des spermatozoïdes surgit au cours du transit ou du stockage du spermatozoïde dans l'épididyme, cette hypothèse est confirmée par l'amélioration des paramètres spermatiques après éjaculations répétées^[33,34]. Lorsqu'aucune étiologie n'est retrouvée à la nécrozoospermie, elle est considérée d'origine épидидymaire selon la littérature. Cependant ces études sont réalisées sur de faibles effectifs. Il semblerait plus judicieux de séparer en groupes distincts les nécrozoospermies d'origine idiopathique de celles d'origine post-testiculaire par anomalies des voies séminales documentées par imagerie. Dans notre effectif, 21% des nécrozoospermies sont d'origine idiopathique, ce qui est en accord avec les données publiées dans la littérature^[5].

Aucun cas de nécrozoospermie avec antécédent de chirurgie inguino-scrotale n'a pu être rapporté à une suspicion d'anticorps anti-spermatozoïdes (AAS) car aucun agglutinat n'a été observé. Le lien entre la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes et la diminution de la vitalité spermatique est controversé. La méta-analyse de Cui et al^[14], réunissant 8 études avec 238 cas de patients infertiles avec AAS et 929 cas sans AAS, retrouvait un impact négatif de la présence d'AAS sur la concentration, la mobilité et l'absence d'impact sur la morphologie et la vitalité spermatique. Dans une récente revue de la littérature, il est décrit que la présence d'AAS serait

associée de façon significative à une diminution de la mobilité, vitalité et numération spermatique^[35]. Il est recommandé de réaliser une recherche d'AAS en cas d'antécédents de chirurgie pelvienne, traumatisme testiculaire ou torsion testiculaire ou la présence d'agglutinats au spermogramme indépendamment d'altérations des paramètres spermatiques^[35].

Certains éléments de ce travail rétrospectif sont manquants, principalement dans le groupe de nécrozoospermie légère. Entre 40 et 54% de vitalité, les patients n'avaient pas toujours un bilan andrologique complet, normalement composé d'un examen clinique, d'une échographie testiculaire et d'un bilan hormonal si le reste des paramètres spermatiques était par ailleurs satisfaisants. Cependant, il s'agit à ce jour de la plus grande cohorte de patients souffrant de nécrozoospermie, tous les bilans hormonaux étaient analysés dans le laboratoire d'hormonologie du CHU de Lille et toutes les échographies étaient réalisées par un radiologue expérimenté dans le service d'imagerie génito-urinaire du CHU de Lille. Parmi les patients, aucun ne souffrait de troubles éjaculatoires secondaires à une atteinte médullaire. Ceci est directement en lien avec le critère d'exclusion d'abstinence de plus de sept jours. De plus, au sein du CHU de Lille, ces patients ont un parcours organisé avec un recueil de sperme analysé au CECOS (Centre d'Etude et de Conservation des Œufs et du Sperme) où la vitalité spermatique n'est pas étudiée sur l'éjaculat frais avant la congélation (seules la concentration et la mobilité sont analysées).

La présence d'une nécrozoospermie diminuerait le taux de fécondation, de blastoformation, d'implantation, de grossesse et de naissances vivantes en ICSI^[36]. Négri et al^[36] ont comparé rétrospectivement les résultats en FIV-ICSI avec sperme éjaculé (ICSI – éjaculat) par rapport au FIV-ICSI avec extraction testiculaire de spermaozoïde (ICSI - TESE) chez des hommes bénéficiant d'AMP en raison d'une nécrozoospermie (entre 5 et 45% de vitalité spermatique). Au total, 231 couples ont été inclus, 342 cycles d'ICSI – éjaculat et 182 cycles d'ICSI - TESE ont été analysés. Les taux d'implantation, de grossesses et de naissances vivantes étaient

significativement supérieurs dans le groupe ICSI – TESE. Le taux de grossesse par cycle était de 36,8% et le nombre de naissance vivantes par cycle de 28,5% dans le groupe ICSI - TESE versus 19,9% et 13,7% dans le groupe ICSI – éjaculat^[36]. Il sera intéressant d'étudier les résultats des cycles de FIV ICSI de de patients souffrant de nécrozoospermie et de comparer les résultats en ICSI – éjaculat et ICSI – TESE.

V. Conclusion

Le profil d'un homme souffrant de nécrozoospermie sévère est celui d'un patient avec une étiologie post-testiculaire à type d'anomalie des voies séminales. Son âge moyen est de 39 ans, il présente un volume testiculaire normal et un dosage de FSH dans les normes basses, correspondant à un profil post-testiculaire sans atteinte franche de la spermatogenèse. Il serait intéressant d'étudier les issues en assistance médicale à la procréation de ces patients, notamment les résultats en ICSI-éjaculat versus ICSI-TESE selon la sévérité de ces anomalies de la vitalité et selon leurs étiologies.

VI. Bibliographie

1. Brahem S, Jellad S, Ibala S, Saad A, Mehdi M. DNA fragmentation status in patients with necrozoospermia. *Syst Biol Reprod Med* 2012;58(6):319-23.
2. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 6th ed. Geneva: World Health Organization;
3. Agarwal A, Sharma RK, Gupta S, Boitrelle F, Finelli R, Parekh N, et al. Sperm Vitality and Necrozoospermia: Diagnosis, Management, and Results of a Global Survey of Clinical Practice. *World J Mens Health* 2022;40(2):228-42.
4. Baskaran S, Finelli R, Agarwal A, Henkel R. Diagnostic value of routine semen analysis in clinical andrology. *Andrologia* 2021;53(2):e13614.
5. Dumont A, Barbotin AL, Lefebvre-Khalil V, Mitchell V, Rigot JM, Boitrelle F, et al. [Necrozoospermia: From etiologic diagnosis to therapeutic management]. *Gynecol Obstet Fertil Senol* 2017;45(4):238-48.
6. Thonneau P, Bujan L, Multigner L, Mieuisset R. Occupational heat exposure and male fertility: a review. *Hum Reprod* 1998;13(8):2122-5.
7. Payne KS, Mazur DJ, Hotaling JM, Pastuszak AW. Cannabis and Male Fertility: A Systematic Review. *J Urol* 2019;202(4):674-81.
8. Mallidis C, Lim TC, Hill ST, Skinner DJ, Brown DJ, Johnston WI, et al. Necrospermia and chronic spinal cord injury. *Fertil Steril* 2000;74(2):221-7.
9. La Vignera S, Vicari E, Condorelli RA, D'Agata R, Calogero AE. Male accessory gland infection and sperm parameters (review). *Int J Androl* 2011;34(5 Pt 2):e330-347.
10. Boitrelle F, Robin G, Lefebvre C, Bailly M, Selva J, Courcol R, et al. [Bacteriospermia in Assisted Reproductive Techniques: effects of bacteria on spermatozoa and seminal plasma, diagnosis and treatment]. *Gynecol Obstet Fertil* 2012;40(4):226-34.
11. Keck C, Gerber-Schäfer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldt M. Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update* 1998;4(6):891-903.
12. Coppens L, Bonnet P, Andrienne R, de Leval J. Adult müllerian duct or utricule cyst: clinical significance and therapeutic management of 65 cases. *J Urol* 2002;167(4):1740-4.
13. Fang S, Baker HWG. Male infertility and adult polycystic kidney disease are associated with necrospermia. *Fertil Steril* 2003;79(3):643-4.
14. Cui D, Han G, Shang Y, Liu C, Xia L, Li L, et al. Antisperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: A systematic review and meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2015;444:29-36.
15. Verón GL, Molina RI, Tissera AD, Estofan GM, Marín-Briggiler CI, Vazquez-Levin MH. Incidence of Sperm Surface Autoantibodies and Relationship with Routine Semen Parameters and Sperm Kinematics. *Am J Reprod Immunol* 2016;76(1):59-69.

16. Boursier A, Dumont A, Boitrelle F, Prasivoravong J, Lefebvre-Khalil V, Robin G, et al. Necrozoospermia: The tree that hides the forest. *Andrology* 2022;10(4):642-59.
17. Barbotin AL, Ballot C, Sigala J, Ramdane N, Duhamel A, Marcelli F, et al. The serum inhibin B concentration and reference ranges in normozoospermia. *Eur J Endocrinol* 2015;172(6):669-76.
18. Siddighi S, Chan CA, Patton WC, Jacobson JD, Chan PJ. Male age and sperm necrosis in assisted reproductive technologies. *Urol Int* 2007;79(3):231-4.
19. Stone BA, Alex A, Werlin LB, Marrs RP. Age thresholds for changes in semen parameters in men. *Fertil Steril* 2013;100(4):952-8.
20. Collodel G, Ferretti F, Masini M, Gualtieri G, Moretti E. Influence of age on sperm characteristics evaluated by light and electron microscopies. *Sci Rep* 2021;11:4989.
21. Recchia K, Jorge AS, Pessôa LV de F, Botigelli RC, Zugaib VC, de Souza AF, et al. Actions and Roles of FSH in Germinative Cells. *Int J Mol Sci* 2021;22(18):10110.
22. Salas-Huetos A, Maghsoumi-Norouzabad L, James ER, Carrell DT, Aston KI, Jenkins TG, et al. Male adiposity, sperm parameters and reproductive hormones: An updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Obes Rev* 2021;22(1):e13082.
23. Wang S, Sun J, Wang J, Ping Z, Liu L. Does obesity based on body mass index affect semen quality?—A meta-analysis and systematic review from the general population rather than the infertile population. *Andrologia* 2021;53(7):e14099.
24. Balawender K, Orkisz S. The impact of selected modifiable lifestyle factors on male fertility in the modern world. *Cent European J Urol* 2020;73(4):563-8.
25. Eisenberg ML, Kim S, Chen Z, Sundaram R, Schisterman EF, Buck Louis GM. The relationship between male BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study. *Hum Reprod* 2014;29(2):193-200.
26. Mostafa RM, Nasrallah YS, Hassan MM, Farrag AF, Majzoub A, Agarwal A. The effect of cigarette smoking on human seminal parameters, sperm chromatin structure and condensation. *Andrologia* 2018;50(3):e12910.
27. Mahfouz RZ, du Plessis SS, Aziz N, Sharma R, Sabanegh E, Agarwal A. Sperm viability, apoptosis, and intracellular reactive oxygen species levels in human spermatozoa before and after induction of oxidative stress. *Fertil Steril* 2010;93(3):814-21.
28. Weatherly D, Wise PG, Mendoca S, Loeb A, Cheng Y, Chen JJ, et al. Epididymal Cysts: Are They Associated With Infertility? *Am J Mens Health* 2018;12(3):612-6.
29. Paira DA, Olivera C, Tissera AD, Molina RI, Olmedo JJ, Rivero VE, et al. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis urogenital infections associate with semen inflammation and decreased sperm quality. *J Leukoc Biol* 2023;113(1):18-26.
30. Farsimadan M, Motamedifar M. Bacterial infection of the male reproductive system causing infertility. *J Reprod Immunol* 2020;142:103183.
31. Oghbaei H, Rastgar Rezaei Y, Nikanfar S, Zarezadeh R, Sadegi M, Latifi Z, et al. Effects of bacteria on male fertility: Spermatogenesis and sperm function. *Life Sci* 2020;256:117891.

32. Domes T, Lo KC, Grober ED, Mullen JBM, Mazzulli T, Jarvi K. The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes on semen parameters. *Fertil Steril* 2012;97(5):1050-5.
33. Wilton LJ, Temple-Smith PD, Baker HWG, de Kretser DM. Human male infertility caused by degeneration and death of sperm in the epididymis. *Fertil Steril* 1988;49(6):1052-8.
34. Correa-Pérez JR, Fernández-Peagrina R, Aslanis P, Zavos PM. Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necrospermia. *Fertil Steril* 2004;81(4):1148-50.
35. Gupta S, Sharma R, Agarwal A, Boitrelle F, Finelli R, Farkouh A, et al. Antisperm Antibody Testing: A Comprehensive Review of Its Role in the Management of Immunological Male Infertility and Results of a Global Survey of Clinical Practices. *World J Mens Health* 2022;40(3):380.
36. Negri L, Patrizio P, Albani E, Morenghi E, Benaglia R, Desgro M, et al. ICSI outcome is significantly better with testicular spermatozoa in patients with necrozoospermia: a retrospective study. *Gynecol Endocrinol* 2014;30(1):48-52.

AUTEURE : Nom : ABOUD

Prénom : Marianne

Date de soutenance : 24 mars 2023

Titre de la thèse : Les hommes atteints de nécrozoospermie : qui sont-ils ? Analyse rétrospective du phénotype andrologique d'une cohorte de plus de 300 patients

Thèse - Médecine - Lille 2023

Cadre de classement : *Andrologie – Médecine de la reproduction*

DES + FST/option : *DES – Gynécologie médicale, FST – Médecine de la reproduction et andrologie*

Mots-clés : Nécrozoospermie ; vitalité spermatique ; FSH ; anomalie des voies séminales ; infertilité masculine

Résumé

Introduction : La nécrozoospermie est une cause rare d'infertilité masculine, estimée entre 0,2 à 0,4%. Il existe trois catégories d'étiologie responsable de nécrozoospermie : les causes testiculaires, post-testiculaire et mixte. L'objectif principal de ce travail est de rechercher les facteurs pouvant entraîner une nécrozoospermie sévère.

Matériels et méthodes : Ce travail est une étude rétrospective réalisée au centre hospitalier universitaire de Lille entre 2003 et 2021. Les données suivantes ont été collectées : âge, IMC, profession, consommation de toxiques, dosages hormonaux, les volumes testiculaires, les antécédents d'infection génitale ou des glandes annexielles masculines (IGAM), de chirurgie pelvienne, d'hyperthyroïdie, de polykystose rénale, de varicocèle. Les patients ont été répartis en trois groupes selon le degré de vitalité spermatique : nécrozoospermie légère (vitalité entre 40 et 54%), modérée (20-40%) et sévère (<20%). Les différentes étiologies de nécrozoospermie ont été catégorisées de la façon suivante : testiculaire, post-testiculaire, mixte, idiopathique.

Résultats : Les données de régression linéaire montrent une corrélation significative ($p = 0,04$; $r = 0,16$) entre le taux de FSH et la vitalité. En revanche, elle est inversement corrélée à l'âge avec une relation faible ($p = 0,02$; $r = 0,13$). La comparaison des volumes testiculaires totaux montre des valeurs significativement supérieures pour le groupe sévère par rapport aux groupes modéré (+7,9 mL ; $p = 0,0005$) et léger (+ 6,7mL ; $p = 0,0032$). Les patients présentant une anomalie des voies séminales souffrent d'une nécrozoospermie significativement plus sévère (+ 10,78% en moyenne ; $p = 0,0001$).

Discussion : Dans cette série, les patients souffrant d'une nécrozoospermie sévère présentent des taux de FSH et des volumes testiculaires normaux. Ces éléments sont plutôt en faveur d'un secteur Sertolien fonctionnel et évoquent donc une atteinte post-testiculaire pouvant affecter sévèrement la vitalité des spermatozoïdes. Par ailleurs, la présence d'une anomalie anatomique des voies séminales, telle qu'une dilatation de l'épididyme ou un kyste prostatique serait un facteur de risque de sévérité de la nécrozoospermie.

Composition du Jury :

Président : Pr Sophie JONARD

Assesseurs : Pr Florence BOITRELLE, Dr Anne Laure BARBOTIN, Dr Julie PRASIVORAVONG

Directeur de thèse : Dr Geoffroy ROBIN