

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 22 Septembre 2022

Par Mme VAN DER HENST Léa

**Analyse rétrospective sur près de vingt ans des
résultats d'extractions épидидymaires de
spermatozoïdes dans l'azoospermie obstructive**

Membres du jury :

Président :

Pr BROUSSEAU Thierry, PU-PH, CHU de Lille

Directeur de thèse :

Dr BARBOTIN Anne-Laure, MCU-PH, CHU de Lille

Assesseurs :

Dr PRASIVORAVONG Julie, PH, CHU de Lille

Dr DUBOIS Aude, AHU, CHU de Lille

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Christel BEAUCOURT
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens	Kathleen O'CONNOR
Vice-président Ressources humaines	Jérôme FONCEL
Directrice Générale des Services	Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen	Guillaume PENEL
Vice-Doyen Recherche	Éric BOULANGER
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoires-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyenne Vie de Campus	Claire PINÇON
Vice-Doyen International et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyen étudiant	Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études	Benjamin BERTIN
Assesseur aux Ressources et Personnels	Stéphanie DELBAERE
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86

M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86

M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86

M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière



Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

03.20.96.40.40 - ☎ : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

À Monsieur le Professeur Thierry BROUSSEAU,

Professeur des Universités et Praticien Hospitalier, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Pôle de Biologie-Pathologie-Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury et je vous en remercie. Merci pour vos enseignements dès mes premières années à la faculté de pharmacie de Lille ; merci de m'avoir ensuite accueillie dans votre institut pour mon internat. Soyez assuré de mon profond respect ainsi que de ma plus haute considération.

À Madame le Docteur Julie PRAVIVORAVONG,

Praticien Hospitalier, Service d'Andrologie, Hôpital Calmette, Centre Hospitalier Universitaire de Lille et Centre Hospitalier de Lens.

Je vous remercie grandement d'accepter de faire partie de ce jury de thèse. Vous m'avez accueillie à plusieurs reprises dans le service d'Andrologie et au bloc opératoire avec bienveillance et avez su m'éclairer concernant la partie clinique. Merci pour votre implication, vos précieux conseils et vos enseignements.

Soyez assurée de mon profond respect et de ma gratitude.

À Madame le Docteur Aude DUBOIS,

Assistante Hospitalo-Universitaire, Service de Biologie de la Reproduction, Hôpital Jeanne de Flandre, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Sans hésitation, tu as accepté de faire partie de mon jury de thèse. C'est également avec une grande bienveillance que tu m'as accompagnée tout au long de cette année. Je te remercie pour ta gentillesse, tes enseignements, tes conseils avisés et ton soutien indéfectible.

Sois assurée de toute ma reconnaissance.

À Madame le Docteur Anne-Laure BARBOTIN,

Maître de conférences des Universités et Praticien Hospitalier, Service de Biologie de la Reproduction, Hôpital Jeanne de Flandre, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour la confiance que vous m'avez accordée en me proposant ce travail. Votre implication, votre disponibilité, votre rigueur et votre soutien m'ont été très précieux tout au long de ce travail. Merci pour votre bienveillance et pour toutes les connaissances que vous m'avez apportées tout au long de cette année. Je suis ravie d'avoir effectué ce projet à vos côtés et espère que nous pourrons le poursuivre ensemble.

Soyez assurée de mon profond respect et de mes plus sincères remerciements.

Je tiens également à remercier,

Toute l'équipe du laboratoire de Biologie de la Reproduction et du CECOS du CHU de Lille, aux chefs (Valérie, Laura, Bérengère, Marie et Florian) mais aussi aux techniciens et aux secrétaires. Un très grand merci pour votre accueil, vos enseignements aussi bien théoriques que techniques et bien sûr pour votre bonne humeur.

Merci plus particulièrement à mes co-internes de BDR. Angèle merci de m'avoir fait découvrir lors de mes premières gardes à tes côtés cette belle spécialité et de m'avoir accompagnée à mes débuts dans ce laboratoire. Mariam merci pour ta joie de vivre et ta détermination, les staffs entrants n'ont plus de secret pour toi, j'espère que nous nous recroiserons pendant notre internat.

Je remercie tout spécialement Benoit pour m'avoir accompagnée dans mes premiers pas de spermologie. Merci pour ta gentillesse, ta bienveillance et tes magnifiques photos de spermatozoïdes. Mais également à tous les autres techniciens pour leur patience, leur confiance, leur partage et leur gaieté.

À Augustin et Angèle pour avoir réalisé mes statistiques, merci pour votre temps et votre immense générosité.

Aux biologistes, techniciens, ingénieurs, cliniciens, de mes différents stages d'internat : Microbiologie au CH de Saint Philibert, Biochimie (Toxicologie) et Hématologie du CHU de Lille, qui m'ont accompagnée et formée au cours de mon internat.

À tous mes co-internes sans qui ces années n'auraient pas été les mêmes. Merci pour votre accueil chaleureux et sincère.

À Pauline, Mélanie, Zoé, Mara, Apolline, Amélie, David, Corentin, Adrien, Clément, Nicolas, Benjamin, Quentin et Khalil, je n'aurais pu espérer une meilleure promo, nous avons créé aux fils des années et des événements passés ensemble des liens indéfectibles.

Plus particulièrement à ceux avec qui nous avons découvert ensemble l'île de la Réunion, Uzer et Bandol évidemment, merci pour ces souvenirs inoubliables, pour cette cohésion de groupe, pour cette amitié et cette générosité sans faille. A Valentin qui n'est pas biologiste mais qu'on considère comme de la famille.

À mes pipelettes du CBP, je ne vous dirais jamais assez merci, vous avez toujours été d'un grand soutien, une oreille attentive, une épaule pour se reconforter mais surtout merci pour tous ces éclats de rires.

À mes amies Pauline, Laurine et Claire sur qui j'ai toujours pu compter.

À tous les autres, Thibaut, Alex, Gatien, Malo, Ludovic, Micka, Maël, merci pour votre convivialité et votre bonne humeur.

À mes amis de longue date Manon, Alban, et Adèle avec qui j'ai grandi et qui ont toujours été là autant dans les bons moments que les moins bons.

À Quentin qui me supporte chaque jour, merci de partager mon quotidien, merci pour ta présence forte et réconfortante, ta patience, ton écoute et ton amour. Malgré nos divergences personne n'a pris la place que tu as aujourd'hui dans mon cœur.

À ma famille :

À mes grands-parents, ma marraine et toute ma famille, merci pour votre soutien et l'amour que vous m'avez porté depuis mon plus jeune âge.

À ma petite sœur, qui me connaît et me comprend comme personne d'autre. Merci pour tes conseils et ta franchise qui me permettent chaque jour d'avancer. Je suis très fière de toi.

Merci Papa et Maman d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir accompagnée dans toutes ces années qui n'ont pas toujours été faciles. De m'avoir poussé à donner le meilleur de moi-même et surtout à ne jamais abandonner. Vous avez su me donner toutes les chances et tout l'amour nécessaire pour réussir.

À tous celles et ceux qui ont participé de près ou de loin à ce travail et qui ont pris le temps de lire et de corriger cette thèse.

Table des matières :

TABLE DES ILLUSTRATIONS :	23
TABLE DES TABLEAUX :	24
ABREVIATIONS :	25
I. GENERALITES :	27
A. Appareil génito-urinaire masculin :	27
1) Anatomie de l'appareil génito-urinaire masculin :	27
2) Anatomie du testicule :	28
a) Les voies spermatiques intra-testiculaires :	29
c) Les voies spermatiques extra-testiculaires :	30
3) Fonction exocrine du testicule : la spermatogenèse	32
4) Maturation épидидymaire des spermatozoïdes :	33
a) Anatomie de l'épididyme :	34
b) Histologie de l'épididyme :	34
c) La barrière hémato-épididymaire :	34
d) Fonctions épидидymaires :	35
5) Fonction endocrine du testicule : la sécrétion des androgènes	38
B. Infertilité masculine :	39
1) Généralités :	39
2) Azoospermie :	39
3) Étiologies de l'azoospermie :	40
4) Évaluation des patients azoospermiques :	41
a) Bilan d'exploration :	41
b) Bilan complémentaire :	43
5) Étiologies des azoospermies obstructives :	52
a) Obstructions au niveau épидидymaire :	52
b) Obstructions au niveau du canal déférent :	53
c) Obstructions au niveau des canaux éjaculateurs :	55
C. Abord chirurgical dans l'azoospermie obstructive :	56
1) Techniques de récupération de spermatozoïdes épидидymaires :	56
a) Aspiration percutanée de spermatozoïdes épидидymaires (PESA)	56
b) Aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épидидymaires (MESA)	57
2) Techniques de récupération de spermatozoïdes testiculaires :	58
a) Extraction testiculaire de spermatozoïdes (TESE)	58

b) Aspiration percutanée de spermatozoïdes testiculaires (TESA)	59
3) Cryoconservation :.....	60
II. MATERIELS ET METHODES :	61
A. Population :	61
B. Extraction chirurgicale de spermatozoïdes :.....	64
1) Extraction, traitement des spermatozoïdes :.....	64
2) Congélation des spermatozoïdes au laboratoire :.....	65
C. Analyses statistiques :.....	66
III. RESULTATS :	67
IV. DISCUSSION :	76
A. Alternative thérapeutique : la reconstruction microchirurgicale :	76
B. Intérêt de la MESA par rapport à la TESE :.....	78
C. Résultats d'ICSI après MESA ou TESE :	80
D. Résultats de l'extraction chirurgicale et d'ICSI en fonction de l'étiologie de l'azoospermie obstructive :.....	82
E. L'impact des nouvelles thérapeutiques dans la mucoviscidose sur la spermatogenèse :.....	85
V. CONCLUSION :	87
BIBLIOGRAPHIE :.....	88

Table des illustrations :

Figure 1 : Schéma de l'appareil génito-urinaire masculin (2).....	27
Figure 2 : Schéma d'une coupe sagittale de testicule et d'épididyme (1).....	28
Figure 3 : Coupe de testicule humain à faible grossissement x2.5 à gauche puis x20 à droite	29
Figure 4 : Schéma de l'épithélium séminifère issu de De Boeck Université, 2007 (4)	30
Figure 5 : Schéma de la spermatogenèse issu de De Boeck Université, 2007 (4)...	32
Figure 6 : Schéma des modifications nucléaires et cytoplasmiques touchant les spermatides pendant leur différenciation (1).....	33
Figure 7 : Algorithme pour l'évaluation des hommes azoospermiques par Cocuzza et al. (26)	43
Figure 8 : Classification et origine possible des azoospermies en fonction des résultats de la biochimie séminale et du taux de FSH (issu du Bioforma) (3)	44
Figure 9 : Profil hormonal en fonction du type d'azoospermie (32,33).....	45
Figure 10 : Classification fonctionnelle des variants de CFTR adaptée de Welsh et Smith (45).....	48
Figure 11 : Classification clinique des variants de CFTR en quatre classes basées sur l'expression phénotypique chez les patients selon Castellani et al. (48)	50
Figure 12 : Rendement diagnostique du test génétique dans l'absence bilatérale congénitale des canaux déférents (42).....	53
Figure 13 : Schéma de l'aspiration de spermatozoïdes épididymaires (Invitra©) (59)	57
Figure 14 : Schéma de l'aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épididymaires (Invitra©) (59)	57
Figure 15 : Schéma de l'extraction testiculaire de spermatozoïdes (Invitra©) (61)...	58
Figure 16 :Schéma de l'aspiration percutanée de spermatozoïdes testiculaires (Invitra©) (61)	59
Figure 17 : Etapes du traitement de la pulpe testiculaire au laboratoire de biologie de la reproduction (28)	65
Figure 19 : Schéma de la vaso-vasostomie (Invitra©) (69).....	76
Figure 20 : Schéma de la vaso-épididymostomie (Invitra©) (71).....	77

Table des tableaux :

Tableau 1 : Caractéristiques de base de la population étudiée :	68
Tableau 2 : Facteurs clinico-biologiques associés à une extraction épидидymaire de bonne qualité dans l'azoospermie obstructive	70
Tableau 3 : Comparaison de caractéristiques clinico-biologiques et données de l'extraction entre les patients ayant une ABCD et ceux atteints de mucoviscidose ..	72
Tableau 4 : Comparaison des caractéristiques clinico-biologiques et des résultats d'extraction chirurgicale dans la population atteinte de mucoviscidose selon le résultat du génotypage.....	74
Tableau 5 : Facteurs clinico-biologiques associés à un échec d'extraction épидидymaire chez les patients atteints de mucoviscidose	75

Abréviations :

ABCD : Absence Bilatérale des Canaux Déférents
ABPA : Aspergillose Broncho Pulmonaire Allergique
ADGRG2 : Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2
ADN : Acide Désoxyribonucléique
AFU : Association Française d'Urologie
AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique
ANO : Azoospermie Non Obstructive
AO : Azoospermie Obstructive
ASRM : American Society for Reproductive Medecine
ATP : Adénosine Triphosphate
AUCD : Absence Unilatérale du Canal Déférent
AZF : Azoospermia Factor
BPCO : Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive
CFTR : Régulateur Transmembranaire de la Fibrose Kystique
CFTR-RD : Related Disorder ou Disease
FK : Fibrose Kystique
FSH : Hormone Folliculo Stimulante
GnRH : Hormone de libération des Gonadotrophines Hypophysaires
HbA1c : Hémoglobine glyquée
HMZ : Homozygote
HTZ : Hétérozygote
ICSI : Injection Intra Cytoplasmique de Spermatozoïdes
IMC : Indice de Masse Corporelle
IV : Intra Veineuse
L-carnitine : carnitine libre
LH : Hormone Lutéinisante
MESA : Aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épидидymaires
OR : Odds Ratio
PESA : Aspiration percutanée de spermatozoïdes épидидymaires
PKC : Protéine Kinase C
Q1 : 1^{er} inter-quartile
Q3 : 3^{ème} inter-quartile
SALF : Société d'Andrologie de Langue Française
SHBG : Sex Hormone-Binding Globulin

TESA : Aspiration percutanée de spermatozoïdes testiculaire

TESE : Extraction testiculaire de spermatozoïdes

TRUS : échographie transrectale

VEMS : Volume Expiratoire Maximal par Seconde

Yq : bras long du chromosome Y

I. Généralités :

A. Appareil génito-urinaire masculin :

1) Anatomie de l'appareil génito-urinaire masculin :

Chez l'homme, l'appareil génital est étroitement lié à l'appareil urinaire. Il comprend les testicules, les épидидymes, les canaux déférents, les vésicules séminales, la prostate ainsi que le pénis (1).

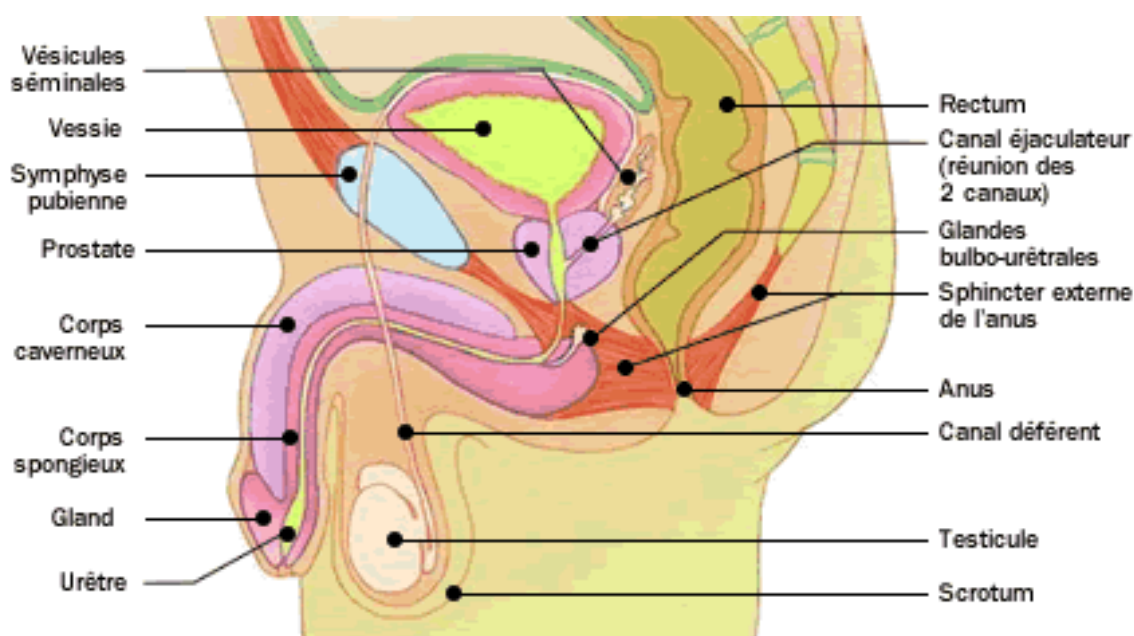


Figure 1 : Schéma de l'appareil génito-urinaire masculin (2)

L'appareil génital masculin est constitué d'organes génitaux externes et internes :

De chaque côté on retrouve :

- un testicule, coiffé par l'épидидyme et logé dans le scrotum,
- un canal déférent, qui prolonge l'épидидyme,
- un canal éjaculateur qui fait suite au canal déférent

Dans la partie terminale de l'appareil, les organes sont impairs :

- le canal uro-génital ou urètre, issu de la vessie,
- la prostate

2) Anatomie du testicule :

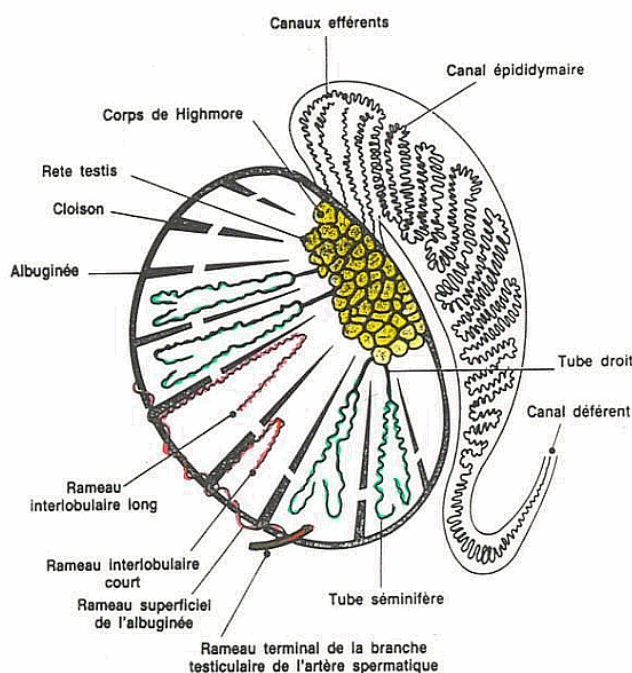


Figure 2 : Schéma d'une coupe sagittale de testicule et d'épididyme (1)

Le testicule est un organe ovoïde non symétrique avec un grand axe mesurant 4 à 5 cm et un petit axe mesurant environ 3 cm. Son épaisseur est d'environ 2,5 cm (3).

Chaque testicule est entouré par une capsule conjonctive fibreuse peu extensible appelée, albuginée. Un épaississement de l'albuginée au pôle supérieur du testicule forme le corps de Highmore.

Chaque testicule est situé dans le scrotum, suspendu à l'extrémité du cordon spermatique recouvert par le muscle crémaster. Dans le cordon spermatique cheminent l'artère testiculaire, la veine testiculaire, la veine épидидymaire, les artères et veines déférentielles et le canal déférent.

À l'intérieur du scrotum la température est inférieure à la température corporelle de quelques degrés (3 à 5°C) ceci permettant le bon déroulement de la spermatogenèse. Celle-ci peut être négativement influencée lors de certaines situations modifiant la température (varicocèle, exposition professionnelle à la chaleur, ...).

Les testicules assurent donc une double fonction : fonction exocrine, représentée par la spermatogenèse mais également une fonction endocrine avec la production et la sécrétion de testostérone.

a) Les voies spermatiques intra-testiculaires :

Elles comportent :

- les tubes séminifères
- les tubes droits
- le rete testis
- les canaux efférents

De fines cloisons conjonctives appelées septa délimitent environ 250 à 300 lobules par testicule. Chaque lobule contient un à quatre tubules séminifères pelotonnés ou contournés. Les tubules séminifères mesurent 200 à 300 μ m de diamètre. Ils sont principalement constitués par des cellules germinales (à différents stades de maturation selon leur localisation dans l'épithélium séminifère) et des cellules somatiques de soutien appelées, cellules de Sertoli.

Entre ces tubules se trouve le tissu interstitiel composé de vaisseaux et d'îlots de cellules endocrines (cellules de Leydig produisant la testostérone). Le liquide interstitiel lui participe aux fonctions endocrines et paracrines du testicule. Au niveau du corps de Highmore, les tubules séminifères de chaque lobule confluent en un tube droit de 1 mm de longueur. Les tubes droits drainent les tubes séminifères et communiquent avec un réseau de canalicules anastomosés parcourant le corps de Highmore appelé le rete testis. Celui-ci communique avec les cônes efférents (se jetant dans le canal épидидymaire) permettant la continuité entre testicule et épидidyme.

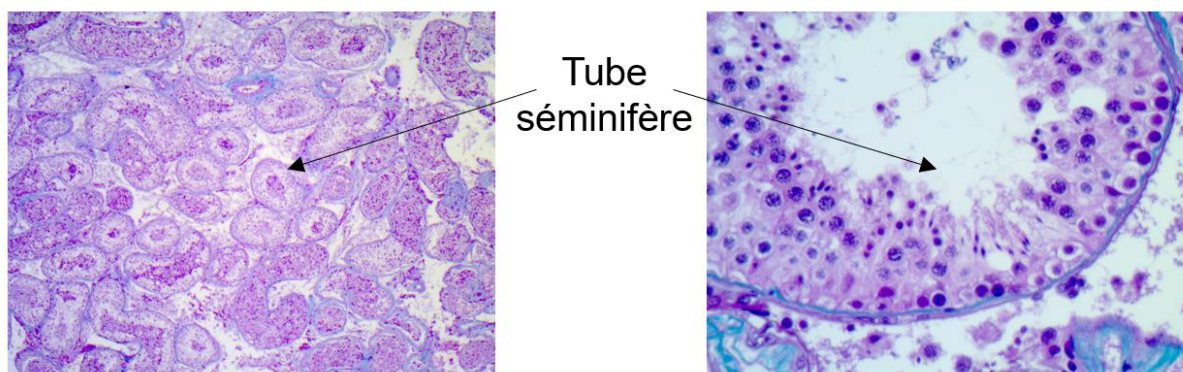


Figure 3 : Coupe de testicule humain à faible grossissement x2.5 à gauche puis x20 à droite

b) L'épithélium séminifère

L'épithélium séminifère abrite les cellules germinales que sont les spermatogonies, les spermatocytes et les spermatides qui correspondent aux trois grandes phases de la spermatogenèse. Elles sont disposées en assises plus ou moins régulières. Les spermatogonies sont les cellules les plus périphériques, elles sont localisées contre la gaine périvitubulaire de l'épithélium séminifère. Les spermatocytes sont situés à mi-hauteur de l'épithélium séminifère, entre les spermatogonies et les spermatides. Les spermatides sont retrouvées à proximité de la lumière des tubes. Au sein de cet épithélium, sur toute sa hauteur, on retrouve également des cellules de soutien, les cellules de Sertoli. Ce sont de grandes cellules de forme pyramidale, possédant de nombreux prolongements qui leurs permettent d'interagir avec les cellules de la lignée germinale. Les cellules de Sertoli sont reliées entre elles grâce à des jonctions serrées établissant la barrière hémato-testiculaire. Elles assurent un rôle de soutien mais également de protection, de nutrition des cellules germinales, elles contrôlent la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes, et sont capables de phagocytose. Leurs fonctions sont sous le contrôle de l'Hormone Folliculo Stimulante (FSH) hypophysaire.

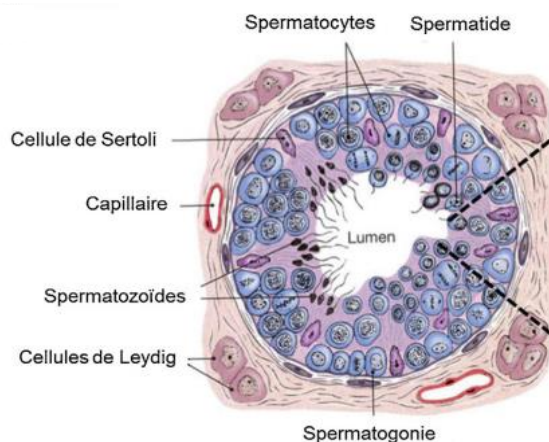


Figure 4 : Schéma de l'épithélium séminifère issu de De Boeck Université, 2007 (4)

c) Les voies spermatiques extra-testiculaires :

Ce sont des structures paires qui se succèdent avec (3) :

- L'épididyme
- Le canal déférent
- La vésicule séminale
- Le canal éjaculateur

A la sortie du testicule, le tractus génital est composé des épидидymes puis des canaux déférents et des canaux éjaculateurs. Ce tractus devient urogénital lors de la confluence des canaux éjaculateurs avec l'urètre prostatique. Les glandes associées sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales. Le rôle principal de ces structures est de transporter les spermatozoïdes des testicules vers l'extérieur. Lors de ce trajet va avoir lieu la maturation notamment épидидymaire, mais aussi la sécrétion de fluides contribuant à la formation du liquide séminal de l'éjaculat (3).

- L'épидидyme coiffe le testicule sur son pôle supérieur. Il est composé de trois parties d'épaisseur décroissante : la tête (caput), le corps (corpus) et la queue (cauda). Il mesure environ 5 cm de long. Les spermatozoïdes sont transportés du testicule vers le canal épидидymaire grâce aux cônes efférents situés au niveau de la tête épидидymaire. Les cônes efférents se déversent dans le canal épидидymaire prenant un aspect pelotonné et pouvant mesurer jusqu'à 6 mètres. Entre deux éjaculations, les spermatozoïdes continuellement produits par les tubes séminifères sont stockés au niveau de la queue épидидymaire. Le canal épидидymaire est bordé par un épithélium fait de cellules cylindriques comportant des stéréocils à leur pôle apical, aidant à la progression des spermatozoïdes le long de l'épидидyme.

- Les canaux déférents font suite à l'épидидyme au niveau de la jonction épидidy-mo-déférentielle. Ils se situent dans le prolongement des canaux épидidy-maires juste après la queue de l'épидидyme et cheminent le long de la paroi postérieure du testicule pour atteindre le cordon spermatique. Leur longueur est d'environ 40 cm et leur diamètre de 2 mm. Ils ont une consistance très ferme qui permet leur palpation lors de l'examen clinique. La partie terminale du canal déférent, dilatée et tortueuse, est appelée ampoule déférentielle. Tout au long de son trajet, la présence de fibres musculaires, grâce à leur contraction lors de l'éjaculation, contribue au déplacement des spermatozoïdes vers l'ampoule déférentielle.

- Les canaux éjaculateurs mesurent environ 2 cm de long, formés chacun par la réunion de la vésicule séminale et du conduit déférent correspondant. Ils cheminent dans la prostate et s'abouchent dans l'urètre prostatique.

- Les glandes annexes composées de la prostate, des vésicules séminales et des glandes bulbo-urétrales sécrètent le liquide séminal (fraction liquidienne de l'éjaculat).

3) Fonction exocrine du testicule : la spermatogénèse

La gamétogénèse est un processus qui aboutit à la formation des cellules reproductrices, les gamètes, qui sont des cellules haploïdes.

La spermatogénèse se définit comme un procédé de multiplication et de différenciation cellulaire à partir des cellules souches diploïdes que sont les spermatogonies, pour aboutir à la formation des spermatozoïdes (gamètes mâles haploïdes). Elle se déroule dans les testicules au sein des tubes séminifères. Elle débute à la puberté, atteint son maximum vers 20-30 ans, ralentit progressivement vers la quarantaine mais peut se poursuivre jusqu'à un âge avancé. La spermatogénèse est un processus lent et continu d'environ 74 jours chez l'homme (5).

Déroulement de la spermatogénèse :

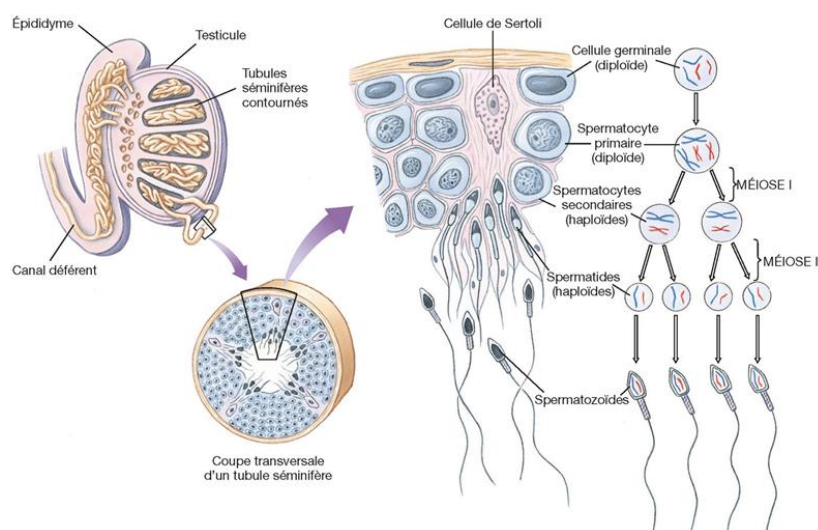


Figure 5 : Schéma de la spermatogénèse issu de De Boeck Université, 2007 (4)

La spermatogénèse se déroule en trois grandes étapes : la phase de multiplication des cellules souches, la méiose et enfin la spermiogénèse (3).

Lors de la phase de multiplication, les spermatogonies (diploïdes) subissent plusieurs divisions mitotiques et vont aboutir à l'obtention de spermatocyte de type I (diploïdes). La première division méiotique (ou division réductionnelle) concerne les spermatocytes de type I et permet, par séparation des chromosomes homologues, la formation des spermatocytes de type II. Puis la division équationnelle, par séparation des chromatides sœurs aboutira à l'obtention de spermatides rondes qui ne se diviseront plus. Les spermatides vont subir la dernière phase appelée spermiogénèse.

Elle permet la différenciation en spermatozoïdes et est spécifique de la gamétogenèse mâle. L'acquisition de critères morphologiques comme la formation de l'acrosome, du flagelle, du manchon mitochondrial, de l'élongation nucléaire et de l'élimination du cytoplasme permet d'aboutir à un spermatozoïde (6,7). La première phase de multiplication dure 27 jours, la deuxième dure 24 jours (méiose I : 23 jours puis méiose II : 24 heures), et enfin la dernière phase, la spermiogenèse dure 23 jours. Celle-ci se termine par la spermiation : la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère (3).

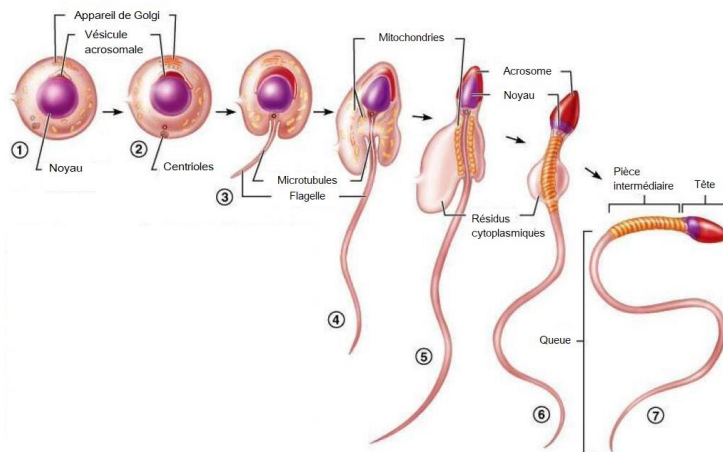


Figure 6 : Schéma des modifications nucléaires et cytoplasmiques touchant les spermatides pendant leur différenciation (1)

4) Maturation épидидymaire des spermatozoïdes :

À la sortie du testicule, les spermatozoïdes sont morphologiquement différenciés, mais non fertiles car presque immobiles et donc incapables de féconder un ovocyte. Pour devenir féconds, les spermatozoïdes doivent subir deux processus de maturation extra-testiculaire, l'un dans l'appareil reproducteur masculin, la maturation épидидymaire des spermatozoïdes, et le second dans l'appareil féminin, appelé capacitation (8). Les spermatozoïdes n'acquièrent leur pouvoir fécondant qu'après 2 à 4 jours de transit épидидymaire (9). Au cours de ce trajet, le spermatozoïde acquiert sa capacité fécondante en devenant progressivement capable de se déplacer de manière linéaire afin de migrer à travers le tractus féminin. Il subit également des modifications membranaires le rendant apte par la suite à se lier à la zone pellucide et à fusionner avec l'ovocyte. Toutes ces propriétés spermatiques sont acquises après des modifications séquentielles intervenant soit au niveau du spermatozoïde, soit dans l'environnement épидидymaire (10).

L'environnement luminal est spécifique à chaque région de l'épididyme et les différences entre ces régions sont dues à la composition cellulaire variée de l'épithélium et à la régulation hormonale.

a) Anatomie de l'épididyme :

Voir partie précédente

b) Histologie de l'épididyme :

La paroi du canal épидидymaire comprend une lame basale, des fibres musculaires lisses à l'origine de contractions péristaltiques, et d'un épithélium pseudo-stratifié comprenant 3 types cellulaires : des cellules basales de renouvellement, des cellules glandulaires (impliquées dans des processus de résorption des fluides canaux) et des cellules dotées de très longues microvillosités appelées stéréocils, assurant le transport des spermatozoïdes. Tout au long de l'épididyme on retrouve les mêmes composants mais des différences structurales apparaissent au niveau de la taille des cellules épithéliales et des stéréocils ainsi qu'au niveau de l'épaisseur de la couche circulaire de fibres musculaires lisses. En effet l'épaisseur de la couche musculaire augmente nettement de la tête vers la queue de l'épididyme alors que l'épaisseur de l'épithélium diminue. On observe également une diminution de la longueur des stéréocils entre la tête et la queue. Cette différence structurale est liée à leurs activités, la tête et le corps de l'épididyme permettent de nombreux échanges avec l'environnement alors que la queue permet le stockage des spermatozoïdes (11).

c) La barrière hémato-épididymaire :

Elle est constituée de jonctions serrées imperméables, réunissant les cellules adjacentes glandulaires du canal épидидymaire au niveau apico-latéral. Il existe un gradient tête/queue, en effet les jonctions serrées sont plus nombreuses au niveau de la tête de l'épididyme. La barrière hémato-épididymaire est sélective autorisant le transport de certaines molécules contre un gradient de concentration dans le fluide épидидymaire (10).

d) Fonctions épидидymaires :

i. Transport, protection et stockage des spermatozoïdes :

- Transport des spermatozoïdes :

Le transport des spermatozoïdes est effectué grâce au fluide spermatique (issu du rete-testis), à la pression intra-testiculaire, aux mouvements des stéréocils vibratiles et aux contractions péristaltiques des cellules musculaires lisses.

- Protection des spermatozoïdes vis-à-vis du stress oxydatif :

Au cours de leur transit épидидymaire, les spermatozoïdes seront progressivement protégés des dommages causés par l'environnement extérieur. En effet, les cellules épithéliales de l'épидидyme ont une activité métabolique élevée qui se traduit par la génération d'espèces réactives de l'oxygène nocives pour les spermatozoïdes. Pour lutter contre le stress oxydatif, les cellules épithéliales excrètent dans la lumière épидидymaire diverses enzymes antioxydantes, comme la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase 5 (GPX5), la peroxiredoxin (PRXs),... (10,12). De plus, la barrière hémato-épидидymaire permet de protéger les spermatozoïdes en cours de maturation du système immunitaire et des substances potentiellement nocives pouvant être rencontrées dans la circulation sanguine (13).

- Stockage des spermatozoïdes :

La queue de l'épидидyme est le lieu de stockage des spermatozoïdes fonctionnellement matures avant l'éjaculation. Les cellules épithéliales de la queue épидидymaire sécrètent des facteurs contribuant au maintien des spermatozoïdes à l'état quiescent pendant le stockage. Le pH, la température, la concentration en potassium et la présence de protéines très visqueuses en sont des exemples, mais de nombreux facteurs restent encore inconnus. La survie des spermatozoïdes est assurée par leur faible métabolisme. Après l'éjaculation, dans les voies génitales féminines, les spermatozoïdes quitteront cet état de quiescence grâce à une alcalinisation : leur activité métabolique augmentera de 3 à 5 fois par rapport à celle dans la queue de l'épидидyme (12).

En cas d'accumulation excessive dans la queue de l'épидидyme, les spermatozoïdes seront en partie drainés dans le canal déférent dans les urines du matin et en partie phagocytés par des macrophages spécialisés appelés spermiphages.

ii. Fonction de sécrétion et d'absorption de l'épididyme :

Il existe un gradient ionique entre la tête et la queue épидидymaire sous contrôle hormonal. Dans le segment initial, au niveau de la tête épидидymaire, le principal processus est l'absorption de plus de 90% du liquide par les cellules épithéliales. En effet l'épithélium épидидymaire réabsorbe de l'eau, des ions sodium (Na^+), chlore (Cl^-), et sécrète des ions potassium (K^+) et phosphate (PO_4^{3-}). Il existe également une réabsorption des protéines présentes dans le fluide testiculaire (comme l'Androgène Binding Protein, la clustérine et la transferrine). La réabsorption se poursuit tout au long du transit épидидymaire, entraînant une augmentation importante de la concentration spermatique dans la queue épидидymaire (10,12),13). Ce gradient ionique va également entraîner une acidification du milieu dans la partie distale de l'épididyme par réabsorption de bicarbonate (HCO_3^-) et sécrétion de protons (H^+).

Dans l'épididyme, la mise en place d'un environnement luminal acide participe à la maturation des spermatozoïdes en facilitant le transfert de protéine des cellules épithéliales vers les spermatozoïdes via des vésicules extracellulaires appelées épидидyosomes (14).

On retrouve également une concentration des substances sanguines dans la lumière du tube épидидymaire. Par exemple la carnitine qui est synthétisée par le foie, est transportée dans le sang puis réabsorbée par transport actif et concentrée dans la lumière du tube épидидymaire. Elle est ensuite transformée en acétylcarnitine et sert de substrat énergétique (production d'ATP) pour la mobilité des spermatozoïdes (10). D'autres substances issues de la circulation sanguine vont être concentrées dans la lumière : la lécithine, le glucose, la testostérone...(14).

Il existe enfin une synthèse et une sécrétion de nombreuses protéines, d'enzymes, de protéases, par l'épithélium qui peuvent modifier le fluide épидидymaire et la membrane des spermatozoïdes. Elles peuvent être impliquées dans la fixation des spermatozoïdes à la zone pellucide, dans la réaction acrosomique ou encore dans la mobilité des spermatozoïdes. La composition protéique du fluide épидидymaire est en constante évolution et certaines de ces protéines ont encore des rôles inconnus. En plus de l'acquisition de nouvelles protéines, les spermatozoïdes subissent des modifications moléculaires à leur surface au cours de la maturation épидидymaire.

Ces altérations comprennent l'addition, l'élimination et/ou la modification de sucres et de lipides sur la membrane plasmique du spermatozoïde. Les glycoprotéines et les polysaccharides forment une interface entre le spermatozoïde et son environnement externe qui est connu sous le nom de glycocalyx (8).

iii. Modifications structurales et morphologiques des spermatozoïdes

Comme dit précédemment, à la sortie du testicule, le spermatozoïde a une forme pratiquement définitive. Il existe néanmoins un résidu cytoplasmique au niveau du pôle basal du noyau, appelé gouttelette cytoplasmique. Ce résidu va glisser le long du flagelle et sera phagocyté par les cellules épидидymaires (10)(13).

On observe également lors du trajet épидидymaire, une poursuite progressive de la condensation de la chromatine par augmentation des ponts disulfures, permettant de protéger l'ADN spermatique (15).

La composition en lipides membranaire des spermatozoïdes va elle aussi se modifier au cours de la maturation épидидymaire avec une diminution du rapport cholestérol/phospholipides, permettant une augmentation de leur fluidité. Cette fluidification serait essentielle pour les événements membranaires ultérieurs nécessaires à la fécondation, tels que la réaction acrosomique et la capacité à fusionner avec l'ovocyte (8).

iv. Modifications fonctionnelles des spermatozoïdes :

- Acquisition de la mobilité :

Elle commence au niveau de la partie distale de la tête épидидymaire : les spermatozoïdes se courbent grâce à leur flagelle qui réalise de rares oscillations tout en restant statique. C'est au niveau du corps de l'épididyme qu'apparaissent des mouvements transitoires selon une grande courbure, la distribution des ondes est alors asymétrique entraînant des mouvements inefficaces. Puis, une fois dans la queue, le mouvement devient continu avec une répartition symétrique des ondes de part et d'autre du flagelle rendant possible une trajectoire rectiligne (mobilité progressive ou fléchante) (16). La mobilité des spermatozoïdes matures dépend de la concentration en adénosine monophosphate cyclique (AMPc) intracellulaire généré par l'adénylyl cyclase et des cascades de phosphorylations. Celles-ci vont activer les bras de dynéine situés sur le flagelle, entraînant une propagation de l'onde et la formation d'un battement régulier par glissement alterné des microtubules le long du flagelle.

Pendant le transit épидидymaire, la concentration d'AMPc intracellulaire augmente du corps à la queue simultanément avec la capacité métabolique et la production d'ATP (10).

- Pouvoir fécondant :

Les changements de propriétés de la membrane spermatique et les modifications des protéines de surface constituent les principales modifications membranaires observées lors du transit épидидymaire. L'apparition de protéines de faible poids moléculaire et fortement sialylées sont caractéristiques du spermatozoïde fécondant retrouvé au niveau de la queue épидидymaire. Toutes ces modifications ont pour but de rendre le spermatozoïde apte à fixer la zone pellucide et apte à interagir avec la membrane ovocytaire.

- La capacitation :

Elle correspond à la capacité du spermatozoïde à se fixer à la zone pellucide et à la membrane plasmique ovocytaire. L'épididyme en même temps qu'il confère de nombreuses propriétés aux spermatozoïdes comme la capacitation, sécrète des protéines qui vont se fixer à la surface et bloquer l'expression immédiate de ces propriétés, c'est ce qu'on appelle la décapacitation. Le démasquage des spermatozoïdes ou décapacitation aura lieu plus tard au cours du transit dans les voies génitales féminines (16).

5) Fonction endocrine du testicule : la sécrétion des androgènes

Entre les tubes séminifères, le tissu interstitiel, joue un rôle majeur dans le maintien de la spermatogénèse, grâce aux cellules de Leydig. Ces cellules sécrètent les androgènes testiculaires notamment la testostérone. La régulation de la spermatogénèse est principalement endocrine grâce à l'axe hypothalamo-hypophysogonadique. Sous l'effet de certaines stimulations, l'hypothalamus sécrète de façon pulsatile l'hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires (GnRH), qui agit localement sur l'hypophyse en stimulant la synthèse et la libération des deux hormones gonadotrophiques, la FSH et l'hormone lutéinisante (LH). La FSH va agir sur les cellules de Sertoli qui, en retour, vont réguler la sécrétion de FSH au niveau hypophysaire grâce à la synthèse d'inhibine B (rétrocontrôle inhibiteur). La LH, quant à elle, stimule la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig. La testostérone freine en retour la synthèse de LH hypophysaire.

B. Infertilité masculine :

1) Généralités :

L'infertilité est définie par l'impossibilité pour un couple d'obtenir une grossesse après 12 mois ou plus de rapports sexuels réguliers non protégés (17).

Selon un rapport publié par le ministère de la santé en février 2022, 3,3 millions d'hommes et de femmes sont touchés par l'infertilité en France, soit un couple sur quatre (18).

Encore aujourd'hui dans l'inconscient collectif l'infertilité est bien trop souvent perçue comme de cause féminine alors qu'une origine mixte est retrouvée dans 40% des cas et masculine stricte dans 20% des cas (19). C'est pourquoi, l'évaluation du partenaire masculin est indispensable lors du bilan d'exploration du couple infertile. Cette évaluation doit être systématique, uniformisée et structurée selon les recommandations de l'American Society for Reproductive Medicine (ASRM) (20), de l'Association Française d'Urologie (AFU) et de la Société d'Andrologie de Langue Française (SALF) (21).

2) Azoospermie :

L'azoospermie est définie comme l'absence de spermatozoïdes retrouvés dans l'éjaculat à l'examen direct mais également après observation de la totalité du culot de centrifugation. Elle doit être confirmée sur au moins deux recueils espacés d'un intervalle de 3 mois. L'analyse du sperme doit être effectuée conformément aux directives de l'Organisation Mondiale de la Santé de 2010 (6^{ème} édition publiée en 2021) (22,23).

La prévalence de l'azoospermie est d'environ 1 % dans la population générale (24) et varie entre 10 % et 15 % chez les hommes infertiles (25).

Elle ne doit pas être confondue avec l'aspermie qui se définit par l'absence totale d'émission de sperme lors de l'éjaculation.

3) Étiologies de l'azoospermie :

Bien qu'il existe de nombreuses causes d'azoospermie, les étiologies se répartissent en trois catégories principales : pré-testiculaire, testiculaire et post-testiculaire (26).

- Les causes pré-testiculaires de l'azoospermie, représentées par les anomalies endocriniennes affectant négativement la spermatogenèse (insuffisance testiculaire d'origine hypothalamo-hypophysaire ou centrale). Elles sont relativement rares puisqu'elles représentent moins de 3% des causes d'azoospermie (26).

- Les étiologies testiculaires (insuffisance testiculaire primaire ou périphérique) impliquent des troubles de la spermatogenèse intrinsèques aux testicules.

- Les causes post-testiculaires de l'azoospermie sont liées à un dysfonctionnement éjaculatoire ou à l'obstruction du système canalaire à n'importe quel endroit de l'appareil reproducteur masculin, empêchant les spermatozoïdes d'atteindre le méat urétral.

L'azoospermie en pratique clinique peut être classée selon deux types de mécanismes :

- Mécanisme non obstructif (sécrétoire) ou azoospermie non obstructive (ANO) par défaut de production des spermatozoïdes par les testicules
- Mécanisme obstructif ou appelé azoospermie obstructive (AO) par obstacle sur les voies spermatiques excrétrices

L'azoospermie obstructive représente jusqu'à 40 % des cas d'azoospermie et peut être de nature acquise ou congénitale (27).

4) Évaluation des patients azoospermiques :

a) Bilan d'exploration :

i. Antécédents médicaux personnels :

Une évaluation complète doit inclure un interrogatoire complet à la recherche d'antécédents évocateurs (tels que l'orchite virale, la cryptorchidie, les troubles de la différenciation sexuelle notamment lors du développement pubertaire, la mucoviscidose). Mais aussi la recherche d'épisode de torsion testiculaire, de traumatismes génitaux (comme par exemple lors d'accident de la voie publique). Il faudra également interroger le patient sur ses antécédents chirurgicaux, surtout les chirurgies inguino-scrotales (cryptorchidie, hernie inguinale) et chirurgies génito-urinaires. L'interrogatoire va rechercher les antécédents d'infections urogénitales (orchépididymite, urétrite, prostatite, orchite ourlienne, et les infections sexuellement transmissibles). Sans oublier les pathologies systémiques notamment le diabète, l'obésité, les cancers, les maladies génétiques, les affections respiratoires et ORL.

Il faut également prendre en considération la prise de traitements (actuels mais aussi antérieurs). En effet certains médicaments peuvent avoir une influence directe ou indirecte sur la spermatogenèse et/ou un impact sur la vie sexuelle (chimiothérapies antimétaboliques, radiothérapies, antidépresseurs, neuroleptiques, antiépileptiques, opioïdes, stéroïdes, ...).

Il est important d'évaluer le mode de vie, notamment la recherche de facteurs de risques professionnels comme l'exposition à la chaleur, aux perturbateurs endocriniens, aux radiations ionisantes, Il faudra aussi prendre en compte les expositions environnementales (chaleur, tabac, alcool, drogue, ...) et les quantifier (21,26).

ii. Antécédents familiaux :

En effet l'évaluation doit aussi s'intéresser à la famille du patient en réalisant une enquête familiale recherchant une hypofertilité dans la fratrie, chez les cousins et les oncles, des pathologies génito-urinaires, pathologies génétiques, consanguinité, ...(21).

iii. L'examen clinique :

Un examen clinique spécifique peut permettre d'orienter vers le type d'azoospermie obstructive ou non obstructive.

L'examen du patient doit se réaliser en décubitus dorsal puis debout dans une pièce chaude (une chambre froide provoque une contraction du tissu musculaire entourant les testicules, appelé dartos et rend l'examen difficile). Il doit comporter un examen physique général pour rechercher un éventuel hypogonadisme et évaluer les caractères sexuels secondaires (taille, morphotype, répartition des graisses, pilosité). Un déficit androgénique doit être suspecté en présence d'une diminution de la pilosité corporelle, d'une gynécomastie ou d'une diminution de la libido.

Les glandes mammaires doivent être examinées et palpées à la recherche d'une gynécomastie, celle-ci peut être liée à des tumeurs testiculaires sécrétant des œstrogènes ou à des tumeurs surrenaliennes.

Un examen de la verge avec localisation du méat urétral (recherche d'épispadias ou d'hypospadias). Un examen scrotal bilatéral des testicules, des épididymes et des canaux déférents (évaluation des volumes testiculaires, consistances, recherche de nodules, de kystes, palpation des canaux déférents et des épididymes pour détecter une éventuelle agénésie, recherche de signes obstructifs).

Les mesures normales des testicules adultes ont été établies entre 4 et 5 cm de longueur et 2 à 3 cm d'épaisseur, soit un volume allant de 18 à 20 cm³ (3,26). La valeur seuil pour le diagnostic d'hypotrophie testiculaire est fixée à 16mL (28). Une diminution du volume testiculaire doit faire suspecter une altération de la spermatogenèse étant donné que 85 % du volume testiculaire est associée à la production de spermatozoïdes (26).

Le volume des testicules des patients atteints d'azoospermie non obstructive est, le plus souvent inférieur à 15 cm³ (29).

La recherche d'une varicocèle clinique et la détermination de son grade se fait en position debout, au repos et à la manœuvre de Valsalva (21).

b) Bilan complémentaire :

i. Analyse du sperme : volume / pH

L'azoospermie doit être confirmée après réalisation d'au moins deux spermogrammes avec absence de spermatozoïde après centrifugation.

Une hypospermie (volume d'éjaculat inférieur à 1,5mL) peut traduire soit une atteinte des voies excrétrices et/ou des glandes participant à l'élaboration du sperme (vésicules séminales, prostate, anse épидидymo-déférentielle) soit une faible imprégnation en androgènes (28).

Le volume éjaculé est un paramètre indispensable dans l'évaluation d'un patient azoospermique (figure 7), il peut même être un facteur prédictif de l'origine de l'azoospermie (26,30) .

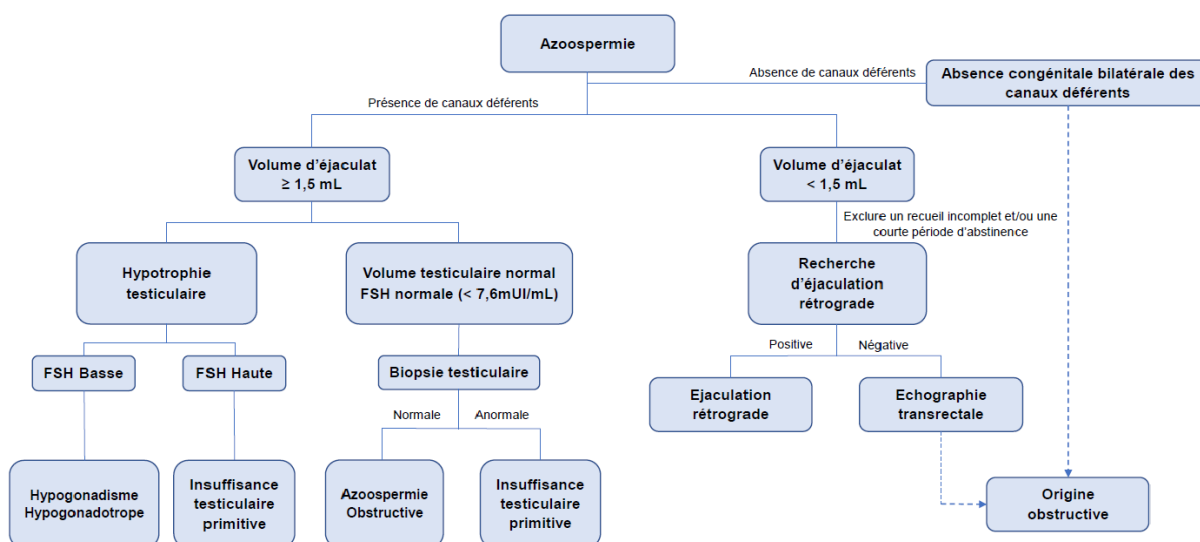


Figure 7 : Algorithme pour l'évaluation des hommes azoospermiques par Cocuzza et al. (26)

Il faut noter que tous les patients ayant une absence d'éjaculation ou une éjaculation de faible volume (inférieur à 1,5 mL) malgré un délai d'abstinence de plus de deux jours doivent être convoqués une seconde fois pour faire un nouveau recueil de sperme. Il est également possible de recueillir les urines en post-éjaculation afin d'éliminer le diagnostic d'éjaculation rétrograde.

La valeur normale du pH est comprise entre 7,2 et 8 (28). Un pH acide (inférieur à 7,2) peut évoquer une atteinte des vésicules séminales et/ou des anses épидидymo-déférentielles puisque les sécrétions des vésicules séminales sont plutôt alcalines et contiennent du fructose (27). Un pH alcalin (supérieur à 8) est au contraire plutôt évocateur d'une atteinte prostatique (31).

ii. L'analyse biochimique du plasma séminal :

En pratique, six composants du plasma séminal sont le plus souvent utilisés comme marqueurs des différentes sécrétions du tractus génital (3):

- la L-carnitine (carnitine libre) et l' α -1,4 glucosidase neutre pour les sécrétions épидидymaires,
- le fructose pour celle des vésicules séminales
- le zinc, le citrate et la phosphatase acide pour les sécrétions prostatiques

L'intérêt du dosage des marqueurs biochimiques repose principalement sur le fait qu'ils sont produits spécifiquement par une des glandes annexes ou par une zone bien déterminée du tractus génital masculin. Ceci permet donc de localiser une atteinte au niveau du tractus génital en fonction de la diminution de tel ou tel marqueur.

Les indications de réalisation d'une biochimie séminale les plus fréquentes sont :

- Un faible volume de l'éjaculat
- Une azoospermie afin de distinguer l'origine obstructive ou non obstructive
- Une vitalité fortement diminuée (nécrozoospermie)
- Une infection/inflammation génitale, avec ou sans augmentation du nombre de leucocytes (leucospermie) (3)

α glucosidase	Fructose	Citrate	FSH	Type d'azoospermie Causes possibles
↘	Non détectable	Normal	Normale	Obstructive : - Occlusion des canaux éjaculateurs - Agénésie des canaux déférents
↘	Normal	Normal	Normale	Obstructive : - Occlusion déférentielle et/ou épидидymaire
Normale	Normal	Normal	Normale	Obstructive au niveau du rete testis
↘	Normal	Normal	↗	Non obstructive
Normale	Normal	Normal	↗	Non obstructive

Figure 8 : Classification et origine possible des azoospermies en fonction des résultats de la biochimie séminale et du taux de FSH (issu du Bioforma) (3)

iii. Évaluation endocrinienne :

Tous les patients azoospermes bénéficient d'une exploration de la fonction endocrinienne (28).

L'évaluation endocrinienne minimale repose sur un dosage sérique de la testostérone totale (exploration de la fonction Leydigienne) et de la FSH (exploration de la fonction Sertolienne). En effet les taux sériques de testostérone et de FSH permettent de différencier une grande partie des origines obstructives ou non obstructives des azoospermies (32).

FSH	Testotérone	LH	Type d'azoospermie Causes possibles
↗	↘	↗ ou Normale	Non Obstructive (Insuffisance testiculaire primitive)
↗	↘ ou Normale	Normale	Non Obstructive (microdélétion du chrs Y)
↘ ou Normale	↘	↘ ou Normale	Hypogonadisme Hypogonadotrope
Normale	Normale	Normale	Obstructive

Figure 9 : Profil hormonal en fonction du type d'azoospermie (32,33)

Pour des valeurs limites de testostérone totale, il est recommandé d'interpréter les résultats en fonction des variations de la Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) ou d'utiliser le dosage de la testostérone libre et de la testostérone biodisponible (34).

Quel que soit le dosage utilisé, si le taux de testostérone est inférieur à la norme il est nécessaire de confirmer le résultat sur un nouveau prélèvement. Si ce résultat est avéré alors un bilan étiologique de l'hypogonadisme doit être initié avec dosage de la LH, de la prolactine et de l'œstradiol. Il est important de noter que les dosages de testostérone sérique, de LH, de FSH et de prolactine doivent être réalisés le matin entre 8 et 11H (21).

iv. Explorations radiologiques :

L'échographie scrotale ne remplace pas l'examen clinique mais elle permet de préciser l'origine étiologique, en particulier lors d'une suspicion d'azoospermie obstructive. Elle permet de mesurer précisément le volume testiculaire (recherche d'une hypotrophie testiculaire <15mL) et de réaliser une exploration plus approfondie du carrefour épидидymo-déférentiel (recherche d'une dilatation de la tête épидидymaire souvent présente dans les AO) (35). Pour les patients qui présentent une suspicion d'atteinte des voies séminales profondes (absence de canaux déférents, dilatation épидидymaire, hypospermie, biochimie séminale perturbée...) une échographie du carrefour prostatovésiculo-déférentiel peut être réalisé par voie rectale. En raison de leur origine embryologique commune, il existe une association fréquente entre anomalies génitales et urinaires c'est pourquoi un examen échographique systématique des deux reins et des voies excrétrices urinaires est réalisé simultanément (28).

En résumé le tableau clinico-biologique classique d'une azoospermie obstructive comprend :

- Volumes testiculaires normaux
- FSH normale
- Hypospermie
- Anomalies au niveau des voies séminales (absence bilatérale de canaux déférents, kyste utricule prostatique, dilatation épидидymaire) (36)

v. Examens génétiques :

Lors du bilan étiologique de l'homme azoosperme, un bilan génétique systématique doit être réalisé car environ un patient sur quatre azoosperme présenterait au moins une anomalie génétique (37). Trois analyses génétiques sont indiquées : le caryotype, la recherche de microdélétions du chromosome Y et l'analyse des mutations du gène CFTR. Il faut néanmoins que leur prescription réponde à des indications strictes (21) :

- Le caryotype :

Tous les patients azospermes bénéficient de la réalisation d'un caryotype constitutionnel en résolution standard sur lymphocytes sanguins à la recherche d'une anomalie de nombre et/ou de la structure des gonosomes et des autosomes (28). La fréquence des anomalies caryotypiques est inversement proportionnelle au nombre de spermatozoïdes. Environ 10 à 15% des hommes azospermiques présentent une anomalie chromosomique congénitale (38–40).

En dehors de l'azoospermie, les autres indications du caryotype sont :

- l'oligospermie $< 10.10^6$ spermatozoïdes/mL
- une histoire familiale d'avortements à répétition, de malformations, ou de retards psychomoteurs ou des acquisitions

- Les microdélétions du bras long du chromosome Y (Yq) :

Le chromosome Y humain comporte des gènes responsables du développement des testicules ainsi que de l'initiation et du maintien de la spermatogenèse à l'âge adulte. Le bras long du chromosome Y contient de nombreuses séquences ampliconiques et palindromiques le rendant prédisposé à l'auto-recombinaison lors de la spermatogenèse et donc sensible aux délétions intra-chromosomiques (41). De telles délétions entraînent une variation du nombre de copies dans les gènes du chromosome Y au locus AZF (Azoospermia Factor), et peuvent altérer la fertilité masculine (41).

La fréquence des microdélétions du chromosome Y chez les hommes atteints d'azoospermie varie selon les études de 1,7 % à 6,4 % (21).

- Les mutations du gène CFTR (ou ABCC7) :

Les mutations du gène CFTR sont généralement découvertes, soit lors de l'évaluation systématique de la mucoviscidose ou d'autres affections liées à la mutation du gène CFTR, soit lors de l'exploration d'une infertilité masculine isolée avec azoospermie d'allure obstructive et absence de canaux déférents.

Le gène CFTR s'étend sur 250 000 paires de bases sur le bras long du chromosome 7 (7q31.2), il comprend 27 exons, et code pour une protéine fonctionnelle de 1480 acides aminés. La protéine CFTR appartient à la famille des transporteurs ABC, elle

est impliquée dans la régulation de plusieurs transporteurs d'ions, notamment les canaux sodium, les échangeurs chlorure/bicarbonate, les échangeurs protons et les canaux hydriques. Elle est localisée au pôle apical des cellules épithéliales de différents tissus, notamment des voies respiratoires, du pancréas mais également au niveau du tractus génital (42). Elle fonctionne comme un canal permettant l'échange d'ions chlorure. Lorsque le gène est muté, le canal dysfonctionne et cette altération se traduit notamment par une diminution de l'eau excrétée au niveau des muqueuses et, en conséquence, par une inflammation et un épaissement du mucus qui la recouvre.

Son dysfonctionnement bi-allélique est responsable du phénotype de la fibrose kystique (FK), ou mucoviscidose.

A ce jour, plus de 2000 mutations ont été rapportées sur ce gène (43) qui sont répertoriées dans la Cystic Fibrosis Mutation Database (44). Des mutations pathogènes du gène CFTR peuvent affecter non seulement les régions codantes, mais aussi le promoteur et les régions introniques profondes.

Il existe différentes classifications des mutations du gène CFTR :

La plus ancienne proposée par Welsh et Smith permet de classer (de I à VI) les variants en fonction de leur nature et de leurs conséquences fonctionnelles sur la protéine CFTR (45).

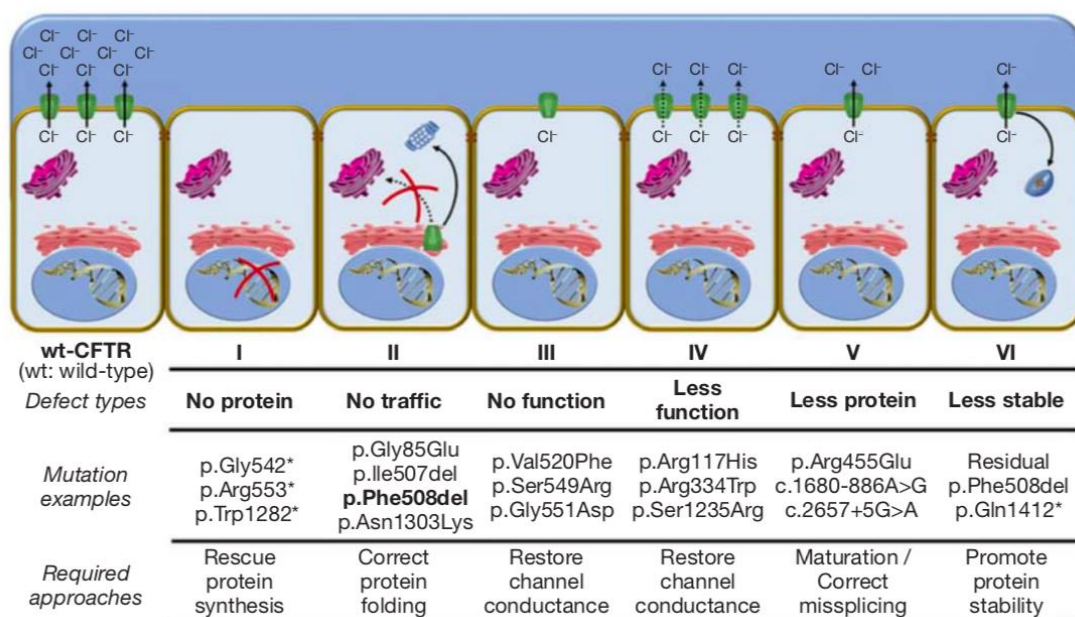


Figure 10 : Classification fonctionnelle des variants de CFTR adaptée de Welsh et Smith (45)

- Les mutations de classe I conduisent à une synthèse protéique défectueuse et à l'absence de protéine CFTR fonctionnelle à la surface des cellules épithéliales.
- Les mutations de classe II entraînent une maturation défectueuse de la protéine CFTR (repliement ou glycosylation incomplète) et à l'absence de canaux CFTR fonctionnels.
- Les mutations de classe III correspondent à des mutations « faux-sens », qui empêchent la liaison de l'ATP à la protéine, et donc l'ouverture et le fonctionnement normal du canal CFTR.
- Les mutations de classe IV entraînent une conductance défectueuse du canal et donc à la présence d'une protéine CFTR à conductance anionique réduite.
- Les mutations de classe V engendrent une diminution du nombre de protéines CFTR au niveau de la membrane.
- Les mutations de classes VI conduisent à une protéine CFTR dont la stabilité est défectueuse et donc à un turnover accéléré de ces protéines.

La présence concomitante de variants de classe I, II ou III dans les deux copies des gènes d'un patient est souvent associée à un phénotype sévère. A l'inverse, la présence concomitante de variants de classe IV, V ou VI, qui conduisent à la production d'une protéine avec une certaine fonction résiduelle, est souvent associée à un phénotype léger (45).

Le variant le plus fréquent dans le monde est p.Phe508del (de classe II) plus communément appelé $\Delta F508$, il est présent chez environ 70% des malades (46).

Il faut noter que l'absence de détection d'une anomalie du gène CFTR n'élimine pas complètement la présence d'une mutation rare (sauf en cas de réalisation systématique d'un séquençage haut débit), car selon la technique utilisée toutes les mutations ne sont pas détectées (21). Les 29 mutations du gène CFTR recherchées en première intention représentent plus de 80% de l'ensemble des mutations retrouvées dans la population Française (47).

La deuxième classification, plus récente propose de classer les variants du gène CFTR en fonction des conséquences cliniques, et donc du phénotype (48).

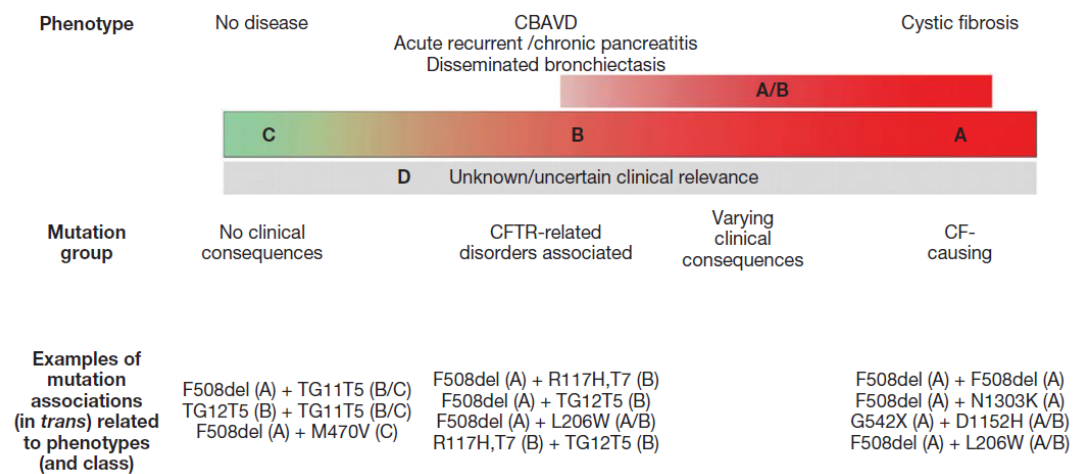


Figure 11 : Classification clinique des variants de CFTR en quatre classes basées sur l'expression phénotypique chez les patients selon Castellani et al. (48)

- (A) les variants perte de fonction, à l'origine de la mucoviscidose lorsqu'ils sont appariés
- (B) les variants qui conservent une fonction résiduelle de la protéine CFTR et qui sont compatibles avec des phénotypes plus légers tels que les CFTR-RD (related disease ou maladie résiduelle), lorsqu'ils sont appariés avec un variant causant la mucoviscidose ou appariés ensemble
- (C) les variants sans conséquences cliniques
- (D) les variants dont la pertinence clinique n'est pas prouvée ou incertaine

Les variants sont donc associés à un large spectre phénotypique : de la mucoviscidose à l'entité clinique appelée CFTR-RD représentant des pathologies associées à un dysfonctionnement de la protéine CFTR, mais sans remplir les critères diagnostiques de la mucoviscidose ; Il peut s'agir d'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD), de pancréatites chroniques, de dilatation des bronches (49,50).

D'un patient à l'autre, on observe une grande diversité d'expressions cliniques, tant pour l'âge d'apparition des premiers symptômes que pour la sévérité de l'évolution ; la sévérité de l'atteinte respiratoire qui conditionne le pronostic vital dans la majorité des cas (49).

Les indications de recherche de mutation du gène CFTR dans le cadre de l'exploration de l'homme infertile sont (36):

- la mucoviscidose
- l'azoospermie obstructive par absence uni ou bilatérale des canaux déférents et/ou des vésicules séminales
- la conjointe du patient ayant une mutation du gène CFTR

- ADGRG2 :

20 à 40% des cas d'absence bilatérale des canaux déférents d'origine congénitale ne sont pas liés à des mutations du gène CFTR (51). Au cours de la dernière décennie, l'avènement du séquençage nouvelle génération (NGS) a permis le développement de nouvelles techniques telles que le séquençage de l'exome entier (WES), le séquençage du génome entier (WGS) et l'analyse du transcriptome entier. Grâce à ces techniques le gène ADGRG2 a été découvert ; il est situé sur le bras court du chromosome X, au locus Xp22.13, il est composé de 29 exons et code pour la protéine ADGRG2 qui est une protéine d'adhésion couplé au récepteur G2 (51). Il est fortement exprimé dans les canaux efférents, et permet de moduler l'activité d'AMPC et de protéine kinase C (PKC). Il est impliqué dans la réabsorption du liquide testiculaire et lorsque ce gène est inactivé chez les souris mâles celles-ci présentent alors une infertilité obstructive.

Les mutations ADGRG2 et CFTR sont phénotypiquement impossibles à distinguer l'une de l'autre, suggérant un mécanisme physiopathologique commun. Plus de 9 mutations tronquantes du gène ADGRG2 ont été mises en évidence et confirment l'implication d'ADGRG2 dans environ 20 % des ABCD non liées à un dysfonctionnement du CFTR. Il est donc important de séquencer le gène d'ADGRG2 chez les patients atteints d'ABCD sans mutation CFTR identifiée ; mais aussi chez les patients avec un seul allèle défectueux du gène codant la protéine CFTR, idéalement après exclusion de l'agénésie rénale (51,52).

5) Étiologies des azoospermies obstructives :

Pour rappel, l'azoospermie obstructive représente jusqu'à 40 % des cas d'azoospermie et peut être de nature acquise ou congénitale. La plupart des cas d'AO acquise résultent d'une vasectomie, alors que l'OA congénitale est principalement due à l'absence bilatérale congénitale du canal déférent associé à des mutations du gène du régulateur transmembranaire de la fibrose kystique (CFTR) (53).

Il existe cependant de nombreuses autres causes d'obstruction du système reproducteur génito-urinaire :

a) Obstructions au niveau épидидymaire :

- Une inflammation sévère de l'épididyme (épididymite aiguë ou chronique), une inflammation des vésicules prostatiques ou séminales, une infection des voies génito-urinaires inférieures, peuvent entraîner la formation de cicatrices et provoquer une obstruction uni ou bilatérale (27).

- Lors de chirurgie scrotale (hydrocéclectomie, biopsie épидидymaire accidentelle), on peut retrouver une obstruction épидидymaire iatrogène (54).

- Dans certains cas, l'absence partielle ou complète d'épididyme est d'origine congénitale (27).

- Le syndrome de Young est une triade de troubles qui englobe la sinusite chronique, la bronchiectasie et l'azoospermie obstructive. La physiopathologie de la maladie n'est pas complètement élucidée mais peut impliquer une fonction ciliaire anormale et une qualité anormale du mucus ; l'obstruction de l'épididyme serait très probablement due à une saturation des sécrétions (26).

- L'obstruction de l'épididyme peut être d'origine vasculaire (une pression intraluminaire accrue entraîne une micro-rupture et une obstruction épидидymaire). Elle survient chez 60 % des hommes 15 ans après la vasectomie (27).

b) Obstructions au niveau du canal déférent :

- La vasectomie est la cause la plus fréquente d'obstruction des canaux déférents (53).
- L'obstruction iatrogène déférentielle après herniorraphie ou autre chirurgie scrotale antérieure avec ligature accidentelle des canaux déférents survient le plus souvent après la réparation d'une hernie inguinale. Cette complication survient plus fréquemment lorsqu'elle est pratiquée dans la petite enfance, mais peut survenir après toute intervention inguinale où le canal et le cordon spermatique sont manipulés (27).
- L'obstruction déférentielle peut aussi être d'origine congénitale : l'absence congénitale unilatérale de canal déférent (AUCD) et l'absence congénitale bilatérale de canaux déférents (ABCD)

L'ABCD :

L'absence congénitale des canaux déférents est une maladie congénitale du développement caractérisée par l'absence des deux canaux déférents, elle affecte 1 homme pour 1000. Elle représente l'étiologie la plus courante de l'azoospermie obstructive (55). Elle peut se manifester par des signes cliniques variés selon l'association ou non avec d'autres anomalies du tractus urogénital masculin, principalement des vésicules séminales (dans 50 % des cas) et des reins (agénésie rénale survenant chez 5 à 10 % des patients ABCD) (42). La prévalence de l'ABCD chez les hommes azoospermiques est estimée entre 4 et 17 % et augmente jusqu'à 25 % en cas d'azoospermie obstructive. L'ABCD associée à une agénésie des vésicules séminales est caractérisée par une azoospermie, un faible volume de sperme (<1 mL) et un pH acide (<7). La génétique d'ABCD sans anomalie rénale associée est limitée à deux gènes : CFTR dans 75 à 80 % des cas et ADGRG2 dans 5 à 10 % des cas (42).

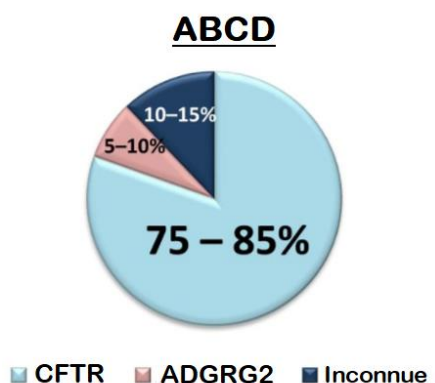


Figure 12 : Rendement diagnostique du test génétique dans l'absence bilatérale congénitale des canaux déférents (42)

Une agénésie rénale unilatérale est retrouvée chez 10% des ABCD et 25% des AUCD. L'AUCD ne s'associe pas forcément à une azoospermie si la voie spermatique controlatérale est perméable, cependant il existe des cas d'azoospermie avec AUCD. Chez ces patients, l'échographie transrectale (TRUS) peut aider à démontrer une atrésie segmentaire controlatérale associée du canal déférent ou de la vésicule séminale (26,31).

Il existe une forte association entre l'ABCD et les mutations du gène CFTR. En effet presque tous les hommes atteints de mucoviscidose clinique présentent une ABCD. Inversement, au moins deux tiers des hommes atteints d'ABCD présentent des mutations du gène CFTR. Cependant, comme cité précédemment, le fait de ne pas identifier une anomalie CFTR chez un homme atteint d'ABCD n'exclut pas entièrement une mutation, car certaines sont indétectables avec les méthodes utilisées en routine (31).

Par ailleurs, lorsque l'absence de canal déférent est associée à une agénésie rénale, il n'existe à priori pas de mutation CFTR associée (56).

La mucoviscidose :

La mucoviscidose est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive. On estime qu'environ 200 enfants atteints de mucoviscidose naissent chaque année en France, soit en moyenne 1 nouveau-né sur 4 500, avec une forte disparité régionale (46).

Les principales manifestations cliniques de la mucoviscidose sont (46) :

- Au niveau pulmonaire, l'épaississement du mucus encombre les bronches et entraîne en premier lieu une toux chronique, ainsi qu'une gêne et une diminution de la fonction respiratoire. Celle-ci conduit progressivement à une bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) puis, à terme, une insuffisance respiratoire. Le principal risque est la surinfection bactérienne ainsi que la colonisation des voies aériennes par la bactérie *Pseudomonas Aeruginosa* ou le champignon filamenteux *Aspergillus Fumigatus*.

- Sur le plan digestif, l'hyperviscosité des sécrétions pancréatiques ne permet pas aux enzymes pancréatiques d'être déversées dans l'intestin. Elles restent stockées, altérant le tissu pancréatique lui-même. Ainsi, près de 85% des patients touchés par la mucoviscidose présentent une atteinte pancréatique (fibrose puis insuffisance pancréatique). À terme, celle-ci peut aboutir à un défaut de sécrétion d'insuline et à l'apparition d'un diabète.
- Des troubles de la densité minérale osseuse, avec un risque d'ostéopénie ou d'ostéoporose.
- Chez les hommes atteints de la maladie, les canaux déférents sont obstrués *in utero* par un bouchon muqueux, provoquant leur involution et donc leur atrésie.

c) Obstructions au niveau des canaux éjaculateurs :

L'obstruction des deux canaux éjaculateurs peut être d'origine congénitale ou acquise et est responsable de 1 à 5 % des cas d'infertilité masculine (26).

- Les causes congénitales comprennent la compression extrinsèque des canaux éjaculateurs par des reliquats kystiques des canaux de Müller ou de Wolff.
- Les causes acquises peuvent être secondaires à un traumatisme, à une intervention chirurgicale (iatrogène), à une calcification prostatique, à des lithiases issues des vésicules séminales ou à du tissu cicatriciel post-infection (26).

Elle est classiquement définie par une hypospermie, un pH séminal acide, une absence de fructose et d' α -glucosidase dans le sperme et des canaux déférents palpables à l'examen physique. Pour le diagnostic on peut utiliser le toucher rectal ou l'échographie transrectale (27,29).

En résumé :

Les principales étiologies des azoospermies obstructives sont :

- L'absence bilatérale des canaux déférents: recherche systématique d'une mutation du gène CFTR
- L'obstruction bilatérale des voies séminales (épididymes, canaux déférents ou canaux éjaculateurs) : les causes peuvent être infectieuses, chirurgicales ou traumatiques (36).

C. Abord chirurgical dans l'azoospermie obstructive :

Afin de concevoir un enfant, il existe plusieurs possibilités thérapeutiques pour les hommes présentant une azoospermie obstructive : l'extraction de spermatozoïdes directement au niveau de l'épididyme ou du testicule, suivie de l'utilisation de techniques d'aide médicale à la reproduction (en particulier injection intracytoplasmique de spermatozoïdes ICSI) ou, si elle est réalisable (en fonction de l'étiologie), la correction chirurgicale de l'obstruction (par exemple la vaso-vasotomie), qui peut permettre au couple de concevoir naturellement. La prise en charge chirurgicale de l'azoospermie obstructive varie selon le site de l'obstruction et dépend de la localisation et de l'origine de l'azoospermie. Les spermatozoïdes peuvent être extraits de l'épididyme ou des testicules via diverses techniques percutanées, ouvertes ou microchirurgicales (26).

Les objectifs de l'extraction chirurgicale sont d'obtenir des spermatozoïdes de la meilleure qualité possible et en nombre suffisant, pour permettre une cryoconservation, et, de minimiser les dommages à l'appareil reproducteur (57).

1) Techniques de récupération de spermatozoïdes épидидymaires :

a) Aspiration percutanée de spermatozoïdes épидидymaires (PESA)

L'aspiration percutanée de spermatozoïdes épидидymaires peut être réalisée sous anesthésie locale grâce à une aiguille de petit calibre insérée par voie percutanée dans l'épididyme, reliée à une seringue permettant d'aspirer le liquide épидидymaire. Plusieurs ponctions peuvent être nécessaires pour obtenir suffisamment de liquide. L'échantillon obtenu est rapidement examiné au microscope en laboratoire pour voir s'il contient des spermatozoïdes mobiles et estimer leur concentration.

Si aucun spermatozoïde n'est observé, une aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épидидymaires (MESA), une biopsie testiculaire ou une aspiration testiculaire peuvent être réalisées (58).

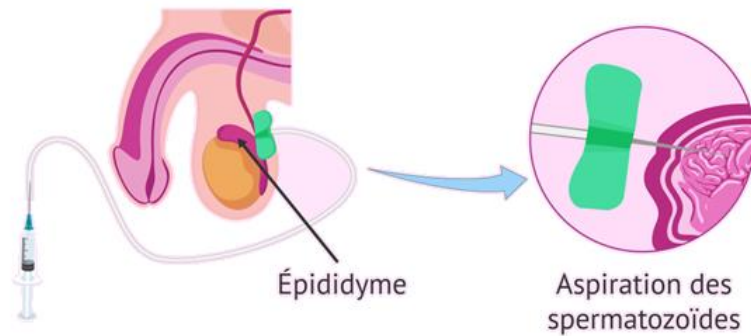


Figure 13 : Schéma de l'aspiration de spermatozoïdes épididymaires (Invitra©) (59)

b) Aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épididymaires (MESA)

L'aspiration microchirurgicale des spermatozoïdes épididymaires se fait sous anesthésie générale ou sédation intraveineuse. Le chirurgien réalise une incision pour exposer l'épididyme puis les tubules épididymaires vont être individualisés et ponctionnés. Le liquide épididymaire est aspiré et évalué en peropératoire par le biologiste à l'aide d'un microscope (recherche de spermatozoïdes mobiles). L'aspiration est effectuée sur plusieurs sites le long de l'épididyme pour obtenir la fraction spermatique de la meilleure qualité possible (mobilité et quantité suffisante). Les sites de ponction sont ensuite fermés ou cautérisés. Les spermatozoïdes de meilleure qualité se trouvent près du testicule dans l'épididyme proximal et sont concentrés à environ 1 million de spermatozoïdes/mL (57,60).

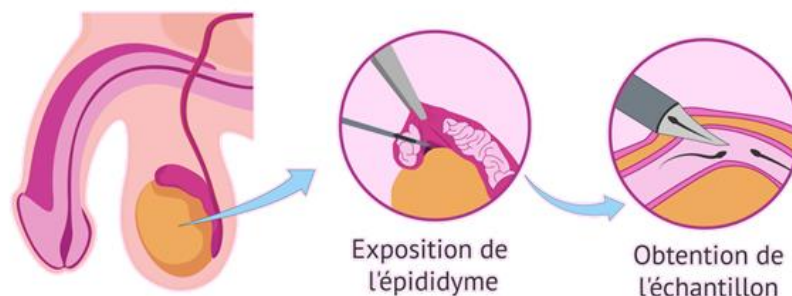


Figure 14 : Schéma de l'aspiration microchirurgicale de spermatozoïdes épididymaires (Invitra©) (59)

2) Techniques de récupération de spermatozoïdes testiculaires :

a) Extraction testiculaire de spermatozoïdes (TESE)

L'extraction testiculaire de spermatozoïdes ou biopsie testiculaire ouverte se pratique sous anesthésie locale, parfois rachidienne ou générale. Le chirurgien réalise une incision dans le raphé médian du scrotum et poursuit à travers les fibres du dartos et la tunique vaginale. Le testicule et l'épididyme sont alors visibles. Le chirurgien pratique une ou plusieurs incisions à travers l'albuginée pour récupérer de la pulpe testiculaire ; les incisions seront ensuite suturées. Chaque échantillon est évalué au microscope pour confirmer la présence de spermatozoïdes vivants (60).

La micro-TESE ou microdissection des tubes séminifères : il est possible de détecter les tubes spermatogéniques au microscope et de les microdisséquer. En effet, les tubes séminifères qui contiennent des cellules germinales sont plus larges que ceux qui n'en présentent pas. L'avantage de cette méthode est de limiter les prélèvements aux seuls tubes susceptibles de présenter une spermatogénèse en ne prélevant qu'une quantité réduite de tissu. Cette technique améliore le rendement de l'extraction dans les cas d'azoospermies non obstructives où la spermatogénèse est altérée et parfois présente dans de rares tubes (28). Mais elle possède plusieurs inconvénients notamment l'augmentation considérable du temps opératoire et nécessite des équipements couteux pour observer les tubes séminifères (28).

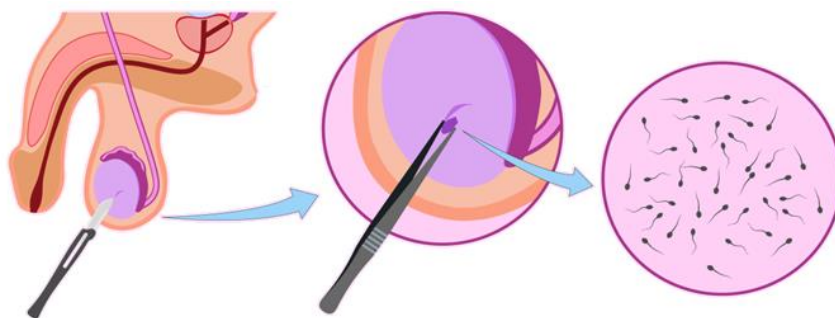


Figure 15 : Schéma de l'extraction testiculaire de spermatozoïdes (Invitra©) (61)

b) Aspiration percutanée de spermatozoïdes testiculaires (TESA)

La technique de ponction testiculaire percutanée à l'aiguille fine est réalisée sous anesthésie locale. Après avoir stabilisé le testicule entre le pouce et l'index du chirurgien, une aiguille est insérée le long de l'axe longitudinal du testicule, légèrement retirée et redirigée pour tenter de perturber l'architecture testiculaire. La procédure est répétée jusqu'à ce que du matériel testiculaire ait été aspiré. L'objectif de la procédure est de modifier l'architecture des tubules pour pouvoir aspirer leur contenu. L'échantillon est ensuite analysé au laboratoire, à la recherche de spermatozoïdes vivants (57).

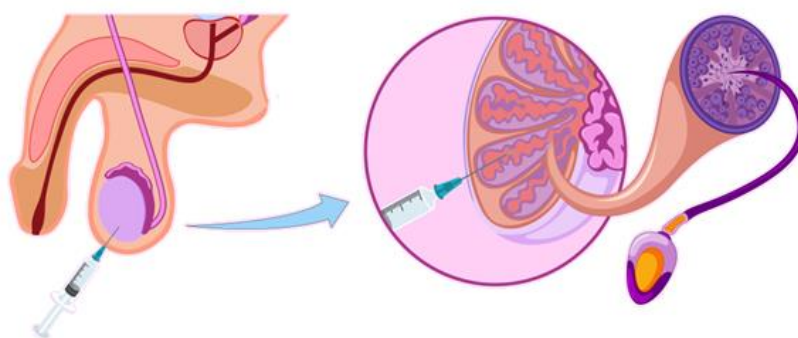


Figure 16 :Schéma de l'aspiration percutanée de spermatozoïdes testiculaires (Invitra©) (61)

En conclusion :

L'azoospermie obstructive se caractérise par une production de spermatozoïdes normale ou quasi normale dans l'ensemble des testicules ; des millions de spermatozoïdes s'accumulent en amont du point anatomique d'obstruction. Le prélèvement de spermatozoïdes est donc possible dans la plupart des cas en utilisant n'importe quelle technique percutanée ou chirurgicale. Cependant, chaque procédure d'extraction de spermatozoïdes est associée à des exigences anesthésiques, des compétences chirurgicales et des taux de récupération de spermatozoïdes différents oscillant entre 80 et 100% (62). En effet la qualité de l'extraction est surtout impactée par la mobilité spermatique qui est plus élevée dans l'épididyme.

C'est pourquoi la MESA est la méthode de référence : elle permet d'obtenir des millions de spermatozoïdes mobiles de haute qualité (62).

3) Cryoconservation :

Les spermatozoïdes issus de ces méthodes d'extraction peuvent ensuite être cryoconservés en vue de leur utilisation ultérieure grâce à la technique d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI).

Objectif du travail :

Dans les cas d'azoospermies obstructives, il semble légitime de proposer une extraction chirurgicale de spermatozoïdes épидидymaires en raison du rôle du transit épидидymaire sur l'acquisition des propriétés fécondantes du spermatozoïde, et afin d'obtenir une préparation spermatique de meilleure qualité (par rapport à l'extraction testiculaire).

Par ailleurs, le gamète mâle peut affecter le développement des embryons obtenus, il est ainsi communément admis par plusieurs auteurs que les spermatozoïdes épидидymaires doivent être utilisés de préférence aux spermatozoïdes testiculaires, même lorsque ces derniers sont produits par une spermatogenèse normale (55,63,64).

Cependant, la qualité des spermatozoïdes extraits au niveau de l'épididyme peut être altérée en raison de facteurs locaux, tels que le stress oxydatif, une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique et/ou la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes (53,65). Se pose alors la question de l'indication de l'abord épидидymaire chez les hommes présentant une azoospermie obstructive par rapport à l'extraction testiculaire. L'objectif de ce travail est d'évaluer chez les patients atteints d'une azoospermie obstructive les chances de succès de l'extraction épидидymaire et la qualité de l'extraction en fonction de l'étiologie considérée ?

II. Matériels et méthodes :

Entre 2004 et 2022, 295 patients azoospermes ont pu bénéficier d'un suivi clinico-biologique dans le service d'Andrologie du CHU de Lille ; mettant en évidence une origine plutôt obstructive à leur azoospermie leur permettant d'avoir recours à une extraction chirurgicale de spermatozoïdes par MESA +/- TESE. Les résultats de ces extractions chirurgicales ont été analysés dans ce travail.

A. Population :

Tous les patients inclus ont bénéficié d'un bilan complet comprenant :

- Un interrogatoire avec recherche d'antécédents médicaux, chirurgicaux et/ou facteurs de risques d'AO/ANO
- Un examen clinique avec palpation des testicules, de l'épididyme et des canaux déférents
- Un examen d'imagerie avant toute extraction de spermatozoïdes : échographie testiculaire avec mesure des volumes testiculaires ou échographie transrectale en cas d'anomalie de la biochimie séminale avec examen clinique normal ou volume d'éjaculat diminué sans éjaculation rétrograde.
- Un bilan d'azoospermie au laboratoire de spermologie :
Examen direct de l'éjaculat avec réalisation d'un culot de centrifugation. L'azoospermie a été confirmée sur un deuxième recueil espacé d'au moins un cycle spermatogénétique soit environ 3 mois.
- Un bilan hormonal comprenant :
 - Les dosages sériques de la FSH et la LH ont été mesurées par dosage immunologique à l'aide d'un analyseur automatique (Architect, Abbott Laboratories, USA). La limite de quantification de chaque dosage était la

suivante : FSH = 0,2 UI/L, LH = 0,5 UI/L. Les coefficients de variation intra- et inter-essais étaient de 3,1 % à 5,6 % pour la FSH, et de 4,3 % à 6,4 % pour la LH. Les plages de référence étaient de 1,2 à 7,8 UI/L pour la FSH et de 0,60 à 12 UI/L pour la LH.

- Les taux 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 a été considérée comme étant de 87 à 317 pg/mL (médiane = 178 pg/mL).
 - Les taux sériques de testostérone ont été mesurés avec un kit de radio-immunodosage Coat-A-Count (Siemens, Malvern, PA, USA). La sensibilité fonctionnelle était de 0,14 nmol/L (0,04 ng/mL), les coefficients de variation entre les tests étaient compris entre 5,9 et 11 % et la plage normale était considérée comme étant de 2,30 à 6,70 ng/mL.
- Un bilan génétique est effectué chez tous les patients azoospermiques comprenant : un caryotype constitutionnel, une recherche de microdélétion du chromosome Y, et une recherche de mutation du gène CFTR.

Les patients ont été soumis à un dépistage des mutations du gène régulateur de conductance transmembranaire de la fibrose kystique (CFTR). L'ADN génomique a été extrait d'échantillons de sang total (prélevés dans des tubes EDTA) à l'aide du kit Illustra Nucleon BACC3 (GE Healthcare Freiburg, Allemagne) ou d'une procédure d'extraction interne au phénol-chloroforme. Les échantillons ont été criblés pour les mutations les plus fréquentes (avec un kit Elucigen CF30 de Tepnel, Abingdon, Royaume-Uni) et la répétition du tractus (TG) mTn (analyse de fragments). Des analyses approfondies ont été réalisées pour les patients porteurs d'une seule mutation ou sans mutation : scan des 27 exons, de leurs frontières et de la région promotrice 1000 pb en amont du codon d'initiation par chromatographie en phase liquide haute pression (Le Marchalet al.,2001), suivi d'un séquençage Sanger pour caractériser les variants. Les grands réarrangements ont été criblés en utilisant un kit d'amplification de

sonde multiplexée dépendante de la ligature (MRC-Holland, Amsterdam, Pays-Bas).

Les données recueillies comprennent : l'âge au moment de la chirurgie d'extraction des spermatozoïdes, les volumes testiculaires, la présence de varicocèle, de kyste épидидymaire, de dilatation épидидymaire, de gynécomastie, d'absence unilatérale ou bilatérale des canaux déférents, d'agénésie rénale, de malformation urogénitale.

Les informations recueillies sont : les antécédents de cryptorchidie unilatérale/bilatérale, les antécédents de chirurgie d'hernie inguinale, de vasectomie, de torsion et de traumatisme testiculaire, et enfin d'infection urogénitale (épидидymite, ...).

Pour les patients atteints de mucoviscidose des données supplémentaires ont été recueillies dans l'année précédant l'intervention chirurgicale de biopsie épидидymaire :

- Données cliniques : l'Indice de Masse Corporelle (IMC), le Volume Expiratoire Maximal par Seconde (VEMS) en pourcentage, la colonisation chronique à *Pseudomonas Aeruginosa*, la présence d'une Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique (ABPA), l'atteinte pancréatique (insuffisance pancréatique, intolérance glucidique, diabète), l'atteinte osseuse (ostéoporose), l'atteinte hépatique (cirrhose), l'atteinte rénale (insuffisance rénale), la réalisation d'une greffe pulmonaire, le nombre de cure d'antibiotiques (intra veineuse) IV, la prise d'antibiotiques per os au long cours, la prise de corticoïdes et d'antifongiques azolés au long cours ; Et pour terminer l'initiation d'un nouveau traitement modulateur du canal CFTR (Ivacaftor®, Orkambi®, Kaftrio®).

- Données biologiques : dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), de la TSH.

B. Extraction chirurgicale de spermatozoïdes :

Les procédures de prélèvement des spermatozoïdes épидидymaires et testiculaires ont été réalisées sous anesthésie générale. La MESA a été réalisée à la partie la plus distale de la tête épидидymaire en utilisant une seringue contenant 0,5 mL de milieu Fercult® (JCD, Lyon, France). Le nombre et la mobilité des spermatozoïdes dans le liquide épидидymaire ont été immédiatement évalués au bloc opératoire à l'aide d'un microscope optique à contraste de phase (grossissement x200 et x400). Si besoin (présence de nombreux spermatozoïdes immobiles) la vitalité spermatique a été évaluée. Le nombre de fractions aspirées pouvant varier de 1 à 7 selon les cas. Lorsque la mobilité spermatique épидидymaire était jugée faible (<15%) ou lorsque la concentration en spermatozoïde était inférieure à 1million/mL, ou encore lorsque l'état de l'épididyme n'était pas distendu et empêchait donc le prélèvement de spermatozoïdes, une TESE ouverte a été réalisée comme décrit précédemment. Tout d'abord, une légère pression était appliquée pour extérioriser la pulpe du testicule. Un prélèvement unique a été réalisé lors d'une scrototomie transversale centimétrique, immergée dans du milieu de culture Fercult Hepes® (JCD, La Mulatière, France) et envoyée au laboratoire pour le traitement des spermatozoïdes. Le fragment de pulpe testiculaire est acheminé en valise thermostatée (à 30°C) au laboratoire dans un tube à hémolyse contenant du Fercult Hepes® (JCD, La Mulatière, France). Au cours de la même procédure, un plus petit fragment de pulpe testiculaire a été fixé dans une solution de Bouin (ou d'Alcool Formol Acide Acétique (AFA) partir de 2018) pour un examen histopathologique ultérieur de la spermatogenèse.

1) Extraction, traitement des spermatozoïdes :

Le liquide épидидymaire est ensuite évalué précisément au laboratoire. La concentration, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes ont été évaluées au microscope inversé (grossissement x400).

Lorsqu'une TESE était réalisée, le prélèvement était préparé comme suit :

La biopsie testiculaire a été d'abord pesée puis placée dans une boîte de Pétri contenant 2 mL de milieu Ferticult® pré-incubé. Le prélèvement était ensuite dilacéré mécaniquement à l'aide de scalpels stériles afin d'extraire les cellules germinales des tubes séminifères).

Après dilacération, la suspension obtenue a ensuite été reprise dans un tube Eppendorf d'1,5mL et le tissu résiduel a été soumis à un frottement rotatif à l'aiguille, afin de séparer les cellules germinales des cellules somatiques. Des gouttelettes de 5µL de la suspension ont été examinées au microscope inversé (grossissement x400). En cas de prélèvement positif, la concentration, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes ont été évaluées puis les suspensions de spermatozoïdes testiculaires ont été préparées immédiatement pour la cryoconservation par addition d'un volume égal de Sperm Freezing Medium (Medicult, Limonest, France).

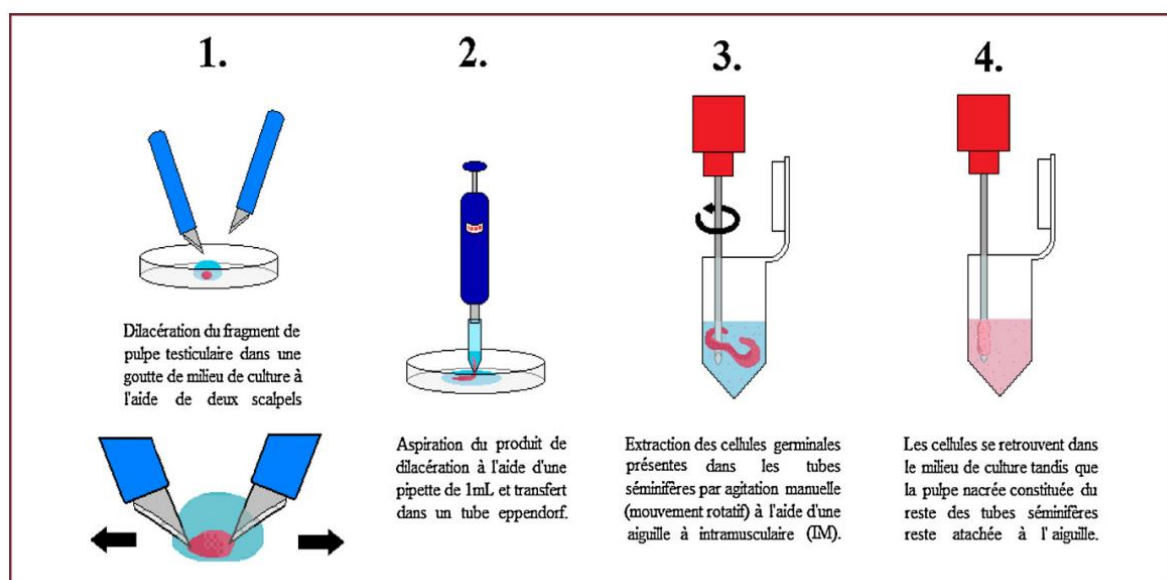


Figure 17 : Etapes du traitement de la pulpe testiculaire au laboratoire de biologie de la reproduction (28)

2) Congélation des spermatozoïdes au laboratoire :

La congélation des spermatozoïdes a été réalisée stérilement, sous hotte (PSM). Après avoir mesuré le volume de milieu de dilacération restant, le nombre de pailles spermatiques a été déterminé en fonction du volume et de la numération spermatique.

C. Analyses statistiques :

Les variables qualitatives ont été décrites en termes de fréquence et de pourcentage. Les variables quantitatives sont présentées selon la moyenne et l'écart-type en cas de distribution normale ou par la médiane et les espaces interquartiles dans le cas contraire. La normalité des distributions a été vérifiée graphiquement. Les comparaisons des variables qualitatives ont été réalisées à l'aide du test du Chi2 ou bien à l'aide du test exact de Fisher si les conditions d'application du test du Chi2 n'étaient pas respectées. Les variables quantitatives ont été comparées à l'aide du test de Student ou à l'aide d'un test de Wilcoxon en cas de non-respect des conditions d'application du test de Student.

Les recherches des facteurs associés à une extraction épидидymaire positive et de bonne qualité dans l'ensemble de la population ainsi que dans le sous-groupe des patients atteints de mucoviscidose ont été réalisées à l'aide d'un modèle de régression logistique univariée. L'hypothèse de log-linéarité a été testée et validée pour l'ensemble des variables quantitatives. Afin de déterminer quels étaient les facteurs associés de façon indépendante à une extraction épидидymaire positive et de bonne qualité dans l'ensemble de la population, un modèle de régression logistique multivariée a été construit à partir des facteurs significativement associés à ce résultat lors des analyses univariées.

Le taux de significativité a été fixé à 5 %. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R Studio.

III. Résultats :

Entre 2004 et 2022, un total de 295 patients atteints d'azoospermie obstructive ayant bénéficié d'une extraction chirurgicale de spermatozoïdes par MESA ont été inclus dans notre étude.

Les caractéristiques de base de la population étudiée sont décrites dans le tableau 1. L'âge moyen des hommes était de 32,8 ans (\pm 6,6), le volume testiculaire total moyen était de 32,7mL (\pm 9,2). La concentration moyenne de FSH sérique ainsi que la concentration moyenne de LH et de testostérone totale étaient respectivement dans les plages normales. La concentration moyenne d'inhibine B était de 183,9pg/mL (\pm 73,9).

Concernant les étiologies de l'AO ayant permis de poser une indication d'extraction épидидymaire, 177 des 295 patients (60,0%) présentaient une absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) dont 55 patients (18,6%) souffraient de mucoviscidose. 33 patients (11,2%) présentaient une AUCD.

Chez 52 patients, on notait en complément d'un facteur étiologique d'AO, la présence d'un antécédent reconnu comme pouvant être responsable d'une altération de la spermatogenèse, notamment un antécédent de cryptorchidie uni ou bilatérale chez 22 patients (7,5%) et une varicocèle chez 30 patients (10,2%).

Concernant les résultats de l'extraction chirurgicale : tous les patients ont bénéficié d'une extraction épидидymaire de spermatozoïdes. Pour 261 patients (88,8%), celle-ci était positive ayant permis la congélation de spermatozoïdes. Chez 207 (70,4%) patients elle était positive et de bonne qualité c'est-à-dire ne nécessitant pas une extraction testiculaire complémentaire afin d'augmenter le nombre de paillette cryoconservées. Parmi les 86 extractions testiculaires ayant été réalisées 81 (94,2%) étaient positives.

Tableau 1 : Caractéristiques de base de la population étudiée :

Variables	Paramètres (moyenne ± écart type)
Patients et profil hormonal :	
Age (années)	32,81 ± 6,64
Volume testiculaire total (mL) ¹	32,67 ± 9,20
FSH (UI/L)	3,40 [2,40 ; 5,05]
LH (UI/L) ²	2,90 [2,20 ; 3,80]
Testostérone totale (ng/mL) ³	4,72 ± 1,67
Inhibine B (pg/mL) ⁴	183,86 ± 73,96
Indications MESA :	
ABCD hors mucoviscidose	41,36% (122/295)
Mucoviscidose	18,64% (55/295)
AUCD	11,19% (33/295)
Malformation rénale	6,78% (20/295)
Malformation uro-génitale	3,39% (10/295)
Antécédent de chirurgie inguinale	11,53% (34/295)
Dilatation épидидymaire	35,93% (106/295)
Kyste(s) épидидymaire(s)	11,53% (34/295)
Antécédents infection uro-génitale	6,10% (18/295)
Antécédent de torsion ou traumatisme testiculaire	5,42% (16/295)
Biochimie séminale anormale de manière isolée	5,42% (16/295)
Vasectomie	1,02% (3/295)
Autres antécédents :	
Cryptorchidie uni ou bilatérale	7,46% (22/295)
Varicocèle	10,17% (30/295)
Résultats de l'extraction chirurgicale :	
Extraction épидидymaire positive ⁵	88,78% (261/294)
Extraction épидидymaire positive et de bonne qualité* ⁵	70,41% (207/294)
Echec d'extraction épидидymaire ⁵	11,22% (33/294)
Extraction testiculaire positive ⁵	94,19% (81/86)

Les données sont exprimées en moyenne ± écart type, en médiane [Q1;Q3], et en pourcentage ; n=295 ; ¹données manquantes = 4 ; ²données manquantes = 58 ; ³données manquantes = 5 ; ⁴données manquantes = 8 ; ⁵données manquantes = 1 ; *De bonne qualité : absence de biopsie testiculaire concomitante.

Afin de rechercher les variables pouvant être associées à une MESA positive et de qualité satisfaisante, nous avons réalisé une régression logistique univariée puis multivariée (tableau 2).

L'âge, le volume testiculaire, la concentration de FSH et de testostérone totale ne sont pas prédictifs des résultats de l'extraction épидидymaire. En revanche, la concentration d'inhibine B (par augmentation de 30 unités) était significativement associée à une extraction épидидymaire de bonne qualité (OR= 1,12 [1,01-1,28] $p<0,05$).

Concernant les étiologies obstructives de l'azoospermie, les patients ayant une ABCD sans mucoviscidose associée avaient plus de chance d'avoir une MESA positive et de qualité satisfaisante (OR : 1,88 [1,12-3,24] ; $p=0,02$).

Au contraire, l'existence d'une mucoviscidose clinique, était associée à une diminution des chances d'obtenir une extraction épидидymaire de qualité satisfaisante (OR : 0,35 [0,19-0,64] $p<0,001$). Les facteurs de risque d'azoospermie non obstructive (cryptorchidie, varicocèle) n'étaient pas associés à une diminution des chances d'extraction.

Après analyse multivariée, seul l'antécédent de mucoviscidose était prédictif des chances d'extraction épидидymaire (OR=0,42 [0,21-0,82] $p=0,01$).

Tableau 2 : Facteurs clinico-biologiques associés à une extraction épидидymaire de bonne qualité dans l'azoospermie obstructive

Variables	Analyses univariées			Analyses multivariées		
	OR	IC 95%	P-value	OR	IC 95%	P-value
Patients et profil hormonal :						
Age (années)	0,99	[0,96 ; 1,04]	0,97			
Volume testiculaire total (mL)	0,99	[0,97 ; 1,02]	0,72			
FSH (UI/L)	0,93	[0,83 ; 1,05]	0,22			
Testostérone totale (ng/mL)	1,03	[0,89 ; 1,21]	0,66			
Inhibine B (pg/mL)*	1,12	[1,01 ; 1,28]	p<0,05	1,10	[0,98 ; 1,25]	0,13
Indication MESA :						
ABCD hors mucoviscidose	1,88	[1,12 ; 3,24]	0,02	1,29	[0,71 ; 2,36]	0,40
Mucoviscidose	0,35	[0,19 ; 0,64]	p<0,001	0,42	[0,21 ; 0,82]	0,01
AUCD	2,03	[0,86 ; 5,59]	0,13			
Malformation rénale	0,55	[0,22 ; 1,48]	0,22			
Malformation uro-génitale	3,91	[0,72 ; 72,64]	0,20			
Antécédent de chirurgie inguinale	0,74	[0,36 ; 1,62]	0,44			
Dilatation épидидymaire	1,10	[0,66 ; 1,88]	0,72			
Kyste(s) épидидymaire(s)	0,86	[0,41 ; 1,92]	0,71			
Antécédents infection uro-génitale	0,83	[0,31 ; 2,46]	0,72			
Antécédent de torsion ou traumatisme testiculaire	1,88	[0,59 ; 8,34]	0,34			
Biochimie séminale anormale de manière isolée	0,69	[0,25 ; 2,07]	0,48			
Autres antécédents :						
Cryptorchidie	1,37	[0,52 ; 4,31]	0,55			
Varicocèle	1,43	[0,62 ; 3,73]	0,43			

Les données sont exprimées en OR avec IC à 95% et p-value

* augmentation de 30 unités

Les patients atteints de mucoviscidose ayant des chances d'extraction en MESA plus faibles, nous avons souhaité vérifier s'il existait des différences de profils clinico-biologiques entre les patients ABCD hors mucoviscidose et ABCD atteints de mucoviscidose concernant leur bilan clinico-biologique et comparer les résultats d'extraction chirurgicale.

Les patients atteints de mucoviscidose étaient significativement moins âgés au moment de l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes par rapport aux patients du groupe ABCD hors mucoviscidose ($27,2 \pm 3,3$ versus $32,4 \pm 5,2$ années respectivement ; $p < 0,0001$). Les hommes souffrant de mucoviscidose présentaient une concentration moyenne de FSH significativement plus élevée ($4,4$ UI/L $\pm 2,0$) par rapport aux hommes ABCD sans mucoviscidose ($3,4$ UI/L $\pm 2,0$; $p < 0,01$). La concentration moyenne d'inhibine B était significativement plus basse ($165,7$ pg/mL $\pm 55,3$) chez patients atteints de mucoviscidose comparés aux patients ABCD sans mucoviscidose ($199,1$ pg/mL $\pm 80,0$; $p < 0,01$). Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes de patients pour le volume testiculaire total, les concentrations de LH et de testostérone totale.

Concernant les résultats de l'extraction chirurgicale des spermatozoïdes : les chances d'obtenir une extraction de qualité étaient plus élevées chez les patients ABCD par rapport aux patients atteints de mucoviscidose ($77,9\%$ versus $50,9\%$ respectivement ; $p < 0,001$). En effet, la concentration moyenne en spermatozoïdes du prélèvement épидидymaire était significativement plus élevée dans le groupe ABCD hors mucoviscidose par rapport au groupe mucoviscidose ($45,1 \pm 64,4$ versus $23,2 \pm 45,5$ millions/mL respectivement ; $p < 0,05$). En revanche, il n'existait pas de différence significative entre les deux groupes de patients en ce qui concerne la mobilité et la vitalité spermatique du prélèvement épидидymaire. Nous avons également observé une proportion significativement plus importante d'échec complet d'extraction épидидymaire (absence de congélation de spermatozoïdes épидидymaires) chez les patients atteints de mucoviscidose par rapport aux patients atteints d'ABCD sans mucoviscidose ($23,6\%$ versus $8,2\%$ respectivement ; $p < 0,01$). Ce qui représentait près d'un quart d'échec d'extraction épидидymaire chez les patients atteints de mucoviscidose.

Lorsqu'une TESE a été réalisée, les chances d'extractions n'étaient significativement pas différentes entre les deux groupes (100% chez les ABCD versus $92,6\%$ chez les patients atteints de mucoviscidose, $p = 0,5$).

Tableau 3 : Comparaison de caractéristiques clinico-biologiques et données de l'extraction entre les patients ayant une ABCD et ceux atteints de mucoviscidose

Variables	ABCD hors mucoviscidose n=122	mucoviscidose n= 55	P-value
Patients et profil hormonal :			
Age (années)	32,35 ± 5,15	27,18 ± 3,29	p<0,0001
Volume testiculaire total (mL) ¹	33,16 ± 8,94	30,95 ± 9,04	p= 0,14
FSH (UI/L)	3,39 ± 1,95	4,36 ± 2,03	p<0,01
LH (UI/L) ²	3,09 ± 1,25	3,37 ± 1,86	p= 0,33
Testostérone totale (ng/mL) ³	4,80 ± 1,77	4,56 ± 1,18	p= 0,27
Inhibine B (pg/mL) ⁴	199,09 ± 79,95	165,74 ± 55,27	p<0,01
Résultats de l'extraction chirurgicale :			
Extraction épидидymaire positive et de bonne qualité*	77,87% (95/122)	50,91% (28/55)	p<0,001
Concentration prélèvement épидидymaire (millions de spermatozoïdes/mL) ⁵	45,12 ± 64,44	23,21 ± 45,45	p<0,05
Mobilité prélèvement épидидymaire (%) ⁶	27,73 ± 18,61	22,81 ± 17,02	p= 0,13
Vitalité prélèvement épидидymaire (%) ⁷	57,61 ± 21,08	55,94 ± 22,66	p= 0,72
Echec d'extraction épидидymaire	8,2% (10/122)	23,64% (13/55)	p<0,01
Extraction testiculaire positive	100% (26/26)	92,59% (25/27)	p=0,49

Les données sont exprimées en moyenne ± écart type et en pourcentage ; n=177 ; ¹données manquantes = 4(ABCD) ; ²données manquantes = 25(ABCD) vs 3(mucoviscidose) ; ³données manquantes = 1(ABCD) ; ⁴données manquantes = 4(ABCD) vs 1(mucoviscidose) ; ⁵données manquantes = 15(ABCD) vs 1(mucoviscidose) ; ⁶données manquantes = 11(ABCD) ; ⁷données manquantes = 24(ABCD) vs 10(mucoviscidose) ; *De bonne qualité : absence de biopsie testiculaire concomitante.

Ces résultats indiquant une qualité d'extraction moindre chez le patient atteint de mucoviscidose, nous avons donc souhaité vérifier s'il existait des différences de profils et de qualité d'extraction chez les patients présentant la mutation la plus fréquemment rencontrée dans la mucoviscidose (homozygote $\Delta F508$). Nous avons donc comparé les données clinico-biologiques en incluant les facteurs de gravité, les comorbidités ainsi que les résultats de l'extraction chirurgicale entre les patients atteints de mucoviscidose avec mutation hétérozygote composite et ceux présentant la mutation $\Delta F508$ à l'état homozygote (tableau 4).

Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les deux groupes concernant l'âge moyen des patients au moment de la chirurgie, l'IMC moyen, le volume testiculaire total moyen, la concentration moyenne de FSH, de testostérone totale, ni d'inhibine B. Concernant les comorbidités associées, le pourcentage d'HbA1c et la concentration moyenne de TSH était significativement plus élevés dans le groupe homozygotes $\Delta F508$ comparativement aux patients présentant des mutations hétérozygotes composites (5,7% [5,45;5,90] versus 5,4% [5,23;5,57] ; $p < 0,05$ et 2,06 $\mu\text{UI/mL}$ [1,60;3,34] versus 1,39 $\mu\text{UI/mL}$ [1,11;2,08] ; $p < 0,01$) respectivement.

Les variables VEMS, insuffisance pancréatique, diabète/intolérance glucidique, insuffisance rénale, colonisation chronique à *P.Aeruginosa*, aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), la prise d'antibiotique par voie intra veineuse dans l'année précédant l'acte chirurgical, la prise chronique d'antibiotiques, de corticoïdes ou d'azolés n'étaient pas significativement différentes entre les deux groupes.

Concernant les résultats d'extraction chirurgicale de spermatozoïdes :

Les patients homozygotes $\Delta F508$ présentaient un risque d'échec d'extraction épидидymaire plus élevé que les patients hétérozygotes composite (40,0% versus 14,3% respectivement ; $p < 0,05$). En revanche il n'a pas été mis en évidence de différences significatives entre les deux groupes concernant la qualité de l'extraction lorsqu'elle était possible en particulier concernant la concentration spermatique, la mobilité et la vitalité.

Tableau 4 : Comparaison des caractéristiques clinico-biologiques et des résultats d'extraction chirurgicale dans la population atteinte de mucoviscidose selon le résultat du génotypage

variables	patients mucoviscidose avec mutation hétérozygote composite n=35	patients mucoviscidose avec mutation homozygote ΔF508 n=20	P-value
Bilan patient azoospermique :			
Age (années)	27,63 ± 2,97	26,4 ± 3,75	p= 0,22
IMC (Kg/m ²) ⁶	21,90 [19,42 ; 24,20]	20,80 [18,90 ; 22,05]	p= 0,19
Volume testiculaire total (mL)	31,45 ± 8,57	30,06 ± 9,97	p= 0,60
FSH (UI/L)	4,66 ± 2,19	3,85 ± 1,65	p= 0,13
Testostérone totale (ng/mL)	4,63 [3,71 ; 5,28]	4,32 [3,67 ; 5,22]	p= 0,67
Inhibine B (pg/mL) ¹	163,26 ± 50,74	169,95 ± 63,40	p= 0,69
Bilan patient mucoviscidose :			
HbA1c (%) ⁹	5,40 [5,23 ; 5,57]	5,70 [5,45 ; 5,90]	p<0,05
TSH (μUI/mL) ⁷	1,39 [1,11 ; 2,08]	2,06 [1,60 ; 3,34]	p<0,01
VEMS (%) ⁹	71,00 [44,75 ; 89,00]	64,00 [41,00 ; 83,00]	p= 0,54
Insuffisance pancréatique ¹⁰	77,78% (21/27)	73,33% (11/15)	p= 1,00
Diabète / Intolérance glucidique ¹³	21,43% (6/28)	47,06% (8/17)	p= 0,10
Insuffisance rénale ¹⁴	13,33% (4/30)	12,50% (2/16)	p= 1,00
Colonisation chronique à <i>P.Aureginosa</i> ¹¹	51,85% (14/27)	61,54% (8/13)	p= 0,81
Aspergillose Broncho Pulmonaire Allergique (ABPA) ¹²	15,38% (4/26)	30,77% (4/13)	p= 0,40
Prise d'ATB IV dans l'année précédent la chirurgie ¹⁵	39,29% (11/28)	46,15% (6/13)	p= 0,94
Prise chronique d'ATB per os ¹⁶	30,77% (8/26)	64,29% (9/14)	p= 0,05
Prise chronique de corticoïdes (voie inhalée et per os) ¹³	39,29% (11/28)	64,71% (11/17)	p= 0,13
Prise chronique d'azolés ¹⁷	21,43% (6/28)	28,57% (4/14)	p= 0,71
Résultats de l'extraction chirurgicale :			
Extraction épидидymaire positive et de bonne qualité*	60,00% (21/35)	35,00% (7/20)	p= 0,13
Concentration prélèvement épидидymaire (millions de spermatozoïdes/mL) ²	8,00 [1,10 ; 37,50]	1,30 [0,00 ; 8,50]	p= 0,08
Mobilité prélèvement épидидymaire (%)	20,00 [10,00 ; 30,00]	17,50 [5,00 ; 40,00]	p= 0,83
Vitalité prélèvement épидидymaire (%) ³	60,00 [50,00 ; 80,00]	50,00 [30,00 ; 70,00]	p= 0,24
Echec d'extraction épидидymaire	14,29% (5/35)	40,00% (8/20)	p<0,05
Extraction testiculaire positive	85,71% (12/14)	100,00% (13/13)	p= 0,48
Mobilité extraction testiculaire (%) ⁴	20,00 [15,00 ; 25,00]	20,00 [10,00 ; 25,00]	p= 0,59
Vitalité extraction testiculaire (%) ⁵	67,50 [50,00 ; 77,50]	60,00 [50,00 ; 60,00]	p= 0,30

Les données sont exprimées en moyenne ± écart type, en médiane [Q1;Q3], et en pourcentage ; n=55 ; ¹données manquantes = 1(htz) ; ²données manquantes = 1(hmz) ; ³données manquantes = 9(htz) vs 1(hmz) ; ⁴données manquantes = 2(htz) vs 2(hmz) ; ⁵données manquantes = 4(htz) vs 4(hmz) ; ⁶données manquantes = 7(htz) vs 5(hmz) ; ⁷données manquantes = 13(htz) vs 7(hmz) ; ⁸données manquantes = 13(htz) vs 6(hmz) ; ⁹données manquantes = 5(htz) vs 3(hmz) ; ¹⁰données manquantes = 8(htz) vs 5(hmz) ; ¹¹données manquantes = 8(htz) vs 7(hmz) ; ¹²données manquantes = 9(htz) vs 7(hmz) ; ¹³données manquantes = 7(htz) vs 3(hmz) ; ¹⁴données manquantes = 5(htz) vs 4(hmz) ; ¹⁵données manquantes = 7(htz) vs 7(hmz) ; ¹⁶données manquantes = 9(htz) vs 6(hmz) ; ¹⁷données manquantes = 7(htz) vs 6(hmz) ; *De bonne qualité : absence de biopsie testiculaire concomitante.

Suite à l'analyse univariée (tableau 5), seule la mutation $\Delta F508$ était significativement prédictive d'un échec d'extraction épидидymaire. Aucun des autres facteurs clinico-biologiques liés à l'état de sévérité clinique des patients atteints de mucoviscidose n'était significativement associé à un échec d'extraction épидидymaire.

Tableau 5 : Facteurs clinico-biologiques associés à un échec d'extraction épидидymaire chez les patients atteints de mucoviscidose

Variables	Analyses univariées		
	OR	IC 95%	P-value
Bilan patient mucoviscidose :			
IMC (Kg/m ²)	1,00	[0,77 ; 1,28]	0,99
HbA1c (%)	0,97	[0,26 ; 2,90]	0,96
TSH (μ UI/mL)	1,32	[0,74 ; 2,47]	0,34
VEMS (%)	0,99	[0,96 ; 1,02]	0,36
Insuffisance pancréatique	1,57	[0,31 ; 11,71]	0,61
Diabète / Intolérance glucidique	1,90	[0,46 ; 7,64]	0,36
Insuffisance rénale	1,72	[0,21 ; 10,45]	0,57
Colonisation chronique à <i>P.Areuginosa</i>	1,31	[0,31 ; 6,04]	0,71
Aspergillose Broncho Pulmonaire Allergique (ABPA)	0,96	[0,12 ; 5,23]	0,96
Prise d'ATB IV dans l'année précédent la chirurgie	1,25	[0,30 ; 5,10]	0,75
Prise chronique d'ATB per os	0,87	[0,19 ; 3,71]	0,85
Prise chronique de corticoïdes (voie inhalée et per os)	1,68	[0,45 ; 6,74]	0,45
Prise chronique d'azolés	0,64	[0,09 ; 3,20]	0,61
Mutation homozygote $\Delta F508$	4,00	[1,11 ; 15,70]	<0,05
Inhibine B (pg/mL)	0,99	[0,98 ; 1,00]	0,21

Les données sont exprimées en OR avec IC à 95% et p-value

* augmentation de 30 unités

IV. Discussion :

Nous avons mis évidence dans ce travail des taux d'extraction de 88.78% par MESA dans l'azoospermie obstructive. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature (62,66). Cependant, l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes n'est pas la seule option pour permettre l'obtention d'une grossesse. En effet, en cas d'AO, une reconstruction microchirurgicale peut être envisagée sous certaines conditions pour offrir la possibilité d'une conception naturelle. Cette technique offre plusieurs avantages : elle permet la sélection naturelle des spermatozoïdes, elle évite les risques associés à la réalisation de l'ICSI ultérieurement (hyperstimulation ovarienne, grossesses multiples, et prématurité associée) et est moins couteuse que l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes associée à l'ICSI (67,68).

A. Alternative thérapeutique : la reconstruction microchirurgicale :

La reconstruction microchirurgicale peut se faire soit par vaso-vasostomie soit par vaso-épididymostomie (67).

- La vaso-vasostomie est utilisée pour reverser l'effet de la vasectomie, elle consiste à rétablir chirurgicalement la perméabilité du canal déférent en reconnectant les extrémités des canaux déférents qui ont été sectionnés pour permettre à nouveau le passage des spermatozoïdes.

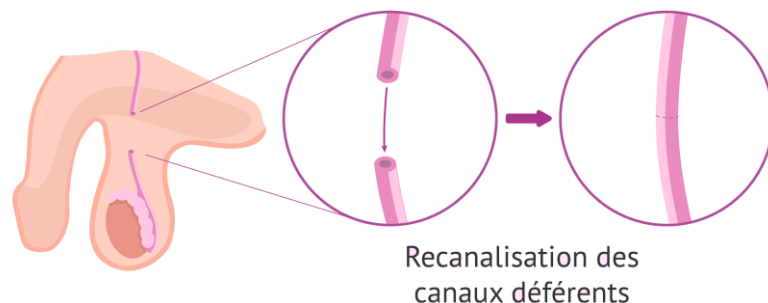


Figure 18 : Schéma de la vaso-vasostomie (Invitra©) (69)

- La vaso-épididymostomie est utilisée lorsqu'il existe une obstruction épидидymaire. Elle consiste à réaliser chirurgicalement une anastomose entre le canal déférent et le conduit épидидymaire pour restaurer le passage des spermatozoïdes. Cette technique reste parmi les procédures microchirurgicales les plus difficiles techniquement en urologie. Elle peut être réalisée en parallèle de l'extraction chirurgicale par MESA ou TESE mais également en deuxième intention après échec d'ICSI avec utilisation de spermatozoïdes chirurgicaux (70).

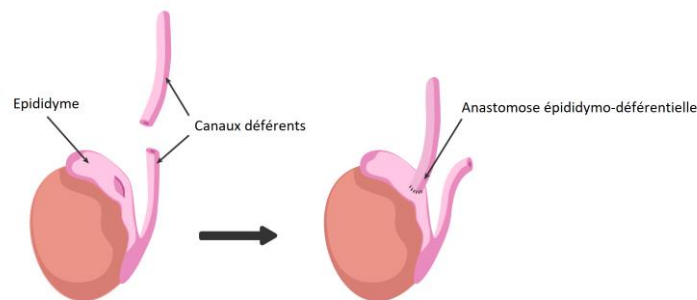


Figure 19 : Schéma de la vaso-épididymostomie (Invitra©) (71)

Ces techniques peuvent-être proposées chez les patients azoospermes avec antécédent de vasectomie, agénésie unilatérale des canaux déférents, épидидymite obstructive, lésion iatrogène suite à une chirurgie inguinale. Cependant en cas d'agénésie bilatérale des canaux déférents ou d'obstruction intra testiculaire l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes suivi de la réalisation d'une ICSI reste la seule option thérapeutique (67,68). Plusieurs facteurs influenceraient potentiellement le succès de la reperméabilisation : l'âge du patient mais aussi l'intervalle de temps entre la survenue de l'obstruction et l'intervention permettant la reperméabilisation.

Dans le cas de la vaso-épididymostomie, une méta-analyse publiée en 2018 rapporte que : les chances de succès ne sont pas garanties avec un taux de reperméabilisation global de 64,1% et un délai moyen de reperméabilité compris entre 2,8 à 9,6 mois. Après vaso-épididymostomie les chances de grossesses sont estimées à 31,1% (68). Les chances de grossesses après reperméabilisation sont donc similaires à celles observées après extraction chirurgicale de spermatozoïdes épидидymaires associée à une tentative l'ICSI (70). Cependant, il faut noter que dans ce cas, plus de la moitié des couples auront besoin de deux cycles d'ICSI ou plus (70).

Concernant la vaso-vasostomie, une méta analyse de 2015 rapporte des taux moyen de reperméabilité post-intervention et de grossesse de 89,4% et 73,0% respectivement. Les patients dont la durée d'obstruction était inférieure à 10 ans présentaient des taux de reperméabilisation et des taux de grossesse plus élevés (72).

Le choix de l'une ou l'autre de ces techniques peut se décider en pré-opératoire selon l'indication, la durée de l'obstruction, l'âge, et selon le nombre d'interventions chirurgicales antérieures ayant déjà eu lieu dans cette même région anatomique. Mais aussi en extemporané par le biologiste selon la qualité (nombre et mobilité) des spermatozoïdes observés pendant le bloc opératoire. (67,73)

Dans tous les cas, le délai permettant la reperméabilisation étant de plusieurs mois et celle-ci n'étant pas garantie, il existe un intérêt de la MESA/TESE dans le même temps opératoire que la reperméabilisation afin de réduire le délai permettant l'obtention d'une grossesse.

B. Intérêt de la MESA par rapport à la TESE :

Dans les cas d'azoospermie obstructive, la littérature est controversée concernant l'abord chirurgical entre la biopsie testiculaire et l'extraction épидидymaire (57,66,67). La MESA présente plusieurs avantages : elle permet d'extraire une quantité plus importante de spermatozoïdes puisqu'ils sont beaucoup plus concentrés dans l'épididyme que dans le testicule. Ceci permet d'assurer la congélation d'un nombre plus important de pailles et d'éviter d'avoir recours à des chirurgies ultérieures en cas d'échec d'ICSI (62,66). De plus les spermatozoïdes présentent une meilleure mobilité au niveau épидидymaire qu'au niveau testiculaire. Il est néanmoins conseillé d'extraire les spermatozoïdes au niveau de l'épididyme proximal afin éviter une exposition trop importante aux radicaux libres pouvant être responsable d'une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique (66). Selon certains auteurs, il existe malgré tout un inconvénient à l'abord épидидymaire : cette procédure opératoire est plus chronophage pour le biologiste qu'une biopsie testiculaire et de réalisation plus difficile pour le chirurgien (66).

Dans les centres pratiquant des MESA, lorsque celle-ci ne permet pas d'obtenir un nombre suffisant de spermatozoïdes mobiles ou lorsque celle-ci se solde par un échec, une TESE complémentaire est réalisée dans le même temps opératoire.

Il est communément admis que la qualité spermatique est un facteur essentiel dans l'obtention d'une grossesse par technique d'ICSI (65).

Ainsi d'après plusieurs auteurs, la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes pourrait refléter leur qualité (74,75). Néanmoins, l'impact de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes sur les résultats de l'ICSI est encore sujet à débat dans la littérature.

Dans une étude française publiée en 2017, les auteurs ont mis en évidence que les spermatozoïdes testiculaires présentaient des taux de fragmentation significativement plus faibles que les spermatozoïdes épидидymaires qu'ils soient extraits au niveau de la tête ou du corps de l'épididyme (6.71% versus, 14.86% $p < 0.007$ et 32.661% $p < 0.0001$ respectivement) et ceci quelle que soit la cause de l'azoospermie obstructive (57). De plus, la fragmentation de l'ADN était significativement plus élevée en cas d'extraction épидидymaire distale (au niveau du corps) par rapport à une extraction plus proximale (au niveau de la tête). Cependant, cette étude portait sur un petit effectif (21 patients), et aucune différence n'a été mise en évidence concernant les taux de naissances vivantes entre les ICSI réalisées avec des spermatozoïdes testiculaires et des spermatozoïdes épидидymaires (65).

Par ailleurs, l'obtention d'une grossesse dépend de facteurs masculins et féminins, en effet les dommages potentiels de l'ADN spermatique peuvent être réparés par l'ovocyte, ce qui pourrait expliquer les résultats contradictoires rapportés par les différentes études sur la relation entre le taux de fragmentation de l'ADN et les chances de grossesse (65,76).

C. Résultats d'ICSI après MESA ou TESE :

Les comparaisons des résultats de l'ICSI utilisant des spermatozoïdes épидидymaires par rapport aux spermatozoïdes testiculaires ont mis en évidence des résultats contradictoires :

- Certaines études sur des patients atteints d'AO (quelle que soit l'étiologie considérée) ont montré que les résultats de l'ICSI étaient similaires pour les spermatozoïdes testiculaires et épидидymaires (55)(77).
- En revanche, d'autres chercheurs ont découvert que l'utilisation de spermatozoïdes testiculaires était associée à des taux d'implantation plus élevés que pour les spermatozoïdes épидидymaires (78). Une méta analyse récente a confirmé ces résultats et mettait en évidence que l'utilisation de spermatozoïdes testiculaires était associée à une augmentation des chances d'implantation embryonnaire (OR = 1,58, p= 0,02). Cependant aucune différence significative n'a été constatée concernant les taux de grossesse et de fausse couche entre ICSI avec spermatozoïdes testiculaires et épидидymaires (79).
- Au contraire, d'autres études montrent que l'utilisation de spermatozoïdes épидидymaires est associée à des taux de naissances vivantes plus élevés. C'est le cas d'une large étude rétrospective réalisée entre 2000 et 2009 comparant les issues de tentatives après MESA-ICSI (n=280) et TESE-ICSI (n=94). Des chances de naissances vivantes plus élevées étaient observés en cas d'utilisation de spermatozoïdes épидидymaires (39% versus 24% respectivement ; p=0.011). De plus, les cycles MESA-ICSI avaient également donné lieu à des taux d'implantation et à des taux de grossesse clinique significativement plus élevés que les cycles TESE-ICSI (66). Fait intéressant, après analyse multivariée incluant les paramètres féminins (âge de la partenaire au moment de la ponction ovocytaire, nombre d'ovocytes obtenus), l'utilisation de spermatozoïdes épидидymaires restait un facteur prédictif des chances de grossesses évolutives après ICSI (OR=1.82, p=0.01).

- Dans une autre étude, les auteurs ont montré que les taux de fécondation et les taux de grossesses cliniques débutantes n'étaient pas statistiquement différents entre les TESE-ICSI et les MESA-ICSI alors que l'utilisation de spermatozoïdes testiculaires était associée à des taux de fausse couche spontané plus élevés par rapport aux spermatozoïdes épидидymaires (35,7 % contre 12,5 % $P < 0,05$) (64).
- Des taux de fécondation, et de blastoformation utile (embryons de bonne qualité obtenus au 5^{ème} jour de développement embryonnaire) plus élevés avec la MESA-ICSI ont également été rapportés par d'autres auteurs (80).

Les auteurs émettent l'hypothèse que bien que les spermatozoïdes testiculaires soient capables de féconder normalement les ovocytes après ICSI (comme l'atteste le nombre moyen d'embryons obtenus après ICSI qui n'était pas significativement différent entre les 2 groupes), ils ne seraient pas en mesure d'assurer un développement embryonnaire optimal par la suite. Selon cette étude, la maturation épидидymaire contribuerait au bon développement embryonnaire notamment en réduisant le risque d'aneuploïdies chromosomiques par rapport à l'utilisation de spermatozoïdes testiculaires (66). Cependant, cette hypothèse semble contredite par une étude récente (2019) mettant en évidence un taux d'euploïdie similaire dans les blastocystes issus de TESE-ICSI et MESA-ICSI.

Au final, ces résultats sont contradictoires mais semblent indiquer que l'utilisation de spermatozoïdes épидидymaires pourrait permettre de meilleures chances de naissances vivantes en cas d'azoospermie obstructive ou à minima l'obtention d'un plus grand nombre d'embryons de bonne qualité au 5^{ème} jour. Mais ces résultats sont à confirmer par de plus grandes séries avec des analyses portant sur les taux de grossesses cumulées (issues de cycles frais+ congelés). On peut cependant noter que ces études présentent le plus souvent des biais avec notamment la réalisation de la TESE-ICSI en cas d'échec de l'extraction épидидymaire, ce qui peut laisser suggérer des spermatozoïdes de moindre qualité dans ce cas ou une part sécrétoire associée (non-obstructive) (66,80).

Les étiologies de l'azoospermie obstructive pouvant être variées et faisant intervenir des mécanismes physiopathologiques différents, se pose la question de l'influence de l'origine de l'obstruction (ABCD congénitale ou acquise, épидидymaire) sur les résultats de l'ICSI.

D. Résultats de l'extraction chirurgicale et d'ICSI en fonction de l'étiologie de l'azoospermie obstructive :

Plusieurs études ont cherché à évaluer si l'étiologie de l'AO influençait les résultats de l'ICSI :

- L'équipe de Lu et al. avait observé des taux de naissances vivantes plus faibles chez les hommes atteints d'ABCD par rapport aux patients avec une azoospermie obstructive sans ABCD. De la même manière, les taux de fausses couches et d'enfants mort-nés par embryon transféré étaient plus élevés dans ce groupe (81).

- Une méta analyse de 2021 rapporte cependant que l'origine de l'AO (acquise ou congénitale) n'a pas d'influence sur les résultats de l'ICSI (taux de fécondation, taux de grossesse, taux de naissance vivante) (82). Ces résultats étaient également confortés par d'autres auteurs (55).

- Une autre récente étude (2021) menée par Mc Bride a cherché à comparer rétrospectivement les altérations génétiques, les chances d'extraction chirurgicale de spermatozoïdes et les résultats d'ICSI chez les hommes atteints de mucoviscidose (n=10) par rapport aux hommes atteints d'ABCD uniquement (n=29). Ils ont montré que la qualité de l'extraction chirurgicale (concentration et nombre total de spermatozoïdes mobiles) était significativement plus faible dans le groupe mucoviscidose que dans le groupe ABCD (14,8 millions/mL vs 61,4 millions/mL $p=0,02$ et 2,9 millions vs 11,4 millions $p=0,01$ respectivement). Le groupe mucoviscidose présentait un taux significativement plus élevé de réalisation de TESE complémentaire après MESA insuffisante (70,0% vs 27,6%, $p<0,03$). Après ICSI, des taux de fécondation inférieurs étaient rapportés (32,5 % vs 68,9% respectivement, $p< 0,01$) (43).

Il en a été de même pour notre étude : nos résultats ne montrent pas de différences significatives dans les résultats d'extraction épидидymaire selon l'indication de la MESA hormis chez les hommes ayant une ABCD associée à une mucoviscidose.

En effet nous avons retrouvé plus de risque d'échec d'extraction épидидymaire chez les patients ayant une mucoviscidose comparativement aux patients ayant une ABCD sans mucoviscidose associée (23.7% versus 8,2% respectivement ; $p < 0,01$) ; il était donc plus fréquent de réaliser chez ces patients une TESE. De plus même si la MESA était positive, la concentration en spermatozoïde était significativement plus faible chez les patients souffrants de mucoviscidose par rapport aux patients ABCD (23,2 versus 45,1 millions/mL respectivement, $p < 0,05$) et pouvait donc entraîner la réalisation d'une TESE complémentaire. La mobilité et la vitalité avaient également une tendance à être moins élevées chez ces patients mais pas de manière significative. Ces résultats pourraient donc avoir une influence sur le dénouement de l'ICSI.

De plus que ce soit pour l'équipe de Lu et al. ou celle de Mc Bride et al., les résultats obtenus semblaient être liés aux mutations du gène CFTR. Dans l'étude de Mc Bride et al., la mutation homozygote $\Delta F508$ était significativement associée à une plus faible concentration en spermatozoïdes par rapport aux patients portant d'autres mutations ($p < 0,05$) (43).

Dans notre étude les patients atteints de mucoviscidose avec mutation homozygote $\Delta F508$ présentaient un risque plus élevé d'avoir un échec d'extraction testiculaire que les patients mucoviscidose avec mutation hétérozygote composite (40,0% vs 14,3% ; $p < 0,05$), avec un risque quatre fois plus élevé d'avoir un échec d'extraction épидидymaire par rapport aux patients porteur d'une mutation hétérozygote composite (OR=4 [1,11-15.70], $p < 0,05$). Cependant, hormis l'homozygotie $\Delta F508$, aucun des autres facteurs clinico-biologiques n'était prédictif d'un échec d'extraction épидидymaire.

Concernant la qualité de l'extraction on ne met pas en évidence de différence significative en termes de concentration spermatique chez les patients mutés homozygotes $\Delta F508$ comparativement aux patients porteurs de mutations hétérozygote composite (1,3 versus 8,0 millions/mL $p = 0,08$) néanmoins ce résultat souffre d'un manque de puissance statistique.

Ainsi la présence ou l'absence de mutations du gène codant la protéine CFTR, ainsi que le type de mutation retrouvé, pourraient être corrélés avec les taux de fécondation et de grossesse.

Afin de déterminer quelle mutation pouvait avoir l'effet le plus délétère sur les résultats de l'ICSI, des chercheurs ont répartis les patients en fonction de leur mutation en trois groupes. Le groupe 1 (n=21) était composé des patients avec la mutation $\Delta F508$, le groupe 2 (n=18) était formé des patients ayant diverses autres mutations (par exemple $\Delta F508/R117H$; $R553X/R117H$; $R117H/R117H$), et le groupe 3 (n=21) comprenait les patients ou aucune mutation n'avait pu être mise en évidence parmi les 12 mutations les plus répandues. Les résultats avaient mis en évidence des taux de fécondation et de grossesse significativement plus faibles par patient dans le groupe 1, comparativement aux groupes 2 et 3 (83).

Ces résultats n'avaient cependant pas été confirmés par une autre étude : aucune différence significative entre les taux de fécondation et les taux de grossesse par ICSI chez les hommes avec mise en évidence d'au moins une mutation du gène CFTR par rapport aux hommes sans mutation détectée n'avait été rapportée (84).

En effet Lu et al. ont rapporté des taux de fausses couches et d'enfant mort-né qui étaient plus élevés chez les hommes ABCD présentant des mutations du gène CFTR que chez ceux ne présentant pas de mutations du gène CFTR (81).

L'existence d'une ABCD n'est pas obligatoirement synonyme d'une spermatogenèse normale. En effet, il a été montré dans une étude précédente réalisée dans notre centre que la spermatogenèse pouvait être altérée dans 12 à 35% des cas (55). Cependant, nous n'avions à l'époque pas mis en évidence de lien entre l'existence d'une mutation du gène CFTR et un défaut de spermatogenèse à l'examen histologique lorsque la TESE était réalisée (55).

Comme le processus de spermatogenèse est sous contrôle hormonal, le profil hormonal (en particulier les dosages de FSH et d'inhibine B) peut permettre d'apprécier l'état de la spermatogenèse (85).

Bien que les concentrations de FSH et d'inhibine B soient faiblement prédictives des chances de succès d'une extraction testiculaire de spermatozoïdes dans l'azoospermie non obstructive, leurs taux permettent de discriminer une AO (concentrations normales de FSH et d'inhibine B) d'une ANO où la concentration de FSH sera plus élevée associée une concentration d'inhibine B abaissée. En effet, l'inhibine B est un marqueur fonctionnel direct des cellules de Sertoli et de la spermatogenèse (86). Les taux sériques d'inhibine B sont significativement plus faibles en cas d'altération de la spermatogenèse et sont corrélés à la concentration spermatique (85). Au contraire, la concentration de FSH (sous dépendance du rétrocontrôle hypophysaire par l'inhibine B) est inversement corrélée au nombre de cellules germinales présentes dans les tubes séminifères.

Ainsi, les dosages hormonaux seraient un reflet de la qualité de la spermatogenèse et permettrait d'évoquer dans certains cas une origine mixte à l'azoospermie.

Notre étude met en évidence des concentrations moyennes de FSH significativement plus élevés et d'inhibine B plus basses (mais toutefois dans les normes) chez les patients atteints de mucoviscidose par rapport aux patients présentant uniquement une ABCD ; ce qui peut suggérer une atteinte de la spermatogenèse à minima dans la mucoviscidose, pouvant expliquer la diminution de la qualité de l'extraction épидидymaire chez ces patients.

E. L'impact des nouvelles thérapeutiques dans la mucoviscidose sur la spermatogenèse :

Les modulateurs de CFTR sont les premiers traitements étiologiques de la mucoviscidose. Ce sont des thérapies de précision ciblant des défauts protéiques spécifiques qui varient selon les mutations. Ils comprennent des correcteurs (Elexacaftor®, Lumacaftor®, Tézacaftor®) qui facilitent la maturation et le transport intracellulaire de la protéine pour augmenter son expression membranaire, et des potentiateurs (Ivacaftor®) qui ont pour rôle d'augmenter la fréquence d'ouverture du canal CFTR pour permettre le passage des ions chlorure (87).

Les données de sécurité précliniques décrivent un potentiel impact de ces molécules sur la fertilité :

- Concernant l'Elexacaftor® : la dose sans effet nocif observé pour la fertilité chez le rat était inférieure à 2 fois la dose maximale recommandée chez l'homme. Il a été observé chez le rat, aux doses supérieures à la dose maximale tolérée, une dégénérescence et une atrophie des tubes séminifères, corrélées à une oligospermie/aspermie et à la présence de débris cellulaires dans les épидидymes. Il en est de même chez le chien, à une dose 14 fois supérieure à la dose maximale recommandée chez l'homme. La signification éventuelle de ces observations pour l'homme n'est à l'heure actuelle pas connue (88).
- Concernant les autres molécules : les données issues des études conventionnelles de pharmacologie de sécurité, toxicologie en administration répétée, génotoxicité et cancérogenèse n'ont pas révélé de risque particulier pour l'homme (88).

Des études de phase III sont actuellement en cours pour évaluer l'efficacité et la sécurité de ces molécules chez les patients atteints de mucoviscidose.

Une récente étude décrit des douleurs testiculaires après l'initiation de l'Elexacaftor® / Tezacaftor® / Ivacaftor® chez les hommes atteints de mucoviscidose. Elle fait état de douleurs ou de gênes testiculaires au cours des deux premières semaines suivant l'initiation du traitement chez 7 hommes âgés de 17 à 39 ans. Il a été mis en évidence chez un de ces patients une torsion testiculaire ainsi qu'un cancer testiculaire chez un autre. Le mécanisme précis de cet effet secondaire reste inconnu, mais les auteurs émettent l'hypothèse d'une potentielle restauration de la fonction CFTR dans l'appareil reproducteur masculin qui serait à l'origine de ces douleurs (89).

Dans notre étude nous avons trois patients sous traitement par modulateur de CFTR, nous n'avons pas noté de différence significative dans l'analyse du sperme (volume, pH) avant et après initiation du traitement. En effet ces thérapies sont récentes et nous n'avons pas à l'heure actuelle le recul nécessaire.

Des études prospectives futures seront nécessaires pour déterminer l'influence à court et à long terme de ces nouvelles thérapies sur la fertilité masculine, et donc sur les chances d'extraction chirurgicale de spermatozoïdes chez ces patients.

V. Conclusion :

Bien que notre étude souffre de plusieurs limites inhérentes à son caractère rétrospectif, notre large cohorte de 295 patients avec notamment 55 patients atteints de mucoviscidose ayant bénéficié d'une extraction chirurgicale de spermatozoïdes nous apporte une puissance statistique satisfaisante. Notre étude a permis de mettre en évidence que la mucoviscidose indépendamment des autres facteurs était associée à une diminution de la qualité de l'extraction épидидymaire. Et que la présence de la mutation $\Delta F508$ à l'état homozygote était prédictive d'un échec de l'extraction épидидymaire.

Il faut également noter le caractère subjectif de l'analyse extemporanée des fragments épидидymaires au bloc opératoire, en effet, de par la faible température au bloc opératoire ($<20^{\circ}\text{C}$) et de par l'examen direct rapide réalisé par le biologiste, la concentration et la mobilité peuvent parfois être sous-estimées ;

Afin d'évaluer l'influence des nouvelles thérapies utilisées dans la mucoviscidose, il sera nécessaire de poursuivre cette étude de manière prospective. Ces nouvelles thérapies prises au long cours (et désormais instaurées dès l'enfance) pourraient réduire l'accumulation de sécrétions dans les canaux déférents et potentiellement prévenir leur obstruction complète des canaux déférents à l'origine de leur atrésie ou au contraire entraîner une dégénérescence progressive voire une atrophie des tubes séminifères comme observé dans le modèle animal pour l'Elexacaftor®.

Afin d'évaluer si la mucoviscidose ou le génotype influence les chances de grossesses et de naissances vivantes, il sera intéressant de poursuivre ce travail par l'analyse des cycles d'ICSI pour ces couples.

Bibliographie :

1. testicule-Morphologie.pdf
<https://www.histologistes.org/CHEC/images/pedago/3meCYCLE/testicule-Morphologie.pdf>
2. Pierluigi Diano Pr. Christian Cabrol. Le grand atlas du corps humain. Flammarion. 2006. 200 p.
3. 2009-Bioforma-42-Exploration de la fonction de reproduction, versant masculin.pdf
4. Sigala J, Jumeau F, Buée L, Sergeant N, Mitchell V. La protéine microtubulaire Tau testiculaire : une place dans la spermatogenèse ? Morphologie. déc 2015;99(327):141-8.
5. Misell LM, Holochwost D, Boban D, Santi N, Shefi S, Hellerstein MK, et al. A Stable Isotope-Mass Spectrometric Method for Measuring Human Spermatogenesis Kinetics In Vivo. The Journal of Urology. 1 janv 2006;175(1):242-6.
6. Amann RP. The Cycle of the Seminiferous Epithelium in Humans: A Need to Revisit? Journal of Andrology. 17 avr 2008;29(5):469-87.
7. Neto FTL, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. Seminars in Cell & Developmental Biology. nov 2016;59:10-26.
8. Gervasi MG, Visconti PE. Molecular changes and signaling events occurring in spermatozoa during epididymal maturation. Andrology. mars 2017;5(2):204-18.
9. Sullivan R, Mieusset R. The human epididymis: its function in sperm maturation. Hum Reprod Update. sept 2016;22(5):574-87.
10. Dacheux JL, Dacheux F. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. REPRODUCTION. févr 2014;147(2):R27-42.
11. AGM-PDF-V1.pdf <https://histologie.univ-nantes.fr/wp-content/uploads/2018/08/AGM-PDF-V1.pdf>
12. James ER, Carrell DT, Aston KI, Jenkins TG, Yeste M, Salas-Huetos A. The Role of the Epididymis and the Contribution of Epididymosomes to Mammalian Reproduction. IJMS. 29 juill 2020;21(15):5377.
13. Elbashir S, Magdi Y, Rashed A, Henkel R, Agarwal A. Epididymal contribution to male infertility: An overlooked problem. Andrologia févr 2021;53(1).

14. Breton S, Nair AV, Battistone MA. Epithelial dynamics in the epididymis: role in the maturation, protection, and storage of spermatozoa. *Andrology*. mai 2019;andr.12632.
15. Cooper TG. Données récentes sur la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme humain. :16.
16. Dacheux JL, Gatti JL, Dacheux F. Epididymal sperm maturation: A new look about an old conception. *Medecine Therapeutique Medecine de la Reproduction, Gynecologie et Endocrinologie*. 1 juill 2010;12:183-91.
17. L'OMS publie sa nouvelle Classification internationale des maladies (CIM-11) [https://www.who.int/fr/news/item/18-06-2018-who-releases-new-international-classification-of-diseases-\(icd-11\)](https://www.who.int/fr/news/item/18-06-2018-who-releases-new-international-classification-of-diseases-(icd-11))
18. Hamamah PS, Berlioux MS. Rapport sur les causes d'infertilité. :137.
19. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1 850 000) of three French regions (1988–1989)*. *Human Reproduction*. 1 juill 1991;6(6):811-6.
20. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ ASRM Guideline. *Male Infertility*. 2020;53.
21. Huyghe E, Boitrelle F, Methorst C, Mieusset R, Ray PF, Akakpo W, et al. [AFU and SALF recommendations for the evaluation of male infertility]. *Prog Urol*. mars 2021;31(3):131-44.
22. World Health Organization, UNDP/UNFPA/UNICEF/WHO/World Bank Special Programme of Research D and RT in HR. HRP annual report 2021. Geneva: World Health Organization; 2022;46 p.
23. Hadi H, Ali R. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen FIFTH EDITION. 2010.
24. Eh S, A C. Declining estimates of infertility in the United States: 1982-2002. *Fertility and sterility* sept 2006;86(3).
25. Jp J, Ma E, Li L. Evaluation of the azoospermic patient. *The Journal of urology* juill 1989;142(1).
26. Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. The epidemiology and etiology of azoospermia. *Clinics*. 2013;68:15-26.
27. Wosnitzer MS, Goldstein M. Obstructive Azoospermia. *Urologic Clinics of North America*. févr 2014;41(1):83-95.

28. Robin G, Boitrelle F, Leroy X, Peers MC, Marcelli F, Rigot JM, et al. Bilan d'une azoospermie et évaluation histologique de la spermatogenèse. *Annales de Pathologie*. 1 juin 2010;30(3):182-95.
29. Schlegel PN. Causes of azoospermia and their management. *Reprod Fertil Dev*. 2004;16(5):561.
30. Brusq C, Mieusset R, Hamdi SM. Development of a multivariable prediction model for congenital unilateral absence of the vas deferens in male partners of infertile couples. *Andrology*. févr 2022;10(2):262-9.
31. Evaluation of the azoospermic male. *Fertility and Sterility*. nov 2008;90(5):S74-7.
32. Bourcigaux N, Christin-Maître S. Dosages hormonaux chez l'homme infertile. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 1 mai 2008;36(5):551-6.
33. Bhasin S. Approach to the Infertile Man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. juin 2007;92(6):1995-2004.
34. Lunenfeld B, Mskhalaya G, Zitzmann M, Arver S, Kalinchenko S, Tishova Y, et al. Recommendations on the diagnosis, treatment and monitoring of hypogonadism in men. *Aging Male*. mars 2015;18(1):5-15.
35. Pezzella A, Barbonetti A, D'Andrea S, Necozone S, Micillo A, Di Gregorio A, et al. Ultrasonographic caput epididymis diameter is reduced in non-obstructive azoospermia compared with normozoospermia but is not predictive for successful sperm retrieval after TESE. *Human Reproduction*. 1 juill 2014;29(7):1368-74.
36. Huyghe E. Item 38 infertilité. *College enseignants d'urologie*. :18.
37. Punab M, Poolamets O, Paju P, Vihljajev V, Pomm K, Ladva R, et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Hum Reprod*. janv 2017;32(1):18-31.
38. Bourrouillou G, Calvas P, Bujan L, Mieusset R, Mansat A, Pontonnier F. Mitotic chromosomal anomalies among infertile men. *Hum Reprod*. oct 1997;12(10):2337-8.
39. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, et al. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod*. déc 1996;11 Suppl 4:1-24; discussion 25-26.
40. Kuroda S, Usui K, Sanjo H, Takeshima T, Kawahara T, Uemura H, et al. Genetic disorders and male infertility. *Reprod Med Biol*. oct 2020;19(4):314-22.
41. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reprod Biol Endocrinol*. déc 2018;16(1):14.

42. Cioppi F, Rosta V, Krausz C. Genetics of Azoospermia. *IJMS*. 23 mars 2021;22(6):3264.
43. McBride Ja, Kohn T, Mazur D, Lipshultz L, Coward Rm. Sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection outcomes in men with cystic fibrosis disease versus congenital bilateral absence of the vas deferens. *Asian J Androl*. 2021;23(2):140.
44. Cystic Fibrosis Mutation Database : <http://www.genet.sickkids.on.ca/>
45. Bareil C, Bergougnoux A. CFTR gene variants, epidemiology and molecular pathology. *Archives de Pédiatrie*. févr 2020;27:eS8-12.
46. Mucoviscidose · Inserm, La science pour la santé Inserm. <https://www.inserm.fr/dossier/mucoviscidose/>
47. Munck A, Cheillan D, Audrezet MP, Guenet D, Huet F. Dépistage néonatal de la mucoviscidose. *Med Sci (Paris)*. mai 2021;37(5):491-9.
48. Raynal C, Corvol H. Variant classifications, databases and genotype-phenotype correlations. *Archives de Pédiatrie*. févr 2020;27:eS13-8.
49. Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, Derichs N, Dodge J, Girodon E, et al. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *Journal of Cystic Fibrosis*. juin 2011;10:S86-102.
50. Bieniek JM, Lapin CD, Jarvi KA. Genetics of CFTR and male infertility. *Transl Androl Urol*. mars 2021;10(3):1391-400.
51. Bieth E, Hamdi SM, Mieusset R. Genetics of the congenital absence of the vas deferens. *Hum Genet*. 2021;140(1):59-76.
52. Pagin A, Bergougnoux A, Girodon E, Reboul M, Willoquaux C, Kesteloot M, et al. Novel ADGRG2 truncating variants in patients with X-linked congenital absence of vas deferens. *Andrologia*. mai 2020;8(3):618-24.
53. Lopes LS, Cury VN, Cha JD, Lampa Junior VM, Marques JL, Mizrahi FE, et al. Do assisted reproduction outcomes differ according to aetiology of obstructive azoospermia? *Andrologia*;52(1)
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.13425>
54. Wosnitzer M, Goldstein M, Hardy MP. Review of Azoospermia. *Spermatogenesis*. 1 janv 2014;4(1):e28218.
55. Llabador MA, Pagin A, Lefebvre-Maunoury C, Marcelli F, Leroy-Martin B, Rigot JM, et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens: the impact of spermatogenesis quality on intracytoplasmic sperm injection outcomes in 108 men. *Andrology*. mai 2015;3(3):473-80.

56. Schwarzer JU, Schwarz M. Significance of CFTR gene mutations in patients with congenital aplasia of vas deferens with special regard to renal aplasia. *Andrologia*. 2012;44(5):305-7.
57. Sperm retrieval for obstructive azoospermia. *Fertility and Sterility*. nov 2008;90(5):S213-8.
58. Tanrikut C, Goldstein M. Obstructive Azoospermia: A Microsurgical Success Story. *Semin Reprod Med*. mars 2009;27(02):159-64.
59. Qu'est-ce que l'aspiration des spermatozoïdes épидидymaires? *inviTRA*. 2021 <https://www.invitra.fr/aspiration-spermatozoides-epididymaires/>
60. The management of obstructive azoospermia: a committee opinion. *Fertility and Sterility*. mai 2019;111(5):873-80.
61. Est-il possible d'obtenir une grossesse avec une azoospermie? *inviTRA*. 2018 <https://www.invitra.fr/azoospermie-et-grossesse/>
62. Bernie AM, Ramasamy R, Stember DS, Stahl PJ. Microsurgical epididymal sperm aspiration: indications, techniques and outcomes. *Asian J Androl*. janv 2013;15(1):40-3.
63. Zhan XX, Wan CC, Li HB, Gou J, Cai HC, Zhao J, et al. [ICSI with testicular or epididymal sperm for patients with obstructive azoospermia: A systematic review]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. déc 2016;22(12):1122-30.
64. Buffat C, Patrat C, Merlet F, Guibert J, Epelboin S, Thiounn N, et al. ICSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. *Human Reproduction*. 1 avr 2006;21(4):1018-24.
65. Hammoud I, Bailly M, Bergere M, Wainer R, Izard V, Vialard F, et al. Testicular Spermatozoa Are of Better Quality Than Epididymal Spermatozoa in Patients With Obstructive Azoospermia. *Urology*. mai 2017;103:106-11.
66. van Wely M, Barbey N, Meissner A, Repping S, Silber SJ. Live birth rates after MESA or TESE in men with obstructive azoospermia: is there a difference? *Human Reproduction*. 1 avr 2015;30(4):761-6.
67. Baker K, Sabanegh E. Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results. *Clinics*. 2013;68:61-73.
68. Yoon Y, Lee H, Park S, Moon H, Kim D, Song SH, et al. The role of vasoepididymostomy for treatment of obstructive azoospermia in the era of in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*. 2019;21(1):67.
69. Vasectomie : effets secondaires, avantages et inconvénients *inviTRA*. 2020 <https://www.invitra.fr/vasectomie/>

70. Peng J, Yuan Y, Zhang Z, Cui W, Song W, Gao B. Microsurgical vasoepididymostomy is an effective treatment for azoospermic patients with epididymal obstruction and prior failure to achieve pregnancy by sperm retrieval with intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*. 1 janv 2014;29(1):1-7.
71. Process of vasoepididymostomy inviTRA <https://www.invitra.com/en/wp-content/uploads/2017/12/vasoepididymostomy.png>
72. Herrel LA, Goodman M, Goldstein M, Hsiao W. Outcomes of Microsurgical Vasovasostomy for Vasectomy Reversal: A Meta-analysis and Systematic Review. *Urology*. avr 2015;85(4):819-25.
73. Namekawa T, Imamoto T, Kato M, Komiya A, Ichikawa T. Vasovasostomy and vasoepididymostomy: Review of the procedures, outcomes, and predictors of patency and pregnancy over the last decade. *Reprod Med Biol*. oct 2018;17(4):343-55.
74. Aitken RJ, Koppers AJ. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian J Androl*. janv 2011;13(1):36-42.
75. Agarwal A, Cho CL, Esteves SC. Should we evaluate and treat sperm DNA fragmentation? *Curr Opin Obstet Gynecol*. juin 2016;28(3):164-71.
76. Meseguer M, Santiso R, Garrido N, García-Herrero S, Remohí J, Fernandez JL. Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. *Fertil Steril*. janv 2011;95(1):124-8.
77. Kamal A, Fahmy I, Mansour R, Serour G, Aboulghar M, Ramos L, et al. Does the outcome of ICSI in cases of obstructive azoospermia depend on the origin of the retrieved spermatozoa or the cause of obstruction? A comparative analysis. *Fertil Steril*. nov 2010;94(6):2135-40.
78. Dozortsev D, Neme R, Diamond MP, Abdelmassih S, Abdelmassih V, Oliveira F, et al. Embryos generated using testicular spermatozoa have higher developmental potential than those obtained using epididymal spermatozoa in men with obstructive azoospermia. *Fertil Steril*. sept 2006;86(3):606-11.
79. Shih KW, Shen PY, Wu CC, Kang YN. Testicular versus percutaneous epididymal sperm aspiration for patients with obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Transl Androl Urol*. déc 2019;8(6):631-40.
80. Morin S, Hanson B, Juneau C, Neal S, Landis J, Scott R, et al. A comparison of the relative efficiency of ICSI and extended culture with epididymal sperm versus testicular sperm in patients with obstructive azoospermia. *Asian J Androl*. 2020;22(2):222.
81. Lu S, Cui Y, Li X, Zhang H, Liu J, Kong B, et al. Association of cystic fibrosis transmembrane-conductance regulator gene mutation with negative outcome of

intracytoplasmic sperm injection pregnancy in cases of congenital bilateral absence of vas deferens. *Fertil Steril*. mai 2014;101(5):1255-60.

82. Lopes LS, Baccaglini W, von Muhlen B, Placco Araujo Glina F, Albertini Daiuto S, Linck Pazeto C, et al. Does acquired obstructive azoospermia have less impact than congenital azoospermia on ICSI results? Systematic review and meta-analysis. *Andrologia* ;53(7).

83. Patrizio P, Ord T, Silber SJ, Asch RH. Andrology: Cystic fibrosis mutations impair the fertilization rate of epididymal sperm from men with congenital absence of the vas deferens. *Human Reproduction*. 1 août 1993;8(8):1259-63.

84. Schlegel PN, Cohen J, Goldstein M, Alikani M, Adler A, Gilbert BR, et al. Cystic fibrosis gene mutations do not affect sperm function during in vitro fertilization with micromanipulation for men with bilateral congenital absence of vas deferens. *Fertility and Sterility*. 1 août 1995;64(2):421-6.

85. Zarezadeh R, Fattahi A, Nikanfar S, Oghbaei H, Ahmadi Y, Rastgar Rezaei Y, et al. Hormonal markers as noninvasive predictors of sperm retrieval in non-obstructive azoospermia. *J Assist Reprod Genet*. août 2021;38(8):2049-59.

86. Toulis KA, Iliadou PK, Venetis CA, Tsametis C, Tarlatzis BC, Papadimas I, et al. Inhibin B and anti-Mullerian hormone as markers of persistent spermatogenesis in men with non-obstructive azoospermia: a meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Human Reproduction Update*. 1 nov 2010;16(6):713-24.

87. KAFTRIO 75 mg/50 mg/100 mg cp pellic VIDAL
<https://www.vidal.fr/medicaments/kaftrio-75-mg-50-mg-100-mg-cp-pellic-215740.html>

88. kaftrio-epar-product-information_fr.pdf
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kaftrio-epar-product-information_fr.pdf

89. Rotolo SM, Duehlmeyer S, Slack SM, Jacobs HR, Heckman B. Testicular pain following initiation of elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor in males with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. sept 2020;19(5):e39-41.

Nom : VAN DER HENST

Prénom : Léa

Titre de la thèse : Analyse rétrospective sur vingt ans des résultats d'extractions épидидymaires de spermatozoïdes dans l'azoospermie obstructive

Mots-clés : Azoospermie obstructive, extraction épидидymaire, biopsie testiculaire, absence bilatérale des canaux déférents (ABCD), mucoviscidose

Résumé :

Contexte : L'azoospermie obstructive (AO) représente jusqu'à 40 % des cas d'azoospermie et peut être de nature acquise ou congénitale. L'étiologie d'AO la plus fréquente est caractérisée par l'absence congénitale bilatérale des canaux déférents (ABCD). Celle-ci est dans la grande majorité des cas liée à une mutation du gène codant la protéine CFTR (impliquée notamment dans la mucoviscidose). Afin de concevoir un enfant, il existe plusieurs possibilités thérapeutiques dont l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes au niveau de l'épididyme (MESA) ou du testicule (TESE), suivie de l'utilisation de techniques d'aide médicale à la procréation. Le transit épидидymaire est essentiel car il permet l'acquisition par le spermatozoïde de ses propriétés fécondantes. C'est pourquoi, il est communément recommandé dans la littérature de privilégier l'extraction de spermatozoïdes épидидymaires par rapport aux spermatozoïdes testiculaires. Néanmoins, dans certaines conditions pathologiques, l'épididyme est soumis à un stress oxydatif pouvant altérer la qualité spermatique. L'objectif de ce travail était donc d'évaluer, chez des patients présentant une azoospermie obstructive, les chances de succès de l'extraction épидидymaire et la qualité de celle-ci en fonction de l'étiologie considérée.

Méthode : Nous avons réalisé une étude rétrospective sur 295 patients atteints d'azoospermie obstructive ayant bénéficié d'une extraction chirurgicale de spermatozoïdes par MESA ± TESE complémentaire.

Résultats : Seule la mucoviscidose était prédictive d'une moins bonne qualité d'extraction épидидymaire (OR=0,42 [0,21-0,82] ; $p<0,05$). La mucoviscidose était également responsable d'un plus grand risque d'échec d'extraction épидидymaire 23,7% versus 8,2% ($p<0,01$) par rapport aux patients ayant une ABCD sans mucoviscidose associée. Parmi les patients souffrants de mucoviscidose, nous avons montré que les patients porteurs de la mutation $\Delta F508$ à l'état homozygote avaient un risque quatre fois plus élevé d'avoir un échec d'extraction épидидymaire par rapport aux patients porteur d'une mutation hétérozygote composite (OR=4 [1,11-15,70] ; $p<0,05$).

Conclusion : Afin d'évaluer si la mucoviscidose et/ou le génotype influencent les chances de grossesses et de naissances vivantes, il sera intéressant de poursuivre ce travail par l'analyse des cycles d'ICSI pour ces couples.

Membres du jury :

Président : Pr Thierry BROUSSEAU, PU-PH, CHU de Lille

Directeur de Thèse : Dr Anne-Laure BARBOTIN, MCU-PH, CHU de Lille

Assesseur(s) : Dr Julie PRASIVORAVONG, CHU de Lille, CH de Lens

Dr Aude DUBOIS, AHU, CHU de Lille