

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ DE MENTOURI CONSTANTINE**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie.**

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire pour l'obtention du  
diplôme de Magistère en  
Génétique des pathologies humaines

*Présenté par : Rezgoune née Chellat Djalila*

**THEME**

**Analyse cytogénétique des anomalies chromosomiques des hommes infertiles.**

Soutenu publiquement le ..../.... devant les membres du jury :

**Président :** BENLATRECHE C. : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**Rapporteur :** SATTI D. : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**Examineurs :**

**ABADI N. :** *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**NAIMI D. :** *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**ROUABAH L. :** *Maître de conférences de l'université de Mentouri, Constantine.*

*Année universitaire : 2006/2007.*

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ DE MENTOURI CONSTANTINE**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie.**

N° d'ordre :  
N° de série :

Mémoire pour l'obtention du  
diplôme de Magistère en  
Génétique des pathologies humaines

Présenté par : *Rezgoune née Chellat Djalila*

**THEME**

**Analyse cytogénétique des anomalies chromosomiques des hommes infertiles.**

Soutenue publiquement le .../.../... devant les membres du jury :

Président : **BENLATRECHE C.** : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*  
Rapporteur : **SATTA D.** : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*  
Examineurs :  
**ABADI N.** : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*  
**NAIMI D.** : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*  
**ROUABAH L.** : *Maitre de conférences de l'université de Mentouri, Constantine.*

*Année universitaire : 2006/2007.*





*Au Nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux*

*Merci dieu tout puissant, qui m'a honoré d'être parmi ceux qui savent lire et écrire, et qui a guidé mes pas sur le chemin de la science.*

*Je l'implore de m'éclairer et de me guider sur le droit chemin ...*

# Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **Mme BELATRECHE** et **M. ABADI** qui ont été les initiateurs de cette formation et m'ont accueillie au sein du laboratoire de recherche de biologie génétique, ils m'ont laissé toute latitude pour accomplir ce travail.

Je tiens également à remercier **Mme BELATRECHE** qui me fait l'honneur de présider mon jury de soutenance, et **Mr ABADI** qui a accepté d'évaluer ce manuscrit et faire partie de ce jury.

Je remercie mon encadreur de thèse, **Mme SATTAD** qui m'a guidée tout au long de la réalisation de cette thèse avec ses conseils et ses directives qui m'ont énormément aidée dans l'orientation de mes objectifs et l'accomplissement de mes travaux.

Je souhaite remercier chaleureusement **Docteur BENACHOUR** et **Docteur HANACHI** de m'avoir prodigué leurs aides en cytogénétique.

Je remercie les Professeurs, **NAIMI.D**, **ROUABEHL** qui me font l'honneur d'être les membres de mon jury.

Je remercie spécialement **Messaouda**, **Brihmat Ahmed**, pour leurs aides et leurs conseils éclairés tout au long de ce travail.

J'adresse mes remerciements aux membres de laboratoire qui ont toujours été présents quand j'en avais besoin. Je pense particulièrement à **Zbeida**, **Yasmina**, **Yamina** et ; pour leur soutien indéfectible et gentillesse.

Et sans oublier les membres du service de cytogénétique et de biologie génétique du **CHU** de Constantine pour tous leurs encouragements incessants.

Enfin mes remerciements vont à toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidé par leur encouragement.



# Dédicaces

*Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le plaisir de dédier ce travail de Magister à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donne des raisons de devenir meilleure :*

*À mes parents,*

*Mon père **Yousef**, qui a tout fait pour que je ne manque de rien et pour que je sois la meilleure dans mes études. Merci mon père pour le courage que tu m'as donné durant toutes ces années.*

*Ma mère **Fatima**, qui m'a aidée à aller toujours de l'avant et n'a pas ménager ses forces pour me rendre la vie facile.*

*À mon mari **Mohamed Larbi**,*

*Merci pour ton amour, ta patience et encore ta patience ; sans toi cette thèse, n'aurait certainement jamais pu voir le jour. Tes encouragements et ta confiance en mes capacités m'ont beaucoup apporté.*

*À ma belle mère **Fatima**,*

*Cette femme qui mérite plus que des mots qui puissent se dire ou s'écrire, elle a fait de moi sa fille, merci et encore merci.*

*À mes frères et sœurs, Mon chère frère **Abdelkader**, merci pour ta présence réconfortante, merci pour tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*À **Zouleikha**, ma formidable sœur.*

*À **Zakj**, mon frère très sage, qui ne m'a jamais dit non pour quoi que ce soit.*

*À **Samsouma**, ma petite sœur bien aimée, qui malgré son âge sait comment me remonter le moral.*

*À mon encadreur M<sup>me</sup> **SATTA** à qui je la dédie ce travail avant de la remercier pour m'avoir guidé à le faire, et qui a cru et s'est battue pour moi, et pour tous ces magisters.*

*À mes tantes et mes oncles.*

*À toute ma famille, et ma belle famille.*

*Spécial dédicace à mes chères amies : **Chahinez et Amina***

*À mes chers (es) camarades de promo : **Zeineb, Wissem, Amel, Nadira, Hanene, Moufida, Abba, Sabrina, Fethi et Adem**. L'ambiance joyeuse qui m'a entouré tout au long de la post-graduation a été d'une importance majeure pour surmonter les moments difficiles.*

*Spécial dédicace à **RAZIKA, SANA, ASMA, HADIA**.*

*À tous mes amis et à tous ceux que j'aime.*

# Liste des abréviations

ABP : Androgen Binding Protein.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

ADNc : ADN complémentaire.

AMH : Anti Müllerien Hormone.

AMP : Assistance Médicale à la Procréation.

AMPc : Adénosine Mono Phosphate cyclique.

ARN : Acide Ribo Nucléique.

ARNm : ARN messenger.

BPY : Basic Protein, Y chromosome.

CBAVD : Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens.

CBP : Chronic Bacterial Prostatitis.

CDY : Chromo Domain protein, Y chromosome.

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator gene.

CGH : Comparative Genome Hybridization.

DAX-1 : Dosage-sensitive sex reversal, Adrenal hyperplasia congenital, critical region on the X chromosome, gene 1.

DAZ : Deleted in AZoospermia.

DBY : DEAD Box, Y chromosome.

DFFY : Drosophila Fat Facet, Y-linked.

DHEA : DeHydroEpiAndrostérone.

DSS: Dosage Sensitive Sex-reversal.

EGF: Epithelial Growth Factor.

EIF1AY : Eucaryotic translation Initiation Factor 1A, Y chromosome.

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization.

FSH: Follicle Stimulating Hormone.

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone.

hCG : human Chorionic Gonadotropin.

HCS : Hypoplasie Congénitale Surrénalienne.

HESX1 : Homeo box gene Expressed in ES cells.

HIV : Human Immunodeficiency Virus.

HLA : Human Leucocyte Antigen.

HMG : High Mobility Group.

HSD : Hydroxy Stéroïde Déshydrogénase.

ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection.

IGF1 : Insulin Growth Factor-1.

IL-1 : Interleukines-1.

IL-6 : Interleukines-6.

INSL3 : Leydig Insulin Like Factor 3.

ICSI : Intra Cytoplasm Sperm Injection.

IPS : Inositol-Triphosphate.

Kb : Kilo bases.

LH : Luteinizing Hormone.

LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone.

Mb : Méga base.

NGF : Nerve Growth Factor.

OAT : Oligo Astheno Teratozoospermia.

ORF : Open Reading Frame.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

Pd : Prostatodynia.

PGCs : Primordial Germ Cells:

PRY : PTP-BL related, Y chromosome.

RBMV : RNA Binding protein.

REL : Reticulum Endoplasmique Lisse.

RRM : RNA Recognition Motif.

SCA : Sperm Coating Antigen.

SCOS : Sertoli Cell-Only Syndrome.

SF1: Steroidogenic Factor 1.

SMCY: Selected Mouse cDNA, Y chromosome.

SOX 9: SRY-type HMG-box gene 9.

SRY: Sex-determining Region Y-chromosome.

TDF: Testis Determining Factor.

TESE: TEsticular Sperm Extraction.

TGF b: Tumor Growth Factor b.

TSH: Thyroid Stimulating Hormone.

UTY: Ubiquitously Transcribed tetratricopeptide repeat, Y chromosome.

WT1: Wilms' Tumor 1.

XKRY: XK-Related protein, Y chromosome.



# Sommaire

**Remerciement**

**Dédicaces**

**Liste des abréviations**

**Sommaire**

**Introduction.....1**

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**I- Anatomie et physiologie de l'appareil génital mâle.....3**

1- Les testicules .....3

1-1 Structure histologique de testicule.....4

1-2 Tubes séminifères.....4

1-3 Physiologie du testicule.....10

1-4 Interaction cellulaires au niveau du testicule.....11

2- Voies excrétrices.....11

2-1 Voies spermatiques intra-testiculaires.....11

2-2 Canaux ou cônes efférents.....12

2-3 Le canal épидидymaire.....12

2-4 Le canal déférent.....12

3- Urètre.....13

4- Pénis.....13

5- Glandes annexes.....	13
5-1 Vésicules séminales.....	13
5-2 Prostate.....	14
5-3 Glandes de Cowper.....	14
<b>II- Spermatogenèse.....</b>	<b>15</b>
1- Ontogenèse de la spermatogenèse.....	15
1-1 Origine des cellules germinales.....	15
1-2 Évolution des cellules germinales.....	16
2- Les phases de la spermatogenèse.....	17
2-1 Phase de multiplication.....	17
2-2 Phase d'accroissement.....	17
2-3 La méiose.....	17
2-4 La spermiogenèse.....	18
3- Déterminisme génétique des gonades.....	20
3-1 Les gènes de la détermination gonadique.....	20
3-2 Les Gènes de la spermatogenèse.....	22
<b>III- Classification étiologique de l'infertilité masculine.....</b>	<b>26</b>
1- Classification selon le nombre de spermatozoïdes .....	26
1-1 L'azoospermie.....	26
1-2 L'oligospermie.....	27
2- Classification en fonction du lieu de l'atteinte et du mécanisme physiopathologique.....	27

2-1 Atteinte pré-testiculaire.....	27
2-2 Atteinte testiculaire.....	34
2-3 Atteint post-testiculaire.....	40

## **PARTIE PRATIQUE**

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

<b>I- Patients.....</b>	<b>43</b>
1- Critères d'inclusions/exclusions.....	43
<b>II- Matériels et réactifs.....</b>	<b>44</b>
1- Matériel.....	44
2- Réactifs.....	44
2-1 Réactifs pour analyse hormonale.....	45
2-2 Réactifs pour culture cellulaire et caryotype.....	45
<b>III-Méthodologie.....</b>	<b>46</b>
1- Analyse hormonale.....	46
1-1 Prélèvement.....	46
1-2 Préparation des réactifs.....	46
1-3 Principe.....	46
2- Analyse cytogénétique.....	47
2-1 Prélèvement.....	47
2-2 Mise en culture.....	48



2-3 Caryotype standard : arrêt des mitoses, fixation, étalement et observation .....	48
2-4 R-banding.....	52

## **RÉSULTATS**

I- Choix des cas.....	54
II- Présentation des cas.....	55
1- Aspects cliniques et biologiques.....	55
2- Aspect cytogénétique.....	57
2-1 Cultures cellulaires et caryotype standard.....	57
2-2 Interprétation des caryotypes.....	57
2-3 Présentation des caryotypes.....	60

## **DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

<b>Discussion générale.....</b>	<b>78</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>84</b>

## **BIBLIOGRAPHIE**

### **ANNEXE**

**Résumé en arabe**

**Résumé en français**

**Résumé en anglais**

### Introduction

La reproduction humaine repose sur l'union sexuelle d'une femme et d'un homme. Pourtant, lorsqu'on examine les recherches sur la fécondité, les travaux scientifiques se sont intéressés essentiellement aux femmes, excluant les hommes dans leurs études. Des recherches ont néanmoins été menées sur la fertilité masculine, elles soulèvent la question de l'implication des hommes dans la fertilité humaine.

Le contrôle de cette fonction de reproduction est étonnement semblables chez les deux sexes à quelques détails près : cellules gonadiques voisines dans leur fonctionnement et leur intrication, cellules hypophysaires gonadotropes particulières par leur sécrétion de deux hormones identiques dans les deux sexes : FSH (Follicle Stimulating Hormone) et LH (Luteinizing Hormone), contrôle hypothalamique par la gonadolibérine GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone).

Lorsqu'un couple reste sans enfant après deux ans de rapports sexuels réguliers et non protégés on parle de stérilité. Le mot stérilité ou infertilité, demande toutefois à être précisé par rapport à d'autres notions :

- **La fécondité** d'un sujet ou d'un couple est prouvée par le fait qu'il y a eu une grossesse antérieure, quelle qu'en ait été l'issue.
- **La fécondabilité** d'un couple se définit comme étant la probabilité de concevoir au cours d'un cycle menstruel normal.
- **La fertilité** est la capacité de débiter une grossesse et l'infertilité est l'incapacité de concevoir. Si cette incapacité est définitive, on parle alors de stérilité.

On distingue l'infertilité primaire lorsqu'il n'y a jamais eu de grossesse à terme et secondaire s'il y a eu grossesse quelque en soit l'issue, et elle est primo-secondaire : fausse couche préalable.

Globalement, la cause de stérilité est :

- D'origine féminine dans 30 % des cas,
- D'origine masculine dans 20 % des cas,
- D'origine mixte dans 40 % des cas.
- La stérilité reste inexplicquée ou idiopathique dans 10 % des cas. [1].

Les causes de l'infertilité masculine sont multiples (tableau -1- ) génétiques (directe ou indirectes) ou non génétiques. Les anomalies génétiques peuvent engendrer d'une part des anomalies anatomo-fonctionnelles à l'origine d'azoospermies obstructives ou excrétoires, D'autre part, les anomalies génétiques et en particulier les altérations du chromosome Y peuvent être responsables de déficits primaires dans la production des spermatozoïdes (azoospermies sécrétoires).

Notre étude porte sur une population de patients présentant un tableau clinique d'infertilité d'origine sécrétoire (non obstructive) liées aux anomalies chromosomiques.

Les paramètres indicateurs étant :

- Oligospermies ou azoospermie sécrétoire associées ou non à un hypogonadisme.

Dans un premier temps, nous étudions ces infertilités et en particulier :

- 1- Le syndrome de Klinefelter et ses variantes.
- 2- La DGM ou Dysgénésie Gonadique Mixte.
- 3- Le syndrome du mâle XYY.

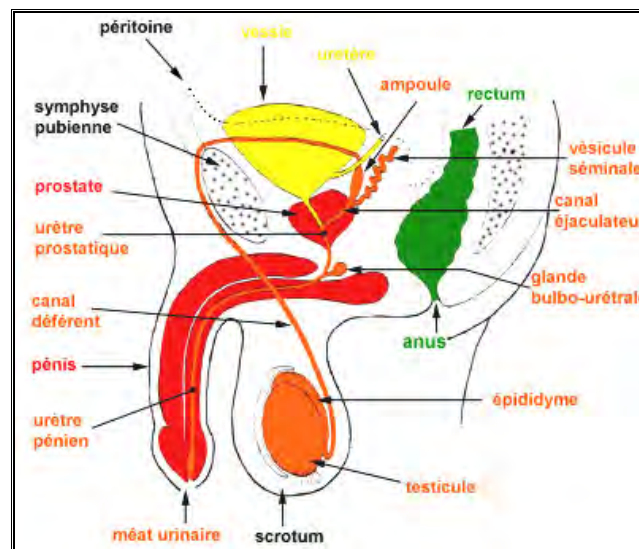
Le recrutement des malades s'est fait au niveau du CHU, notre étude a été réalisée par les méthodes d'explorations cytogénétiques standards et R-banding qui sont les tests d'évaluation et de confirmation de l'affection.



## I- Anatomie et physiologie de l'appareil génital mâle

L'appareil génital masculin est l'organe de la reproduction. Il comprend :

- Les deux testicules.
- Le tractus génital formé des voies spermatiques intra testiculaires (tubes droits et rete testis) et des voies spermatiques extra testiculaires (canaux ou cônes efférents, épididyme, canal déférent, canal éjaculateur).
- Les glandes annexes comprenant les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo urétrales. Ces glandes exocrines sécrètent le liquide de transport et de nutrition des spermatozoïdes constituant avec ces derniers le sperme.
- Le tractus urogénital, représenté par l'urètre (prostatique, périnéal et pénien), s'ouvrant à l'extérieur par le méat urinaire, et le pénis. (Figure -1- ). [2].



**Figure1 : L'appareil génital masculin. [Nicole VACHERET, 1999].**

### 1- Les Testicules

Les testicules sont deux organes pairs ovoïdes de 5 cm de long sur 3 cm de large et 2,5 cm d'épaisseur ; chaque testicule est logé dans une poche revêtue de peau appelée scrotum ; Le testicule, coiffé par l'épididyme, est suspendu dans le sac scrotal par le cordon spermatique qui contient le canal déférent, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et des fibres nerveuses ; il est fixé à la base du scrotum par le ligament scrotal. [2].

### 1-1 Structure histologique du testicule

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive, fibreuse, épaisse et résistante : l'albuginée. Cette capsule s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires ; Chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères ou séminipares très longs qui débouchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le rete testis [2]. Les testicules sont nourris par les artères spermatiques internes. [3]. (Figure -2- ).

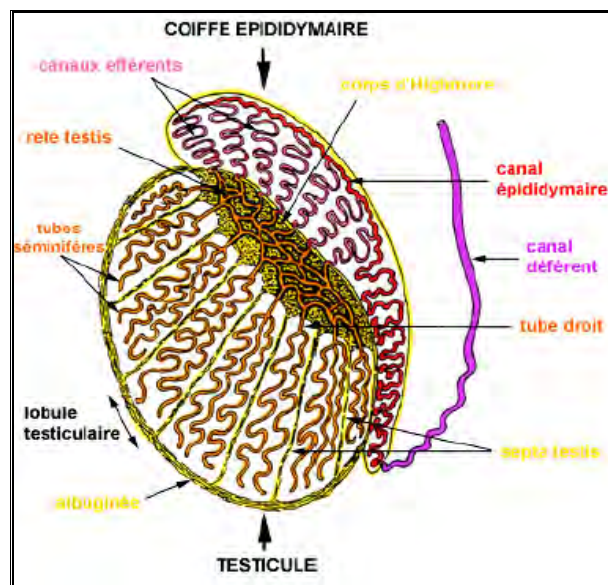


Figure 2 : Structure histologique du testicule. [Nicole VACHERET, 1999].

### 1-2 Tubes séminifères

Les tubes séminifères représentent le compartiment tubulaire assurant la fonction exocrine du testicule. Ces tubes, de 30 cm à 1 mètre de long et d'un diamètre de 200 microns, ont une paroi épaisse, constituée de 4 à 8 couches de cellules germinales. D'autre part, la paroi contient des cellules à la structure et aux fonctions complexes : les cellules de Sertoli. Les espaces entre les tubes séminifères sont occupés par le tissu interstitiel. Les tubes séminifères sont séparés du tissu interstitiel par une gaine essentiellement conjonctive, la gaine péri tubulaire. Son épaisseur s'accroît avec l'âge ou en cas d'infertilité. [3]. (Figure -3- ).



**Figure 3 : Structure histologique des tubes séminifères. [Nicole VACHERET 1999].**

**(grossissement X 40).**

La membrana propria (MP), des spermatogonies sombres Ad (sgD) et des spermatogonies B (sgB), des spermatocytes I (sC), des spermatozoïdes (sZ) avec leurs flagelles confluant dans la lumière du tube (LU), les résidus cytoplasmiques de la spermiogenèse (rc).

### 1-2-1 Les cellules de Sertoli

#### ✚ Structure et fonctions

Cellules pyramidales et allongées s'intercalant entre les cellules germinales. Ce sont des éléments dont la hauteur est équivalente à celle de l'épaisseur de la paroi des tubes séminifères. [3]. Elles traversent toute la paroi ; elles ont des contours irréguliers avec des expansions et des encoches (aspect de chandelier) dans lesquelles se logent les cellules germinales ; Leur base repose sur la membrane basale de la gaine péricrétale et leur sommet atteint la lumière des tubes. Le noyau basal présente des contours réguliers. Sa chromatine est dispersée et il contient un volumineux nucléole. Dans le cytoplasme on observe du réticulum endoplasmique lisse et rugueux, un appareil de Golgi bien développé, de nombreux lysosomes et des gouttelettes lipidiques. (Figure -4- ). [3].





dont des molécules peuvent se détacher et passer via les liquides interstitiels vers les tissus lymphoïdes sans risque de stimuler ceux-ci et de provoquer une formation d'auto-anticorps. Du côté adluminal, les antigènes libérés par les autres cellules germinales ne peuvent franchir les complexes étanches.

\* **Rôle dans la spermiation** : par libération des spermatozoïdes dans la lumière.

\* **Rôle dans les divisions et les différenciations des cellules germinales** : elles créent un microenvironnement indispensable aux divisions et aux différenciations des cellules germinales. D'une part, les éléments nutritifs provenant de l'interstitium, doivent traverser les cellules de Sertoli et être excrétés dans les espaces intercellulaires. D'autre part, les cellules de Sertoli synthétisent des cytokines et une protéine ABP (Androgen Binding Protein) qui se fixe à la testostérone provenant du tissu interstitiel et la concentre au contact des cellules germinales. Cette synthèse est contrôlée par la FSH qui se fixe sur des récepteurs de la cellule de Sertoli et stimule l'AMPc (Adénosine Mono Phosphate cyclique). Les mêmes cellules synthétisent aussi l'inhibine qui exerce un rétrocontrôle en ralentissant la production de la FSH et en inhibant les divisions des spermatogonies.

\* **Rôle dans la stéroïdogénèse** :

- Synthèse de la testostérone à partir de l'androsténone ;
- Transformation de testostérone en dihydrotestostérone.

\* **Rôle dans la phagocytose des corps résiduels** : les cellules de Sertoli phagocytent à leur pôle apical les fragments de cytoplasme perdus par les spermatozoïdes ou corps résiduels au cours de leur maturation. Il en est de même pour d'autres cellules germinales qui meurent sur place. Ces éléments sont digérés par les enzymes des lysosomes. [3].

### 1-2-2 Les cellules germinales

Elles s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère. Les spermatogonies (**Sp**), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (**SP I**), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (**SP II**), les spermatides et les spermatozoïdes.

**Les spermatogonies** sont de petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 microns de diamètre, plaquées contre la membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies

selon l'aspect de leur noyau :

- Les spermatogonies à chromatine fine et sombre **Ad (dark)**, qui sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense.
- Les spermatogonies à chromatine claire **Ap (poussiéreuses ou pâles)**, cellules de renouvellement dont les cellules filles sont des spermatogonies B à noyau ovalaire clair.
- Les spermatogonies **B** à chromatine mottée et au nucléole bien visible **Sp B**.

Les spermatogonies A gardent les caractères morphologiques des éléments dont elles sont issues. Elles ne se différencient pas et maintiennent la réserve de cellules souches à un nombre assez élevé durant toute la vie sexuelle. Par contre les spermatogonies B sont plus volumineuses et métaboliquement plus actives que les spermatogonies A.

**Les spermatocytes** : elles sont issues de la division mitotique des spermatogonies B.

- **Les spermatocytes I** sont des cellules arrondies volumineuses au noyau souvent en méiose, particulièrement au stade très long de la prophase méiotique.
- **Les spermatocytes II** sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car d'existence fugace.

**Les spermatides** : ce sont des cellules de petite taille, de 6 à 7 microns de diamètre, très nombreuses et situées en position interne ; ovoïde à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde. Ce processus est appelé spermiogénèse. (Figure -3- ).

**Les Spermatozoïdes** sont des cellules allongées, de 60 microns de longueur, présentant une tête conique aplatie sombre, de 4 à 5 microns de long sur 1,5 à 3 microns de large, contenant le noyau, et une queue, ou flagelle, séparée de la tête par le col, et comprenant :

- La pièce intermédiaire (4 à 5 microns),
- La pièce principale (45 microns),
- La pièce terminale (1 à 2 microns). [2,3]. (Figure -5- ).



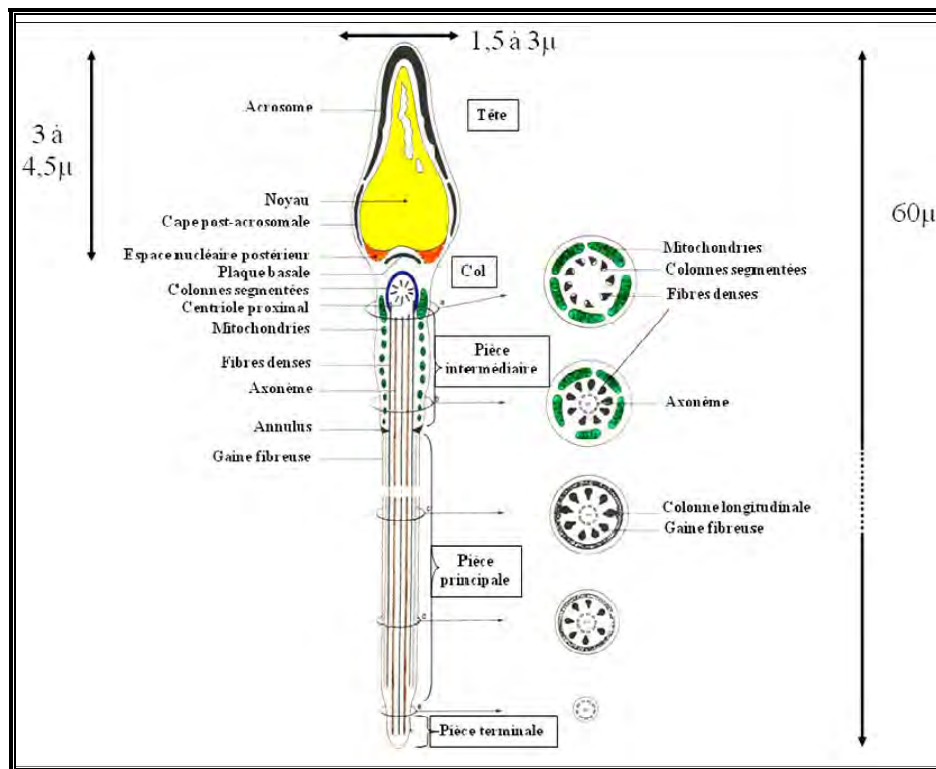


Figure 5 : Structure d'un spermatozoïde. [Jean Pierre Siffroi, 2001].

### 1-2-3 Tissu interstitiel

Les espaces compris entre les tubes séminifères représentent le tissu interstitiel. C'est un tissu conjonctif assez lâche contenant des nerfs, des vaisseaux sanguins, un riche réseau lymphatique. A la puberté s'y développent des cellules de Leydig. Ces dernières, qui ont une fonction de glandes endocrines, proviennent du mésenchyme. Elles ne se rassemblent pas pour former une véritable glande au sens anatomique du terme mais sont dispersées dans l'interstitium.

#### Les cellules de Leydig

Cellules polyédriques de 15 à 20 µm de diamètre isolées ou groupées en amas autour des capillaires sanguins et lymphatiques.

Responsables de la production de testostérone, les cellules de Leydig ont dès lors l'ultrastructure caractéristique des cellules synthétisant des stéroïdes : nombreuses gouttelettes intracytoplasmiques de cholestérol, réticulum endoplasmique lisse abondant, mitochondries à crêtes tubulaires. Noyau rond, excentré avec un volumineux nucléole. Elles contiennent des

inclusions protéiques et des lipofuscines, qui augmentent avec l'âge. Avec le vieillissement on assiste à une accumulation intracytoplasmique de cristaux dits de Reinke. Leur développement et leurs activités de synthèse sont provoqués par la LH, via l'AMPc. [3]. (figure-6- ).



**Figure 6 : Le tissu interstitiel. [Jean Pierre Siffroi, 2001].  
(grossissement X 40).**

### 1-3 Physiologie du testicule

Le fonctionnement normal des testicules nécessite une température relativement basse, plus basse que celle qui règne à l'intérieur du corps. C'est pour cette raison que les testicules sont situés "à l'extérieur" du corps humain. C'est à la puberté que le rôle du testicule apparaît.

Les testicules ou glandes sexuelles présentent principalement deux fonctions :

- \* **Une fonction exocrine** : production de spermatozoïdes, assurée par les tubes séminifères.
- \* **Une fonction endocrine** : sécrétion d'androgènes (stéroïdes), en particulier la testostérone.

La régulation des fonctions testiculaires est assurée essentiellement par les hormones gonadotropes hypophysaires, FSH et LH, elles-mêmes contrôlées par l'hypothalamus grâce au GnRH. Elle est libérée de l'hypothalamus toutes les 70 à 90 minutes, et stimule le dégagement des gonadotrophines. La demi-vie de GnRH est de 2 à 5 minutes. Son dégagement journalier est dû à la mélatonine de la glande pinéale. Le dégagement de GnRH est empêché par les signaux de retour négatifs du testicule, spécifiquement la testostérone et l'inhibine.

La glande pituitaire, qui se trouve sur une tige sous l'hypothalamus, contient les cellules gonadotrophiques qui produisent la FSH et la LH. Ce sont des glycopeptides avec un poids

moléculaire de 10.000 daltons. Ils se composent d'une chaîne alpha qui est identique à celle de l'hCG (humain Chorionic Gonadotropin) et de l'hormone TSH (Thyroid Stimulating Hormone) et d'une chaîne bêta qui est unique pour chacun. [2, 3,4].

### **1-4 Interactions cellulaires au niveau du testicule**

#### **1-4-1 Cellules de Sertoli – Cellules germinales**

- Les cellules de Sertoli libèrent des médiateurs responsables de la régulation des cellules germinales.
- Les spermatides secrètent des facteurs de croissance EGF (Epithelial Growth Factor), NGF (Nerve Growth Factor) qui régulent le fonctionnement des cellules de Sertoli.
- Corps résiduels des spermatides matures assurent la stimulation des cellules de Sertoli qui libèrent des interleukines (IL-1, IL-6).

#### **1-4- 2 Cellules de Sertoli – Cellules de Leydig**

- La production de testostérone par les cellules de Leydig est modulée par des facteurs libérés par les cellules de Sertoli (IGF 1 ou Insulin Growth Factor-1 stimule la stéroïdogénèse ; TGF b ou Tumor Growth Factor b l'inhibe).
- L'élaboration de facteurs paracrines par les cellules de Leydig provoquent la sécrétion d'ABP et d'inhibine par les cellules de Sertoli. [3].

## **2- Voies excrétrices**

### **2-1 Voies spermatiques intra-testiculaires**

Elles comprennent :

**2-1-1 Tubes droits** : Courts segments de 25  $\mu\text{m}$  de diamètre faisant suite aux tubes séminifères. Un tube droit reçoit 5 à 6 tubes séminifères. Les tubes droits assurent la jonction entre les tubes séminifères et le rete testis.

**2-1-2 Rete testis** : Encore appelé réseau de Haller : cavités communicantes entre elles tapissées par un épithélium cubique bas dont le pôle apical présente des microvillosités. [3].

### 2-2 Canaux ou cônes efférents

Les canaux efférents comportent une petite portion intra testiculaire et une autre extra testiculaire. Ils sont de 10 à 12 canaux, de 20 cm de long sur 0,2 mm de diamètre, assurant le transport des spermatozoïdes du rete testis à la tête de l'épididyme ; pour ce faire, ils traversent l'albuginée, s'enroulent en spirale dont les tours de plus en plus larges dessinent un cône à tête testiculaire et à base épидидymaire ; Ces cônes sont séparés les uns des autres par un tissu conjonctif lâche bien vascularisé. [2,3].

### 2-3 Le canal épидидymaire

Il est contenu dans l'épididyme, organe encapsulé de 5 cm de long sur 1 cm de large, en forme de virgule, accolé à la face postérieure du testicule ; l'épididyme comprend une tête dans laquelle pénètrent les cônes efférents, un corps et une queue d'où émerge le canal déférent ; il contient la totalité du canal épидидymaire très pelotonné, soit environ 5 mètres (sur 0,5 mm de diamètre) ; [2].

L'épididyme possède deux fonctions principales :

\* **Une fonction de transport des spermatozoïdes** : la durée du trajet des spermatozoïdes le long de l'épididyme est de 3 jours.

\* **Une fonction de maturation de spermatozoïdes** : grâce à la synthèse de nombreux produits (carnitine, glucosidase) responsables d'une modification moléculaire de la membrane plasmique des spermatozoïdes (propriétés de fécondance ; capacité de mobilité unidirectionnelle ; aptitude à se fixer sur la membrane pellucide). [2, 3].

### 2-4 Le canal déférent

Tube à trajet vertical, de 45 cm de long pour 2 à 3 mm de diamètre faisant suite à l'épididyme. Le canal déférent se termine par une région dilatée, l'ampoule déférentielle (stockage des spermatozoïdes), bordée par un épithélium prismatique simple au niveau de laquelle s'abouche les vésicules séminales Il se poursuit par le court canal éjaculateur qui rejoint l'urètre prostatique. Le canal déférent joue un rôle primordial au moment de l'éjaculation. (Figure -1- ). [2,3].



### 3- Urètre

L'urètre prend naissance à la partie inférieure de la vessie et s'ouvre à l'extrémité du pénis par le méat urogénital ; il mesure entre 20 et 25 cm et comprend trois segments : l'urètre prostatique, l'urètre membraneux appelé aussi urètre périnéal, et l'urètre spongieux ou urètre pénien. L'urètre assure l'évacuation de l'urine lors de la miction et véhicule le sperme lors de l'éjaculation. [2].

### 4- Le pénis

Le pénis est constitué de trois organes érectiles :

- Le corps spongieux, médian, entoure l'urètre.
- Les corps caverneux : demi-cylindres séparés par une cloison conjonctive
- Les corps spongieux et caverneux sont entourés par une albuginée riche en cellules musculaires lisses. (Figure -7- ).

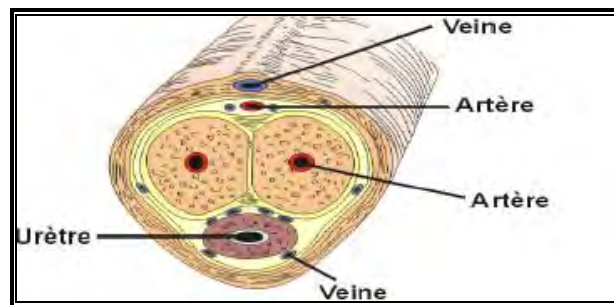


Figure 7 : Constitution du pénis. [Gilles Bourbonnais, 2003].

### 5- Glandes annexes

#### 5-1 Vésicules séminales

Organes pairs, en forme de sac. Elles élaborent une grande partie du plasma séminal qui constitue le volume principal de l'éjaculat. Il renferme :

- De l'eau et des électrolytes.
- Des sucres comme le fructose pour la nutrition des spermatozoïdes.
- Des protéines comme la lactoferrine qui rentre dans la composition du SCA (Sperm Coating Antigen) et empêchent l'agglutination des spermatozoïdes.
- Des prostaglandines.

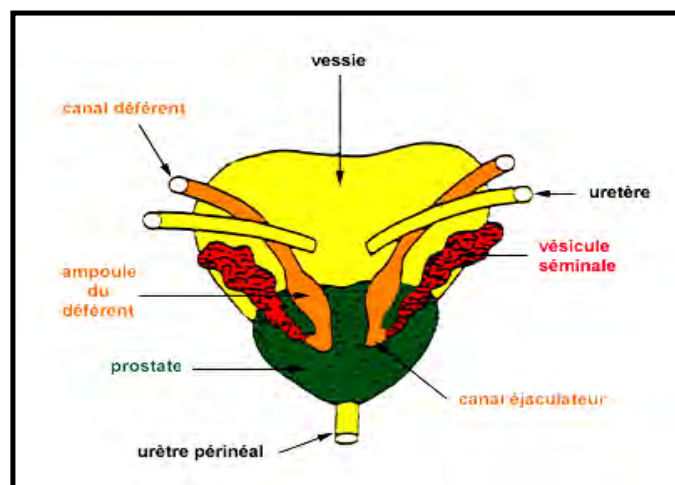
### 5-2 Prostate

Glande exocrine unique d'une vingtaine de grammes. Elle est constituée par une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires ramifiées dont les canaux excréteurs s'abouchent dans l'urètre prostatique. Ces glandes sont disposées en 3 groupes concentriques : glandes de la muqueuse, glandes de la sous-muqueuse, glandes principales. Elle est responsable des sécrétions qui entrent dans la composition du plasma séminal et des sécrétions andrénodépendantes de nature variée (acide citrique, zinc, enzymes protéolytiques, phosphatases acides,...). [3].

### 5-3 Glandes de Cowper

Glandes tubulo-alvéolaires, de la taille d'un petit pois, d'aspect lobulé s'abouchant dans l'urètre membraneux. La sécrétion de cette glande est de type mucoïde responsable :

- De la lubrification de l'urètre avant l'éjaculation ;
- De la protection des spermatozoïdes contre l'urine acide. (Figure -8- ). [2,3].



**Figure 8 : Les glandes Annexes [Nicole VACHERET, 1999].**

## II- La spermatogénèse

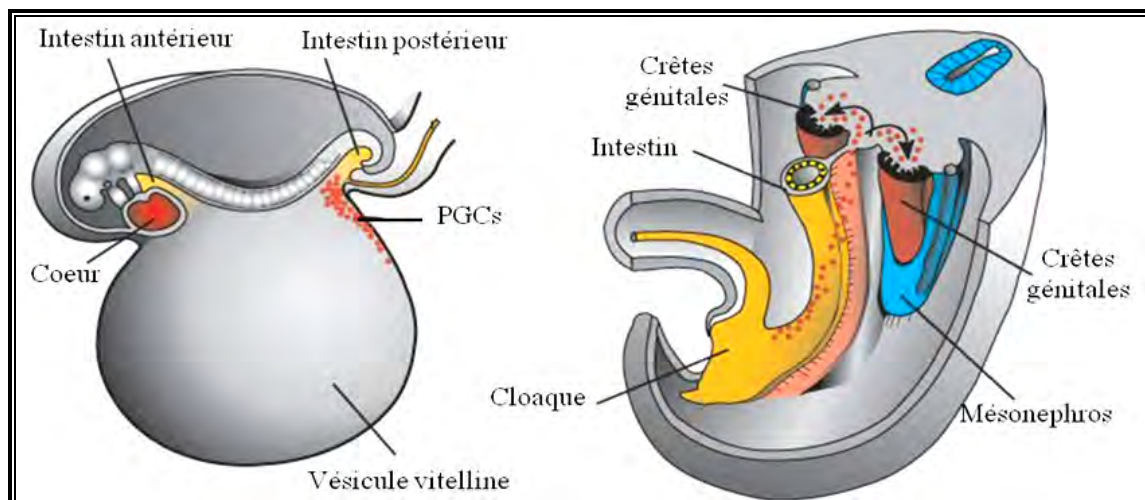
La spermatogénèse est l'ensemble des phénomènes qui aboutissent à la formation des spermatozoïdes [3] ; elle est déclenchée à la puberté par les hormones hypophysaires sous l'influence de l'hypothalamus, atteint son maximum vers 20 à 30 ans, ralentit progressivement vers la quarantaine mais peut se poursuivre jusqu'à un âge avancé. Elle a lieu dans les tubes séminifères des testicules pubères. La spermatogénèse est un processus lent et continu demandant 74 jours environ chez l'homme. Elle est permanente et non cyclique comme l'ovogénèse. [2].

C'est un processus de prolifération contrôlée dans le temps et dans l'espace dont les gènes de régulation sont encore mal connus. [6].

### 1-Ontogénèse de la spermatogénèse

#### 1-1 Origine des cellules germinales

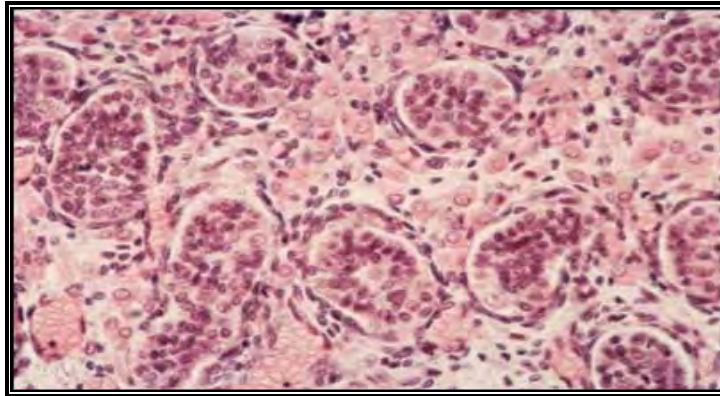
Dans les deux sexes, elles apparaissent dans la paroi postérieure de la vésicule vitelline et migrent vers la région du mésonephros (rein intermédiaire) pour former les crêtes génitales : future gonade primitive indifférenciée. (Figure -9- ). [7,8, 9].



**Figure 9 : Origine des cellules germinales [Jean Pierre Siffroi, 2001].**

### 1-2 Évolution des cellules germinales

Dans le sexe mâle, la différenciation de la gonade primitive en testicule aboutit à la formation de cordons séminifères, c'est à dire de cordons épithéliaux composés de cellules germinales (les spermatogonies, qui subissent une période de multiplication puis vont bloquer leur maturation au stade de futures cellules souches de la spermatogenèse) et de cellules somatiques ou cellules de Sertoli. [7, 8,9]. (Figure -10- ).



**Figure 10 : Évolution des cellules germinales. [Jean Pierre Siffroi, 2001].  
(grossissement X 40).**

Cette détermination des gonades indifférenciées en testicule implique une cascade de gènes évoluant au sein des gonades. Les gènes WT1 (Wilms Tumor 1) et SF1 (Steroidogenic Factor) agissent précocement. Ils sont nécessaires à la transformation du mésoderme intermédiaire en crêtes urogénitales et en gonades indifférenciées. En aval de ces gènes, SRY (Sex-determining Region Y-chromosome) et SOX9 (SRY-type HMG-box gene 9) permettent la différenciation des cellules de Sertoli dans les gonades à caryotype (46, XY). En plus de son rôle précoce, SF1 participe à la détermination testiculaire en régulant l'expression de l'AMH (Anti Müllerien Hormone) dans les cellules de Sertoli et stimule la production de testostérone dans les cellules de Leydig. [10].

Sous l'influence de la testostérone, les canaux de Wolff se différencient en épididymes, canaux déférents et éjaculateurs. Ils sont reliés aux testicules par les canaux efférents apparus à partir des tubes néphrotiques. Dans leur développement, le gène CFTR (CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Receptor : gène de la mucoviscidose) pourrait avoir également un rôle important. [11].

## 2- Les phases de la spermatogenèse

Dans les tubes séminifères adultes, les différentes couches de cellules germinales représentent les phases de la spermatogenèse qui s'effectue de façon centripète, depuis la spermatogonie située contre la membrane basale jusqu'au spermatozoïde libéré dans la lumière : On distingue quatre stades dans l'espèce humaine.

### 2-1 Phase de multiplication

Les spermatogonies se multiplient par mitoses somatiques normales ; la spermatogonie à chromatine sombre Ad (dark) se divise en deux cellules filles : une cellule Ad qui assure le renouvellement des cellules souches et une cellule Ap à chromatine pâle ; la cellule Ap est la cellule initiale de la spermatogenèse : elle se divise en 2 spermatogonies B à chromatine en gros gains irréguliers et au nucléole bien visible.

### 2-2 Phase d'accroissement

Les spermatocytes I résultent de la division somatique des spermatogonies B ; ils augmentent de volume puis ils sont le siège de la première division de la méiose (méiose I), appelée classiquement méiose réductionnelle ( $n$  chromosomes).

### 2-3 La méiose

La méiose est un phénomène complexe analysable sur 3 aspects différents mais étroitement liés :

- \* **Aspect cytologique** : les différentes phases de la méiose.
- \* **Aspect chromosomique** : appariement et ségrégation des chromosomes.
- \* **Aspect génétique** : les recombinaisons et le brassage des gènes. [7,9]. (Figure -11- ).



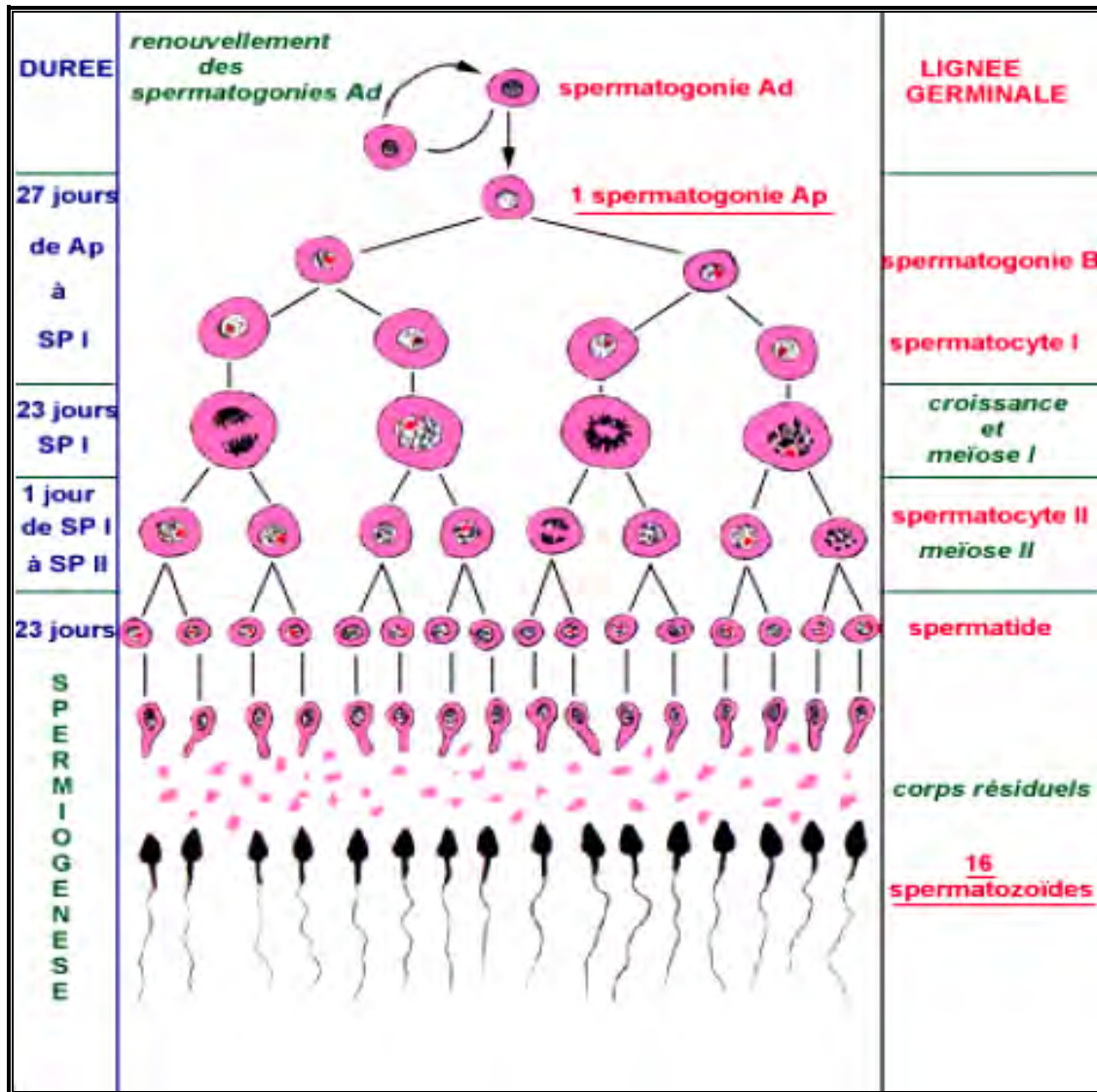


Figure 11 : Les phases de la spermatogénèse. [Nicole VACHERET, 1999].

## 2-4 La spermiogénèse

Les spermatides subissent une différenciation radicale (il n’y a plus de division cellulaire) qui leur fait acquérir les caractéristiques cellulaires indispensables pour les rendre aptes à la fécondation. Elle s’effectue selon 4 étapes. [2, 3,7]. (Figure -12- ).

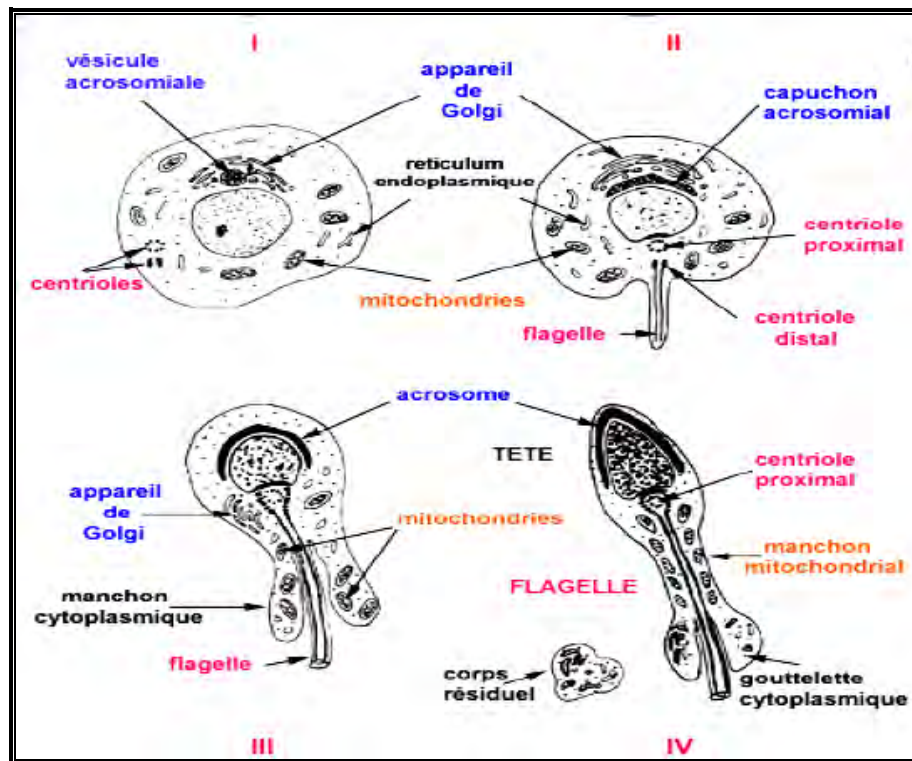


Figure 12 : Les étapes de la spermiogenèse. [Nicole VACHERET, 1999].

### 2-4-1 Spermatozoïde et sperme

#### ✚ Le spermatozoïde

Cellule arrivée à maturation se détache de la cellule de Sertoli et est libérée dans la lumière du tube séminifère. Le spermatozoïde a pour fonction d'assurer la fécondation, c'est-à-dire de faire pénétrer dans l'ovocyte son contenu génétique, d'activer l'ovocyte et de permettre les premières étapes de la division de l'œuf fécondé ou zygote. [3].

#### ✚ Le sperme

Milieu biologique complexe et hétérogène, il associe des éléments cellulaires, spermatozoïdes et "cellules rondes", au plasma séminal. Les cellules rondes du sperme sont soit des cellules germinales immatures, soit des cellules d'origine sanguine (granulocytes, lymphocytes). Le plasma séminal est constitué principalement par les sécrétions des glandes annexes du tractus génital, les vésicules séminales et la prostate. [12].

### 3- Déterminisme génétique des gonades

La présentation du fonctionnement des gonades mâles conduit à poser la question du contrôle de leur fonctionnement. En plus des contrôles neuroendocrines de la spermatogenèse, le contrôle génétique constitue une part importante des recherches du domaine. [13].

Les études récentes sur ce contrôle montrent qu'au moins 7 gènes interfèrent avec le développement sexuel normal, le mécanisme est encore mal connu.

Le sexe génétique XX ou XY de l'embryon est établi dès la fécondation de l'ovocyte haploïde, porteur du chromosome X, par un spermatozoïde, également haploïde, porteur d'un chromosome X ou Y. Ce sexe génétique conditionne le sexe gonadique, c'est-à-dire détermine l'orientation gonadique en testicule lorsque le sexe génétique est XY, en ovaire lorsqu'il est XX. [14].

#### 3-1 Gènes de la détermination gonadique

##### 3-1-1 Gène de détermination testiculaire : SRY

Le fait que la détermination des testicules dépende de la présence d'un chromosome Y est connu depuis le début des années 60, et a été déduit de l'observation d'anomalies chromosomiques : des humains 45, XO (Turner). De plus, un caryotype humain 47, XXY (Klinefelter) entraîne un phénotype mâle. Ceci prouve que, chez les mammifères, la détermination des testicules dépend de la présence d'un chromosome Y et non du nombre de chromosome X. [10].

L'identification du gène SRY a été réalisée en 1989, grâce à l'étude d'individus humains dont le sexe phénotypique est en discordance avec le sexe chromosomique ; hommes possédant deux X (46, XX) ou femmes possédant un X et un Y (46, XY). Ces individus phénotypiquement mâles et porteurs d'un caryotype 46, XX, renfermaient dans leur génome une séquence provenant du chromosome Y. L'analyse de ce segment d'ADN montra une séquence codante (ORF ou Open Reading Frame) qui fut appelée : "région déterminant le sexe" du chromosome Y ou SRY.

Ce gène est situé sur le bras court du chromosome Y humain au voisinage immédiat de la région pseudoautosomique et présente les caractéristiques suivantes :

- Ne contient pas d'introns et code pour une protéine de 204 acides aminés ;
- Ce gène est conservé sur le chromosome Y de nombreuses espèces de mammifères.

### Période d'expression et mode d'action de SRY

L'expression de SRY est restreinte aux cellules somatiques de la gonade embryonnaire (les cellules de la crête génitale). Au cours du développement de l'embryon, les gonades se développent de façon similaire chez les deux sexes, jusqu'au moment où l'expression de SRY est déclenchée. À ce moment, si l'expression de SRY a bien lieu, la gonade se développe en testicule par la différenciation des cellules de Sertoli et la formation de cordons testiculaires. Toutefois, en absence d'expression de SRY, la gonade se développe en ovaire. Dans le testicule adulte, ce gène s'exprime dans les cellules germinales méiotiques et post-méiotiques.

La protéine SRY humaine se compose de 204 acides aminés. Elle possède un domaine permettant sa liaison à l'ADN. Ce domaine, homologue à celui des protéines du HMG (High Mobility Group) définit une nouvelle famille de gènes appelé SOX qui interviennent dans de nombreux processus de développement ; Elle se lie spécifiquement, par ce domaine renfermant environ 80 acides aminés, à l'ADN bicaténaire portant la séquence 5'A/TAACAAA/T 3'. Après fixation de cette protéine, la molécule d'ADN subit une courbure de 70 à 80° dans la direction du grand sillon. Cela pourrait permettre le rapprochement et l'interaction entre des facteurs de transcription fixés sur le ou les gènes cibles de SRY, dont les sites de liaison sont éloignés les uns des autres. [14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,21].

Suite à l'action du gène SRY, une cascade d'autres gènes est activée dans le testicule.

**3-1-2 Les autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire** (Tableau 2 : annexe).

### 3-2 Les Gènes de la spermatogenèse

C'est principalement sur le bras long du chromosome Y (Yq) que se trouvent les gènes nécessaires à la spermatogenèse, candidats pour être impliqués dans l'infertilité masculine d'origine génétique.

#### 3-2-1 Le chromosome Y

##### L'origine du chromosome Y

Les mammifères ont un système chromosomique XX/XY dans lequel le chromosome Y est indispensable pour le développement correct des fonctions masculines. En plus du gène SRY, le chromosome Y porte également plusieurs gènes importants pour la spermatogenèse. D'un point de vue évolutif, les études comparatives des chromosomes X et Y suggèrent que le chromosome Y a été homologue au chromosome X. Les petits chromosomes ancestraux X et Y ont été ensuite modifiés par la combinaison de plusieurs mécanismes : l'addition de gènes autosomiques, de multiples recombinaisons et une "usure" des gènes du chromosome Y. Cette évolution des chromosomes sexuels expliquerait la présence des parties télomériques communes aux deux chromosomes et présenterait les deux régions pseudo-autosomiques comme des reliques de cette homologie. [6].

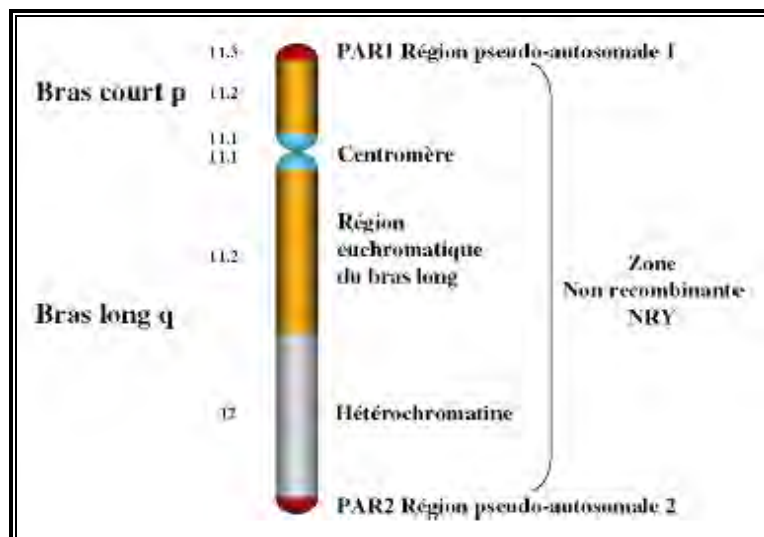
##### L'organisation du chromosome Y

Chez l'homme, le chromosome Y représente seulement 2 à 3 % du génome et se compose largement de séquences répétées (gènes, pseudo-gènes, séquences rétrovirales endogènes). Le chromosome Y est un chromosome télocentrique qui contient un bras court (Yp) et un bras long (Yq) séparés par une région centromérique essentielle pour la ségrégation chromosomique. Des études cytogénétiques ont permis d'identifier trois régions : les régions pseudo-autosomiques PAR (Pseudo Autosomic Region), (PAR1 et PAR2), la région euchromatique et la région hétérochromatique. (Figure -14- ).

Les régions pseudo-autosomiques correspondent aux régions du chromosome Y qui s'apparient au chromosome X durant la méiose et entraînent des échanges de matériel génétique à la suite de crossing-over. Ainsi les gènes localisés dans les régions PAR1 et PAR2 se comportent, en génétique formelle, comme des gènes autosomiques. Cependant la



grande majorité du chromosome (95 %) est spécifique du chromosome Y ; appelée région NRY (Non Recombining Y region). Cette région représente la seule région génomique haploïde du génome humain. Elle contient l'hétérochromatine et aussi l'euchromatine de ce chromosome. L'hétérochromatine est supposée inerte génétiquement et composée principalement de deux familles de séquences hautement répétées, DYZ1 et DYZ2, contenant respectivement environ 5 000 et 2 000 copies chacune. En revanche, la région euchromatique Y, si elle contient aussi de nombreuses séquences hautement répétées, renferme également des gènes impliqués dans le déterminisme du sexe, le contrôle de la taille, la spermatogenèse, la formation de gonadoblastome ou encore des gènes dont la délétion entraîne des symptômes turnériens. [6,20].



**Figure -13- Structure du chromosome Y [C. Ravel, 2006].**

### ✚ Chromosome Y et fonctions masculines

Plusieurs gènes portés par le chromosome Y sont supposés avoir des fonctions spécifiquement masculines comme le déterminisme sexuel et la spermatogenèse. En effet, dans les années 1970, des réarrangements importants du chromosome Y ont été observés dans le caryotype d'hommes atteints d'azoospermie sécrétoire. Les anomalies décrites comprenaient une délétion de la majeure partie du bras long du chromosome Y. Ces observations établies sur de nombreux patients ont conduit à l'hypothèse de l'existence d'un facteur, nommé AZF (AZoospermia Factor), indispensable à la spermatogenèse et codé par plusieurs gènes portés

par le chromosome Y. Les travaux de Vogt et al, portant sur 370 hommes stériles, ont permis de dénombrer 3 loci différents sur le chromosome Y, nommés AZFa, AZFb et AZFc. La biologie moléculaire a permis la subdivision du chromosome Y en 7 régions. [6, 22,23].

### **3-2-2 Gènes et familles de gènes sur les régions AZFa, AZFb et AZFc**

Entre 15 et 20 gènes essentiels à la spermatogénèse sont localisés sur la portion non recombinante de l'Yq. Ils sont divisés en 2 catégories, d'un côté les gènes ubiquitaires possédant un homologue sur le chromosome X et d'un autre côté, les gènes dits "testiculaires" qui sont Y-spécifiques.

#### **Locus AZFa**

Le locus AZFa est situé dans la région proximale de l'intervalle 5, sa taille est d'environ 3 Mb (Méga bases). 3 gènes y sont localisés : DFFY (Drosophila Fat Facet, Y-linked), DBY (DEAD box, Y chromosome) et UTY (Ubiquitously Transcribed tetratricopeptide repeat, Y chromosome). Le gène DFFRY (159 kb) est localisé dans la partie centrale d'AZFa et possède un homologue sur le chromosome X (DFFRX) avec lequel il partage environ 89 % d'homologie de séquence. Son expression est ubiquitaire (testicule, rétine, muscle, poumon, foie) [23]. Le gène DBY, en aval de DFFRY, a lui aussi un homologue sur Xp11.3 et il est également exprimé de façon ubiquitaire. Les délétions de DFFRY et DBY ont le plus souvent comme conséquence clinique une hypospermatogénèse sévère [22-27].

#### **Locus AZFb**

La région AZFb s'étend entre l'intervalle de délétion 5 et la région proximale de l'intervalle de délétion 6. Sa taille est estimée entre 1 et 3 Mb. Actuellement, 5 gènes ont été décrits dans cet intervalle : RNA-binding motif (RBM, précédemment appelé YRRM), chromodomaine Y (CDY), XK related Y (XKRY), eucaryotic translation initiation factor 1A (eIF-1A) et selected mouse cDNA on Y (SMCY). RBM, CDY et XKRY ont de multiples copies sur le bras long du chromosome Y. L'expression des gènes RBM sont testiculaires spécifiques, ce qui suggère leur importance dans le déroulement de la spermatogénèse.

### Locus AZFc

La région AZFc précédemment appelée région minimale AZF, est localisée à proximité de l'hétérochromatine. Sa taille est approximativement de 1,4 Mb et contient les gènes DAZ (deleted in azoospermia), deux copies de PTP-BL related Y (PRY), basic protein Y2 (BPY2), testis transcript Y2 (TTY2), des copies de CDY, RBM. DAZ est le gène le plus fréquemment délété dans les infertilités masculines par trouble de la spermatogénèse. Il a été identifié en 1995 et contient en fait 4 copies (DAZ 1, DAZ 2, DAZ 3, DAZ 4) [23]. Sa taille est comprise entre 50 et 70 kb (kilo bases). Il s'exprime uniquement dans la lignée germinale du testicule. [6, 21-27].

### **3-2-3 Origine des délétions de l'Yq**

À part quelques rares délétions héritées du père, la très grande majorité correspond à des événements de novo. Il est probable qu'il s'agit d'une anomalie de la méiose mâle ou de la gamétogénèse mais on ne peut exclure que ces délétions aient aussi lieu au stade très précoce de l'embryogénèse avec un défaut de formation des spermatogonies chez le fœtus. Cela peut entraîner un mosaïcisme germinale. [6].

### **3-2-4 Mécanisme des délétions**

La fréquence relativement élevée des délétions suggère que le chromosome Y est susceptible de perdre du matériel génétique. La nature du mécanisme de ces pertes est aujourd'hui spéculative. Une possibilité est une recombinaison inégale entre séquences répétées (par exemple les séquences Alu) entre les chromosomes X et Y ou entre chromatides sœurs du chromosome Y lui-même. L'instabilité du chromosome Y peut donc être liée à la haute fréquence de séquences répétées qu'il contient. [6].

### III- Classification étiologique de l'infertilité masculine

La fertilité masculine naturelle dépend de la qualité du sperme et de la perméabilité des voies excrétrices séminales. En cas d'anomalies, les explorations cliniques et biologiques de l'homme au sein du couple infertile doivent en rechercher l'étiologie. Plusieurs classifications de l'infertilité masculine sont établies en fonction des données du spermogramme et du niveau de l'atteinte ou alors sur les données physiopathologiques.

#### 1. Classification selon le nombre de spermatozoïdes

##### 1.1 L'azoospermie

L'azoospermie se définit comme l'absence de spermatozoïde dans le liquide séminal lors de la réalisation d'au moins trois spermogrammes pratiqués dans des conditions optimales ; on parle :

- **D'azoospermie sécrétoire** ; si l'anomalie est une absence totale ou partielle de la spermatogenèse.
- **D'azoospermie excrétoire** ; si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididymes, canaux déférents, canaux éjaculateurs). [28,29].

La recherche de l'origine excrétoire ou sécrétoire de cette azoospermie s'appuie sur plusieurs paramètres :

- **Les dosages plasmatiques de la FSH** : le taux de FSH est le plus souvent augmenté en cas d'azoospermie sécrétoire et semble normal lorsque la lignée germinale est conservée. Cependant les azoospermies normo-gonadotrophiques posent un réel problème étiologique car il existe des azoospermies sécrétoires à FSH normale.
- **Les dosages des marqueurs séminaux (L-carnitine et la glucosidase, le citrate, le zinc ou les phosphatases acides)** : dans l'éjaculat, le dosage de ces marqueurs séminaux permet dans certains cas d'affirmer l'origine d'une azoospermie. Ceux ci sont normaux dans les azoospermies sécrétoires et pourront être perturbés en cas d'obstruction du tractus génital. [28].

### **1-2 L'oligozoospermie**

L'oligozoospermie correspond à une faible quantité de spermatozoïdes dans le sperme (inférieure à 20 millions de spermatozoïdes par ml ou inférieure à 40 millions par éjaculat et inférieure à 5 millions par ml en ce qui concerne l'oligospermie sévère). Elle représente le cas le plus fréquent de l'infertilité masculine (l'azoospermie est retrouvée dans 20 % des cas, alors qu'une oligozoospermie dans 60 %).

Elle est rarement isolée et souvent associée avec une asthénospermie (anomalie de la mobilité) et/ou une tératozoospermie (formes anormales). Cette oligozoospermie peut avoir plusieurs étiologies. (Tableau 1 : annexe). [28,29].

## **2- Classification en fonction du lieu de l'atteinte et du mécanisme physiopathologique**

### **2-1 Atteinte pré testiculaire**

Elle peut être soit d'origine endocrine par insuffisance gonadotrope congénitale ou acquise, soit par troubles du coït.

#### **1- Anomalie endocrine congénitale**

##### **1-1 Hypogonadisme d'origine hypothalamo-hypophysaire**

###### **1-1-1 Anomalie hypothalamique**

###### **🚩 Syndrome de Kallmann**

Le syndrome de Kallmann est défini par l'association d'un déficit gonadotrope congénital et d'une anosmie. [30]. Son incidence est de 1 pour 10 000 hommes. Il représente la cause la plus fréquente de déficit en hormones gonadotropes chez l'homme. [31].

Kallmann, généticien de formation, a démontré le caractère familial de cette maladie. En dehors des cas sporadiques qui sont les plus fréquents, trois modes de transmission ont été décrits dans les formes familiales : récessive liée au chromosome X (KAL-1) ; autosomique dominante (KAL-2) et autosomique récessive (KAL-3) [32]. Le ou les gènes responsables du



syndrome de Kallmann transmis sur le mode autosomique n'ont pas été découverts jusqu'à présent. Seules des anomalies chromosomiques ont été décrites chez ces patients, en particulier des translocations entre les chromosomes 7 et 12 ou, plus récemment, des réarrangements complexes impliquant les chromosomes 3, 9, 12, 13, 15 et 21. [33].

Quant au gène KAL-1 lié à l'X, il a été localisé, il y a plus de 10 ans, au niveau du bras court du chromosome X (à 9 Mb de l'extrémité Xp télomérique), près de la région pseudoautosomique en Xp22.3. Il a une taille comprise entre 120 et 200 kb et est formé des 14 exons. [34].

La protéine produite par KAL est l'anosmine qui possède des propriétés d'adhésion cellulaire neuronale. Cette protéine va permettre, durant l'embryogenèse, la migration des neurones à GnRH (en présence des nerfs olfactifs) de la plaque olfactive vers l'hypothalamus. Les patients présentent un retard pubertaire lié à l'absence de sécrétion de GnRH par l'hypothalamus avec pour conséquence l'absence de synthèse d'LH et d'FSH par l'hypophyse. Il n'y a donc ni sécrétion d'androgènes, ni spermatogenèse. [34].

### **Hypoplasie congénitale surrénalienne ou HCS**

Les hommes, atteints d'hypoplasie congénitale surrénalienne, présentent dès l'enfance des signes d'insuffisance surrénalienne (gluco et minéralocorticoïde). Il peut y avoir une cryptorchidie ou un phénotype féminin. L'existence concomitante d'HCS et de la maladie de Duchenne et/ou d'un déficit en glycérol-kinase a suggéré l'existence d'une délétion en Xp 21.

Le gène de l'HCS a donc été cloné dans la région DSS (Dosage Sensitive Sex-reversal) en Xp 21. Il code pour une protéine de 470 acides aminés membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. La présence de ce récepteur est indispensable au développement de l'hypophyse "gonadotrope" et du cortex surrénalien. Des délétions et plus de 50 mutations ont été rapportées sur ce gène. La majorité de ces mutations sont des mutations non sens situées à la partie C-terminal du gène. [30,34].

### **Mutations du gène de la leptine et de son récepteur**

La leptine est une hormone peptidique, codée par le gène ob et produite essentiellement par les adipocytes. Son rôle principal est la régulation de graisse par des effets hypothalamiques qui modulent la satiété et la dépense énergétique. Cette hormone agit à travers un récepteur membranaire membre de la famille des récepteurs des cytokines.

Les mutations touchant ce gène entraînent un retard pubertaire irréversible associé à une testostéronémie et des hormones gonadotropes basses. [30].

### **Syndrome de Prader Willi**

La cause de l'hypogonadisme n'est pas totalement élucidée, mais il existe une diminution de la sécrétion d'FSH et d'LH due à un manque de synthèse de GnRH. Il est lié au dysfonctionnement d'un mécanisme génétique consistant à n'activer la transcription d'un gène qu'en présence des 2 allèles maternel et paternel : C'est le mécanisme de l'empreinte génétique, en cas de délétion ou de disomie uniparentale (2 chromosomes venant du même parent), le gène n'est pas transcrit. [30,35].

## **1-1-2 Anomalie hypophysaire**

### **Mutations du gène du récepteur à la GnRH**

Devant l'absence d'anomalie du gène de la GnRH jusqu'ici démontrée, un dysfonctionnement du récepteur de la GnRH pouvait être responsable d'une sécrétion insuffisante de gonadotrophines et donc d'un déficit gonadotrope isolé. Le gène du récepteur de la GnRH a été cloné, il code pour un récepteur à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G. Ce gène, qui comprend trois exons, est localisé sur le bras long du chromosome 4.

Plusieurs mutations du gène du récepteur à la GnRH (4q21) ont été décrites. Les mutations ont pour conséquence une baisse de production d'IPS (Inositol-Triphosphate), reflétant une diminution de la transduction du signal. Cliniquement, les patients présentent un retard pubertaire avec une diminution de la libido, un micro-pénis et des testicules de petit volume. Les taux d'FSH et d'LH sont bas. [30,35].

### **Dysplasie septo-optique (Syndrome de de Morsier)**

La dysplasie septo optique est une malformation du cerveau qui regroupe un ensemble d'anomalies avec une hypoplasie des nerfs optiques, une hypoplasie de l'hypophyse et une agénésie du septum pellucidum avec ou sans agénésie du corps calleux. L'incidence est de 1 enfant sur 10 000. Cette pathologie est peut-être liée à une mutation (Arg 53 Lys) du gène HESX1 (3p 21). [30].

### **Déficit isolé en LH**

La LH est un hétérodimère composé d'une sous unité  $\beta$ -commune à FSH, LH et hCG et d'une sous unité spécifique de la LH. Cliniquement, les patients hétérozygotes sont infertiles mais phénotypiquement normaux. Les patients homozygotes présentent un retard pubertaire en plus de l'infertilité. Les biopsies testiculaires montrent un arrêt de la spermatogenèse et l'absence de cellule de Leydig. Le dosage de l'activité de la LH montre une hormone inactive, bien que présente en quantité normale. [37,38].

### **Déficit isolé en FSH**

Les mutations décrites concernent la sous-unité  $\beta$  de l'FSH, il s'agit de délétions qui produisent une protéine tronquée. Ces mutations sont responsables de l'azoospermie associée ou non à un retard pubertaire. [39].

### **Mutations du gène PROP1**

Le facteur de transcription PROP1 (Prophet of Pit-1) est une protéine exprimée spécifiquement au niveau de l'hypophyse pendant la vie embryonnaire. À ce niveau, elle contrôle l'expression du facteur Pit-1 qui est responsable du développement des cellules lactotropes, thyrotropes et somatotropes chez le fœtus. Les mutations de ce gène provoquent des déficits hypophysaires combinés. [30].

## **1-2 Troubles du métabolisme des stéroïdes**

### **1-2-1 Hyperplasie congénitale des surrénales**

#### **Déficit en facteur StAR : l'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales**

L'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales est une affection autosomique récessive caractérisée par un déficit de synthèse des hormones stéroïdes surrénaliennes et gonadiques.

Les enfants atteints présentent une perte de sel sévère avec acidose hyperkaliémique et déshydratation létale en absence de traitements. De plus, les individus (46, XY) présentent une inversion sexuelle du fait de l'absence de synthèse de testostérone.

Le rôle principal de StAR dans la stéroïdogénèse a été confirmé par la découverte d'une mutation responsable d'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales avec absence totale de synthèse des hormones stéroïdes. [30].

### **Déficit du cholestérol desmolase**

Cette enzyme de la famille des cytochromes P450 convertit le cholestérol en pregnenolone. Elle est codée par un gène unique situé en 15q 23-24 [40] et constitué de 9 exons sur 20 kb [41]. Son déficit se traduit par l'absence de synthèse des hormones stéroïdes au niveau surrénalien et testiculaire. L'incapacité de fabriquer des hormones sexuelles interrompt le développement des organes sexuels. [42].

### **Déficit de la 17 alpha hydroxylase**

Enzyme de la famille des cytochromes P450, la 17 alpha hydroxylase ou CYP 17 permet la conversion de la pregnenolone en 17 alpha hydroxypregnenolone. Cette enzyme de part son activité 17,20-lyase transforme la 17 alpha hydroxypregnenolone en DHEA (DeHydroEpiAndrosténone) [42]. C'est une protéine de 508 acides aminés (57 kDa), codée par un gène (8 exons sur 6,7 kb) situé en 10q 24.3. La transmission est autosomique récessive. [40].

### **Déficit de la 3 beta hydroxystéroïde déshydrogénase**

La transformation des 5-3 beta hydroxystéroïdes (pregnenolone, 17 hydroxypregnenolone et DHEA) en delta 4-3 céstéroïdes (progesténone, 17 hydroxyprogesténone et androsténone) est réalisée par la 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase. Le déficit en 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase a des conséquences sur la synthèse des gluco- et minéralocorticoïdes et sur celle des hormones sexuelles. [43].

### **Déficit de la 21 hydroxylase**

C'est la cause la plus fréquente d'hyperplasie congénitale des surrénales (90 %) avec une incidence de 1 sur 10 000 naissances. Cette pathologie se traduit par la surproduction de précurseurs du cortisol, et en particulier des 17 hydroxypregnenolone et 17 hydroxyprogesténone, qui sont ensuite métabolisés par le CYP 17 en DHEA et en androsténone puis en testosténone. Cet excès d'androgènes d'origine surrénalienne provoque un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse. Ce qui diminue les sécrétions d'FSH et d'LH et entraîne un hypogonadisme [44]. La transmission de cette pathologie est monogénique autosomique récessive et liée au groupe HLA (Human Leukocyte Antigen). Le gène codant pour la 21 hydroxylase est CYP 21 dont il existe une forme pseudogénique CYP

21P, les deux formes étant localisées en 6p 21.3. Chaque forme contient 10 exons sur 3,1 kb. Les nombreuses mutations du gène CYP 21 résultent apparemment soit d'un crossing-over inégal durant la méiose entre CYP 21 et CYP 21P, soit d'une conversion par transfert de mutations normalement présentes dans CYP 21P vers CYP 21. [45].

### **Déficit en 11 alpha hydroxylase**

Ce déficit provoque la même pathologie que celle de la 21 hydroxylase. Sa fréquence est de 1 sur 100 000 naissances soit 5 à 8 % des hyperplasies congénitales des surrénales [46]. Il existe 2 isoenzymes codées par 2 gènes différents (CYP 11B1 et CYP 11B2) situés en 8q21-q22 contenant chacun 9 exons sur 7 kb. Des mutations faux-sens, non sens ainsi que des délétions et insertions provoquant un décalage du cadre de lecture ont été décrites. [47].

## **1-2-2 Anomalies de synthèse des androgènes**

### **Déficit en 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase**

La 17  $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase permet de transformer l'androsténone en testostérone. Plusieurs enzymes ayant une activité 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase ont été identifiées selon le tissu considéré. Affection rare, héréditaire à transmission autosomique récessive, elle correspond à une altération de la biosynthèse testiculaire de la testostérone. Le gène de la 17 HSD de type 3, exprimé dans le testicule, est localisé en 9q22 et code pour une enzyme de 310 acides aminés. [48].

### **Déficit de la 5 alpha réductase de type 2**

Il existe deux 5 -réductases (5 R) :

- La 5 R de type 1, responsable de la synthèse de DHT (DiHydroTestostérone) dans le foie et la peau. [49].
- La 5 R de type 2, qui assure la conversion de la testostérone en DHT au niveau des organes génitaux externes et de la prostate. [49].

Le gène codant pour l'isoenzyme 2 est le SRD5A2. Il est situé en 2p 23 et contient 5 exons. [50].

Chez ces patients, la sécrétion d'androgènes est suffisante pour permettre un développement normal des vésicules séminales, des canaux déférents et des épидидymes. En revanche les organes génitaux externes, l'urètre et la prostate nécessitent la présence de DHT



pour leur développement. La spermatogenèse est réduite, mais l'infertilité est surtout liée aux anomalies anatomiques.

### **1-3 Anomalies des récepteurs hormonaux**

#### **1-3-1 Syndrome d'insensibilité aux androgènes (SIA)**

C'est la cause la plus fréquente de pseudohermaphrodisme masculin. Son incidence est d'une naissance sur 60 000. Le mode de transmission est récessif lié à l'X et des mutations du gène du récepteur aux androgènes sont en cause (Xq11-q12). En fonction du phénotype on divise cette entité en syndrome d'insensibilité complet et partielle. [51].

#### **1-3-2 Déficit des récepteurs aux hormones gonadotropes**

##### **✚ Déficit du récepteur à la LH**

Les récepteurs à la LH (2p21) font partie de la superfamille des récepteurs liés à la protéine G, qui active l'adénylate-cyclase. L'examen anatomo-pathologique des biopsies testiculaires de ces patients montrent la présence de cellules de Sertoli, mais l'absence de cellules de Leydig. [52,53].

##### **✚ Déficit du récepteur à la FSH**

C'est une cause très rare d'infertilité. Les mutations ont une action variable sur la spermatogenèse : de la cryptozoospermie à la normospermie. Les mutations responsables sont de type substitutions qui ont pour conséquence une diminution de l'affinité du récepteur à son ligand. [54].

### **2- Anomalie endocrine acquise.**

Les hypogonadismes acquis peuvent résulter d'une tumeur (adénome), d'une maladie (hyperprolactinémie) ou d'une irradiation de la zone hypothalamo-hypophysaire. Ils entraînent une perte des caractères sexuels secondaires et une infertilité. [30]

#### **2.1 Lésions suprasellaires**

Apparues dans l'enfance, elles entraînent parallèlement un déficit gonadotrope et une insuffisance somatotrope. Parmi ces lésions :

- Craniopharyngiome ;
- Germinomes ;
- Infiltrations hypothalamiques ;
- Radiothérapie ;
- Interruptions de la tige hypophysaire.

#### **2.1 Hypogonadismes hypogonadotrophiques acquis d'origine hypophysaire**

- Hémochromatose ;
- Hyperprolactinémies ;
- Adénomes hypophysaires. [30].

### **2-2 Atteinte testiculaire**

L'atteinte testiculaire est due à l'absence ou à l'arrêt de la spermatogenèse. Elle est fréquente (60 %). La FSH peut être normale ou élevée. Elle peut être chromosomique ou non chromosomique. [4].

#### **2-2-1 Anomalies chromosomiques**

Environ 6 à 13 % d'hommes stériles ont des anomalies chromosomiques (comparées à 0,6 % de la population générale). Le caryotype et la recherche de micro délétions de l'Y sont indiqués pour les patients avec une azoospermie non obstructive ou une oligospermie sévère. [4].

### **Syndrome de Klinefelter**

C'est en 1942, à l'occasion de l'observation de neuf sujets masculins âgés de 17 à 33 ans, que Klinefelter décrivit pour la première fois le syndrome qui porte aujourd'hui son nom.

En 1953, Barr montrait, dans le noyau cellulaire des sujets de sexe féminin, la présence d'un corpuscule chromatinien.

En 1959, Jacob et Strong rattachaient la symptomatologie clinique du syndrome de Klinefelter à la présence d'un chromosome X supplémentaire réalisant la formule caryotypique : 47, XXY. [55].

#### ➤ **Fréquence**

La prévalence (nombre de cas dans une population donnée à un moment donné) varie selon les différentes études de la littérature et en fonction des populations concernées. Ainsi la prévalence du syndrome de Klinefelter est de 1 sur 1200 naissance (1 garçon sur 600). Ce syndrome n'est donc pas rare. [55,56].

#### ➤ **Symptomatologie**

La présentation clinique varie en fonction de l'âge du patient. Avant la puberté, les signes sont très discrets. On peut retrouver un volume testiculaire peu faible, avec des membres longs par rapport au tronc. Pendant l'adolescence et à l'âge adulte, le syndrome est caractérisé par de petits testicules fermes, accompagnés des symptômes de déficience en androgènes. On retrouve fréquemment une histoire de testicules non descendus (cryptorchidie). Ces patients présentent une haute taille, due pour la plus grande partie à la longueur de leurs jambes. Au cours de la puberté, la moitié des patients développent une gynécomastie uni ou bilatérale. Après l'âge de 25 ans, les patients non traités présentent une chute de la libido et une impuissance.

Du point de vue neuro-psychologique, ils semblent posséder un quotient intellectuel dans les limites de la normale. Il existe fréquemment un retard de langage et des difficultés d'apprentissage. [55, 56, 57,60].

#### ➤ **Étiologie**

Le syndrome de klinefelter est lié à une non disjonction des chromosomes sexuels durant la méiose paternelle dans 50 à 60 % des cas, ou maternelle dans 40 à 50 % des cas. Le mécanisme reste en grande partie incompris. [58,59].

Au stade foetal, le contingent de cellules germinales primordiales paraît normal, mais dégénère de manière accélérée pendant l'enfance. On peut penser que les cellules germinales sont elles-mêmes incapables de survivre, ou que les cellules de Sertoli ne sont pas équipées pour assurer leur développement.

Le rôle du récepteur aux androgènes reste encore à élucider, lui aussi. Le gène codant ce récepteur se trouve au niveau des chromosomes X. Or dans le syndrome de Klinefelter, un des deux chromosomes est inactivé dans toutes les cellules de l'organisme, et il apparaît que cette inactivation va toujours dans le même sens. En effet, le gène en question contient une séquence non codante formée d'une répétition en nombre variable de triplets de nucléotides. Cette séquence répétée présente donc un polymorphisme de longueur. Il apparaît que le chromosome porteur de la séquence la moins longue sera inactivé, et que la longueur de la séquence répétitive est directement proportionnelle à la taille de l'individu et à la fréquence de la gynécomastie. [57].

### **Le syndrome du mâle XX**

Approximativement 2 % des hommes vus aux cliniques d'infertilité ont un caryotype 46, XX. [61,62].

#### ➤ **Symptomatologie**

Typiquement, les organes génitaux mâles externes et internes sont normaux. Les patients présentent habituellement une gynécomastie à la puberté. L'évaluation hormonale montre une FSH et LH élevé et un taux bas ou normal de la testostérone. La biopsie testiculaire indique une absence de la spermatogenèse. [60, 61,63].

#### ➤ **Étiologie**

L'explication évidente de cette inversion sexuelle est que le gène SRY est transféré du chromosome Y au chromosome X de sorte que la différenciation de testicule soit présente. Cependant, le gène AZF n'est pas transféré, ayant pour résultat l'azoospermie. [62].

### **Mâle XYY**

En 1961 Sandberg et ses collaborateurs ont trouvé la constitution chromosomique 47, XYY et l'ont dénommée le syndrome XYY. Encore appelé le syndrome du super mâle. [65,66].

#### ➤ **Fréquence**

Le syndrome XYY est assez fréquent, concernant 1/1000 naissances masculines. [57,67].

#### ➤ **Symptomatologie**

Ces patients sont souvent grands mais phénotypiquement tout à fait normaux. La biologie ne montre aucune hypersécrétion hormonale. On retrouve par ailleurs une concentration sanguine trop élevée en insuline et en acide urique. Les caractères sexuels secondaires sont inchangés et la spermatogenèse est normale parmi la plupart des mâles XYY. L'inactivation incomplète du chromosome X pendant le stade pachytène de la méiose est l'explication génétique pour l'arrêt de la spermatogenèse qui est de temps en temps observée dans les patients affectés ayant une azoospermie ou oligospermie. A cause d'une fréquence prétendument plus élevée des super mâles parmi les criminels, on a cru à une époque que les individus 47, XYY souffraient de sévères troubles de la personnalité et qu'ils présentent des risques élevés de violence et de criminalité, des investigations plus poussées ont montré qu'il n'en était rien. La majorité des individus 47, XYY sont phénotypiquement et psychologiquement sains, possèdent des capacités intellectuelles conforme à la moyenne et ne présentent pas de tendance criminelles particulières. [57, 61,66, 68].

#### ➤ **Étiologie**

L'état 47, XYY est unique parce qu'il implique nécessairement une erreur au niveau de la méiose paternelle. Seule la non disjonction du chromosome Y pendant la méiose II paternelle ou pendant les premières divisions zygotiques peuvent produire un fœtus avec deux chromosomes Y. [69].

### **La dysgénésie gonadique mixte**

Les individus sont habituellement de phénotype masculin mais peuvent présenter une ambiguïté sexuelle voire un phénotype féminin. Ce type d'anomalie est la conséquence d'une non disjonction mitotique survenant après la fécondation (accidents post-zygotiques). [70].

### **Syndrome de micro délétion de chromosome Y**

Le bras long du chromosome Y (Yq) est considéré critique pour la fertilité. On observe souvent des délétions macroscopiques d'Yq11 chez des patients présentant une azoospermie, bien que beaucoup de nouvelles micro-délétions aient été impliquées comme cause significative de l'infertilité. On n'observe pas ces micro-délétions sur le caryotype ; plutôt, leur identification exige la réalisation de PCR (Polymerase Chain Reaction) ou de Southern blot. Les individus atteints sont phénotypiquement normaux. Les taux de FSH et LH sont le plus souvent élevés. [4].

### **Syndrome de Down**

Ces patients ont un léger dysfonctionnement testiculaire avec des degrés variables de réduction du nombre de cellule germinale. La LH et la FSH sont habituellement élevés. [4].

### **Autres anomalies chromosomiques** (Tableau 3, annexe). [61].

## **2-2-2 Atteinte testiculaire non chromosomiques**

L'atteinte testiculaire non-chromosomique peut être congénitale ou acquise par les drogues gonadotoxique, le rayonnement, l'orchite, le trauma, ou la torsion.

### **Varicocèle**

La varicocèle est définie par la dilatation variqueuse des veines du cordon spermatique. Elle représente un grand cadre étiologique possible des troubles de la spermatogenèse. Elle est caractérisée par une dilatation des veines spermatiques, qui s'accompagne souvent, mais pas toujours, d'une altération de la spermatogenèse. Sa prévalence dans la population mâle en général 15 %, et chez les hommes avec infertilité primaire 35 %. Les varicocèles sont généralement asymptomatiques. [71].



### **Chryptorchidisme**

C'est l'arrêt de la migration du testicule en un point quelconque de son trajet normal entre la région lombaire où il se forme et le scrotum où il doit se trouver à la naissance. C'est une cause majeure d'altération de la spermatogenèse. Elle peut être unilatérale (3 à 17 % des azoospermies) ou bilatérale (18 à 77 % des azoospermies). [72, 73,74].

### **Anorchie**

Absence totale de tissu testiculaire, due à un défaut de développement ou à une torsion testiculaire in utero. L'anorchie est unilatérale dans 80 % des cas et bilatérale dans 20 % des cas. Le caryotype est normal (46XY). [5].

### **Trauma**

Le trauma testiculaire est une cause acquise de l'infertilité. Les testicules sont en danger pour le trauma thermique et physique en raison de leur position exposée. [4].

### **Syndrome de SOC (aplasie des cellules germinales)**

Les patients présentent une aplasie des cellules germinales et des niveaux de LH et de testostérone normaux mais ont un niveau accru de FSH. L'étiologie est inconnue est probablement multifactorielle. Les hommes atteints sont de petite taille aux testicules petits ou normaux et sont azoospermiques. Les caractéristiques sexuelles secondaires sont normales. L'histologie montre des tubules séminifères rayés par des cellules de Sertoli et un tissu interstitiel normal, bien qu'aucune cellule germinale ne soit présente. [4,74].

### **Chimiothérapie**

Elle est souvent toxique pour les cellules en division surtout pour les spermatogonies et les spermatocytes. Les cellules germinales jusqu' au stade pré- leptotène sont particulièrement sensibles. Les drogues les plus toxiques sont les agents d'alkylation tels que le cyclophosphamide. Ainsi le traitement pour la maladie de Hodgkin mène à l'infertilité. [4, 74,75].

### **Thérapie radiologique**

Tandis que les cellules de Leydig sont relativement radio-résistant en raison de leur bas taux de division cellulaires, les cellules de Sertoli et les cellules germinales sont extrêmement radio sensible. Il est conseillé aux patients d'éviter la conception pendant 6 mois à 2 années en raison de la possibilité d'aberrations chromosomiques dans leur sperme provoquées par les propriétés mutagéniques des rayons utilisés. [4,75].

### **Orchite**

La cause la plus commune d'atteinte testiculaire acquise pour les adultes est l'orchite virale, habituellement provoquée par le virus d'oreillons, l'échovirus, ou l'arbovirus du groupe B. 25 % des adultes ayant des oreillons développent l'orchite ; deux tiers des cas sont des orchites unilatérales, et un tiers de cas sont des orchites bilatérales. Le virus affecte directement ou indirectement les tubes séminifères et cause un dommage ischémique en raison du gonflement intense du testicule et de la compression de l'albuginé. [74].

### **Autres causes**

La maladie de Granulomatous, l'anémie falciforme, la consommation d'alcool, le tabagisme, la consommation exagérée de caféine, peuvent mener à une atteinte testiculaire. [74].

## **2-3 Atteinte post testiculaire**

L'atteinte post testiculaire peut être due soit à une obstruction, soit une infection des glandes accessoires soit d'origine immunologique. [4, 74,75].

### **2-3-1 Les stérilités obstructives**

Les stérilités obstructives correspondent à une obstruction des conduits excréteurs. Elle est totale ou partielle, acquise ou congénitale. [12].

### ✚ **Obstructions congénitales des voies excrétrices**

Cette étiologie représente la cause la plus fréquente des stérilités excrétoires (60 % des cas) [13]. Il s'agit de l'absence de développement d'une partie plus ou moins étendue des voies excrétrices. La forme la plus classique, l'agénésie vésiculo-déférentielle, se traduit par l'absence des canaux déférents et des vésicules séminales.

Les agénésies épидидymo-déférentielles sont dues le plus souvent (au moins 50 % des cas) à des mutations du gène CFTR.

La mucoviscidose est une pathologie autosomique récessive. La symptomatologie habituelle associe une maladie pulmonaire obstructive, une insuffisance pancréatique exocrine, des occlusions intestinales et un trouble de la croissance. Le gène CFTR situé en 7q 31.2 contient 27 exons s'étalant sur 250 kb. Plus de 700 mutations ont été décrites. Elles peuvent avoir des effets sévères ou modérés en fonction des modifications induites sur la synthèse ou la fonction de la protéine CFTR. [76,77].

### ✚ **Obstructions acquises des voies excrétrices**

Il peut s'agir de :

➤ **Lésions accidentelles** : en particulier du canal déférent lors de la chirurgie des hernies inguinales, surtout chez l'enfant, ou encore des vasectomies réalisées antérieurement dans un but contraceptif.

➤ **Maladie kystique de l'épididyme** : c'est une atteinte dystrophique de l'épididyme, les kystes peuvent provoquer une compression de la partie adjacente de l'épididyme. L'étiologie de ces kystes reste inconnue. Le plus souvent une infection est en cause, dont les mécanismes physiopathologiques intervenant dans l'infertilité sont :

- **Un effet néfaste et direct de l'infection au niveau du spermatozoïde** : car il a été démontré que l'asthénospermie augmente avec la concentration en germes ; au-delà de 107 à 108 germes par ml, les spermatozoïdes s'immobilisent et forment des agrégats ;

- **Un dysfonctionnement sécrétoire des glandes génitales annexes** (vésicules séminales et prostate) avec un effet indirect sur les spermatozoïdes ;
- **Une inflammation ou une sclérose secondaire testiculaire au niveau du tissu germinal** (diminuant le nombre de spermatozoïdes) ou canaliculaire (gênant leur transport) ;
- **Une tuberculose uro-génitale ou une gonococcie** sont les deux infections responsables de stérilités obstructives. Les germes actuellement souvent en cause sont des germes gram négatifs colonisant le tractus génital dans les suites d'une infection urinaire ou d'une maladie sexuellement transmissible (MST), tel que la chlamydia. [4, 12, 74,75].

### **2-3-2 Immunologique.**

La stérilité d'origine immunitaire se caractérise par la présence d'anticorps anti spermatozoïdes qui ne sont pas générateurs en eux mêmes de troubles de la fécondité mais peuvent y participer en association avec d'autres facteurs. L'immunité anti-sperme peut être un facteur d'infertilité masculine, mais très souvent il n'y a pas d'antécédents pathologiques ni d'anomalies à l'examen génital et seul l'agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat évoque une auto-immunisation anti-sperme. Cette agglutination va perturber la mobilité, ainsi que le pouvoir fécondant du sperme.

Les anticorps anti-sperme présents chez les hommes peuvent être de la classe d'IgG, d'IgA ou d'IgM. [74, 75,78].

### **I- Patients**

Nous avons effectué dans les services d'endocrinologie et de biologie génétique du CHU de Constantine une étude prospective d'hommes infertiles qui se présentent en consultation par les médecins de ces services.

Cette étude porte sur une durée totale de 18 mois d'Octobre 2005 à Avril 2007.

Il a été établi pour chaque patient, une fiche d'observation (Annexe).

Les examens biologiques (spermogramme : tableau 4, annexe) et hormonaux (dosage de FSH, LH et testostérone) sont établis pour chaque patient par les services compétents concernés.

#### **1- Critères d'inclusions / exclusions**

L'échantillon comprend 14 patients. Les patients ayant une azoospermie ou une oligospermie d'origine sécrétoire avec ou non un hypogonadisme (FSH élevé, LH élevé ou normal), c'est-à-dire présentant une atteinte testiculaire, sont inclus dans cette étude.

Les malades présentant une infertilité liée aux problèmes pré ou post-testiculaire seront exclus de cette étude.

## II- Matériel et réactifs

### 1- Matériel

- Automate pour analyse hormonale (Roche) Elecsys 2010.
- Incubateur pour culture cellulaire (étuve) avec une pression de CO<sub>2</sub> modulable.
- Hotte à flux laminaire vertical.
- Centrifugeuse à grande vitesse.
- Bain marie thermostaté à 36° C +/- 0,1° C.
- Réfrigérateurs à 4° C, un congélateur à – 20° C.
- Microscope optique (Zeiss) équipé d'un système d'acquisition d'image, relié à un ordinateur muni d'un système de traitement d'image (logiciel BandView<sup>TM</sup> EXPO 2.0 mis au point par Applied Spectral Imaging).
- Agitateur magnétique.
- Barreau pour agitateur.
- Balance.

### 2- Réactifs

#### 2-1 Réactifs pour analyse hormonale

- Microparticules tapissées de stréptavidine.
- Anticorps anti-FSH-biotine.
- Anticorps anti-FSH-Ru (bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.
- Anticorps anti-LH-biotine.
- Anticorps anti-LH-Ru (bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.



### **2-2 Réactifs pour culture cellulaire et caryotype**

#### **2-2-1 Réactifs pour culture cellulaire**

- RPMI 1640 sans bicarbonate, sans L-Glutamine.
- Solution de bicarbonate de sodium 7,5 %.
- Streptomycine.
- Pénicilline.
- L-Glutamine (200 mM).
- Sérum humain.

#### **2-2-2 Réactifs pour réalisation des caryotypes**

- Colchicine à 20 mg / l.
- PHA C (phytohémagglutinine C).
- Héparine de sodium.
- KCl (chlorure de potassium) à 5,6 g/l.
- Méthanol.
- Acide acétique glacial.
- Milieu EBS (Earl Balanced Salt).
- Phosphate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).
- Giemsa liquide.
- Huile à immersion.

### **III- Méthodologie**

#### **1- Analyse hormonale**

##### **1-1 Prélèvement**

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux recueilli sur des tubes standards héparinés (héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2 ml (prélèvement stérile).

##### **1-2 Préparation des réactifs**

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi.

##### **1-3 Principe**

- La durée totale du cycle analytique est de 18 minutes.
- Les tubes contenant le sang total sont centrifugés pendant 15 minutes à 4000 tours par minute.
- 1<sup>ère</sup> incubation : on met 40 µl de sérum dans la cuvette réactionnelle en présence d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué au ruthénium.
- 2<sup>ème</sup> incubation : les microparticules tapissées de stréptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison stréptavidine – biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage Pro Cell.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par photomultiplicateur.

- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration.
- L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en m UI/ml.
- Les valeurs de référence sont indiquées dans le tableau -5- (annexe).
- Pour le dosage de la LH on suit le même principe sauf qu'on doit utiliser des réactifs spécifiques pour la LH.

## **2- Analyse cytogénétique**

- Application de la technique du caryotype standard sur prélèvement sanguin (sans dénaturation), actuellement en utilisation pour le diagnostic de la trisomie 21 et les ambiguïtés sexuelles.
- Mise au point de la technique du R-banding (reverse) avec dénaturation par la chaleur, également réalisée sur prélèvement sanguin, et qui permet un examen plus fin du caryotype (translocations et délétions), préconisé dans l'analyse cytogénétique des infertilités masculines.

### **2-1 Prélèvement**

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux dans un tube contenant un anticoagulant (l'héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2,5 ml (prélèvement stérile). Le laboratoire doit être prévenu de l'envoi d'un échantillon, dans la mesure du possible avant son prélèvement, afin d'en optimiser les conditions de recueil.

Le sang peut être conservé à 4 ° C jusqu'à la certitude d'avoir obtenu une culture permettant la réalisation du caryotype (une durée maximale de 4 jours).

On doit vérifier l'aspect anormal de l'échantillon, quantitativement et qualitativement (aspect laqué, dilué, présence de caillots, volume insuffisant ...).

### 2-2 Mise en culture

Le sang est mis en culture dans des flacons du type Falcon avec le milieu de culture RPMI (sans L- glutamine), c'est un milieu de culture fournit prêt à l'emploi, mais qui nécessite une dilution de l'ordre de 1/10.

Le milieu de culture RPMI natif, est appelé également milieu de Moore (référence : RPMI-1640 medium 10 x, sterile filtered, endotoxin tested. SIGMA).

➤ Préparation du milieu de culture RPMI prêt à l'emploi (préparé avant utilisation extemporanément ou utilisé en aliquotes congelés a - 20° C) :

- Milieu de culture RPMI natif : 5 ml.
- Bicarbonate : 1,350 ml.
- 1 goutte de pénicilline (antibiotique).
- 1 goutte de streptomycine (antibiotique).
- 50 ml en qsp (en quantité suffisante pour) d'eau distillé stérile.
- 7 gouttes de NaOH pour ajuster le pH.

On ajoute le NaOH par goutte et on note le virage de couleur jusqu'à obtenir une teinte marron plus ou moins foncé.

On met dans chaque tube :

- Milieu de culture RPMI prêt a l'emploi : 6,5 ml.
- Sérum humain: 1,5 ml.
- PHA C (phytohémmagglutinine): 100 µl (lyophilized powder to be solubilized with sterile demineralised water. BIOSEPRA).
- Héparine : 50 µl.

Puis on ajoute notre échantillon de sang : 200  $\mu$ l.

La PHA qui est un mitogène va stimuler les lymphocytes T et les transformer en lymphoblastes qui vont reprendre leur division cellulaire. Le but est d'obtenir un nombre suffisant de mitose après traitement des cultures.

La culture est réalisée sur des flacons du type Falcon, elles sont disposés horizontalement dans une étuve à 37° C, pendant 72 heures (cultures brèves plus facile à réaliser).

L'observation des cultures sous microscope après 72 h n'est pas nécessaire, les manipulations pour l'obtention du caryotype seront entamées directement.

### **2-3 Caryotype standard : arrêt des mitoses, fixation, étalement et observation**

#### **✚ Blocage des mitoses**

Après 72 heures on effectue un blocage des mitoses en métaphase par ajout de la colchicine à 150  $\mu$ l, puis on homogénéise les tubes en les retournant doucement plusieurs fois.

- On remet les tubes dans l'étuve à 37° C après addition de la colchicine, pendant 1 heure 30 en position horizontale pour que la colchicine puisse agir.

#### **✚ Choc hypotonique**

Au bout d'1 heure et demie, on transvase le contenu de chaque flacon dans deux autres tubes de 15 ml pour chaque malade. Puis on centrifuge les tubes pendant 10 minutes à 1500 tours par minute.

- On jette le surnageant et on ajoute 0,5 ml de KCl à 5,6 g/l pour réaliser le choc hypotonique, puis on mélange par des agitations tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, puis vigoureusement et on termine cette étape en complétant avec le KCl en qsp jusqu'à 5 ml.

- On remet ensuite les tubes à l'étuve à 37° C pendant 20 minutes en position horizontale.

### **Préfixation**

- On prépare la solution de fixation qui est un mélange de méthanol et d'acide acétique, avec des proportions de 3 V de méthanol et 1 V d'acide acétique. Le volume de la solution de fixation à mettre n'est pas important, cette étape est appelée préfixation ; ce n'est qu'un simple lavage permettant d'éliminer le reste du Kcl.
- On mélange puis on centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes.
- On jette le surnageant.

### **Fixation**

- La 1<sup>ière</sup> fixation se fait en ajoutant 0,5 ml de la solution de fixation puis on mélange tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite en qsp jusqu'à 5 ml. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre (un volume en qsp jusqu'à 5 ml indiqué par une graduation sur le tube). On centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes et on verse le surnageant.
- La 2<sup>ième</sup> fixation se fait en ajoutant 0,5 ml de la solution de fixation puis on mélange tout d'abord doucement, jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite jusqu'à un volume en qsp jusqu'à 5 ml. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre. On centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes et on retire le surnageant avec une pipette en laissant comme même de 0,5 à 1 ml : un volume proportionnel avec la quantité du culot cellulaire. Ce paramètre aura son importance par la suite sur la détermination de la densité des lames en noyaux.

### **Étalement des lames et Observation**

- On mélange jusqu'à dissolution du culot dans le surnageant (c'est en quelque sorte une dilution des mitoses observable sous microscope).



- Avant l'étalement, on doit apprécier la bonne marche de la manipulation jusqu'ici. Cela se fait sous microscope optique. On dépose 5 gouttes séparées de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre ou par passages rapides et successives sur un bec. On colore par le Giemsa dilué au 1 / 20, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface. On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

- Sous microscope, on voit les chromosomes en métaphase et on essaye de repérer les bonnes mitoses avec des chromosomes bien visibles, structurés et individualisés. Dans le cas contraire, il faut tout recommencer (à partir du même prélèvement ou d'un autre si celui-ci a été fait plus de 3 jours auparavant).

- Si la qualité des mitoses est satisfaisante, on va réaliser l'étalement. On dépose 3 gouttes de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre ou par passages rapides et successives sur un bec. On colore par le Giemsa dilué au 1 / 20, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface. On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

### **NB :**

Par mesure de sécurité on a réalisé pour chaque prélèvement 2 cultures et pour chaque culture traitée avec succès on utilise 6 lames au minimum.

- Les lames sont marquées avec un crayon diamant.

- La coloration des lames se fait avant ou après vieillissement.

Les lames sont rincées et mis à l'air libre pour l'étape de vieillissement. On les dépose dans une boîte, hermétiquement fermée.

La date à laquelle s'est faite la confection de ces lames est notée afin de connaître la durée du vieillissement ; paramètre qui aura son importance par la suite pour la réalisation du banding.

### 2-4 R-banding

Pour réaliser le R-banding, il faut :

- Des lames avec de bonnes mitoses.
- Milieu EBS fournit dans des flacons de 500 ml, et qui va pour l'utilisation être dilué au 1 / 10 avec de l'eau distillé.
- Milieu de dénaturation (solution EARL préparé au laboratoire) :
  - NaCl : 68g.
  - Kcl : 4g.
  - Mg SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O: 1g.
  - Glucose : 10g.
  - Cacl<sub>2</sub> 2 H<sub>2</sub>O : 2g.
  - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O : 1,25g.
  - 1000 ml d'eau distillée.

Après la préparation on fait une dilution au 1 / 10 avec de l'eau distillée. Ce milieu donne de très bons résultats.

- Phosphate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) sous forme de poudre pour équilibrer le pH du milieu de dénaturation jusqu'à 6,5. De très petites quantités sont ajoutées et le virage du pH est surveillé par le pH-mètre. Cela peut prendre beaucoup de temps (30 à 40 min).

Les lames vieilles seront réhydratées dans de l'eau distillé avant la dénaturation ; la durée n'est pas précisée (un minimum de 10 min).

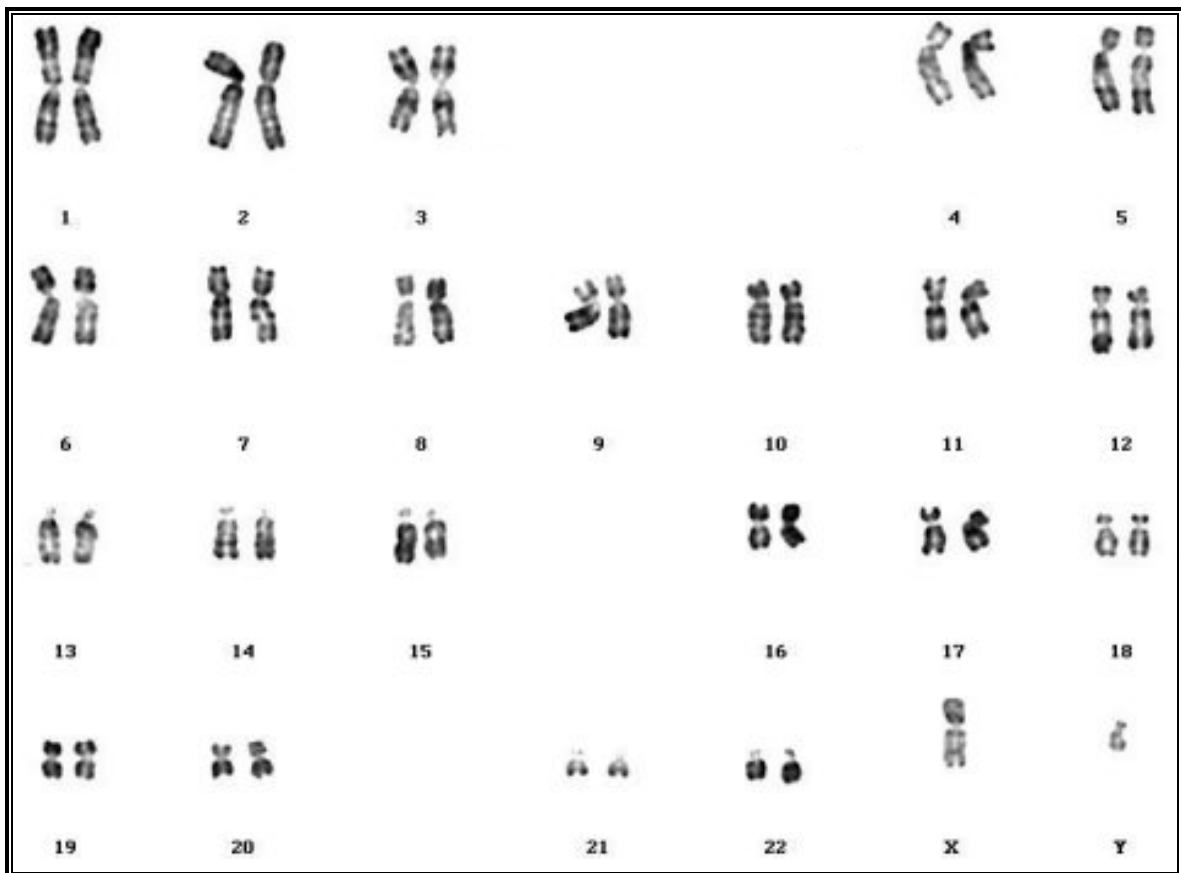
D'abord on préchauffe la solution dénaturante de Earl à 87° C au bain marie dans des becs en porcelaine de 20 à 30 minutes. Puis on plonge les lames après réhydratation avec de l'eau

distillée dans cette solution pendant un temps variable, à déterminer (environ 30 minute en général). Puis on rince les lames à l'eau courante.

On colore ensuite par le Giemsa dilué au 1 / 20 pendant 10 à 15 minutes.

Le temps de dénaturation est un facteur essentiel de la réussite de cette technique, et l'obtention de bandes R, identifiables et surtout reproductibles. Ce temps varie en fonction de 2 paramètres :

- La richesse des lames.
- La durée du vieillissement.



**Figure 14 : Caryotype masculin normal en bande R. Formule chromosomique : 46, XY.  
[Cochin, 2005]. Grossissement X 100**

L'échantillon comprend 14 patients. 12 / 14 patients avec azoospermie, 2 / 14 patients avec oligospermie dont un avec oligospermie sévère (inférieur à  $5 \times 10^6$  spermatozoïde / ml). L'âge moyen de ces patients est de 32,5 ans (gamme de 27 à 62 ans).

Les cultures cellulaires réalisées sur l'ensemble de nos échantillons ont donné des résultats positifs pour 12 malades d'entre eux, 2 prélèvements ont été stériles et il a été difficile d'effectuer de nouveaux prélèvements en raison de problèmes techniques.

Les anomalies cytogénétiques et leurs variantes ont été détectés pour 4 / 14 (28,57 %).

### I- Choix des cas

Nous avons choisi de présenter 6 cas d'hommes infertiles après étude hormonale et cytogénétique. Ce choix s'effectue en fonction de :

- La présence de tous les signes clinique et biologique d'une atteinte testiculaire d'origine génétique.
- L'existence d'anomalies cytogénétique associées à la pathologie en question.

- ✚ Le premier cas représente un syndrome de Klinefelter homogène 47, XXY.
- ✚ Le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> cas ont un caryotype en mosaïque 45, XO (10 %) / 46, XY (90 %).
- ✚ Le 4<sup>ème</sup> cas est un syndrome du mâle XYY.
- ✚ Le 5<sup>ème</sup> cas présente tous les signes cliniques et biologiques d'un syndrome de Klinefelter mais un caryotype normal.
- ✚ Le 6<sup>ème</sup> cas est un homme infertile dont la biopsie testiculaire montre un arrêt de la spermatogenèse au stade de spermatides (pas de maturation de spermatides en spermatozoïdes).

Parmi les 8 cas restants, 2 ont des cultures stériles. Les 6 autres présentent un caryotype normal en dépit d'une azoospermie d'origine sécrétoire et des taux de FSH et de LH perturbés, ceci n'exclut pas la possibilité de présence d'anomalies structurales qui ne peuvent être mis en évidence par le caryotype standard, ni par le R-banding.

## II- Présentation des cas

Nous avons choisit d'exposer les résultats des 6 cas rencontrés dans le laboratoire de biologie génétique du CHUC, avec une présentation clinique faisant surgir les signes d'appel symptomatologique ainsi que les résultats du spermogramme et de l'analyse hormonale dont les taux étaient perturbés.

### 1- Aspect clinique et biologique

#### Cas N° 1

L'homme est âgé de 62 ans, le spermogramme révèle une azoospermie totale et l'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée (48,7 m UI / ml).
- LH élevée (15,3 m UI / ml).
- Testostérone basse.

#### Cas N° 2

L'homme est de 32 ans, le spermogramme a indiqué une azoospermie totale et dont l'analyse hormonale a révélée une :

- FSH élevée 37,5 m UI / ml.
- LH élevée 14,20 m UI / ml.
- Testostérone normale 9,03 ng / ml.

### Cas N° 3

L'homme âgé de 32 ans avec azoospermie totale, l'examen clinique par le médecin traitant a posé comme diagnostic une hypotrophie testiculaire gauche et un testicule droit non objectivé. L'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée 36,2 m UI / ml.
- LH élevée 13,9 m UI / ml.
- Testostérone normale 10,2 ng / ml.

### Cas N° 4

Il s'agit d'un homme de 30 ans dont l'examen clinique par le médecin traitant montre des testicules de petite taille ainsi qu'une gynécomastie. Ce patient est phénotypiquement de grande taille (approximativement 2 mètres) et montrant des signes de débilité légère. Le spermogramme révèle une oligospermie. L'analyse hormonale indique une :

- FSH élevée 14,3 m UI / ml.
- LH normale.
- Testostérone normale.

### Cas N° 5

L'homme est de 31 ans et présente une azoospermie, l'examen clinique révèle une gynécomastie bilatérale, une atrophie testiculaire et une obésité gynoïde.

L'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée. 35,9 m UI / ml.
- LH élevée 16,4 m UI / ml.
- Testostérone non établie.



### Cas N° 6

Il s'agit d'un homme infertile de 39 ans dont la biopsie testiculaire révèle des spermatozoïdes bloqués au stade de spermatides, avec des taux d'hormones FSH, LH élevés.

## 2- Aspects cytogénétique

### 2-1 Cultures cellulaires et caryotype standard

### 2-2 Interprétation des caryotypes

L'étude des caryotypes se fait sur plusieurs mitoses de lames différentes. Un minimum de 20 mitoses sera observé et 5 classements réalisés pour chaque malade, les meilleurs résultats pour chaque patient seront présentés ci-dessous.

La formule chromosomique est établie selon la nomenclature internationale en vigueur (ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature 95).

Dans un caryotype, pour affirmer une anomalie chromosomique, on exige :

- 2 mitoses présentant le même gain chromosomique ou la même anomalie de structure.
- 3 mitoses présentant la même perte chromosomique.

En effet, le caryotype nécessite une culture cellulaire, la plus courte possible (1 à 3 j en général). Afin d'éviter que des anomalies se créent au cours de la culture, mais aussi de la manipulation des caryotypes réalisée par la suite, et qui comporte un choc hypotonique et des fixations qui sont nécessaires, mais qui doivent être "ménagés" afin d'éviter une fragilisation excessive de la membrane cellulaire, ce qui peut entraîner des pertes ou des gains artéfactuels de chromosomes.

Parmi les anomalies chromosomiques, on distingue :

- Des anomalies primaires, présentes dans toutes les cellules de l'individu.
- Des anomalies secondaires présentes dans une ou plusieurs sous populations cellulaires définissant ainsi un mosaïcisme plus ou moins étendu.

On observe dans les infertilités masculines des anomalies de nombres, et des anomalies de structures :

### 2-2-1 Les anomalies numériques

Encore appelées aneuploïdies (euploïdie = 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels ou gonosomes X, Y). Elles correspondent à des anomalies du nombre de lots chromosomiques ou des anomalies par excès ou par défaut au niveau d'une seule paire de chromosomes.

#### ✚ Les anomalies du nombre de lots chromosomiques :

- **Haploïde (n)**, si le nombre de chromosomes est égale à 23, (un seul lot chromosomique).
- **Triploïdie à 69 (3n)** chromosomes avec 3 lots chromosomiques (résulte le plus souvent d'une anomalie de fécondation (polyspermie).
- **Tétraploïdie à 92 (4n)**, chromosomes avec 4 lots chromosomiques (résulte d'une duplication précoce de l'ensemble des chromosomes).

#### ✚ Les anomalies par excès ou par défaut au niveau d'une ou de plusieurs paires de chromosomes.

- **Trisomie**, quand il y a gain d'un chromosome.
- **Monosomie**, quand il y a perte d'un chromosome.

Les anomalies numériques de type trisomie / monosomie résultent toujours d'un mécanisme de mal ségrégation méiotique ou mitotique (ex : trisomie 21, 13, 18, Turner, Klinefelter etc...)

S'il existe plusieurs clones au sein du caryotype, ils seront séparés par un "slash", le clone présentant un caryotype normal sera écrit en dernier.

### 2-2-2 Les anomalies structurales

Se caractérisent par une morphologie anormale d'un chromosome (remaniement intra chromosomique) ou de plusieurs chromosomes (remaniement inter-chromosomique). Elles résultent de cassures chromosomiques suivies de recollement des fragments cassés. Elles peuvent être équilibrées (phénotype normal) ou déséquilibrées (phénotype anormal).

#### **Exemples de remaniements intra-chromosomiques :**

- **Équilibrés** : inversions péri centriques et para centriques.
- **Déséquilibrés** : délétions, chromosome en anneau.

#### **Exemples de remaniements inter-chromosomiques :**

- **Équilibrés** : translocation réciproque, robertsonienne.
- **Déséquilibrés** : translocations déséquilibrées avec trisomie partielle et monosomie partielle.

Dans la très grande majorité des cas, les anomalies chromosomiques sont uniques (pures). Dans des cas rares, des doubles aneuploïdies peuvent être observées (ex : trisomie 21 + klinefelter, trisomie 21 + turner, trisomie 18 + anomalie gonosomique).

### 2- Présentation des caryotypes :

On va présenter pour chaque cas l'aspect du noyau éclaté sous l'effet du choc hypotonique pour identifier les chromosomes appartenant au noyau et éliminer les autres appartenant à d'autres noyaux adjacents sur lame. Cette observation nous permettra également d'identifier des artefacts, à qui la présence pourrait conduire à une interprétation erronée du caryotype. Ainsi que certains caryotypes en bandes R.

Le classement des chromosomes est établi par le logiciel, ce classement sera ensuite vérifié et corrigé.

#### Principes d'identification chromosomique

Les chromosomes colorés uniformément ne peuvent être distingués que par catégories de taille, ou par groupes en fonction de la position du centromère.

Les critères de classification permettent de distinguer 7 groupes chromosomes :

- **Groupe A** : chromosomes 1, 2 et 3 (les chromosomes 1 sont les plus grands du caryotype).
- **Groupe B** : chromosomes 4 et 5.
- **Groupe C** : chromosomes 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 en plus du ou des chromosome(s) X dont la taille est voisine de celle d'un chromosome 6.
- **Groupe D** : chromosomes 13, 14 et 15 (chromosomes acrocentriques).
- **Groupe E** : chromosomes 16, 17 et 18.
- **Groupe F** : chromosomes 19 et 20.
- **Groupe G** : chromosomes 21 et 22 (chromosomes les plus petits du caryotype, auxquels on adjoint le chromosome Y).

Chez l'individu masculin normal la formule chromosomique s'écrira 46, XY.

### Cas N° 1

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Ces dernières sont présentées ci-dessous.

#### **Interprétation du caryotype**

Dans le cas présenté d'infertilité masculine d'origine sécrétoire, nous remarquons que le caryotype est aneuploïde, avec présence d'un chromosome X surnuméraire.

Le diagnostic clinique et biologique nous permet d'affirmer qu'il s'agit d'un syndrome de Klinefelter typique homogène 47, XXY.

Les résultats observés sur le spermogramme, les analyses hormonales et cytogénétique confirment le type d'infertilité masculine à savoir le syndrome de Klinefelter, ce qui traduit hypogonadisme hyper gonadotrope avec FSH et LH élevées.

À ce stade de notre étude et de notre enquête aucune remarque ne peut être faite sur l'étiologie de la maladie.

Cas N° 1

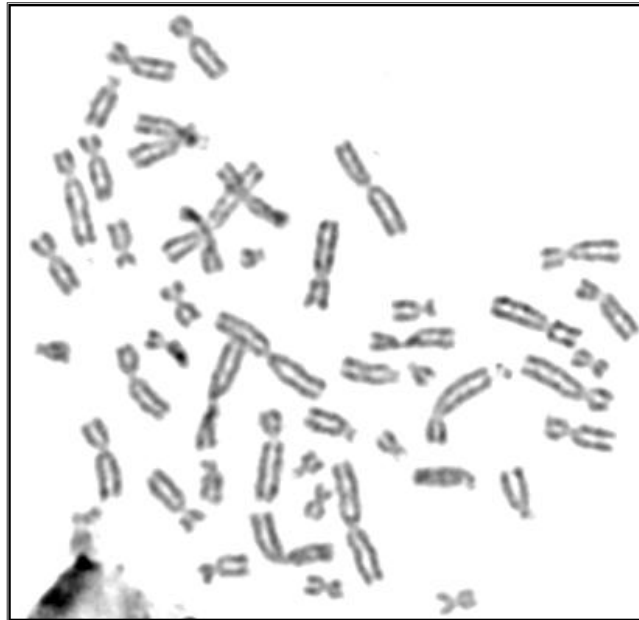


Figure 15 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

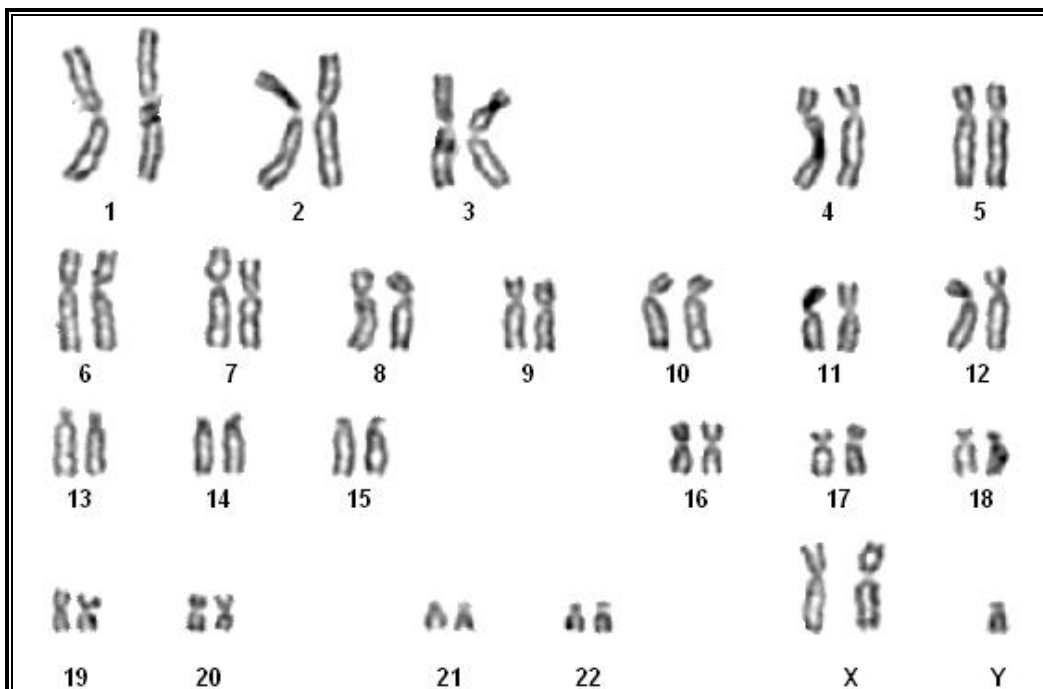


Figure 16 : Caryotype standard d'un Klinefelter. 47, XXY.

## Cas N° 2

### Culture cellulaire

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec de bonnes mitoses. Ces dernières sont présentées ci-dessous. Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'une dénaturation par la chaleur. Ces résultats sont aussi présentés.

### Interprétation des caryotypes

Après étude de 30 mitoses, nous avons constaté l'existence de 2 sous populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

- La première sous population montre un caryotype aneuploïde, présentant une anomalie de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y manquant. Elles sont de type 45, XO.
- La deuxième sous population ; le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre ; elles sont 46, XY.

Ce caryotype correspond à une mosaïque, bien que le nombre de mitoses étudiées ait été insuffisant pour confirmer l'existence de ce type d'anomalies (le mosaïcisme étant normalement confirmé après étude de 100 mitoses selon les recommandations de l'ISCN) ; on n'a pas eu la possibilité de travailler sur un nombre de mitose convenable à cause de la qualité et la quantité de ces dernières.

À travers les résultats du spermogramme et les analyses hormonales et cytogénétiques, nous pouvons conclure que le type d'infertilité masculine est une dysgénésie gonadique mixte pour compléter le diagnostic.

Etant donné la répartition et le pourcentage relevé dans ce mosaïcisme **45 ; XO (10 %)/46 ; XY (90 %)**, cela traduit l'hypogonadisme hyper gonadotrope (FSH, LH élevées), résultats observés dans les paramètres hormonaux.



Cas N° 2 (Une cellule à 46, XY)

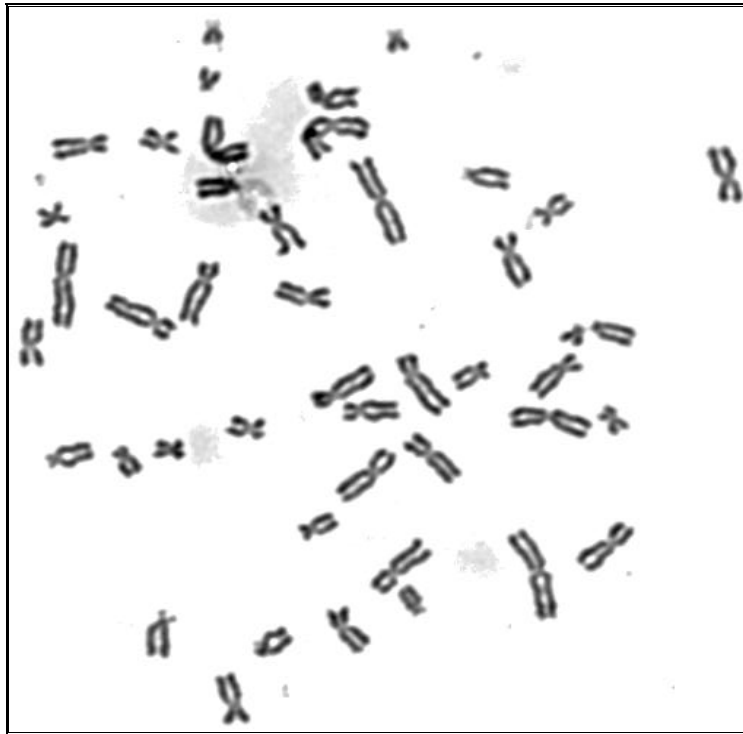


Figure 17 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100.

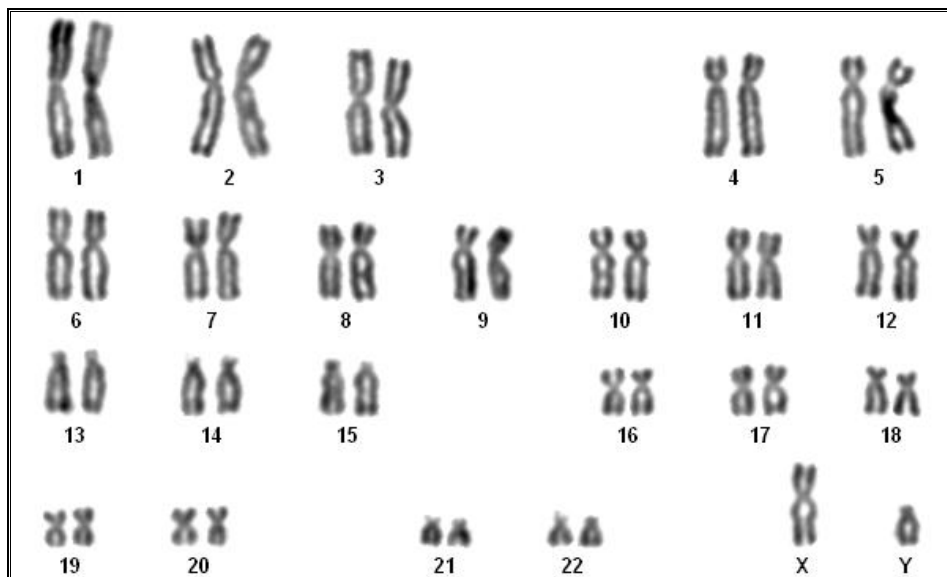


Figure 18 : Caryotype standard d'un homme infertile : 46, XY.

Cas N° 2 (Une cellule à 46, XY)



Figure 19 : Chromosomes métaphasiques en début de bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100.

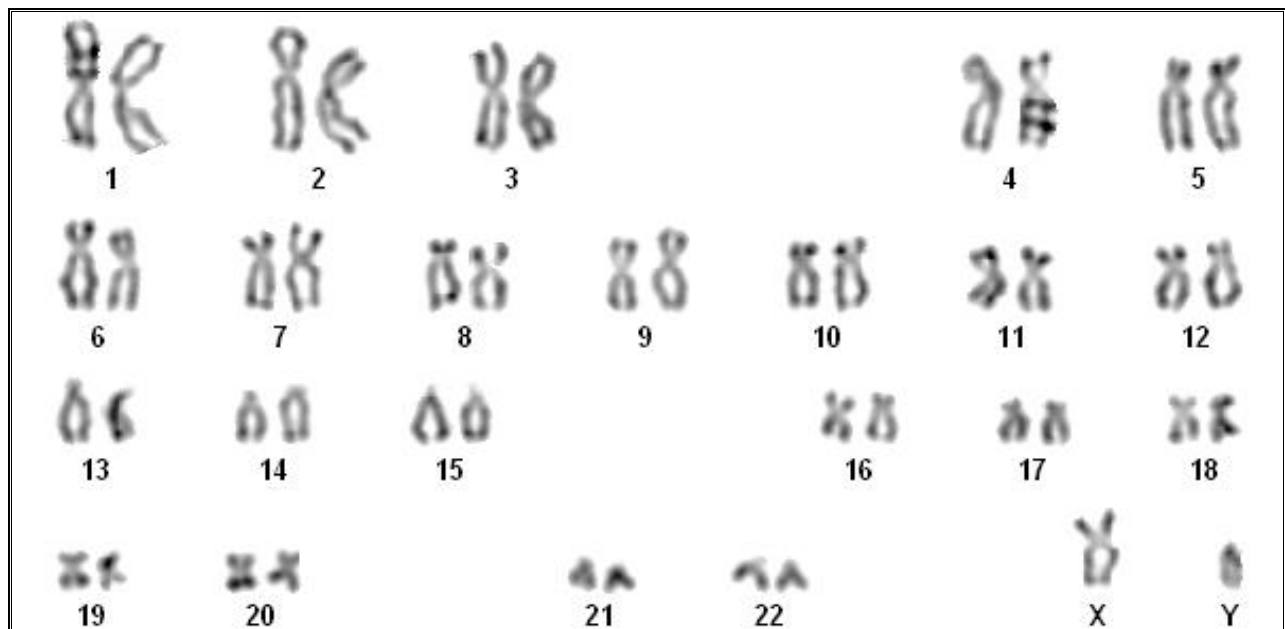


Figure 20 : Caryotype standard en bandes R du cas N° 2 : 46, XY.

Cas N° 2 (Une cellule à 45, XO)

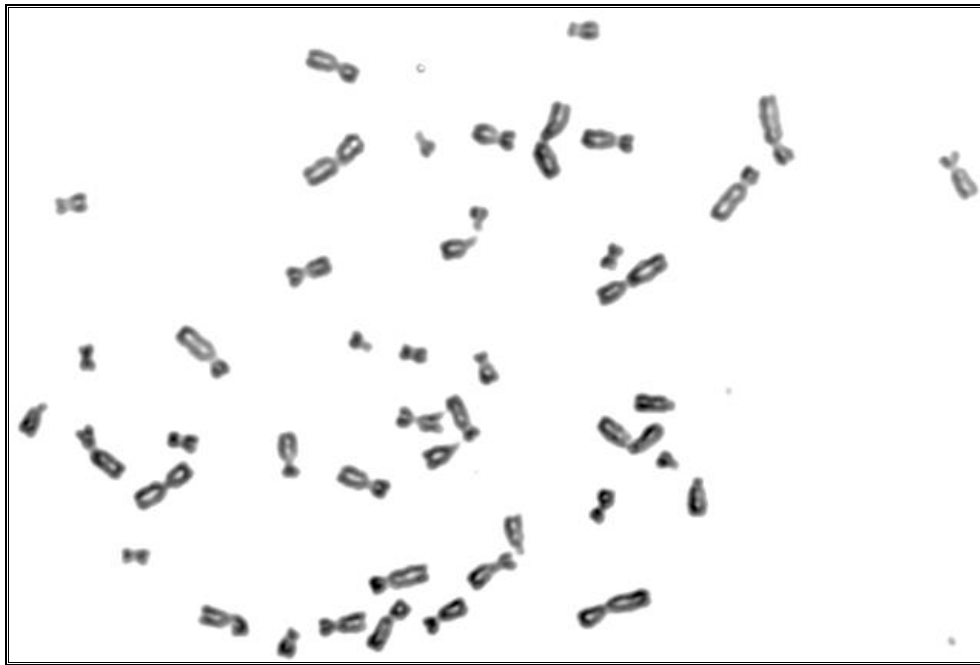


Figure 21 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

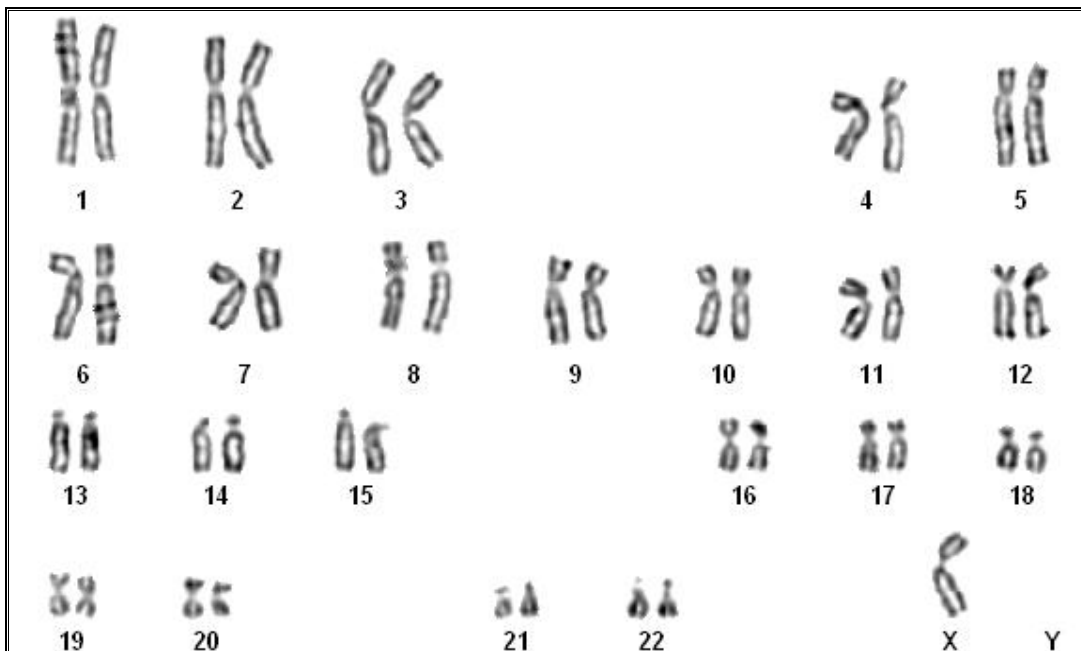


Figure 22 : Caryotype standard du cas N° 2 : 45, XO

### Cas N° 3

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités (existence de quelques bonnes mitoses). Ces dernières sont présentées ci-dessous.

Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'un R-banding. Des métaphases sont présentées.

#### **Interprétation des caryotypes**

Après étude de 50 mitoses, on a constaté l'existence de 2 populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

Il présente également comme le cas N° 2 une sous population avec un caryotype aneuploïde, présentant des anomalies de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y manquant, et des cellules avec un caryotype euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre ; 46, XY qui nous ont amené à conclure le type d'infertilité masculine est une dysgénésie gonadique mixte en présence d'anomalies cytogénétique associées à savoir 45 ;XO (15 %) / 46 ; XY (85 %), cela traduit l'hypogonadisme hyper gonadotrope.

Cas N° 3 (Une cellule à 46, XY)

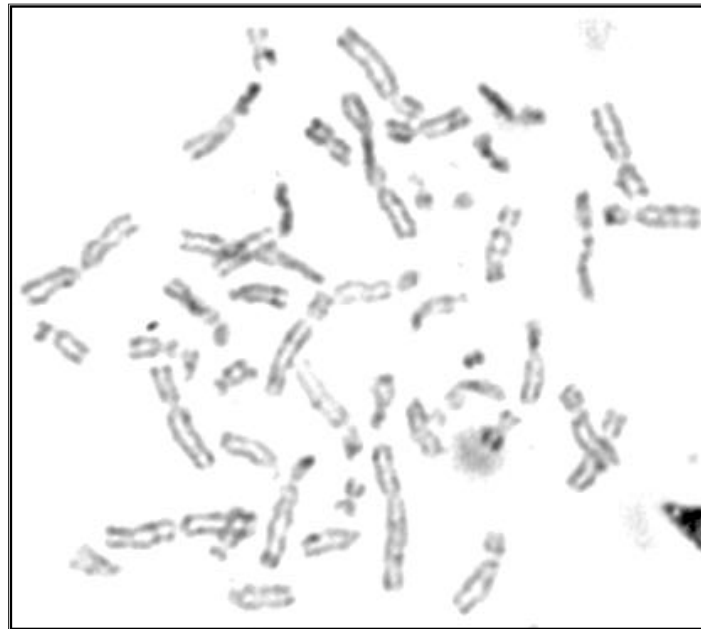


Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

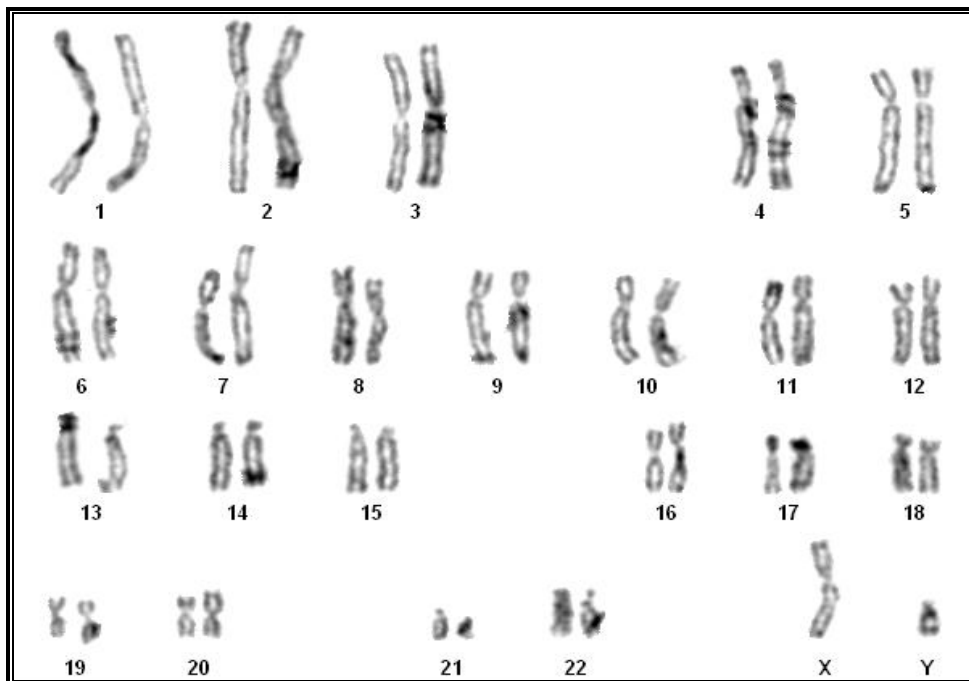


Figure 24 : Caryotype standard du cas N° 3, une cellule à 46, XY.

Cas N° 3 (Une cellule à 46, XY)

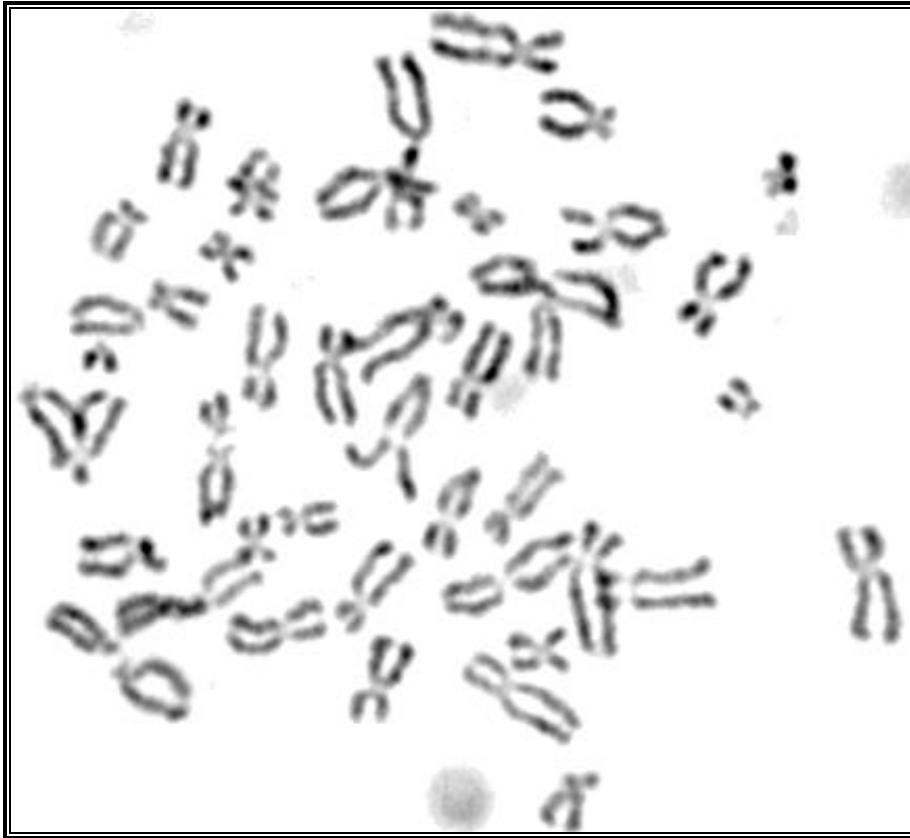


Figure 25 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100

Cas N° 3 (Une cellule à 45, XO)



Figure 26 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. GX 100.

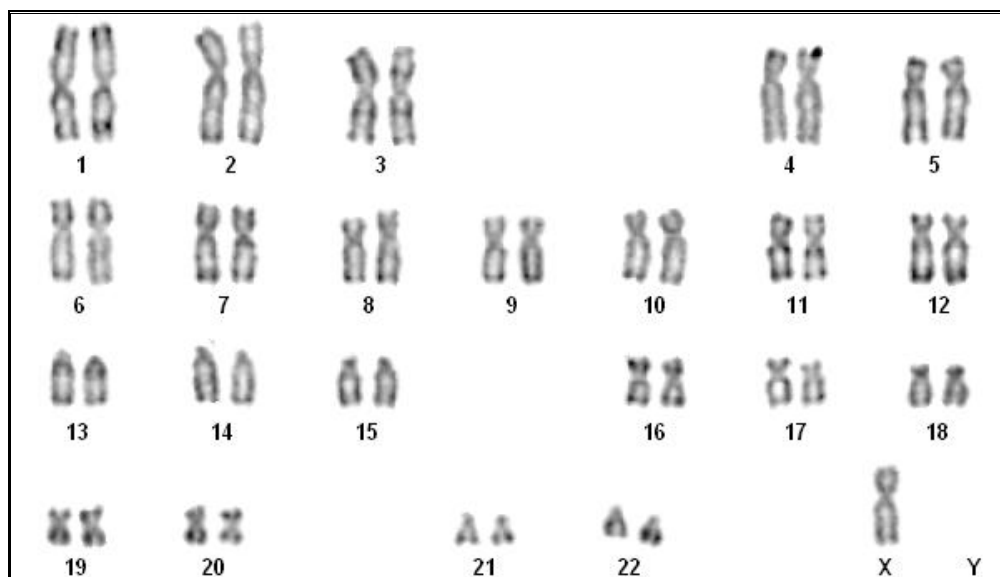


Figure 27 : Caryotype standard en bandes R, une cellule à 45, XO



### Cas N° 4

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les résultats obtenus après réalisation du caryotype standard. Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'une dénaturation par la chaleur.

#### **Interprétation des caryotypes**

Les résultats donnent un caryotype aneuploïde, présentant des anomalies de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y surnuméraire, après étude de 25 mitoses et 7 mitoses en bandes R soumis au logiciel et étude de 5 classements. Il s'agit d'un syndrome du male XYY.

Nous avons également constaté un degré de débilité qui reste à évaluer par le personnel médical compétent.

L'observation du caryotype révèle par ailleurs d'autres anomalies sur de nombreux chromosomes. Ainsi, les chromosomes 2 et 8 montrent une silhouette anormale, le 2 est plus long que son homologue, alors que le 8 est plus petits que son homologue. Cependant, à ce stade de notre analyse, il nous est difficile de proposer une explication. Cela pourrait correspondre à une translocation décrite par Mesched D et all. 1998.

Cas N° 4



Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100.

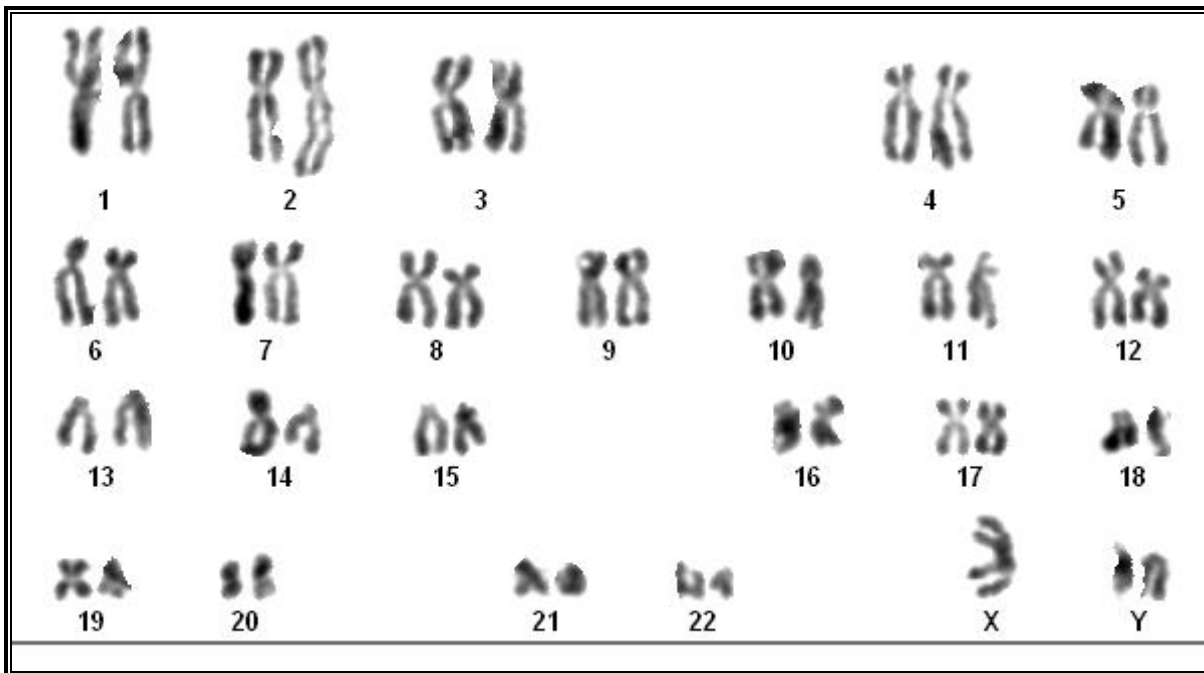


Figure 29 : Caryotype standard d'un homme infertile, 47, XYY

Cas N° 4

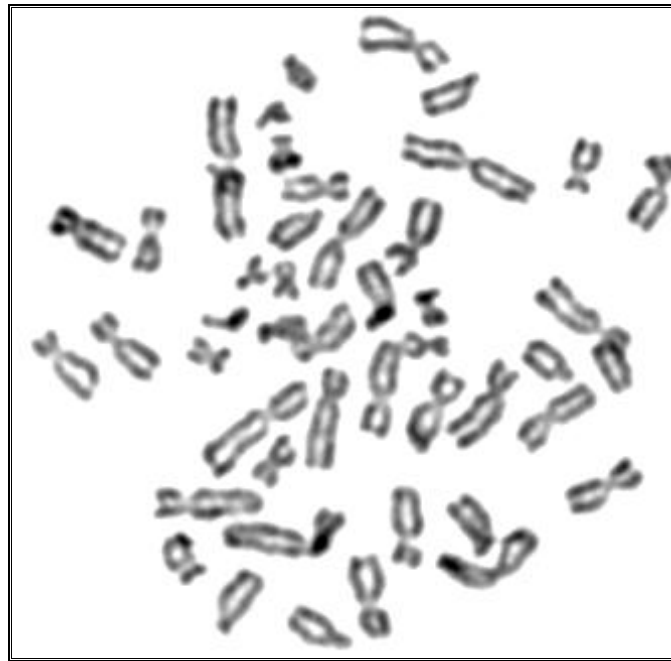


Figure 30 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100.

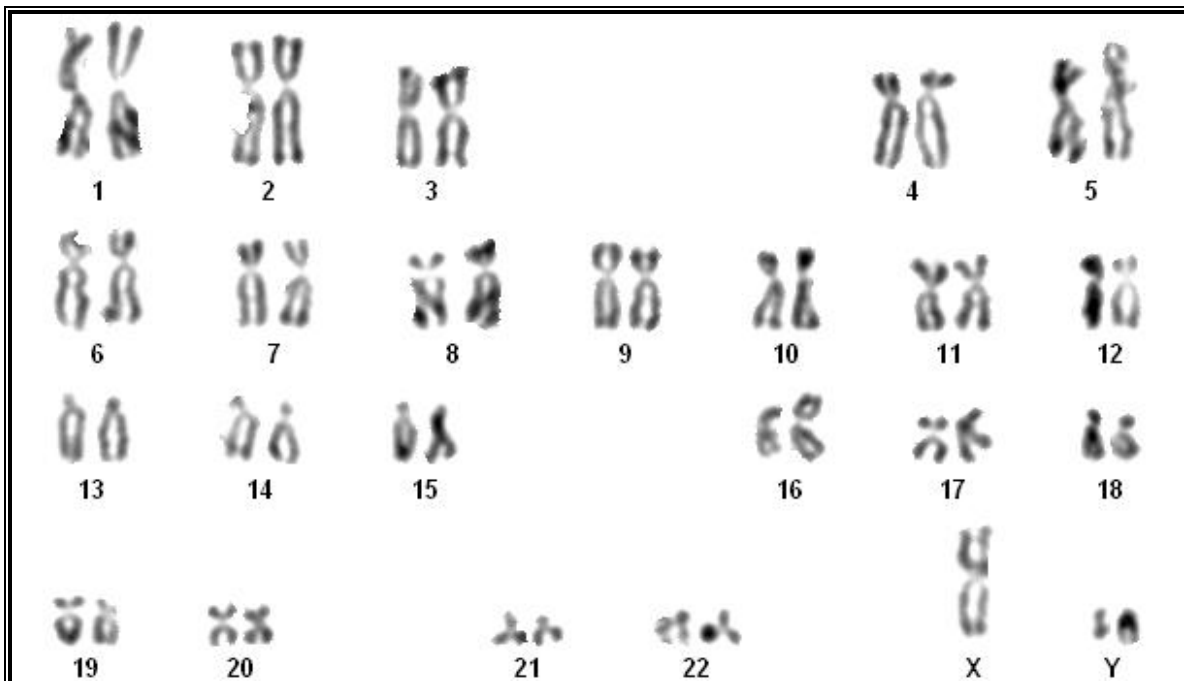


Figure 31 : Caryotype standard avec début de bandes R du 47, XYY.

### Cas N° 5

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.
- La 1<sup>ère</sup> culture réalisée avec le kit était stérile : présence de petits noyaux et de très rare mitoses (index mitotique presque nul).
- On a réalisé, après ce résultat, une culture cellulaire en utilisant le RPMI, les lames présentaient des noyaux de mauvaise qualité.
- La troisième culture réalisée avec toujours la technique standard en utilisant le RPMI a donné de bons résultats. Les lames présentaient des mitoses de qualité acceptable.

Entre ces deux expériences, le seul paramètre qui aurait pu influencer ce résultat serait le changement du climat et l'élévation de la température.

#### **Interprétation du caryotype**

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements.

La réalisation du marquage en bande montre des anomalies structurales des chromosomes 1 et 16 pour lesquelles nous observons un raccourcissement, de même que pour le chromosome 18.

Cependant, tous ces résultats doivent être confirmés par une analyse plus fine à partir de techniques moléculaires telles que la FISH.

A ce stade il semble qu'il y'a un lien entre ces anomalies et le tableau clinique du patient. Il serait intéressant de continuer notre investigation sur un plan moléculaire.

Cas N° 5

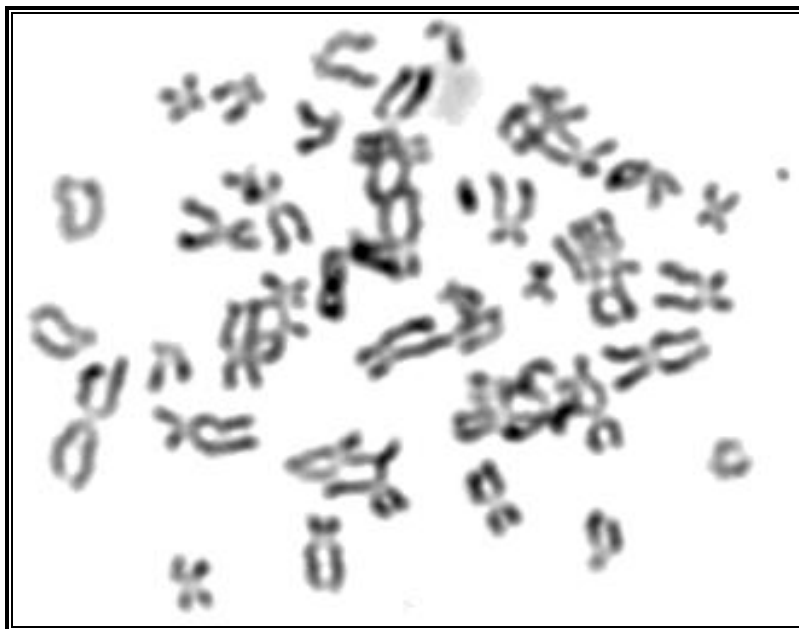


Figure 32 : Chromosomes métaphasiques avec début de bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100

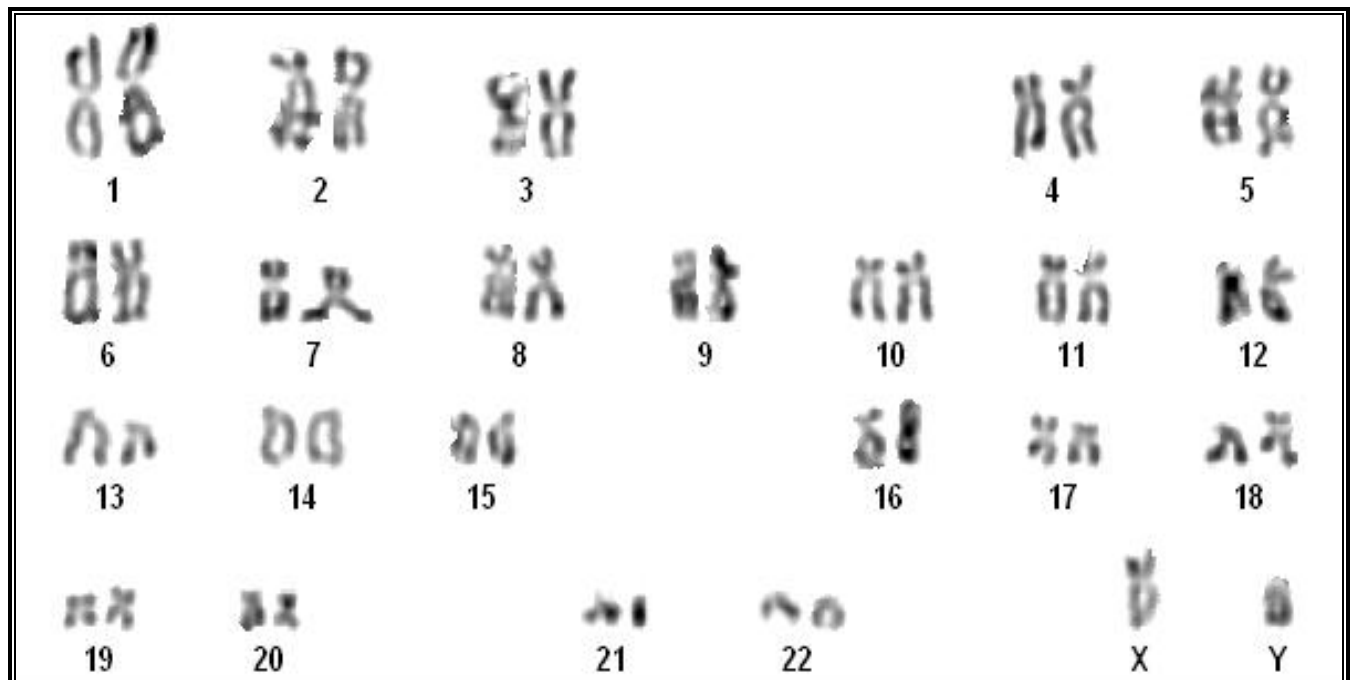


Figure 33 : Caryotype standard avec début de bandes R du cas N° 5, 46, XY.

### Cas N° 6

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Ces dernières sont présentées.

#### **Interprétation du caryotype de cas N° 6**

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre, malgré le diagnostic posé. Mais contrairement au cas précédent (N° 5), le caryotype semble entièrement normal. Des mutations cryptiques pourraient être à l'origine de l'infertilité.

Le résultat a été confirmé après étude de 30 mitoses et la réalisation de 5 classements.

Tous les autres cas de caryotype normaux avec une infertilité avérée pourrait être due à des mutations diverses qui serait intéressant de prospecter du point de vue moléculaire en particulier en niveau des microdélétions de chromosome Y.

Cas N° 6

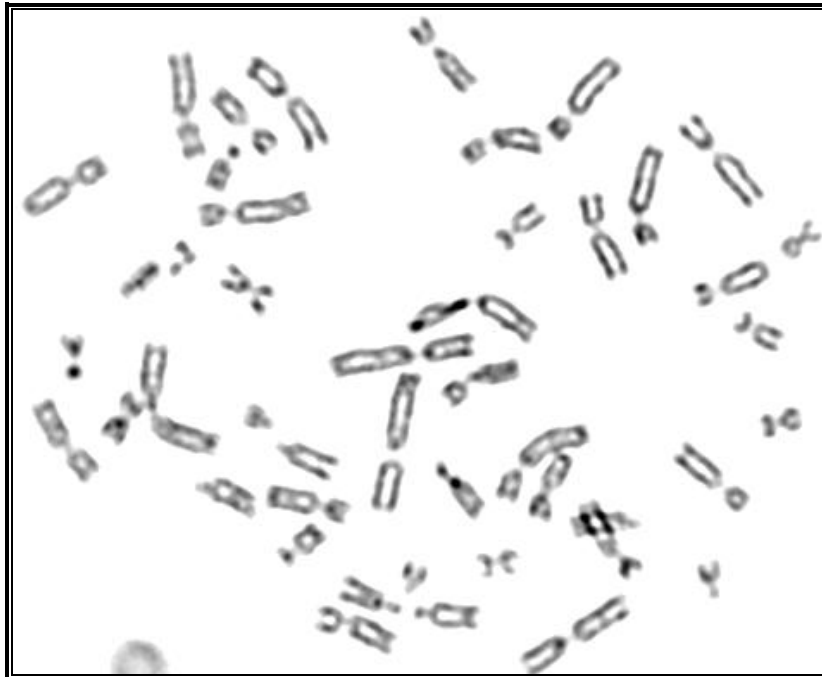


Figure 34 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

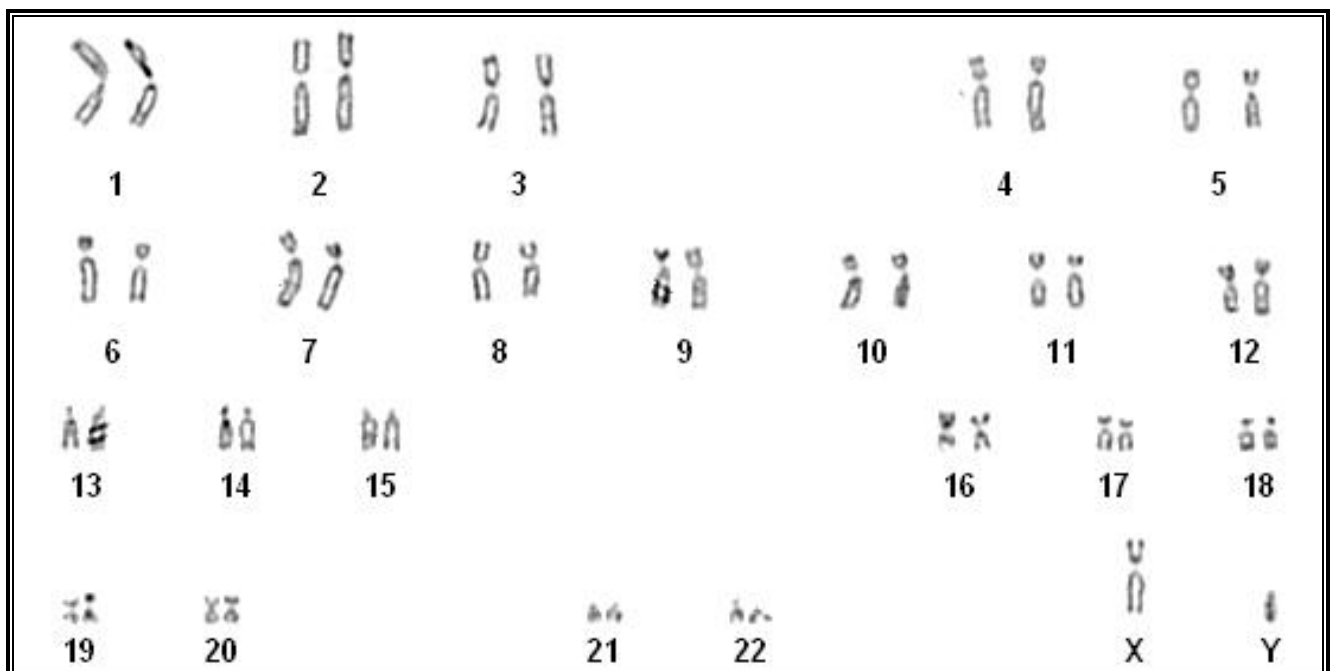


Figure 35 : Caryotype standard en bande R du cas N° 6, 46, XY.



### I- Discussion générale

Les instabilités génomiques les plus anciennement connues sont les remaniements chromosomiques. Outre les aneuploïdies on distingue des remaniements structuraux qui sont associés à un phénotype habituellement normal parmi lesquels les translocations occupent une place prépondérante, les inversions péri ou paracentriques. Les remaniements déséquilibrés qui sont, en général, associés à des syndromes très délétères conduisant à la naissance d'enfants polymalformés ou de morts fœtales in utero. On trouve les délétions, les duplications et les translocations déséquilibrées. [79].

Dans notre étude, les différents types d'anomalies précitées ont été mis en évidence sur l'ensemble de nos patients.

Parmi de nombreux facteurs étiologiques, les anomalies chromosomiques jouent un rôle primordial dans l'infertilité masculine avec des paramètres anormaux du spermogramme.

Nos résultats ont démontrés une corrélation inverse entre les anomalies chromosomiques et les paramètres du spermogramme. Le mécanisme exact par lequel l'anomalie chromosomique conduit à une infertilité n'est pas encore clair.

Plusieurs études ont montré une incidence élevée des anomalies chromosomiques chez les hommes stériles, qui s'étend de 2,2 à 14,3 %, ils ont indiqués que ces anomalies et en particulier, celles qui touchent les chromosomes sexuels prédominent chez les sujets azoospermiques (12,6 %), tandis que les anomalies touchant les autosomes sont plus fréquentes chez les sujets oligospermiques. [75, 83]. Dans notre étude nous avons constaté que 28,6 % des hommes infertiles présentaient des anomalies chromosomiques.

Nous avons aussi constaté que le syndrome de Klinefelter, 47, XXY est associée à un déficit spermatogénique sévère qui cause une réduction marquée du volume testiculaire et une azoospermie ayant pour résultat l'infertilité.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

De nombreuses études d'infertilité non obstructive ont rapportés que le syndrome de Klinefelter est l'anomalie chromosomique dont l'incidence est la plus élevée (10 % des patients présentant une azoospermie) chez les hommes infertiles souffrant d'une atteinte testiculaire d'origine chromosomique et que ce type d'anomalie est associé à une azoospermie totale. [75, 83].

Néanmoins, il existe des cas de syndrome de Klinefelter où l'on retrouve des spermatozoïdes lors d'une biopsie testiculaire ou même dans l'éjaculat. Leur présence dans le testicule semble liée à celle des cellules normales 46, XY capables d'achever la spermatogenèse dans un environnement testiculaire très défavorable. Le risque de mal ségrégation chromosomique pourra concerner non seulement la paire XY mais aussi les autosomes. [79].

Parmi les cas de trisomies des chromosomes sexuels, nous avons observés un cas d'infertilités oligospermique avec un caryotype 47, XYY qui correspond au syndrome des super mâle. Cette anomalie des chromosomes sexuels est la deuxième cause la plus fréquente chez les hommes infertiles présentant un déficit testiculaire d'origine chromosomique. [82]. Par ailleurs notre caryotype 47, XYY montre d'autres anomalies associées.

Dans la littérature, il est rapporté que le 47, XYY peut être associé à l'Y dicentrique et que la présence de deux chromosomes Y favorise l'apparition des cellules à 45, XO. Cette même étude a rapportée une incidence de 1,5 pour 1000 nouveaux nés pour ce syndrome et que le phénotype de ces patients est variable. [68].

Une autre étude a rapportée que ce syndrome peut être associé au syndrome de Prader Willi. [84]. Ce qui ne correspond pas à l'anomalie qui apparaît sur nos caryotypes. Si l'anomalie observée est confirmée par la FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) ou la CGH (Comparative Génome Hybridization), elle sera la première décrite et le complément d'information sur le phénotype associé apportera un élément de réponse à certaines pathologies.

Si la plupart des hommes double Y (47, XYY) sont fertiles, la fréquence de cette anomalie est cependant quatre fois plus élevée chez les sujets infertiles que dans la population générale. La

question de savoir pourquoi seuls certains hommes 47, XYY ont des problèmes de fertilité n'est pas encore résolue. [81].

La plupart de ces hommes 47, XYY ont une descendance à caryotype normal. Une élévation du taux d'aneuploïdie spermatique touchant les chromosomes sexuels est décrite chez ces sujets. Ces anomalies chromosomiques spermatiques semblent moins fréquentes si le sujet a un caryotype en mosaïque et une spermatogenèse normale. Une relation semble exister entre le degré de mosaïcisme, l'élimination pré méiotique du chromosome Y surnuméraire et les altérations du processus méiotique. [85].

Deux caryotype en mosaïque, 45, XO / 46, XY ont été observés chez deux patients azoospermiques. Ces patients infertiles peuvent avoir un profil de spermatogénèse défectueux ou bien normal. Le mosaïcisme gonosomal peut être la cause probable d'échecs de l'AMP (Assistance Médicale à la Procréation). [85].

Dans une étude de 600 cas d'aneuploïdies de chromosome Y, il a été rapporté que les lignées cellulaires à 45, XO sont présents dans plus de la moitié des cas. [86].

Jean Pierre Siffroi et all, ont montré par une étude menée sur 14 hommes infertiles que les microdélétions ainsi que de larges réarrangements structuraux du chromosome Y sont souvent associées avec un caryotype en mosaïque 45, XO / 46, XY. Les résultats de cette étude ont montrés que parmi ces 14 malades, 6 avaient un caryotype en mosaïque, avec une fréquence des cellules à 45, XO de 24 à 82 % confirmée par le caryotype standard. Et que ces mêmes malades avaient des microdélétions au niveau du chromosome Y pour les régions AZF a, b, c. Ce qui peut être le cas des deux malades trouvés dans notre étude. Pour les 8 patients restant de cette étude, le caryotype était normal 46, XY et la mosaïque n'a été confirmée que par une ré-analyse de 300 métaphases en utilisant la FISH avec une fréquence de 0,3 à 9,3 %. Tous ces malades avaient une microdélétion au niveau de la région AZFc.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

Les anomalies de structure des chromosomes contribuent également à la production de patients porteurs d'azoospermies non obstructive.

Parmi ces anomalies, les translocations robertsonienne entre chromosomes acrocentriques (fusions centriques) : entre les chromosomes 13 et 14 ; 45, XY, der (13q, 14q) ; entre les chromosomes 14 et 21 : 45, XY, der (14q, 21q), et les translocations réciproques sont retrouvées avec une fréquence 8 à 10 fois supérieure chez les hommes infertiles. Étant donné le caractère plutôt aléatoire des points de cassure chromosomique rencontrés dans les translocations réciproques, il paraît peu vraisemblable que l'atteinte de la gamétogenèse soit due systématiquement à la cassure d'un gène majeur de la spermatogenèse. Une étude a cependant montré que certains gènes, dont les transcrits sont retrouvés dans le testicule et ceci de façon exclusive ou non, sont localisés dans des régions du génome décrites comme points de cassure chromosomique récurrents dans des translocations chez des sujets infertiles. [87].

L'explication la plus vraisemblable des conséquences des translocations chromosomiques sur la spermatogenèse est donc probablement mécanique et liée aux mouvements des chromosomes à la méiose dont le moment critique est certainement le stade pachytène au cours duquel les chromosomes homologues vont s'apparier sous forme de bivalents et procéder à des recombinaisons génétiques. Outre leurs effets directs sur la spermatogenèse, les translocations peuvent éventuellement être transmises, naturellement ou après AMP, de façon déséquilibrée et diminuer les capacités de reproduction normale des couples en les exposant à un risque accru de fausses couches ou à la naissance d'un enfant porteur d'un syndrome chromosomique avec malformations, dysmorphie et retard mental.

Comme pour les translocations la fréquence des inversions péricentriques est augmentée dans la population des hommes infertiles. Les inversions du chromosome 9 et du chromosome 1 ont fréquemment été rapportées mais le rôle de l'inversion du chromosome 9 reste très controversé puisqu'il est plutôt considéré comme un variant chromosomique. Des études de la méiose masculine ont également été réalisées et, dans ces situations, suggéraient un problème d'asynapsis (zone de non appariement au stade pachytène de la première division de la méiose

entre deux chromosomes d'une même paire) comme l'origine des troubles de la spermatogenèse. Ces troubles peuvent d'ailleurs être majeurs et conduire à des azoospermies. [79].

Les translocations autosomales décrites dans la littérature peuvent être équilibrées ou non équilibrées et sont souvent associées à un désordre spermatogénique. Parmi les translocations les plus décrites : entre le 1 et le 9,16, 18 ; 1 et 19 ; entre le 2 et le 4...etc.

Le cas rapporté dans notre étude présente un caryotype anormal qui peut être porteur d'une translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 16 et qui n'a pas pu être confirmée par le caryotype standard.

Sur le plan moléculaire, un nombre considérable de gènes essentiels à la fonction reproductive de l'homme et de la spermatogenèse en particulier ont été identifiés.

En 1976 Tiepolo et Zuffardi ont démontré que le bras long du chromosome Y pourrait être impliqué dans l'infertilité masculine. Depuis ce temps, beaucoup d'études qui montrent l'association entre les microdélétions du chromosome Y et l'infertilité masculine ont été rapportés. [76].

Depuis, de nombreuses séries de patients azoospermiques ou oligozoospermiques qui ont été publiées montrent que l'incidence des microdélétions du chromosome Y varie de 3 à 28 % selon les études du fait de différences d'échantillonnage quant à la gravité de l'atteinte spermatique prise en compte et à son caractère idiopathique ou non [88, 89] . Le chiffre le plus vraisemblable se situe autour de 10 %, c'est-à-dire environ un homme sur 10 000, ce qui constitue une fréquence de pathologie délétionnelle très élevée en génétique humaine. [89,90].

De plus, l'association de microdélétions de l'Y avec d'autres pathologies affectant la spermatogenèse, comme une varicocèle ou des antécédents de cryptorchidie, est possible, ce qui sous estime probablement cette fréquence établie sur des séries de patients avec une infertilité idiopathique. [91,92]. L'hypothèse actuelle pour expliquer cette fréquence importante de délétion sur le chromosome Y repose sur la richesse de ce dernier en séquences d'origine rétrovirale,

séquences qui peuvent facilement recombinaison entre elles de façon non homologue. Ce mécanisme a déjà été prouvé pour AZFa et AZFc. [93,94].

Compte tenu de la fréquence plus élevée des caryotypes normaux parmi les patients de cette étude, il est fort probable que ces patients portent des microdélétions concernant l'une des régions AZF. Ce qui peut traduire le phénotype normal de ces patients ainsi que la perturbation des taux d'hormones FSH et LH et la présence d'azoospermie totale ou l'oligospermie sévère idiopathiques.

Touchant des régions différentes du chromosome Y, les délétions affectent de nombreux gènes et aboutissent à des atteintes testiculaires variables. Les délétions d'AZFa sont le plus souvent associées à la perte des cellules germinales et à un syndrome des cellules de Sertoli seules (SCO), celles d'AZFb à un blocage en méiose et celles d'AZFc à des défauts de la spermatogenèse qui peuvent être relativement modérés [95,96].

En effet, certains patients délétés pour AZFc montrent seulement une oligozoospermie, en général sévère, mais qui pourrait expliquer les rares cas de transmission naturelle. La description récente [97] d'une famille dans laquelle un père a pu transmettre une délétion d'AZFc à quatre fils tous infertiles soulève de nombreuses questions comme celles concernant les rapports entre l'existence d'une délétion sur l'Y et le génome particulier d'un individu, ses antécédents cliniques ou certains facteurs environnementaux.

Donc on peut penser que l'arrêt de la maturation des spermatozoïdes du cas n° 6 serait lié à une délétion au niveau de la région AZFb.

Après l'émergence de l'injection intra cytoplasmique du sperme (ICSI : Intra Cytoplasm Sperm Injection), il est possible aux hommes avec des anomalies chromosomiques ou avec des microdélétions sur le chromosome Y d'avoir des enfants, mais ces hommes ont une chance de transmettre une telle anomalie à leur progéniture masculine. La détection des microdélétions chez

les hommes azoospermiques et oligozoospermiques, mais pas dans leurs pères fertiles, propose que l'événement se soit produit de novo pour les patients stériles. [98- 100].

En conclusion, il est très clair que divers anomalies chromosomique, structurales et numériques ainsi que les microdélétions du chromosome de Y peuvent causer une déficience spermatogénique à divers points, ayant pour résultat une infertilité d'origine chromosomique. Toutes ces conclusions soutiennent fortement la recommandation d'un criblage des patients stériles pendant l'évaluation et avant l'inscription dans le programme d'ICSI.

### II- Conclusion et perspectives

La relation entre la génétique et l'infertilité masculine est maintenant reconnue. Ceci a un impact profond sur le chemin des traitements qui peuvent être offerts aux hommes infertiles.

Il est maintenant possible de déterminer l'incidence des anomalies chromosomiques responsables en employant une variété de techniques comme le caryotype standard, la PCR, la FISH, ainsi que d'autres techniques en haute résolution.

Notre étude confirme qu'un groupe d'hommes avec azoospermie non obstructive et oligospermie sévère ont un grand risque d'avoir des anomalies cytogénétiques sous jacente.

Les études cytogénétiques réalisées dans les populations d'hommes infertiles présentant des altérations des paramètres spermatiques ont montré l'existence d'une relation entre anomalies chromosomiques constitutionnelles et infertilité masculine. Une anomalie chromosomique constitutionnelle peut altérer la fonction de la reproduction de l'homme par une action spécifique sur la méiose ou sur la différenciation des cellules germinales. Cependant, son retentissement sur la fonction de reproduction présente une extrême variabilité dans son expression, de la subfertilité à la stérilité primaire.

Ainsi, la recherche des causes génétiques d'anomalies de la spermatogenèse présente de multiples intérêts :

- La mise en évidence d'une anomalie génétique peut permettre d'éviter de nombreux examens inutiles, voire des traitements illusoires.
- Elle permet également de réaliser un conseil génétique éclairé visant à déterminer les risques de transmission de l'anomalie à la descendance avec les éventuels handicaps qui peuvent en découler.
- Enfin, cette recherche débouche sur une meilleure connaissance fondamentale des chromosomes et des gènes impliqués et de leur mode d'action. Un tel travail nécessite bien sûr des rapports étroits entre les biologistes et les cliniciens.



Il est donc fortement recommandé d'examiner ces patients avant d'appliquer une ICSI pour infertilité. D'ailleurs, le diagnostic prénatal dans le cas de ces anomalies est d'une très grande importance. De telles investigations sont nécessaires pour réduire au minimum le risque de propagation de ces anomalies chromosomiques dans la génération suivante. En plus, un suivi complet des bébés conçus par ICSI, en particulier la progéniture masculine, est essentielle.

# Références bibliographiques

- 1- **Stérilité du couple.** Cours [en ligne]. Faculté de Médecine : ULP F67000 Strasbourg 2004-2005 ; p 249-255.
- 2- **Nicole Vacheret.** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - Lyon 1 France. Octobre 1999. p 1-4.
- 3- **Jean Pierre Siffroi.** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. 2001. p 1-45.
- 4- **Jonathan Rubenstein, Robert E Brannigan.** Infertility, Male. 2005; section 1-11.
- 5- **Gilles Bourbonnais.** Le système reproducteur [en ligne]. Cours compensateurs Chapitre 6. Université Laval. 2003. p 1-63.
- 6- **C. Krausz, J-P. Siffroi, N. Souleyreau-Therville, T. Bourgeron, K. McElreavey, M. Fellous.** Contrôle génétique de la spermatogenèse : chromosome Y et infertilité masculine. Annales de Biologie Clinique. Mai - Juin 2007 ; Volume 57, Numéro 3, 309-17, Dossier : 5<sup>ème</sup> journée scientifique de la SFBC.
- 7- **Jean Pierre Siffroi.** La spermatogenèse [en ligne]. Service d'Histologie. Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Tenon 2001. p 1-57.
- 8- **Françoise Jauzein, Solange Magre,** La différenciation sexuelle morphologique [en ligne]. INRA 2001.
- 9- **Nadejda Machev, Guy Fuhrmann, Stéphane Viville.** Ontogenèse des cellules germinales primordiales. Medecine/sciences 2004 ; 20 : 1091-5.

- 10- Rucker G.B., Mielnik A., King P., Golstein M., Schlegel P.N.** Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J.Urol*,**1998**, 106:6, 2068-71.
- 11- Batch J.A, Patterson M.N, Hughes I.A.** Androgen insensitivity syndrome. *Reproductive Medicine Review*, **1992**, 1, 375-383.
- 12- Eric Vendrely, Philippe Merviel,** Stérilité et hypofertilité masculines. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, **1998**. 10-032-E-10.
- 13- Claude Antony, Roger Augier Gilles, Bœuf Jean-Claude Boucaut ;** Biologie du développement et de la reproduction **1996**.
- 14- Kuttenn F, d'Acremont MF et Mowszowicz I.** Anomalies de la différenciation sexuelle. *Encycl Méd Chir, Endocrinologie-Nutrition*, **2003**,10-033-A-10, 26 p.
- 15- Frédéric Hamel.** Régulation transcriptionnelle du gène Sry humain et porcin par le facteur de Transcription gata-4. Thèse de doctorat. **2004**.
- 16- Françoise Jauzein, Corinne Cotinot.** Les gènes de la détermination sexuelle chez les mammifères. Institut national de recherche pédagogique INRA. **2001**.
- 17- Layman LC.** Human gene mutations causing infertility, *Journal of Medical Genetics* **2002**; 39:153-161.
- 18- Layman LC.** The genetics of human hypogonadotropic hypogonadism. *Am J Med Genet* **1999**; 89:240–8.
- 19- Françoise Jauzein, Corinne Cotinot.** Le chromosome Y et le gène SRY, Institut national de recherche pédagogique INRA.**2001**.
- 20- Simone Gilgenkrantz.** Au cœur de l'Y humain. *Médecine/sciences* janvier **2004** ; n° 1, vol. 20.

- 21- Tiepolo L. and Zuffardi O.** Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet*, **1976**,34:119-124.
- 22- Slatetsky H, Kuroda- Kawaguchi T, Minx PJ, et al.** The male specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* **2003**; 423: 825-37.
- 23- Hervé Wallerand, Stéphane Bernardini, Eric Chabannes, Hugues Bittard.** Infertilité masculine de cause génétique et biologie moléculaire. *Progrès en Urologie* **2003**, 13, 560-563.
- 24- Jan A.M.Kremer<sup>1</sup>, Joep H.A.M.Tuerlings, Eric J.H.Meuleman, Frans Schoute , Edwin Mariman, Dominique F.C.M.Smeets, Lies H.Hoefsloot, Didi D.M.Braat<sup>1</sup> and Hans M.W.M.Merkus<sup>1</sup>.** Microdeletions of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. *Human Reproduction* **1997** vol.12 no.4 pp.687–691.
- 25- Jean-Pierre Siffroi, Sophie Christin-Maitre.** Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. *mt médecine de la reproduction*, septembre-octobre **2006**. vol. 8, n° 5.
- 26- K. McElreavey, C. Krausz, C. Patrat, M. Fellous.** Infertilité masculine et les microdélétions du chromosome Y. *Gynécol Obstét Fertil* **2002** ; 30 : 405-12.
- 27- Bhasin S., Ma K., Sinha I. et al.** The genetic basis of male infertility. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **1998**, 27:783-805.
- 28- S.Hamamah Et C.Barthelemy.** Spermogramme et tests de fécondance : intérêt et limites [en ligne]. *JTA/1997*.
- 29- Aly Abbara.** Sperme et Spermocytogramme. *J. Lornage. Gynécologie-Obstétrique pratique* ; N° 144, avril **2002** ; page : 10-11.
- 30-Young J.** Hypogonadismes hypogonadotrophiques chez l'homme. *Encycl Méd Chir Endocrinologie- Nutrition*. **2000** ; 10-027-D-10, 12 p.

- 31- Jones J., Kemmann E.** Olfacto-genital dysplasia in the female. *Obstetric and Gynecology*, **1976**, 5, 443-466.
- 32 - McKusic VA.** Mendelian inheritance in man (MIM). A catalog of human genes and genetic disorders. Baltimore : Johns Hopkins University Press, **1998**, p 55.
- 33- Hardelin JP, Petit C.** A molecular approach to the pathophysiology of the X chromosome-linked Kallmann's syndrome balleire's. *Clin Endocrinol Metab* **1995** ; 9 : 489-507.
- 34- Meitinger T, Heye B, Petit C, Ballabio A.** Definitive localization of X-linked Kallmann syndrome (hypogonadotropic hypogonadism and anosmia) to Xp22. 3: close linkage to the hypervariable repeat sequence CRI-S232. *Am J Hum Genet* **1990** ; 47 : 664-669.
- 35- Chaussain J.L., Toublanc J.E., Feingold J. et al.** Mode of inheritance in familial cases of primary gonadotropic deficiency. *Hormone Research*, **1988**, 29, 202-206.
- 36- Pr. F. Duron & Coll.** Endocrinologie DCEM1 [en ligne] - 15 novembre **2006** p 1-311.
- 37- Weiss J., Axelrod L., Whitcomb R.W., Harris P.E., Crowley W.F.Jr., Jameson J.L.** Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the subunit of luteinizing hormone. *N. Engl. J. Med.*, **1992**, 326, 179- 183.
- 38- Jaffe T., Oates R.D.** Genetic abnormalities and reproductive failure. *Urol. Clin. North Am.*, **1994**, 21: 3, 389- 408.
- 39 - Lindstedt G., Nystrom E., Matthews C., Ernest I., Janson P.O., Chatterjee K.** Follitropin (FSH) deficiency in an infertile male due to FSHbeta gene mutation a syndrome of normal puberty and virilization but underdeveloped testicles with azoospermia, low FSH but high lutropin and normal serum testosterone concentrations. *Clin. Chem. Lab. Med.*, **1998**, 36, 663-665.

- 40- Sparkes R.S., Klisak I., Miller W.L.** Regional mapping of genes encoding human steroidogenic enzymes: P450scc to 15q23-q24, adrenodoxin to 11q22; adrenodoxin reductase to 17q24-q25; and P450c17 to 10q24-25. *DNA and Cell biology*, **1991**, 10, 359-365.
- 41- Morohashi K., Sogawa K., Omura T., Fujiikuriyama Y.** Gene structure of human cytochrome P- 450 (SCC), cholesterol desmolase. *J. Biol. Chem. (Tokyo)*, **1987**, 101, 879-887.
- 42- White P.C.** Genetic Diseases of Steroid Metabolism. *Vitam. and Horm.*, **1994**, 49, 131-195.
- 43- Lachance Y., Luu-The V., Verreault H., Et Al.** Structure of the human type II 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/ delta 5-delta 4 isomerase (3 beta-HSD) gene: adrenal and gonadal specificity. *DNA and cell Biology*, **1991**, 10, 701-711.
- 44- Sigman M., Howards S.S.** Male infer tility. In: *Campbell's Urology*. Edited by P.C. Walsh, A.B. Retick, T.A. Stamey, and E.D. Vaughan. Philadelphia : W. B . Saunders Company, **1998**, 2, VII, 43, 1287-1320.
- 45- White P.C., New M.I., Dupont B.** HLA-linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome P-450 specific for steroid 21- hydroxylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1984**, 81,7505- 7509.
- 46- Zachmann M., Tasmari D., Prader A.** Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 \_ hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1983**, 56 : 2, 222-229.
- 47- Chua S.C., Szabo P., Vitek Et Al.** Cloning of cDNA encoding steroid 11 beta-hydroxylase (P450c11). *P.N.A.S* **1987**, 84, 7193-7197.
- 48- Wu L., Einstein M., Geissler W.M., Chan H.K., Elliston K.O., Andersson S.** Expression cloning and characterization of human 17 hydroxysteroid dehydrogenase type 2, a

microsomal enzyme possessing 20 hydroxysteroid dehydrogenase activity. *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268 : 17, 12964-12969.

**49- Andersson S., Berman D.M., Jenkins E.P., Russell D.W.** Deletion of steroid 5-alpha-reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. (London), *Nature*, **1991**, 354, 159-161.

**50- Zajac J.D., Warne G.L.** Disorders of sexual development. *Baillières Clin. Endocrinol. Metab.*, **1995**, 9 : 3, 555- 579.

**51- Wilson J.D.** Syndromes of Androgen Resistance. *Biol. Reprod.*, **1992**, 46, 168-173.

**52- Laue L., Wu S.M., Kudo H., Hsueh A.J., Cutler G.B., Griffin J.E., Wilson J.D., Brain C., Berry A.C., Grant D.B., Chan W.Y.** A nonsense mutation of the human luteinizing hormone receptor gene in Leydig cell hypoplasia. *Hum.Mol.Genet*, **1995**, 4, 1429-1433.

**53- Latronico A.C., Anasti J., Arnhold I.J.P., Rapaport R., Mendonca B.B., Bloise W., Castro M., Tsigos C., Chrousos G.P.** Testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone receptor gene. *N. Engl. J. Med.*, **1996**, 344, 507-512.

**54- Rucker G.B., Mielnik A., King P., Golstein M., Schlegel P.N.** Preoperative screening for genetic abnormalities in men with non-obstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J.Urol.*,**1998**, 106:6, 2068-71.

**55- Bauduceau B, Mayaudon H, Dupuy O et Desangles F.** Syndrome de Klinefelter. *Encycl Méd Endocrinologie-Nutrition*, **2001**,10-032-E-20, 6 p.

**56- Nicole Morichon-Delvallez, Claire Bouvattier.** Le syndrome de Klinefelter. *Encyclopédie Orphanet Grand Public*. Septembre **2006**; 6p.

**57- N. Gusbin, A. Verloes, A. Daly, A. Beckers.** LES GRANDES TAILLES : quelques grands syndromes et revue de la littérature. *Rev Med Liege* **2006**; 61 : 7-8 : 572-580.

- 58- Daniel J., Wattendorf, and Maximillian Muenke.** Klinefelter Syndrome. Annual Clinical Focus. December 1, 2005+ Volume 72, Number 11.
- 59- Jeannie Visootsak and John M Graham, Jr.** Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. Orphan Journal of Rare Diseases. Full Text. 1999-2007. 11p.
- 60- V. Velissarioua, S. Christopouloua, C. Karadimasa, I. Pihosb, C. Kanaka-Gantenbeinc, N. Kapranosd, G. Kallipolitise and A. Hatzakia.** Rare XXY/XX mosaicism in a phenotypic male with Klinefelter syndrome: case report. European Journal of Medical Genetics Volume 49, Issue 4, July-August **2006**, Pages 331-337.
- 61- T. Diemer, C. Desjardins:** Developmental and genetic disorders in spermatogenesis, Human Reproduction Update **1999**, Vol. 5, No. 2 pp. 120–140.
- 62- Nieschlag, E., Behre, H.M., Meschede, D. et al.** Disorders at the testicular level. In Nieschlag, E. and Behre, H. (eds), Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction. Springer-Verlag, Berlin, **1997** pp. 133–159.
- 63- Carlo Foresta, Alberto Ferlin, Luca Gianaroli and Bruno Dallapiccola.** Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples May **2002**, Volume 10, Number 5, Pages 303-312.
- 64- G.R. Dohle, W. Weidner, A. Jungwirth, G. Colpi, G. Papp, J. Pomerol, T.B. Hargreave.** Guidelines on male infertility. European Association of Urology MARCH **2004**.
- 65- Johannes Nielsen.** Le Syndrome XYY. Encyclopédie Orphanet Grand Public. Septembre **2006**.
- 66- Daniel L. Hartl, Elisabeth W. Jones.** Génétique : Les grands principes. 3<sup>ème</sup> édition Paris, Dunod, **2003**. p 182-3.
- 67- Margaret W. Thompson, Roderick R. McInnes, Huntington F. Willard.** Génétique médicale. 5<sup>ème</sup> édition. Médecine-Science, Flammarion. **1995**. p 239-240.



- 68- Dilek Aktas, Mehmet Alikasifoglu, Nazlı Gonc, Mehmet E. Senocak , Ergul Tuncbilek.** IsodicentricY (p11.32) chromosome in an infant with mixed gonadal dysgenesis. *European Journal of Medical Genetics* 49, **2006**; 141–149
- 69- Heather Hall, Patricia Hunt and Terry Hassold.** Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Current Opinion in Genetics & Development* **2006**, 16:323–329.
- 70- Chang H.J., Clark R.D., Bachman H.** The phenotype of 45, X/46, XY mosaicism and analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am. J. Hum. Genet.*, **1990**, 46, 156-167.
- 71- J.M. Rigot.** Physiologie et impact de la varicocèle sur la fertilité [en ligne]. Service Andrologie. Chru lille.**2006**.
- 72- H. Yavetz.** Cryptorchidisme: incidence and sperm quality in infertile men [en ligne]. *Andrologia*, **1992**.
- 73- Dania Bazarbachi.** Les cryptorchidies opérées selon la technique de stephen-fowler Thèse n° 10317 Genève **2003**.
- 74- Hervé Lejeune, Michel Pugeat.** Étiologies de l'infertilité masculine [en ligne]. *FC\_Stérilité\_Homme\_Etiologies* **2000**.
- 75- Punam Nagvenkar, Kundan Desai, Indira Hinduja & Kusum Zaveri.** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res* 122, July **2005**, pp 34-42.
- 76- Arzu Vicdan, Kubilay Vicdan, Serdar Gunalp, Aykut Kence, Cem Akarsub, Ahmet Zeki Is, Eran So'zen.** Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2004**; 117,49–54.

- 77- J. Egozcue, J. Blanco, E. Anton, S. Egozcue, Z. Sarrate and F. Vidal.** Genetic Analysis of Sperm and Implications of Severe Male Infertility—A Review. *Placenta* **2003**, 24, S62–S65.
- 78- J.M. Pina-Neto, R.C.V. Carrara, R. Bisinella, L.F. Mazzucatto, M.D. Martins E. Sartoratto and R. Yamasaki.** Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. Cytogenetic and Y microdeletion studies of infertile men *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **2006**; 39: 555-561.
- 79- F.Vialard, M. Benahmed, R. Lombroso, J. Selva.** Instabilité génomique et infertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32, **2004** ; 1013–1022.
- 80- Feodora Stipoljev , Sanja Vujisic, Josip Parazajder , Daria Hafner , Davor Jezek , Jadranka Sertic.** Cytogenetic analysis of azoospermic patients: karyotype comparison of peripheral blood lymphocytes and testicular tissue. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 124, **2006**; 197–203.
- 81- J.P. Siffroi, S. Chantot-Bastaraud, C. Ravel.** Origines géniques et chromosomiques des anomalies de la spermatogenèse : aspects cliniques et rapports avec les modèles animaux. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 31, 2003; 504–515.
- 82- Alberto Ferlin, Barbara Arredi, Carlo Foresta.** Genetic causes of male infertility. *Reproductive Toxicology* 22, **2006**; 133–141.
- 83- Polani B Seshagiri.** Molecular insights into the causes of male infertility. November **2001**. Vol. 26 No. 4 Suppl. 429–435.
- 84- Sylvie Odent, Sophie Taque, Josette Lucas, Franceza Le Mee and Bernard Le Marec.** Prader–Willi syndrome and polygonosomal abnormalities in males: about a Prader–Willi/47, XYY patient. *Annales de Génétique* Volume 44, Issue 1, January-March 2001, Pages 1-3.

- 85- N. Rives, N. Mousset-Siméon, L. Sibert, V. Duchesne, L. Macé, J.-P. Milazzo, S. Mazurier, B. Macé.** Anomalies chromosomiques du spermatozoïde. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32, **2004**; 771–778.
- 86- Hsu, L.** Phenotype/caryotype correlation of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am. J. Med. Genet.* **1994.**, 53, 108-140.
- 87- Iris Bartels, Heike Starke, Loukas Argyriou, Simone M. Sauter, Barbara Zoll, Thomas Liehr.** An exceptional complex chromosomal rearrangement (CCR) with eight breakpoints involving four chromosomes (1;3;9;14) in an azoospermic male with normal phenotype. *European Journal of Medical Genetics* 50, **2007**; 133e138.
- 88- Suzanne Demczuk, Myriam Pelletier, Francois Bénard, Serge B. Melancon, Pierre St-Miche.** Genetic testing experience of a private fertility clinic. *International Congress Series* 1271, **2004**; 177– 180.
- 89- Peter H. Vogt.** Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Molecular and Cellular Endocrinology* 224, **2004**; 1–9.
- 90- C. Ravel, S. Chantot-Bastaraud, K. McElreavey, J.-P. Siffroi.** Polymorphismes du chromosome Y et fertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34, **2006**; 885–893.
- 91- Sjoerd Repping, Saskia K.M. van Daalen, Cindy M. Korver, Laura G. Brown, Janet D. Marszalek, Judith Gianotten, Robert D. Oates, Sherman Silber, Fulco van der Veen, David C. Page, and Steve Rozen.** A family of human Y chromosomes has dispersed throughout northern Eurasia despite a 1.8-Mb deletion in the azoospermia factor c region. *Genomics* 83 (2004) 1046–1052.
- 92- A Ferlin<sup>1</sup>, E Moro<sup>1</sup>, A Rossi<sup>1</sup>, B Dallapiccola and C Foresta.** The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *Journal of Medical Genetics* 2003;40:18-24.

- 93- Sun C, Skaletsky H, Rozen S, Gromoll J, Nieschlag E, Oates R, et al.** Deletion of azoospermia factor a (AZFa) region of human Y chromosome caused by recombination between HERV15 proviruses. *Hum Mol Genet* 2000;9:2291–6.
- 94- Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, Minx PJ, Cordum HS, Waterston RH, et al.** The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet* 2001;29:279–86.
- 95- M. C. Martí'Nez, M. J. Bernabe, E. Go' Mez, A. Ballesteros, J. Landeras, G. Glover, M. Gi'L-Salom, J. Remohi', And A. Pellicer.** Screening for AZF Deletion in a Large Series of Severely Impaired Spermatogenesis Patients. *Journal of Andrology*, Vol. 21, No. 5, September/October 2000.
- 96- Rima Dada, a N. P. Gupta, b and K. Kucheria c.** Yq Microdeletions Azoospermia Factor Candidate Genes and Spermatogenic Arrest. *Journal of Biomolecular Techniques* 15:176–183 © 2004 ABRF.
- 97- Chang PL, Sauer MV, Brown S.** Y chromosome microdeletion in a father and his four infertile sons. *Hum Reprod* 1999;14:2689–94.
- 98- C. Ferrás<sup>1</sup>, S. Fernandes, C.J. Marques, F. Carvalho, C. Alves<sup>1</sup>, J. Silva<sup>1</sup>, M. Sousa and A. Barros** AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome. *Molecular Human Reproduction* 2004 10(10):755-761; doi:10.1093/molehr/gah104
- 99- S.E. Kleiman, L. Yogev, R. Hauser, A. Botchan, B. B.-S. Maymon, G. Paz, and H. Yavetz.** Expression profile of AZF genes in testicular biopsies of azoospermic Human Reproduction, doi:10.1093/humrep/del341.
- 100- Chen SU, Lien YR, Ko TM, Ho HN, Yang YS, Chang HC.** Genetic screening of karyotypes and azoospermic factors for infertile men who are candidates for ICSI. *Arch Androl.* 2003 Nov-Dec;49(6):423-7.

# LISTE DES FIGURES

## Partie bibliographique

Figure 1 : L'appareil génital masculin.....	3
Figure 2 : Structure histologique du testicule.....	4
Figure 3 : Structure histologique des tubes séminifères.....	5
Figure 4 : Structure des cellules de Sertoli.....	6
Figure 5 : Structure du spermatozoïde humain.....	9
Figure 6 : Le tissu interstitiel.....	10
Figure 7 : Constitution du pénis.....	13
Figure 8 : Les glandes Annexes.....	14
Figure 9 : Origine des cellules germinales.....	15
Figure 10 : Evolution des cellules germinales .....	16
Figure 11 : Les phases de la spermatogenèse.....	18
Figure 12 : Les étapes de la spermiogenèse.....	19
Figure 13 : Structure du chromosome Y.....	23

## Partie pratique

Figure 14 : Caryotype masculin normal en bande R 46, XY.....	52
Figure 15 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G×100.....	62
Figure 16 : Caryotype standard d'un Klinefelter 47, XXY.....	62
Figure 17 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé du cas n°2 G ×100.....	64
Figure 18 : Caryotype standard du cas n°2 : 46, XY.....	64
Figure 19 : Chromosomes métaphasiques en bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G 100.....	65

<b>Figure 20 : Caryotype standard en bande R du cas N° 2 : 46, XY.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure 21 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G 100.....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 22 : Caryotype standard du cas n°2 : 45, XO.....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 24 : Caryotype standard du cas n°3, une cellule à 46, XY.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 25 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé cas n°3.....</b>	<b>69</b>
<b>Figure 26 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>70</b>
<b>Figure 27 : Caryotype standard avec début de bandes R d'un homme infertile, une cellule à 45, XO.....</b>	<b>70</b>
<b>Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>71</b>
<b>Figure 29 : Caryotype standard d'un homme infertile, 47, XYY.....</b>	<b>72</b>
<b>Figure 30 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement 100.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 31 : Caryotype standard avec début de bandes R du 47, XYY.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 32 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 33 : Caryotype standard du cas n° 5, 46, XY.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 35 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>77</b>
<b>Figure 22 : Caryotype standard du cas n°6, 46, XY.....</b>	<b>77</b>

# Annexe

**Tableau 1** : Étiologies du défaut de la spermatogenèse.[K. Mc Elreavey ,2002].

Étiologie	Phénotype
<p><b>Pré-testiculaire</b></p> <p><b>Endocrine</b> (insuffisance gonadotrope)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- congénitale (syndrome de Kallman)</li> <li>- acquise (tumeur, post-traumatique, selle turcique vide, iatrogène)</li> </ul> <p><b>Troubles du coït</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- dysfonction érectile</li> <li>- dysfonction éjaculatoire</li> </ul>	<p>Azoospermie Azo / Oligozoospermie</p> <p>Aspermie Aspermie</p>
<p><b>Testiculaire</b></p> <p><b>Congénitale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Anorchie</li> <li>- Cryptorchidisme</li> </ul> <p><b>Génétique</b></p> <p>Anomalies chromosomiques</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Klinefelter et ses variantes</li> <li>- Translocations, inversions</li> <li>- Délétions du chromosome Y</li> <li>- Anomalies monogéniques</li> </ul> <p><b>Varicocèle</b></p> <p><b>Agents anti-spermatogéniques</b> (environnementaux, médicaments)</p> <p><b>Chimiothérapie, radiations ionisantes</b></p> <p><b>Torsion vasculaire, traumatismes, orchite</b></p>	<p>Azoospermie Azo / Oligozoospermie</p> <p>Azo / Oligozoospermie sévère Azo / Oligozoospermie Azo / Oligozoospermie sévère Azo / Oligozoospermie Oligozoospermie Oligozoo / Azoospermie Azo / Oligozoospermie sévère Azo / Oligozoospermie</p>
<p><b>Post-testiculaire</b></p> <p><b>Obstructive</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Epididymale (congénitale ou post-infectieuse)</li> <li>- Déférentielle (génétique ou post-vasectomie)</li> </ul> <p><b>Infection des glandes accessoires</b></p> <p><b>Immunologique</b> (idiopathique ou secondaire)</p>	<p>Azo / Cryptozoospermie Azo / Cryptozoospermie Oligozoospermie Normospermie / Oligozoospermie</p>
<p><b>IDIOPATHIQUE</b></p>	<p>Azo / Oligozoospermie</p>

**Tableau 2** : Les autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire.  
[Françoise Jauzein, 2001].

GENE	LOCALISATION CHROMOSOMIQUE (humaine)	TISSU OU LE GENE S'EXPRIME (souris)	PERIODE D'EXPRESSION (souris)	CARACTERISTIQUES DE SA PROTEINE (humaine)	ROLE DE LA PROTEINE
<b>SRY</b>	bras court du chr Y	précurseurs et cellules de Sertoli, cellules germinales mâles	juste avant la différenciation des testicules reprise à l'âge adulte	204 aa, possède un domaine de liaison à l'ADN entraînant sa courbure	différenciation de la gonade en testicule
<b>WT1</b>	bras long du chr 11	crête urogénitale puis cellules de Sertoli ou cellules de la granulosa, mésonéphros et rein en développement	dès le 9ème jpc et reste exprimé toute la vie dans les gonades	différentes isoformes protéiques présentant une capacité de liaison à l'ADN (par des domaines en doigt de Zinc) jouant le rôle de facteur d'épissage ou de transcription	indispensable à la morphogénèse de la crête génitale et régulerait la transcription du gène SRY
<b>SOX9</b>	bras long du chr 17	crêtes génitales des deux sexes puis cellules de Sertoli	courte chez la femelle et plus longue chez le mâle	509 aa, un domaine de liaison à l'ADN	activation de l'expression du gène de l'AMH
<b>DAX1</b>	bras court du chr X	crêtes génitales et autres tissus	courte chez les mâles et plus longue chez les femelles	470 aa, possède une zone de liaison à l'ADN et une zone similaire aux sites de liaison des ligands des récepteurs nucléaires	inhibition de l'action de SF1
<b>SF1</b>	bras long du chr 9	ébauches des gonades des deux sexes et autres tissus	très précoce dans les deux sexes, se poursuit à l'âge adulte	récepteur nucléaire	active l'expression de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse
<b>AMH</b>	bras court du chr 19	cellules de Sertoli, cellules de la granulosa	commence lors de la différenciation testiculaire, est maximale lors de la régression des canaux de Müller et baisse à la puberté	homologie avec certains facteurs de croissance (TGF- $\beta$ )	provoque la régression des canaux de Müller et inhibe l'aromatase



**Tableau 3** : Autres anomalies chromosomiques causant l'infertilité d'origine sécrétoire. [T.Diemer, C.Desjardins, 1999].

<b>Translocations entre les autosomes</b>
t (1;9) (q32.1; q34.3)
t (1;16) (q22; p 12)
t (1;16) (q23; p13)
t (1;18) (p31.2; q23)
t (1;19) (p13; q13), 1qh+
t (2;4) (q23; q27)
t (2;8) (q23; p21)
t (2;22) (q33; q22)
t (3;4) (p25; q21.3)
t (3;5) (q29; q14) (p12; q34)
t (3;14) (q27; q11)
t (3;20) (q11; p13)
t (4;6) (q26; q27)
t (4; 13) (q11; q12.3)
t (5; 8) (q22; q24.1)
t (9;12) (q22; q22)
t (9;13) (q22; q32)
t (9;15) (q22; q15)
t (9;17) (q11.3; q11.3)
t (9;17) (q11; q11)
t (9;20) (q34; q11)
t (10; 14)
t (11;15) (q25-qter; pter)
t (13;14)
t (14;21) (q13; p13)
t (14;22) (p11; q11.1)
t (17;21) (p13; q11)
t (19;22) (p13.1; q11.1)
<b>Translocations entre les autosomes et les chromosomes sexuels</b>
t (13q;15q)/46, XY
t (Y;1) (q12; p34.3)
t (Y;3) (q12; p21)
t (Y;11) (q11.2; q24)
<b>Translocations entre les chromosomes sexuels</b>
t (X;Y)
t (X;Y) (p22.3; q11)
<b>Y dicentrique</b>

**Tableau 4 :** Valeurs de référence du spermogramme définies par l’OMS.  
 [Geneviève GRIZARD, Clément JIMENEZ. 1997].

<b>Paramètres spermatiques</b>	<b>Valeurs normales</b>	<b>Pathologie</b>
<b>Volume de l'éjaculat</b>	2 à 6 mL	Hypo ou hyperspermie
<b>pH</b>	>7.2	
<b>Leucocytes</b>	< 10 <sup>6</sup> / mL	Leucospermie
<b>Concentration en spermatozoïdes</b>	≥ 20 x 10 <sup>6</sup> /ml ou ≥ 40 x 10 <sup>6</sup> /éjaculat	Oligospermie Azoospermie si absence
<b>Mobilité normale à 1 heure</b>	≥ 50% et au moins 25% de mobilité	Asthénospermie
<b>% de formes mortes</b>	< 30 %	Nécrospermie
<b>% de formes anormales</b>	< 70 %	Tératospermie

**Tableau 5** : Valeurs de références des taux d'hormones gonadotropes chez l'homme. [Laboratoire d'hormonologie du CHUC].

<b>Paramètres</b>	<b>Normales</b>	<b>Résultats</b>
<b>FSH</b>	<b>1.0-12.4 mUI/ml</b>	
<b>LH</b>	<b>2-12 mUI/ml</b>	
<b>Testostérone</b>	<b>2.25-9.0 ng/ml</b>	



## ملخص باللغة العربية

يعتبر العقم أحد المشاكل الاجتماعية العامة التي يتعرض لها العديد من الأزواج في المجتمع الإنساني. تقريبا 13- 18 % من الأزواج يعانون من هذه المشاكل الاجتماعية. و حوالي نصف الحالات من العقم ترجع إما إلى الزوج أو الزوجة.

معظم هذه الحالات من العقم هي أمراض مجهولة السبب تعتمد على قاعدة خلوية وراثية أو جزيئية .

من بين التشوهات التي يمكن أن تتعرض لها الصبغيات عند بعض الحالات من العقم عند الرجال :

تشوهات في عدد الصبغيات خاصة تلك التي تتعرض لها الصبغيات الجنسية X و Y . إما تشوهات في البنية الصبغية التي تؤدي إلى عدم التوزيع الصحيح للصبغيات خلال عملية الانقسام الخلوي المنصف و بالتالي تدهور عمل الخلايا الجنسية . أو فقدان بعض جزيئات من الصبغي Y غير المرئية باستعمال الطابع النووي مسؤول عن ضياع بعض الجينات الخاصة بإنتاج الحيوانات المنوية خاصة العامل الوراثي AZF.

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تشوهات الصبغيات عند الرجال الذين يعانون من العقم دو الطبيعة الإفرافية. و قد تم التطرق إلى العلاقة بين التشوه الجيني و العوامل السريرية (الكلينيكية).

هذه الدراسة تم انجازها من خلال عينة 14 رجل عقيم, من بينهم 12 يعانون من انعدام الحيوانات المنوية في السائل المنوي و رجلان لديهم نقص في عدد الحيوانات المنوية .

كما وجد أن 4 من بين 14 رجل لديهم تشوهات في عدد الصبغيات الجنسية . باقي الحالات لديهم طابع نووي عادي. كل هذه التشوهات في الصبغيات تؤدي إلى عجز في إنتاج الحيوانات المنوية.

كل هذه النتائج تعزز بشكل قوي تعليمات الأبحاث عن السبب الوراثي للعقم عند الرجال.

**الكلمات المفتاحية :** ذكر ,عقم, دراسة الوراثة الخلوية.

## **Abstract**

Infertility is a reproductive health problem that affects many couples in the human population. About 13 to 18 % of couple suffers from it and approximately one-half of all cases can be traced to either partner.

Many cases of idiopathic infertility have a genetic or molecular basis. The knowledge of the molecular genetics of male infertility is developing rapidly; new “spermatogenic genes” are being discovered.

Chromosomal abnormalities found in infertile patients are either gonosomal aneuploidies or structural anomalies, which interfere with the normal chromosome behavior at meiosis and lead to germ cell breakdown. Microdélétions of the Y chromosome are often undetectable at karyotype and are responsible for the loss of genes, which compose the AZF factor.

The main purpose of this study is to detect the type of chromosomal abnormalities in patients with severe male factor infertility. The association between the genetic abnormality and clinical parameters was also evaluated.

This study was carried out in 14 infertile men. Results of 14 patients, 12 had non obstructive azoospermia and 2 had severe oligospermia. Four of 14 patients had sex chromosomal abnormalities. The other cases have a normal karyotype.

Various chromosomal abnormalities can cause spermatogenic breakdown resulting in chromosomally derived infertility. All these findings strongly support the recommendation of genetic screening of infertile patients.

**Key Word :** Male, infertility, Cytogenetic study.

## Résumé

L'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples dans la population humaine. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement la moitié de tous les cas peuvent être attribués à l'un ou à l'autre partenaire.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base cytogénétique ou moléculaire. Les connaissances acquises dans le domaine de la cytogénétique et de la biologie moléculaire de l'infertilité masculine se développent rapidement.

Les anomalies du caryotype retrouvées chez des patients infertiles sont, soit des aneuploïdies touchant principalement les gonosomes X et Y, soit des anomalies de structure entraînant des troubles de la répartition chromosomique à la méiose et le blocage des cellules germinales. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF.

Le but principal de cette étude est de détecter les anomalies chromosomiques chez des patients présentant une infertilité masculine non obstructive. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée.

Cette étude a été effectuée sur 14 hommes stériles. Parmi ces patients 12 ont une azoospermie et 2 présentent une oligospermie. 4 / 14 patients azoospermiques ont des anomalies des chromosomes sexuels. Les autres cas ont un caryotype normal.

Ces diverses anomalies chromosomiques peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine chromosomique. Tous ces résultats soutiennent fortement les recommandations du criblage génétique des patients stériles.

**Mots clés :** Mâle, infertilité, Étude Cytogénétique.

Année Universitaire : 2006/2007.

Présentée par : REZGOUNE- CHELLAT DJALILA

## Analyse cytogénétique des anomalies chromosomique des hommes infertiles.

### Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister en Génétique des pathologies humaines.

#### Résumé :

L'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples dans la population humaine. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement la moitié de tous les cas peuvent être attribués à l'un ou à l'autre partenaire.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base cytogénétique ou moléculaire. Les connaissances acquises dans le domaine de la cytogénétique et de la biologie moléculaire de l'infertilité masculine se développent rapidement.

Les anomalies du caryotype retrouvées chez des patients infertiles sont, soit des aneuploïdies touchant principalement les gonosomes X et Y, soit des anomalies de structure entraînant des troubles de la répartition chromosomique à la méiose et le blocage des cellules germinales. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF.

Le but principal de cette étude est de détecter les anomalies chromosomiques chez des patients présentant une infertilité masculine non obstructive. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée.

Cette étude a été effectuée sur 14 hommes stériles. Parmi ces patients 12 ont une azoospermie et 2 présentent une oligospermie. 4 / 14 patients azoospermiques ont des anomalies des chromosomes sexuels. Les autres cas ont un caryotype normal.

Ces diverses anomalies chromosomiques peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine chromosomique. Tous ces résultats soutiennent fortement les recommandations du criblage génétique des patients stériles.

**Mots clés :** Mâle, infertilité, Étude Cytogénétique.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de biologie génétique du CHUC.

#### Les membres du jury :

**Président :** BENLATRECHE C. : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**Rapporteur :** SATTA D. : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

#### Examineurs :

**ABADI N. :** *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**NAIMI D. :** *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**ROUABAHL. :** *Maitre de conférences de l'université de Mentouri, Constantine*

Date de soutenance : le / /2007.





*Au Nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très  
Miséricordieux*

*Merci dieu tout puissant, qui m'a  
honoré d'être parmi ceux qui savent lire  
et écrire, et qui a guidé mes pas sur le  
chemin de la science.*

*Je l'implore de m'éclairer et de me  
guider sur le droit chemin ...*

# Remerciements

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Mme BELATRECHE et M. ABADI qui ont été les initiateurs de cette formation et m'ont accueillie au sein du laboratoire de recherche de biologie génétique, ils m'ont laissé toute latitude pour accomplir ce travail.*

*Je tiens également à remercier Mme BELATRECHE qui me fait l'honneur de présider mon jury de soutenance, et Mr ABADI qui a accepté d'évaluer ce manuscrit et faire partie de ce jury.*

*Je remercie mon encadreur de thèse, Mme SATTA.D qui m'a guidée tout au long de la réalisation de cette thèse avec ses conseils et ses directives qui m'ont énormément aidée dans l'orientation de mes objectifs et l'accomplissement de mes travaux.*

*Je souhaite remercier chaleureusement Docteur BENACHOUR et Docteur HANACHI de m'avoir prodigué leurs aides en cytogénétique.*

*Je remercie les Professeur, NAIMI.D, ROUABEH.L qui me font l'honneur d'être les membres de mon jury.*

*Je remercie spécialement Messaouda, Brihmat Ahmed, pour leurs aides et leurs conseils éclairés tout au long de ce travail.*

*J'adresse mes remerciements aux membres de laboratoire qui ont toujours été présents quand j'en avais besoin. Je pense particulièrement à Zbeida, Yasmina, Yamina et ; pour leur soutien indéfectible et gentillesse.*

*Et sans oublier les membres du service de cytogénétique et de biologie génétique du CHU de Constantine pour tous leurs encouragements incessants.*

*Enfin mes remerciements vont à toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidé par leur encouragement.*



# Dédicaces

*Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le plaisir de dédier ce travail de Magister à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donne des raisons de devenir meilleure :*

*À mes parents,*

*Mon père **Yousef**, qui a tout fait pour que je ne manque de rien et pour que je sois la meilleure dans mes études. Merci mon père pour le courage que tu m'as donné durant toutes ces années.*

*Ma mère **Fatiha**, qui m'a aidée à aller toujours de l'avant et n'a pas ménager ses forces pour me rendre la vie facile.*

*À mon mari **Mohamed Larbi**,*

*Merci pour ton amour, ta patience et encore ta patience ; sans toi cette thèse, n'aurait certainement jamais pu voir le jour. Tes encouragements et ta confiance en mes capacités m'ont beaucoup apporté.*

*À ma belle mère **Fatima**,*

*Cette femme qui mérite plus que des mots qui puissent se dire ou s'écrire, elle a fait de moi sa fille, merci et encore merci.*

*À mes frères et sœurs, Mon chère frère **Abdelkader**, merci pour ta présence réconfortante, merci pour tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*À **Zouleikha**, ma formidable sœur.*

*À **Zaki**, mon frère très sage, qui ne m'a jamais dit non pour quoi que ce soit.*

*À **Samsouma**, ma petite sœur bien aimée, qui malgré son âge sait comment me remonter le moral.*

*À mon encadreur M<sup>me</sup> **SATTA** à qui je la dédie ce travail avant de la remercier pour m'avoir guidé à le faire, et qui a cru et s'est battue pour moi, et pour tous ces magisters.*

*À mes tantes et mes oncles.*

*À toute ma famille, et ma belle famille.*

*Spécial dédicace à mes chères amies : **Chahinez et Amina***

*À mes chers (es) camarades de promo : **Zeineb, Wissem, Amel, Nadira, Hanene, Moufida, Abla, Sabrina, Fethi et Adem**. L'ambiance joyeuse qui m'a entouré tout au long de la post-graduation a été d'une importance majeure pour surmonter les moments difficiles.*

*Spécial dédicace à **RAZIKA, SANA, ASMA, HADIA**.*

*À tous mes amis et à tous ceux que j'aime.*

*Au Nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très  
Miséricordieux*

*Merci dieu tout puissant, qui m'a  
honoré d'être parmi ceux qui savent lire  
et écrire, et qui a guidé mes pas sur le  
chemin de la science.*

*Je l'implore de m'éclairer et de me  
guider sur le droit chemin ...*

# Remerciements

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Mme BELATRECHE et M. ABADI qui ont été les initiateurs de cette formation et m'ont accueillie au sein du laboratoire de recherche de biologie génétique, ils m'ont laissé toute latitude pour accomplir ce travail.*

*Je tiens également à remercier Mme BELATRECHE qui me fait l'honneur de présider mon jury de soutenance, et Mr ABADI qui a accepté d'évaluer ce manuscrit et faire partie de ce jury.*

*Je remercie mon encadreur de thèse, Mme SATTI.D qui m'a guidée tout au long de la réalisation de cette thèse avec ses conseils et ses directives qui m'ont énormément aidée dans l'orientation de mes objectifs et l'accomplissement de mes travaux,*

*Je souhaite remercier chaleureusement Docteur BENACHOUR et Docteur HANACHI de m'avoir prodigué leurs aides en cytogénétique.*

*Je remercie les Professeur, NAIMI.D, ROUABEH.L qui me font l'honneur d'être les membres de mon jury.*

*Je remercie spécialement Messaouda, Brifmat Ahmed, pour leurs aides et leurs conseils éclairés tout au long de ce travail.*

*J'adresse mes remerciements aux membres de laboratoire qui ont toujours été présents quand j'en avais besoin. Je pense particulièrement à Zbeida, Yasmina, Yamina et ; pour leur soutien indéfectible et gentillesse.*

*Et sans oublier les membres du service de cytogénétique et de biologie génétique du CHU de Constantine pour tous leurs encouragements incessants.*

*Enfin mes remerciements vont à toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidé par leur encouragement.*

# Dédicaces

*Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le plaisir de dédier ce travail de Magister à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donne des raisons de devenir meilleure :*

*À mes parents,*

*Mon père **Yousef**, qui a tout fait pour que je ne manque de rien et pour que je sois la meilleure dans mes études. Merci mon père pour le courage que tu m'as donné durant toutes ces années.*

*Ma mère **Fatiha**, qui m'a aidée à aller toujours de l'avant et n'a pas ménager ses forces pour me rendre la vie facile.*

*À mon mari **Mohamed Larbi**,*

*Merci pour ton amour, ta patience et encore ta patience ; sans toi cette thèse, n'aurait certainement jamais pu voir le jour. Tes encouragements et ta confiance en mes capacités m'ont beaucoup apporté.*

*À ma belle mère **Fatima**,*

*Cette femme qui mérite plus que des mots qui puissent se dire ou s'écrire, elle a fait de moi sa fille, merci et encore merci.*

*À mes frères et sœurs, Mon chère frère **Abdelkader**, merci pour ta présence réconfortante, merci pour tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*À **Zouleikha**, ma formidable sœur.*

*À **Zaki**, mon frère très sage, qui ne m'a jamais dit non pour quoi que ce soit.*

*À **Samsouma**, ma petite sœur bien aimée, qui malgré son âge sait comment me remonter le moral.*

*À mon encadreur M<sup>me</sup> **SATTA** à qui je la dédie ce travail avant de la remercier pour m'avoir guidé à le faire, et qui a cru et s'est battue pour moi, et pour tous ces magisters.*

*À mes tantes et mes oncles.*

*À toute ma famille, et ma belle famille.*

*Spécial dédicace à mes chères amies : **Chahinez et Amina***

*À mes chers (es) camarades de promo : **Zeineb, Wissem, Amel, Nadira, Hanene, Moufida, Abba, Sabrina, Fethi et Adem**. L'ambiance joyeuse qui m'a entouré tout au long de la post-graduation a été d'une importance majeure pour surmonter les moments difficiles.*

*Spécial dédicace à **RAZIKA, SANA, ASMA, HADIA**.*

*À tous mes amis et à tous ceux que j'aime.*

# Liste des abréviations

ABP : Androgen Binding Protein.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

ADNc : ADN complémentaire.

AMH : Anti Müllerien Hormone.

AMP : Assistance Médicale à la Procréation.

AMPc : Adénosine Mono Phosphate cyclique.

ARN : Acide Ribo Nucléique.

ARNm : ARN messenger.

BPY : Basic Protein, Y chromosome.

CBAVD : Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens.

CBP : Chronic Bacterial Prostatitis.

CDY : Chromo Domain protein, Y chromosome.

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator gene.

CGH : Comparative Genome Hybridization.

DAX-1 : Dosage-sensitive sex reversal, Adrenal hyperplasia congenital, critical region on the X chromosome, gene 1.

DAZ : Deleted in AZoospermia.

DBY : DEAD Box, Y chromosome.

DFFY : Drosophila Fat Facet, Y-linked.

DHEA : DeHydroEpiAndrostérone.

DSS: Dosage Sensitive Sex-reversal.

EGF: Epithelial Growth Factor.

EIF1AY : Eucaryotic translation Initiation Factor 1A, Y chromosome.

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization.

FSH: Follicle Stimulating Hormone.  
GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone.  
hCG : human Chorionic Gonadotropin.  
HCS : Hypoplasie Congénitale Surrénalienne.  
HESX1 : Homeo box gene Expressed in ES cells.  
HIV : Human Immunodeficiency Virus.  
HLA : Human Leucocyte Antigen.  
HMG : High Mobility Group.  
HSD : Hydroxy Stéroïde Déshydrogénase.  
ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection.  
IGF1 : Insulin Growth Factor-1.  
IL-1 : Interleukines-1.  
IL-6 : Interleukines-6.  
INSL3 : Leydig Insulin Like Factor 3.  
ICSI : Intra Cytoplasm Sperm Injection.  
IPS : Inositol-Triphosphate.  
Kb : Kilo bases.  
LH : Luteinizing Hormone.  
LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone.  
Mb : Méga base.  
NGF : Nerve Growth Factor.  
OAT : Oligo Astheno Teratozoospermia.  
ORF : Open Reading Frame.  
PCR : Polymerase Chain Reaction.  
Pd : Prostatodynia.  
PGCs : Primordial Germ Cells:  
PRY : PTP-BL related, Y chromosome.  
RBMV : RNA Binding protein.



REL : Reticulum Endoplasmique Lisse.

RRM : RNA Recognition Motif.

SCA : Sperm Coating Antigen.

SCOS : Sertoli Cell-Only Syndrome.

SF1: Steroidogenic Factor 1.

SMCY: Selected Mouse cDNA, Y chromosome.

SOX 9: SRY-type HMG-box gene 9.

SRY: Sex-determining Region Y-chromosome.

TDF: Testis Determining Factor.

TESE: TEsticular Sperm Extraction.

TGF b: Tumor Growth Factor b.

TSH: Thyroid Stimulating Hormone.

UTY: Ubiquitously Transcribed tetratricopeptide repeat, Y chromosome.

WT1: Wilms' Tumor 1.

XKRY: XK-Related protein, Y chromosome.

# Sommaire

**Remerciement**

**Dédicaces**

**Liste des abréviations**

**Sommaire**

**Introduction.....1**

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**I- Anatomie et physiologie de l'appareil génital mâle.....3**

1- Les testicules .....3

1-1 Structure histologique de testicule.....4

1-2 Tubes séminifères.....4

1-3 Physiologie du testicule.....10

1-4 Interaction cellulaires au niveau du testicule.....11

2- Voies excrétrices.....11

2-1 Voies spermatiques intra-testiculaires.....11

2-2 Canaux ou cônes efférents.....12

2-3 Le canal épидидymaire.....12

2-4 Le canal déférent.....12

3- Urètre.....13

4- Pénis.....13

5- Glandes annexes.....	13
5-1 Vésicules séminales.....	13
5-2 Prostate.....	14
5-3 Glandes de Cowper.....	14
<b>II- Spermatogenèse.....</b>	<b>15</b>
1- Ontogenèse de la spermatogenèse.....	15
1-1 Origine des cellules germinales.....	15
1-2 Évolution des cellules germinales.....	16
2- Les phases de la spermatogenèse.....	17
2-1 Phase de multiplication.....	17
2-2 Phase d'accroissement.....	17
2-3 La méiose.....	17
2-4 La spermiogenèse.....	18
3- Déterminisme génétique des gonades.....	20
3-1 Les gènes de la détermination gonadique.....	20
3-2 Les Gènes de la spermatogenèse.....	22
<b>III- Classification étiologique de l'infertilité masculine.....</b>	<b>26</b>
1- Classification selon le nombre de spermatozoïdes .....	26
1-1 L'azoospermie.....	26
1-2 L'oligospermie.....	27
2- Classification en fonction du lieu de l'atteinte et du mécanisme physiopathologique.....	27

2-1 Atteinte pré-testiculaire.....	27
2-2 Atteinte testiculaire.....	34
2-3 Atteint post-testiculaire.....	40

## **PARTIE PRATIQUE**

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

<b>I- Patients.....</b>	<b>43</b>
1- Critères d'inclusions/exclusions.....	43
<b>II- Matériels et réactifs.....</b>	<b>44</b>
1- Matériel.....	44
2- Réactifs.....	44
2-1 Réactifs pour analyse hormonale.....	45
2-2 Réactifs pour culture cellulaire et caryotype.....	45
<b>III-Méthodologie.....</b>	<b>46</b>
1- Analyse hormonale.....	46
1-1 Prélèvement.....	46
1-2 Préparation des réactifs.....	46
1-3 Principe.....	46
2- Analyse cytogénétique.....	47
2-1 Prélèvement.....	47
2-2 Mise en culture.....	48

2-3 Caryotype standard : arrêt des mitoses, fixation, étalement et observation .....	48
2-4 R-banding.....	52

## **RÉSULTATS**

I- Choix des cas.....	54
II- Présentation des cas.....	55
1- Aspects cliniques et biologiques.....	55
2- Aspect cytogénétique.....	57
2-1 Cultures cellulaires et caryotype standard.....	57
2-2 Interprétation des caryotypes.....	57
2-3 Présentation des caryotypes.....	60

## **DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

<b>Discussion générale.....</b>	<b>78</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>84</b>

## **BIBLIOGRAPHIE**

### **ANNEXE**

#### **Résumé en arabe**

#### **Résumé en français**

#### **Résumé en anglais**

### Introduction

La reproduction humaine repose sur l'union sexuelle d'une femme et d'un homme. Pourtant, lorsqu'on examine les recherches sur la fécondité, les travaux scientifiques se sont intéressés essentiellement aux femmes, excluant les hommes dans leurs études. Des recherches ont néanmoins été menées sur la fertilité masculine, elles soulèvent la question de l'implication des hommes dans la fertilité humaine.

Le contrôle de cette fonction de reproduction est étonnamment semblables chez les deux sexes à quelques détails près : cellules gonadiques voisines dans leur fonctionnement et leur intrication, cellules hypophysaires gonadotropes particulières par leur sécrétion de deux hormones identiques dans les deux sexes : FSH (Follicle Stimulating Hormone) et LH (Luteinizing Hormone), contrôle hypothalamique par la gonadolibérine GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone).

Lorsqu'un couple reste sans enfant après deux ans de rapports sexuels réguliers et non protégés on parle de stérilité. Le mot stérilité ou infertilité, demande toutefois à être précisé par rapport à d'autres notions :

- **La fécondité** d'un sujet ou d'un couple est prouvée par le fait qu'il y a eu une grossesse antérieure, quelle qu'en ait été l'issue.
- **La fécondabilité** d'un couple se définit comme étant la probabilité de concevoir au cours d'un cycle menstruel normal.
- **La fertilité** est la capacité de débiter une grossesse et l'infertilité est l'incapacité de concevoir. Si cette incapacité est définitive, on parle alors de stérilité.

On distingue l'infertilité primaire lorsqu'il n'y a jamais eu de grossesse à terme et secondaire s'il y a eu grossesse quelque en soit l'issue, et elle est primo-secondaire : fausse couche préalable.

Globalement, la cause de stérilité est :

- D'origine féminine dans 30 % des cas,
- D'origine masculine dans 20 % des cas,
- D'origine mixte dans 40 % des cas.
- La stérilité reste inexplicée ou idiopathique dans 10 % des cas. [1].

Les causes de l'infertilité masculine sont multiples (tableau -1- ) génétiques (directe ou indirectes) ou non génétiques. Les anomalies génétiques peuvent engendrer d'une part des anomalies anatomo-fonctionnelles à l'origine d'azoospermies obstructives ou excrétoires, D'autre part, les anomalies génétiques et en particulier les altérations du chromosome Y peuvent être responsables de déficits primaires dans la production des spermatozoïdes (azoospermies sécrétoires).

Notre étude porte sur une population de patients présentant un tableau clinique d'infertilité d'origine sécrétoire (non obstructive) liées aux anomalies chromosomiques.

Les paramètres indicateurs étant :

- Oligospermies ou azoospermie sécrétoire associées ou non à un hypogonadisme.

Dans un premier temps, nous étudions ces infertilités et en particulier :

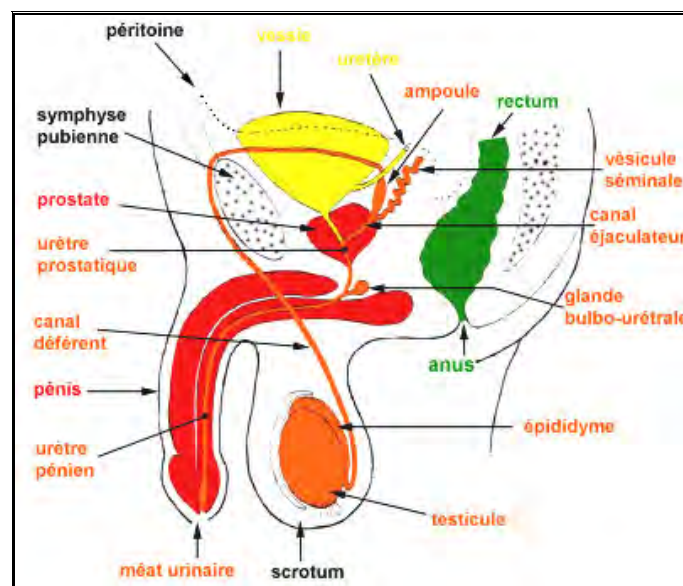
- 1- Le syndrome de Klinefelter et ses variantes.
- 2- La DGM ou Dysgénésie Gonadique Mixte.
- 3- Le syndrome du mâle XYY.

Le recrutement des malades s'est fait au niveau du CHU, notre étude a été réalisée par les méthodes d'explorations cytogénétiques standards et R-banding qui sont les tests d'évaluation et de confirmation de l'affection.

## I- Anatomie et physiologie de l'appareil génital mâle

L'appareil génital masculin est l'organe de la reproduction. Il comprend :

- Les deux testicules.
- Le tractus génital formé des voies spermatiques intra testiculaires (tubes droits et rete testis) et des voies spermatiques extra testiculaires (canaux ou cônes efférents, épидидyme, canal déférent, canal éjaculateur).
- Les glandes annexes comprenant les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo urétrales. Ces glandes exocrines sécrètent le liquide de transport et de nutrition des spermatozoïdes constituant avec ces derniers le sperme.
- Le tractus urogénital, représenté par l'urètre (prostatique, périnéal et pénien), s'ouvrant à l'extérieur par le méat urinaire, et le pénis. (Figure -1- ). [2].



**Figure1 : L'appareil génital masculin. [Nicole VACHERET, 1999].**

### 1- Les Testicules

Les testicules sont deux organes pairs ovoïdes de 5 cm de long sur 3 cm de large et 2,5 cm d'épaisseur ; chaque testicule est logé dans une poche revêtue de peau appelée scrotum ; Le testicule, coiffé par l'épididyme, est suspendu dans le sac scrotal par le cordon spermatique qui contient le canal déférent, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et des fibres nerveuses ; il est fixé à la base du scrotum par le ligament scrotal. [2].



### 1-1 Structure histologique du testicule

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive, fibreuse, épaisse et résistante : l'albuginée. Cette capsule s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires ; Chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères ou séminipares très longs qui débouchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le rete testis [2]. Les testicules sont nourris par les artères spermatiques internes. [3]. (Figure -2- ).

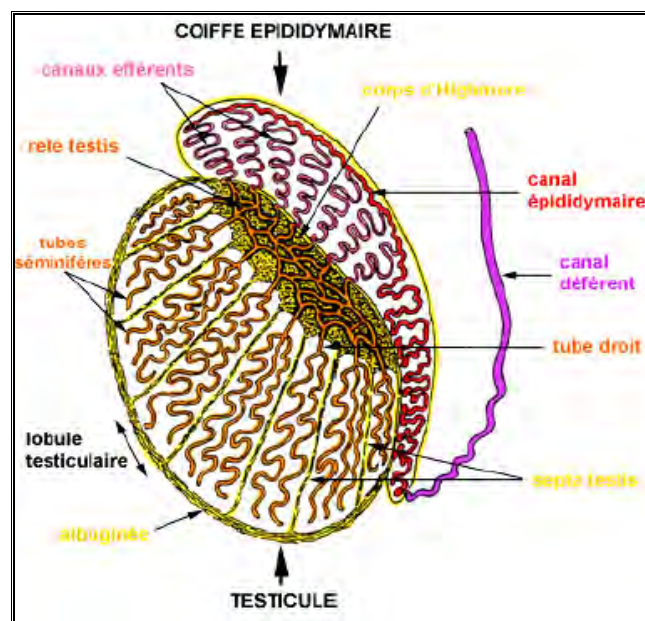


Figure 2 : Structure histologique du testicule. [Nicole VACHERET, 1999].

### 1-2 Tubes séminifères

Les tubes séminifères représentent le compartiment tubulaire assurant la fonction exocrine du testicule. Ces tubes, de 30 cm à 1 mètre de long et d'un diamètre de 200 microns, ont une paroi épaisse, constituée de 4 à 8 couches de cellules germinales. D'autre part, la paroi contient des cellules à la structure et aux fonctions complexes : les cellules de Sertoli. Les espaces entre les tubes séminifères sont occupés par le tissu interstitiel. Les tubes séminifères sont séparés du tissu interstitiel par une gaine essentiellement conjonctive, la gaine péri tubulaire. Son épaisseur s'accroît avec l'âge ou en cas d'infertilité. [3]. (Figure -3- ).



**Figure 3 : Structure histologique des tubes séminifères. [Nicole VACHERET 1999].  
(grossissement X 40).**

La membrana propria (MP), des spermatogonies sombres Ad (sgD) et des spermatogonies B (sgB), des spermatocytes I (sC), des spermatides (sD), des spermatozoïdes (sZ) avec leurs flagelles confluant dans la lumière du tube (LU), les résidus cytoplasmiques de la spermiogenèse (rc).

### 1-2-1 Les cellules de Sertoli

#### ✚ Structure et fonctions

Cellules pyramidales et allongées s'intercalant entre les cellules germinales. Ce sont des éléments dont la hauteur est équivalente à celle de l'épaisseur de la paroi des tubes séminifères. [3]. Elles traversent toute la paroi ; elles ont des contours irréguliers avec des expansions et des encoches (aspect de chandelier) dans lesquelles se logent les cellules germinales ; Leur base repose sur la membrane basale de la gaine périvitubulaire et leur sommet atteint la lumière des tubes. Le noyau basal présente des contours réguliers. Sa chromatine est dispersée et il contient un volumineux nucléole. Dans le cytoplasme on observe du réticulum endoplasmique lisse et rugueux, un appareil de Golgi bien développé, de nombreux lysosomes et des gouttelettes lipidiques. (Figure -4- ). [3].

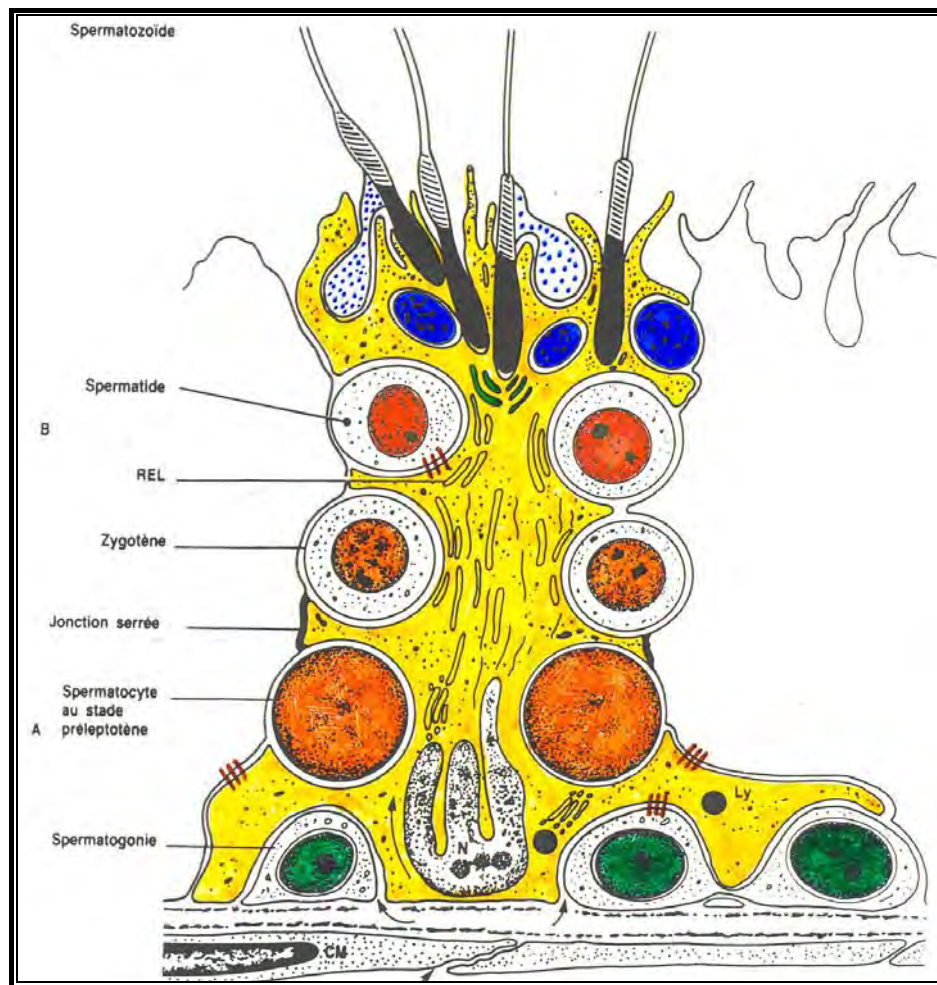


Figure 4 : Structure des cellules de Sertoli. [Jean Pierre Siffroi, 2001].

Les cellules de Sertoli exercent de nombreuses fonctions :

- \* **Rôle chez le fœtus mâle** : les cellules de Sertoli y'produisent le facteur antimüllérien, hormone qui provoque la régression des canaux de Müller.
- \* **Rôle de barrière hémato testiculaire** : durant la vie embryonnaire, le thymus effectue une large part de reconnaissance du soi. A ce moment, le fœtus mâle contient déjà des spermatogonies donc au niveau thymique une tolérance centrale vis-à-vis de ces cellules peut s'établir. Par contre les spermatocytes, spermatides et spermatozoïdes qui apparaissent à la puberté possèdent de nouveaux antigènes qui seront reconnus comme étrangers par les cellules lymphoïdes si elles y ont accès. D'où l'importance de la barrière constituée par les complexes jonctionnels. Du côté basal de celle-ci se trouvent uniquement des spermatogonies

dont des molécules peuvent se détacher et passer via les liquides interstitiels vers les tissus lymphoïdes sans risque de stimuler ceux-ci et de provoquer une formation d'auto-anticorps. Du côté adluminal, les antigènes libérés par les autres cellules germinales ne peuvent franchir les complexes étanches.

\* **Rôle dans la spermiation** : par libération des spermatozoïdes dans la lumière.

\* **Rôle dans les divisions et les différenciations des cellules germinales** : elles créent un microenvironnement indispensable aux divisions et aux différenciations des cellules germinales. D'une part, les éléments nutritifs provenant de l'interstitium, doivent traverser les cellules de Sertoli et être excrétés dans les espaces intercellulaires. D'autre part, les cellules de Sertoli synthétisent des cytokines et une protéine ABP (Androgen Binding Protein) qui se fixe à la testostérone provenant du tissu interstitiel et la concentre au contact des cellules germinales. Cette synthèse est contrôlée par la FSH qui se fixe sur des récepteurs de la cellule de Sertoli et stimule l'AMPc (Adénosine Mono Phosphate cyclique). Les mêmes cellules synthétisent aussi l'inhibine qui exerce un rétrocontrôle en ralentissant la production de la FSH et en inhibant les divisions des spermatogonies.

\* **Rôle dans la stéroïdogénèse** :

- Synthèse de la testostérone à partir de l'androsténone ;
- Transformation de testostérone en dihydrotestostérone.

\* **Rôle dans la phagocytose des corps résiduels** : les cellules de Sertoli phagocytent à leur pôle apical les fragments de cytoplasme perdus par les spermatozoïdes ou corps résiduels au cours de leur maturation. Il en est de même pour d'autres cellules germinales qui meurent sur place. Ces éléments sont digérés par les enzymes des lysosomes. [3].

### 1-2-2 Les cellules germinales

Elles s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère. Les spermatogonies (**Sp**), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (**SP I**), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (**SP II**), les spermatides et les spermatozoïdes.

**Les spermatogonies** sont de petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 microns de diamètre, plaquées contre la membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies

selon l'aspect de leur noyau :

- Les spermatogonies à chromatine fine et sombre **Ad (dark)**, qui sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense.
- Les spermatogonies à chromatine claire **Ap (poussiéreuses ou pâles)**, cellules de renouvellement dont les cellules filles sont des spermatogonies B à noyau ovalaire clair.
- Les spermatogonies **B** à chromatine mottée et au nucléole bien visible **Sp B**.

Les spermatogonies A gardent les caractères morphologiques des éléments dont elles sont issues. Elles ne se différencient pas et maintiennent la réserve de cellules souches à un nombre assez élevé durant toute la vie sexuelle. Par contre les spermatogonies B sont plus volumineuses et métaboliquement plus actives que les spermatogonies A.

**Les spermatocytes :** elles sont issues de la division mitotique des spermatogonies B.

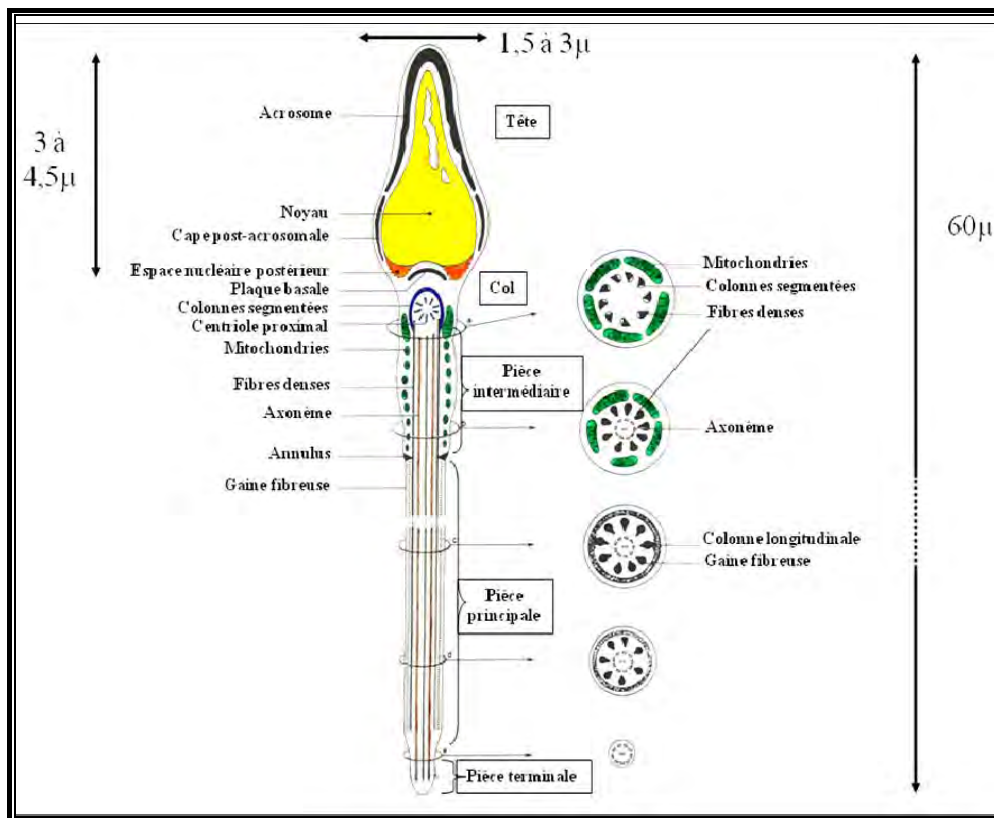
- **Les spermatocytes I** sont des cellules arrondies volumineuses au noyau souvent en méiose, particulièrement au stade très long de la prophase méiotique.
- **Les spermatocytes II** sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car d'existence fugace.

**Les spermatides :** ce sont des cellules de petite taille, de 6 à 7 microns de diamètre, très nombreuses et situées en position interne ; ovoïde à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde. Ce processus est appelé spermiogenèse. (Figure -3- ).

**Les Spermatozoïdes** sont des cellules allongées, de 60 microns de longueur, présentant une tête conique aplatie sombre, de 4 à 5 microns de long sur 1,5 à 3 microns de large, contenant le noyau, et une queue, ou flagelle, séparée de la tête par le col, et comprenant :

- La pièce intermédiaire (4 à 5 microns),
- La pièce principale (45 microns),
- La pièce terminale (1 à 2 microns). [2,3]. (Figure -5- ).





**Figure 5 : Structure d'un spermatozoïde. [Jean Pierre Siffroi, 2001].**

### 1-2-3 Tissu interstitiel

Les espaces compris entre les tubes séminifères représentent le tissu interstitiel. C'est un tissu conjonctif assez lâche contenant des nerfs, des vaisseaux sanguins, un riche réseau lymphatique. A la puberté s'y développent des cellules de Leydig. Ces dernières, qui ont une fonction de glandes endocrines, proviennent du mésenchyme. Elles ne se rassemblent pas pour former une véritable glande au sens anatomique du terme mais sont dispersées dans l'interstitium.

#### Les cellules de Leydig

Cellules polyédriques de 15 à 20 µm de diamètre isolées ou groupées en amas autour des capillaires sanguins et lymphatiques.

Responsables de la production de testostérone, les cellules de Leydig ont dès lors l'ultrastructure caractéristique des cellules synthétisant des stéroïdes : nombreuses gouttelettes intracytoplasmiques de cholestérol, réticulum endoplasmique lisse abondant, mitochondries à crêtes tubulaires. Noyau rond, excentré avec un volumineux nucléole. Elles contiennent des

inclusions protéiques et des lipofuscines, qui augmentent avec l'âge. Avec le vieillissement on assiste à une accumulation intracytoplasmique de cristaux dits de Reinke. Leur développement et leurs activités de synthèse sont provoqués par la LH, via l'AMPc. [3]. (figure-6- ).



**Figure 6 : Le tissu interstitiel. [Jean Pierre Siffroi, 2001].  
(grossissement X 40).**

### 1-3 Physiologie du testicule

Le fonctionnement normal des testicules nécessite une température relativement basse, plus basse que celle qui règne à l'intérieur du corps. C'est pour cette raison que les testicules sont situés "à l'extérieur" du corps humain. C'est à la puberté que le rôle du testicule apparaît.

Les testicules ou glandes sexuelles présentent principalement deux fonctions :

- \* **Une fonction exocrine** : production de spermatozoïdes, assurée par les tubes séminifères.
- \* **Une fonction endocrine** : sécrétion d'androgènes (stéroïdes), en particulier la testostérone.

La régulation des fonctions testiculaires est assurée essentiellement par les hormones gonadotropes hypophysaires, FSH et LH, elles-mêmes contrôlées par l'hypothalamus grâce au GnRH. Elle est libérée de l'hypothalamus toutes les 70 à 90 minutes, et stimule le dégagement des gonadotrophines. La demi-vie de GnRH est de 2 à 5 minutes. Son dégagement journalier est dû à la mélatonine de la glande pinéale. Le dégagement de GnRH est empêché par les signaux de retour négatifs du testicule, spécifiquement la testostérone et l'inhibine.

La glande pituitaire, qui se trouve sur une tige sous l'hypothalamus, contient les cellules gonadotrophiques qui produisent la FSH et la LH. Ce sont des glycopeptides avec un poids

moléculaire de 10.000 daltons. Ils se composent d'une chaîne alpha qui est identique à celle de l'hCG (humain Chorionic Gonadotropin) et de l'hormone TSH (Thyroid Stimulating Hormone) et d'une chaîne bêta qui est unique pour chacun. [2, 3,4].

### **1-4 Interactions cellulaires au niveau du testicule**

#### **1-4-1 Cellules de Sertoli – Cellules germinales**

- Les cellules de Sertoli libèrent des médiateurs responsables de la régulation des cellules germinales.
- Les spermatides secrètent des facteurs de croissance EGF (Epithelial Growth Factor), NGF (Nerve Growth Factor) qui régulent le fonctionnement des cellules de Sertoli.
- Corps résiduels des spermatides matures assurent la stimulation des cellules de Sertoli qui libèrent des interleukines (IL-1, IL-6).

#### **1-4- 2 Cellules de Sertoli – Cellules de Leydig**

- La production de testostérone par les cellules de Leydig est modulée par des facteurs libérés par les cellules de Sertoli (IGF 1 ou Insulin Growth Factor-1 stimule la stéroïdogénèse ; TGF b ou Tumor Growth Factor b l'inhibe).
- L'élaboration de facteurs paracrines par les cellules de Leydig provoquent la sécrétion d'ABP et d'inhibine par les cellules de Sertoli. [3].

## **2- Voies excrétrices**

### **2-1 Voies spermatiques intra-testiculaires**

Elles comprennent :

**2-1-1 Tubes droits** : Courts segments de 25  $\mu\text{m}$  de diamètre faisant suite aux tubes séminifères. Un tube droit reçoit 5 à 6 tubes séminifères. Les tubes droits assurent la jonction entre les tubes séminifères et le rete testis.

**2-1-2 Rete testis** : Encore appelé réseau de Haller : cavités communicantes entre elles tapissées par un épithélium cubique bas dont le pôle apical présente des microvillosités. [3].



### 2-2 Canaux ou cônes efférents

Les canaux efférents comportent une petite portion intra testiculaire et une autre extra testiculaire. Ils sont de 10 à 12 canaux, de 20 cm de long sur 0,2 mm de diamètre, assurant le transport des spermatozoïdes du rete testis à la tête de l'épididyme ; pour ce faire, ils traversent l'albuginée, s'enroulent en spirale dont les tours de plus en plus larges dessinent un cône à tête testiculaire et à base épидидymaire ; Ces cônes sont séparés les uns des autres par un tissu conjonctif lâche bien vascularisé. [2,3].

### 2-3 Le canal épидидymaire

Il est contenu dans l'épididyme, organe encapsulé de 5 cm de long sur 1 cm de large, en forme de virgule, accolé à la face postérieure du testicule ; l'épididyme comprend une tête dans laquelle pénètrent les cônes efférents, un corps et une queue d'où émerge le canal déférent ; il contient la totalité du canal épидидymaire très pelotonné, soit environ 5 mètres (sur 0,5 mm de diamètre) ; [2].

L'épididyme possède deux fonctions principales :

\* **Une fonction de transport des spermatozoïdes** : la durée du trajet des spermatozoïdes le long de l'épididyme est de 3 jours.

\* **Une fonction de maturation de spermatozoïdes** : grâce à la synthèse de nombreux produits (carnitine, glucosidase) responsables d'une modification moléculaire de la membrane plasmique des spermatozoïdes (propriétés de fécondance ; capacité de mobilité unidirectionnelle ; aptitude à se fixer sur la membrane pellucide). [2, 3].

### 2-4 Le canal déférent

Tube à trajet vertical, de 45 cm de long pour 2 à 3 mm de diamètre faisant suite à l'épididyme. Le canal déférent se termine par une région dilatée, l'ampoule déférentielle (stockage des spermatozoïdes), bordée par un épithélium prismatique simple au niveau de laquelle s'abouche les vésicules séminales Il se poursuit par le court canal éjaculateur qui rejoint l'urètre prostatique. Le canal déférent joue un rôle primordial au moment de l'éjaculation. (Figure -1- ). [2,3].

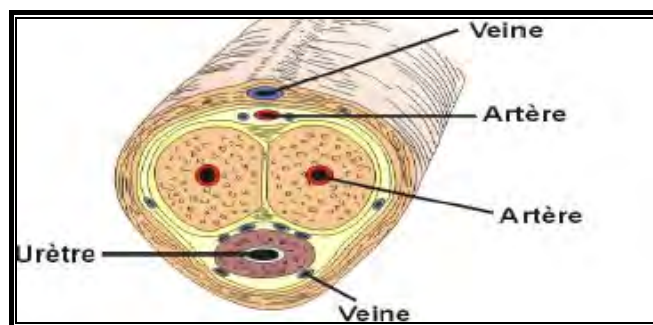
### 3- Urètre

L'urètre prend naissance à la partie inférieure de la vessie et s'ouvre à l'extrémité du pénis par le méat urogénital ; il mesure entre 20 et 25 cm et comprend trois segments : l'urètre prostatique, l'urètre membraneux appelé aussi urètre périnéal, et l'urètre spongieux ou urètre pénien. L'urètre assure l'évacuation de l'urine lors de la miction et véhicule le sperme lors de l'éjaculation. [2].

### 4- Le pénis

Le pénis est constitué de trois organes érectiles :

- Le corps spongieux, médian, entoure l'urètre.
- Les corps caverneux : demi-cylindres séparés par une cloison conjonctive
- Les corps spongieux et caverneux sont entourés par une albuginée riche en cellules musculaires lisses. (Figure -7- ).



**Figure 7 : Constitution du pénis. [Gilles Bourbonnais, 2003].**

### 5- Glandes annexes

#### 5-1 Vésicules séminales

Organes pairs, en forme de sac. Elles élaborent une grande partie du plasma séminal qui constitue le volume principal de l'éjaculat. Il renferme :

- De l'eau et des électrolytes.
- Des sucres comme le fructose pour la nutrition des spermatozoïdes.
- Des protéines comme la lactoferrine qui rentre dans la composition du SCA (Sperm Coating Antigen) et empêchent l'agglutination des spermatozoïdes.
- Des prostaglandines.

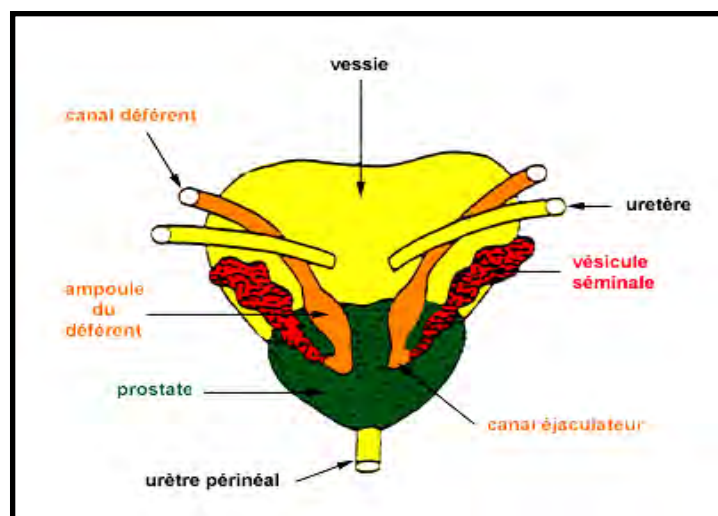
### 5-2 Prostate

Glande exocrine unique d'une vingtaine de grammes. Elle est constituée par une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires ramifiées dont les canaux excréteurs s'abouchent dans l'urètre prostatique. Ces glandes sont disposées en 3 groupes concentriques : glandes de la muqueuse, glandes de la sous-muqueuse, glandes principales. Elle est responsable des sécrétions qui entrent dans la composition du plasma séminal et des sécrétions andrénodépendantes de nature variée (acide citrique, zinc, enzymes protéolytiques, phosphatases acides,...). [3].

### 5-3 Glandes de Cowper

Glandes tubulo-alvéolaires, de la taille d'un petit pois, d'aspect lobulé s'abouchant dans l'urètre membraneux. La sécrétion de cette glande est de type mucoïde responsable :

- De la lubrification de l'urètre avant l'éjaculation ;
- De la protection des spermatozoïdes contre l'urine acide. (Figure -8- ). [2,3].



**Figure 8 : Les glandes Annexes [Nicole VACHERET, 1999].**

## II- La spermatogenèse

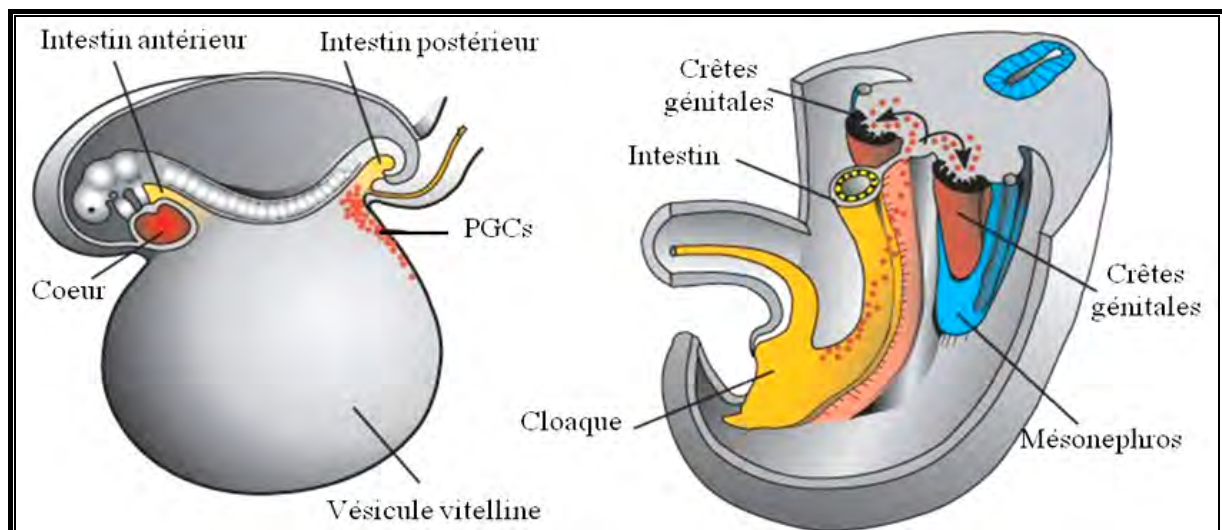
La spermatogenèse est l'ensemble des phénomènes qui aboutissent à la formation des spermatozoïdes [3] ; elle est déclenchée à la puberté par les hormones hypophysaires sous l'influence de l'hypothalamus, atteint son maximum vers 20 à 30 ans, ralentit progressivement vers la quarantaine mais peut se poursuivre jusqu'à un âge avancé. Elle a lieu dans les tubes séminifères des testicules pubères. La spermatogenèse est un processus lent et continu demandant 74 jours environ chez l'homme. Elle est permanente et non cyclique comme l'ovogenèse. [2].

C'est un processus de prolifération contrôlée dans le temps et dans l'espace dont les gènes de régulation sont encore mal connus. [6].

### 1-Ontogenèse de la spermatogenèse

#### 1-1 Origine des cellules germinales

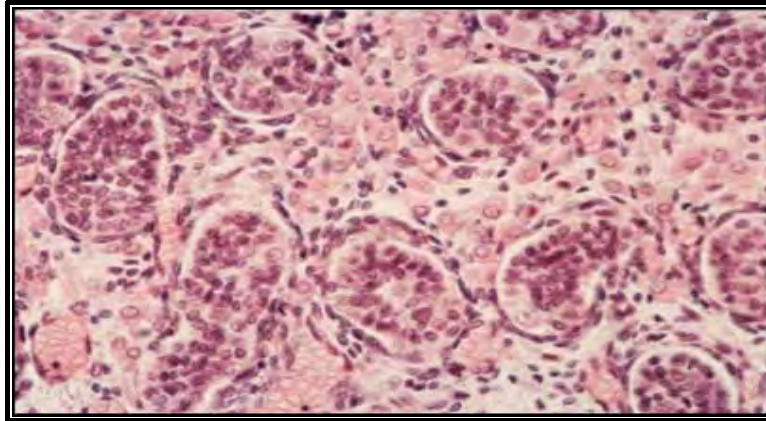
Dans les deux sexes, elles apparaissent dans la paroi postérieure de la vésicule vitelline et migrent vers la région du mésonephros (rein intermédiaire) pour former les crêtes génitales : future gonade primitive indifférenciée. (Figure -9- ). [7,8, 9].



**Figure 9 : Origine des cellules germinales [Jean Pierre Siffroi, 2001].**

### 1-2 Évolution des cellules germinales

Dans le sexe mâle, la différenciation de la gonade primitive en testicule aboutit à la formation de cordons séminifères, c'est à dire de cordons épithéliaux composés de cellules germinales (les spermatogonies, qui subissent une période de multiplication puis vont bloquer leur maturation au stade de futures cellules souches de la spermatogenèse) et de cellules somatiques ou cellules de Sertoli. [7, 8,9]. (Figure -10- ).



**Figure 10 : Évolution des cellules germinales. [Jean Pierre Siffroi, 2001].  
(grossissement X 40).**

Cette détermination des gonades indifférenciées en testicule implique une cascade de gènes évoluant au sein des gonades. Les gènes WT1 (Wilms Tumor 1) et SF1 (Steroidogenic Factor) agissent précocement. Ils sont nécessaires à la transformation du mésoderme intermédiaire en crêtes urogénitales et en gonades indifférenciées. En aval de ces gènes, SRY (Sex-determining Region Y-chromosome) et SOX9 (SRY-type HMG-box gene 9) permettent la différenciation des cellules de Sertoli dans les gonades à caryotype (46, XY). En plus de son rôle précoce, SF1 participe à la détermination testiculaire en régulant l'expression de l'AMH (Anti Müllerien Hormone) dans les cellules de Sertoli et stimule la production de testostérone dans les cellules de Leydig. [10].

Sous l'influence de la testostérone, les canaux de Wolff se différencient en épididymes, canaux déférents et éjaculateurs. Ils sont reliés aux testicules par les canaux efférents apparus à partir des tubes néphrotiques. Dans leur développement, le gène CFTR (CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Receptor : gène de la mucoviscidose) pourrait avoir également un rôle important. [11].

## 2- Les phases de la spermatogenèse

Dans les tubes séminifères adultes, les différentes couches de cellules germinales représentent les phases de la spermatogenèse qui s'effectue de façon centripète, depuis la spermatogonie située contre la membrane basale jusqu'au spermatozoïde libéré dans la lumière : On distingue quatre stades dans l'espèce humaine.

### 2-1 Phase de multiplication

Les spermatogonies se multiplient par mitoses somatiques normales ; la spermatogonie à chromatine sombre Ad (dark) se divise en deux cellules filles : une cellule Ad qui assure le renouvellement des cellules souches et une cellule Ap à chromatine pâle ; la cellule Ap est la cellule initiale de la spermatogenèse : elle se divise en 2 spermatogonies B à chromatine en gros gains irréguliers et au nucléole bien visible.

### 2-2 Phase d'accroissement

Les spermatocytes I résultent de la division somatique des spermatogonies B ; ils augmentent de volume puis ils sont le siège de la première division de la méiose (méiose I), appelée classiquement méiose réductionnelle (n chromosomes).

### 2-3 La méiose

La méiose est un phénomène complexe analysable sur 3 aspects différents mais étroitement liés :

- \* **Aspect cytologique** : les différentes phases de la méiose.
- \* **Aspect chromosomique** : appariement et ségrégation des chromosomes.
- \* **Aspect génétique** : les recombinaisons et le brassage des gènes. [7,9]. (Figure -11- ).



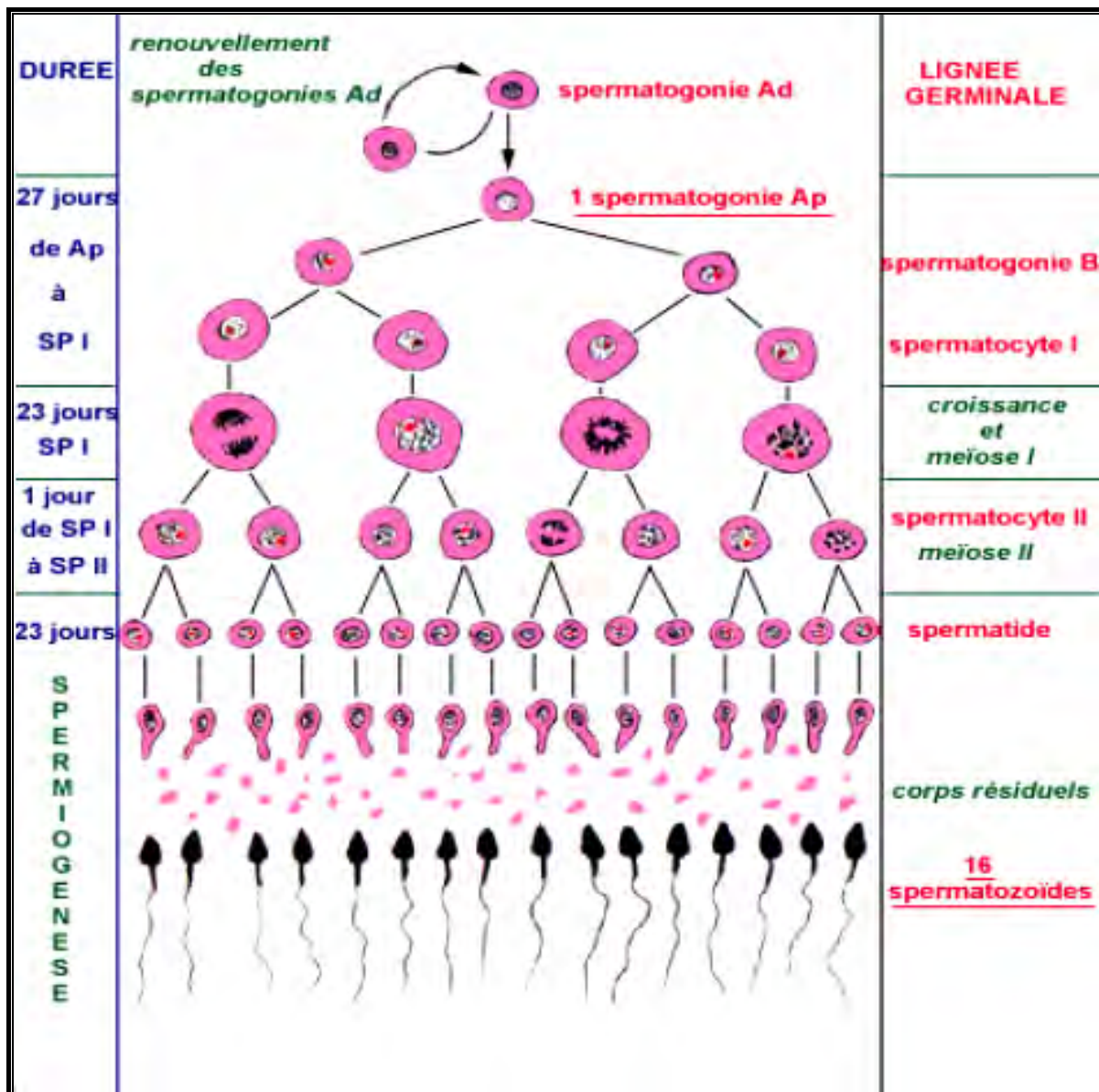


Figure 11 : Les phases de la spermatogénèse. [Nicole VACHERET, 1999].

### 2-4 La spermiogénèse

Les spermatides subissent une différenciation radicale (il n’y a plus de division cellulaire) qui leur fait acquérir les caractéristiques cellulaires indispensables pour les rendre aptes à la fécondation. Elle s’effectue selon 4 étapes. [2, 3,7]. (Figure -12- ).

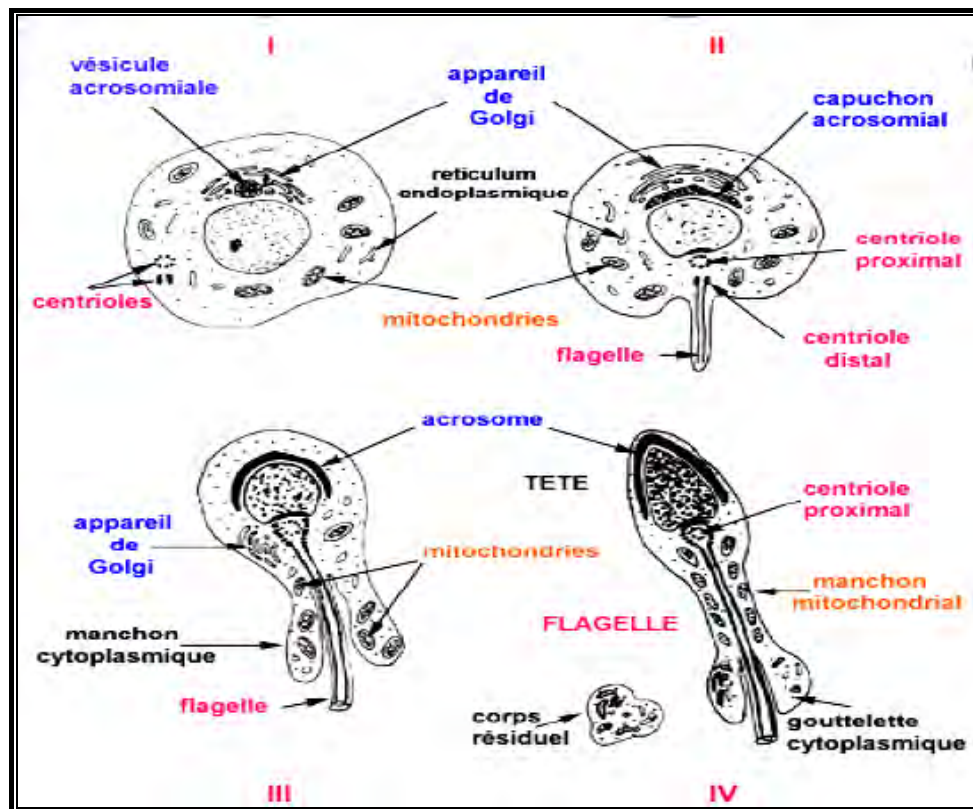


Figure 12 : Les étapes de la spermiogenèse. [Nicole VACHERET, 1999].

## 2-4-1 Spermatozoïde et sperme

### ✚ Le spermatozoïde

Cellule arrivée à maturation se détache de la cellule de Sertoli et est libérée dans la lumière du tube séminifère. Le spermatozoïde a pour fonction d'assurer la fécondation, c'est-à-dire de faire pénétrer dans l'ovocyte son contenu génétique, d'activer l'ovocyte et de permettre les premières étapes de la division de l'œuf fécondé ou zygote. [3].

### ✚ Le sperme

Milieu biologique complexe et hétérogène, il associe des éléments cellulaires, spermatozoïdes et "cellules rondes", au plasma séminal. Les cellules rondes du sperme sont soit des cellules germinales immatures, soit des cellules d'origine sanguine (granulocytes, lymphocytes). Le plasma séminal est constitué principalement par les sécrétions des glandes annexes du tractus génital, les vésicules séminales et la prostate. [12].



### 3- Déterminisme génétique des gonades

La présentation du fonctionnement des gonades mâles conduit à poser la question du contrôle de leur fonctionnement. En plus des contrôles neuroendocrines de la spermatogenèse, le contrôle génétique constitue une part importante des recherches du domaine. [13].

Les études récentes sur ce contrôle montrent qu'au moins 7 gènes interfèrent avec le développement sexuel normal, le mécanisme est encore mal connu.

Le sexe génétique XX ou XY de l'embryon est établi dès la fécondation de l'ovocyte haploïde, porteur du chromosome X, par un spermatozoïde, également haploïde, porteur d'un chromosome X ou Y. Ce sexe génétique conditionne le sexe gonadique, c'est-à-dire détermine l'orientation gonadique en testicule lorsque le sexe génétique est XY, en ovaire lorsqu'il est XX. [14].

#### 3-1 Gènes de la détermination gonadique

##### 3-1-1 Gène de détermination testiculaire : SRY

Le fait que la détermination des testicules dépende de la présence d'un chromosome Y est connu depuis le début des années 60, et a été déduit de l'observation d'anomalies chromosomiques : des humains 45, XO (Turner). De plus, un caryotype humain 47, XXY (Klinefelter) entraîne un phénotype mâle. Ceci prouve que, chez les mammifères, la détermination des testicules dépend de la présence d'un chromosome Y et non du nombre de chromosome X. [10].

L'identification du gène SRY a été réalisée en 1989, grâce à l'étude d'individus humains dont le sexe phénotypique est en discordance avec le sexe chromosomique ; hommes possédant deux X (46, XX) ou femmes possédant un X et un Y (46, XY). Ces individus phénotypiquement mâles et porteurs d'un caryotype 46, XX, renfermaient dans leur génome une séquence provenant du chromosome Y. L'analyse de ce segment d'ADN montra une séquence codante (ORF ou Open Reading Frame) qui fut appelée : "région déterminant le sexe" du chromosome Y ou SRY.

Ce gène est situé sur le bras court du chromosome Y humain au voisinage immédiat de la région pseudoautosomique et présente les caractéristiques suivantes :

- Ne contient pas d'introns et code pour une protéine de 204 acides aminés ;
- Ce gène est conservé sur le chromosome Y de nombreuses espèces de mammifères.

### ✚ Période d'expression et mode d'action de SRY

L'expression de SRY est restreinte aux cellules somatiques de la gonade embryonnaire (les cellules de la crête génitale). Au cours du développement de l'embryon, les gonades se développent de façon similaire chez les deux sexes, jusqu'au moment où l'expression de SRY est déclenchée. À ce moment, si l'expression de SRY a bien lieu, la gonade se développe en testicule par la différenciation des cellules de Sertoli et la formation de cordons testiculaires. Toutefois, en absence d'expression de SRY, la gonade se développe en ovaire. Dans le testicule adulte, ce gène s'exprime dans les cellules germinales méiotiques et post-méiotiques.

La protéine SRY humaine se compose de 204 acides aminés. Elle possède un domaine permettant sa liaison à l'ADN. Ce domaine, homologue à celui des protéines du HMG (High Mobility Group) définit une nouvelle famille de gènes appelé SOX qui interviennent dans de nombreux processus de développement ; Elle se lie spécifiquement, par ce domaine renfermant environ 80 acides aminés, à l'ADN bicaténaire portant la séquence 5'A/TAACAAA/T 3'. Après fixation de cette protéine, la molécule d'ADN subit une courbure de 70 à 80° dans la direction du grand sillon. Cela pourrait permettre le rapprochement et l'interaction entre des facteurs de transcription fixés sur le ou les gènes cibles de SRY, dont les sites de liaison sont éloignés les uns des autres. [14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,21].

Suite à l'action du gène SRY, une cascade d'autres gènes est activée dans le testicule.

### 3-1-2 Les autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire (Tableau 2 : annexe).

### 3-2 Les Gènes de la spermatogenèse

C'est principalement sur le bras long du chromosome Y (Yq) que se trouvent les gènes nécessaires à la spermatogenèse, candidats pour être impliqués dans l'infertilité masculine d'origine génétique.

#### 3-2-1 Le chromosome Y

##### L'origine du chromosome Y

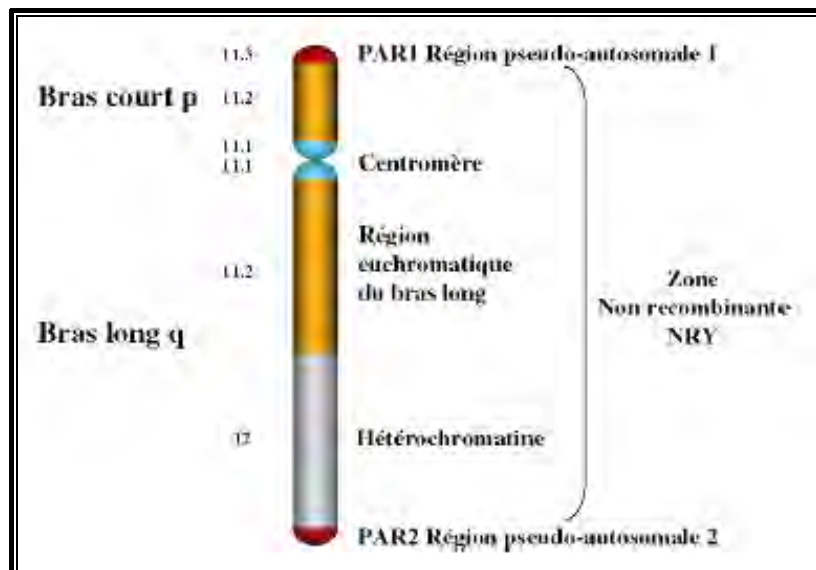
Les mammifères ont un système chromosomique XX/XY dans lequel le chromosome Y est indispensable pour le développement correct des fonctions masculines. En plus du gène SRY, le chromosome Y porte également plusieurs gènes importants pour la spermatogenèse. D'un point de vue évolutif, les études comparatives des chromosomes X et Y suggèrent que le chromosome Y a été homologue au chromosome X. Les petits chromosomes ancestraux X et Y ont été ensuite modifiés par la combinaison de plusieurs mécanismes : l'addition de gènes autosomiques, de multiples recombinaisons et une "usure" des gènes du chromosome Y. Cette évolution des chromosomes sexuels expliquerait la présence des parties télomériques communes aux deux chromosomes et présenterait les deux régions pseudo-autosomiques comme des reliques de cette homologie. [6].

##### L'organisation du chromosome Y

Chez l'homme, le chromosome Y représente seulement 2 à 3 % du génome et se compose largement de séquences répétées (gènes, pseudo-gènes, séquences rétrovirales endogènes). Le chromosome Y est un chromosome télacentrique qui contient un bras court (Yp) et un bras long (Yq) séparés par une région centromérique essentielle pour la ségrégation chromosomique. Des études cytogénétiques ont permis d'identifier trois régions : les régions pseudo-autosomiques PAR (Pseudo Autosomic Region), (PAR1 et PAR2), la région euchromatique et la région hétérochromatique. (Figure -14- ).

Les régions pseudo-autosomiques correspondent aux régions du chromosome Y qui s'apparient au chromosome X durant la méiose et entraînent des échanges de matériel génétique à la suite de crossing-over. Ainsi les gènes localisés dans les régions PAR1 et PAR2 se comportent, en génétique formelle, comme des gènes autosomiques. Cependant la

grande majorité du chromosome (95 %) est spécifique du chromosome Y ; appelée région NRY (Non Recombining Y region). Cette région représente la seule région génomique haploïde du génome humain. Elle contient l'hétérochromatine et aussi l'euchromatine de ce chromosome. L'hétérochromatine est supposée inerte génétiquement et composée principalement de deux familles de séquences hautement répétées, DYZ1 et DYZ2, contenant respectivement environ 5 000 et 2 000 copies chacune. En revanche, la région euchromatique Y, si elle contient aussi de nombreuses séquences hautement répétées, renferme également des gènes impliqués dans le déterminisme du sexe, le contrôle de la taille, la spermatogénèse, la formation de gonadoblastome ou encore des gènes dont la délétion entraîne des symptômes turnériens. [6,20].



**Figure -13- Structure du chromosome Y [C. Ravel, 2006].**

### Chromosome Y et fonctions masculines

Plusieurs gènes portés par le chromosome Y sont supposés avoir des fonctions spécifiquement masculines comme le déterminisme sexuel et la spermatogénèse. En effet, dans les années 1970, des réarrangements importants du chromosome Y ont été observés dans le caryotype d'hommes atteints d'azoospermie sécrétoire. Les anomalies décrites comprenaient une délétion de la majeure partie du bras long du chromosome Y. Ces observations établies sur de nombreux patients ont conduit à l'hypothèse de l'existence d'un facteur, nommé AZF (AZoospermia Factor), indispensable à la spermatogénèse et codé par plusieurs gènes portés

par le chromosome Y. Les travaux de Vogt et al, portant sur 370 hommes stériles, ont permis de dénombrer 3 loci différents sur le chromosome Y, nommés AZFa, AZFb et AZFc. La biologie moléculaire a permis la subdivision du chromosome Y en 7 régions. [6, 22,23].

### **3-2-2 Gènes et familles de gènes sur les régions AZFa, AZFb et AZFc**

Entre 15 et 20 gènes essentiels à la spermatogénèse sont localisés sur la portion non recombinante de l'Yq. Ils sont divisés en 2 catégories, d'un côté les gènes ubiquitaires possédant un homologue sur le chromosome X et d'un autre côté, les gènes dits "testiculaires" qui sont Y-spécifiques.

#### **Locus AZFa**

Le locus AZFa est situé dans la région proximale de l'intervalle 5, sa taille est d'environ 3 Mb (Méga bases). 3 gènes y sont localisés : DFFY (Drosophila Fat Facet, Y-linked), DBY (DEAD box, Y chromosome) et UTY (Ubiquitously Transcribed tetratricopeptide repeat, Y chromosome). Le gène DFFRY (159 kb) est localisé dans la partie centrale d'AZFa et possède un homologue sur le chromosome X (DFFRX) avec lequel il partage environ 89 % d'homologie de séquence. Son expression est ubiquitaire (testicule, rétine, muscle, poumon, foie) [23]. Le gène DBY, en aval de DFFRY, a lui aussi un homologue sur Xp11.3 et il est également exprimé de façon ubiquitaire. Les délétions de DFFRY et DBY ont le plus souvent comme conséquence clinique une hypospermatogénèse sévère [22-27].

#### **Locus AZFb**

La région AZFb s'étend entre l'intervalle de délétion 5 et la région proximale de l'intervalle de délétion 6. Sa taille est estimée entre 1 et 3 Mb. Actuellement, 5 gènes ont été décrits dans cet intervalle : RNA-binding motif (RBM, précédemment appelé YRRM), chromodomaine Y (CDY), XK related Y (XKRY), eucaryotic translation initiation factor 1A (eIF-1A) et selected mouse cDNA on Y (SMCY). RBM, CDY et XKRY ont de multiples copies sur le bras long du chromosome Y. L'expression des gènes RBM sont testiculaires spécifiques, ce qui suggère leur importance dans le déroulement de la spermatogénèse.

### Locus AZFc

La région AZFc précédemment appelée région minimale AZF, est localisée à proximité de l'hétérochromatine. Sa taille est approximativement de 1,4 Mb et contient les gènes DAZ (deleted in azoospermia), deux copies de PTP-BL related Y (PRY), basic protein Y2 (BPY2), testis transcript Y2 (TTY2), des copies de CDY, RBM. DAZ est le gène le plus fréquemment délété dans les infertilités masculines par trouble de la spermatogénèse. Il a été identifié en 1995 et contient en fait 4 copies (DAZ 1, DAZ 2, DAZ 3, DAZ 4) [23]. Sa taille est comprise entre 50 et 70 kb (kilo bases). Il s'exprime uniquement dans la lignée germinale du testicule. [6, 21-27].

### 3-2-3 Origine des délétions de l'Yq

À part quelques rares délétions héritées du père, la très grande majorité correspond à des événements de novo. Il est probable qu'il s'agit d'une anomalie de la méiose mâle ou de la gamétogénèse mais on ne peut exclure que ces délétions aient aussi lieu au stade très précoce de l'embryogénèse avec un défaut de formation des spermatogonies chez le fœtus. Cela peut entraîner un mosaïcisme germinale. [6].

### 3-2-4 Mécanisme des délétions

La fréquence relativement élevée des délétions suggère que le chromosome Y est susceptible de perdre du matériel génétique. La nature du mécanisme de ces pertes est aujourd'hui spéculative. Une possibilité est une recombinaison inégale entre séquences répétées (par exemple les séquences Alu) entre les chromosomes X et Y ou entre chromatides sœurs du chromosome Y lui-même. L'instabilité du chromosome Y peut donc être liée à la haute fréquence de séquences répétées qu'il contient. [6].

### III- Classification étiologique de l'infertilité masculine

La fertilité masculine naturelle dépend de la qualité du sperme et de la perméabilité des voies excrétrices séminales. En cas d'anomalies, les explorations cliniques et biologiques de l'homme au sein du couple infertile doivent en rechercher l'étiologie. Plusieurs classifications de l'infertilité masculine sont établies en fonction des données du spermogramme et du niveau de l'atteinte ou alors sur les données physiopathologiques.

#### 1. Classification selon le nombre de spermatozoïdes

##### 1.1 L'azoospermie

L'azoospermie se définit comme l'absence de spermatozoïde dans le liquide séminal lors de la réalisation d'au moins trois spermogrammes pratiqués dans des conditions optimales ; on parle :

- **D'azoospermie sécrétoire** ; si l'anomalie est une absence totale ou partielle de la spermatogenèse.
- **D'azoospermie excrétoire** ; si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididymes, canaux déférents, canaux éjaculateurs). [28,29].

La recherche de l'origine excrétoire ou sécrétoire de cette azoospermie s'appuie sur plusieurs paramètres :

- **Les dosages plasmatiques de la FSH** : le taux de FSH est le plus souvent augmenté en cas d'azoospermie sécrétoire et semble normal lorsque la lignée germinale est conservée. Cependant les azoospermies normo-gonadotrophiques posent un réel problème étiologique car il existe des azoospermies sécrétoires à FSH normale.
- **Les dosages des marqueurs séminaux (L-carnitine et la glucosidase, le citrate, le zinc ou les phosphatases acides)** : dans l'éjaculat, le dosage de ces marqueurs séminaux permet dans certains cas d'affirmer l'origine d'une azoospermie. Ceux ci sont normaux dans les azoospermies sécrétoires et pourront être perturbés en cas d'obstruction du tractus génital. [28].

### **1-2 L'oligozoospermie**

L'oligozoospermie correspond à une faible quantité de spermatozoïdes dans le sperme (inférieure à 20 millions de spermatozoïdes par ml ou inférieure à 40 millions par éjaculat et inférieure à 5 millions par ml en ce qui concerne l'oligospermie sévère). Elle représente le cas le plus fréquent de l'infertilité masculine (l'azoospermie est retrouvée dans 20 % des cas, alors qu'une oligozoospermie dans 60 %).

Elle est rarement isolée et souvent associée avec une asthénospermie (anomalie de la mobilité) et/ou une tératozoospermie (formes anormales). Cette oligozoospermie peut avoir plusieurs étiologies. (Tableau 1 : annexe). [28,29].

## **2- Classification en fonction du lieu de l'atteinte et du mécanisme physiopathologique**

### **2-1 Atteinte pré testiculaire**

Elle peut être soit d'origine endocrine par insuffisance gonadotrope congénitale ou acquise, soit par troubles du coït.

#### **1- Anomalie endocrine congénitale**

##### **1-1 Hypogonadisme d'origine hypothalamo-hypophysaire**

###### **1-1-1 Anomalie hypothalamique**

###### **✚ Syndrome de Kallmann**

Le syndrome de Kallmann est défini par l'association d'un déficit gonadotrope congénital et d'une anosmie. [30]. Son incidence est de 1 pour 10 000 hommes. Il représente la cause la plus fréquente de déficit en hormones gonadotropes chez l'homme. [31].

Kallmann, généticien de formation, a démontré le caractère familial de cette maladie. En dehors des cas sporadiques qui sont les plus fréquents, trois modes de transmission ont été décrits dans les formes familiales : récessive liée au chromosome X (KAL-1) ; autosomique dominante (KAL-2) et autosomique récessive (KAL-3) [32]. Le ou les gènes responsables du



syndrome de Kallmann transmis sur le mode autosomique n'ont pas été découverts jusqu'à présent. Seules des anomalies chromosomiques ont été décrites chez ces patients, en particulier des translocations entre les chromosomes 7 et 12 ou, plus récemment, des réarrangements complexes impliquant les chromosomes 3, 9, 12, 13, 15 et 21. [33].

Quant au gène KAL-1 lié à l'X, il a été localisé, il y a plus de 10 ans, au niveau du bras court du chromosome X (à 9 Mb de l'extrémité Xp télomérique), près de la région pseudoautosomique en Xp22.3. Il a une taille comprise entre 120 et 200 kb et est formé des 14 exons. [34].

La protéine produite par KAL est l'anosmine qui possède des propriétés d'adhésion cellulaire neuronale. Cette protéine va permettre, durant l'embryogenèse, la migration des neurones à GnRH (en présence des nerfs olfactifs) de la plaque olfactive vers l'hypothalamus. Les patients présentent un retard pubertaire lié à l'absence de sécrétion de GnRH par l'hypothalamus avec pour conséquence l'absence de synthèse d'LH et d'FSH par l'hypophyse. Il n'y a donc ni sécrétion d'androgènes, ni spermatogenèse. [34].

### **Hypoplasie congénitale surrénalienne ou HCS**

Les hommes, atteints d'hypoplasie congénitale surrénalienne, présentent dès l'enfance des signes d'insuffisance surrénalienne (gluco et minéralocorticoïde). Il peut y avoir une cryptorchidie ou un phénotype féminin. L'existence concomitante d'HCS et de la maladie de Duchenne et/ou d'un déficit en glycérol-kinase a suggéré l'existence d'une délétion en Xp 21.

Le gène de l'HCS a donc été cloné dans la région DSS (Dosage Sensitive Sex-reversal) en Xp 21. Il code pour une protéine de 470 acides aminés membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. La présence de ce récepteur est indispensable au développement de l'hypophyse "gonadotrope" et du cortex surrénalien. Des délétions et plus de 50 mutations ont été rapportées sur ce gène. La majorité de ces mutations sont des mutations non sens situées à la partie C-terminal du gène. [30,34].

### **Mutations du gène de la leptine et de son récepteur**

La leptine est une hormone peptidique, codée par le gène ob et produite essentiellement par les adipocytes. Son rôle principal est la régulation de graisse par des effets hypothalamiques qui modulent la satiété et la dépense énergétique. Cette hormone agit à travers un récepteur membranaire membre de la famille des récepteurs des cytokines.

Les mutations touchant ce gène entraînent un retard pubertaire irréversible associé à une testostéronémie et des hormones gonadotropes basses. [30].

### **Syndrome de Prader Willi**

La cause de l'hypogonadisme n'est pas totalement élucidée, mais il existe une diminution de la sécrétion d'FSH et d'LH due à un manque de synthèse de GnRH. Il est lié au dysfonctionnement d'un mécanisme génétique consistant à n'activer la transcription d'un gène qu'en présence des 2 allèles maternel et paternel : C'est le mécanisme de l'empreinte génétique, en cas de délétion ou de disomie uniparentale (2 chromosomes venant du même parent), le gène n'est pas transcrit. [30,35].

## **1-1-2 Anomalie hypophysaire**

### **Mutations du gène du récepteur à la GnRH**

Devant l'absence d'anomalie du gène de la GnRH jusqu'ici démontrée, un dysfonctionnement du récepteur de la GnRH pouvait être responsable d'une sécrétion insuffisante de gonadotrophines et donc d'un déficit gonadotrope isolé. Le gène du récepteur de la GnRH a été cloné, il code pour un récepteur à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G. Ce gène, qui comprend trois exons, est localisé sur le bras long du chromosome 4.

Plusieurs mutations du gène du récepteur à la GnRH (4q21) ont été décrites. Les mutations ont pour conséquence une baisse de production d'IPS (Inositol-Triphosphate), reflétant une diminution de la transduction du signal. Cliniquement, les patients présentent un retard pubertaire avec une diminution de la libido, un micro-pénis et des testicules de petit volume. Les taux d'FSH et d'LH sont bas. [30,35].

### **Dysplasie septo-optique (Syndrome de de Morsier)**

La dysplasie septo optique est une malformation du cerveau qui regroupe un ensemble d'anomalies avec une hypoplasie des nerfs optiques, une hypoplasie de l'hypophyse et une agénésie du septum pellucidum avec ou sans agénésie du corps calleux. L'incidence est de 1 enfant sur 10 000. Cette pathologie est peut-être liée à une mutation (Arg 53 Lys) du gène HESX1 (3p 21). [30].

### ✚ Déficit isolé en LH

La LH est un hétérodimère composé d'une sous unité  $\beta$ -commune à FSH, LH et hCG et d'une sous unité spécifique de la LH. Cliniquement, les patients hétérozygotes sont infertiles mais phénotypiquement normaux. Les patients homozygotes présentent un retard pubertaire en plus de l'infertilité. Les biopsies testiculaires montrent un arrêt de la spermatogenèse et l'absence de cellule de Leydig. Le dosage de l'activité de la LH montre une hormone inactive, bien que présente en quantité normale. [37,38].

### ✚ Déficit isolé en FSH

Les mutations décrites concernent la sous-unité  $\beta$  de l'FSH, il s'agit de délétions qui produisent une protéine tronquée. Ces mutations sont responsables de l'azoospermie associée ou non à un retard pubertaire. [39].

### ✚ Mutations du gène PROP1

Le facteur de transcription PROP1 (Prophet of Pit-1) est une protéine exprimée spécifiquement au niveau de l'hypophyse pendant la vie embryonnaire. À ce niveau, elle contrôle l'expression du facteur Pit-1 qui est responsable du développement des cellules lactotropes, thyrotropes et somatotropes chez le fœtus. Les mutations de ce gène provoquent des déficits hypophysaires combinés. [30].

## 1-2 Troubles du métabolisme des stéroïdes

### 1-2-1 Hyperplasie congénitale des surrénales

#### ✚ Déficit en facteur StAR : l'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales

L'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales est une affection autosomique récessive caractérisée par un déficit de synthèse des hormones stéroïdes surrénaliennes et gonadiques.

Les enfants atteints présentent une perte de sel sévère avec acidose hyperkaliémique et déshydratation létale en absence de traitements. De plus, les individus (46, XY) présentent une inversion sexuelle du fait de l'absence de synthèse de testostérone.

Le rôle principal de StAR dans la stéroïdogénèse a été confirmé par la découverte d'une mutation responsable d'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales avec absence totale de synthèse des hormones stéroïdes. [30].

### **Déficit du cholestérol desmolase**

Cette enzyme de la famille des cytochromes P450 convertit le cholestérol en pregnenolone. Elle est codée par un gène unique situé en 15q 23-24 [40] et constitué de 9 exons sur 20 kb [41]. Son déficit se traduit par l'absence de synthèse des hormones stéroïdes au niveau surrénalien et testiculaire. L'incapacité de fabriquer des hormones sexuelles interrompt le développement des organes sexuels. [42].

### **Déficit de la 17 alpha hydroxylase**

Enzyme de la famille des cytochromes P450, la 17 alpha hydroxylase ou CYP 17 permet la conversion de la pregnenolone en 17 alpha hydroxypregnenolone. Cette enzyme de part son activité 17,20-lyase transforme la 17 alpha hydroxypregnenolone en DHEA (DeHydroEpiAndrostérone) [42]. C'est une protéine de 508 acides aminés (57 kDa), codée par un gène (8 exons sur 6,7 kb) situé en 10q 24.3. La transmission est autosomique récessive. [40].

### **Déficit de la 3 β hydroxystéroïde déshydrogénase**

La transformation des 5-3 β hydroxystéroïdes (pregnenolone, 17 hydroxypregnenolone et DHEA) en delta 4-3 céstéroïdes (progestérone, 17 hydroxyprogestérone et androsténone) est réalisée par la 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase. Le déficit en 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase a des conséquences sur la synthèse des gluco- et minéralocorticoïdes et sur celle des hormones sexuelles. [43].

### **Déficit de la 21 hydroxylase**

C'est la cause la plus fréquente d'hyperplasie congénitale des surrénales (90 %) avec une incidence de 1 sur 10 000 naissances. Cette pathologie se traduit par la surproduction de précurseurs du cortisol, et en particulier des 17 hydroxypregnenolone et 17 hydroxyprogestérone, qui sont ensuite métabolisés par le CYP 17 en DHEA et en androsténone puis en testostérone. Cet excès d'androgènes d'origine surrénalienne provoque un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse. Ce qui diminue les sécrétions d' FSH et d'LH et entraîne un hypogonadisme [44]. La transmission de cette pathologie est monogénique autosomique récessive et liée au groupe HLA (Human Leukocyte Antigen). Le gène codant pour la 21 hydroxylase est CYP 21 dont il existe une forme pseudogénique CYP

21P, les deux formes étant localisées en 6p 21.3. Chaque forme contient 10 exons sur 3,1 kb. Les nombreuses mutations du gène CYP 21 résultent apparemment soit d'un crossing-over inégal durant la méiose entre CYP 21 et CYP 21P, soit d'une conversion par transfert de mutations normalement présentes dans CYP 21P vers CYP 21. [45].

### **Déficit en 11 alpha hydroxylase**

Ce déficit provoque la même pathologie que celle de la 21 hydroxylase. Sa fréquence est de 1 sur 100 000 naissances soit 5 à 8 % des hyperplasies congénitales des surrénales [46]. Il existe 2 isoenzymes codées par 2 gènes différents (CYP 11B1 et CYP 11B2) situés en 8q21-q22 contenant chacun 9 exons sur 7 kb. Des mutations faux-sens, non sens ainsi que des délétions et insertions provoquant un décalage du cadre de lecture ont été décrites. [47].

## **1-2-2 Anomalies de synthèse des androgènes**

### **Déficit en 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase**

La 17  $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase permet de transformer l'androsténone en testostérone. Plusieurs enzymes ayant une activité 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase ont été identifiées selon le tissu considéré. Affection rare, héréditaire à transmission autosomique récessive, elle correspond à une altération de la biosynthèse testiculaire de la testostérone. Le gène de la 17 HSD de type 3, exprimé dans le testicule, est localisé en 9q22 et code pour une enzyme de 310 acides aminés. [48].

### **Déficit de la 5 alpha réductase de type 2**

Il existe deux 5 -réductases (5 R) :

- La 5 R de type 1, responsable de la synthèse de DHT (DiHydroTestostérone) dans le foie et la peau. [49].
- La 5 R de type 2, qui assure la conversion de la testostérone en DHT au niveau des organes génitaux externes et de la prostate. [49].

Le gène codant pour l'isoenzyme 2 est le SRD5A2. Il est situé en 2p 23 et contient 5 exons. [50].

Chez ces patients, la sécrétion d'androgènes est suffisante pour permettre un développement normal des vésicules séminales, des canaux déférents et des épидидymes. En revanche les organes génitaux externes, l'urètre et la prostate nécessitent la présence de DHT

pour leur développement. La spermatogenèse est réduite, mais l'infertilité est surtout liée aux anomalies anatomiques.

### **1-3 Anomalies des récepteurs hormonaux**

#### **1-3-1 Syndrome d'insensibilité aux androgènes (SIA)**

C'est la cause la plus fréquente de pseudohermaphrodisme masculin. Son incidence est d'une naissance sur 60 000. Le mode de transmission est récessif lié à l'X et des mutations du gène du récepteur aux androgènes sont en cause (Xq11-q12). En fonction du phénotype on divise cette entité en syndrome d'insensibilité complet et partielle. [51].

#### **1-3-2 Déficit des récepteurs aux hormones gonadotropes**

##### **✚ Déficit du récepteur à la LH**

Les récepteurs à la LH (2p21) font partie de la superfamille des récepteurs liés à la protéine G, qui active l'adenylate-cyclase. L'examen anatomo-pathologique des biopsies testiculaires de ces patients montrent la présence de cellules de Sertoli, mais l'absence de cellules de Leydig. [52,53].

##### **✚ Déficit du récepteur à la FSH**

C'est une cause très rare d'infertilité. Les mutations ont une action variable sur la spermatogenèse : de la cryptozoospermie à la normospermie. Les mutations responsables sont de type substitutions qui ont pour conséquence une diminution de l'affinité du récepteur à son ligand. [54].

### **2- Anomalie endocrine acquise.**

Les hypogonadismes acquis peuvent résulter d'une tumeur (adénome), d'une maladie (hyperprolactinémie) ou d'une irradiation de la zone hypothalamo-hypophysaire. Ils entraînent une perte des caractères sexuels secondaires et une infertilité. [30]

#### **2.1 Lésions suprasellaires**

Apparues dans l'enfance, elles entraînent parallèlement un déficit gonadotrope et une insuffisance somatotrope. Parmi ces lésions :

- Craniopharyngiome ;
- Germinomes ;
- Infiltrations hypothalamiques ;
- Radiothérapie ;
- Interruptions de la tige hypophysaire.

#### **2.1 Hypogonadismes hypogonadotrophiques acquis d'origine hypophysaire**

- Hémochromatose ;
- Hyperprolactinémies ;
- Adénomes hypophysaires. [30].

### **2-2 Atteinte testiculaire**

L'atteinte testiculaire est due à l'absence ou à l'arrêt de la spermatogenèse. Elle est fréquente (60 %). La FSH peut être normale ou élevée. Elle peut être chromosomique ou non chromosomique. [4].

#### **2-2-1 Anomalies chromosomiques**

Environ 6 à 13 % d'hommes stériles ont des anomalies chromosomiques (comparées à 0,6 % de la population générale). Le caryotype et la recherche de micro délétions de l'Y sont indiqués pour les patients avec une azoospermie non obstructive ou une oligospermie sévère. [4].

### **Syndrome de Klinefelter**

C'est en 1942, à l'occasion de l'observation de neuf sujets masculins âgés de 17 à 33 ans, que Klinefelter décrivit pour la première fois le syndrome qui porte aujourd'hui son nom.

En 1953, Barr montrait, dans le noyau cellulaire des sujets de sexe féminin, la présence d'un corpuscule chromatinien.

En 1959, Jacob et Strong rattachaient la symptomatologie clinique du syndrome de Klinefelter à la présence d'un chromosome X supplémentaire réalisant la formule caryotypique : 47, XXY. [55].

#### ➤ **Fréquence**

La prévalence (nombre de cas dans une population donnée à un moment donné) varie selon les différentes études de la littérature et en fonction des populations concernées. Ainsi la prévalence du syndrome de Klinefelter est de 1 sur 1200 naissance (1 garçon sur 600). Ce syndrome n'est donc pas rare. [55,56].

#### ➤ **Symptomatologie**

La présentation clinique varie en fonction de l'âge du patient. Avant la puberté, les signes sont très discrets. On peut retrouver un volume testiculaire peu faible, avec des membres longs par rapport au tronc. Pendant l'adolescence et à l'âge adulte, le syndrome est caractérisé par de petits testicules fermes, accompagnés des symptômes de déficience en androgènes. On retrouve fréquemment une histoire de testicules non descendus (cryptorchidie). Ces patients présentent une haute taille, due pour la plus grande partie à la longueur de leurs jambes. Au cours de la puberté, la moitié des patients développent une gynécomastie uni ou bilatérale. Après l'âge de 25 ans, les patients non traités présentent une chute de la libido et une impuissance.

Du point de vue neuro-psychologique, ils semblent posséder un quotient intellectuel dans les limites de la normale. Il existe fréquemment un retard de langage et des difficultés d'apprentissage. [55, 56, 57,60].

#### ➤ **Étiologie**

Le syndrome de klinefelter est lié à une non disjonction des chromosomes sexuels durant la méiose paternelle dans 50 à 60 % des cas, ou maternelle dans 40 à 50 % des cas. Le mécanisme reste en grande partie incompris. [58,59].



Au stade fœtal, le contingent de cellules germinales primordiales paraît normal, mais dégénère de manière accélérée pendant l'enfance. On peut penser que les cellules germinales sont elles-mêmes incapables de survivre, ou que les cellules de Sertoli ne sont pas équipées pour assurer leur développement.

Le rôle du récepteur aux androgènes reste encore à élucider, lui aussi. Le gène codant ce récepteur se trouve au niveau des chromosomes X. Or dans le syndrome de Klinefelter, un des deux chromosomes est inactivé dans toutes les cellules de l'organisme, et il apparaît que cette inactivation va toujours dans le même sens. En effet, le gène en question contient une séquence non codante formée d'une répétition en nombre variable de triplets de nucléotides. Cette séquence répétée présente donc un polymorphisme de longueur. Il apparaît que le chromosome porteur de la séquence la moins longue sera inactivé, et que la longueur de la séquence répétitive est directement proportionnelle à la taille de l'individu et à la fréquence de la gynécomastie. [57].

### **Le syndrome du mâle XX**

Approximativement 2 % des hommes vus aux cliniques d'infertilité ont un caryotype 46, XX. [61,62].

#### ➤ **Symptomatologie**

Typiquement, les organes génitaux mâles externes et internes sont normaux. Les patients présentent habituellement une gynécomastie à la puberté. L'évaluation hormonale montre une FSH et LH élevé et un taux bas ou normal de la testostérone. La biopsie testiculaire indique une absence de la spermatogenèse. [60, 61,63].

#### ➤ **Étiologie**

L'explication évidente de cette inversion sexuelle est que le gène SRY est transféré du chromosome Y au chromosome X de sorte que la différenciation de testicule soit présente. Cependant, le gène AZF n'est pas transféré, ayant pour résultat l'azoospermie. [62].

### ✚ Mâle XYY

En 1961 Sandberg et ses collaborateurs ont trouvé la constitution chromosomique 47, XYY et l'ont dénommée le syndrome XYY. Encore appelé le syndrome du super mâle. [65,66].

#### ➤ **Fréquence**

Le syndrome XYY est assez fréquent, concernant 1/1000 naissances masculines. [57,67].

#### ➤ **Symptomatologie**

Ces patients sont souvent grands mais phénotypiquement tout à fait normaux. La biologie ne montre aucune hypersécrétion hormonale. On retrouve par ailleurs une concentration sanguine trop élevée en insuline et en acide urique. Les caractères sexuels secondaires sont inchangés et la spermatogenèse est normale parmi la plupart des mâles XYY. L'inactivation incomplète du chromosome X pendant le stade pachytène de la méiose est l'explication génétique pour l'arrêt de la spermatogenèse qui est de temps en temps observée dans les patients affectés ayant une azoospermie ou oligospermie. A cause d'une fréquence prétendument plus élevée des super mâles parmi les criminels, on a cru à une époque que les individus 47, XYY souffraient de sévères troubles de la personnalité et qu'ils présentent des risques élevés de violence et de criminalité, des investigations plus poussées ont montré qu'il n'en était rien. La majorité des individus 47, XYY sont phénotypiquement et psychologiquement sains, possèdent des capacités intellectuelles conforme à la moyenne et ne présentent pas de tendance criminelles particulières. [57, 61,66, 68].

#### ➤ **Étiologie**

L'état 47, XYY est unique parce qu'il implique nécessairement une erreur au niveau de la méiose paternelle. Seule la non disjonction du chromosome Y pendant la méiose II paternelle ou pendant les premières divisions zygotiques peuvent produire un fœtus avec deux chromosomes Y. [69].

### **La dysgénésie gonadique mixte**

Les individus sont habituellement de phénotype masculin mais peuvent présenter une ambiguïté sexuelle voire un phénotype féminin. Ce type d'anomalie est la conséquence d'une non disjonction mitotique survenant après la fécondation (accidents post-zygotiques). [70].

### **Syndrome de micro délétion de chromosome Y**

Le bras long du chromosome Y (Yq) est considéré critique pour la fertilité. On observe souvent des délétions macroscopiques d'Yq11 chez des patients présentant une azoospermie, bien que beaucoup de nouvelles micro-délétions aient été impliquées comme cause significative de l'infertilité. On n'observe pas ces micro-délétions sur le caryotype ; plutôt, leur identification exige la réalisation de PCR (Polymerase Chain Reaction) ou de Southern blot. Les individus atteints sont phénotypiquement normaux. Les taux de FSH et LH sont le plus souvent élevés. [4].

### **Syndrome de Down**

Ces patients ont un léger dysfonctionnement testiculaire avec des degrés variables de réduction du nombre de cellule germinale. La LH et la FSH sont habituellement élevés. [4].

### **Autres anomalies chromosomiques** (Tableau 3, annexe). [61].

## **2-2-2 Atteinte testiculaire non chromosomiques**

L'atteinte testiculaire non-chromosomique peut être congénitale ou acquise par les drogues gonadotoxique, le rayonnement, l'orchite, le trauma, ou la torsion.

### **Varicocèle**

La varicocèle est définie par la dilatation variqueuse des veines du cordon spermatique. Elle représente un grand cadre étiologique possible des troubles de la spermatogenèse. Elle est caractérisée par une dilatation des veines spermatiques, qui s'accompagne souvent, mais pas toujours, d'une altération de la spermatogenèse. Sa prévalence dans la population mâle en général 15 %, et chez les hommes avec infertilité primaire 35 %. Les varicocèles sont généralement asymptomatiques. [71].

### **Chryptorchidisme**

C'est l'arrêt de la migration du testicule en un point quelconque de son trajet normal entre la région lombaire où il se forme et le scrotum où il doit se trouver à la naissance. C'est une cause majeure d'altération de la spermatogenèse. Elle peut être unilatérale (3 à 17 % des azoospermies) ou bilatérale (18 à 77 % des azoospermies). [72, 73,74].

### **Anorchie**

Absence totale de tissu testiculaire, due à un défaut de développement ou à une torsion testiculaire in utero. L'anorchie est unilatérale dans 80 % des cas et bilatérale dans 20 % des cas. Le caryotype est normal (46XY). [5].

### **Trauma**

Le trauma testiculaire est une cause acquise de l'infertilité. Les testicules sont en danger pour le trauma thermique et physique en raison de leur position exposée. [4].

### **Syndrome de SOC (aplasie des cellules germinales)**

Les patients présentent une aplasie des cellules germinales et des niveaux de LH et de testostérone normaux mais ont un niveau accru de FSH. L'étiologie est inconnue est probablement multifactorielle. Les hommes atteints sont de petite taille aux testicules petits ou normaux et sont azoospermiques. Les caractéristiques sexuelles secondaires sont normales. L'histologie montre des tubules séminifères rayés par des cellules de Sertoli et un tissu interstitiel normal, bien qu'aucune cellule germinale ne soit présente. [4,74].

### **Chimiothérapie**

Elle est souvent toxique pour les cellules en division surtout pour les spermatogonies et les spermatocytes. Les cellules germinales jusqu' au stade pré- leptotène sont particulièrement sensibles. Les drogues les plus toxiques sont les agents d'alkylation tels que le cyclophosphamide. Ainsi le traitement pour la maladie de Hodgkin mène à l'infertilité. [4, 74,75].

### **Thérapie radiologique**

Tandis que les cellules de Leydig sont relativement radio-résistant en raison de leur bas taux de division cellulaires, les cellules de Sertoli et les cellules germinales sont extrêmement radio sensible. Il est conseillé aux patients d'éviter la conception pendant 6 mois à 2 années en raison de la possibilité d'aberrations chromosomiques dans leur sperme provoquées par les propriétés mutagéniques des rayons utilisés. [4,75].

### **Orchite**

La cause la plus commune d'atteinte testiculaire acquise pour les adultes est l'orchite virale, habituellement provoquée par le virus d'oreillons, l'échovirus, ou l'arbovirus du groupe B. 25 % des adultes ayant des oreillons développent l'orchite ; deux tiers des cas sont des orchites unilatérales, et un tiers de cas sont des orchites bilatérales. Le virus affecte directement ou indirectement les tubes séminifères et cause un dommage ischémique en raison du gonflement intense du testicule et de la compression de l'albuginé. [74].

### **Autres causes**

La maladie de Granulomatous, l'anémie falciforme, la consommation d'alcool, le tabagisme, la consommation exagérée de caféine, peuvent mener à une atteinte testiculaire. [74].

## **2-3 Atteinte post testiculaire**

L'atteinte post testiculaire peut être due soit à une obstruction, soit une infection des glandes accessoires soit d'origine immunologique. [4, 74,75].

### **2-3-1 Les stérilités obstructives**

Les stérilités obstructives correspondent à une obstruction des conduits excréteurs. Elle est totale ou partielle, acquise ou congénitale. [12].

### **Obstructions congénitales des voies excrétrices**

Cette étiologie représente la cause la plus fréquente des stérilités excrétoires (60 % des cas) [13]. Il s'agit de l'absence de développement d'une partie plus ou moins étendue des voies excrétrices. La forme la plus classique, l'agénésie vésiculo-déférentielle, se traduit par l'absence des canaux déférents et des vésicules séminales.

Les agénésies épидидymo-déférentielles sont dues le plus souvent (au moins 50 % des cas) à des mutations du gène CFTR.

La mucoviscidose est une pathologie autosomique récessive. La symptomatologie habituelle associe une maladie pulmonaire obstructive, une insuffisance pancréatique exocrine, des occlusions intestinales et un trouble de la croissance. Le gène CFTR situé en 7q 31.2 contient 27 exons s'étalant sur 250 kb. Plus de 700 mutations ont été décrites. Elles peuvent avoir des effets sévères ou modérés en fonction des modifications induites sur la synthèse ou la fonction de la protéine CFTR. [76,77].

### **Obstructions acquises des voies excrétrices**

Il peut s'agir de :

➤ **Lésions accidentelles** : en particulier du canal déférent lors de la chirurgie des hernies inguinales, surtout chez l'enfant, ou encore des vasectomies réalisées antérieurement dans un but contraceptif.

➤ **Maladie kystique de l'épididyme** : c'est une atteinte dystrophique de l'épididyme, les kystes peuvent provoquer une compression de la partie adjacente de l'épididyme. L'étiologie de ces kystes reste inconnue. Le plus souvent une infection est en cause, dont les mécanismes physiopathologiques intervenant dans l'infertilité sont :

- **Un effet néfaste et direct de l'infection au niveau du spermatozoïde** : car il a été démontré que l'asthénospermie augmente avec la concentration en germes ; au-delà de 107 à 108 germes par ml, les spermatozoïdes s'immobilisent et forment des agrégats ;

- **Un dysfonctionnement sécrétoire des glandes génitales annexes** (vésicules séminales et prostate) avec un effet indirect sur les spermatozoïdes ;
- **Une inflammation ou une sclérose secondaire testiculaire au niveau du tissu germinal** (diminuant le nombre de spermatozoïdes) ou canaliculaire (gênant leur transport) ;
- **Une tuberculose uro-génitale ou une gonococcie** sont les deux infections responsables de stérilités obstructives. Les germes actuellement souvent en cause sont des germes gram négatifs colonisant le tractus génital dans les suites d'une infection urinaire ou d'une maladie sexuellement transmissible (MST), tel que la chlamydia. [4, 12, 74,75].

### **2-3-2 Immunologique.**

La stérilité d'origine immunitaire se caractérise par la présence d'anticorps anti spermatozoïdes qui ne sont pas générateurs en eux mêmes de troubles de la fécondité mais peuvent y participer en association avec d'autres facteurs. L'immunité anti-sperme peut être un facteur d'infertilité masculine, mais très souvent il n'y a pas d'antécédents pathologiques ni d'anomalies à l'examen génital et seul l'agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat évoque une auto-immunisation anti-sperme. Cette agglutination va perturber la mobilité, ainsi que le pouvoir fécondant du sperme.

Les anticorps anti-sperme présents chez les hommes peuvent être de la classe d'IgG, d'IgA ou d'IgM. [74, 75,78].

### **I- Patients**

Nous avons effectué dans les services d'endocrinologie et de biologie génétique du CHU de Constantine une étude prospective d'hommes infertiles qui se présentent en consultation par les médecins de ces services.

Cette étude porte sur une durée totale de 18 mois d'Octobre 2005 à Avril 2007.

Il a été établi pour chaque patient, une fiche d'observation (Annexe).

Les examens biologiques (spermogramme : tableau 4, annexe) et hormonaux (dosage de FSH, LH et testostérone) sont établis pour chaque patient par les services compétents concernés.

#### **1- Critères d'inclusions / exclusions**

L'échantillon comprend 14 patients. Les patients ayant une azoospermie ou une oligospermie d'origine sécrétoire avec ou non un hypogonadisme (FSH élevé, LH élevé ou normal), c'est-à-dire présentant une atteinte testiculaire, sont inclus dans cette étude.

Les malades présentant une infertilité liée aux problèmes pré ou post-testiculaire seront exclus de cette étude.



## II- Matériel et réactifs

### 1- Matériel

- Automate pour analyse hormonale (Roche) Elecsys 2010.
- Incubateur pour culture cellulaire (étuve) avec une pression de CO<sub>2</sub> modulable.
- Hotte à flux laminaire vertical.
- Centrifugeuse à grande vitesse.
- Bain marie thermostaté à 37° C +/- 0,1° C.
- Réfrigérateurs à 4° C, un congélateur à – 20° C.
- Microscope optique (Zeiss) équipé d'un système d'acquisition d'image, relié à un ordinateur muni d'un système de traitement d'image (logiciel BandView™ EXPO 2.0 mis au point par Applied Spectral Imaging).
- Agitateur magnétique.
- Barreau pour agitateur.
- Balance.

### 2- Réactifs

#### 2-1 Réactifs pour analyse hormonale

- Microparticules tapissées de stréptavidine.
- Anticorps anti-FSH-biotine.
- Anticorps anti-FSH-Ru (bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.
- Anticorps anti-LH-biotine.
- Anticorps anti-LH-Ru (bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.

### **2-2 Réactifs pour culture cellulaire et caryotype**

#### **2-2-1 Réactifs pour culture cellulaire**

- RPMI 1640 sans bicarbonate, sans L-Glutamine.
- Solution de bicarbonate de sodium 7,5 %.
- Streptomycine.
- Pénicilline.
- L-Glutamine (200 mM).
- Sérum humain.

#### **2-2-2 Réactifs pour réalisation des caryotypes**

- Colchicine à 20 mg / l.
- PHA C (phytohémagglutinine C).
- Héparine de sodium.
- KCl (chlorure de potassium) à 5,6 g/l.
- Méthanol.
- Acide acétique glacial.
- Milieu EBS (Earl Balanced Salt).
- Phosphate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).
- Giemsa liquide.
- Huile à immersion.

### **III- Méthodologie**

#### **1- Analyse hormonale**

##### **1-1 Prélèvement**

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux recueilli sur des tubes standards héparinés (héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2 ml (prélèvement stérile).

##### **1-2 Préparation des réactifs**

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi.

##### **1-3 Principe**

- La durée totale du cycle analytique est de 18 minutes.
- Les tubes contenant le sang total sont centrifugés pendant 15 minutes à 4000 tours par minute.
- 1<sup>ère</sup> incubation : on met 40 µl de sérum dans la cuvette réactionnelle en présence d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué au ruthénium.
- 2<sup>ème</sup> incubation : les microparticules tapissées de stréptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison stréptavidine – biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage Pro Cell.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par photomultiplicateur.

- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration.
- L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en m UI/ml.
- Les valeurs de référence sont indiquées dans le tableau -5- (annexe).
- Pour le dosage de la LH on suit le même principe sauf qu'on doit utiliser des réactifs spécifiques pour la LH.

## 2- Analyse cytogénétique

- Application de la technique du caryotype standard sur prélèvement sanguin (sans dénaturation), actuellement en utilisation pour le diagnostic de la trisomie 21 et les ambiguïtés sexuelles.
- Mise au point de la technique du R-banding (reverse) avec dénaturation par la chaleur, également réalisée sur prélèvement sanguin, et qui permet un examen plus fin du caryotype (translocations et délétions), préconisé dans l'analyse cytogénétique des infertilités masculines.

### 2-1 Prélèvement

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux dans un tube contenant un anticoagulant (l'héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2,5 ml (prélèvement stérile). Le laboratoire doit être prévenu de l'envoi d'un échantillon, dans la mesure du possible avant son prélèvement, afin d'en optimiser les conditions de recueil.

Le sang peut être conservé à 4 ° C jusqu'à la certitude d'avoir obtenu une culture permettant la réalisation du caryotype (une durée maximale de 4 jours).

On doit vérifier l'aspect anormal de l'échantillon, quantitativement et qualitativement (aspect laqué, dilué, présence de caillots, volume insuffisant ...).

### 2-2 Mise en culture

Le sang est mis en culture dans des flacons du type Falcon avec le milieu de culture RPMI (sans L- glutamine), c'est un milieu de culture fournit prêt à l'emploi, mais qui nécessite une dilution de l'ordre de 1/10.

Le milieu de culture RPMI natif, est appelé également milieu de Moore (référence : RPMI-1640 medium 10 x, sterile filtered, endotoxin tested. SIGMA).

➤ Préparation du milieu de culture RPMI prêt à l'emploi (préparé avant utilisation extemporanément ou utilisé en aliquotes congelés a - 20° C) :

- Milieu de culture RPMI natif : 5 ml.
- Bicarbonate : 1,350 ml.
- 1 goutte de pénicilline (antibiotique).
- 1 goutte de streptomycine (antibiotique).
- 50 ml en qsp (en quantité suffisante pour) d'eau distillé stérile.
- 7 gouttes de NaOH pour ajuster le pH.

On ajoute le NaOH par goutte et on note le virage de couleur jusqu'à obtenir une teinte marron plus ou moins foncé.

On met dans chaque tube :

- Milieu de culture RPMI prêt a l'emploi : 6,5 ml.
- Sérum humain: 1,5 ml.
- PHA C (phytohémagglutinine): 100 µl (lyophilized powder to be solubilized with sterile demineralised water. BIOSEPPRA).
- Héparine : 50 µl.

Puis on ajoute notre échantillon de sang : 200  $\mu$ l.

La PHA qui est un mitogène va stimuler les lymphocytes T et les transformer en lymphoblastes qui vont reprendre leur division cellulaire. Le but est d'obtenir un nombre suffisant de mitose après traitement des cultures.

La culture est réalisée sur des flacons du type Falcon, elles sont disposés horizontalement dans une étuve à 37° C, pendant 72 heures (cultures brèves plus facile à réaliser).

L'observation des cultures sous microscope après 72 h n'est pas nécessaire, les manipulations pour l'obtention du caryotype seront entamées directement.

### **2-3 Caryotype standard : arrêt des mitoses, fixation, étalement et observation**

#### **✚ Blocage des mitoses**

Après 72 heures on effectue un blocage des mitoses en métaphase par ajout de la colchicine à 150  $\mu$ l, puis on homogénéise les tubes en les retournant doucement plusieurs fois.

- On remet les tubes dans l'étuve à 37° C après addition de la colchicine, pendant 1 heure 30 en position horizontale pour que la colchicine puisse agir.

#### **✚ Choc hypotonique**

Au bout d'1 heure et demie, on transvase le contenu de chaque flacon dans deux autres tubes de 15 ml pour chaque malade. Puis on centrifuge les tubes pendant 10 minutes à 1500 tours par minute.

- On jette le surnageant et on ajoute 0,5 ml de KCl à 5,6 g/l pour réaliser le choc hypotonique, puis on mélange par des agitations tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, puis vigoureusement et on termine cette étape en complétant avec le KCl en qsp jusqu'à 5 ml.

- On remet ensuite les tubes à l'étuve à 37° C pendant 20 minutes en position horizontale.

### **Préfixation**

- On prépare la solution de fixation qui est un mélange de méthanol et d'acide acétique, avec des proportions de 3 V de méthanol et 1 V d'acide acétique. Le volume de la solution de fixation à mettre n'est pas important, cette étape est appelée préfixation ; ce n'est qu'un simple lavage permettant d'éliminer le reste du KCl.
- On mélange puis on centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes.
- On jette le surnageant.

### **Fixation**

- La 1<sup>ière</sup> fixation se fait en ajoutant 0,5 ml de la solution de fixation puis on mélange tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite en qsp jusqu'à 5 ml. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre (un volume en qsp jusqu'à 5 ml indiqué par une graduation sur le tube). On centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes et on verse le surnageant.
- La 2<sup>ième</sup> fixation se fait en ajoutant 0,5 ml de la solution de fixation puis on mélange tout d'abord doucement, jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite jusqu'à un volume en qsp jusqu'à 5 ml. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre. On centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes et on retire le surnageant avec une pipette en laissant comme même de 0,5 à 1 ml : un volume proportionnel avec la quantité du culot cellulaire. Ce paramètre aura son importance par la suite sur la détermination de la densité des lames en noyaux.

### **Étalement des lames et Observation**

- On mélange jusqu'à dissolution du culot dans le surnageant (c'est en quelque sorte une dilution des mitoses observable sous microscope).

- Avant l'étalement, on doit apprécier la bonne marche de la manipulation jusqu'ici. Cela se fait sous microscope optique. On dépose 5 gouttes séparées de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre ou par passages rapides et successives sur un bec. On colore par le Giemsa dilué au 1 / 20, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface. On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

- Sous microscope, on voit les chromosomes en métaphase et on essaye de repérer les bonnes mitoses avec des chromosomes bien visibles, structurés et individualisés. Dans le cas contraire, il faut tout recommencer (à partir du même prélèvement ou d'un autre si celui-ci a été fait plus de 3 jours auparavant).

- Si la qualité des mitoses est satisfaisante, on va réaliser l'étalement. On dépose 3 gouttes de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre ou par passages rapides et successives sur un bec. On colore par le Giemsa dilué au 1 / 20, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface. On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

### **NB :**

Par mesure de sécurité on a réalisé pour chaque prélèvement 2 cultures et pour chaque culture traitée avec succès on utilise 6 lames au minimum.

- Les lames sont marquées avec un crayon diamant.

- La coloration des lames se fait avant ou après vieillissement.

Les lames sont rincées et mis à l'air libre pour l'étape de vieillissement. On les dépose dans une boîte, hermétiquement fermée.

La date à laquelle s'est faite la confection de ces lames est notée afin de connaître la durée du vieillissement ; paramètre qui aura son importance par la suite pour la réalisation du banding.



### 2-4 R-banding

Pour réaliser le R-banding, il faut :

- Des lames avec de bonnes mitoses.
- Milieu EBS fournit dans des flacons de 500 ml, et qui va pour l'utilisation être dilué au 1 / 10 avec de l'eau distillé.
- Milieu de dénaturation (solution EARL préparé au laboratoire) :
  - NaCl : 68g.
  - KCl : 4g.
  - Mg SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O: 1g.
  - Glucose : 10g.
  - CaCl<sub>2</sub> 2 H<sub>2</sub>O : 2g.
  - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O : 1,25g.
  - 1000 ml d'eau distillée.

Après la préparation on fait une dilution au 1 / 10 avec de l'eau distillée. Ce milieu donne de très bons résultats.

- Phosphate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) sous forme de poudre pour équilibrer le pH du milieu de dénaturation jusqu'à 6,5. De très petites quantités sont ajoutées et le virage du pH est surveillé par le pH-mètre. Cela peut prendre beaucoup de temps (30 à 40 min).

Les lames vieilles seront réhydratées dans de l'eau distillé avant la dénaturation ; la durée n'est pas précisée (un minimum de 10 min).

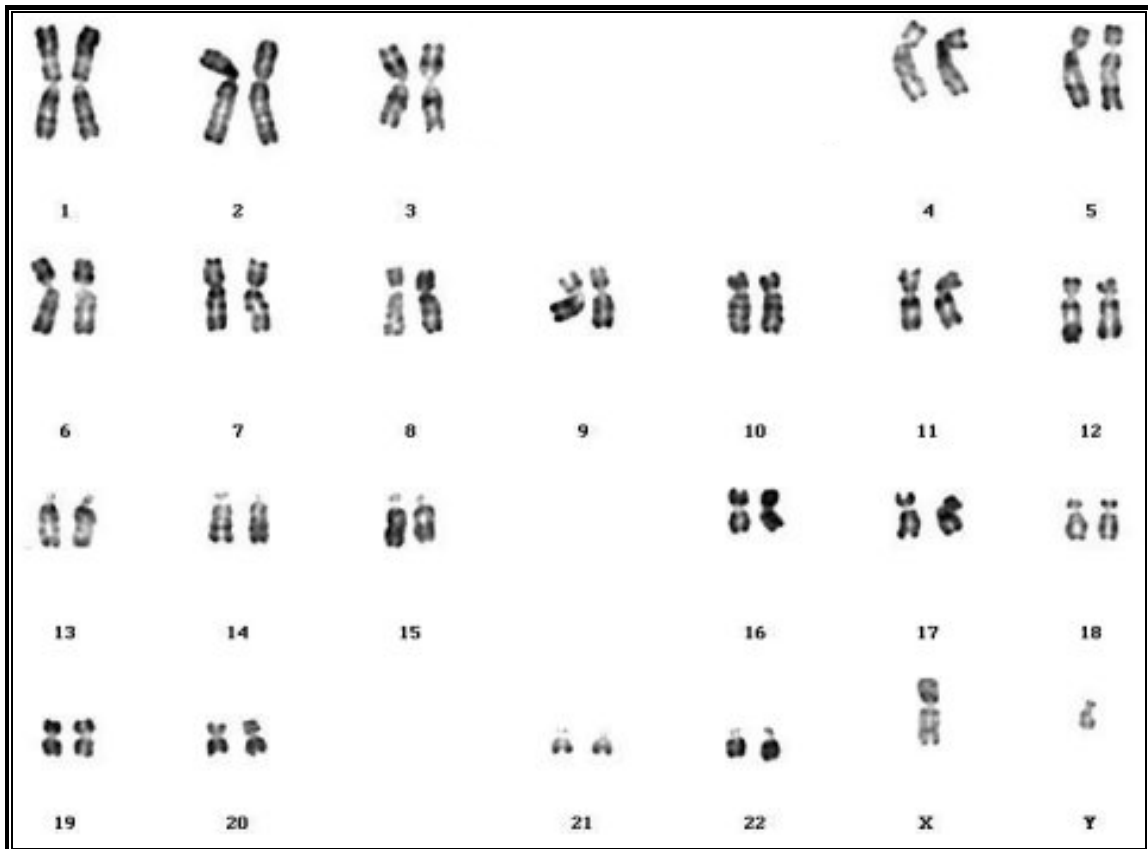
D'abord on préchauffe la solution dénaturante de Earl à 87° C au bain marie dans des becs en porcelaine de 20 à 30 minutes. Puis on plonge les lames après réhydratation avec de l'eau

distillée dans cette solution pendant un temps variable, à déterminer (environ 30 minute en général). Puis on rince les lames à l'eau courante.

On colore ensuite par le Giemsa dilué au 1 / 20 pendant 10 à 15 minutes.

Le temps de dénaturation est un facteur essentiel de la réussite de cette technique, et l'obtention de bandes R, identifiables et surtout reproductibles. Ce temps varie en fonction de 2 paramètres :

- La richesse des lames.
- La durée du vieillissement.



**Figure 14 : Caryotype masculin normal en bande R. Formule chromosomique : 46, XY.  
[Cochin, 2005]. Grossissement X 100**

L'échantillon comprend 14 patients. 12 / 14 patients avec azoospermie, 2 / 14 patients avec oligospermie dont un avec oligospermie sévère (inférieur à  $5 \times 10^6$  spermatozoïde / ml). L'âge moyen de ces patients est de 32,5 ans (gamme de 27 à 62 ans).

Les cultures cellulaires réalisées sur l'ensemble de nos échantillons ont donné des résultats positifs pour 12 malades d'entre eux, 2 prélèvements ont été stériles et il a été difficile d'effectuer de nouveaux prélèvements en raison de problèmes techniques.

Les anomalies cytogénétiques et leurs variantes ont été détectés pour 4 / 14 (28,57 %).

### I- Choix des cas

Nous avons choisi de présenter 6 cas d'hommes infertiles après étude hormonale et cytogénétique. Ce choix s'effectue en fonction de :

- La présence de tous les signes clinique et biologique d'une atteinte testiculaire d'origine génétique.
- L'existence d'anomalies cytogénétique associées à la pathologie en question.

- ✚ Le premier cas représente un syndrome de Klinefelter homogène 47, XXY.
- ✚ Le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> cas ont un caryotype en mosaïque 45, XO (10 %) / 46, XY (90 %).
- ✚ Le 4<sup>ème</sup> cas est un syndrome du mâle XYY.
- ✚ Le 5<sup>ème</sup> cas présente tous les signes cliniques et biologiques d'un syndrome de Klinefelter mais un caryotype normal.
- ✚ Le 6<sup>ème</sup> cas est un homme infertile dont la biopsie testiculaire montre un arrêt de la spermatogenèse au stade de spermatides (pas de maturation de spermatides en spermatozoïdes).

Parmi les 8 cas restants, 2 ont des cultures stériles. Les 6 autres présentent un caryotype normal en dépit d'une azoospermie d'origine sécrétoire et des taux de FSH et de LH perturbés, ceci n'exclut pas la possibilité de présence d'anomalies structurales qui ne peuvent être mis en évidence par le caryotype standard, ni par le R-banding.

## II- Présentation des cas

Nous avons choisit d'exposer les résultats des 6 cas rencontrés dans le laboratoire de biologie génétique du CHUC, avec une présentation clinique faisant surgir les signes d'appel symptomatologique ainsi que les résultats du spermogramme et de l'analyse hormonale dont les taux étaient perturbés.

### 1- Aspect clinique et biologique

#### Cas N° 1

L'homme est âgé de 62 ans, le spermogramme révèle une azoospermie totale et l'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée (48,7 m UI / ml).
- LH élevée (15,3 m UI / ml).
- Testostérone basse.

#### Cas N° 2

L'homme est de 32 ans, le spermogramme a indiqué une azoospermie totale et dont l'analyse hormonale a révélée une :

- FSH élevée 37,5 m UI / ml.
- LH élevée 14,20 m UI / ml.
- Testostérone normale 9,03 ng / ml.

### Cas N° 3

L'homme âgé de 32 ans avec azoospermie totale, l'examen clinique par le médecin traitant a posé comme diagnostic une hypotrophie testiculaire gauche et un testicule droit non objectivé. L'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée 36,2 m UI / ml.
- LH élevée 13,9 m UI / ml.
- Testostérone normale 10,2 ng / ml.

### Cas N° 4

Il s'agit d'un homme de 30 ans dont l'examen clinique par le médecin traitant montre des testicules de petite taille ainsi qu'une gynécomastie. Ce patient est phénotypiquement de grande taille (approximativement 2 mètres) et montrant des signes de débilité légère. Le spermogramme révèle une oligospermie. L'analyse hormonale indique une :

- FSH élevée 14,3 m UI / ml.
- LH normale.
- Testostérone normale.

### Cas N° 5

L'homme est de 31 ans et présente une azoospermie, l'examen clinique révèle une gynécomastie bilatérale, une atrophie testiculaire et une obésité gynoïde.

L'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée. 35,9 m UI / ml.
- LH élevée 16,4 m UI / ml.
- Testostérone non établie.

### Cas N° 6

Il s'agit d'un homme infertile de 39 ans dont la biopsie testiculaire révèle des spermatozoïdes bloqués au stade de spermatides, avec des taux d'hormones FSH, LH élevés.

## 2- Aspects cytogénétique

### 2-1 Cultures cellulaires et caryotype standard

### 2-2 Interprétation des caryotypes

L'étude des caryotypes se fait sur plusieurs mitoses de lames différentes. Un minimum de 20 mitoses sera observé et 5 classements réalisés pour chaque malade, les meilleurs résultats pour chaque patient seront présentés ci-dessous.

La formule chromosomique est établie selon la nomenclature internationale en vigueur (ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature 95).

Dans un caryotype, pour affirmer une anomalie chromosomique, on exige :

- 2 mitoses présentant le même gain chromosomique ou la même anomalie de structure.
- 3 mitoses présentant la même perte chromosomique.

En effet, le caryotype nécessite une culture cellulaire, la plus courte possible (1 à 3 j en général). Afin d'éviter que des anomalies se créent au cours de la culture, mais aussi de la manipulation des caryotypes réalisée par la suite, et qui comporte un choc hypotonique et des fixations qui sont nécessaires, mais qui doivent être "ménagés" afin d'éviter une fragilisation excessive de la membrane cellulaire, ce qui peut entraîner des pertes ou des gains artéfactuels de chromosomes.

Parmi les anomalies chromosomiques, on distingue :

- Des anomalies primaires, présentes dans toutes les cellules de l'individu.
- Des anomalies secondaires présentes dans une ou plusieurs sous populations cellulaires définissant ainsi un mosaïcisme plus ou moins étendu.

On observe dans les infertilités masculines des anomalies de nombres, et des anomalies de structures :

### 2-2-1 Les anomalies numériques

Encore appelées aneuploïdies (euploïdie = 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels ou gonosomes X, Y). Elles correspondent à des anomalies du nombre de lots chromosomiques ou des anomalies par excès ou par défaut au niveau d'une seule paire de chromosomes.

#### Les anomalies du nombre de lots chromosomiques :

- **Haploïdie (n)**, si le nombre de chromosomes est égale à 23, (un seul lot chromosomique).
- **Triploïdie à 69 (3n)** chromosomes avec 3 lots chromosomiques (résulte le plus souvent d'une anomalie de fécondation (polyspermie).
- **Tétraploïdie à 92 (4n)**, chromosomes avec 4 lots chromosomiques (résulte d'une duplication précoce de l'ensemble des chromosomes).

#### Les anomalies par excès ou par défaut au niveau d'une ou de plusieurs paires de chromosomes.

- **Trisomie**, quand il y a gain d'un chromosome.
- **Monosomie**, quand il y a perte d'un chromosome.

Les anomalies numériques de type trisomie / monosomie résultent toujours d'un mécanisme de mal ségrégation méiotique ou mitotique (ex : trisomie 21, 13, 18, Turner, Klinefelter etc...)

S'il existe plusieurs clones au sein du caryotype, ils seront séparés par un "slash", le clone présentant un caryotype normal sera écrit en dernier.

### 2-2-2 Les anomalies structurales

Se caractérisent par une morphologie anormale d'un chromosome (remaniement intra chromosomique) ou de plusieurs chromosomes (remaniement inter-chromosomique). Elles résultent de cassures chromosomiques suivies de recollement des fragments cassés. Elles peuvent être équilibrées (phénotype normal) ou déséquilibrées (phénotype anormal).

#### **Exemples de remaniements intra-chromosomiques :**

- **Équilibrés** : inversions péri centriques et para centriques.
- **Déséquilibrés** : délétions, chromosome en anneau.

#### **Exemples de remaniements inter-chromosomiques :**

- **Équilibrés** : translocation réciproque, robertsonnienne.
- **Déséquilibrés** : translocations déséquilibrées avec trisomie partielle et monosomie partielle.

Dans la très grande majorité des cas, les anomalies chromosomiques sont uniques (pures). Dans des cas rares, des doubles aneuploïdies peuvent être observées (ex : trisomie 21 + klinefelter, trisomie 21 + turner, trisomie 18 + anomalie gonosomique).



### 2- Présentation des caryotypes :

On va présenter pour chaque cas l'aspect du noyau éclaté sous l'effet du choc hypotonique pour identifier les chromosomes appartenant au noyau et éliminer les autres appartenant à d'autres noyaux adjacents sur lame. Cette observation nous permettra également d'identifier des artefacts, à qui la présence pourrait conduire à une interprétation erronée du caryotype. Ainsi que certains caryotypes en bandes R.

Le classement des chromosomes est établi par le logiciel, ce classement sera ensuite vérifié et corrigé.

#### Principes d'identification chromosomique

Les chromosomes colorés uniformément ne peuvent être distingués que par catégories de taille, ou par groupes en fonction de la position du centromère.

Les critères de classification permettent de distinguer 7 groupes chromosomes :

- **Groupe A** : chromosomes 1, 2 et 3 (les chromosomes 1 sont les plus grands du caryotype).
- **Groupe B** : chromosomes 4 et 5.
- **Groupe C** : chromosomes 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 en plus du ou des chromosome(s) X dont la taille est voisine de celle d'un chromosome 6.
- **Groupe D** : chromosomes 13, 14 et 15 (chromosomes acrocentriques).
- **Groupe E** : chromosomes 16, 17 et 18.
- **Groupe F** : chromosomes 19 et 20.
- **Groupe G** : chromosomes 21 et 22 (chromosomes les plus petits du caryotype, auxquels on adjoint le chromosome Y).

Chez l'individu masculin normal la formule chromosomique s'écrira 46, XY.

### Cas N° 1

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Ces dernières sont présentées ci-dessous.

#### **Interprétation du caryotype**

Dans le cas présenté d'infertilité masculine d'origine sécrétoire, nous remarquons que le caryotype est aneuploïde, avec présence d'un chromosome X surnuméraire.

Le diagnostic clinique et biologique nous permet d'affirmer qu'il s'agit d'un syndrome de Klinefelter typique homogène 47, XXY.

Les résultats observés sur le spermogramme, les analyses hormonales et cytogénétique confirment le type d'infertilité masculine à savoir le syndrome de Klinefelter, ce qui traduit hypogonadisme hyper gonadotrope avec FSH et LH élevées.

À ce stade de notre étude et de notre enquête aucune remarque ne peut être faite sur l'étiologie de la maladie.

Cas N° 1

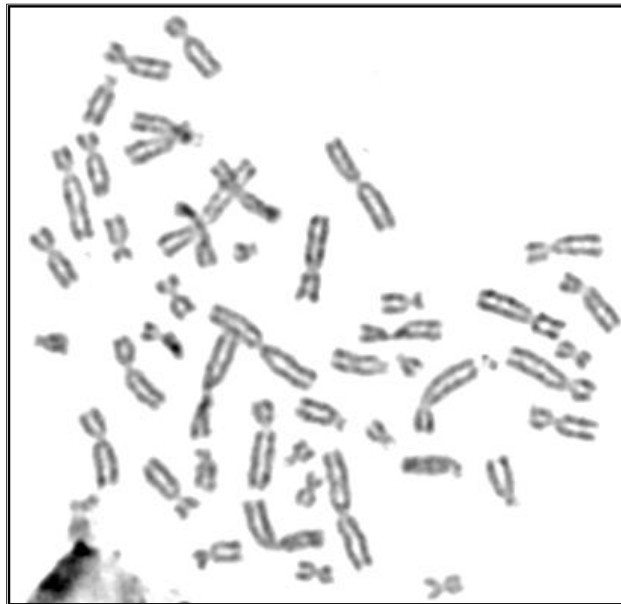


Figure 15 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

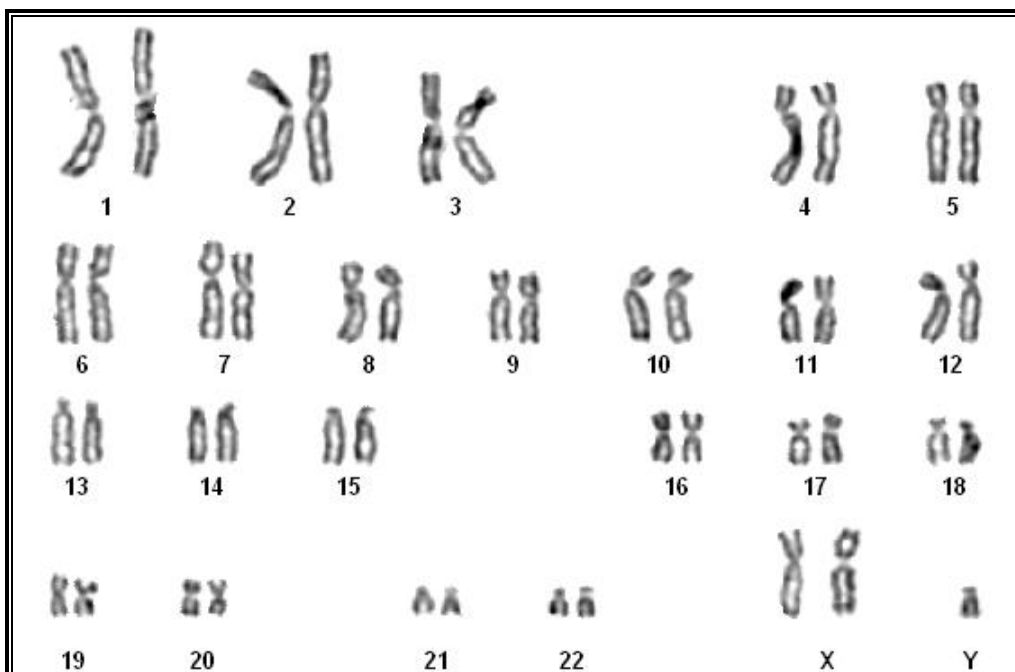


Figure 16 : Caryotype standard d'un Klinefelter. 47, XXY.

### Cas N° 2

#### Culture cellulaire

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec de bonnes mitoses. Ces dernières sont présentées ci-dessous. Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'une dénaturation par la chaleur. Ces résultats sont aussi présentés.

#### Interprétation des caryotypes

Après étude de 30 mitoses, nous avons constaté l'existence de 2 sous populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

- La première sous population montre un caryotype aneuploïde, présentant une anomalie de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y manquant. Elles sont de type 45, XO.
- La deuxième sous population ; le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre ; elles sont 46, XY.

Ce caryotype correspond à une mosaïque, bien que le nombre de mitoses étudiées ait été insuffisant pour confirmer l'existence de ce type d'anomalies (le mosaïcisme étant normalement confirmé après étude de 100 mitoses selon les recommandations de l'ISCN) ; on n'a pas eu la possibilité de travailler sur un nombre de mitose convenable à cause de la qualité et la quantité de ces dernières.

À travers les résultats du spermogramme et les analyses hormonales et cytogénétiques, nous pouvons conclure que le type d'infertilité masculine est une dysgénésie gonadique mixte pour compléter le diagnostic.

Etant donné la répartition et le pourcentage relevé dans ce mosaïcisme **45 ; XO (10 %)/46 ; XY (90 %)**, cela traduit l'hypogonadisme hyper gonadotrope (FSH, LH élevées), résultats observés dans les paramètres hormonaux.

Cas N° 2 (Une cellule à 46, XY)

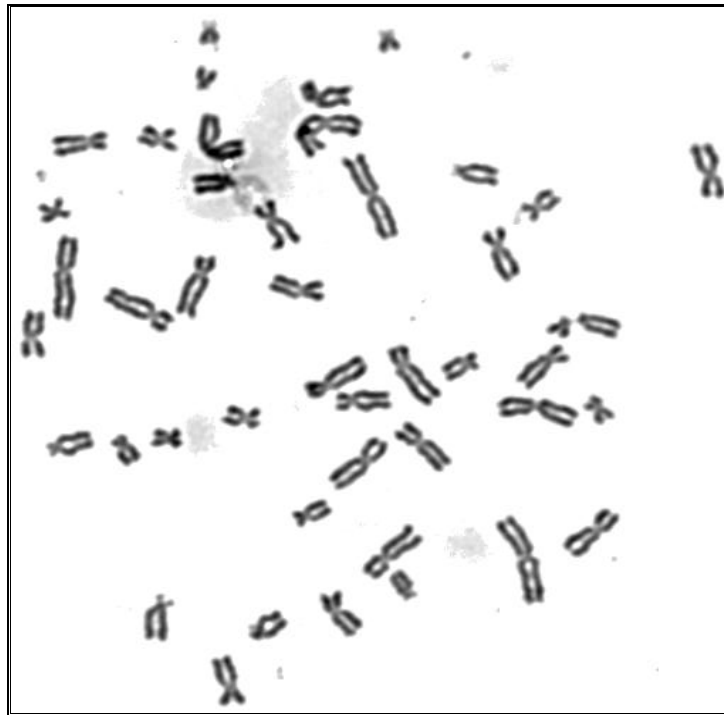


Figure 17 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100.

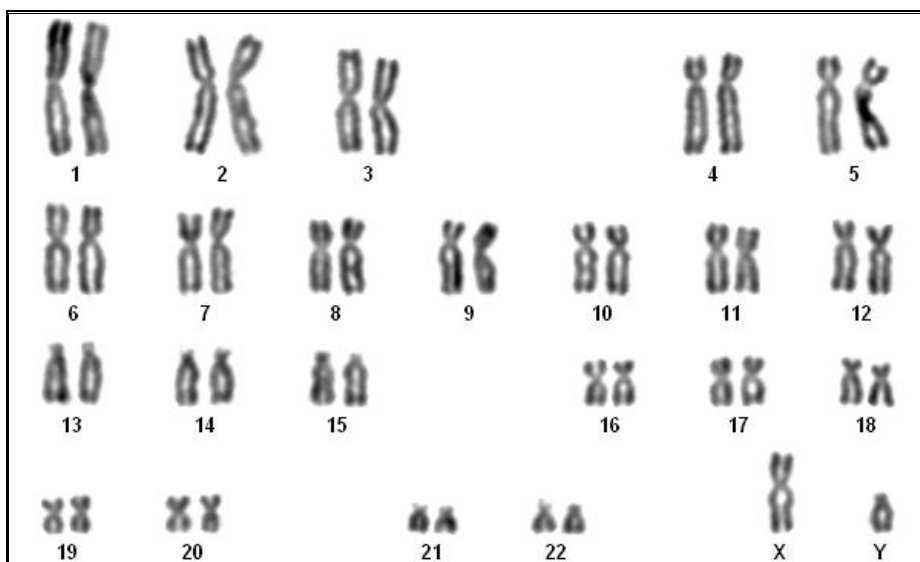


Figure 18 : Caryotype standard d'un homme infertile : 46, XY.

Cas N° 2 (Une cellule à 46, XY)



Figure 19 : Chromosomes métaphasiques en début de bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100.

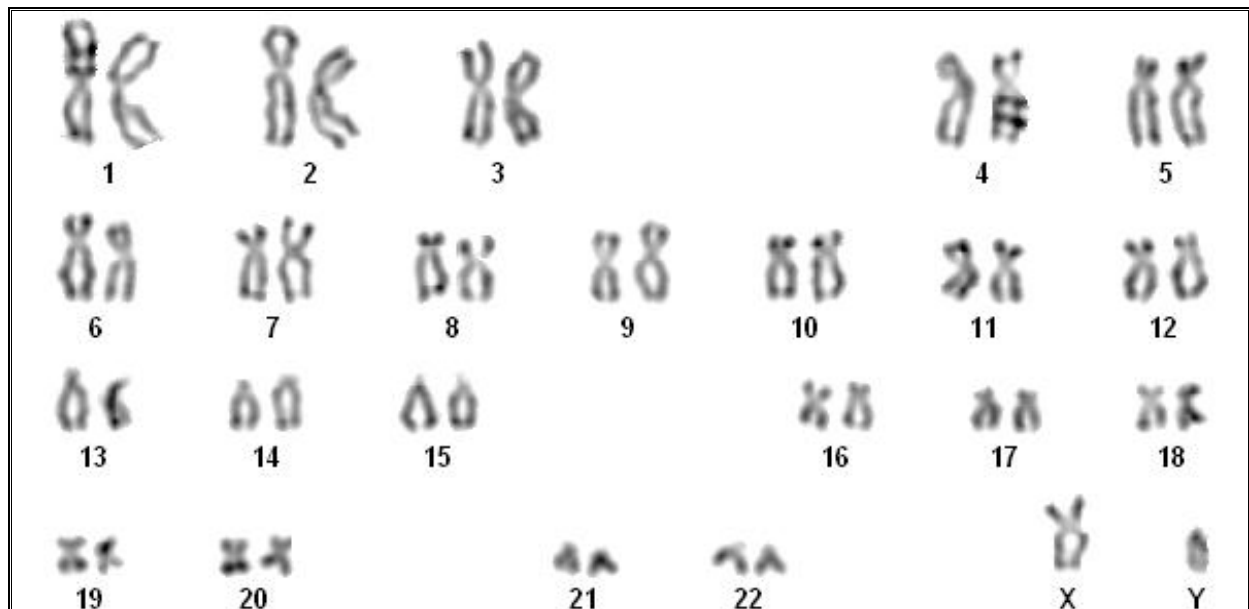


Figure 20 : Caryotype standard en bandes R du cas N° 2 : 46, XY.

Cas N° 2 (Une cellule à 45, XO)

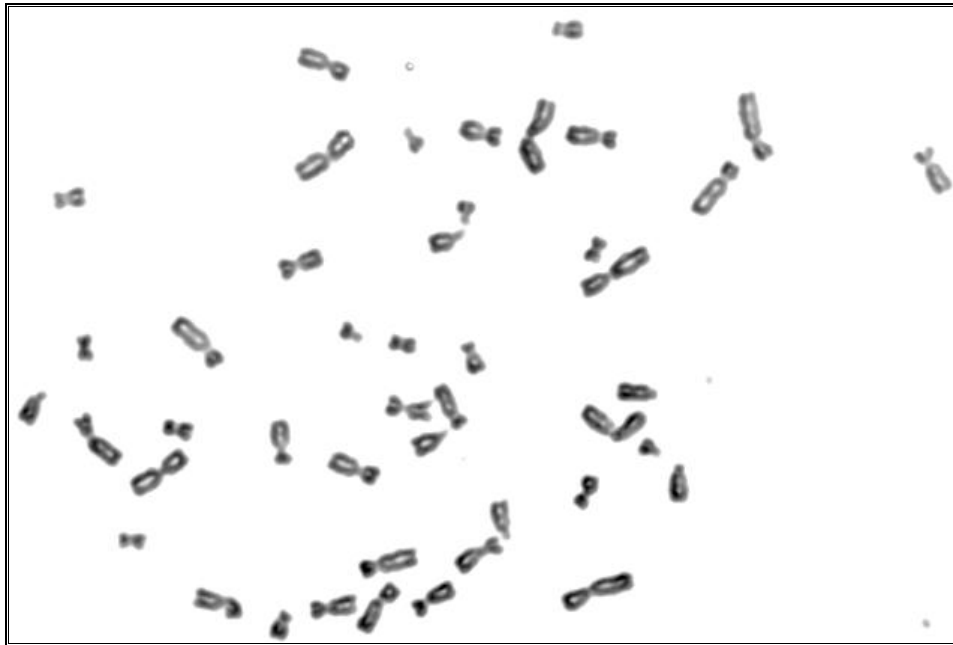


Figure 21 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

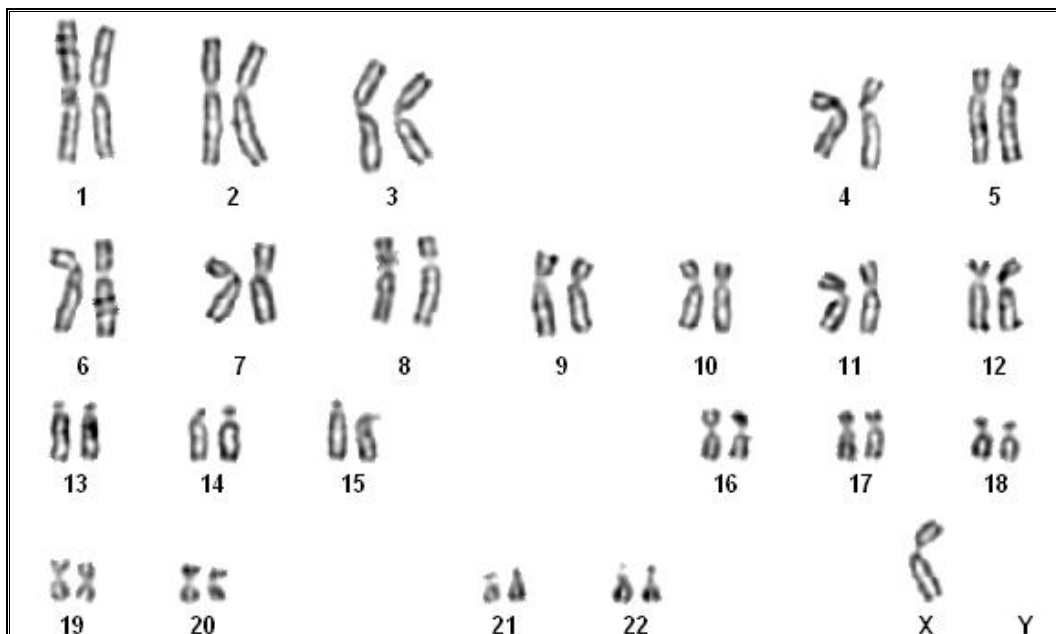


Figure 22 : Caryotype standard du cas N° 2 : 45, XO

### Cas N° 3

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités (existence de quelques bonnes mitoses). Ces dernières sont présentées ci-dessous.

Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'un R-banding. Des métaphases sont présentées.

#### **Interprétation des caryotypes**

Après étude de 50 mitoses, on a constaté l'existence de 2 populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

Il présente également comme le cas N° 2 une sous population avec un caryotype aneuploïde, présentant des anomalies de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y manquant, et des cellules avec un caryotype euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre ; 46, XY qui nous ont amené à conclure le type d'infertilité masculine est une dysgénésie gonadique mixte en présence d'anomalies cytogénétique associées à savoir 45 ;XO (15 %) / 46 ; XY (85 %), cela traduit l'hypogonadisme hyper gonadotrope.



Cas N° 3 (Une cellule à 46, XY)

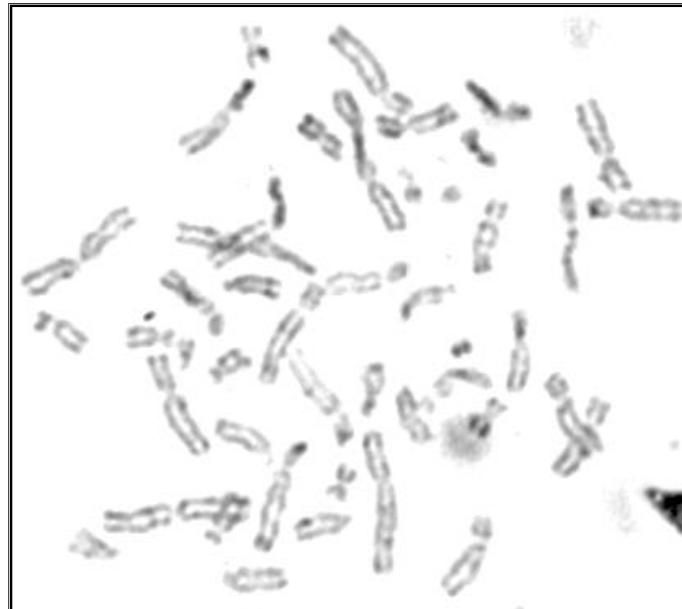


Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

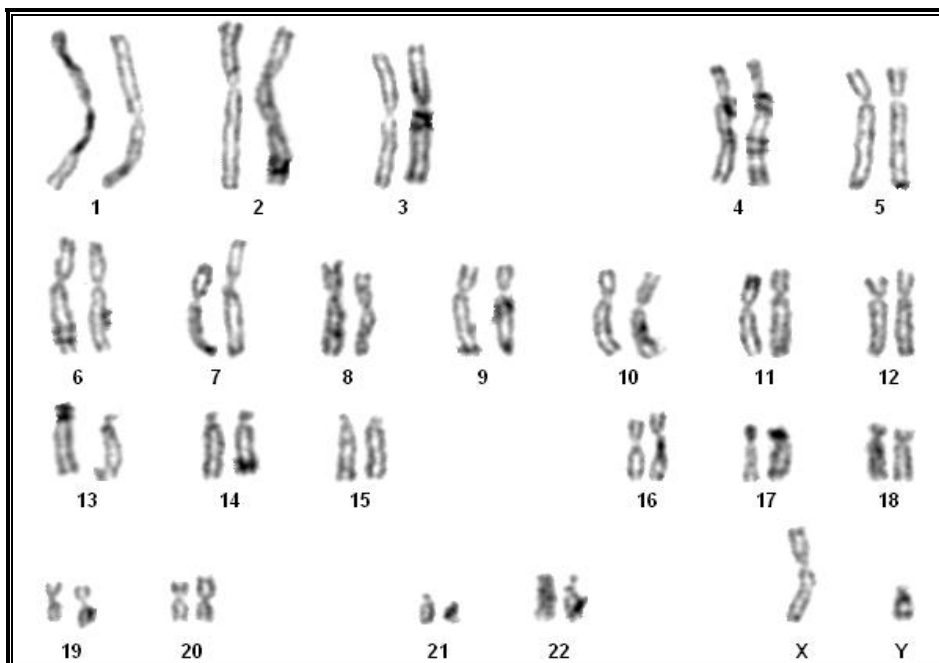


Figure 24 : Caryotype standard du cas N° 3, une cellule à 46, XY.

Cas N° 3 (Une cellule à 46, XY)

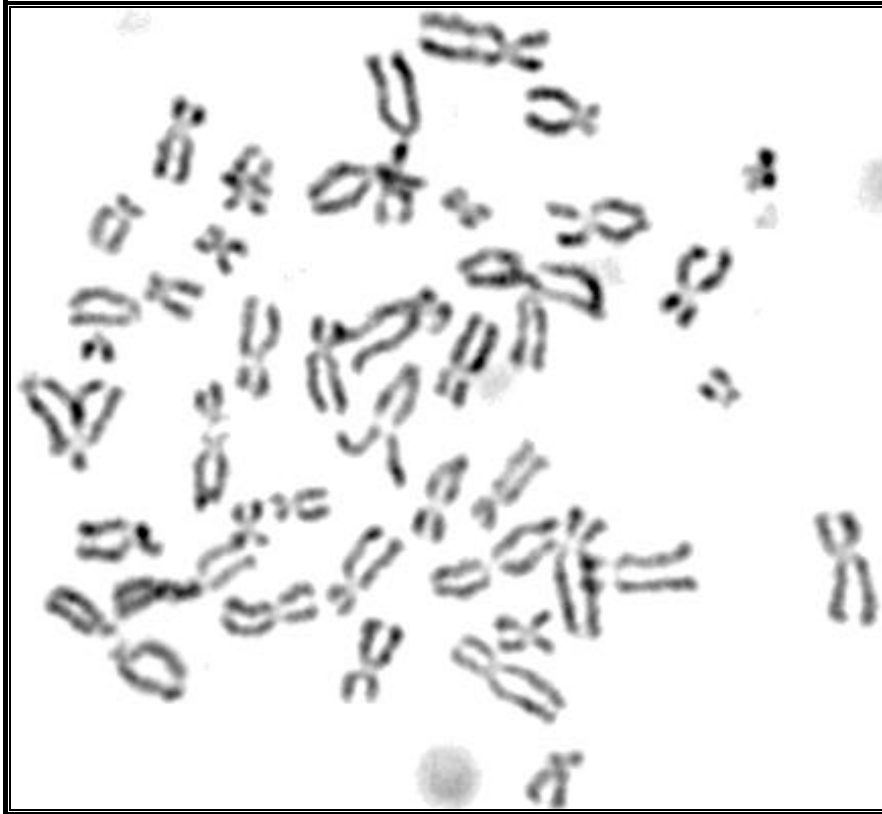


Figure 25 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100

Cas N° 3 (Une cellule à 45, XO)

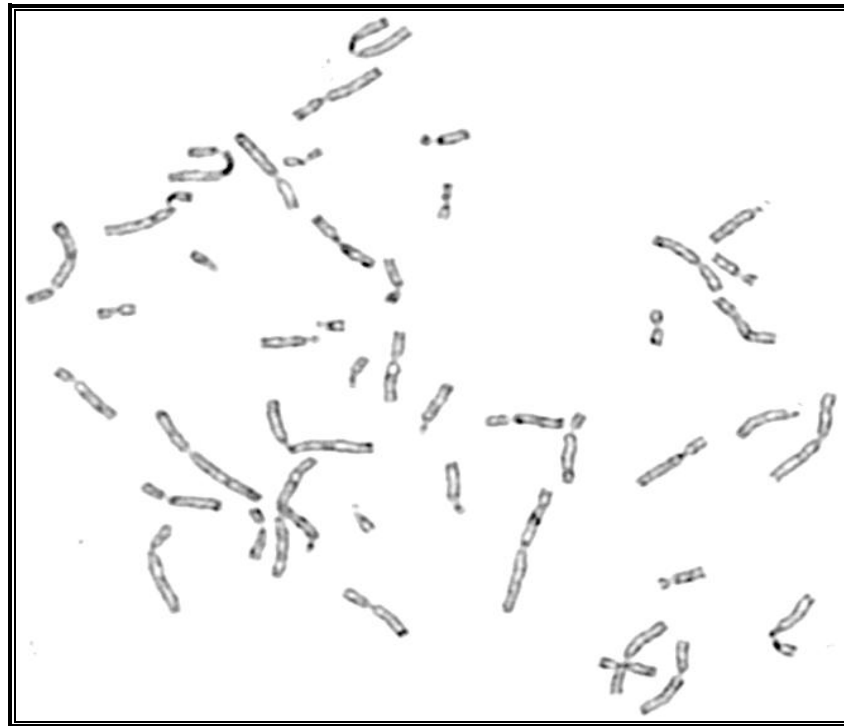


Figure 26 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. GX 100.

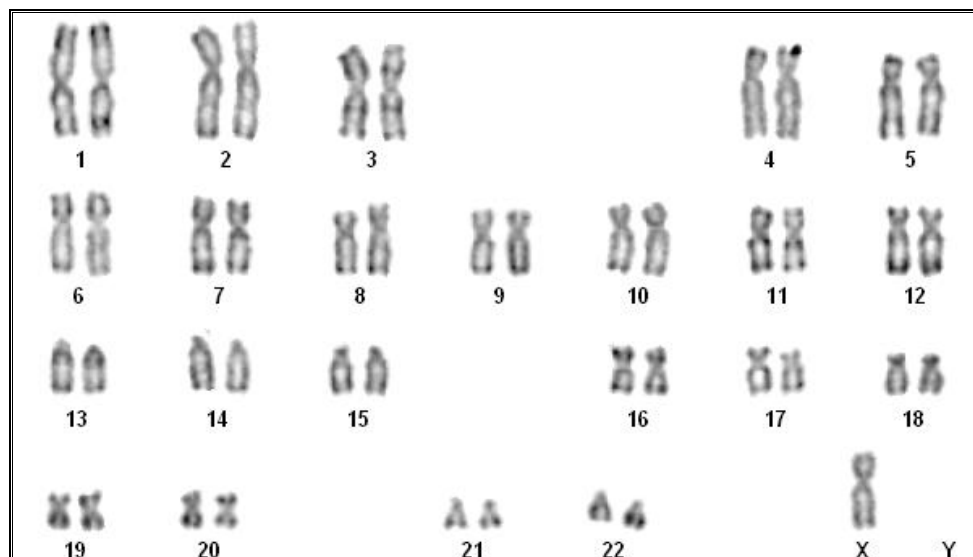


Figure 27 : Caryotype standard en bandes R, une cellule à 45, XO

### Cas N° 4

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les résultats obtenus après réalisation du caryotype standard. Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'une dénaturation par la chaleur.

#### **Interprétation des caryotypes**

Les résultats donnent un caryotype aneuploïde, présentant des anomalies de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y surnuméraire, après étude de 25 mitoses et 7 mitoses en bandes R soumis au logiciel et étude de 5 classements. Il s'agit d'un syndrome du male XYY.

Nous avons également constaté un degré de débilité qui reste à évaluer par le personnel médical compétent.

L'observation du caryotype révèle par ailleurs d'autres anomalies sur de nombreux chromosomes. Ainsi, les chromosomes 2 et 8 montrent une silhouette anormale, le 2 est plus long que son homologue, alors que le 8 est plus petits que son homologue. Cependant, à ce stade de notre analyse, il nous est difficile de proposer une explication. Cela pourrait correspondre à une translocation décrite par Mesched D et all. 1998.

Cas N° 4



Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100.

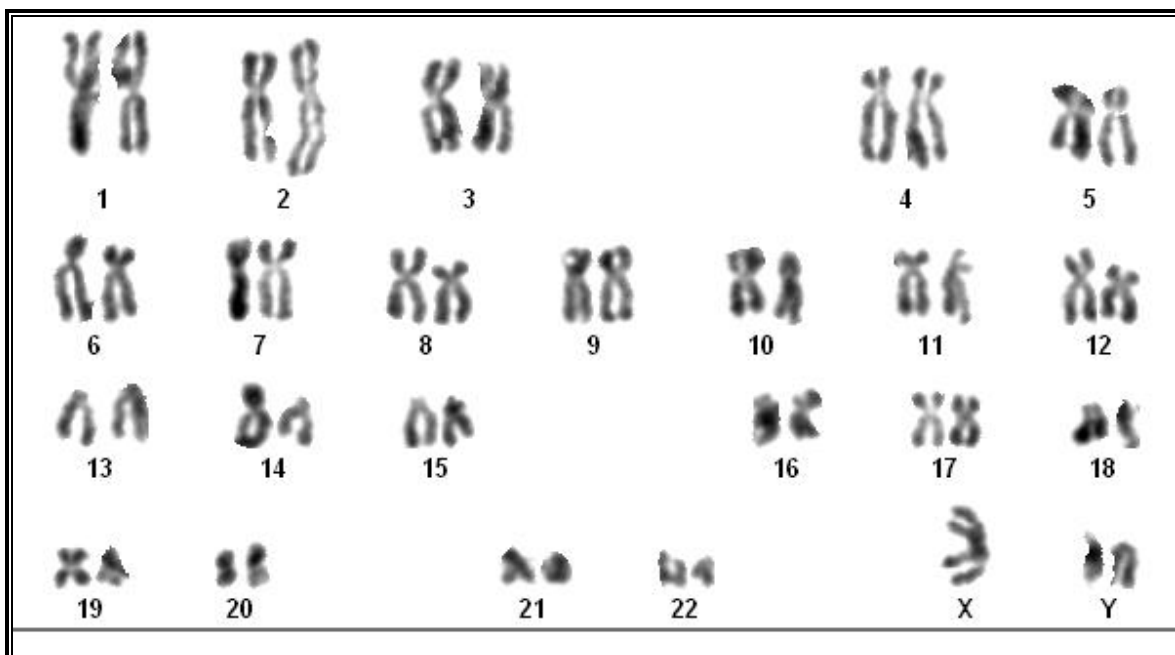


Figure 29 : Caryotype standard d'un homme infertile, 47, XYY

Cas N° 4

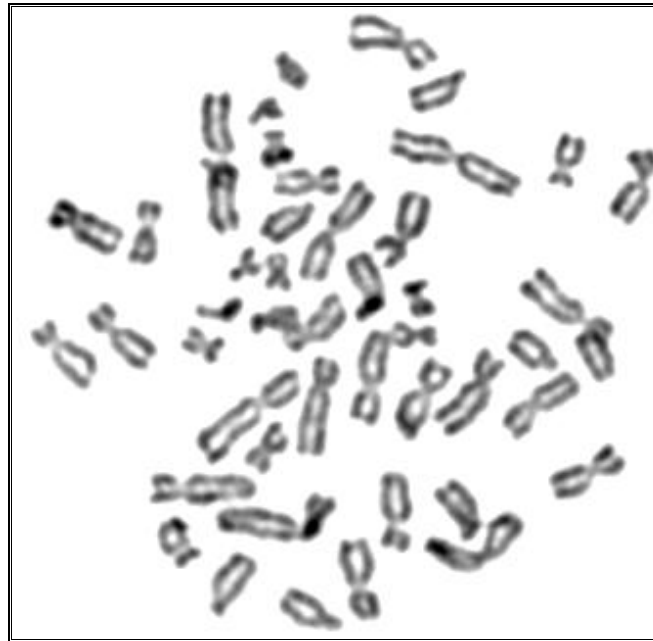


Figure 30 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100.

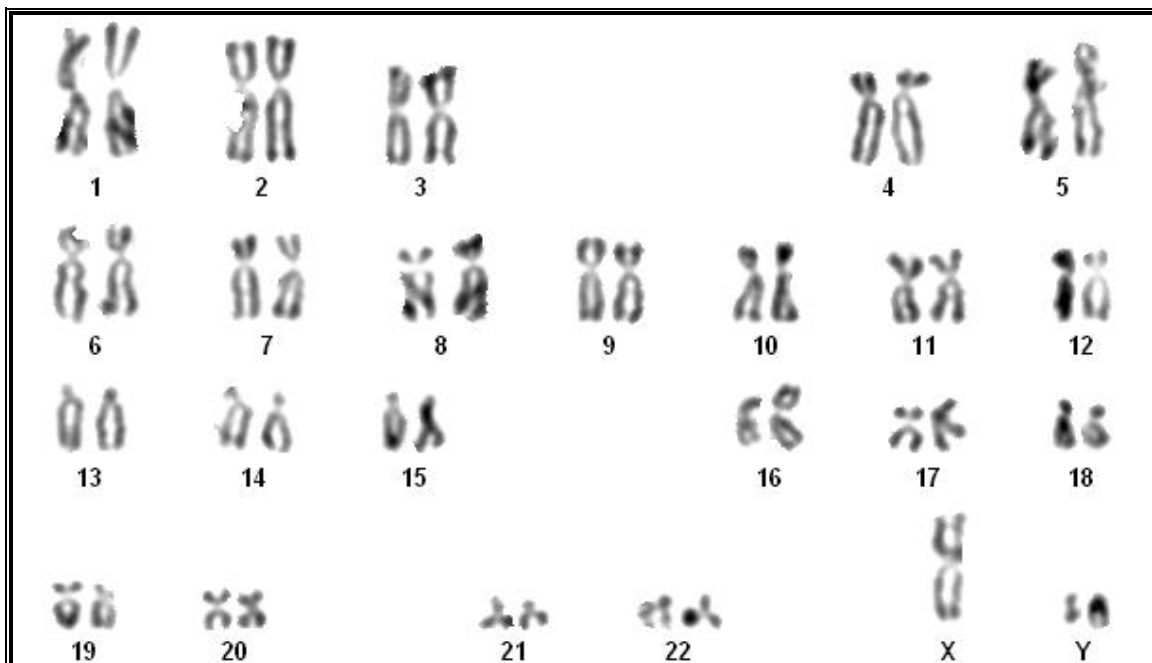


Figure 31 : Caryotype standard avec début de bandes R du 47, XYY.

### Cas N° 5

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.
- La 1<sup>ière</sup> culture réalisée avec le kit était stérile : présence de petits noyaux et de très rare mitoses (index mitotique presque nul).
- On a réalisé, après ce résultat, une culture cellulaire en utilisant le RPMI, les lames présentaient des noyaux de mauvaise qualité.
- La troisième culture réalisée avec toujours la technique standard en utilisant le RPMI a donnée de bons résultats. Les lames présentaient des mitoses de qualité acceptable.

Entre ces deux expériences, le seul paramètre qui aurait pu influencer ce résultat serait le changement du climat et l'élévation de la température.

#### **Interprétation du caryotype**

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements.

La réalisation du marquage en bande montre des anomalies structurales des chromosomes 1 et 16 pour lesquelles nous observons un raccourcissement, de même que pour le chromosome 18.

Cependant, tous ces résultats doivent être confirmés par une analyse plus fine à partir de techniques moléculaires telles que la FISH.

A ce stade il semble qu'il y'a un lien entre ces anomalies et le tableau clinique du patient. Il serait intéressant de continuer notre investigation sur un plan moléculaire.

Cas N° 5



Figure 32 : Chromosomes métaphasiques avec début de bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100

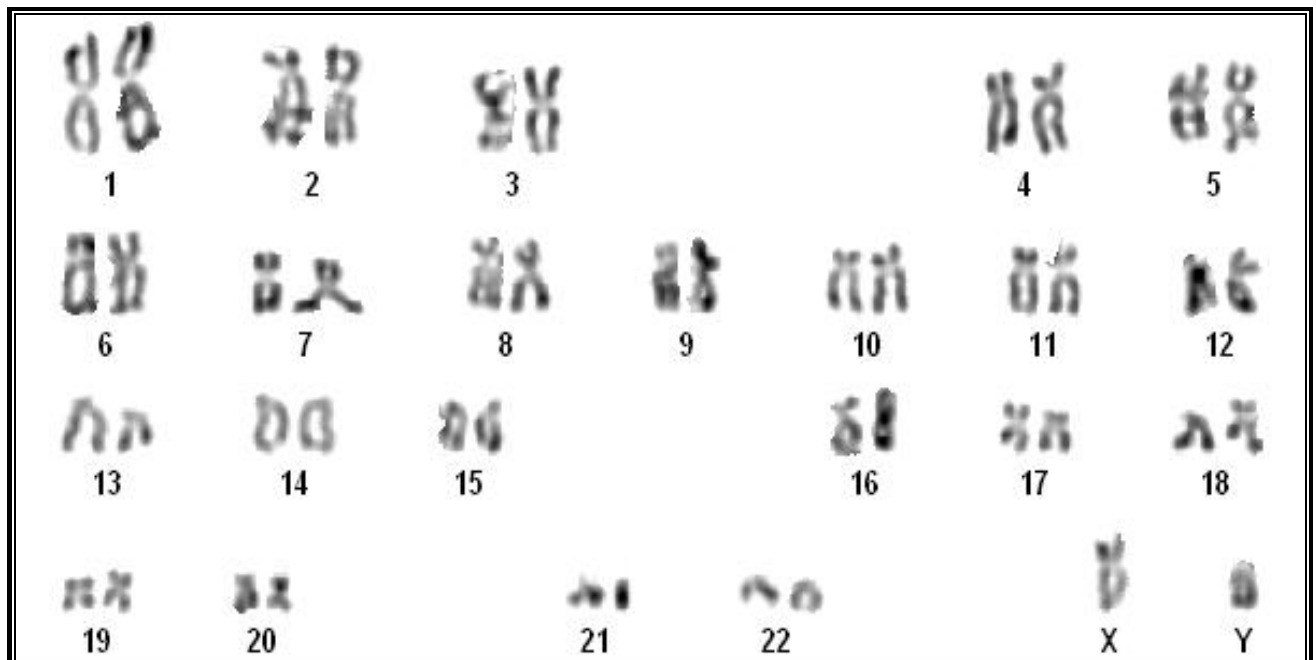


Figure 33 : Caryotype standard avec début de bandes R du cas N° 5, 46, XY.



### Cas N° 6

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Ces dernières sont présentées.

#### **Interprétation du caryotype de cas N° 6**

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre, malgré le diagnostic posé. Mais contrairement au cas précédent (N° 5), le caryotype semble entièrement normal. Des mutations cryptiques pourraient être à l'origine de l'infertilité.

Le résultat a été confirmé après étude de 30 mitoses et la réalisation de 5 classements.

Tous les autres cas de caryotype normaux avec une infertilité avérée pourrait être due à des mutations diverses qui serait intéressant de prospecter du point de vue moléculaire en particulier en niveau des microdélétions de chromosome Y.

Cas N° 6

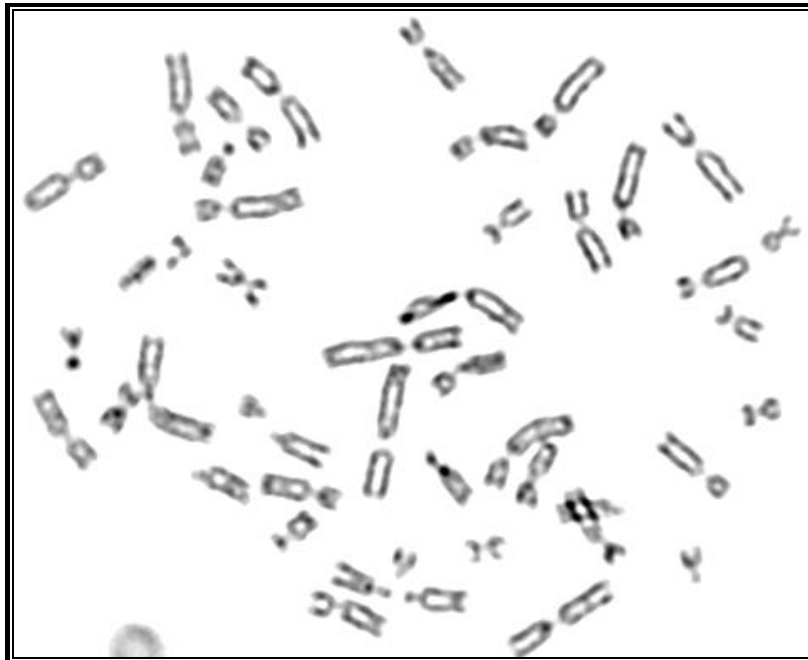


Figure 34 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

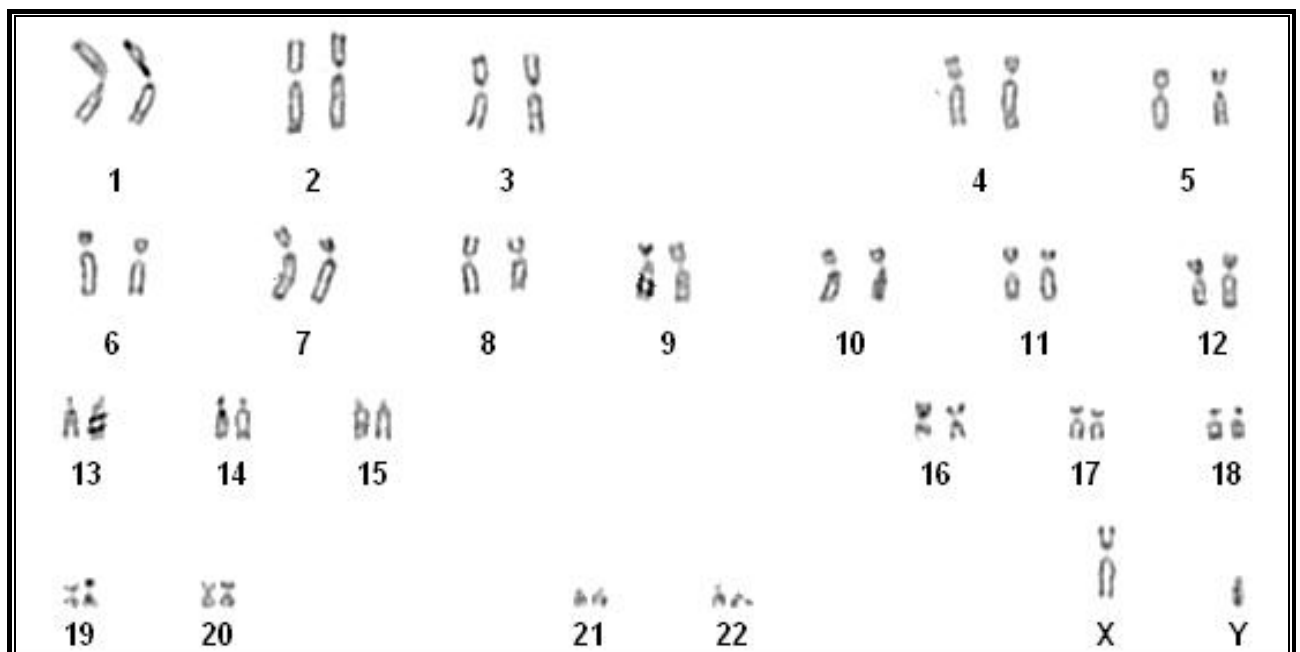


Figure 35 : Caryotype standard en bande R du cas N° 6, 46, XY.

### **I- Discussion générale**

Les instabilités génomiques les plus anciennement connues sont les remaniements chromosomiques. Outre les aneuploïdies on distingue des remaniements structuraux qui sont associés à un phénotype habituellement normal parmi lesquels les translocations occupent une place prépondérante, les inversions péri ou paracentriques. Les remaniements déséquilibrés qui sont, en général, associés à des syndromes très délétères conduisant à la naissance d'enfants polymalformés ou de morts fœtales in utero. On trouve les délétions, les duplications et les translocations déséquilibrées. [79].

Dans notre étude, les différents types d'anomalies précitées ont été mis en évidence sur l'ensemble de nos patients.

Parmi de nombreux facteurs étiologiques, les anomalies chromosomiques jouent un rôle primordial dans l'infertilité masculine avec des paramètres anormaux du spermogramme.

Nos résultats ont démontrés une corrélation inverse entre les anomalies chromosomiques et les paramètres du spermogramme. Le mécanisme exact par lequel l'anomalie chromosomique conduit à une infertilité n'est pas encore clair.

Plusieurs études ont montré une incidence élevée des anomalies chromosomiques chez les hommes stériles, qui s'étend de 2,2 à 14,3 %, ils ont indiqués que ces anomalies et en particulier, celles qui touchent les chromosomes sexuels prédominent chez les sujets azoospermiques (12,6 %), tandis que les anomalies touchant les autosomes sont plus fréquentes chez les sujets oligospermiques. [75, 83]. Dans notre étude nous avons constaté que 28,6 % des hommes infertiles présentaient des anomalies chromosomiques.

Nous avons aussi constaté que le syndrome de Klinefelter, 47, XXY est associée à un déficit spermatogénique sévère qui cause une réduction marquée du volume testiculaire et une azoospermie ayant pour résultat l'infertilité.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

De nombreuses études d'infertilité non obstructive ont rapportés que le syndrome de Klinefelter est l'anomalie chromosomique dont l'incidence est la plus élevée (10 % des patients présentant une azoospermie) chez les hommes infertiles souffrant d'une atteinte testiculaire d'origine chromosomique et que ce type d'anomalie est associé à une azoospermie totale. [75, 83].

Néanmoins, il existe des cas de syndrome de Klinefelter où l'on retrouve des spermatozoïdes lors d'une biopsie testiculaire ou même dans l'éjaculat. Leur présence dans le testicule semble liée à celle des cellules normales 46, XY capables d'achever la spermatogenèse dans un environnement testiculaire très défavorable. Le risque de mal ségrégation chromosomique pourra concerner non seulement la paire XY mais aussi les autosomes. [79].

Parmi les cas de trisomies des chromosomes sexuels, nous avons observés un cas d'infertilités oligospermique avec un caryotype 47, XYY qui correspond au syndrome des super mâle. Cette anomalie des chromosomes sexuels est la deuxième cause la plus fréquente chez les hommes infertiles présentant un déficit testiculaire d'origine chromosomique. [82]. Par ailleurs notre caryotype 47, XYY montre d'autres anomalies associées.

Dans la littérature, il est rapporté que le 47, XYY peut être associé à l'Y dicentrique et que la présence de deux chromosomes Y favorise l'apparition des cellules à 45, XO. Cette même étude a rapportée une incidence de 1,5 pour 1000 nouveaux nés pour ce syndrome et que le phénotype de ces patients est variable. [68].

Une autre étude a rapportée que ce syndrome peut être associé au syndrome de Prader Willi. [84]. Ce qui ne correspond pas à l'anomalie qui apparaît sur nos caryotypes. Si l'anomalie observée est confirmée par la FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) ou la CGH (Comparative Génome Hybridization), elle sera la première décrite et le complément d'information sur le phénotype associé apportera un élément de réponse à certaines pathologies.

Si la plupart des hommes double Y (47, XYY) sont fertiles, la fréquence de cette anomalie est cependant quatre fois plus élevée chez les sujets infertiles que dans la population générale. La

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

question de savoir pourquoi seuls certains hommes 47, XYY ont des problèmes de fertilité n'est pas encore résolue. [81].

La plupart de ces hommes 47, XYY ont une descendance à caryotype normal. Une élévation du taux d'aneuploïdie spermatique touchant les chromosomes sexuels est décrite chez ces sujets. Ces anomalies chromosomiques spermatiques semblent moins fréquentes si le sujet a un caryotype en mosaïque et une spermatogenèse normale. Une relation semble exister entre le degré de mosaïcisme, l'élimination pré méiotique du chromosome Y surnuméraire et les altérations du processus méiotique. [85].

Deux caryotype en mosaïque, 45, XO / 46, XY ont été observés chez deux patients azoospermiques. Ces patients infertiles peuvent avoir un profil de spermatogénèse défectueux ou bien normal. Le mosaïcisme gonosomal peut être la cause probable d'échecs de l'AMP (Assistance Médicale à la Procréation). [85].

Dans une étude de 600 cas d'aneuploïdies de chromosome Y, il a été rapporté que les lignées cellulaires à 45, XO sont présents dans plus de la moitié des cas. [86].

Jean Pierre Siffroi et al, ont montré par une étude menée sur 14 hommes infertiles que les microdélétions ainsi que de larges réarrangements structuraux du chromosome Y sont souvent associées avec un caryotype en mosaïque 45, XO / 46, XY. Les résultats de cette étude ont montrés que parmi ces 14 malades, 6 avaient un caryotype en mosaïque, avec une fréquence des cellules à 45, XO de 24 à 82 % confirmée par le caryotype standard. Et que ces mêmes malades avaient des microdélétions au niveau du chromosome Y pour les régions AZF a, b, c. Ce qui peut être le cas des deux malades trouvés dans notre étude. Pour les 8 patients restant de cette étude, le caryotype était normal 46, XY et la mosaïque n'a été confirmée que par une ré-analyse de 300 métaphases en utilisant la FISH avec une fréquence de 0,3 à 9,3 %. Tous ces malades avaient une microdélétion au niveau de la région AZFc.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

Les anomalies de structure des chromosomes contribuent également à la production de patients porteurs d'azoospermies non obstructive.

Parmi ces anomalies, les translocations robertsonienne entre chromosomes acrocentriques (fusions centriques) : entre les chromosomes 13 et 14 ; 45, XY, der (13q, 14q) ; entre les chromosomes 14 et 21 : 45, XY, der (14q, 21q), et les translocations réciproques sont retrouvées avec une fréquence 8 à 10 fois supérieure chez les hommes infertiles. Étant donné le caractère plutôt aléatoire des points de cassure chromosomique rencontrés dans les translocations réciproques, il paraît peu vraisemblable que l'atteinte de la gamétogenèse soit due systématiquement à la cassure d'un gène majeur de la spermatogenèse. Une étude a cependant montré que certains gènes, dont les transcrits sont retrouvés dans le testicule et ceci de façon exclusive ou non, sont localisés dans des régions du génome décrites comme points de cassure chromosomique récurrents dans des translocations chez des sujets infertiles. [87].

L'explication la plus vraisemblable des conséquences des translocations chromosomiques sur la spermatogenèse est donc probablement mécanique et liée aux mouvements des chromosomes à la méiose dont le moment critique est certainement le stade pachytène au cours duquel les chromosomes homologues vont s'apparier sous forme de bivalents et procéder à des recombinaisons génétiques. Outre leurs effets directs sur la spermatogenèse, les translocations peuvent éventuellement être transmises, naturellement ou après AMP, de façon déséquilibrée et diminuer les capacités de reproduction normale des couples en les exposant à un risque accru de fausses couches ou à la naissance d'un enfant porteur d'un syndrome chromosomique avec malformations, dysmorphie et retard mental.

Comme pour les translocations la fréquence des inversions péricentriques est augmentée dans la population des hommes infertiles. Les inversions du chromosome 9 et du chromosome 1 ont fréquemment été rapportées mais le rôle de l'inversion du chromosome 9 reste très controversé puisqu'il est plutôt considéré comme un variant chromosomique. Des études de la méiose masculine ont également été réalisées et, dans ces situations, suggéraient un problème d'asynapsis (zone de non appariement au stade pachytène de la première division de la méiose

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

entre deux chromosomes d'une même paire) comme l'origine des troubles de la spermatogenèse. Ces troubles peuvent d'ailleurs être majeurs et conduire à des azoospermies. [79].

Les translocations autosomales décrites dans la littérature peuvent être équilibrées ou non équilibrées et sont souvent associées à un désordre spermatogénique. Parmi les translocations les plus décrites : entre le 1 et le 9,16, 18 ; 1 et 19 ; entre le 2 et le 4...etc.

Le cas rapporté dans notre étude présente un caryotype anormal qui peut être porteur d'une translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 16 et qui n'a pas pu être confirmée par le caryotype standard.

Sur le plan moléculaire, un nombre considérable de gènes essentiels à la fonction reproductive de l'homme et de la spermatogenèse en particulier ont été identifiés.

En 1976 Tiepolo et Zuffardi ont démontré que le bras long du chromosome Y pourrait être impliqué dans l'infertilité masculine. Depuis ce temps, beaucoup d'études qui montrent l'association entre les microdélétions du chromosome Y et l'infertilité masculine ont été rapportés. [76].

Depuis, de nombreuses séries de patients azoospermiques ou oligozoospermiques qui ont été publiées montrent que l'incidence des microdélétions du chromosome Y varie de 3 à 28 % selon les études du fait de différences d'échantillonnage quant à la gravité de l'atteinte spermatique prise en compte et à son caractère idiopathique ou non [88, 89] . Le chiffre le plus vraisemblable se situe autour de 10 %, c'est-à-dire environ un homme sur 10 000, ce qui constitue une fréquence de pathologie délétionnelle très élevée en génétique humaine. [89,90].

De plus, l'association de microdélétions de l'Y avec d'autres pathologies affectant la spermatogenèse, comme une varicocèle ou des antécédents de cryptorchidie, est possible, ce qui sous estime probablement cette fréquence établie sur des séries de patients avec une infertilité idiopathique. [91,92]. L'hypothèse actuelle pour expliquer cette fréquence importante de délétion sur le chromosome Y repose sur la richesse de ce dernier en séquences d'origine rétrovirale,

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

séquences qui peuvent facilement recombinaison entre elles de façon non homologues. Ce mécanisme a déjà été prouvé pour AZFa et AZFc. [93,94].

Compte tenu de la fréquence plus élevée des caryotypes normaux parmi les patients de cette étude, il est fort probable que ces patients portent des microdélétions concernant l'une des régions AZF. Ce qui peut traduire le phénotype normal de ces patients ainsi que la perturbation des taux d'hormones FSH et LH et la présence d'azoospermie totale ou l'oligospermie sévère idiopathiques.

Touchant des régions différentes du chromosome Y, les délétions affectent de nombreux gènes et aboutissent à des atteintes testiculaires variables. Les délétions d'AZFa sont le plus souvent associées à la perte des cellules germinales et à un syndrome des cellules de Sertoli seules (SCO), celles d'AZFb à un blocage en méiose et celles d'AZFc à des défauts de la spermatogenèse qui peuvent être relativement modérés. [95,96].

En effet, certains patients délétés pour AZFc montrent seulement une oligozoospermie, en général sévère, mais qui pourrait expliquer les rares cas de transmission naturelle. La description récente [97] d'une famille dans laquelle un père a pu transmettre une délétion d'AZFc à quatre fils tous infertiles soulève de nombreuses questions comme celles concernant les rapports entre l'existence d'une délétion sur l'Y et le génome particulier d'un individu, ses antécédents cliniques ou certains facteurs environnementaux.

Donc on peut penser que l'arrêt de la maturation des spermatozoïdes du cas n° 6 serait lié à une délétion au niveau de la région AZFb.

Après l'émergence de l'injection intra cytoplasmique du sperme (ICSI : Intra Cytoplasm Sperm Injection), il est possible aux hommes avec des anomalies chromosomiques ou avec des microdélétions sur le chromosome Y d'avoir des enfants, mais ces hommes ont une chance de transmettre une telle anomalie à leur progéniture masculine. La détection des microdélétions chez



## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

les hommes azoospermiques et oligozoospermiques, mais pas dans leurs pères fertiles, propose que l'événement se soit produit de novo pour les patients stériles. [98- 100].

En conclusion, il est très clair que divers anomalies chromosomique, structurales et numériques ainsi que les microdélétions du chromosome de Y peuvent causer une déficience spermatogénique à divers points, ayant pour résultat une infertilité d'origine chromosomique. Toutes ces conclusions soutiennent fortement la recommandation d'un criblage des patients stériles pendant l'évaluation et avant l'inscription dans le programme d'ICSI.

### II- Conclusion et perspectives

La relation entre la génétique et l'infertilité masculine est maintenant reconnue. Ceci a un impact profond sur le chemin des traitements qui peuvent être offerts aux hommes infertiles.

Il est maintenant possible de déterminer l'incidence des anomalies chromosomiques responsables en employant une variété de techniques comme le caryotype standard, la PCR, la FISH, ainsi que d'autres techniques en haute résolution.

Notre étude confirme qu'un groupe d'hommes avec azoospermie non obstructive et oligospermie sévère ont un grand risque d'avoir des anomalies cytogénétiques sous jacente.

Les études cytogénétiques réalisées dans les populations d'hommes infertiles présentant des altérations des paramètres spermatiques ont montré l'existence d'une relation entre anomalies chromosomiques constitutionnelles et infertilité masculine. Une anomalie chromosomique constitutionnelle peut altérer la fonction de la reproduction de l'homme par une action spécifique sur la méiose ou sur la différenciation des cellules germinales. Cependant, son retentissement sur la fonction de reproduction présente une extrême variabilité dans son expression, de la subfertilité à la stérilité primaire.

Ainsi, la recherche des causes génétiques d'anomalies de la spermatogenèse présente de multiples intérêts :

- La mise en évidence d'une anomalie génétique peut permettre d'éviter de nombreux examens inutiles, voire des traitements illusoire.
- Elle permet également de réaliser un conseil génétique éclairé visant à déterminer les risques de transmission de l'anomalie à la descendance avec les éventuels handicaps qui peuvent en découler.
- Enfin, cette recherche débouche sur une meilleure connaissance fondamentale des chromosomes et des gènes impliqués et de leur mode d'action. Un tel travail nécessite bien sûr des rapports étroits entre les biologistes et les cliniciens.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

Il est donc fortement recommandé d'examiner ces patients avant d'appliquer une ICSI pour infertilité. D'ailleurs, le diagnostic prénatal dans le cas de ces anomalies est d'une très grande importance. De telles investigations sont nécessaires pour réduire au minimum le risque de propagation de ces anomalies chromosomiques dans la génération suivante. En plus, un suivi complet des bébés conçus par ICSI, en particulier la progéniture masculine, est essentielle.

# Références bibliographiques

**1- Stérilité du couple.** Cours [en ligne]. Faculté de Médecine : ULP F67000 Strasbourg **2004-2005** ; p 249-255.

**2- Nicole Vacheret.** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - Lyon 1 France. Octobre **1999**. p 1-4.

**3- Jean Pierre Siffroi.** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. **2001**. p 1-45.

**4- Jonathan Rubenstein, Robert E Brannigan.** Infertility, Male. **2005**; section 1-11.

**5- Gilles Bourbonnais.** Le système reproducteur [en ligne]. Cours compensateurs Chapitre 6. Université Laval. **2003**. p 1-63.

**6- C. Krausz, J-P. Siffroi, N. Souleyreau-Therville, T. Bourgeron, K. McElreavey, M. Fellous.** Contrôle génétique de la spermatogenèse : chromosome Y et infertilité masculine. Annales de Biologie Clinique. Mai - Juin **2007** ; Volume 57, Numéro 3, 309-17, Dossier : 5<sup>ème</sup> journée scientifique de la SFBC.

**7- Jean Pierre Siffroi.** La spermatogenèse [en ligne]. Service d'Histologie. Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Tenon **2001**. p 1-57.

**8- Françoise Jauzein, Solange Magre,** La différenciation sexuelle morphologique [en ligne]. INRA **2001**.

**9- Nadejda Machev, Guy Fuhrmann, Stéphane Viville.** Ontogenèse des cellules germinales primordiales. Medecine/sciences **2004** ; 20 : 1091-5.

- 10- Rucker G.B., Mielnik A., King P., Golstein M., Schlegel P.N.** Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J.Urol*,**1998**, 106:6, 2068-71.
- 11- Batch J.A, Patterson M.N, Hughes I.A.** Androgen insensitivity syndrome. *Reproductive Medicine Review*, **1992**, 1, 375-383.
- 12- Eric Vendrely, Philippe Merviel,** Stérilité et hypofertilité masculines. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, **1998**. 10-032-E-10.
- 13- Claude Antony, Roger Augier Gilles, Bœuf Jean-Claude Boucaut ;** Biologie du développement et de la reproduction **1996**.
- 14- Kuttann F, d'Acromont MF et Mowszowicz I.** Anomalies de la différenciation sexuelle. *Encycl Méd Chir, Endocrinologie-Nutrition*, **2003**,10-033-A-10, 26 p.
- 15- Frédéric Hamel.** Régulation transcriptionnelle du gène Sry humain et porcin par le facteur de Transcription gata-4. Thèse de doctorat. **2004**.
- 16- Françoise Jauzein, Corinne Cotinot.** Les gènes de la détermination sexuelle chez les mammifères. Institut national de recherche pédagogique INRA. **2001**.
- 17- Layman LC.** Human gene mutations causing infertility, *Journal of Medical Genetics* **2002**; 39:153-161.
- 18- Layman LC.** The genetics of human hypogonadotropic hypogonadism. *Am J Med Genet* **1999**; 89:240–8.
- 19- Françoise Jauzein, Corinne Cotinot.** Le chromosome Y et le gène SRY, Institut national de recherche pédagogique INRA.**2001**.
- 20- Simone Gilgenkrantz.** Au cœur de l'Y humain. *Médecine/sciences* janvier **2004** ; n° 1, vol. 20.

- 21- Tiepolo L. and Zuffardi O.** Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet*, **1976**,34:119-124.
- 22- Slatetsky H, Kuroda- Kawaguchi T, Minx PJ, et al.** The male specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* **2003**; 423: 825-37.
- 23- Hervé Wallerand, Stéphane Bernardini, Eric Chabannes, Hugues Bittard.** Infertilité masculine de cause génétique et biologie moléculaire. *Progrès en Urologie* **2003**, 13, 560-563.
- 24- Jan A.M.Kremer<sup>1</sup>, Joep H.A.M.Tuerlings, Eric J.H.Meuleman, Frans Schoute , Edwin Mariman, Dominique F.C.M.Smeets, Lies H.Hoefsloot, Didi D.M.Braat<sup>1</sup> and Hans M.W.M.Merkus<sup>1</sup>.** Microdeletions of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. *Human Reproduction* **1997** vol.12 no.4 pp.687–691.
- 25- Jean-Pierre Siffroi, Sophie Christin-Maitre.** Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. *mt médecine de la reproduction*, septembre-octobre **2006**. vol. 8, n° 5.
- 26- K. McElreavey, C. Krausz, C. Patrat, M. Fellous.** Infertilité masculine et les microdélétions du chromosome Y. *Gynécol Obstét Fertil* **2002** ; 30 : 405-12.
- 27- Bhasin S., Ma K., Sinha I. et al.** The genetic basis of male infertility. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **1998**, 27:783-805.
- 28- S.Hamamah Et C.Barthelemy.** Spermogramme et tests de fécondance : intérêt et limites [en ligne]. *JTA/1997*.
- 29- Aly Abbara.** Sperme et Spermocytogramme. *J. Lornage. Gynécologie-Obstétrique pratique* ; N° 144, avril **2002** ; page : 10-11.
- 30-Young J.** Hypogonadismes hypogonadotrophiques chez l'homme. *Encycl Méd Chir Endocrinologie- Nutrition*. **2000** ; 10-027-D-10, 12 p.

- 31- Jones J., Kemmann E.** Olfacto-genital dysplasia in the female. *Obstetric and Gynecology*, **1976**, 5, 443-466.
- 32 - McKusic VA.** Mendelian inheritance in man (MIM). A catalog of human genes and genetic disorders. Baltimore : Johns Hopkins University Press, **1998**, p 55.
- 33- Hardelin JP, Petit C.** A molecular approach to the pathophysiology of the X chromosome-linked Kallmann's syndrome balleire's. *Clin Endocrinol Metab* **1995** ; 9 : 489-507.
- 34- Meitinger T, Heye B, Petit C, Ballabio A.** Definitive localization of X-linked Kallmann syndrome (hypogonadotropic hypogonadism and anosmia) to Xp22. 3: close linkage to the hypervariable repeat sequence CRI-S232. *Am J Hum Genet* **1990** ; 47 : 664-669.
- 35- Chaussain J.L., Toublanc J.E., Feingold J. et al.** Mode of inheritance in familial cases of primary gonadotropic deficiency. *Hormone Research*, **1988**, 29, 202-206.
- 36- Pr. F. Duron & Coll.** Endocrinologie DCEM1 [en ligne] - 15 novembre **2006** p 1-311.
- 37- Weiss J., Axelrod L., Whitcomb R.W., Harris P.E., Crowley W.F.Jr., Jameson J.L.** Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the subunit of luteinizing hormone. *N. Engl. J. Med.*, **1992**, 326, 179- 183.
- 38- Jaffe T., Oates R.D.** Genetic abnormalities and reproductive failure. *Urol. Clin. North Am.*, **1994**, 21: 3, 389- 408.
- 39 - Lindstedt G., Nystrom E., Matthews C., Ernest I., Janson P.O., Chatterjee K.** Follitropin (FSH) deficiency in an infertile male due to FSHbeta gene mutation a syndrome of normal puberty and virilization but underdeveloped testicles with azoospermia, low FSH but high lutropin and normal serum testosterone concentrations. *Clin. Chem. Lab. Med.*, **1998**, 36, 663-665.

- 40- Sparkes R.S., Klisak I., Miller W.L.** Regional mapping of genes encoding human steroidogenic enzymes: P450<sub>scc</sub> to 15q23-q24, adrenodoxin to 11q22; adrenodoxin reductase to 17q24-q25; and P450<sub>c17</sub> to 10q24-25. *DNA and Cell biology*, **1991**, 10, 359-365.
- 41- Morohashi K., Sogawa K., Omura T., Fujiikuriyama Y.** Gene structure of human cytochrome P- 450 (SCC), cholesterol desmolase. *J. Biol. Chem. (Tokyo)*, **1987**, 101, 879-887.
- 42- White P.C.** Genetic Diseases of Steroid Metabolism. *Vitam. and Horm.*, **1994**, 49, 131-195.
- 43- Lachance Y., Luu-The V., Verreault H., Et Al.** Structure of the human type II 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/ delta 5-delta 4 isomerase (3 beta-HSD) gene: adrenal and gonadal specificity. *DNA and cell Biology*, **1991**, 10, 701-711.
- 44- Sigman M., Howards S.S.** Male infertility. In: *Campbell's Urology*. Edited by P.C. Walsh, A.B. Retick, T.A. Stamey, and E.D. Vaughan. Philadelphia : W. B . Saunders Company, **1998**, 2, VII, 43, 1287-1320.
- 45- White P.C., New M.I., Dupont B.** HLA-linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome P-450 specific for steroid 21- hydroxylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1984**, 81,7505- 7509.
- 46- Zachmann M., Tasmari D., Prader A.** Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 \_ hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1983**, 56 : 2, 222-229.
- 47- Chua S.C., Szabo P., Vitek Et Al.** Cloning of cDNA encoding steroid 11 beta-hydroxylase (P450<sub>c11</sub>). *P.N.A.S* **1987**, 84, 7193-7197.
- 48- Wu L., Einstein M., Geissler W.M., Chan H.K., Elliston K.O., Andersson S.** Expression cloning and characterization of human 17 hydroxysteroid dehydrogenase type 2, a



microsomal enzyme possessing 20 hydroxysteroid dehydrogenase activity. *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268 : 17, 12964-12969.

**49- Andersson S., Berman D.M., Jenkins E.P., Russell D.W.** Deletion of steroid 5-alpha-reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. (London), *Nature*, **1991**, 354, 159-161.

**50- Zajac J.D., Warne G.L.** Disorders of sexual development. *Baillières Clin. Endocrinol. Metab.*, **1995**, 9 : 3, 555- 579.

**51- Wilson J.D.** Syndromes of Androgen Resistance. *Biol. Reprod.*, **1992**, 46, 168-173.

**52- Laue L., Wu S.M., Kudo H., Hsueh A.J., Cutler G.B., Griffin J.E., Wilson J.D., Brain C., Berry A.C., Grant D.B., Chan W.Y.** A nonsense mutation of the human luteinizing hormone receptor gene in Leydig cell hypoplasia. *Hum.Mol.Genet*, **1995**, 4, 1429-1433.

**53- Latronico A.C., Anastj J., Arnhold I.J.P., Rapaport R., Mendonca B.B., Bloise W., Castro M., Tsigos C., Chrousos G.P.** Testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone receptor gene. *N. Engl. J. Med.*, **1996**, 344, 507-512.

**54- Rucker G.B., Mielnik A., King P., Golstein M., Schlegel P.N.** Preoperative screening for genetic abnormalities in men with non-obstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J.Urol.*,**1998**, 106:6, 2068-71.

**55- Bauduceau B, Mayaudon H, Dupuy O et Desangles F.** Syndrome de Klinefelter. *Encycl Méd Endocrinologie-Nutrition*, **2001**,10-032-E-20, 6 p.

**56- Nicole Morichon-Delvallez, Claire Bouvattier.** Le syndrome de Klinefelter. *Encyclopédie Orphanet Grand Public*. Septembre **2006**; 6p.

**57- N. Gusbin, A. Verloes, A. Daly, A. Beckers.** LES GRANDES TAILLES : quelques grands syndromes et revue de la littérature. *Rev Med Liege* **2006**; 61 : 7-8 : 572-580.

**58- Daniel J., Wattendorf, and Maximillian Muenke.** Klinefelter Syndrome. Annual Clinical Focus. December 1, 2005+ Volume 72, Number 11.

**59- Jeannie Visootsak and John M Graham, Jr.** Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. Orphan Journal of Rare Diseases. Full Text. 1999-2007. 11p.

**60- V. Velissarioua, S. Christopouloua, C. Karadimasa, I. Pihosb, C. Kanaka-Gantenbeinc, N. Kapranosd, G. Kallipolitise and A. Hatzakia.** Rare XXY/XX mosaicism in a phenotypic male with Klinefelter syndrome: case report. European Journal of Medical Genetics Volume 49, Issue 4, July-August 2006, Pages 331-337.

**61- T. Diemer, C. Desjardins:** Developmental and genetic disorders in spermatogenesis, Human Reproduction Update 1999, Vol. 5, No. 2 pp. 120–140.

**62- Nieschlag, E., Behre, H.M., Meschede, D. et al.** Disorders at the testicular level. In Nieschlag, E. and Behre, H. (eds), Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction. Springer-Verlag, Berlin, 1997 pp. 133–159.

**63- Carlo Foresta, Alberto Ferlin, Luca Gianaroli and Bruno Dallapiccola.** Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples May 2002, Volume 10, Number 5, Pages 303-312.

**64- G.R. Dohle, W. Weidner, A. Jungwirth, G. Colpi, G. Papp, J. Pomerol, T.B. Hargreave.** Guidelines on male infertility. European Association of Urology MARCH 2004.

**65- Johannes Nielsen.** Le Syndrome XYY. Encyclopédie Orphanet Grand Public. Septembre 2006.

**66- Daniel L. Hartl, Elisabeth W. Jones.** Génétique : Les grands principes. 3<sup>ème</sup> édition Paris, Dunod, 2003. p 182-3.

**67- Margaret W. Thompson, Roderick R. McInnes, Huntington F. Willard.** Génétique médicale. 5<sup>ème</sup> édition. Médecine-Science, Flammarion. 1995. p 239-240.

- 68- Dilek Aktas, Mehmet Alikasifoglu, Nazlı Gonc, Mehmet E. Senocak , Ergul Tuncbilek.** IsodicentricY (p11.32) chromosome in an infant with mixed gonadal dysgenesis. *European Journal of Medical Genetics* 49, **2006**; 141–149
- 69- Heather Hall, Patricia Hunt and Terry Hassold.** Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Current Opinion in Genetics & Development* **2006**, 16:323–329.
- 70- Chang H.J., Clark R.D., Bachman H.** The phenotype of 45, X/46, XY mosaicism and analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am. J. Hum. Genet.*, **1990**, 46, 156-167.
- 71- J.M. Rigot.** Physiologie et impact de la varicocèle sur la fertilité [en ligne]. Service Andrologie. Chru lille.**2006**.
- 72- H. Yavetz.** Cryptorchidisme: incidence and sperm quality in infertile men [en ligne]. *Andrologia*, **1992**.
- 73- Dania Bazarbachi.** Les cryptorchidies opérées selon la technique de stephen-fowler Thèse n° 10317 Genève **2003**.
- 74- Hervé Lejeune, Michel Pugeat.** Étiologies de l'infertilité masculine [en ligne]. FC\_Stérilité\_Homme\_Etiologies **2000**.
- 75- Punam Nagvenkar, Kundan Desai, Indira Hinduja & Kusum Zaveri.** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res* 122, July **2005**, pp 34-42.
- 76- Arzu Vicdan, Kubilay Vicdan, Serdar Gunalp, Aykut Kence, Cem Akarsub, Ahmet Zeki Is, Eran Soʒen.** Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2004**; 117,49–54.

- 77- J. Egozcue, J. Blanco, E. Anton, S. Egozcue, Z. Sarrate and F. Vidal.** Genetic Analysis of Sperm and Implications of Severe Male Infertility—A Review. *Placenta* **2003**, 24, S62–S65.
- 78- J.M. Pina-Neto, R.C.V. Carrara, R. Bisinella, L.F. Mazzucatto, M.D. Martins E. Sartoratto and R. Yamasaki.** Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. Cytogenetic and Y microdeletion studies of infertile men *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **2006**; 39: 555-561.
- 79- F.Vialard, M. Benahmed, R. Lombroso, J. Selva.** Instabilité génomique et infertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32, **2004** ; 1013–1022.
- 80- Feodora Stipoljev , Sanja Vujisic, Josip Parazajder , Daria Hafner , Davor Jezek , Jadranka Sertic.** Cytogenetic analysis of azoospermic patients: karyotype comparison of peripheral blood lymphocytes and testicular tissue. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 124, **2006**; 197–203.
- 81- J.P. Siffroi, S. Chantot-Bastaraud, C. Ravel.** Origines géniques et chromosomiques des anomalies de la spermatogenèse : aspects cliniques et rapports avec les modèles animaux. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 31, 2003; 504–515.
- 82- Alberto Ferlin, Barbara Arredi, Carlo Foresta.** Genetic causes of male infertility. *Reproductive Toxicology* 22, **2006**; 133–141.
- 83- Polani B Seshagiri.** Molecular insights into the causes of male infertility. November **2001**. Vol. 26 No. 4 Suppl. 429–435.
- 84- Sylvie Odent, Sophie Taque, Josette Lucas, Franceza Le Mee and Bernard Le Marec.** Prader–Willi syndrome and polygonosomal abnormalities in males: about a Prader–Willi/47, XYY patient. *Annales de Génétique* Volume 44, Issue 1, January-March 2001, Pages 1-3.

- 85- N. Rives, N. Mousset-Siméon, L. Sibert, V. Duchesne, L. Macé, J.-P. Milazzo, S. Mazurier, B. Macé.** Anomalies chromosomiques du spermatozoïde. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32, **2004**; 771–778.
- 86- Hsu, L.** Phenotype/caryotype correlation of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am. J. Med. Genet.* **1994.**, 53, 108-140.
- 87- Iris Bartels, Heike Starke, Loukas Argyriou, Simone M. Sauter, Barbara Zoll, Thomas Liehr.** An exceptional complex chromosomal rearrangement (CCR) with eight breakpoints involving four chromosomes (1;3;9;14) in an azoospermic male with normal phenotype. *European Journal of Medical Genetics* 50, **2007**; 133e138.
- 88- Suzanne Demczuk, Myriam Pelletier, Francois Bénard, Serge B. Melançon, Pierre St-Miche.** Genetic testing experience of a private fertility clinic. *International Congress Series* 1271, **2004**; 177– 180.
- 89- Peter H. Vogt.** Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Molecular and Cellular Endocrinology* 224, **2004**; 1–9.
- 90- C. Ravel, S. Chantot-Bastaraud, K. McElreavey, J.-P. Siffroi.** Polymorphismes du chromosome Y et fertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34, **2006**; 885–893.
- 91- Sjoerd Repping, Saskia K.M. van Daalen, Cindy M. Korver, Laura G. Brown, Janet D. Marszalek, Judith Gianotten, Robert D. Oates, Sherman Silber, Fulco van der Veen, David C. Page, and Steve Rozen.** A family of human Y chromosomes has dispersed throughout northern Eurasia despite a 1.8-Mb deletion in the azoospermia factor c region. *Genomics* 83 (2004) 1046–1052.
- 92- A Ferlin<sup>1</sup>, E Moro<sup>1</sup>, A Rossi<sup>1</sup>, B Dallapiccola and C Foresta.** The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *Journal of Medical Genetics* 2003;40:18-24.

- 93- Sun C, Skaletsky H, Rozen S, Gromoll J, Nieschlag E, Oates R, et al.** Deletion of azoospermia factor a (AZFa) region of human Y chromosome caused by recombination between HERV15 proviruses. *Hum Mol Genet* 2000;9:2291–6.
- 94- Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, Minx PJ, Cordum HS, Waterston RH, et al.** The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet* 2001;29:279–86.
- 95- M. C. Martiñez, M. J. Bernabe, E. Goñmez, A. Ballesteros, J. Landeras, G. Glover, M. Gil-Salom, J. Remohí, And A. Pellicer.** Screening for AZF Deletion in a Large Series of Severely Impaired Spermatogenesis Patients. *Journal of Andrology*, Vol. 21, No. 5, September/October 2000.
- 96- Rima Dada, a N. P. Gupta, b and K. Kucheria c.** Yq Microdeletions Azoospermia Factor Candidate Genes and Spermatogenic Arrest. *Journal of Biomolecular Techniques* 15:176–183 © 2004 ABRF.
- 97- Chang PL, Sauer MV, Brown S.** Y chromosome microdeletion in a father and his four infertile sons. *Hum Reprod* 1999;14:2689–94.
- 98- C. Ferrás<sup>1</sup>, S. Fernandes, C.J. Marques, F. Carvalho, C. Alves<sup>1</sup>, J. Silva<sup>1</sup>, M. Sousa and A. Barros** AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome. *Molecular Human Reproduction* 2004 10(10):755-761; doi:10.1093/molehr/gah104
- 99- S.E. Kleiman, L. Yogev, R. Hauser, A. Botchan, B. B.-S. Maymon, G. Paz, and H. Yavetz.** Expression profile of AZF genes in testicular biopsies of azoospermic Human Reproduction, doi:10.1093/humrep/del341.
- 100- Chen SU, Lien YR, Ko TM, Ho HN, Yang YS, Chang HC.** Genetic screening of karyotypes and azoospermic factors for infertile men who are candidates for ICSI. *Arch Androl.* 2003 Nov-Dec;49(6):423-7.

# LISTE DES FIGURES

## Partie bibliographique

Figure 1 : L'appareil génital masculin.....	3
Figure 2 : Structure histologique du testicule.....	4
Figure 3 : Structure histologique des tubes séminifères.....	5
Figure 4 : Structure des cellules de Sertoli.....	6
Figure 5 : Structure du spermatozoïde humain.....	9
Figure 6 : Le tissu interstitiel.....	10
Figure 7 : Constitution du pénis.....	13
Figure 8 : Les glandes Annexes.....	14
Figure 9 : Origine des cellules germinales.....	15
Figure 10 : Evolution des cellules germinales .....	16
Figure 11 : Les phases de la spermatogenèse.....	18
Figure 12 : Les étapes de la spermiogenèse.....	19
Figure 13 : Structure du chromosome Y.....	23

## Partie pratique

Figure 14 : Caryotype masculin normal en bande R 46, XY.....	52
Figure 15 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G×100.....	62
Figure 16 : Caryotype standard d'un Klinefelter 47, XXY.....	62
Figure 17 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé du cas n°2 G ×100.....	64
Figure 18 : Caryotype standard du cas n°2 : 46, XY.....	64
Figure 19 : Chromosomes métaphasiques en bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G 100.....	65

<b>Figure 20 : Caryotype standard en bande R du cas N° 2 : 46, XY.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure 21 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G 100.....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 22 : Caryotype standard du cas n°2 : 45, XO.....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 24 : Caryotype standard du cas n°3, une cellule à 46, XY.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 25 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé cas n°3.....</b>	<b>69</b>
<b>Figure 26 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>70</b>
<b>Figure 27 : Caryotype standard avec début de bandes R d'un homme infertile, une cellule à 45, XO.....</b>	<b>70</b>
<b>Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>71</b>
<b>Figure 29 : Caryotype standard d'un homme infertile, 47, XYY.....</b>	<b>72</b>
<b>Figure 30 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement 100.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 31 : Caryotype standard avec début de bandes R du 47, XYY.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 32 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 33 : Caryotype standard du cas n° 5, 46, XY.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 35 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>77</b>
<b>Figure 22 : Caryotype standard du cas n°6, 46, XY.....</b>	<b>77</b>



# Annexe

**Tableau 1** : Étiologies du défaut de la spermatogénèse.[K. Mc Elreavey ,2002].

<b>Etiologie</b>	<b>Phénotype</b>
<p><b>Pré-testiculaire</b></p> <p><b>Endocrine</b> (insuffisance gonadotrope)            - congénitale (syndrome de Kallman)            - acquise (tumeur, post-traumatique, selle turcique vide, iatrogène)</p> <p><b>Troubles du coït</b>            - dysfonction érectile            - dysfonction éjaculatoire</p>	<p>Azoospermie            Azoo / Oligozoospermie</p> <p>Aspermie            Aspermie</p>
<p><b>Testiculaire</b></p> <p><b>Congénitale</b>            - Anorchie            - Cryptorchidisme</p> <p><b>Génétique</b>            Anomalies chromosomiques            - Klinefelter et ses variantes            - Translocations, inversions            - Délétions du chromosome Y            - Anomalies monogéniques</p> <p><b>Varicocèle</b></p> <p><b>Agents anti-spermatogéniques</b>            (environnementaux, médicaments)</p> <p><b>Chimiothérapie, radiations ionisantes</b></p> <p><b>Torsion vasculaire, traumatismes, orchite</b></p>	<p>Azoospermie            Azoo / Oligozoospermie</p> <p>Azoo / Oligozoospermie sévère            Azoo / Oligozoospermie            Azoo / Oligozoospermie sévère            Azoo / Oligozoospermie            Oligozoospermie            Oligozoo / Azoospermie            Azoo / Oligozoospermie sévère            Azoo / Oligozoospermie</p>
<p><b>Post-testiculaire</b></p> <p><b>Obstructive</b>            - Epididymale (congénitale ou post-infectieuse)            - Déférentielle (génétique ou post-vasectomie)</p> <p><b>Infection des glandes accessoires</b></p> <p><b>Immunologique</b> (idiopathique ou secondaire)</p>	<p>Azoo / Cryptozoospermie            Azoo / Cryptozoospermie            Oligozoospermie            Normospermie / Oligozoospermie</p>
<p><b>IDIOPATHIQUE</b></p>	<p>Azoo / Oligozoospermie</p>

**Tableau 2 :** Les autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire.  
[Françoise Jauzein, 2001].

GENE	LOCALISATION CHROMOSOMIQUE (humaine)	TISSU OU LE GENE S'EXPRIME (souris)	PERIODE D'EXPRESSION (souris)	CARACTERISTIQUES DE SA PROTEINE (humaine)	ROLE DE LA PROTEINE
<b>SRY</b>	bras court du chr Y	précurseurs et cellules de Sertoli, cellules germinales mâles	juste avant la différenciation des testicules reprise à l'âge adulte	204 aa, possède un domaine de liaison à l'ADN entraînant sa courbure	différenciation de la gonade en testicule
<b>WT1</b>	bras long du chr 11	crête urogénitale puis cellules de Sertoli ou cellules de la granulosa, mésonéphros et rein en développement	dès le 9ème jpc et reste exprimé toute la vie dans les gonades	différentes isoformes protéiques présentant une capacité de liaison à l'ADN (par des domaines en doigt de Zinc) jouant le rôle de facteur d'épissage ou de transcription	indispensable à la morphogénèse de la cête génitale et régulerait la transcription du gène SRY
<b>SOX9</b>	bras long du chr 17	crêtes génitales des deux sexes puis cellules de Sertoli	courte chez la femelle et plus longue chez le mâle	509 aa, un domaine de liaison à l'ADN	activation de l'expression du gène de l'AMH
<b>DAX1</b>	bras court du chr X	crêtes génitales et autres tissus	courte chez les mâles et plus longue chez les femelles	470 aa, possède une zone de liaison à l'ADN et une zone similaire aux sites de liaison des ligands des récepteurs nucléaires	inhibition de l'action de SF1
<b>SF1</b>	bras long du chr 9	ébauches des gonades des deux sexes et autres tissus	très précoce dans les deux sexes, se poursuit à l'âge adulte	récepteur nucléaire	active l'expression de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse
<b>AMH</b>	bras court du chr 19	cellules de Sertoli , cellules de la granulosa	commence lors de la différenciation testiculaire, est maximale lors de la régression des canaux de Müller et baisse à la puberté	homologie avec certains facteurs de croissance (TGF- $\beta$ )	provoque la régression des canaux de Müller et inhibe l'aromatase

**Tableau 3** : Autres anomalies chromosomiques causant l'infertilité d'origine sécrétoire. [T.Diemer, C.Desjardins, 1999].

<b>Translocations entre les autosomes</b>
t (1;9) (q32.1; q34.3)
t (1;16) (q22; p 12)
t (1;16) (q23; p13)
t (1;18) (p31.2; q23)
t (1;19) (p13; q13), 1qh+
t (2;4) (q23; q27)
t (2;8) (q23; p21)
t (2;22) (q33; q22)
t (3;4) (p25; q21.3)
t (3;5) (q29; q14) (p12; q34)
t (3;14) (q27; q11)
t (3;20) (q11; p13)
t (4;6) (q26; q27)
t (4; 13) (q11; q12.3)
t (5; 8) (q22; q24.1)
t (9;12) (q22; q22)
t (9;13) (q22; q32)
t (9;15) (q22; q15)
t (9;17) (q11.3; q11.3)
t (9;17) (q11; q11)
t (9;20) (q34; q11)
t (10; 14)
t (11;15) (q25-qter; pter)
t (13;14)
t (14;21) (q13; p13)
t (14;22) (p11; q11.1)
t (17;21) (p13; q11)
t (19;22) (p13.1; q11.1)
<b>Translocations entre les autosomes et les chromosomes sexuels</b>
t (13q;15q)/46, XY
t (Y;1) (q12; p34.3)
t (Y;3) (q12; p21)
t (Y;11) (q11.2; q24)
<b>Translocations entre les chromosomes sexuels</b>
t (X;Y)
t (X;Y) (p22.3; q11)
<b>Y dicentrique</b>

**Tableau 4 :** Valeurs de référence du spermogramme définies par l’OMS.  
 [Geneviève GRIZARD, Clément JIMENEZ. 1997].

<b>Paramètres spermatiques</b>	<b>Valeurs normales</b>	<b>Pathologie</b>
<b>Volume de l'éjaculat</b>	2 à 6 mL	Hypo ou hyperspermie
<b>pH</b>	>7.2	
<b>Leucocytes</b>	< 10 <sup>6</sup> / mL	Leucospermie
<b>Concentration en spermatozoïdes</b>	≥ 20 x 10 <sup>6</sup> /ml ou ≥ 40 x 10 <sup>6</sup> /éjaculat	Oligospermie Azoospermie si absence
<b>Mobilité normale à 1 heure</b>	≥ 50% et au moins 25% de mobilité	Asthénospermie
<b>% de formes mortes</b>	< 30 %	Nécrospermie
<b>% de formes anormales</b>	< 70 %	Tératospermie

**Tableau 5** : Valeurs de références des taux d'hormones gonadotropes chez l'homme. [Laboratoire d'hormonologie du CHUC].

<b>Paramètres</b>	<b>Normales</b>	<b>Résultats</b>
<b>FSH</b>	<b>1.0-12.4 mUI/ml</b>	
<b>LH</b>	<b>2-12 mUI/ml</b>	
<b>Testostérone</b>	<b>2.25-9.0 ng/ml</b>	

**Fiche de renseignement sur les infertilités masculines d'origine  
sécrétoire.**

<b>Numéro du dossier</b>	<b>Service</b>	<b>Médecin traitant</b>
--------------------------	----------------	-------------------------

**I- Etat civil du patient**

<b>Nom et prénom :</b>	<b>Adresse/Tel :</b>
<b>Profession :</b>	<b>Age :</b>

**II- Renseignements cliniques**

-.....  
-.....  
-.....

**III- Biologie**

**1- Les hormones**

FSH = , LH = , Testostérone = ,

**2- Spermogramme**

	Volume (ml)	NB de SPZ (millions/ml)	Vitalité (%)	Mobilité (%)	Morphologie (%)	Classification
1° Spermogramme						
2° SPG						

**3- Caryotype**

- Anomalie numérique :
- Anomalie structurale :

## ملخص باللغة العربية

يعتبر العقم أحد المشاكل الاجتماعية العامة التي يتعرض لها العديد من الأزواج في المجتمع الإنساني. تقريبا 13- 18 % من الأزواج يعانون من هذه المشاكل الاجتماعية. و حوالي نصف الحالات من العقم ترجع إما إلى الزوج أو الزوجة.

معظم هذه الحالات من العقم هي أمراض مجهولة السبب تعتمد على قاعدة خلوية وراثية أو جزيئية .

من بين التشوهات التي يمكن أن تتعرض لها الصبغيات عند بعض الحالات من العقم عند الرجال :

تشوهات في عدد الصبغيات خاصة تلك التي تتعرض لها الصبغيات الجنسية X و Y . إما تشوهات في البنية الصبغية التي تؤدي إلى عدم التوزيع الصحيح للصبغيات خلال عملية الانقسام الخلوي المنصف و بالتالي تدهور عمل الخلايا الجنسية . أو فقدان بعض جزيئات من الصبغي Y غير المرئية باستعمال الطابع النووي مسؤول عن ضياع بعض الجينات الخاصة بإنتاج الحيوانات المنوية خاصة العامل الوراثي AZF.

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تشوهات الصبغيات عند الرجال الذين يعانون من العقم دو الطبيعة الإفرافية. و قد تم التطرق إلى العلاقة بين التشوه الجيني و العوامل السريرية (الكليينكية).

هذه الدراسة تم انجازها من خلال عينة 14 رجل عقيم, من بينهم 12 يعانون من انعدام الحيوانات المنوية في السائل المنوي و رجلان لديهم نقص في عدد الحيوانات المنوية .

كما وجد أن 4 من بين 14 رجل لديهم تشوهات في عدد الصبغيات الجنسية . باقي الحالات لديهم طابع نووي عادي. كل هذه التشوهات في الصبغيات تؤدي إلى عجز في إنتاج الحيوانات المنوية.

كل هذه النتائج تعزز بشكل قوي تعليمات الأبحاث عن السبب الوراثي للعقم عند الرجال.

**الكلمات المفتاحية :** ذكر ,عقم, دراسة الوراثة الخلوية.

## **Abstract**

Infertility is a reproductive health problem that affects many couples in the human population. About 13 to 18 % of couple suffers from it and approximately one-half of all cases can be traced to either partner.

Many cases of idiopathic infertility have a genetic or molecular basis. The knowledge of the molecular genetics of male infertility is developing rapidly; new “spermatogenic genes” are being discovered.

Chromosomal abnormalities found in infertile patients are either gonosomal aneuploidies or structural anomalies, which interfere with the normal chromosome behavior at meiosis and lead to germ cell breakdown. Microdélétions of the Y chromosome are often undetectable at karyotype and are responsible for the loss of genes, which compose the AZF factor.

The main purpose of this study is to detect the type of chromosomal abnormalities in patients with severe male factor infertility. The association between the genetic abnormality and clinical parameters was also evaluated.

This study was carried out in 14 infertile men. Results of 14 patients, 12 had non obstructive azoospermia and 2 had severe oligospermia. Four of 14 patients had sex chromosomal abnormalities. The other cases have a normal karyotype.

Various chromosomal abnormalities can cause spermatogenic breakdown resulting in chromosomally derived infertility. All these findings strongly support the recommendation of genetic screening of infertile patients.

**Key Word :** Male, infertility, Cytogenetic study.



## Résumé :

L'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples dans la population humaine. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement la moitié de tous les cas peuvent être attribués à l'un ou à l'autre partenaire.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base cytogénétique ou moléculaire. Les connaissances acquises dans le domaine de la cytogénétique et de la biologie moléculaire de l'infertilité masculine se développent rapidement.

Les anomalies du caryotype retrouvées chez des patients infertiles sont, soit des aneuploïdies touchant principalement les gonosomes X et Y, soit des anomalies de structure entraînant des troubles de la répartition chromosomique à la méiose et le blocage des cellules germinales. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF.

Le but principal de cette étude est de détecter les anomalies chromosomiques chez des patients présentant une infertilité masculine non obstructive. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée.

Cette étude a été effectuée sur 14 hommes stériles. Parmi ces patients 12 ont une azoospermie et 2 présentent une oligospermie. 4 / 14 patients azoospermiques ont des anomalies des chromosomes sexuels. Les autres cas ont un caryotype normal.

Ces diverses anomalies chromosomiques peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine chromosomique. Tous ces résultats soutiennent fortement les recommandations du criblage génétique des patients stériles.

**Mots clés :** Mâle, infertilité, Étude Cytogénétique.

Année Universitaire : 2006/2007.

Présentée par : REZGOUNE- CHELLAT DJALILA

## Analyse cytogénétique des anomalies chromosomique des hommes infertiles.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister en Génétique des pathologies humaines.

### Résumé :

L'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples dans la population humaine. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement la moitié de tous les cas peuvent être attribués à l'un ou à l'autre partenaire.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base cytogénétique ou moléculaire. Les connaissances acquises dans le domaine de la cytogénétique et de la biologie moléculaire de l'infertilité masculine se développent rapidement.

Les anomalies du caryotype retrouvées chez des patients infertiles sont, soit des aneuploïdies touchant principalement les gonosomes X et Y, soit des anomalies de structure entraînant des troubles de la répartition chromosomique à la méiose et le blocage des cellules germinales. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF.

Le but principal de cette étude est de détecter les anomalies chromosomiques chez des patients présentant une infertilité masculine non obstructive. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée.

Cette étude a été effectuée sur 14 hommes stériles. Parmi ces patients 12 ont une azoospermie et 2 présentent une oligospermie. 4 / 14 patients azoospermiques ont des anomalies des chromosomes sexuels. Les autres cas ont un caryotype normal.

Ces diverses anomalies chromosomiques peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine chromosomique. Tous ces résultats soutiennent fortement les recommandations du criblage génétique des patients stériles.

**Mots clés :** Mâle, infertilité, Étude Cytogénétique.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de biologie génétique du CHUC.

**Les membres du jury :**

**Président :** BENLATRECHE C. : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**Rapporteur :** SATTA D. : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**Examineurs :**

**ABADI N. :** *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**NAIMI D. :** *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**ROUABAHL :** *Maitre de conférences de l'université de Mentouri, Constantine*

**Date de soutenance :** le / /2007.

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ DE MENTOURI CONSTANTINE**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie.**

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire pour l'obtention du  
diplôme de Magistère en  
Génétique des pathologies humaines

*Présenté par : Rezgoune née Chellat Djalila*

**THEME**

**Analyse cytogénétique des anomalies chromosomiques des hommes infertiles.**

Soutenu publiquement le ..../.... devant les membres du jury :

**Président :** BENLATRECHE C. : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**Rapporteur :** SATTI D. : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**Examineurs :**

**ABADI N. :** *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**NAIMI D. :** *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**ROUABAH L. :** *Maître de conférences de l'université de Mentouri, Constantine.*

*Année universitaire : 2006/2007.*

*Au Nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très  
Miséricordieux*

*Merci dieu tout puissant, qui m'a  
honoré d'être parmi ceux qui savent lire  
et écrire, et qui a guidé mes pas sur le  
chemin de la science.*

*Je l'implore de m'éclairer et de me  
guider sur le droit chemin ...*

# Remerciements

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Mme BELATRECHE et M. ABADI qui ont été les initiateurs de cette formation et m'ont accueillie au sein du laboratoire de recherche de biologie génétique, ils m'ont laissé toute latitude pour accomplir ce travail.*

*Je tiens également à remercier Mme BELATRECHE qui me fait l'honneur de présider mon jury de soutenance, et Mr ABADI qui a accepté d'évaluer ce manuscrit et faire partie de ce jury.*

*Je remercie mon encadreur de thèse, Mme SATTI.D qui m'a guidée tout au long de la réalisation de cette thèse avec ses conseils et ses directives qui m'ont énormément aidée dans l'orientation de mes objectifs et l'accomplissement de mes travaux,*

*Je souhaite remercier chaleureusement Docteur BENACHOUR et Docteur HANACHI de m'avoir prodigué leurs aides en cytogénétique.*

*Je remercie les Professeur, NAIMI.D, ROUABEH.L qui me font l'honneur d'être les membres de mon jury.*

*Je remercie spécialement Messaouda, Brifmat Ahmed, pour leurs aides et leurs conseils éclairés tout au long de ce travail.*

*J'adresse mes remerciements aux membres de laboratoire qui ont toujours été présents quand j'en avais besoin. Je pense particulièrement à Zbeida, Yasmina, Yamina et ; pour leur soutien indéfectible et gentillesse.*

*Et sans oublier les membres du service de cytogénétique et de biologie génétique du CHU de Constantine pour tous leurs encouragements incessants.*

*Enfin mes remerciements vont à toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidé par leur encouragement.*

# Dédicaces

*Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le plaisir de dédier ce travail de Magister à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donne des raisons de devenir meilleure :*

*À mes parents,*

*Mon père **Yousef**, qui a tout fait pour que je ne manque de rien et pour que je sois la meilleure dans mes études. Merci mon père pour le courage que tu m'as donné durant toutes ces années.*

*Ma mère **Fatiha**, qui m'a aidée à aller toujours de l'avant et n'a pas ménager ses forces pour me rendre la vie facile.*

*À mon mari **Mohamed Larbi**,*

*Merci pour ton amour, ta patience et encore ta patience ; sans toi cette thèse, n'aurait certainement jamais pu voir le jour. Tes encouragements et ta confiance en mes capacités m'ont beaucoup apporté.*

*À ma belle mère **Fatima**,*

*Cette femme qui mérite plus que des mots qui puissent se dire ou s'écrire, elle a fait de moi sa fille, merci et encore merci.*

*À mes frères et sœurs, Mon chère frère **Abdelkader**, merci pour ta présence réconfortante, merci pour tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*À **Zouleikha**, ma formidable sœur.*

*À **Zaki**, mon frère très sage, qui ne m'a jamais dit non pour quoi que ce soit.*

*À **Samsouma**, ma petite sœur bien aimée, qui malgré son âge sait comment me remonter le moral.*

*À mon encadreur M<sup>me</sup> **SATTA** à qui je la dédie ce travail avant de la remercier pour m'avoir guidé à le faire, et qui a cru et s'est battue pour moi, et pour tous ces magisters.*

*À mes tantes et mes oncles.*

*À toute ma famille, et ma belle famille.*

*Spécial dédicace à mes chères amies : **Chahinez et Amina***

*À mes chers (es) camarades de promo : **Zeineb, Wissem, Amel, Nadira, Hanene, Moufida, Abba, Sabrina, Fethi et Adem**. L'ambiance joyeuse qui m'a entouré tout au long de la post-graduation a été d'une importance majeure pour surmonter les moments difficiles.*

*Spécial dédicace à **RAZIKA, SANA, ASMA, HADIA**.*

*À tous mes amis et à tous ceux que j'aime.*

# Liste des abréviations

ABP : Androgen Binding Protein.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

ADNc : ADN complémentaire.

AMH : Anti Müllerien Hormone.

AMP : Assistance Médicale à la Procréation.

AMPc : Adénosine Mono Phosphate cyclique.

ARN : Acide Ribo Nucléique.

ARNm : ARN messenger.

BPY : Basic Protein, Y chromosome.

CBAVD : Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens.

CBP : Chronic Bacterial Prostatitis.

CDY : Chromo Domain protein, Y chromosome.

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator gene.

CGH : Comparative Genome Hybridization.

DAX-1 : Dosage-sensitive sex reversal, Adrenal hyperplasia congenital, critical region on the X chromosome, gene 1.

DAZ : Deleted in AZoospermia.

DBY : DEAD Box, Y chromosome.

DFFY : Drosophila Fat Facet, Y-linked.

DHEA : DeHydroEpiAndrostérone.

DSS: Dosage Sensitive Sex-reversal.

EGF: Epithelial Growth Factor.

EIF1AY : Eucaryotic translation Initiation Factor 1A, Y chromosome.

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization.

FSH: Follicle Stimulating Hormone.  
GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone.  
hCG : human Chorionic Gonadotropin.  
HCS : Hypoplasie Congénitale Surrénalienne.  
HESX1 : Homeo box gene Expressed in ES cells.  
HIV : Human Immunodeficiency Virus.  
HLA : Human Leucocyte Antigen.  
HMG : High Mobility Group.  
HSD : Hydroxy Stéroïde Déshydrogénase.  
ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection.  
IGF1 : Insulin Growth Factor-1.  
IL-1 : Interleukines-1.  
IL-6 : Interleukines-6.  
INSL3 : Leydig Insulin Like Factor 3.  
ICSI : Intra Cytoplasm Sperm Injection.  
IPS : Inositol-Triphosphate.  
Kb : Kilo bases.  
LH : Luteinizing Hormone.  
LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone.  
Mb : Méga base.  
NGF : Nerve Growth Factor.  
OAT : Oligo Astheno Teratozoospermia.  
ORF : Open Reading Frame.  
PCR : Polymerase Chain Reaction.  
Pd : Prostatodynia.  
PGCs : Primordial Germ Cells:  
PRY : PTP-BL related, Y chromosome.  
RBMV : RNA Binding protein.



REL : Reticulum Endoplasmique Lisse.

RRM : RNA Recognition Motif.

SCA : Sperm Coating Antigen.

SCOS : Sertoli Cell-Only Syndrome.

SF1: Steroidogenic Factor 1.

SMCY: Selected Mouse cDNA, Y chromosome.

SOX 9: SRY-type HMG-box gene 9.

SRY: Sex-determining Region Y-chromosome.

TDF: Testis Determining Factor.

TESE: TEsticular Sperm Extraction.

TGF b: Tumor Growth Factor b.

TSH: Thyroid Stimulating Hormone.

UTY: Ubiquitously Transcribed tetratricopeptide repeat, Y chromosome.

WT1: Wilms' Tumor 1.

XKRY: XK-Related protein, Y chromosome.

# Sommaire

**Remerciement**

**Dédicaces**

**Liste des abréviations**

**Sommaire**

**Introduction.....1**

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**I- Anatomie et physiologie de l'appareil génital mâle.....3**

1- Les testicules .....3

1-1 Structure histologique de testicule.....4

1-2 Tubes séminifères.....4

1-3 Physiologie du testicule.....10

1-4 Interaction cellulaires au niveau du testicule.....11

2- Voies excrétrices.....11

2-1 Voies spermatiques intra-testiculaires.....11

2-2 Canaux ou cônes efférents.....12

2-3 Le canal épидидymaire.....12

2-4 Le canal déférent.....12

3- Urètre.....13

4- Pénis.....13

5- Glandes annexes.....	13
5-1 Vésicules séminales.....	13
5-2 Prostate.....	14
5-3 Glandes de Cowper.....	14
<b>II- Spermatogenèse.....</b>	<b>15</b>
1- Ontogenèse de la spermatogenèse.....	15
1-1 Origine des cellules germinales.....	15
1-2 Évolution des cellules germinales.....	16
2- Les phases de la spermatogenèse.....	17
2-1 Phase de multiplication.....	17
2-2 Phase d'accroissement.....	17
2-3 La méiose.....	17
2-4 La spermiogenèse.....	18
3- Déterminisme génétique des gonades.....	20
3-1 Les gènes de la détermination gonadique.....	20
3-2 Les Gènes de la spermatogenèse.....	22
<b>III- Classification étiologique de l'infertilité masculine.....</b>	<b>26</b>
1- Classification selon le nombre de spermatozoïdes .....	26
1-1 L'azoospermie.....	26
1-2 L'oligospermie.....	27
2- Classification en fonction du lieu de l'atteinte et du mécanisme physiopathologique.....	27

2-1 Atteinte pré-testiculaire.....	27
2-2 Atteinte testiculaire.....	34
2-3 Atteint post-testiculaire.....	40

## **PARTIE PRATIQUE**

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

<b>I- Patients.....</b>	<b>43</b>
1- Critères d'inclusions/exclusions.....	43
<b>II- Matériels et réactifs.....</b>	<b>44</b>
1- Matériel.....	44
2- Réactifs.....	44
2-1 Réactifs pour analyse hormonale.....	45
2-2 Réactifs pour culture cellulaire et caryotype.....	45
<b>III-Méthodologie.....</b>	<b>46</b>
1- Analyse hormonale.....	46
1-1 Prélèvement.....	46
1-2 Préparation des réactifs.....	46
1-3 Principe.....	46
2- Analyse cytogénétique.....	47
2-1 Prélèvement.....	47
2-2 Mise en culture.....	48

2-3 Caryotype standard : arrêt des mitoses, fixation, étalement et observation .....	48
2-4 R-banding.....	52

## **RÉSULTATS**

I- Choix des cas.....	54
II- Présentation des cas.....	55
1- Aspects cliniques et biologiques.....	55
2- Aspect cytogénétique.....	57
2-1 Cultures cellulaires et caryotype standard.....	57
2-2 Interprétation des caryotypes.....	57
2-3 Présentation des caryotypes.....	60

## **DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

<b>Discussion générale.....</b>	<b>78</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>84</b>

## **BIBLIOGRAPHIE**

### **ANNEXE**

**Résumé en arabe**

**Résumé en français**

**Résumé en anglais**

### Introduction

La reproduction humaine repose sur l'union sexuelle d'une femme et d'un homme. Pourtant, lorsqu'on examine les recherches sur la fécondité, les travaux scientifiques se sont intéressés essentiellement aux femmes, excluant les hommes dans leurs études. Des recherches ont néanmoins été menées sur la fertilité masculine, elles soulèvent la question de l'implication des hommes dans la fertilité humaine.

Le contrôle de cette fonction de reproduction est étonnamment semblables chez les deux sexes à quelques détails près : cellules gonadiques voisines dans leur fonctionnement et leur intrication, cellules hypophysaires gonadotropes particulières par leur sécrétion de deux hormones identiques dans les deux sexes : FSH (Follicle Stimulating Hormone) et LH (Luteinizing Hormone), contrôle hypothalamique par la gonadolibérine GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone).

Lorsqu'un couple reste sans enfant après deux ans de rapports sexuels réguliers et non protégés on parle de stérilité. Le mot stérilité ou infertilité, demande toutefois à être précisé par rapport à d'autres notions :

- **La fécondité** d'un sujet ou d'un couple est prouvée par le fait qu'il y a eu une grossesse antérieure, quelle qu'en ait été l'issue.
- **La fécondabilité** d'un couple se définit comme étant la probabilité de concevoir au cours d'un cycle menstruel normal.
- **La fertilité** est la capacité de débiter une grossesse et l'infertilité est l'incapacité de concevoir. Si cette incapacité est définitive, on parle alors de stérilité.

On distingue l'infertilité primaire lorsqu'il n'y a jamais eu de grossesse à terme et secondaire s'il y a eu grossesse quelque en soit l'issue, et elle est primo-secondaire : fausse couche préalable.

Globalement, la cause de stérilité est :

- D'origine féminine dans 30 % des cas,
- D'origine masculine dans 20 % des cas,
- D'origine mixte dans 40 % des cas.
- La stérilité reste inexplicée ou idiopathique dans 10 % des cas. [1].

Les causes de l'infertilité masculine sont multiples (tableau -1- ) génétiques (directe ou indirectes) ou non génétiques. Les anomalies génétiques peuvent engendrer d'une part des anomalies anatomo-fonctionnelles à l'origine d'azoospermies obstructives ou excrétoires, D'autre part, les anomalies génétiques et en particulier les altérations du chromosome Y peuvent être responsables de déficits primaires dans la production des spermatozoïdes (azoospermies sécrétoires).

Notre étude porte sur une population de patients présentant un tableau clinique d'infertilité d'origine sécrétoire (non obstructive) liées aux anomalies chromosomiques.

Les paramètres indicateurs étant :

- Oligospermies ou azoospermie sécrétoire associées ou non à un hypogonadisme.

Dans un premier temps, nous étudions ces infertilités et en particulier :

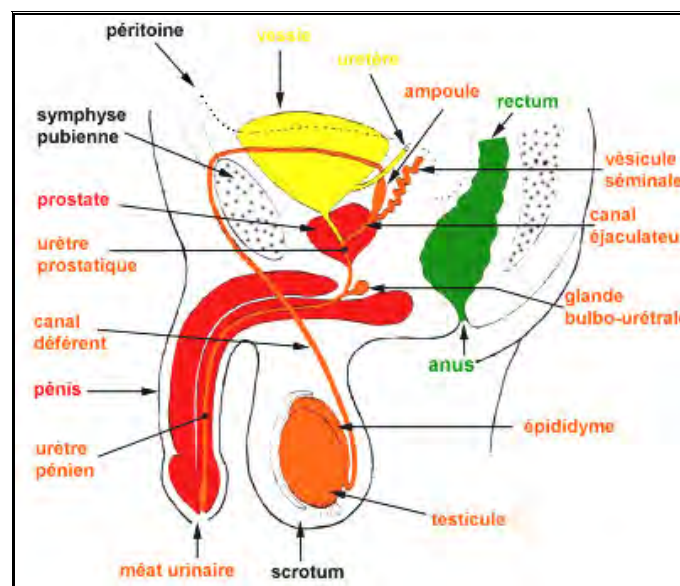
- 1- Le syndrome de Klinefelter et ses variantes.
- 2- La DGM ou Dysgénésie Gonadique Mixte.
- 3- Le syndrome du mâle XYY.

Le recrutement des malades s'est fait au niveau du CHU, notre étude a été réalisée par les méthodes d'explorations cytogénétiques standards et R-banding qui sont les tests d'évaluation et de confirmation de l'affection.

## I- Anatomie et physiologie de l'appareil génital mâle

L'appareil génital masculin est l'organe de la reproduction. Il comprend :

- Les deux testicules.
- Le tractus génital formé des voies spermatiques intra testiculaires (tubes droits et rete testis) et des voies spermatiques extra testiculaires (canaux ou cônes efférents, épидидyme, canal déférent, canal éjaculateur).
- Les glandes annexes comprenant les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo urétrales. Ces glandes exocrines sécrètent le liquide de transport et de nutrition des spermatozoïdes constituant avec ces derniers le sperme.
- Le tractus urogénital, représenté par l'urètre (prostatique, périnéal et pénien), s'ouvrant à l'extérieur par le méat urinaire, et le pénis. (Figure -1- ). [2].



**Figure1 : L'appareil génital masculin. [Nicole VACHERET, 1999].**

### 1- Les Testicules

Les testicules sont deux organes pairs ovoïdes de 5 cm de long sur 3 cm de large et 2,5 cm d'épaisseur ; chaque testicule est logé dans une poche revêtue de peau appelée scrotum ; Le testicule, coiffé par l'épидидyme, est suspendu dans le sac scrotal par le cordon spermatique qui contient le canal déférent, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et des fibres nerveuses ; il est fixé à la base du scrotum par le ligament scrotal. [2].



### 1-1 Structure histologique du testicule

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive, fibreuse, épaisse et résistante : l'albuginée. Cette capsule s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires ; Chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères ou séminipares très longs qui débouchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le rete testis [2]. Les testicules sont nourris par les artères spermatiques internes. [3]. (Figure -2- ).

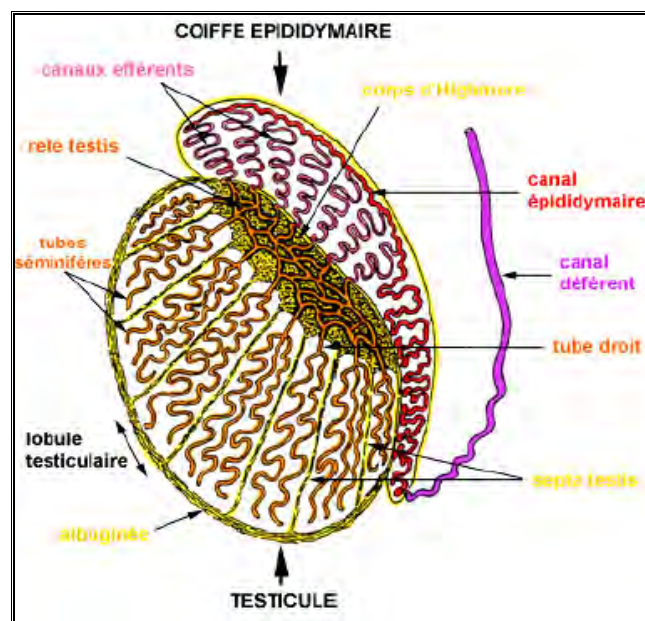


Figure 2 : Structure histologique du testicule. [Nicole VACHERET, 1999].

### 1-2 Tubes séminifères

Les tubes séminifères représentent le compartiment tubulaire assurant la fonction exocrine du testicule. Ces tubes, de 30 cm à 1 mètre de long et d'un diamètre de 200 microns, ont une paroi épaisse, constituée de 4 à 8 couches de cellules germinales. D'autre part, la paroi contient des cellules à la structure et aux fonctions complexes : les cellules de Sertoli. Les espaces entre les tubes séminifères sont occupés par le tissu interstitiel. Les tubes séminifères sont séparés du tissu interstitiel par une gaine essentiellement conjonctive, la gaine péri tubulaire. Son épaisseur s'accroît avec l'âge ou en cas d'infertilité. [3]. (Figure -3- ).



**Figure 3 : Structure histologique des tubes séminifères. [Nicole VACHERET 1999].  
(grossissement X 40).**

La membrana propria (MP), des spermatogonies sombres Ad (sgD) et des spermatogonies B (sgB), des spermatocytes I (sC), des spermatides (sD), des spermatozoïdes (sZ) avec leurs flagelles confluant dans la lumière du tube (LU), les résidus cytoplasmiques de la spermiogenèse (rc).

### 1-2-1 Les cellules de Sertoli

#### ✚ Structure et fonctions

Cellules pyramidales et allongées s'intercalant entre les cellules germinales. Ce sont des éléments dont la hauteur est équivalente à celle de l'épaisseur de la paroi des tubes séminifères. [3]. Elles traversent toute la paroi ; elles ont des contours irréguliers avec des expansions et des encoches (aspect de chandelier) dans lesquelles se logent les cellules germinales ; Leur base repose sur la membrane basale de la gaine périvitubulaire et leur sommet atteint la lumière des tubes. Le noyau basal présente des contours réguliers. Sa chromatine est dispersée et il contient un volumineux nucléole. Dans le cytoplasme on observe du réticulum endoplasmique lisse et rugueux, un appareil de Golgi bien développé, de nombreux lysosomes et des gouttelettes lipidiques. (Figure -4- ). [3].

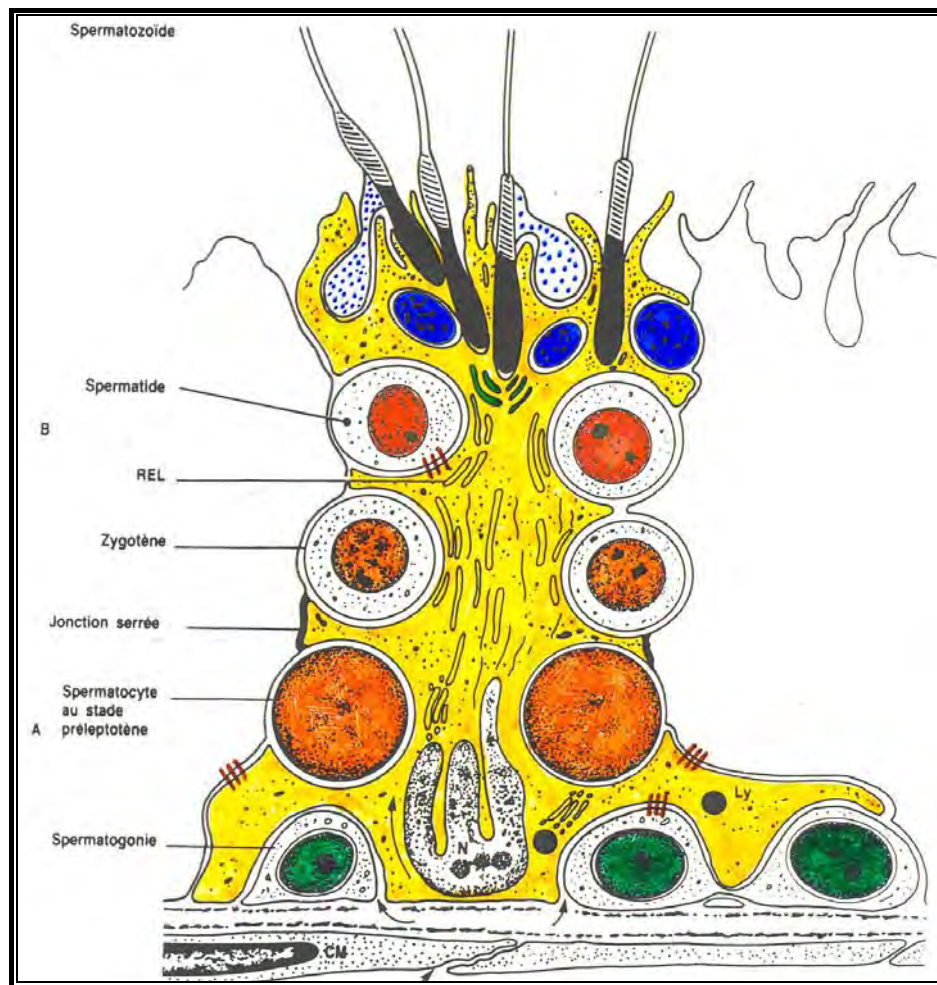


Figure 4 : Structure des cellules de Sertoli. [Jean Pierre Siffroi, 2001].

Les cellules de Sertoli exercent de nombreuses fonctions :

- \* **Rôle chez le fœtus mâle** : les cellules de Sertoli y'produisent le facteur antimüllérien, hormone qui provoque la régression des canaux de Müller.
- \* **Rôle de barrière hémato testiculaire** : durant la vie embryonnaire, le thymus effectue une large part de reconnaissance du soi. A ce moment, le fœtus mâle contient déjà des spermatogonies donc au niveau thymique une tolérance centrale vis-à-vis de ces cellules peut s'établir. Par contre les spermatocytes, spermatides et spermatozoïdes qui apparaissent à la puberté possèdent de nouveaux antigènes qui seront reconnus comme étrangers par les cellules lymphoïdes si elles y ont accès. D'où l'importance de la barrière constituée par les complexes jonctionnels. Du côté basal de celle-ci se trouvent uniquement des spermatogonies

dont des molécules peuvent se détacher et passer via les liquides interstitiels vers les tissus lymphoïdes sans risque de stimuler ceux-ci et de provoquer une formation d'auto-anticorps. Du côté adluminal, les antigènes libérés par les autres cellules germinales ne peuvent franchir les complexes étanches.

\* **Rôle dans la spermiation** : par libération des spermatozoïdes dans la lumière.

\* **Rôle dans les divisions et les différenciations des cellules germinales** : elles créent un microenvironnement indispensable aux divisions et aux différenciations des cellules germinales. D'une part, les éléments nutritifs provenant de l'interstitium, doivent traverser les cellules de Sertoli et être excrétés dans les espaces intercellulaires. D'autre part, les cellules de Sertoli synthétisent des cytokines et une protéine ABP (Androgen Binding Protein) qui se fixe à la testostérone provenant du tissu interstitiel et la concentre au contact des cellules germinales. Cette synthèse est contrôlée par la FSH qui se fixe sur des récepteurs de la cellule de Sertoli et stimule l'AMPc (Adénosine Mono Phosphate cyclique). Les mêmes cellules synthétisent aussi l'inhibine qui exerce un rétrocontrôle en ralentissant la production de la FSH et en inhibant les divisions des spermatogonies.

\* **Rôle dans la stéroïdogénèse** :

- Synthèse de la testostérone à partir de l'androsténone ;
- Transformation de testostérone en dihydrotestostérone.

\* **Rôle dans la phagocytose des corps résiduels** : les cellules de Sertoli phagocytent à leur pôle apical les fragments de cytoplasme perdus par les spermatozoïdes ou corps résiduels au cours de leur maturation. Il en est de même pour d'autres cellules germinales qui meurent sur place. Ces éléments sont digérés par les enzymes des lysosomes. [3].

### 1-2-2 Les cellules germinales

Elles s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère. Les spermatogonies (**Sp**), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (**SP I**), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (**SP II**), les spermatides et les spermatozoïdes.

**Les spermatogonies** sont de petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 microns de diamètre, plaquées contre la membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies

selon l'aspect de leur noyau :

- Les spermatogonies à chromatine fine et sombre **Ad (dark)**, qui sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense.
- Les spermatogonies à chromatine claire **Ap (poussiéreuses ou pâles)**, cellules de renouvellement dont les cellules filles sont des spermatogonies B à noyau ovalaire clair.
- Les spermatogonies **B** à chromatine mottée et au nucléole bien visible **Sp B**.

Les spermatogonies A gardent les caractères morphologiques des éléments dont elles sont issues. Elles ne se différencient pas et maintiennent la réserve de cellules souches à un nombre assez élevé durant toute la vie sexuelle. Par contre les spermatogonies B sont plus volumineuses et métaboliquement plus actives que les spermatogonies A.

**Les spermatocytes :** elles sont issues de la division mitotique des spermatogonies B.

- **Les spermatocytes I** sont des cellules arrondies volumineuses au noyau souvent en méiose, particulièrement au stade très long de la prophase méiotique.
- **Les spermatocytes II** sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car d'existence fugace.

**Les spermatides :** ce sont des cellules de petite taille, de 6 à 7 microns de diamètre, très nombreuses et situées en position interne ; ovoïde à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde. Ce processus est appelé spermiogenèse. (Figure -3- ).

**Les Spermatozoïdes** sont des cellules allongées, de 60 microns de longueur, présentant une tête conique aplatie sombre, de 4 à 5 microns de long sur 1,5 à 3 microns de large, contenant le noyau, et une queue, ou flagelle, séparée de la tête par le col, et comprenant :

- La pièce intermédiaire (4 à 5 microns),
- La pièce principale (45 microns),
- La pièce terminale (1 à 2 microns). [2,3]. (Figure -5- ).



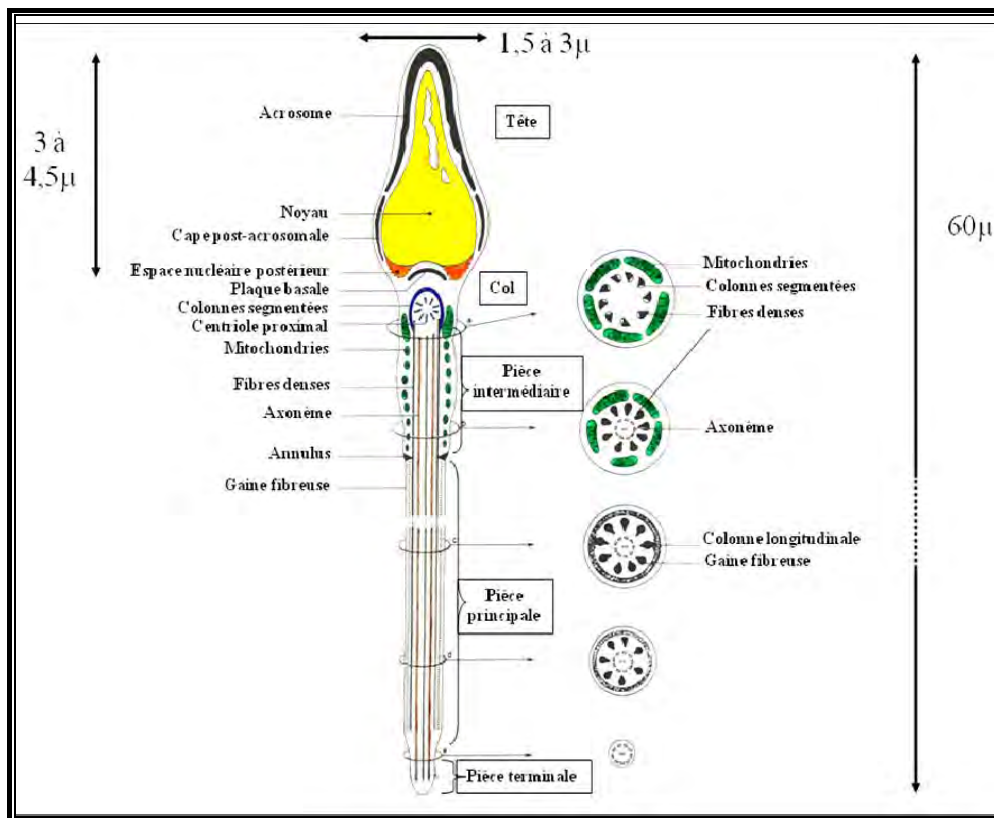


Figure 5 : Structure d'un spermatozoïde. [Jean Pierre Siffroi, 2001].

### 1-2-3 Tissu interstitiel

Les espaces compris entre les tubes séminifères représentent le tissu interstitiel. C'est un tissu conjonctif assez lâche contenant des nerfs, des vaisseaux sanguins, un riche réseau lymphatique. A la puberté s'y développent des cellules de Leydig. Ces dernières, qui ont une fonction de glandes endocrines, proviennent du mésenchyme. Elles ne se rassemblent pas pour former une véritable glande au sens anatomique du terme mais sont dispersées dans l'interstitium.

#### Les cellules de Leydig

Cellules polyédriques de 15 à 20 µm de diamètre isolées ou groupées en amas autour des capillaires sanguins et lymphatiques.

Responsables de la production de testostérone, les cellules de Leydig ont dès lors l'ultrastructure caractéristique des cellules synthétisant des stéroïdes : nombreuses gouttelettes intracytoplasmiques de cholestérol, réticulum endoplasmique lisse abondant, mitochondries à crêtes tubulaires. Noyau rond, excentré avec un volumineux nucléole. Elles contiennent des

inclusions protéiques et des lipofuscines, qui augmentent avec l'âge. Avec le vieillissement on assiste à une accumulation intracytoplasmique de cristaux dits de Reinke. Leur développement et leurs activités de synthèse sont provoqués par la LH, via l'AMPc. [3]. (figure-6- ).



**Figure 6 : Le tissu interstitiel. [Jean Pierre Siffroi, 2001].  
(grossissement X 40).**

### 1-3 Physiologie du testicule

Le fonctionnement normal des testicules nécessite une température relativement basse, plus basse que celle qui règne à l'intérieur du corps. C'est pour cette raison que les testicules sont situés "à l'extérieur" du corps humain. C'est à la puberté que le rôle du testicule apparaît.

Les testicules ou glandes sexuelles présentent principalement deux fonctions :

- \* **Une fonction exocrine** : production de spermatozoïdes, assurée par les tubes séminifères.
- \* **Une fonction endocrine** : sécrétion d'androgènes (stéroïdes), en particulier la testostérone.

La régulation des fonctions testiculaires est assurée essentiellement par les hormones gonadotropes hypophysaires, FSH et LH, elles-mêmes contrôlées par l'hypothalamus grâce au GnRH. Elle est libérée de l'hypothalamus toutes les 70 à 90 minutes, et stimule le dégagement des gonadotrophines. La demi-vie de GnRH est de 2 à 5 minutes. Son dégagement journalier est dû à la mélatonine de la glande pinéale. Le dégagement de GnRH est empêché par les signaux de retour négatifs du testicule, spécifiquement la testostérone et l'inhibine.

La glande pituitaire, qui se trouve sur une tige sous l'hypothalamus, contient les cellules gonadotrophiques qui produisent la FSH et la LH. Ce sont des glycopeptides avec un poids

moléculaire de 10.000 daltons. Ils se composent d'une chaîne alpha qui est identique à celle de l'hCG (humain Chorionic Gonadotropin) et de l'hormone TSH (Thyroid Stimulating Hormone) et d'une chaîne bêta qui est unique pour chacun. [2, 3,4].

### **1-4 Interactions cellulaires au niveau du testicule**

#### **1-4-1 Cellules de Sertoli – Cellules germinales**

- Les cellules de Sertoli libèrent des médiateurs responsables de la régulation des cellules germinales.
- Les spermatides secrètent des facteurs de croissance EGF (Epithelial Growth Factor), NGF (Nerve Growth Factor) qui régulent le fonctionnement des cellules de Sertoli.
- Corps résiduels des spermatides matures assurent la stimulation des cellules de Sertoli qui libèrent des interleukines (IL-1, IL-6).

#### **1-4- 2 Cellules de Sertoli – Cellules de Leydig**

- La production de testostérone par les cellules de Leydig est modulée par des facteurs libérés par les cellules de Sertoli (IGF 1 ou Insulin Growth Factor-1 stimule la stéroïdogénèse ; TGF b ou Tumor Growth Factor b l'inhibe).
- L'élaboration de facteurs paracrines par les cellules de Leydig provoquent la sécrétion d'ABP et d'inhibine par les cellules de Sertoli. [3].

## **2- Voies excrétrices**

### **2-1 Voies spermatiques intra-testiculaires**

Elles comprennent :

**2-1-1 Tubes droits** : Courts segments de 25 µm de diamètre faisant suite aux tubes séminifères. Un tube droit reçoit 5 à 6 tubes séminifères. Les tubes droits assurent la jonction entre les tubes séminifères et le rete testis.

**2-1-2 Rete testis** : Encore appelé réseau de Haller : cavités communicantes entre elles tapissées par un épithélium cubique bas dont le pôle apical présente des microvillosités. [3].



### 2-2 Canaux ou cônes efférents

Les canaux efférents comportent une petite portion intra testiculaire et une autre extra testiculaire. Ils sont de 10 à 12 canaux, de 20 cm de long sur 0,2 mm de diamètre, assurant le transport des spermatozoïdes du rete testis à la tête de l'épididyme ; pour ce faire, ils traversent l'albuginée, s'enroulent en spirale dont les tours de plus en plus larges dessinent un cône à tête testiculaire et à base épидидymaire ; Ces cônes sont séparés les uns des autres par un tissu conjonctif lâche bien vascularisé. [2,3].

### 2-3 Le canal épидидymaire

Il est contenu dans l'épididyme, organe encapsulé de 5 cm de long sur 1 cm de large, en forme de virgule, accolé à la face postérieure du testicule ; l'épididyme comprend une tête dans laquelle pénètrent les cônes efférents, un corps et une queue d'où émerge le canal déférent ; il contient la totalité du canal épидидymaire très pelotonné, soit environ 5 mètres (sur 0,5 mm de diamètre) ; [2].

L'épididyme possède deux fonctions principales :

\* **Une fonction de transport des spermatozoïdes** : la durée du trajet des spermatozoïdes le long de l'épididyme est de 3 jours.

\* **Une fonction de maturation de spermatozoïdes** : grâce à la synthèse de nombreux produits (carnitine, glucosidase) responsables d'une modification moléculaire de la membrane plasmique des spermatozoïdes (propriétés de fécondance ; capacité de mobilité unidirectionnelle ; aptitude à se fixer sur la membrane pellucide). [2, 3].

### 2-4 Le canal déférent

Tube à trajet vertical, de 45 cm de long pour 2 à 3 mm de diamètre faisant suite à l'épididyme. Le canal déférent se termine par une région dilatée, l'ampoule déférentielle (stockage des spermatozoïdes), bordée par un épithélium prismatique simple au niveau de laquelle s'abouche les vésicules séminales Il se poursuit par le court canal éjaculateur qui rejoint l'urètre prostatique. Le canal déférent joue un rôle primordial au moment de l'éjaculation. (Figure -1- ). [2,3].

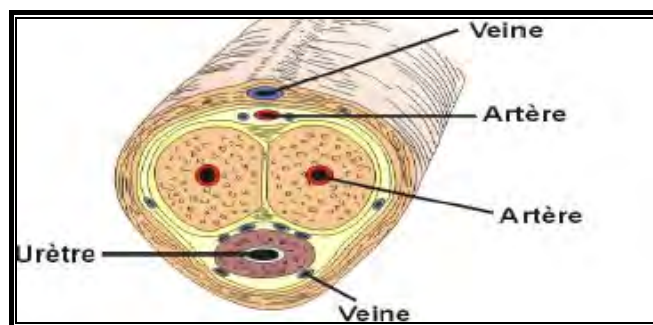
### 3- Urètre

L'urètre prend naissance à la partie inférieure de la vessie et s'ouvre à l'extrémité du pénis par le méat urogénital ; il mesure entre 20 et 25 cm et comprend trois segments : l'urètre prostatique, l'urètre membraneux appelé aussi urètre périnéal, et l'urètre spongieux ou urètre pénien. L'urètre assure l'évacuation de l'urine lors de la miction et véhicule le sperme lors de l'éjaculation. [2].

### 4- Le pénis

Le pénis est constitué de trois organes érectiles :

- Le corps spongieux, médian, entoure l'urètre.
- Les corps caverneux : demi-cylindres séparés par une cloison conjonctive
- Les corps spongieux et caverneux sont entourés par une albuginée riche en cellules musculaires lisses. (Figure -7- ).



**Figure 7 : Constitution du pénis. [Gilles Bourbonnais, 2003].**

### 5- Glandes annexes

#### 5-1 Vésicules séminales

Organes pairs, en forme de sac. Elles élaborent une grande partie du plasma séminal qui constitue le volume principal de l'éjaculat. Il renferme :

- De l'eau et des électrolytes.
- Des sucres comme le fructose pour la nutrition des spermatozoïdes.
- Des protéines comme la lactoferrine qui rentre dans la composition du SCA (Sperm Coating Antigen) et empêchent l'agglutination des spermatozoïdes.
- Des prostaglandines.

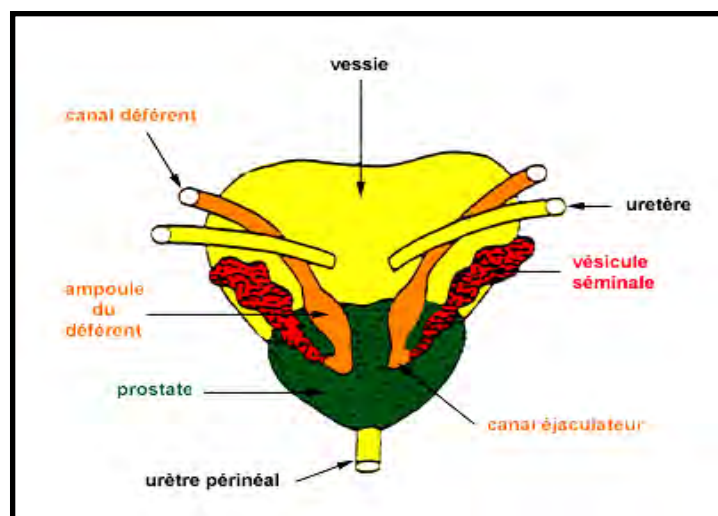
### 5-2 Prostate

Glande exocrine unique d'une vingtaine de grammes. Elle est constituée par une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires ramifiées dont les canaux excréteurs s'abouchent dans l'urètre prostatique. Ces glandes sont disposées en 3 groupes concentriques : glandes de la muqueuse, glandes de la sous-muqueuse, glandes principales. Elle est responsable des sécrétions qui entrent dans la composition du plasma séminal et des sécrétions andrénodépendantes de nature variée (acide citrique, zinc, enzymes protéolytiques, phosphatases acides,...). [3].

### 5-3 Glandes de Cowper

Glandes tubulo-alvéolaires, de la taille d'un petit pois, d'aspect lobulé s'abouchant dans l'urètre membraneux. La sécrétion de cette glande est de type mucoïde responsable :

- De la lubrification de l'urètre avant l'éjaculation ;
- De la protection des spermatozoïdes contre l'urine acide. (Figure -8- ). [2,3].



**Figure 8 : Les glandes Annexes [Nicole VACHERET, 1999].**

## II- La spermatogenèse

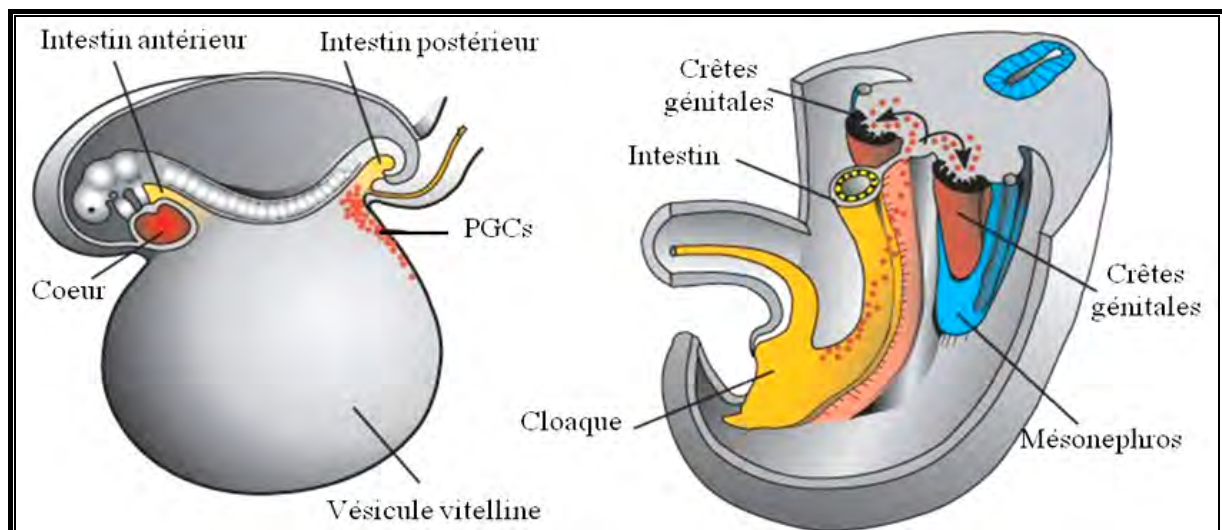
La spermatogenèse est l'ensemble des phénomènes qui aboutissent à la formation des spermatozoïdes [3] ; elle est déclenchée à la puberté par les hormones hypophysaires sous l'influence de l'hypothalamus, atteint son maximum vers 20 à 30 ans, ralentit progressivement vers la quarantaine mais peut se poursuivre jusqu'à un âge avancé. Elle a lieu dans les tubes séminifères des testicules pubères. La spermatogenèse est un processus lent et continu demandant 74 jours environ chez l'homme. Elle est permanente et non cyclique comme l'ovogenèse. [2].

C'est un processus de prolifération contrôlée dans le temps et dans l'espace dont les gènes de régulation sont encore mal connus. [6].

### 1-Ontogenèse de la spermatogenèse

#### 1-1 Origine des cellules germinales

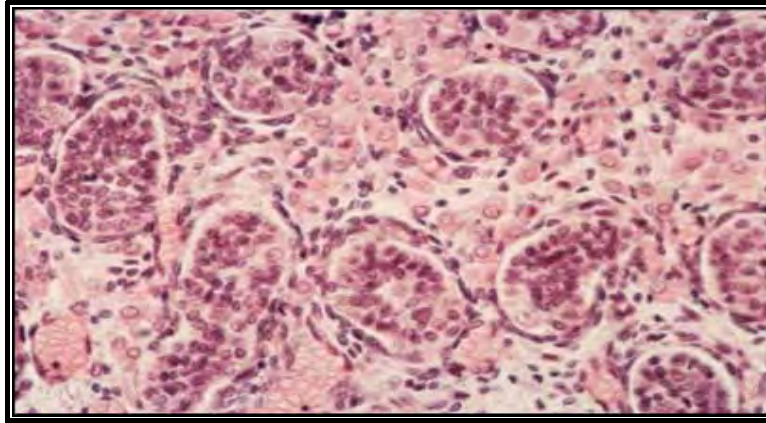
Dans les deux sexes, elles apparaissent dans la paroi postérieure de la vésicule vitelline et migrent vers la région du mésonephros (rein intermédiaire) pour former les crêtes génitales : future gonade primitive indifférenciée. (Figure -9- ). [7,8, 9].



**Figure 9 : Origine des cellules germinales [Jean Pierre Siffroi, 2001].**

### 1-2 Évolution des cellules germinales

Dans le sexe mâle, la différenciation de la gonade primitive en testicule aboutit à la formation de cordons séminifères, c'est à dire de cordons épithéliaux composés de cellules germinales (les spermatogonies, qui subissent une période de multiplication puis vont bloquer leur maturation au stade de futures cellules souches de la spermatogenèse) et de cellules somatiques ou cellules de Sertoli. [7, 8,9]. (Figure -10- ).



**Figure 10 : Évolution des cellules germinales. [Jean Pierre Siffroi, 2001].  
(grossissement X 40).**

Cette détermination des gonades indifférenciées en testicule implique une cascade de gènes évoluant au sein des gonades. Les gènes WT1 (Wilms Tumor 1) et SF1 (Steroidogenic Factor) agissent précocement. Ils sont nécessaires à la transformation du mésoderme intermédiaire en crêtes urogénitales et en gonades indifférenciées. En aval de ces gènes, SRY (Sex-determining Region Y-chromosome) et SOX9 (SRY-type HMG-box gene 9) permettent la différenciation des cellules de Sertoli dans les gonades à caryotype (46, XY). En plus de son rôle précoce, SF1 participe à la détermination testiculaire en régulant l'expression de l'AMH (Anti Müllerien Hormone) dans les cellules de Sertoli et stimule la production de testostérone dans les cellules de Leydig. [10].

Sous l'influence de la testostérone, les canaux de Wolff se différencient en épидидymes, canaux déférents et éjaculateurs. Ils sont reliés aux testicules par les canaux efférents apparus à partir des tubes néphrotiques. Dans leur développement, le gène CFTR (CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Receptor : gène de la mucoviscidose) pourrait avoir également un rôle important. [11].

## 2- Les phases de la spermatogenèse

Dans les tubes séminifères adultes, les différentes couches de cellules germinales représentent les phases de la spermatogenèse qui s'effectue de façon centripète, depuis la spermatogonie située contre la membrane basale jusqu'au spermatozoïde libéré dans la lumière : On distingue quatre stades dans l'espèce humaine.

### 2-1 Phase de multiplication

Les spermatogonies se multiplient par mitoses somatiques normales ; la spermatogonie à chromatine sombre Ad (dark) se divise en deux cellules filles : une cellule Ad qui assure le renouvellement des cellules souches et une cellule Ap à chromatine pâle ; la cellule Ap est la cellule initiale de la spermatogenèse : elle se divise en 2 spermatogonies B à chromatine en gros gains irréguliers et au nucléole bien visible.

### 2-2 Phase d'accroissement

Les spermatocytes I résultent de la division somatique des spermatogonies B ; ils augmentent de volume puis ils sont le siège de la première division de la méiose (méiose I), appelée classiquement méiose réductionnelle (n chromosomes).

### 2-3 La méiose

La méiose est un phénomène complexe analysable sur 3 aspects différents mais étroitement liés :

- \* **Aspect cytologique** : les différentes phases de la méiose.
- \* **Aspect chromosomique** : appariement et ségrégation des chromosomes.
- \* **Aspect génétique** : les recombinaisons et le brassage des gènes. [7,9]. (Figure -11- ).



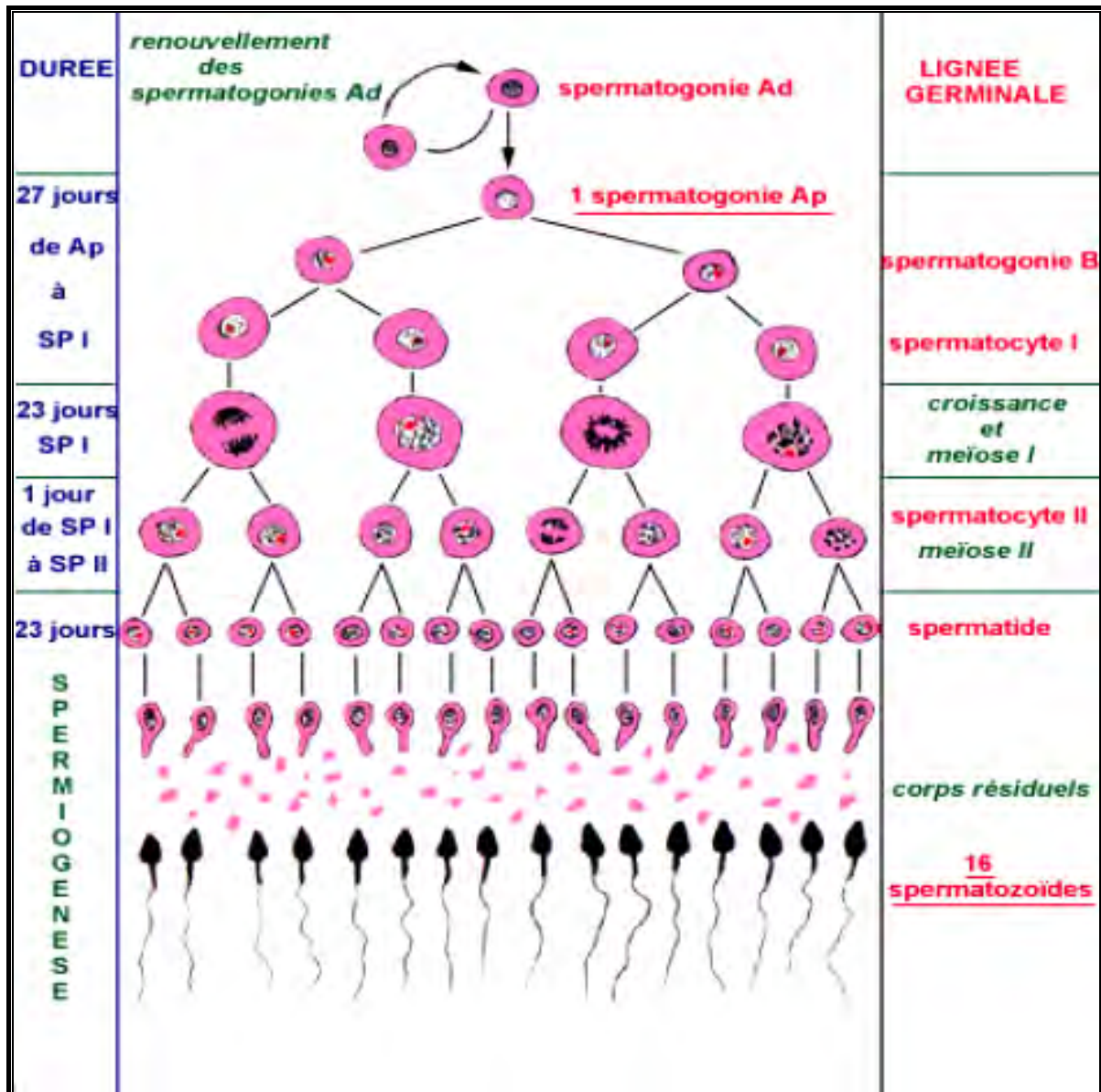


Figure 11 : Les phases de la spermatogénèse. [Nicole VACHERET, 1999].

## 2-4 La spermiogénèse

Les spermatides subissent une différenciation radicale (il n'y a plus de division cellulaire) qui leur fait acquérir les caractéristiques cellulaires indispensables pour les rendre aptes à la fécondation. Elle s'effectue selon 4 étapes. [2, 3,7]. (Figure -12- ).

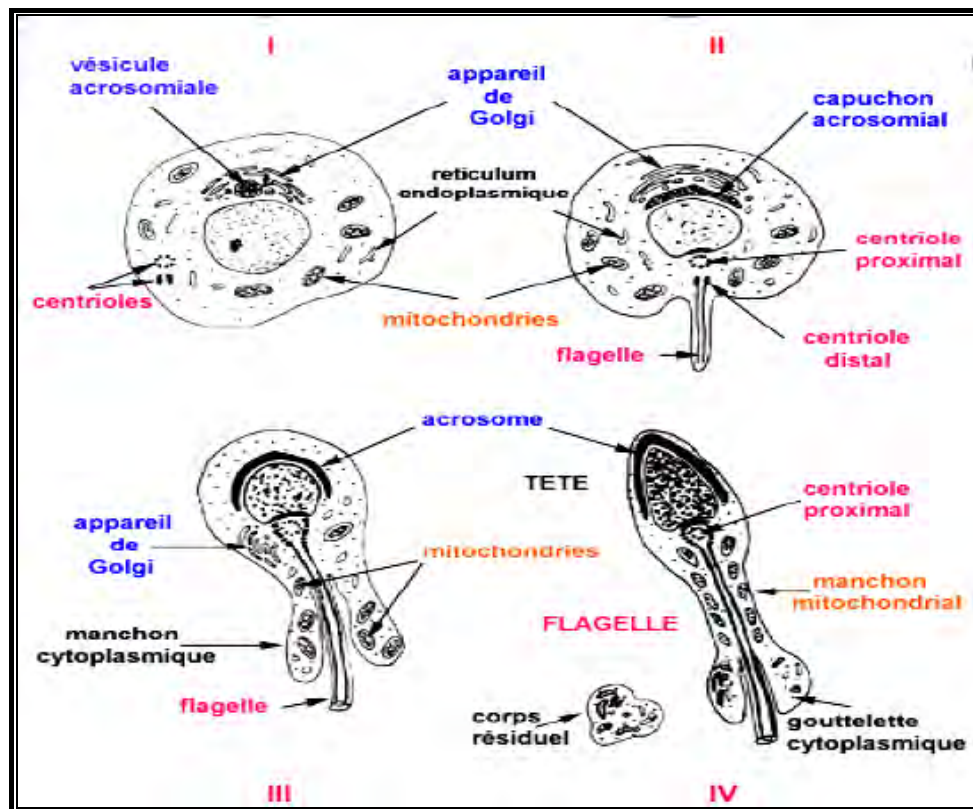


Figure 12 : Les étapes de la spermiogenèse. [Nicole VACHERET, 1999].

## 2-4-1 Spermatozoïde et sperme

### ✚ Le spermatozoïde

Cellule arrivée à maturation se détache de la cellule de Sertoli et est libérée dans la lumière du tube séminifère. Le spermatozoïde a pour fonction d'assurer la fécondation, c'est-à-dire de faire pénétrer dans l'ovocyte son contenu génétique, d'activer l'ovocyte et de permettre les premières étapes de la division de l'œuf fécondé ou zygote. [3].

### ✚ Le sperme

Milieu biologique complexe et hétérogène, il associe des éléments cellulaires, spermatozoïdes et "cellules rondes", au plasma séminal. Les cellules rondes du sperme sont soit des cellules germinales immatures, soit des cellules d'origine sanguine (granulocytes, lymphocytes). Le plasma séminal est constitué principalement par les sécrétions des glandes annexes du tractus génital, les vésicules séminales et la prostate. [12].



### 3- Déterminisme génétique des gonades

La présentation du fonctionnement des gonades mâles conduit à poser la question du contrôle de leur fonctionnement. En plus des contrôles neuroendocrines de la spermatogenèse, le contrôle génétique constitue une part importante des recherches du domaine. [13].

Les études récentes sur ce contrôle montrent qu'au moins 7 gènes interfèrent avec le développement sexuel normal, le mécanisme est encore mal connu.

Le sexe génétique XX ou XY de l'embryon est établi dès la fécondation de l'ovocyte haploïde, porteur du chromosome X, par un spermatozoïde, également haploïde, porteur d'un chromosome X ou Y. Ce sexe génétique conditionne le sexe gonadique, c'est-à-dire détermine l'orientation gonadique en testicule lorsque le sexe génétique est XY, en ovaire lorsqu'il est XX. [14].

#### 3-1 Gènes de la détermination gonadique

##### 3-1-1 Gène de détermination testiculaire : SRY

Le fait que la détermination des testicules dépende de la présence d'un chromosome Y est connu depuis le début des années 60, et a été déduit de l'observation d'anomalies chromosomiques : des humains 45, XO (Turner). De plus, un caryotype humain 47, XXY (Klinefelter) entraîne un phénotype mâle. Ceci prouve que, chez les mammifères, la détermination des testicules dépend de la présence d'un chromosome Y et non du nombre de chromosome X. [10].

L'identification du gène SRY a été réalisée en 1989, grâce à l'étude d'individus humains dont le sexe phénotypique est en discordance avec le sexe chromosomique ; hommes possédant deux X (46, XX) ou femmes possédant un X et un Y (46, XY). Ces individus phénotypiquement mâles et porteurs d'un caryotype 46, XX, renfermaient dans leur génome une séquence provenant du chromosome Y. L'analyse de ce segment d'ADN montra une séquence codante (ORF ou Open Reading Frame) qui fut appelée : "région déterminant le sexe" du chromosome Y ou SRY.

Ce gène est situé sur le bras court du chromosome Y humain au voisinage immédiat de la région pseudoautosomique et présente les caractéristiques suivantes :

- Ne contient pas d'introns et code pour une protéine de 204 acides aminés ;
- Ce gène est conservé sur le chromosome Y de nombreuses espèces de mammifères.

### ✚ Période d'expression et mode d'action de SRY

L'expression de SRY est restreinte aux cellules somatiques de la gonade embryonnaire (les cellules de la crête génitale). Au cours du développement de l'embryon, les gonades se développent de façon similaire chez les deux sexes, jusqu'au moment où l'expression de SRY est déclenchée. À ce moment, si l'expression de SRY a bien lieu, la gonade se développe en testicule par la différenciation des cellules de Sertoli et la formation de cordons testiculaires. Toutefois, en absence d'expression de SRY, la gonade se développe en ovaire. Dans le testicule adulte, ce gène s'exprime dans les cellules germinales méiotiques et post-méiotiques.

La protéine SRY humaine se compose de 204 acides aminés. Elle possède un domaine permettant sa liaison à l'ADN. Ce domaine, homologue à celui des protéines du HMG (High Mobility Group) définit une nouvelle famille de gènes appelé SOX qui interviennent dans de nombreux processus de développement ; Elle se lie spécifiquement, par ce domaine renfermant environ 80 acides aminés, à l'ADN bicaténaire portant la séquence 5'A/TAACAAA/T 3'. Après fixation de cette protéine, la molécule d'ADN subit une courbure de 70 à 80° dans la direction du grand sillon. Cela pourrait permettre le rapprochement et l'interaction entre des facteurs de transcription fixés sur le ou les gènes cibles de SRY, dont les sites de liaison sont éloignés les uns des autres. [14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,21].

Suite à l'action du gène SRY, une cascade d'autres gènes est activée dans le testicule.

### 3-1-2 Les autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire (Tableau 2 : annexe).

### 3-2 Les Gènes de la spermatogenèse

C'est principalement sur le bras long du chromosome Y (Yq) que se trouvent les gènes nécessaires à la spermatogenèse, candidats pour être impliqués dans l'infertilité masculine d'origine génétique.

#### 3-2-1 Le chromosome Y

##### L'origine du chromosome Y

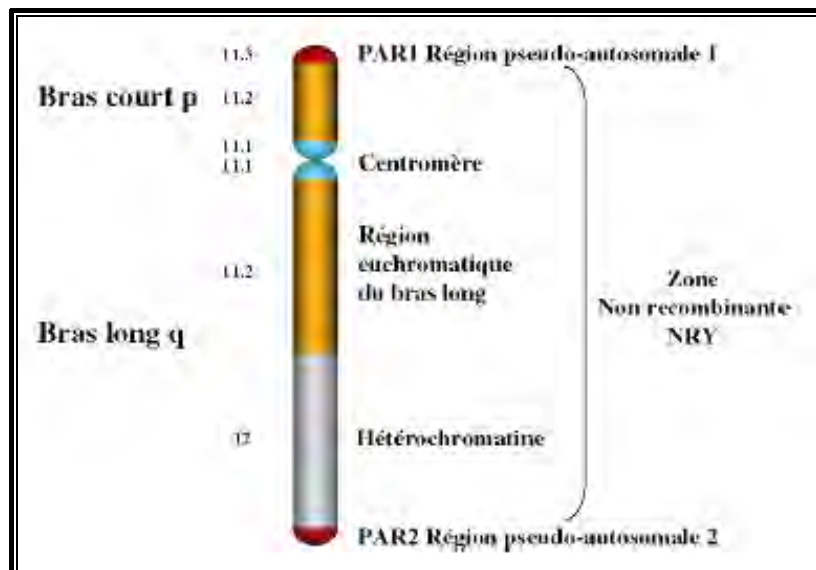
Les mammifères ont un système chromosomique XX/XY dans lequel le chromosome Y est indispensable pour le développement correct des fonctions masculines. En plus du gène SRY, le chromosome Y porte également plusieurs gènes importants pour la spermatogenèse. D'un point de vue évolutif, les études comparatives des chromosomes X et Y suggèrent que le chromosome Y a été homologue au chromosome X. Les petits chromosomes ancestraux X et Y ont été ensuite modifiés par la combinaison de plusieurs mécanismes : l'addition de gènes autosomiques, de multiples recombinaisons et une "usure" des gènes du chromosome Y. Cette évolution des chromosomes sexuels expliquerait la présence des parties télomériques communes aux deux chromosomes et présenterait les deux régions pseudo-autosomiques comme des reliques de cette homologie. [6].

##### L'organisation du chromosome Y

Chez l'homme, le chromosome Y représente seulement 2 à 3 % du génome et se compose largement de séquences répétées (gènes, pseudo-gènes, séquences rétrovirales endogènes). Le chromosome Y est un chromosome télacentrique qui contient un bras court (Yp) et un bras long (Yq) séparés par une région centromérique essentielle pour la ségrégation chromosomique. Des études cytogénétiques ont permis d'identifier trois régions : les régions pseudo-autosomiques PAR (Pseudo Autosomic Region), (PAR1 et PAR2), la région euchromatique et la région hétérochromatique. (Figure -14- ).

Les régions pseudo-autosomiques correspondent aux régions du chromosome Y qui s'apparient au chromosome X durant la méiose et entraînent des échanges de matériel génétique à la suite de crossing-over. Ainsi les gènes localisés dans les régions PAR1 et PAR2 se comportent, en génétique formelle, comme des gènes autosomiques. Cependant la

grande majorité du chromosome (95 %) est spécifique du chromosome Y ; appelée région NRY (Non Recombining Y region). Cette région représente la seule région génomique haploïde du génome humain. Elle contient l'hétérochromatine et aussi l'euchromatine de ce chromosome. L'hétérochromatine est supposée inerte génétiquement et composée principalement de deux familles de séquences hautement répétées, DYZ1 et DYZ2, contenant respectivement environ 5 000 et 2 000 copies chacune. En revanche, la région euchromatique Y, si elle contient aussi de nombreuses séquences hautement répétées, renferme également des gènes impliqués dans le déterminisme du sexe, le contrôle de la taille, la spermatogenèse, la formation de gonadoblastome ou encore des gènes dont la délétion entraîne des symptômes turnériens. [6,20].



**Figure -13- Structure du chromosome Y [C. Ravel, 2006].**

### Chromosome Y et fonctions masculines

Plusieurs gènes portés par le chromosome Y sont supposés avoir des fonctions spécifiquement masculines comme le déterminisme sexuel et la spermatogenèse. En effet, dans les années 1970, des réarrangements importants du chromosome Y ont été observés dans le caryotype d'hommes atteints d'azoospermie sécrétoire. Les anomalies décrites comprenaient une délétion de la majeure partie du bras long du chromosome Y. Ces observations établies sur de nombreux patients ont conduit à l'hypothèse de l'existence d'un facteur, nommé AZF (AZoospermia Factor), indispensable à la spermatogenèse et codé par plusieurs gènes portés

par le chromosome Y. Les travaux de Vogt et al, portant sur 370 hommes stériles, ont permis de dénombrer 3 loci différents sur le chromosome Y, nommés AZFa, AZFb et AZFc. La biologie moléculaire a permis la subdivision du chromosome Y en 7 régions. [6, 22,23].

### **3-2-2 Gènes et familles de gènes sur les régions AZFa, AZFb et AZFc**

Entre 15 et 20 gènes essentiels à la spermatogénèse sont localisés sur la portion non recombinante de l'Yq. Ils sont divisés en 2 catégories, d'un côté les gènes ubiquitaires possédant un homologue sur le chromosome X et d'un autre côté, les gènes dits "testiculaires" qui sont Y-spécifiques.

#### **Locus AZFa**

Le locus AZFa est situé dans la région proximale de l'intervalle 5, sa taille est d'environ 3 Mb (Méga bases). 3 gènes y sont localisés : DFFY (Drosophila Fat Facet, Y-linked), DBY (DEAD box, Y chromosome) et UTY (Ubiquitously Transcribed tetratricopeptide repeat, Y chromosome). Le gène DFFRY (159 kb) est localisé dans la partie centrale d'AZFa et possède un homologue sur le chromosome X (DFFRX) avec lequel il partage environ 89 % d'homologie de séquence. Son expression est ubiquitaire (testicule, rétine, muscle, poumon, foie) [23]. Le gène DBY, en aval de DFFRY, a lui aussi un homologue sur Xp11.3 et il est également exprimé de façon ubiquitaire. Les délétions de DFFRY et DBY ont le plus souvent comme conséquence clinique une hypospermatogénèse sévère [22-27].

#### **Locus AZFb**

La région AZFb s'étend entre l'intervalle de délétion 5 et la région proximale de l'intervalle de délétion 6. Sa taille est estimée entre 1 et 3 Mb. Actuellement, 5 gènes ont été décrits dans cet intervalle : RNA-binding motif (RBM, précédemment appelé YRRM), chromodomaine Y (CDY), XK related Y (XKRY), eucaryotic translation initiation factor 1A (eIF-1A) et selected mouse cDNA on Y (SMCY). RBM, CDY et XKRY ont de multiples copies sur le bras long du chromosome Y. L'expression des gènes RBM sont testiculaires spécifiques, ce qui suggère leur importance dans le déroulement de la spermatogénèse.

### Locus AZFc

La région AZFc précédemment appelée région minimale AZF, est localisée à proximité de l'hétérochromatine. Sa taille est approximativement de 1,4 Mb et contient les gènes DAZ (deleted in azoospermia), deux copies de PTP-BL related Y (PRY), basic protein Y2 (BPY2), testis transcript Y2 (TTY2), des copies de CDY, RBM. DAZ est le gène le plus fréquemment délété dans les infertilités masculines par trouble de la spermatogénèse. Il a été identifié en 1995 et contient en fait 4 copies (DAZ 1, DAZ 2, DAZ 3, DAZ 4) [23]. Sa taille est comprise entre 50 et 70 kb (kilo bases). Il s'exprime uniquement dans la lignée germinale du testicule. [6, 21-27].

### 3-2-3 Origine des délétions de l'Yq

À part quelques rares délétions héritées du père, la très grande majorité correspond à des événements de novo. Il est probable qu'il s'agit d'une anomalie de la méiose mâle ou de la gamétogénèse mais on ne peut exclure que ces délétions aient aussi lieu au stade très précoce de l'embryogénèse avec un défaut de formation des spermatogonies chez le fœtus. Cela peut entraîner un mosaïcisme germinale. [6].

### 3-2-4 Mécanisme des délétions

La fréquence relativement élevée des délétions suggère que le chromosome Y est susceptible de perdre du matériel génétique. La nature du mécanisme de ces pertes est aujourd'hui spéculative. Une possibilité est une recombinaison inégale entre séquences répétées (par exemple les séquences Alu) entre les chromosomes X et Y ou entre chromatides sœurs du chromosome Y lui-même. L'instabilité du chromosome Y peut donc être liée à la haute fréquence de séquences répétées qu'il contient. [6].

### III- Classification étiologique de l'infertilité masculine

La fertilité masculine naturelle dépend de la qualité du sperme et de la perméabilité des voies excrétrices séminales. En cas d'anomalies, les explorations cliniques et biologiques de l'homme au sein du couple infertile doivent en rechercher l'étiologie. Plusieurs classifications de l'infertilité masculine sont établies en fonction des données du spermogramme et du niveau de l'atteinte ou alors sur les données physiopathologiques.

#### 1. Classification selon le nombre de spermatozoïdes

##### 1.1 L'azoospermie

L'azoospermie se définit comme l'absence de spermatozoïde dans le liquide séminal lors de la réalisation d'au moins trois spermogrammes pratiqués dans des conditions optimales ; on parle :

- **D'azoospermie sécrétoire** ; si l'anomalie est une absence totale ou partielle de la spermatogenèse.
- **D'azoospermie excrétoire** ; si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididymes, canaux déférents, canaux éjaculateurs). [28,29].

La recherche de l'origine excrétoire ou sécrétoire de cette azoospermie s'appuie sur plusieurs paramètres :

- **Les dosages plasmatiques de la FSH** : le taux de FSH est le plus souvent augmenté en cas d'azoospermie sécrétoire et semble normal lorsque la lignée germinale est conservée. Cependant les azoospermies normo-gonadotrophiques posent un réel problème étiologique car il existe des azoospermies sécrétoires à FSH normale.
- **Les dosages des marqueurs séminaux (L-carnitine et la glucosidase, le citrate, le zinc ou les phosphatases acides)** : dans l'éjaculat, le dosage de ces marqueurs séminaux permet dans certains cas d'affirmer l'origine d'une azoospermie. Ceux ci sont normaux dans les azoospermies sécrétoires et pourront être perturbés en cas d'obstruction du tractus génital. [28].

### **1-2 L'oligozoospermie**

L'oligozoospermie correspond à une faible quantité de spermatozoïdes dans le sperme (inférieure à 20 millions de spermatozoïdes par ml ou inférieure à 40 millions par éjaculat et inférieure à 5 millions par ml en ce qui concerne l'oligospermie sévère). Elle représente le cas le plus fréquent de l'infertilité masculine (l'azoospermie est retrouvée dans 20 % des cas, alors qu'une oligozoospermie dans 60 %).

Elle est rarement isolée et souvent associée avec une asthénospermie (anomalie de la mobilité) et/ou une tératozoospermie (formes anormales). Cette oligozoospermie peut avoir plusieurs étiologies. (Tableau 1 : annexe). [28,29].

## **2- Classification en fonction du lieu de l'atteinte et du mécanisme physiopathologique**

### **2-1 Atteinte pré testiculaire**

Elle peut être soit d'origine endocrine par insuffisance gonadotrope congénitale ou acquise, soit par troubles du coït.

#### **1- Anomalie endocrine congénitale**

##### **1-1 Hypogonadisme d'origine hypothalamo-hypophysaire**

###### **1-1-1 Anomalie hypothalamique**

###### **✚ Syndrome de Kallmann**

Le syndrome de Kallmann est défini par l'association d'un déficit gonadotrope congénital et d'une anosmie. [30]. Son incidence est de 1 pour 10 000 hommes. Il représente la cause la plus fréquente de déficit en hormones gonadotropes chez l'homme. [31].

Kallmann, généticien de formation, a démontré le caractère familial de cette maladie. En dehors des cas sporadiques qui sont les plus fréquents, trois modes de transmission ont été décrits dans les formes familiales : récessive liée au chromosome X (KAL-1) ; autosomique dominante (KAL-2) et autosomique récessive (KAL-3) [32]. Le ou les gènes responsables du



syndrome de Kallmann transmis sur le mode autosomique n'ont pas été découverts jusqu'à présent. Seules des anomalies chromosomiques ont été décrites chez ces patients, en particulier des translocations entre les chromosomes 7 et 12 ou, plus récemment, des réarrangements complexes impliquant les chromosomes 3, 9, 12, 13, 15 et 21. [33].

Quant au gène KAL-1 lié à l'X, il a été localisé, il y a plus de 10 ans, au niveau du bras court du chromosome X (à 9 Mb de l'extrémité Xp télomérique), près de la région pseudoautosomique en Xp22.3. Il a une taille comprise entre 120 et 200 kb et est formé des 14 exons. [34].

La protéine produite par KAL est l'anosmine qui possède des propriétés d'adhésion cellulaire neuronale. Cette protéine va permettre, durant l'embryogenèse, la migration des neurones à GnRH (en présence des nerfs olfactifs) de la plaque olfactive vers l'hypothalamus. Les patients présentent un retard pubertaire lié à l'absence de sécrétion de GnRH par l'hypothalamus avec pour conséquence l'absence de synthèse d'LH et d'FSH par l'hypophyse. Il n'y a donc ni sécrétion d'androgènes, ni spermatogenèse. [34].

### **Hypoplasie congénitale surrénalienne ou HCS**

Les hommes, atteints d'hypoplasie congénitale surrénalienne, présentent dès l'enfance des signes d'insuffisance surrénalienne (gluco et minéralocorticoïde). Il peut y avoir une cryptorchidie ou un phénotype féminin. L'existence concomitante d'HCS et de la maladie de Duchenne et/ou d'un déficit en glycérol-kinase a suggéré l'existence d'une délétion en Xp 21.

Le gène de l'HCS a donc été cloné dans la région DSS (Dosage Sensitive Sex-reversal) en Xp 21. Il code pour une protéine de 470 acides aminés membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. La présence de ce récepteur est indispensable au développement de l'hypophyse "gonadotrope" et du cortex surrénalien. Des délétions et plus de 50 mutations ont été rapportées sur ce gène. La majorité de ces mutations sont des mutations non sens situées à la partie C-terminal du gène. [30,34].

### **Mutations du gène de la leptine et de son récepteur**

La leptine est une hormone peptidique, codée par le gène ob et produite essentiellement par les adipocytes. Son rôle principal est la régulation de graisse par des effets hypothalamiques qui modulent la satiété et la dépense énergétique. Cette hormone agit à travers un récepteur membranaire membre de la famille des récepteurs des cytokines.

Les mutations touchant ce gène entraînent un retard pubertaire irréversible associé à une testostéronémie et des hormones gonadotropes basses. [30].

### **Syndrome de Prader Willi**

La cause de l'hypogonadisme n'est pas totalement élucidée, mais il existe une diminution de la sécrétion d'FSH et d'LH due à un manque de synthèse de GnRH. Il est lié au dysfonctionnement d'un mécanisme génétique consistant à n'activer la transcription d'un gène qu'en présence des 2 allèles maternel et paternel : C'est le mécanisme de l'empreinte génétique, en cas de délétion ou de disomie uniparentale (2 chromosomes venant du même parent), le gène n'est pas transcrit. [30,35].

### **1-1-2 Anomalie hypophysaire**

#### **Mutations du gène du récepteur à la GnRH**

Devant l'absence d'anomalie du gène de la GnRH jusqu'ici démontrée, un dysfonctionnement du récepteur de la GnRH pouvait être responsable d'une sécrétion insuffisante de gonadotrophines et donc d'un déficit gonadotrope isolé. Le gène du récepteur de la GnRH a été cloné, il code pour un récepteur à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G. Ce gène, qui comprend trois exons, est localisé sur le bras long du chromosome 4.

Plusieurs mutations du gène du récepteur à la GnRH (4q21) ont été décrites. Les mutations ont pour conséquence une baisse de production d'IPS (Inositol-Triphosphate), reflétant une diminution de la transduction du signal. Cliniquement, les patients présentent un retard pubertaire avec une diminution de la libido, un micro-pénis et des testicules de petit volume. Les taux d'FSH et d'LH sont bas. [30,35].

#### **Dysplasie septo-optique (Syndrome de de Morsier)**

La dysplasie septo-optique est une malformation du cerveau qui regroupe un ensemble d'anomalies avec une hypoplasie des nerfs optiques, une hypoplasie de l'hypophyse et une agénésie du septum pellucidum avec ou sans agénésie du corps calleux. L'incidence est de 1 enfant sur 10 000. Cette pathologie est peut-être liée à une mutation (Arg 53 Lys) du gène HESX1 (3p 21). [30].

### **Déficit isolé en LH**

La LH est un hétérodimère composé d'une sous unité  $\beta$ -commune à FSH, LH et hCG et d'une sous unité spécifique de la LH. Cliniquement, les patients hétérozygotes sont infertiles mais phénotypiquement normaux. Les patients homozygotes présentent un retard pubertaire en plus de l'infertilité. Les biopsies testiculaires montrent un arrêt de la spermatogenèse et l'absence de cellule de Leydig. Le dosage de l'activité de la LH montre une hormone inactive, bien que présente en quantité normale. [37,38].

### **Déficit isolé en FSH**

Les mutations décrites concernent la sous-unité  $\beta$  de l'FSH, il s'agit de délétions qui produisent une protéine tronquée. Ces mutations sont responsables de l'azoospermie associée ou non à un retard pubertaire. [39].

### **Mutations du gène PROP1**

Le facteur de transcription PROP1 (Prophet of Pit-1) est une protéine exprimée spécifiquement au niveau de l'hypophyse pendant la vie embryonnaire. À ce niveau, elle contrôle l'expression du facteur Pit-1 qui est responsable du développement des cellules lactotropes, thyrotropes et somatotropes chez le fœtus. Les mutations de ce gène provoquent des déficits hypophysaires combinés. [30].

## **1-2 Troubles du métabolisme des stéroïdes**

### **1-2-1 Hyperplasie congénitale des surrénales**

#### **Déficit en facteur StAR : l'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales**

L'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales est une affection autosomique récessive caractérisée par un déficit de synthèse des hormones stéroïdes surrénaliennes et gonadiques.

Les enfants atteints présentent une perte de sel sévère avec acidose hyperkaliémique et déshydratation létale en absence de traitements. De plus, les individus (46, XY) présentent une inversion sexuelle du fait de l'absence de synthèse de testostérone.

Le rôle principal de StAR dans la stéroïdogénèse a été confirmé par la découverte d'une mutation responsable d'hyperplasie lipoïde congénitale des surrénales avec absence totale de synthèse des hormones stéroïdes. [30].

### **Déficit du cholestérol desmolase**

Cette enzyme de la famille des cytochromes P450 convertit le cholestérol en pregnenolone. Elle est codée par un gène unique situé en 15q 23-24 [40] et constitué de 9 exons sur 20 kb [41]. Son déficit se traduit par l'absence de synthèse des hormones stéroïdes au niveau surrénalien et testiculaire. L'incapacité de fabriquer des hormones sexuelles interrompt le développement des organes sexuels. [42].

### **Déficit de la 17 alpha hydroxylase**

Enzyme de la famille des cytochromes P450, la 17 alpha hydroxylase ou CYP 17 permet la conversion de la pregnenolone en 17 alpha hydroxypregnenolone. Cette enzyme de part son activité 17,20-lyase transforme la 17 alpha hydroxypregnenolone en DHEA (DeHydroEpiAndrostérone) [42]. C'est une protéine de 508 acides aminés (57 kDa), codée par un gène (8 exons sur 6,7 kb) situé en 10q 24.3. La transmission est autosomique récessive. [40].

### **Déficit de la 3 $\beta$ hydroxystéroïde déshydrogénase**

La transformation des 5-3  $\beta$  hydroxystéroïdes (pregnenolone, 17 hydroxypregnenolone et DHEA) en delta 4-3 céstéroïdes (progestérone, 17 hydroxyprogestérone et androsténone) est réalisée par la 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase. Le déficit en 3 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase a des conséquences sur la synthèse des gluco- et minéralocorticoïdes et sur celle des hormones sexuelles. [43].

### **Déficit de la 21 hydroxylase**

C'est la cause la plus fréquente d'hyperplasie congénitale des surrénales (90 %) avec une incidence de 1 sur 10 000 naissances. Cette pathologie se traduit par la surproduction de précurseurs du cortisol, et en particulier des 17 hydroxypregnenolone et 17 hydroxyprogestérone, qui sont ensuite métabolisés par le CYP 17 en DHEA et en androsténone puis en testostérone. Cet excès d'androgènes d'origine surrénalienne provoque un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse. Ce qui diminue les sécrétions d' FSH et d'LH et entraîne un hypogonadisme [44]. La transmission de cette pathologie est monogénique autosomique récessive et liée au groupe HLA (Human Leukocyte Antigen). Le gène codant pour la 21 hydroxylase est CYP 21 dont il existe une forme pseudogénique CYP

21P, les deux formes étant localisées en 6p 21.3. Chaque forme contient 10 exons sur 3,1 kb. Les nombreuses mutations du gène CYP 21 résultent apparemment soit d'un crossing-over inégal durant la méiose entre CYP 21 et CYP 21P, soit d'une conversion par transfert de mutations normalement présentes dans CYP 21P vers CYP 21. [45].

### **Déficit en 11 alpha hydroxylase**

Ce déficit provoque la même pathologie que celle de la 21 hydroxylase. Sa fréquence est de 1 sur 100 000 naissances soit 5 à 8 % des hyperplasies congénitales des surrénales [46]. Il existe 2 isoenzymes codées par 2 gènes différents (CYP 11B1 et CYP 11B2) situés en 8q21-q22 contenant chacun 9 exons sur 7 kb. Des mutations faux-sens, non sens ainsi que des délétions et insertions provoquant un décalage du cadre de lecture ont été décrites. [47].

## **1-2-2 Anomalies de synthèse des androgènes**

### **Déficit en 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase**

La 17  $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase permet de transformer l'androsténone en testostérone. Plusieurs enzymes ayant une activité 17 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase ont été identifiées selon le tissu considéré. Affection rare, héréditaire à transmission autosomique récessive, elle correspond à une altération de la biosynthèse testiculaire de la testostérone. Le gène de la 17 HSD de type 3, exprimé dans le testicule, est localisé en 9q22 et code pour une enzyme de 310 acides aminés. [48].

### **Déficit de la 5 alpha réductase de type 2**

Il existe deux 5 -réductases (5 R) :

- La 5 R de type 1, responsable de la synthèse de DHT (DiHydroTestostérone) dans le foie et la peau. [49].
- La 5 R de type 2, qui assure la conversion de la testostérone en DHT au niveau des organes génitaux externes et de la prostate. [49].

Le gène codant pour l'isoenzyme 2 est le SRD5A2. Il est situé en 2p 23 et contient 5 exons. [50].

Chez ces patients, la sécrétion d'androgènes est suffisante pour permettre un développement normal des vésicules séminales, des canaux déférents et des épидидymes. En revanche les organes génitaux externes, l'urètre et la prostate nécessitent la présence de DHT

pour leur développement. La spermatogenèse est réduite, mais l'infertilité est surtout liée aux anomalies anatomiques.

### **1-3 Anomalies des récepteurs hormonaux**

#### **1-3-1 Syndrome d'insensibilité aux androgènes (SIA)**

C'est la cause la plus fréquente de pseudohermaphrodisme masculin. Son incidence est d'une naissance sur 60 000. Le mode de transmission est récessif lié à l'X et des mutations du gène du récepteur aux androgènes sont en cause (Xq11-q12). En fonction du phénotype on divise cette entité en syndrome d'insensibilité complet et partielle. [51].

#### **1-3-2 Déficit des récepteurs aux hormones gonadotropes**

##### **✚ Déficit du récepteur à la LH**

Les récepteurs à la LH (2p21) font partie de la superfamille des récepteurs liés à la protéine G, qui active l'adenylate-cyclase. L'examen anatomo-pathologique des biopsies testiculaires de ces patients montrent la présence de cellules de Sertoli, mais l'absence de cellules de Leydig. [52,53].

##### **✚ Déficit du récepteur à la FSH**

C'est une cause très rare d'infertilité. Les mutations ont une action variable sur la spermatogenèse : de la cryptozoospermie à la normospermie. Les mutations responsables sont de type substitutions qui ont pour conséquence une diminution de l'affinité du récepteur à son ligand. [54].

### **2- Anomalie endocrine acquise.**

Les hypogonadismes acquis peuvent résulter d'une tumeur (adénome), d'une maladie (hyperprolactinémie) ou d'une irradiation de la zone hypothalamo-hypophysaire. Ils entraînent une perte des caractères sexuels secondaires et une infertilité. [30]

#### **2.1 Lésions suprasellaires**

Apparues dans l'enfance, elles entraînent parallèlement un déficit gonadotrope et une insuffisance somatotrope. Parmi ces lésions :

- Craniopharyngiome ;
- Germinomes ;
- Infiltrations hypothalamiques ;
- Radiothérapie ;
- Interruptions de la tige hypophysaire.

#### **2.1 Hypogonadismes hypogonadotrophiques acquis d'origine hypophysaire**

- Hémochromatose ;
- Hyperprolactinémies ;
- Adénomes hypophysaires. [30].

### **2-2 Atteinte testiculaire**

L'atteinte testiculaire est due à l'absence ou à l'arrêt de la spermatogenèse. Elle est fréquente (60 %). La FSH peut être normale ou élevée. Elle peut être chromosomique ou non chromosomique. [4].

#### **2-2-1 Anomalies chromosomiques**

Environ 6 à 13 % d'hommes stériles ont des anomalies chromosomiques (comparées à 0,6 % de la population générale). Le caryotype et la recherche de micro délétions de l'Y sont indiqués pour les patients avec une azoospermie non obstructive ou une oligospermie sévère. [4].

### **Syndrome de Klinefelter**

C'est en 1942, à l'occasion de l'observation de neuf sujets masculins âgés de 17 à 33 ans, que Klinefelter décrivit pour la première fois le syndrome qui porte aujourd'hui son nom.

En 1953, Barr montrait, dans le noyau cellulaire des sujets de sexe féminin, la présence d'un corpuscule chromatinien.

En 1959, Jacob et Strong rattachaient la symptomatologie clinique du syndrome de Klinefelter à la présence d'un chromosome X supplémentaire réalisant la formule caryotypique : 47, XXY. [55].

#### ➤ **Fréquence**

La prévalence (nombre de cas dans une population donnée à un moment donné) varie selon les différentes études de la littérature et en fonction des populations concernées. Ainsi la prévalence du syndrome de Klinefelter est de 1 sur 1200 naissance (1 garçon sur 600). Ce syndrome n'est donc pas rare. [55,56].

#### ➤ **Symptomatologie**

La présentation clinique varie en fonction de l'âge du patient. Avant la puberté, les signes sont très discrets. On peut retrouver un volume testiculaire peu faible, avec des membres longs par rapport au tronc. Pendant l'adolescence et à l'âge adulte, le syndrome est caractérisé par de petits testicules fermes, accompagnés des symptômes de déficience en androgènes. On retrouve fréquemment une histoire de testicules non descendus (cryptorchidie). Ces patients présentent une haute taille, due pour la plus grande partie à la longueur de leurs jambes. Au cours de la puberté, la moitié des patients développent une gynécomastie uni ou bilatérale. Après l'âge de 25 ans, les patients non traités présentent une chute de la libido et une impuissance.

Du point de vue neuro-psychologique, ils semblent posséder un quotient intellectuel dans les limites de la normale. Il existe fréquemment un retard de langage et des difficultés d'apprentissage. [55, 56, 57,60].

#### ➤ **Étiologie**

Le syndrome de klinefelter est lié à une non disjonction des chromosomes sexuels durant la méiose paternelle dans 50 à 60 % des cas, ou maternelle dans 40 à 50 % des cas. Le mécanisme reste en grande partie incompris. [58,59].



Au stade fœtal, le contingent de cellules germinales primordiales paraît normal, mais dégénère de manière accélérée pendant l'enfance. On peut penser que les cellules germinales sont elles-mêmes incapables de survivre, ou que les cellules de Sertoli ne sont pas équipées pour assurer leur développement.

Le rôle du récepteur aux androgènes reste encore à élucider, lui aussi. Le gène codant ce récepteur se trouve au niveau des chromosomes X. Or dans le syndrome de Klinefelter, un des deux chromosomes est inactivé dans toutes les cellules de l'organisme, et il apparaît que cette inactivation va toujours dans le même sens. En effet, le gène en question contient une séquence non codante formée d'une répétition en nombre variable de triplets de nucléotides. Cette séquence répétée présente donc un polymorphisme de longueur. Il apparaît que le chromosome porteur de la séquence la moins longue sera inactivé, et que la longueur de la séquence répétitive est directement proportionnelle à la taille de l'individu et à la fréquence de la gynécomastie. [57].

### **Le syndrome du mâle XX**

Approximativement 2 % des hommes vus aux cliniques d'infertilité ont un caryotype 46, XX. [61,62].

#### ➤ **Symptomatologie**

Typiquement, les organes génitaux mâles externes et internes sont normaux. Les patients présentent habituellement une gynécomastie à la puberté. L'évaluation hormonale montre une FSH et LH élevé et un taux bas ou normal de la testostérone. La biopsie testiculaire indique une absence de la spermatogenèse. [60, 61,63].

#### ➤ **Étiologie**

L'explication évidente de cette inversion sexuelle est que le gène SRY est transféré du chromosome Y au chromosome X de sorte que la différenciation de testicule soit présente. Cependant, le gène AZF n'est pas transféré, ayant pour résultat l'azoospermie. [62].

### ✚ Mâle XYY

En 1961 Sandberg et ses collaborateurs ont trouvé la constitution chromosomique 47, XYY et l'ont dénommée le syndrome XYY. Encore appelé le syndrome du super mâle. [65,66].

#### ➤ **Fréquence**

Le syndrome XYY est assez fréquent, concernant 1/1000 naissances masculines. [57,67].

#### ➤ **Symptomatologie**

Ces patients sont souvent grands mais phénotypiquement tout à fait normaux. La biologie ne montre aucune hypersécrétion hormonale. On retrouve par ailleurs une concentration sanguine trop élevée en insuline et en acide urique. Les caractères sexuels secondaires sont inchangés et la spermatogenèse est normale parmi la plupart des mâles XYY. L'inactivation incomplète du chromosome X pendant le stade pachytène de la méiose est l'explication génétique pour l'arrêt de la spermatogenèse qui est de temps en temps observée dans les patients affectés ayant une azoospermie ou oligospermie. A cause d'une fréquence prétendument plus élevée des super mâles parmi les criminels, on a cru à une époque que les individus 47, XYY souffraient de sévères troubles de la personnalité et qu'ils présentent des risques élevés de violence et de criminalité, des investigations plus poussées ont montré qu'il n'en était rien. La majorité des individus 47, XYY sont phénotypiquement et psychologiquement sains, possèdent des capacités intellectuelles conforme à la moyenne et ne présentent pas de tendance criminelles particulières. [57, 61,66, 68].

#### ➤ **Étiologie**

L'état 47, XYY est unique parce qu'il implique nécessairement une erreur au niveau de la méiose paternelle. Seule la non disjonction du chromosome Y pendant la méiose II paternelle ou pendant les premières divisions zygotiques peuvent produire un fœtus avec deux chromosomes Y. [69].

### **La dysgénésie gonadique mixte**

Les individus sont habituellement de phénotype masculin mais peuvent présenter une ambiguïté sexuelle voire un phénotype féminin. Ce type d'anomalie est la conséquence d'une non disjonction mitotique survenant après la fécondation (accidents post-zygotiques). [70].

### **Syndrome de micro délétion de chromosome Y**

Le bras long du chromosome Y (Yq) est considéré critique pour la fertilité. On observe souvent des délétions macroscopiques d'Yq11 chez des patients présentant une azoospermie, bien que beaucoup de nouvelles micro-délétions aient été impliquées comme cause significative de l'infertilité. On n'observe pas ces micro-délétions sur le caryotype ; plutôt, leur identification exige la réalisation de PCR (Polymerase Chain Reaction) ou de Southern blot. Les individus atteints sont phénotypiquement normaux. Les taux de FSH et LH sont le plus souvent élevés. [4].

### **Syndrome de Down**

Ces patients ont un léger dysfonctionnement testiculaire avec des degrés variables de réduction du nombre de cellule germinale. La LH et la FSH sont habituellement élevés. [4].

### **Autres anomalies chromosomiques** (Tableau 3, annexe). [61].

## **2-2-2 Atteinte testiculaire non chromosomiques**

L'atteinte testiculaire non-chromosomique peut être congénitale ou acquise par les drogues gonadotoxique, le rayonnement, l'orchite, le trauma, ou la torsion.

### **Varicocèle**

La varicocèle est définie par la dilatation variqueuse des veines du cordon spermatique. Elle représente un grand cadre étiologique possible des troubles de la spermatogenèse. Elle est caractérisée par une dilatation des veines spermatiques, qui s'accompagne souvent, mais pas toujours, d'une altération de la spermatogenèse. Sa prévalence dans la population mâle en général 15 %, et chez les hommes avec infertilité primaire 35 %. Les varicocèles sont généralement asymptomatiques. [71].

### **Chryptorchidisme**

C'est l'arrêt de la migration du testicule en un point quelconque de son trajet normal entre la région lombaire où il se forme et le scrotum où il doit se trouver à la naissance. C'est une cause majeure d'altération de la spermatogenèse. Elle peut être unilatérale (3 à 17 % des azoospermies) ou bilatérale (18 à 77 % des azoospermies). [72, 73,74].

### **Anorchie**

Absence totale de tissu testiculaire, due à un défaut de développement ou à une torsion testiculaire in utero. L'anorchie est unilatérale dans 80 % des cas et bilatérale dans 20 % des cas. Le caryotype est normal (46XY). [5].

### **Trauma**

Le trauma testiculaire est une cause acquise de l'infertilité. Les testicules sont en danger pour le trauma thermique et physique en raison de leur position exposée. [4].

### **Syndrome de SOC (aplasie des cellules germinales)**

Les patients présentent une aplasie des cellules germinales et des niveaux de LH et de testostérone normaux mais ont un niveau accru de FSH. L'étiologie est inconnue est probablement multifactorielle. Les hommes atteints sont de petite taille aux testicules petits ou normaux et sont azoospermiques. Les caractéristiques sexuelles secondaires sont normales. L'histologie montre des tubules séminifères rayés par des cellules de Sertoli et un tissu interstitiel normal, bien qu'aucune cellule germinale ne soit présente. [4,74].

### **Chimiothérapie**

Elle est souvent toxique pour les cellules en division surtout pour les spermatogonies et les spermatocytes. Les cellules germinales jusqu' au stade pré- leptotène sont particulièrement sensibles. Les drogues les plus toxiques sont les agents d'alkylation tels que le cyclophosphamide. Ainsi le traitement pour la maladie de Hodgkin mène à l'infertilité. [4, 74,75].

### **Thérapie radiologique**

Tandis que les cellules de Leydig sont relativement radio-résistant en raison de leur bas taux de division cellulaires, les cellules de Sertoli et les cellules germinales sont extrêmement radio sensible. Il est conseillé aux patients d'éviter la conception pendant 6 mois à 2 années en raison de la possibilité d'aberrations chromosomiques dans leur sperme provoquées par les propriétés mutagéniques des rayons utilisés. [4,75].

### **Orchite**

La cause la plus commune d'atteinte testiculaire acquise pour les adultes est l'orchite virale, habituellement provoquée par le virus d'oreillons, l'échovirus, ou l'arbovirus du groupe B. 25 % des adultes ayant des oreillons développent l'orchite ; deux tiers des cas sont des orchites unilatérales, et un tiers de cas sont des orchites bilatérales. Le virus affecte directement ou indirectement les tubes séminifères et cause un dommage ischémique en raison du gonflement intense du testicule et de la compression de l'albuginé. [74].

### **Autres causes**

La maladie de Granulomatous, l'anémie falciforme, la consommation d'alcool, le tabagisme, la consommation exagérée de caféine, peuvent mener à une atteinte testiculaire. [74].

## **2-3 Atteinte post testiculaire**

L'atteinte post testiculaire peut être due soit à une obstruction, soit une infection des glandes accessoires soit d'origine immunologique. [4, 74,75].

### **2-3-1 Les stérilités obstructives**

Les stérilités obstructives correspondent à une obstruction des conduits excréteurs. Elle est totale ou partielle, acquise ou congénitale. [12].

### **Obstructions congénitales des voies excrétrices**

Cette étiologie représente la cause la plus fréquente des stérilités excrétoires (60 % des cas) [13]. Il s'agit de l'absence de développement d'une partie plus ou moins étendue des voies excrétrices. La forme la plus classique, l'agénésie vésiculo-déférentielle, se traduit par l'absence des canaux déférents et des vésicules séminales.

Les agénésies épидидymo-déférentielles sont dues le plus souvent (au moins 50 % des cas) à des mutations du gène CFTR.

La mucoviscidose est une pathologie autosomique récessive. La symptomatologie habituelle associe une maladie pulmonaire obstructive, une insuffisance pancréatique exocrine, des occlusions intestinales et un trouble de la croissance. Le gène CFTR situé en 7q 31.2 contient 27 exons s'étalant sur 250 kb. Plus de 700 mutations ont été décrites. Elles peuvent avoir des effets sévères ou modérés en fonction des modifications induites sur la synthèse ou la fonction de la protéine CFTR. [76,77].

### **Obstructions acquises des voies excrétrices**

Il peut s'agir de :

➤ **Lésions accidentelles** : en particulier du canal déférent lors de la chirurgie des hernies inguinales, surtout chez l'enfant, ou encore des vasectomies réalisées antérieurement dans un but contraceptif.

➤ **Maladie kystique de l'épididyme** : c'est une atteinte dystrophique de l'épididyme, les kystes peuvent provoquer une compression de la partie adjacente de l'épididyme. L'étiologie de ces kystes reste inconnue. Le plus souvent une infection est en cause, dont les mécanismes physiopathologiques intervenant dans l'infertilité sont :

- **Un effet néfaste et direct de l'infection au niveau du spermatozoïde** : car il a été démontré que l'asthénospermie augmente avec la concentration en germes ; au-delà de 107 à 108 germes par ml, les spermatozoïdes s'immobilisent et forment des agrégats ;

- **Un dysfonctionnement sécrétoire des glandes génitales annexes** (vésicules séminales et prostate) avec un effet indirect sur les spermatozoïdes ;
- **Une inflammation ou une sclérose secondaire testiculaire au niveau du tissu germinal** (diminuant le nombre de spermatozoïdes) ou canaliculaire (gênant leur transport) ;
- **Une tuberculose uro-génitale ou une gonococcie** sont les deux infections responsables de stérilités obstructives. Les germes actuellement souvent en cause sont des germes gram négatifs colonisant le tractus génital dans les suites d'une infection urinaire ou d'une maladie sexuellement transmissible (MST), tel que la chlamydia. [4, 12, 74,75].

### **2-3-2 Immunologique.**

La stérilité d'origine immunitaire se caractérise par la présence d'anticorps anti spermatozoïdes qui ne sont pas générateurs en eux mêmes de troubles de la fécondité mais peuvent y participer en association avec d'autres facteurs. L'immunité anti-sperme peut être un facteur d'infertilité masculine, mais très souvent il n'y a pas d'antécédents pathologiques ni d'anomalies à l'examen génital et seul l'agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat évoque une auto-immunisation anti-sperme. Cette agglutination va perturber la mobilité, ainsi que le pouvoir fécondant du sperme.

Les anticorps anti-sperme présents chez les hommes peuvent être de la classe d'IgG, d'IgA ou d'IgM. [74, 75,78].

### **I- Patients**

Nous avons effectué dans les services d'endocrinologie et de biologie génétique du CHU de Constantine une étude prospective d'hommes infertiles qui se présentent en consultation par les médecins de ces services.

Cette étude porte sur une durée totale de 18 mois d'Octobre 2005 à Avril 2007.

Il a été établi pour chaque patient, une fiche d'observation (Annexe).

Les examens biologiques (spermogramme : tableau 4, annexe) et hormonaux (dosage de FSH, LH et testostérone) sont établis pour chaque patient par les services compétents concernés.

#### **1- Critères d'inclusions / exclusions**

L'échantillon comprend 14 patients. Les patients ayant une azoospermie ou une oligospermie d'origine sécrétoire avec ou non un hypogonadisme (FSH élevé, LH élevé ou normal), c'est-à-dire présentant une atteinte testiculaire, sont inclus dans cette étude.

Les malades présentant une infertilité liée aux problèmes pré ou post-testiculaire seront exclus de cette étude.



## II- Matériel et réactifs

### 1- Matériel

- Automate pour analyse hormonale (Roche) Elecsys 2010.
- Incubateur pour culture cellulaire (étuve) avec une pression de CO<sub>2</sub> modulable.
- Hotte à flux laminaire vertical.
- Centrifugeuse à grande vitesse.
- Bain marie thermostaté à 37° C +/- 0,1° C.
- Réfrigérateurs à 4° C, un congélateur à – 20° C.
- Microscope optique (Zeiss) équipé d'un système d'acquisition d'image, relié à un ordinateur muni d'un système de traitement d'image (logiciel BandView™ EXPO 2.0 mis au point par Applied Spectral Imaging).
- Agitateur magnétique.
- Barreau pour agitateur.
- Balance.

### 2- Réactifs

#### 2-1 Réactifs pour analyse hormonale

- Microparticules tapissées de stréptavidine.
- Anticorps anti-FSH-biotine.
- Anticorps anti-FSH-Ru (bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.
- Anticorps anti-LH-biotine.
- Anticorps anti-LH-Ru (bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.

### **2-2 Réactifs pour culture cellulaire et caryotype**

#### **2-2-1 Réactifs pour culture cellulaire**

- RPMI 1640 sans bicarbonate, sans L-Glutamine.
- Solution de bicarbonate de sodium 7,5 %.
- Streptomycine.
- Pénicilline.
- L-Glutamine (200 mM).
- Sérum humain.

#### **2-2-2 Réactifs pour réalisation des caryotypes**

- Colchicine à 20 mg / l.
- PHA C (phytohémagglutinine C).
- Héparine de sodium.
- KCl (chlorure de potassium) à 5,6 g/l.
- Méthanol.
- Acide acétique glacial.
- Milieu EBS (Earl Balanced Salt).
- Phosphate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).
- Giemsa liquide.
- Huile à immersion.

### **III- Méthodologie**

#### **1- Analyse hormonale**

##### **1-1 Prélèvement**

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux recueilli sur des tubes standards héparinés (héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2 ml (prélèvement stérile).

##### **1-2 Préparation des réactifs**

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi.

##### **1-3 Principe**

- La durée totale du cycle analytique est de 18 minutes.
- Les tubes contenant le sang total sont centrifugés pendant 15 minutes à 4000 tours par minute.
- 1<sup>ère</sup> incubation : on met 40 µl de sérum dans la cuvette réactionnelle en présence d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué au ruthénium.
- 2<sup>ème</sup> incubation : les microparticules tapissées de stréptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison stréptavidine – biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage Pro Cell.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par photomultiplicateur.

- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration.
- L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en m UI/ml.
- Les valeurs de référence sont indiquées dans le tableau -5- (annexe).
- Pour le dosage de la LH on suit le même principe sauf qu'on doit utiliser des réactifs spécifiques pour la LH.

## 2- Analyse cytogénétique

- Application de la technique du caryotype standard sur prélèvement sanguin (sans dénaturation), actuellement en utilisation pour le diagnostic de la trisomie 21 et les ambiguïtés sexuelles.
- Mise au point de la technique du R-banding (reverse) avec dénaturation par la chaleur, également réalisée sur prélèvement sanguin, et qui permet un examen plus fin du caryotype (translocations et délétions), préconisé dans l'analyse cytogénétique des infertilités masculines.

### 2-1 Prélèvement

Le prélèvement consiste en une prise de sang veineux dans un tube contenant un anticoagulant (l'héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 2,5 ml (prélèvement stérile). Le laboratoire doit être prévenu de l'envoi d'un échantillon, dans la mesure du possible avant son prélèvement, afin d'en optimiser les conditions de recueil.

Le sang peut être conservé à 4 ° C jusqu'à la certitude d'avoir obtenu une culture permettant la réalisation du caryotype (une durée maximale de 4 jours).

On doit vérifier l'aspect anormal de l'échantillon, quantitativement et qualitativement (aspect laqué, dilué, présence de caillots, volume insuffisant ...).

### 2-2 Mise en culture

Le sang est mis en culture dans des flacons du type Falcon avec le milieu de culture RPMI (sans L- glutamine), c'est un milieu de culture fournit prêt à l'emploi, mais qui nécessite une dilution de l'ordre de 1/10.

Le milieu de culture RPMI natif, est appelé également milieu de Moore (référence : RPMI-1640 medium 10 x, sterile filtered, endotoxin tested. SIGMA).

➤ Préparation du milieu de culture RPMI prêt à l'emploi (préparé avant utilisation extemporanément ou utilisé en aliquotes congelés a - 20° C) :

- Milieu de culture RPMI natif : 5 ml.
- Bicarbonate : 1,350 ml.
- 1 goutte de pénicilline (antibiotique).
- 1 goutte de streptomycine (antibiotique).
- 50 ml en qsp (en quantité suffisante pour) d'eau distillé stérile.
- 7 gouttes de NaOH pour ajuster le pH.

On ajoute le NaOH par goutte et on note le virage de couleur jusqu'à obtenir une teinte marron plus ou moins foncé.

On met dans chaque tube :

- Milieu de culture RPMI prêt a l'emploi : 6,5 ml.
- Sérum humain: 1,5 ml.
- PHA C (phytohémagglutinine): 100 µl (lyophilized powder to be solubilized with sterile demineralised water. BIOSEPPRA).
- Héparine : 50 µl.

Puis on ajoute notre échantillon de sang : 200  $\mu$ l.

La PHA qui est un mitogène va stimuler les lymphocytes T et les transformer en lymphoblastes qui vont reprendre leur division cellulaire. Le but est d'obtenir un nombre suffisant de mitose après traitement des cultures.

La culture est réalisée sur des flacons du type Falcon, elles sont disposés horizontalement dans une étuve à 37° C, pendant 72 heures (cultures brèves plus facile à réaliser).

L'observation des cultures sous microscope après 72 h n'est pas nécessaire, les manipulations pour l'obtention du caryotype seront entamées directement.

### **2-3 Caryotype standard : arrêt des mitoses, fixation, étalement et observation**

#### **✚ Blocage des mitoses**

Après 72 heures on effectue un blocage des mitoses en métaphase par ajout de la colchicine à 150  $\mu$ l, puis on homogénéise les tubes en les retournant doucement plusieurs fois.

- On remet les tubes dans l'étuve à 37° C après addition de la colchicine, pendant 1 heure 30 en position horizontale pour que la colchicine puisse agir.

#### **✚ Choc hypotonique**

Au bout d'1 heure et demie, on transvase le contenu de chaque flacon dans deux autres tubes de 15 ml pour chaque malade. Puis on centrifuge les tubes pendant 10 minutes à 1500 tours par minute.

- On jette le surnageant et on ajoute 0,5 ml de KCl à 5,6 g/l pour réaliser le choc hypotonique, puis on mélange par des agitations tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, puis vigoureusement et on termine cette étape en complétant avec le KCl en qsp jusqu'à 5 ml.

- On remet ensuite les tubes à l'étuve à 37° C pendant 20 minutes en position horizontale.

### **Préfixation**

- On prépare la solution de fixation qui est un mélange de méthanol et d'acide acétique, avec des proportions de 3 V de méthanol et 1 V d'acide acétique. Le volume de la solution de fixation à mettre n'est pas important, cette étape est appelée préfixation ; ce n'est qu'un simple lavage permettant d'éliminer le reste du KCl.
- On mélange puis on centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes.
- On jette le surnageant.

### **Fixation**

- La 1<sup>ière</sup> fixation se fait en ajoutant 0,5 ml de la solution de fixation puis on mélange tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite en qsp jusqu'à 5 ml. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre (un volume en qsp jusqu'à 5 ml indiqué par une graduation sur le tube). On centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes et on verse le surnageant.
- La 2<sup>ième</sup> fixation se fait en ajoutant 0,5 ml de la solution de fixation puis on mélange tout d'abord doucement, jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite jusqu'à un volume en qsp jusqu'à 5 ml. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre. On centrifuge à 1500 tours / minute pendant 5 minutes et on retire le surnageant avec une pipette en laissant comme même de 0,5 à 1 ml : un volume proportionnel avec la quantité du culot cellulaire. Ce paramètre aura son importance par la suite sur la détermination de la densité des lames en noyaux.

### **Étalement des lames et Observation**

- On mélange jusqu'à dissolution du culot dans le surnageant (c'est en quelque sorte une dilution des mitoses observable sous microscope).

- Avant l'étalement, on doit apprécier la bonne marche de la manipulation jusqu'ici. Cela se fait sous microscope optique. On dépose 5 gouttes séparées de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre ou par passages rapides et successives sur un bec. On colore par le Giemsa dilué au 1 / 20, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface. On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

- Sous microscope, on voit les chromosomes en métaphase et on essaye de repérer les bonnes mitoses avec des chromosomes bien visibles, structurés et individualisés. Dans le cas contraire, il faut tout recommencer (à partir du même prélèvement ou d'un autre si celui-ci a été fait plus de 3 jours auparavant).

- Si la qualité des mitoses est satisfaisante, on va réaliser l'étalement. On dépose 3 gouttes de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre ou par passages rapides et successives sur un bec. On colore par le Giemsa dilué au 1 / 20, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface. On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

### **NB :**

Par mesure de sécurité on a réalisé pour chaque prélèvement 2 cultures et pour chaque culture traitée avec succès on utilise 6 lames au minimum.

- Les lames sont marquées avec un crayon diamant.

- La coloration des lames se fait avant ou après vieillissement.

Les lames sont rincées et mis à l'air libre pour l'étape de vieillissement. On les dépose dans une boîte, hermétiquement fermée.

La date à laquelle s'est faite la confection de ces lames est notée afin de connaître la durée du vieillissement ; paramètre qui aura son importance par la suite pour la réalisation du banding.



### 2-4 R-banding

Pour réaliser le R-banding, il faut :

- Des lames avec de bonnes mitoses.
- Milieu EBS fournit dans des flacons de 500 ml, et qui va pour l'utilisation être dilué au 1 / 10 avec de l'eau distillé.
- Milieu de dénaturation (solution EARL préparé au laboratoire) :
  - NaCl : 68g.
  - KCl : 4g.
  - Mg SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O: 1g.
  - Glucose : 10g.
  - CaCl<sub>2</sub> 2 H<sub>2</sub>O : 2g.
  - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O : 1,25g.
  - 1000 ml d'eau distillée.

Après la préparation on fait une dilution au 1 / 10 avec de l'eau distillée. Ce milieu donne de très bons résultats.

- Phosphate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) sous forme de poudre pour équilibrer le pH du milieu de dénaturation jusqu'à 6,5. De très petites quantités sont ajoutées et le virage du pH est surveillé par le pH-mètre. Cela peut prendre beaucoup de temps (30 à 40 min).

Les lames vieilles seront réhydratées dans de l'eau distillé avant la dénaturation ; la durée n'est pas précisée (un minimum de 10 min).

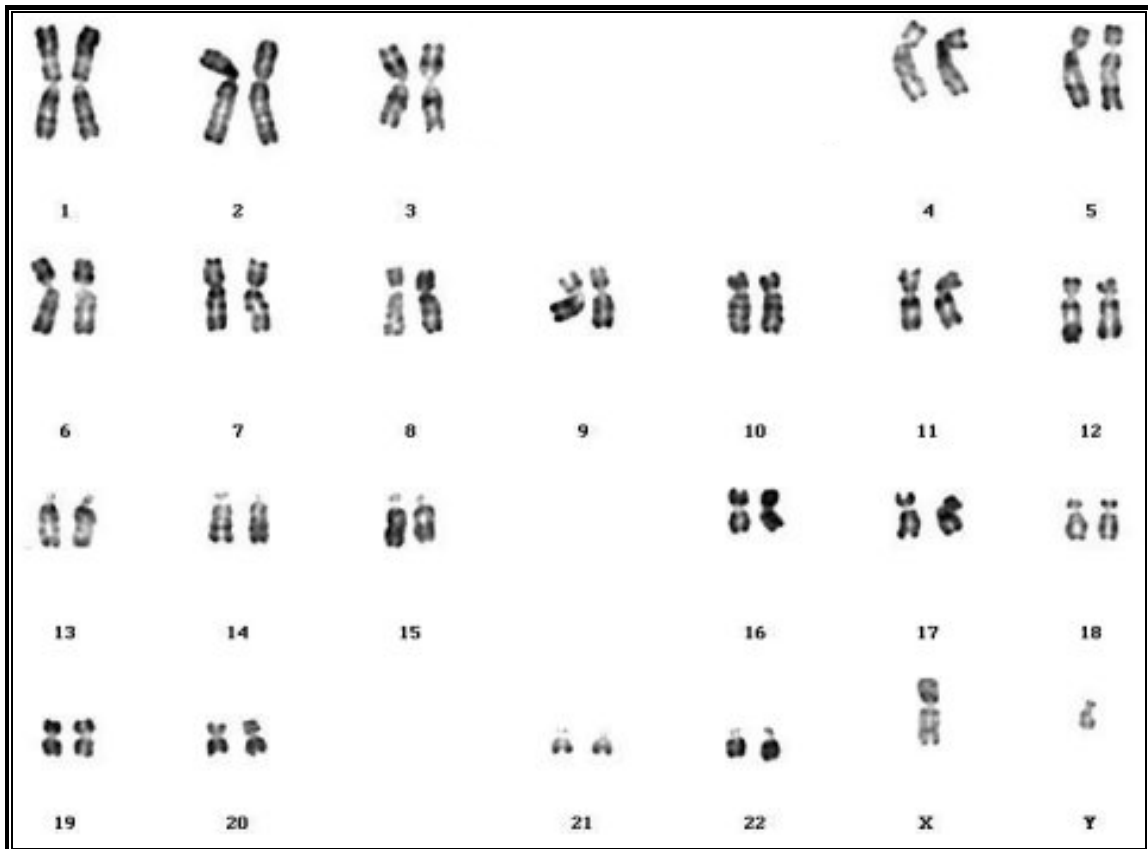
D'abord on préchauffe la solution dénaturante de Earl à 87° C au bain marie dans des becs en porcelaine de 20 à 30 minutes. Puis on plonge les lames après réhydratation avec de l'eau

distillée dans cette solution pendant un temps variable, à déterminer (environ 30 minute en général). Puis on rince les lames à l'eau courante.

On colore ensuite par le Giemsa dilué au 1 / 20 pendant 10 à 15 minutes.

Le temps de dénaturation est un facteur essentiel de la réussite de cette technique, et l'obtention de bandes R, identifiables et surtout reproductibles. Ce temps varie en fonction de 2 paramètres :

- La richesse des lames.
- La durée du vieillissement.



**Figure 14 : Caryotype masculin normal en bande R. Formule chromosomique : 46, XY.  
[Cochin, 2005]. Grossissement X 100**

L'échantillon comprend 14 patients. 12 / 14 patients avec azoospermie, 2 / 14 patients avec oligospermie dont un avec oligospermie sévère (inférieur à  $5 \times 10^6$  spermatozoïde / ml). L'âge moyen de ces patients est de 32,5 ans (gamme de 27 à 62 ans).

Les cultures cellulaires réalisées sur l'ensemble de nos échantillons ont donné des résultats positifs pour 12 malades d'entre eux, 2 prélèvements ont été stériles et il a été difficile d'effectuer de nouveaux prélèvements en raison de problèmes techniques.

Les anomalies cytogénétiques et leurs variantes ont été détectés pour 4 / 14 (28,57 %).

### I- Choix des cas

Nous avons choisi de présenter 6 cas d'hommes infertiles après étude hormonale et cytogénétique. Ce choix s'effectue en fonction de :

- La présence de tous les signes clinique et biologique d'une atteinte testiculaire d'origine génétique.
- L'existence d'anomalies cytogénétique associées à la pathologie en question.

- ✚ Le premier cas représente un syndrome de Klinefelter homogène 47, XXY.
- ✚ Le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> cas ont un caryotype en mosaïque 45, XO (10 %) / 46, XY (90 %).
- ✚ Le 4<sup>ème</sup> cas est un syndrome du mâle XYY.
- ✚ Le 5<sup>ème</sup> cas présente tous les signes cliniques et biologiques d'un syndrome de Klinefelter mais un caryotype normal.
- ✚ Le 6<sup>ème</sup> cas est un homme infertile dont la biopsie testiculaire montre un arrêt de la spermatogenèse au stade de spermatides (pas de maturation de spermatides en spermatozoïdes).

Parmi les 8 cas restants, 2 ont des cultures stériles. Les 6 autres présentent un caryotype normal en dépit d'une azoospermie d'origine sécrétoire et des taux de FSH et de LH perturbés, ceci n'exclut pas la possibilité de présence d'anomalies structurales qui ne peuvent être mis en évidence par le caryotype standard, ni par le R-banding.

## II- Présentation des cas

Nous avons choisit d'exposer les résultats des 6 cas rencontrés dans le laboratoire de biologie génétique du CHUC, avec une présentation clinique faisant surgir les signes d'appel symptomatologique ainsi que les résultats du spermogramme et de l'analyse hormonale dont les taux étaient perturbés.

### 1- Aspect clinique et biologique

#### Cas N° 1

L'homme est âgé de 62 ans, le spermogramme révèle une azoospermie totale et l'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée (48,7 m UI / ml).
- LH élevée (15,3 m UI / ml).
- Testostérone basse.

#### Cas N° 2

L'homme est de 32 ans, le spermogramme a indiqué une azoospermie totale et dont l'analyse hormonale a révélée une :

- FSH élevée 37,5 m UI / ml.
- LH élevée 14,20 m UI / ml.
- Testostérone normale 9,03 ng / ml.

### Cas N° 3

L'homme âgé de 32 ans avec azoospermie totale, l'examen clinique par le médecin traitant a posé comme diagnostic une hypotrophie testiculaire gauche et un testicule droit non objectivé. L'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée 36,2 m UI / ml.
- LH élevée 13,9 m UI / ml.
- Testostérone normale 10,2 ng / ml.

### Cas N° 4

Il s'agit d'un homme de 30 ans dont l'examen clinique par le médecin traitant montre des testicules de petite taille ainsi qu'une gynécomastie. Ce patient est phénotypiquement de grande taille (approximativement 2 mètres) et montrant des signes de débilité légère. Le spermogramme révèle une oligospermie. L'analyse hormonale indique une :

- FSH élevée 14,3 m UI / ml.
- LH normale.
- Testostérone normale.

### Cas N° 5

L'homme est de 31 ans et présente une azoospermie, l'examen clinique révèle une gynécomastie bilatérale, une atrophie testiculaire et une obésité gynoïde.

L'analyse hormonale montre une :

- FSH élevée. 35,9 m UI / ml.
- LH élevée 16,4 m UI / ml.
- Testostérone non établie.

### Cas N° 6

Il s'agit d'un homme infertile de 39 ans dont la biopsie testiculaire révèle des spermatozoïdes bloqués au stade de spermatides, avec des taux d'hormones FSH, LH élevés.

## 2- Aspects cytogénétique

### 2-1 Cultures cellulaires et caryotype standard

### 2-2 Interprétation des caryotypes

L'étude des caryotypes se fait sur plusieurs mitoses de lames différentes. Un minimum de 20 mitoses sera observé et 5 classements réalisés pour chaque malade, les meilleurs résultats pour chaque patient seront présentés ci-dessous.

La formule chromosomique est établie selon la nomenclature internationale en vigueur (ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature 95).

Dans un caryotype, pour affirmer une anomalie chromosomique, on exige :

- 2 mitoses présentant le même gain chromosomique ou la même anomalie de structure.
- 3 mitoses présentant la même perte chromosomique.

En effet, le caryotype nécessite une culture cellulaire, la plus courte possible (1 à 3 j en général). Afin d'éviter que des anomalies se créent au cours de la culture, mais aussi de la manipulation des caryotypes réalisée par la suite, et qui comporte un choc hypotonique et des fixations qui sont nécessaires, mais qui doivent être "ménagés" afin d'éviter une fragilisation excessive de la membrane cellulaire, ce qui peut entraîner des pertes ou des gains artéfactuels de chromosomes.

Parmi les anomalies chromosomiques, on distingue :

- Des anomalies primaires, présentes dans toutes les cellules de l'individu.
- Des anomalies secondaires présentes dans une ou plusieurs sous populations cellulaires définissant ainsi un mosaïcisme plus ou moins étendu.

On observe dans les infertilités masculines des anomalies de nombres, et des anomalies de structures :

### 2-2-1 Les anomalies numériques

Encore appelées aneuploïdies (euploïdie = 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels ou gonosomes X, Y). Elles correspondent à des anomalies du nombre de lots chromosomiques ou des anomalies par excès ou par défaut au niveau d'une seule paire de chromosomes.

#### Les anomalies du nombre de lots chromosomiques :

- **Haploïdie (n)**, si le nombre de chromosomes est égale à 23, (un seul lot chromosomique).
- **Triploïdie à 69 (3n)** chromosomes avec 3 lots chromosomiques (résulte le plus souvent d'une anomalie de fécondation (polyspermie).
- **Tétraploïdie à 92 (4n)**, chromosomes avec 4 lots chromosomiques (résulte d'une duplication précoce de l'ensemble des chromosomes).

#### Les anomalies par excès ou par défaut au niveau d'une ou de plusieurs paires de chromosomes.

- **Trisomie**, quand il y a gain d'un chromosome.
- **Monosomie**, quand il y a perte d'un chromosome.

Les anomalies numériques de type trisomie / monosomie résultent toujours d'un mécanisme de mal ségrégation méiotique ou mitotique (ex : trisomie 21, 13, 18, Turner, Klinefelter etc...)

S'il existe plusieurs clones au sein du caryotype, ils seront séparés par un "slash", le clone présentant un caryotype normal sera écrit en dernier.

### 2-2-2 Les anomalies structurales

Se caractérisent par une morphologie anormale d'un chromosome (remaniement intra chromosomique) ou de plusieurs chromosomes (remaniement inter-chromosomique). Elles résultent de cassures chromosomiques suivies de recollement des fragments cassés. Elles peuvent être équilibrées (phénotype normal) ou déséquilibrées (phénotype anormal).

#### **Exemples de remaniements intra-chromosomiques :**

- **Équilibrés** : inversions péri centriques et para centriques.
- **Déséquilibrés** : délétions, chromosome en anneau.

#### **Exemples de remaniements inter-chromosomiques :**

- **Équilibrés** : translocation réciproque, robertsonnienne.
- **Déséquilibrés** : translocations déséquilibrées avec trisomie partielle et monosomie partielle.

Dans la très grande majorité des cas, les anomalies chromosomiques sont uniques (pures). Dans des cas rares, des doubles aneuploïdies peuvent être observées (ex : trisomie 21 + klinefelter, trisomie 21 + turner, trisomie 18 + anomalie gonosomique).



### 2- Présentation des caryotypes :

On va présenter pour chaque cas l'aspect du noyau éclaté sous l'effet du choc hypotonique pour identifier les chromosomes appartenant au noyau et éliminer les autres appartenant à d'autres noyaux adjacents sur lame. Cette observation nous permettra également d'identifier des artefacts, à qui la présence pourrait conduire à une interprétation erronée du caryotype. Ainsi que certains caryotypes en bandes R.

Le classement des chromosomes est établi par le logiciel, ce classement sera ensuite vérifié et corrigé.

#### Principes d'identification chromosomique

Les chromosomes colorés uniformément ne peuvent être distingués que par catégories de taille, ou par groupes en fonction de la position du centromère.

Les critères de classification permettent de distinguer 7 groupes chromosomes :

- **Groupe A** : chromosomes 1, 2 et 3 (les chromosomes 1 sont les plus grands du caryotype).
- **Groupe B** : chromosomes 4 et 5.
- **Groupe C** : chromosomes 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 en plus du ou des chromosome(s) X dont la taille est voisine de celle d'un chromosome 6.
- **Groupe D** : chromosomes 13, 14 et 15 (chromosomes acrocentriques).
- **Groupe E** : chromosomes 16, 17 et 18.
- **Groupe F** : chromosomes 19 et 20.
- **Groupe G** : chromosomes 21 et 22 (chromosomes les plus petits du caryotype, auxquels on adjoint le chromosome Y).

Chez l'individu masculin normal la formule chromosomique s'écrira 46, XY.

### Cas N° 1

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Ces dernières sont présentées ci-dessous.

#### **Interprétation du caryotype**

Dans le cas présenté d'infertilité masculine d'origine sécrétoire, nous remarquons que le caryotype est aneuploïde, avec présence d'un chromosome X surnuméraire.

Le diagnostic clinique et biologique nous permet d'affirmer qu'il s'agit d'un syndrome de Klinefelter typique homogène 47, XXY.

Les résultats observés sur le spermogramme, les analyses hormonales et cytogénétique confirment le type d'infertilité masculine à savoir le syndrome de Klinefelter, ce qui traduit hypogonadisme hyper gonadotrope avec FSH et LH élevées.

À ce stade de notre étude et de notre enquête aucune remarque ne peut être faite sur l'étiologie de la maladie.

Cas N° 1

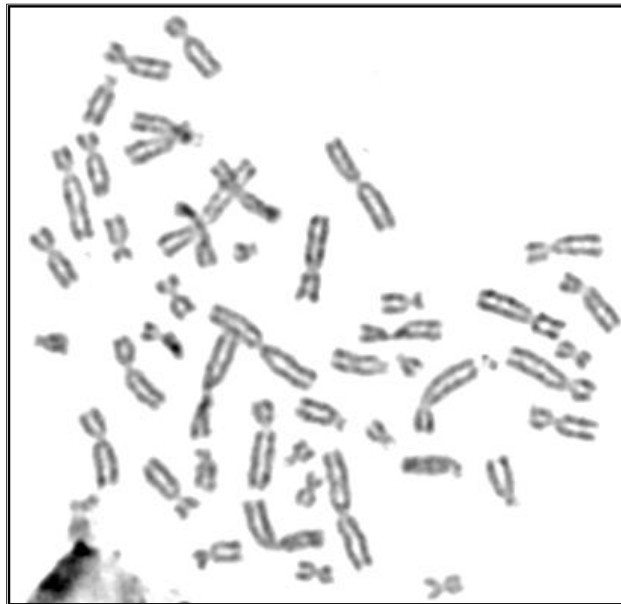


Figure 15 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

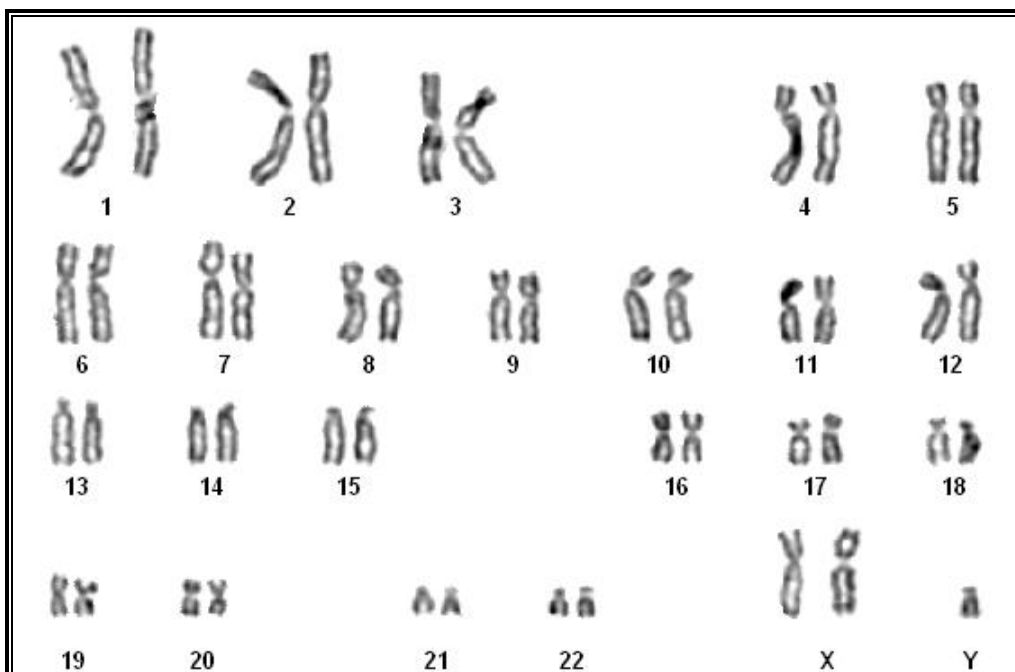


Figure 16 : Caryotype standard d'un Klinefelter. 47, XXY.

### Cas N° 2

#### Culture cellulaire

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec de bonnes mitoses. Ces dernières sont présentées ci-dessous. Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'une dénaturation par la chaleur. Ces résultats sont aussi présentés.

#### Interprétation des caryotypes

Après étude de 30 mitoses, nous avons constaté l'existence de 2 sous populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

- La première sous population montre un caryotype aneuploïde, présentant une anomalie de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y manquant. Elles sont de type 45, XO.
- La deuxième sous population ; le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre ; elles sont 46, XY.

Ce caryotype correspond à une mosaïque, bien que le nombre de mitoses étudiées ait été insuffisant pour confirmer l'existence de ce type d'anomalies (le mosaïcisme étant normalement confirmé après étude de 100 mitoses selon les recommandations de l'ISCN) ; on n'a pas eu la possibilité de travailler sur un nombre de mitose convenable à cause de la qualité et la quantité de ces dernières.

À travers les résultats du spermogramme et les analyses hormonales et cytogénétiques, nous pouvons conclure que le type d'infertilité masculine est une dysgénésie gonadique mixte pour compléter le diagnostic.

Etant donné la répartition et le pourcentage relevé dans ce mosaïcisme **45 ; XO (10 %)/46 ; XY (90 %)**, cela traduit l'hypogonadisme hyper gonadotrope (FSH, LH élevées), résultats observés dans les paramètres hormonaux.

Cas N° 2 (Une cellule à 46, XY)

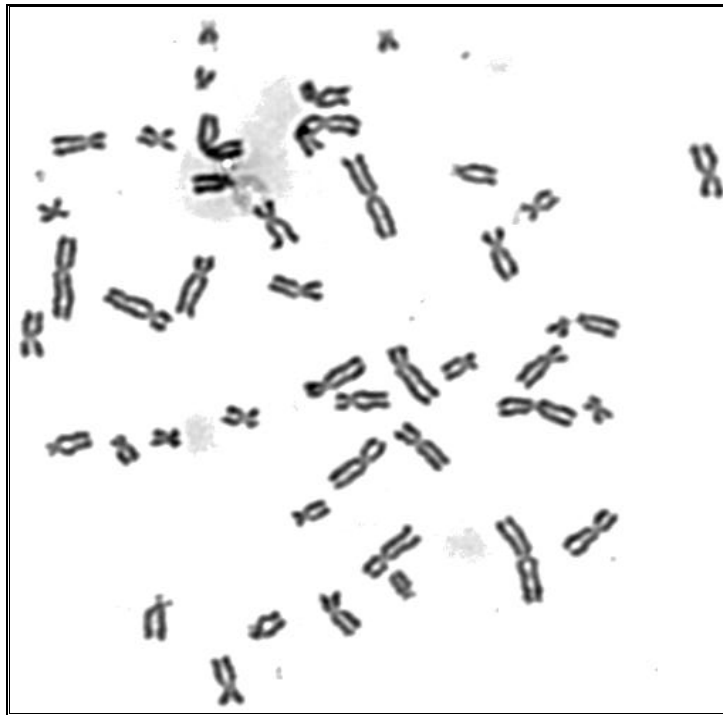


Figure 17 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100.

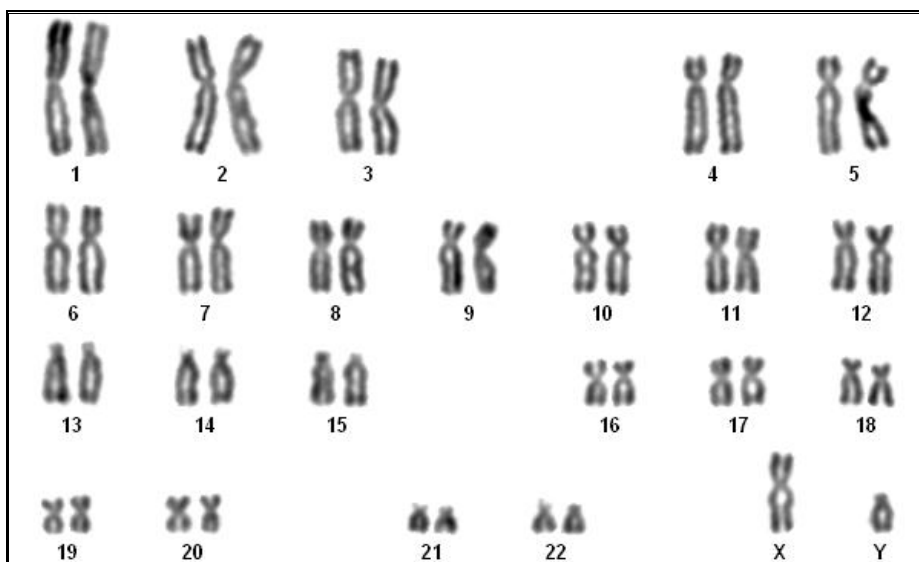


Figure 18 : Caryotype standard d'un homme infertile : 46, XY.

Cas N° 2 (Une cellule à 46, XY)



Figure 19 : Chromosomes métaphasiques en début de bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100.

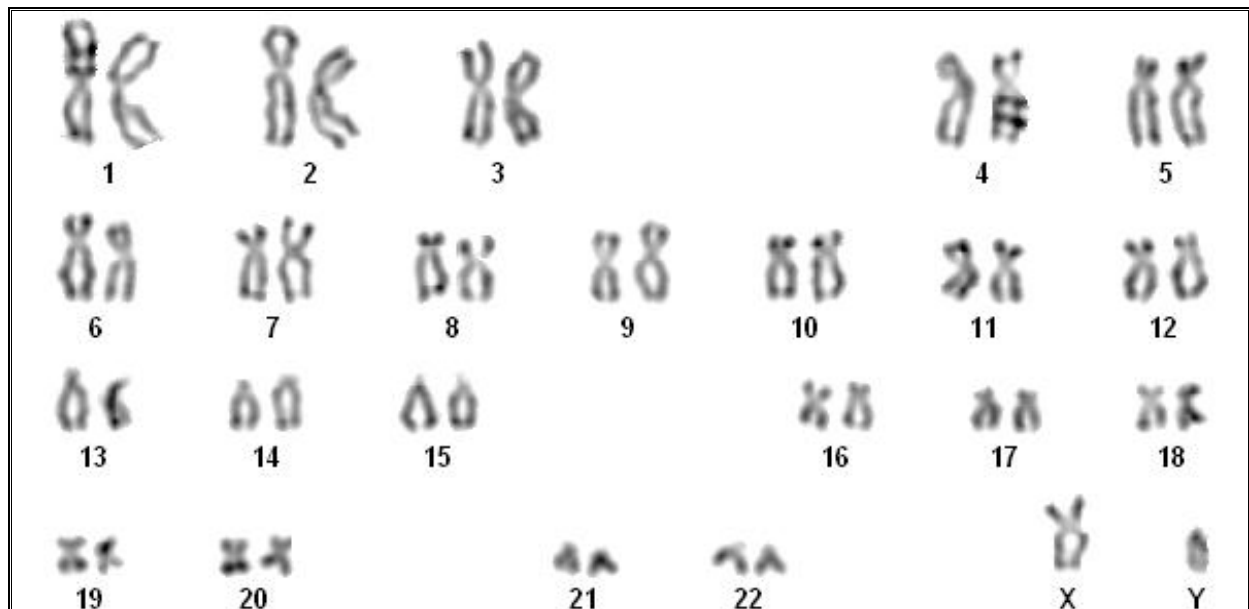


Figure 20 : Caryotype standard en bandes R du cas N° 2 : 46, XY.

Cas N° 2 (Une cellule à 45, XO)

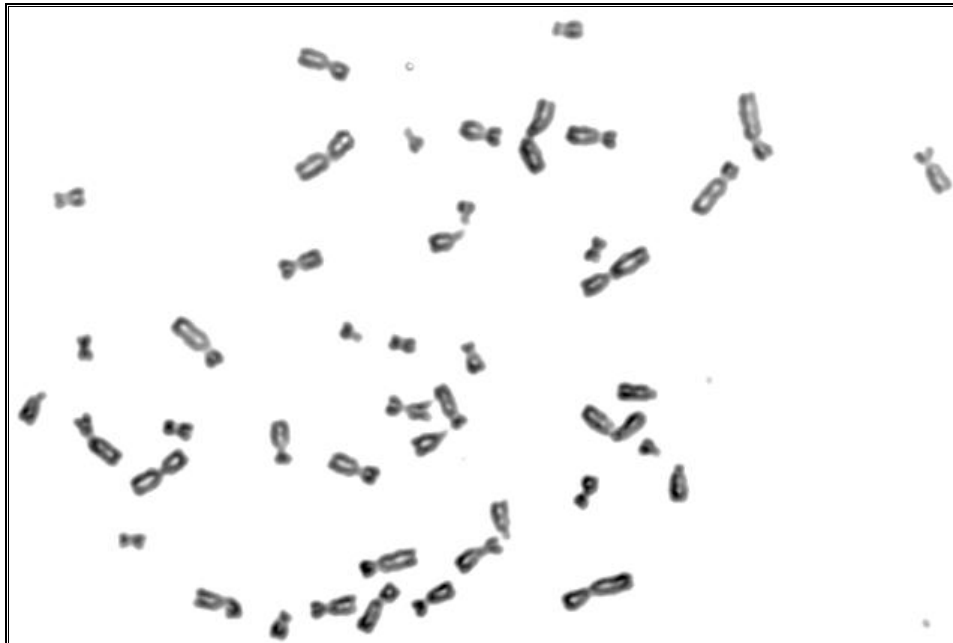


Figure 21 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

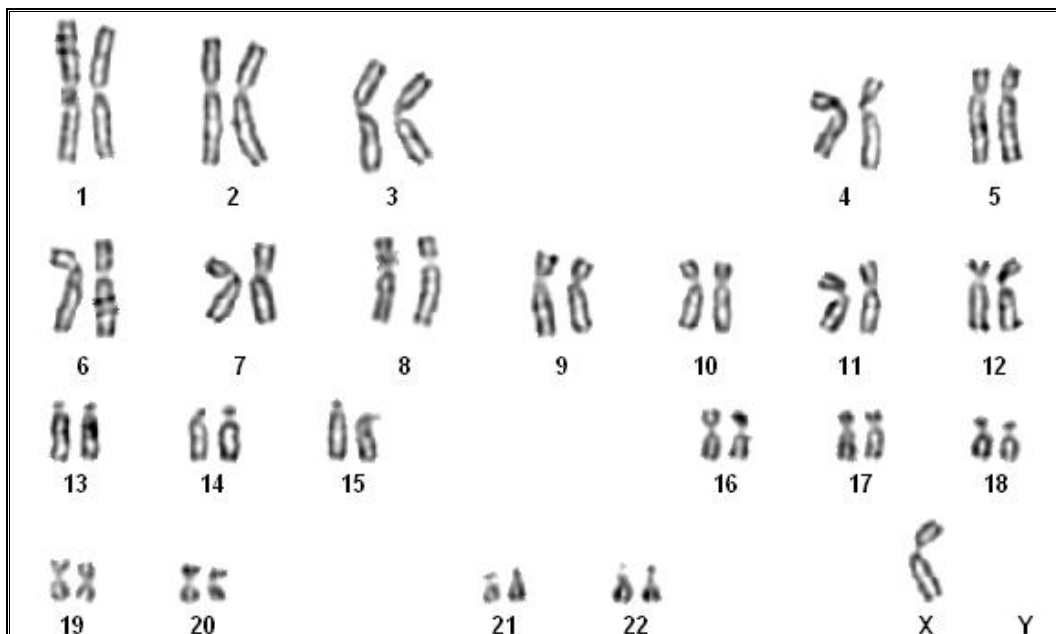


Figure 22 : Caryotype standard du cas N° 2 : 45, XO

### Cas N° 3

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités (existence de quelques bonnes mitoses). Ces dernières sont présentées ci-dessous.

Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'un R-banding. Des métaphases sont présentées.

#### **Interprétation des caryotypes**

Après étude de 50 mitoses, on a constaté l'existence de 2 populations cellulaires hétérogènes avec un équipement chromosomique différent :

Il présente également comme le cas N° 2 une sous population avec un caryotype aneuploïde, présentant des anomalies de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y manquant, et des cellules avec un caryotype euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre ; 46, XY qui nous ont amené à conclure le type d'infertilité masculine est une dysgénésie gonadique mixte en présence d'anomalies cytogénétique associées à savoir 45 ;XO (15 %) / 46 ; XY (85 %), cela traduit l'hypogonadisme hyper gonadotrope.



Cas N° 3 (Une cellule à 46, XY)

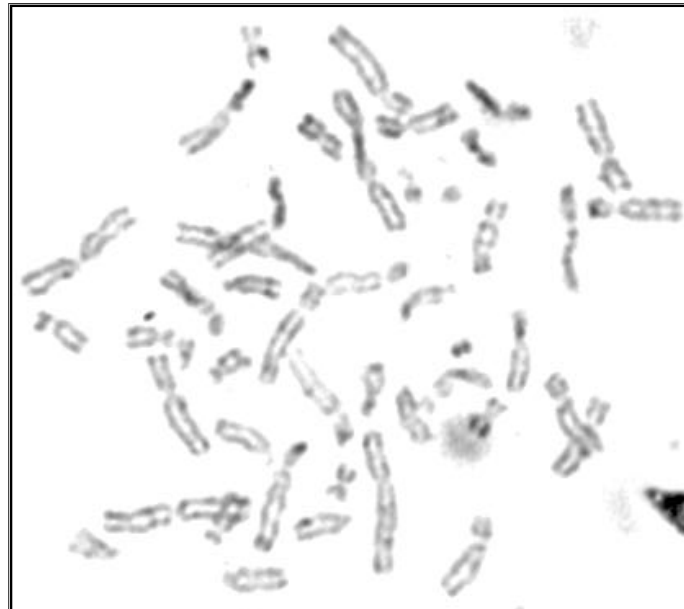


Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100

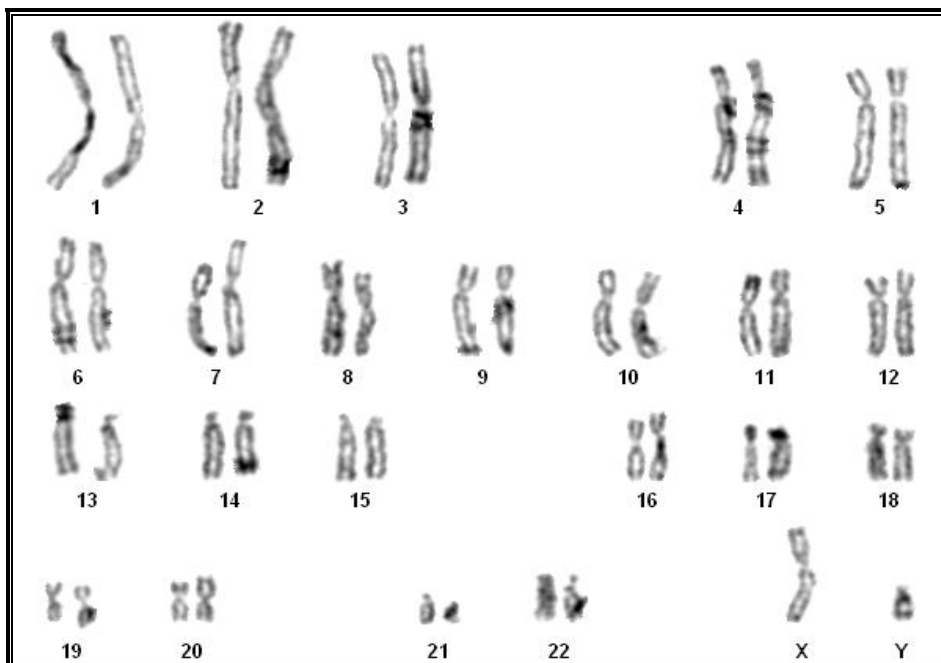


Figure 24 : Caryotype standard du cas N° 3, une cellule à 46, XY.

Cas N° 3 (Une cellule à 46, XY)

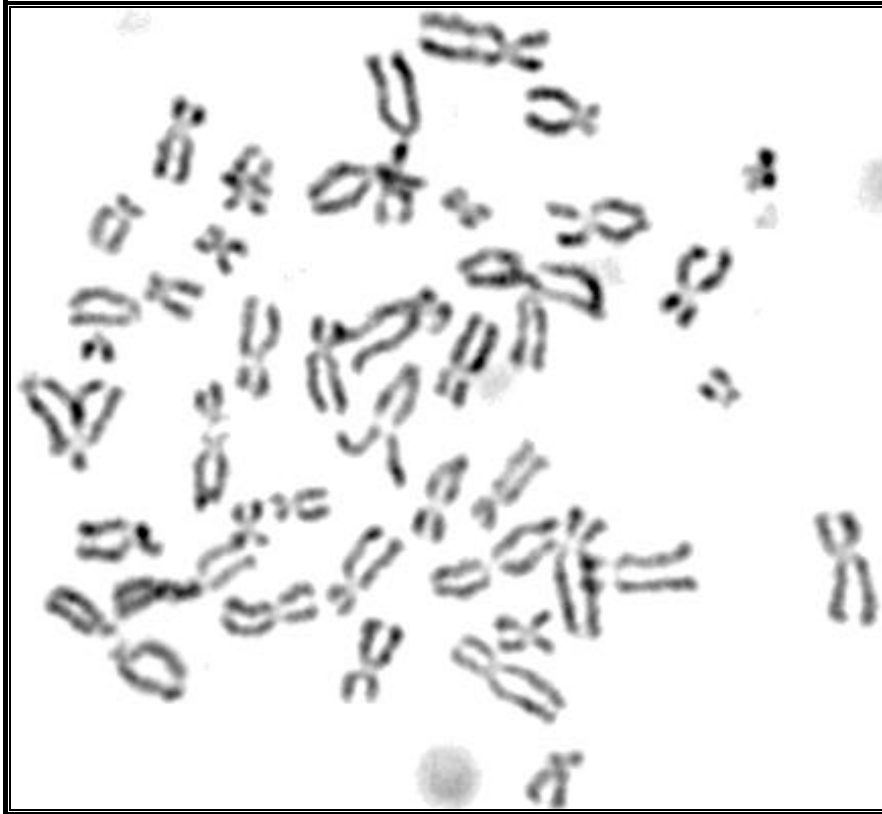


Figure 25 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100

Cas N° 3 (Une cellule à 45, XO)

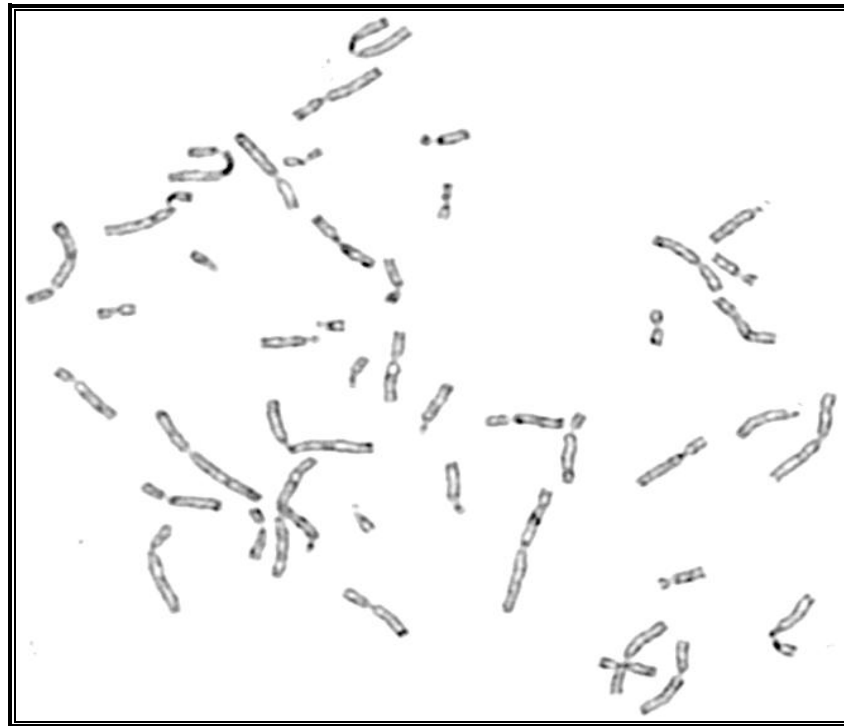


Figure 26 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. GX 100.

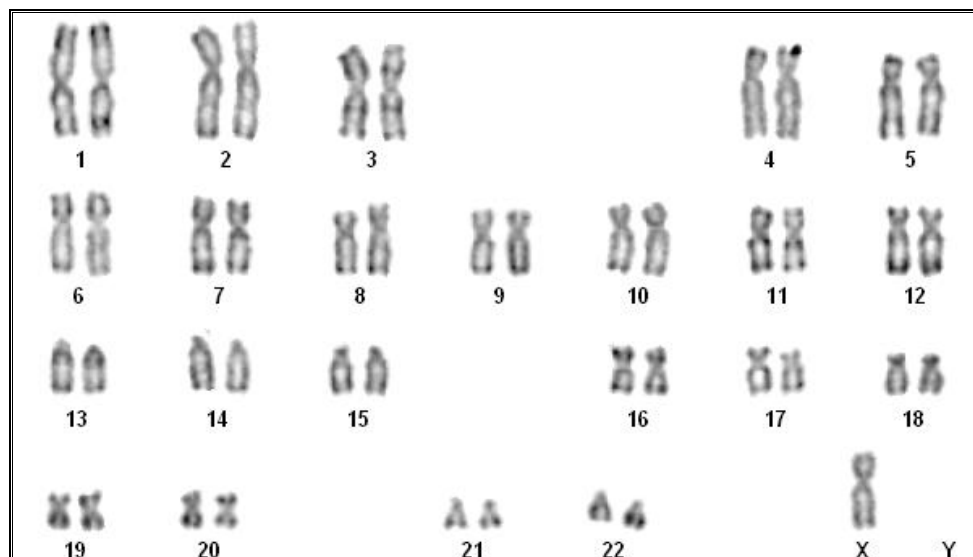


Figure 27 : Caryotype standard en bandes R, une cellule à 45, XO

### Cas N° 4

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les résultats obtenus après réalisation du caryotype standard. Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Des résultats ont été aussi obtenus après réalisation d'une dénaturation par la chaleur.

#### **Interprétation des caryotypes**

Les résultats donnent un caryotype aneuploïde, présentant des anomalies de nombre concernant les gonosomes, avec un chromosome Y surnuméraire, après étude de 25 mitoses et 7 mitoses en bandes R soumis au logiciel et étude de 5 classements. Il s'agit d'un syndrome du male XYY.

Nous avons également constaté un degré de débilité qui reste à évaluer par le personnel médical compétent.

L'observation du caryotype révèle par ailleurs d'autres anomalies sur de nombreux chromosomes. Ainsi, les chromosomes 2 et 8 montrent une silhouette anormale, le 2 est plus long que son homologue, alors que le 8 est plus petits que son homologue. Cependant, à ce stade de notre analyse, il nous est difficile de proposer une explication. Cela pourrait correspondre à une translocation décrite par Mesched D et all. 1998.

Cas N° 4



Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 100.

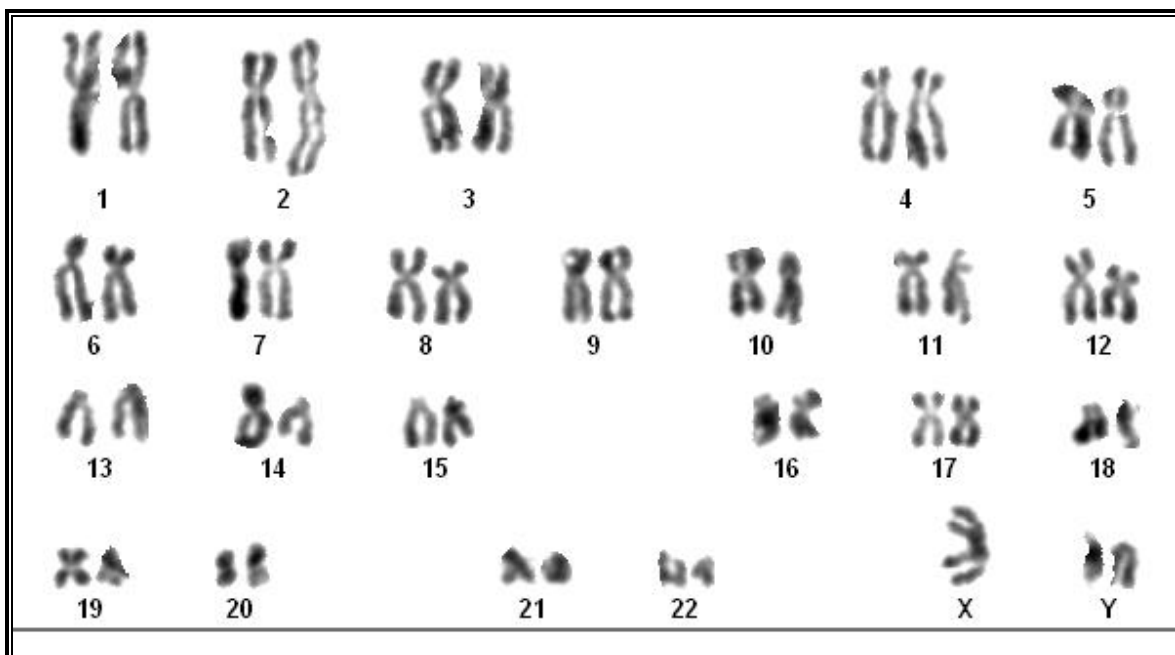


Figure 29 : Caryotype standard d'un homme infertile, 47, XYY

Cas N° 4

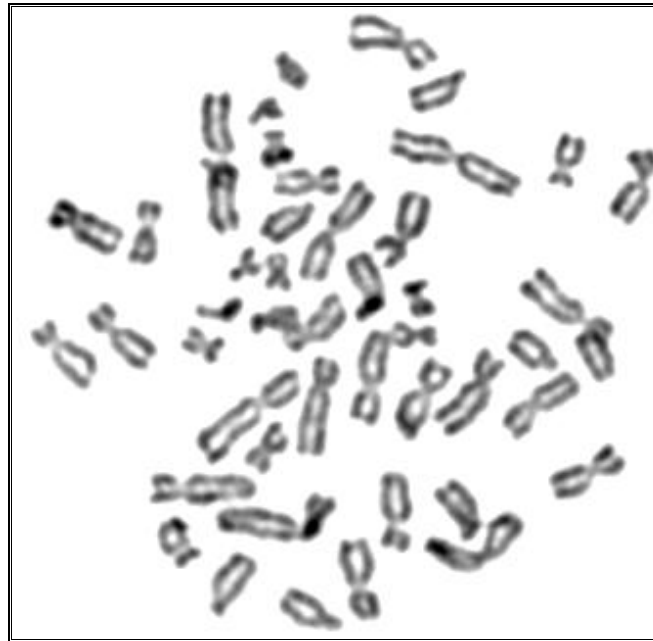


Figure 30 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100.

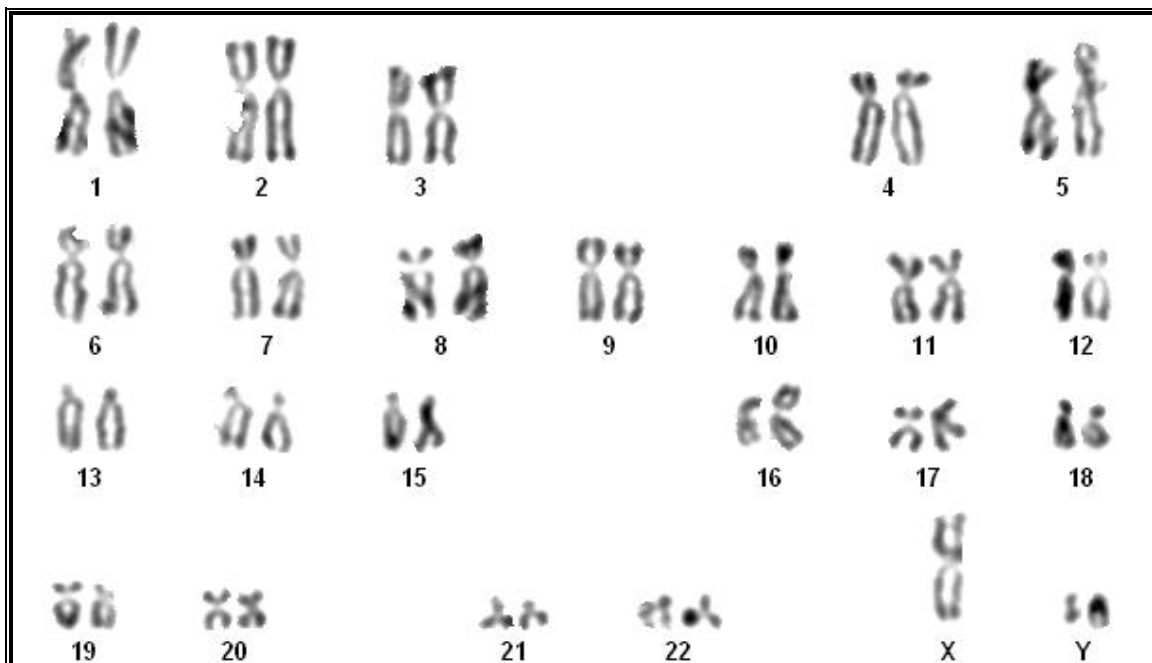


Figure 31 : Caryotype standard avec début de bandes R du 47, XYY.

### Cas N° 5

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.
- La 1<sup>ière</sup> culture réalisée avec le kit était stérile : présence de petits noyaux et de très rare mitoses (index mitotique presque nul).
- On a réalisé, après ce résultat, une culture cellulaire en utilisant le RPMI, les lames présentaient des noyaux de mauvaise qualité.
- La troisième culture réalisée avec toujours la technique standard en utilisant le RPMI a donnée de bons résultats. Les lames présentaient des mitoses de qualité acceptable.

Entre ces deux expériences, le seul paramètre qui aurait pu influencer ce résultat serait le changement du climat et l'élévation de la température.

#### **Interprétation du caryotype**

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements.

La réalisation du marquage en bande montre des anomalies structurales des chromosomes 1 et 16 pour lesquelles nous observons un raccourcissement, de même que pour le chromosome 18.

Cependant, tous ces résultats doivent être confirmés par une analyse plus fine à partir de techniques moléculaires telles que la FISH.

A ce stade il semble qu'il y'a un lien entre ces anomalies et le tableau clinique du patient. Il serait intéressant de continuer notre investigation sur un plan moléculaire.

Cas N° 5



Figure 32 : Chromosomes métaphasiques avec début de bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 100

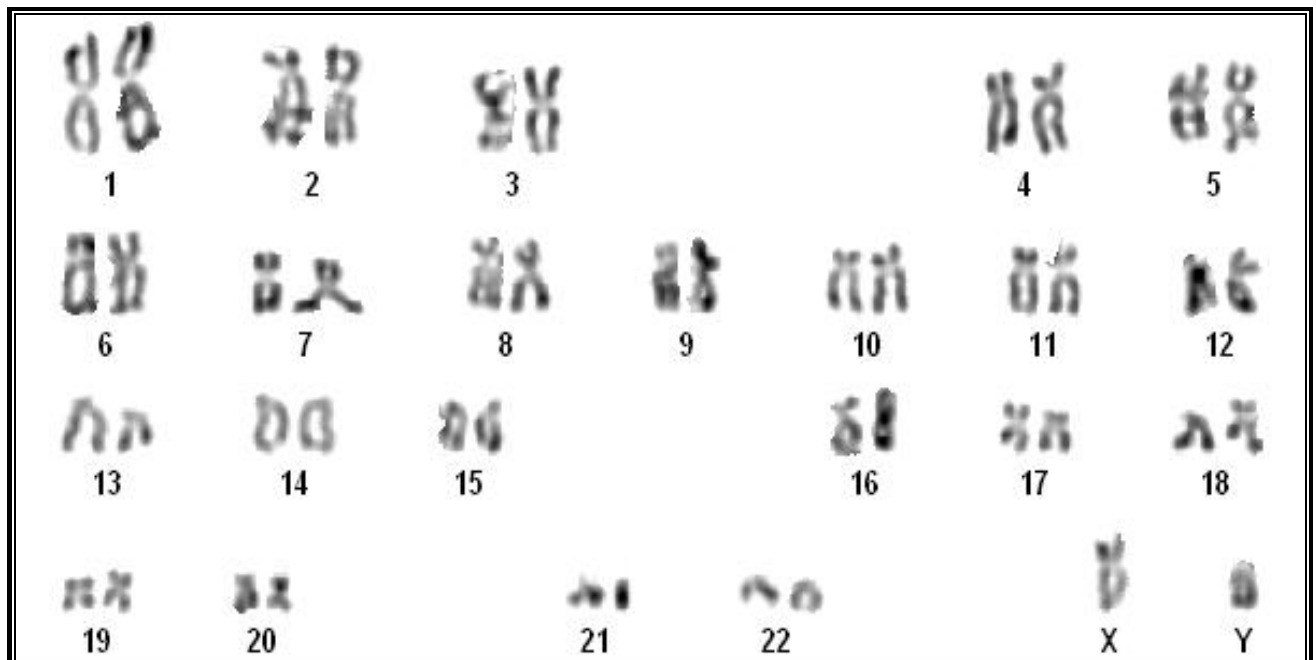


Figure 33 : Caryotype standard avec début de bandes R du cas N° 5, 46, XY.



### Cas N° 6

#### **Culture cellulaire**

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités. Ces dernières sont présentées.

#### **Interprétation du caryotype de cas N° 6**

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre, malgré le diagnostic posé. Mais contrairement au cas précédent (N° 5), le caryotype semble entièrement normal. Des mutations cryptiques pourraient être à l'origine de l'infertilité.

Le résultat a été confirmé après étude de 30 mitoses et la réalisation de 5 classements.

Tous les autres cas de caryotype normaux avec une infertilité avérée pourrait être due à des mutations diverses qui serait intéressant de prospecter du point de vue moléculaire en particulier en niveau des microdélétions de chromosome Y.

Cas N° 6

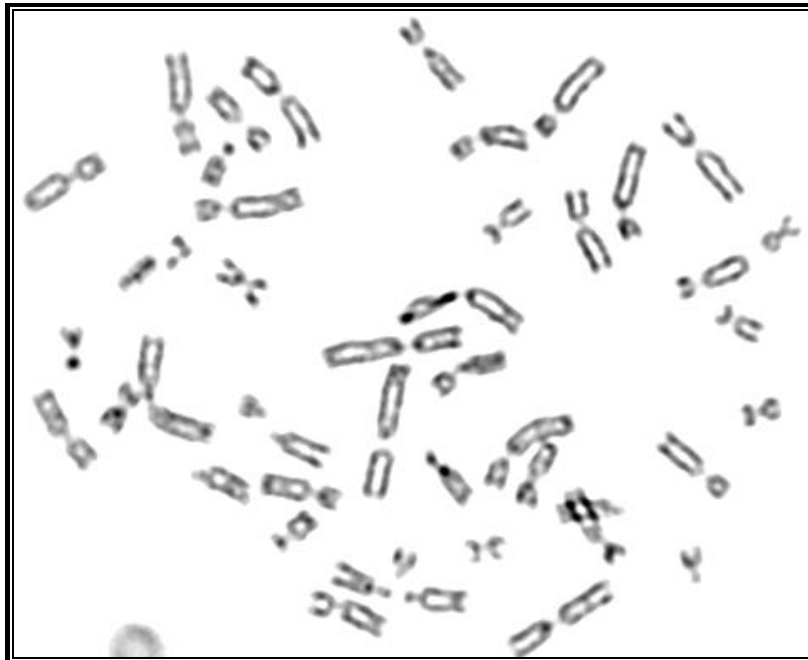


Figure 34 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

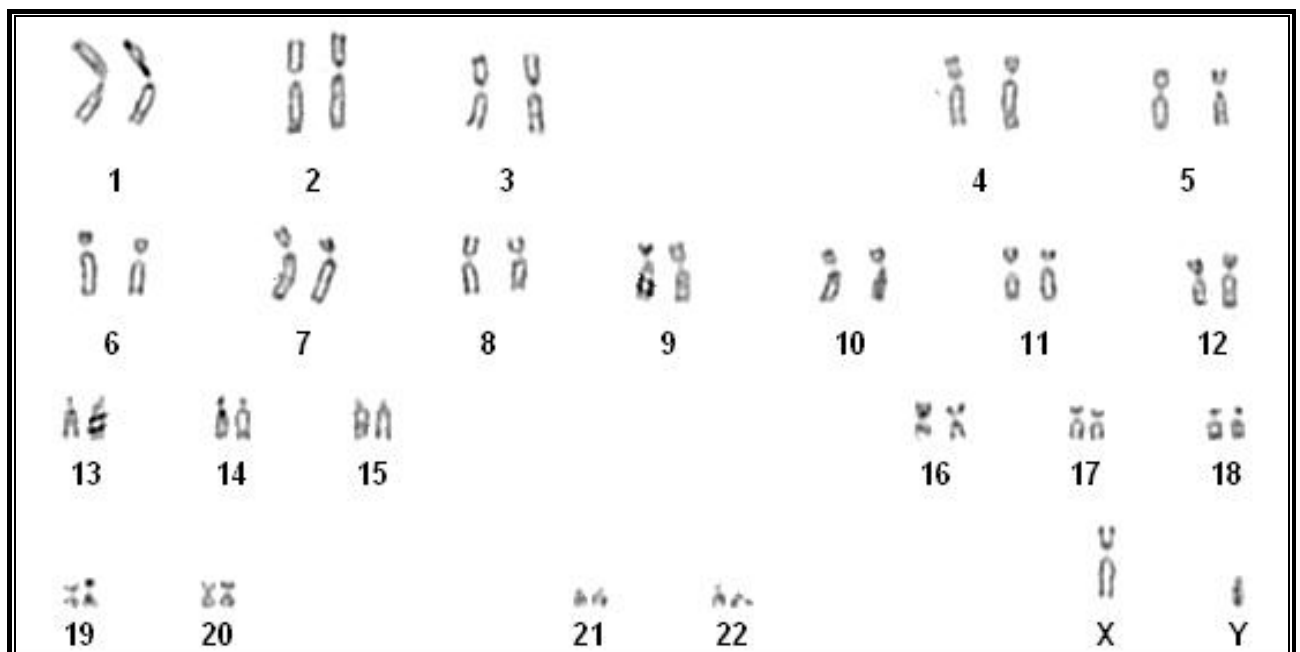


Figure 35 : Caryotype standard en bande R du cas N° 6, 46, XY.

### **I- Discussion générale**

Les instabilités génomiques les plus anciennement connues sont les remaniements chromosomiques. Outre les aneuploïdies on distingue des remaniements structuraux qui sont associés à un phénotype habituellement normal parmi lesquels les translocations occupent une place prépondérante, les inversions péri ou paracentriques. Les remaniements déséquilibrés qui sont, en général, associés à des syndromes très délétères conduisant à la naissance d'enfants polymalformés ou de morts fœtales in utero. On trouve les délétions, les duplications et les translocations déséquilibrées. [79].

Dans notre étude, les différents types d'anomalies précitées ont été mis en évidence sur l'ensemble de nos patients.

Parmi de nombreux facteurs étiologiques, les anomalies chromosomiques jouent un rôle primordial dans l'infertilité masculine avec des paramètres anormaux du spermogramme.

Nos résultats ont démontrés une corrélation inverse entre les anomalies chromosomiques et les paramètres du spermogramme. Le mécanisme exact par lequel l'anomalie chromosomique conduit à une infertilité n'est pas encore clair.

Plusieurs études ont montré une incidence élevée des anomalies chromosomiques chez les hommes stériles, qui s'étend de 2,2 à 14,3 %, ils ont indiqués que ces anomalies et en particulier, celles qui touchent les chromosomes sexuels prédominent chez les sujets azoospermiques (12,6 %), tandis que les anomalies touchant les autosomes sont plus fréquentes chez les sujets oligospermiques. [75, 83]. Dans notre étude nous avons constaté que 28,6 % des hommes infertiles présentaient des anomalies chromosomiques.

Nous avons aussi constaté que le syndrome de Klinefelter, 47, XXY est associée à un déficit spermatogénique sévère qui cause une réduction marquée du volume testiculaire et une azoospermie ayant pour résultat l'infertilité.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

De nombreuses études d'infertilité non obstructive ont rapportés que le syndrome de Klinefelter est l'anomalie chromosomique dont l'incidence est la plus élevée (10 % des patients présentant une azoospermie) chez les hommes infertiles souffrant d'une atteinte testiculaire d'origine chromosomique et que ce type d'anomalie est associé à une azoospermie totale. [75, 83].

Néanmoins, il existe des cas de syndrome de Klinefelter où l'on retrouve des spermatozoïdes lors d'une biopsie testiculaire ou même dans l'éjaculat. Leur présence dans le testicule semble liée à celle des cellules normales 46, XY capables d'achever la spermatogenèse dans un environnement testiculaire très défavorable. Le risque de mal ségrégation chromosomique pourra concerner non seulement la paire XY mais aussi les autosomes. [79].

Parmi les cas de trisomies des chromosomes sexuels, nous avons observés un cas d'infertilités oligospermique avec un caryotype 47, XYY qui correspond au syndrome des super mâle. Cette anomalie des chromosomes sexuels est la deuxième cause la plus fréquente chez les hommes infertiles présentant un déficit testiculaire d'origine chromosomique. [82]. Par ailleurs notre caryotype 47, XYY montre d'autres anomalies associées.

Dans la littérature, il est rapporté que le 47, XYY peut être associé à l'Y dicentrique et que la présence de deux chromosomes Y favorise l'apparition des cellules à 45, XO. Cette même étude a rapportée une incidence de 1,5 pour 1000 nouveaux nés pour ce syndrome et que le phénotype de ces patients est variable. [68].

Une autre étude a rapportée que ce syndrome peut être associé au syndrome de Prader Willi. [84]. Ce qui ne correspond pas à l'anomalie qui apparaît sur nos caryotypes. Si l'anomalie observée est confirmée par la FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) ou la CGH (Comparative Génome Hybridization), elle sera la première décrite et le complément d'information sur le phénotype associé apportera un élément de réponse à certaines pathologies.

Si la plupart des hommes double Y (47, XYY) sont fertiles, la fréquence de cette anomalie est cependant quatre fois plus élevée chez les sujets infertiles que dans la population générale. La

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

question de savoir pourquoi seuls certains hommes 47, XYY ont des problèmes de fertilité n'est pas encore résolue. [81].

La plupart de ces hommes 47, XYY ont une descendance à caryotype normal. Une élévation du taux d'aneuploïdie spermatique touchant les chromosomes sexuels est décrite chez ces sujets. Ces anomalies chromosomiques spermatiques semblent moins fréquentes si le sujet a un caryotype en mosaïque et une spermatogenèse normale. Une relation semble exister entre le degré de mosaïcisme, l'élimination pré méiotique du chromosome Y surnuméraire et les altérations du processus méiotique. [85].

Deux caryotype en mosaïque, 45, XO / 46, XY ont été observés chez deux patients azoospermiques. Ces patients infertiles peuvent avoir un profil de spermatogénèse défectueux ou bien normal. Le mosaïcisme gonosomal peut être la cause probable d'échecs de l'AMP (Assistance Médicale à la Procréation). [85].

Dans une étude de 600 cas d'aneuploïdies de chromosome Y, il a été rapporté que les lignées cellulaires à 45, XO sont présents dans plus de la moitié des cas. [86].

Jean Pierre Siffroi et all, ont montré par une étude menée sur 14 hommes infertiles que les microdélétions ainsi que de larges réarrangements structuraux du chromosome Y sont souvent associées avec un caryotype en mosaïque 45, XO / 46, XY. Les résultats de cette étude ont montrés que parmi ces 14 malades, 6 avaient un caryotype en mosaïque, avec une fréquence des cellules à 45, XO de 24 à 82 % confirmée par le caryotype standard. Et que ces mêmes malades avaient des microdélétions au niveau du chromosome Y pour les régions AZF a, b, c. Ce qui peut être le cas des deux malades trouvés dans notre étude. Pour les 8 patients restant de cette étude, le caryotype était normal 46, XY et la mosaïque n'a été confirmée que par une ré-analyse de 300 métaphases en utilisant la FISH avec une fréquence de 0,3 à 9,3 %. Tous ces malades avaient une microdélétion au niveau de la région AZFc.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

Les anomalies de structure des chromosomes contribuent également à la production de patients porteurs d'azoospermies non obstructive.

Parmi ces anomalies, les translocations robertsonienne entre chromosomes acrocentriques (fusions centriques) : entre les chromosomes 13 et 14 ; 45, XY, der (13q, 14q) ; entre les chromosomes 14 et 21 : 45, XY, der (14q, 21q), et les translocations réciproques sont retrouvées avec une fréquence 8 à 10 fois supérieure chez les hommes infertiles. Étant donné le caractère plutôt aléatoire des points de cassure chromosomique rencontrés dans les translocations réciproques, il paraît peu vraisemblable que l'atteinte de la gamétogenèse soit due systématiquement à la cassure d'un gène majeur de la spermatogenèse. Une étude a cependant montré que certains gènes, dont les transcrits sont retrouvés dans le testicule et ceci de façon exclusive ou non, sont localisés dans des régions du génome décrites comme points de cassure chromosomique récurrents dans des translocations chez des sujets infertiles. [87].

L'explication la plus vraisemblable des conséquences des translocations chromosomiques sur la spermatogenèse est donc probablement mécanique et liée aux mouvements des chromosomes à la méiose dont le moment critique est certainement le stade pachytène au cours duquel les chromosomes homologues vont s'apparier sous forme de bivalents et procéder à des recombinaisons génétiques. Outre leurs effets directs sur la spermatogenèse, les translocations peuvent éventuellement être transmises, naturellement ou après AMP, de façon déséquilibrée et diminuer les capacités de reproduction normale des couples en les exposant à un risque accru de fausses couches ou à la naissance d'un enfant porteur d'un syndrome chromosomique avec malformations, dysmorphie et retard mental.

Comme pour les translocations la fréquence des inversions péricentriques est augmentée dans la population des hommes infertiles. Les inversions du chromosome 9 et du chromosome 1 ont fréquemment été rapportées mais le rôle de l'inversion du chromosome 9 reste très controversé puisqu'il est plutôt considéré comme un variant chromosomique. Des études de la méiose masculine ont également été réalisées et, dans ces situations, suggéraient un problème d'asynapsis (zone de non appariement au stade pachytène de la première division de la méiose

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

entre deux chromosomes d'une même paire) comme l'origine des troubles de la spermatogenèse. Ces troubles peuvent d'ailleurs être majeurs et conduire à des azoospermies. [79].

Les translocations autosomales décrites dans la littérature peuvent être équilibrées ou non équilibrées et sont souvent associées à un désordre spermatogénique. Parmi les translocations les plus décrites : entre le 1 et le 9,16, 18 ; 1 et 19 ; entre le 2 et le 4...etc.

Le cas rapporté dans notre étude présente un caryotype anormal qui peut être porteur d'une translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 16 et qui n'a pas pu être confirmée par le caryotype standard.

Sur le plan moléculaire, un nombre considérable de gènes essentiels à la fonction reproductive de l'homme et de la spermatogenèse en particulier ont été identifiés.

En 1976 Tiepolo et Zuffardi ont démontré que le bras long du chromosome Y pourrait être impliqué dans l'infertilité masculine. Depuis ce temps, beaucoup d'études qui montrent l'association entre les microdélétions du chromosome Y et l'infertilité masculine ont été rapportés. [76].

Depuis, de nombreuses séries de patients azoospermiques ou oligozoospermiques qui ont été publiées montrent que l'incidence des microdélétions du chromosome Y varie de 3 à 28 % selon les études du fait de différences d'échantillonnage quant à la gravité de l'atteinte spermatique prise en compte et à son caractère idiopathique ou non [88, 89] . Le chiffre le plus vraisemblable se situe autour de 10 %, c'est-à-dire environ un homme sur 10 000, ce qui constitue une fréquence de pathologie délétionnelle très élevée en génétique humaine. [89,90].

De plus, l'association de microdélétions de l'Y avec d'autres pathologies affectant la spermatogenèse, comme une varicocèle ou des antécédents de cryptorchidie, est possible, ce qui sous estime probablement cette fréquence établie sur des séries de patients avec une infertilité idiopathique. [91,92]. L'hypothèse actuelle pour expliquer cette fréquence importante de délétion sur le chromosome Y repose sur la richesse de ce dernier en séquences d'origine rétrovirale,

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

séquences qui peuvent facilement recombinaison entre elles de façon non homologues. Ce mécanisme a déjà été prouvé pour AZFa et AZFc. [93,94].

Compte tenu de la fréquence plus élevée des caryotypes normaux parmi les patients de cette étude, il est fort probable que ces patients portent des microdélétions concernant l'une des régions AZF. Ce qui peut traduire le phénotype normal de ces patients ainsi que la perturbation des taux d'hormones FSH et LH et la présence d'azoospermie totale ou l'oligospermie sévère idiopathiques.

Touchant des régions différentes du chromosome Y, les délétions affectent de nombreux gènes et aboutissent à des atteintes testiculaires variables. Les délétions d'AZFa sont le plus souvent associées à la perte des cellules germinales et à un syndrome des cellules de Sertoli seules (SCO), celles d'AZFb à un blocage en méiose et celles d'AZFc à des défauts de la spermatogenèse qui peuvent être relativement modérés. [95,96].

En effet, certains patients délétés pour AZFc montrent seulement une oligozoospermie, en général sévère, mais qui pourrait expliquer les rares cas de transmission naturelle. La description récente [97] d'une famille dans laquelle un père a pu transmettre une délétion d'AZFc à quatre fils tous infertiles soulève de nombreuses questions comme celles concernant les rapports entre l'existence d'une délétion sur l'Y et le génome particulier d'un individu, ses antécédents cliniques ou certains facteurs environnementaux.

Donc on peut penser que l'arrêt de la maturation des spermatozoïdes du cas n° 6 serait lié à une délétion au niveau de la région AZFb.

Après l'émergence de l'injection intra cytoplasmique du sperme (ICSI : Intra Cytoplasm Sperm Injection), il est possible aux hommes avec des anomalies chromosomiques ou avec des microdélétions sur le chromosome Y d'avoir des enfants, mais ces hommes ont une chance de transmettre une telle anomalie à leur progéniture masculine. La détection des microdélétions chez



## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

les hommes azoospermiques et oligozoospermiques, mais pas dans leurs pères fertiles, propose que l'événement se soit produit de novo pour les patients stériles. [98- 100].

En conclusion, il est très clair que divers anomalies chromosomique, structurales et numériques ainsi que les microdélétions du chromosome de Y peuvent causer une déficience spermatogénique à divers points, ayant pour résultat une infertilité d'origine chromosomique. Toutes ces conclusions soutiennent fortement la recommandation d'un criblage des patients stériles pendant l'évaluation et avant l'inscription dans le programme d'ICSI.

### II- Conclusion et perspectives

La relation entre la génétique et l'infertilité masculine est maintenant reconnue. Ceci a un impact profond sur le chemin des traitements qui peuvent être offerts aux hommes infertiles.

Il est maintenant possible de déterminer l'incidence des anomalies chromosomiques responsables en employant une variété de techniques comme le caryotype standard, la PCR, la FISH, ainsi que d'autres techniques en haute résolution.

Notre étude confirme qu'un groupe d'hommes avec azoospermie non obstructive et oligospermie sévère ont un grand risque d'avoir des anomalies cytogénétiques sous jacente.

Les études cytogénétiques réalisées dans les populations d'hommes infertiles présentant des altérations des paramètres spermatiques ont montré l'existence d'une relation entre anomalies chromosomiques constitutionnelles et infertilité masculine. Une anomalie chromosomique constitutionnelle peut altérer la fonction de la reproduction de l'homme par une action spécifique sur la méiose ou sur la différenciation des cellules germinales. Cependant, son retentissement sur la fonction de reproduction présente une extrême variabilité dans son expression, de la subfertilité à la stérilité primaire.

Ainsi, la recherche des causes génétiques d'anomalies de la spermatogenèse présente de multiples intérêts :

- La mise en évidence d'une anomalie génétique peut permettre d'éviter de nombreux examens inutiles, voire des traitements illusoire.
- Elle permet également de réaliser un conseil génétique éclairé visant à déterminer les risques de transmission de l'anomalie à la descendance avec les éventuels handicaps qui peuvent en découler.
- Enfin, cette recherche débouche sur une meilleure connaissance fondamentale des chromosomes et des gènes impliqués et de leur mode d'action. Un tel travail nécessite bien sûr des rapports étroits entre les biologistes et les cliniciens.

## Discussion générale, conclusion et perspectives

---

Il est donc fortement recommandé d'examiner ces patients avant d'appliquer une ICSI pour infertilité. D'ailleurs, le diagnostic prénatal dans le cas de ces anomalies est d'une très grande importance. De telles investigations sont nécessaires pour réduire au minimum le risque de propagation de ces anomalies chromosomiques dans la génération suivante. En plus, un suivi complet des bébés conçus par ICSI, en particulier la progéniture masculine, est essentielle.

# Références bibliographiques

**1- Stérilité du couple.** Cours [en ligne]. Faculté de Médecine : ULP F67000 Strasbourg **2004-2005** ; p 249-255.

**2- Nicole Vacheret.** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - Lyon 1 France. Octobre **1999**. p 1-4.

**3- Jean Pierre Siffroi.** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. **2001**. p 1-45.

**4- Jonathan Rubenstein, Robert E Brannigan.** Infertility, Male. **2005**; section 1-11.

**5- Gilles Bourbonnais.** Le système reproducteur [en ligne]. Cours compensateurs Chapitre 6. Université Laval. **2003**. p 1-63.

**6- C. Krausz, J-P. Siffroi, N. Souleyreau-Therville, T. Bourgeron, K. McElreavey, M. Fellous.** Contrôle génétique de la spermatogenèse : chromosome Y et infertilité masculine. Annales de Biologie Clinique. Mai - Juin **2007** ; Volume 57, Numéro 3, 309-17, Dossier : 5<sup>ème</sup> journée scientifique de la SFBC.

**7- Jean Pierre Siffroi.** La spermatogenèse [en ligne]. Service d'Histologie. Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Tenon **2001**. p 1-57.

**8- Françoise Jauzein, Solange Magre,** La différenciation sexuelle morphologique [en ligne]. INRA **2001**.

**9- Nadejda Machev, Guy Fuhrmann, Stéphane Viville.** Ontogenèse des cellules germinales primordiales. Medecine/sciences **2004** ; 20 : 1091-5.

- 10- Rucker G.B., Mielnik A., King P., Golstein M., Schlegel P.N.** Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J.Urol*,**1998**, 106:6, 2068-71.
- 11- Batch J.A, Patterson M.N, Hughes I.A.** Androgen insensitivity syndrome. *Reproductive Medicine Review*, **1992**, 1, 375-383.
- 12- Eric Vendrely, Philippe Merviel,** Stérilité et hypofertilité masculines. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, **1998**. 10-032-E-10.
- 13- Claude Antony, Roger Augier Gilles, Bœuf Jean-Claude Boucaut ;** Biologie du développement et de la reproduction **1996**.
- 14- Kuttann F, d'Acromont MF et Mowszowicz I.** Anomalies de la différenciation sexuelle. *Encycl Méd Chir, Endocrinologie-Nutrition*, **2003**,10-033-A-10, 26 p.
- 15- Frédéric Hamel.** Régulation transcriptionnelle du gène Sry humain et porcine par le facteur de Transcription gata-4. Thèse de doctorat. **2004**.
- 16- Françoise Jauzein, Corinne Cotinot.** Les gènes de la détermination sexuelle chez les mammifères. Institut national de recherche pédagogique INRA. **2001**.
- 17- Layman LC.** Human gene mutations causing infertility, *Journal of Medical Genetics* **2002**; 39:153-161.
- 18- Layman LC.** The genetics of human hypogonadotropic hypogonadism. *Am J Med Genet* **1999**; 89:240–8.
- 19- Françoise Jauzein, Corinne Cotinot.** Le chromosome Y et le gène SRY, Institut national de recherche pédagogique INRA.**2001**.
- 20- Simone Gilgenkrantz.** Au cœur de l'Y humain. *Médecine/sciences* janvier **2004** ; n° 1, vol. 20.

- 21- Tiepolo L. and Zuffardi O.** Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet*, **1976**,34:119-124.
- 22- Slatetsky H, Kuroda- Kawaguchi T, Minx PJ, et al.** The male specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* **2003**; 423: 825-37.
- 23- Hervé Wallerand, Stéphane Bernardini, Eric Chabannes, Hugues Bittard.** Infertilité masculine de cause génétique et biologie moléculaire. *Progrès en Urologie* **2003**, 13, 560-563.
- 24- Jan A.M.Kremer<sup>1</sup>, Joep H.A.M.Tuerlings, Eric J.H.Meuleman, Frans Schoute , Edwin Mariman, Dominique F.C.M.Smeets, Lies H.Hoefsloot, Didi D.M.Braat<sup>1</sup> and Hans M.W.M.Merkus<sup>1</sup>.** Microdeletions of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. *Human Reproduction* **1997** vol.12 no.4 pp.687–691.
- 25- Jean-Pierre Siffroi, Sophie Christin-Maitre.** Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. *mt médecine de la reproduction*, septembre-octobre **2006**. vol. 8, n° 5.
- 26- K. McElreavey, C. Krausz, C. Patrat, M. Fellous.** Infertilité masculine et les microdélétions du chromosome Y. *Gynécol Obstét Fertil* **2002** ; 30 : 405-12.
- 27- Bhasin S., Ma K., Sinha I. et al.** The genetic basis of male infertility. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **1998**, 27:783-805.
- 28- S.Hamamah Et C.Barthelemy.** Spermogramme et tests de fécondance : intérêt et limites [en ligne]. *JTA/1997*.
- 29- Aly Abbara.** Sperme et Spermocytogramme. *J. Lornage. Gynécologie-Obstétrique pratique* ; N° 144, avril **2002** ; page : 10-11.
- 30-Young J.** Hypogonadismes hypogonadotrophiques chez l'homme. *Encycl Méd Chir Endocrinologie- Nutrition*. **2000** ; 10-027-D-10, 12 p.

- 31- Jones J., Kemmann E.** Olfacto-genital dysplasia in the female. *Obstetric and Gynecology*, **1976**, 5, 443-466.
- 32 - McKusic VA.** Mendelian inheritance in man (MIM). A catalog of human genes and genetic disorders. Baltimore : Johns Hopkins University Press, **1998**, p 55.
- 33- Hardelin JP, Petit C.** A molecular approach to the pathophysiology of the X chromosome-linked Kallmann's syndrome balleire's. *Clin Endocrinol Metab* **1995** ; 9 : 489-507.
- 34- Meitinger T, Heye B, Petit C, Ballabio A.** Definitive localization of X-linked Kallmann syndrome (hypogonadotropic hypogonadism and anosmia) to Xp22. 3: close linkage to the hypervariable repeat sequence CRI-S232. *Am J Hum Genet* **1990** ; 47 : 664-669.
- 35- Chaussain J.L., Toublanc J.E., Feingold J. et al.** Mode of inheritance in familial cases of primary gonadotropic deficiency. *Hormone Research*, **1988**, 29, 202-206.
- 36- Pr. F. Duron & Coll.** Endocrinologie DCEM1 [en ligne] - 15 novembre **2006** p 1-311.
- 37- Weiss J., Axelrod L., Whitcomb R.W., Harris P.E., Crowley W.F.Jr., Jameson J.L.** Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the subunit of luteinizing hormone. *N. Engl. J. Med.*, **1992**, 326, 179- 183.
- 38- Jaffe T., Oates R.D.** Genetic abnormalities and reproductive failure. *Urol. Clin. North Am.*, **1994**, 21: 3, 389- 408.
- 39 - Lindstedt G., Nystrom E., Matthews C., Ernest I., Janson P.O., Chatterjee K.** Follitropin (FSH) deficiency in an infertile male due to FSHbeta gene mutation a syndrome of normal puberty and virilization but underdeveloped testicles with azoospermia, low FSH but high lutropin and normal serum testosterone concentrations. *Clin. Chem. Lab. Med.*, **1998**, 36, 663-665.

- 40- Sparkes R.S., Klisak I., Miller W.L.** Regional mapping of genes encoding human steroidogenic enzymes: P450<sub>scc</sub> to 15q23-q24, adrenodoxin to 11q22; adrenodoxin reductase to 17q24-q25; and P450<sub>c17</sub> to 10q24-25. *DNA and Cell biology*, **1991**, 10, 359-365.
- 41- Morohashi K., Sogawa K., Omura T., Fujiikuriyama Y.** Gene structure of human cytochrome P- 450 (SCC), cholesterol desmolase. *J. Biol. Chem. (Tokyo)*, **1987**, 101, 879-887.
- 42- White P.C.** Genetic Diseases of Steroid Metabolism. *Vitam. and Horm.*, **1994**, 49, 131-195.
- 43- Lachance Y., Luu-The V., Verreault H., Et Al.** Structure of the human type II 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/ delta 5-delta 4 isomerase (3 beta-HSD) gene: adrenal and gonadal specificity. *DNA and cell Biology*, **1991**, 10, 701-711.
- 44- Sigman M., Howards S.S.** Male infertility. In: *Campbell's Urology*. Edited by P.C. Walsh, A.B. Retick, T.A. Stamey, and E.D. Vaughan. Philadelphia : W. B . Saunders Company, **1998**, 2, VII, 43, 1287-1320.
- 45- White P.C., New M.I., Dupont B.** HLA-linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome P-450 specific for steroid 21- hydroxylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1984**, 81,7505- 7509.
- 46- Zachmann M., Tasmari D., Prader A.** Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 \_ hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1983**, 56 : 2, 222-229.
- 47- Chua S.C., Szabo P., Vitek Et Al.** Cloning of cDNA encoding steroid 11 beta-hydroxylase (P450<sub>c11</sub>). *P.N.A.S* **1987**, 84, 7193-7197.
- 48- Wu L., Einstein M., Geissler W.M., Chan H.K., Elliston K.O., Andersson S.** Expression cloning and characterization of human 17 hydroxysteroid dehydrogenase type 2, a



microsomal enzyme possessing 20 hydroxysteroid dehydrogenase activity. *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268 : 17, 12964-12969.

**49- Andersson S., Berman D.M., Jenkins E.P., Russell D.W.** Deletion of steroid 5-alpha-reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. (London), *Nature*, **1991**, 354, 159-161.

**50- Zajac J.D., Warne G.L.** Disorders of sexual development. *Baillières Clin. Endocrinol. Metab.*, **1995**, 9 : 3, 555- 579.

**51- Wilson J.D.** Syndromes of Androgen Resistance. *Biol. Reprod.*, **1992**, 46, 168-173.

**52- Laue L., Wu S.M., Kudo H., Hsueh A.J., Cutler G.B., Griffin J.E., Wilson J.D., Brain C., Berry A.C., Grant D.B., Chan W.Y.** A nonsense mutation of the human luteinizing hormone receptor gene in Leydig cell hypoplasia. *Hum.Mol.Genet*, **1995**, 4, 1429-1433.

**53- Latronico A.C., Anastj J., Arnhold I.J.P., Rapaport R., Mendonca B.B., Bloise W., Castro M., Tsigos C., Chrousos G.P.** Testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone receptor gene. *N. Engl. J. Med.*, **1996**, 344, 507-512.

**54- Rucker G.B., Mielnik A., King P., Golstein M., Schlegel P.N.** Preoperative screening for genetic abnormalities in men with non-obstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J.Urol.*,**1998**, 106:6, 2068-71.

**55- Bauduceau B, Mayaudon H, Dupuy O et Desangles F.** Syndrome de Klinefelter. *Encycl Méd Endocrinologie-Nutrition*, **2001**,10-032-E-20, 6 p.

**56- Nicole Morichon-Delvallez, Claire Bouvattier.** Le syndrome de Klinefelter. *Encyclopédie Orphanet Grand Public*. Septembre **2006**; 6p.

**57- N. Gusbin, A. Verloes, A. Daly, A. Beckers.** LES GRANDES TAILLES : quelques grands syndromes et revue de la littérature. *Rev Med Liege* **2006**; 61 : 7-8 : 572-580.

**58- Daniel J., Wattendorf, and Maximillian Muenke.** Klinefelter Syndrome. Annual Clinical Focus. December 1, 2005+ Volume 72, Number 11.

**59- Jeannie Visootsak and John M Graham, Jr.** Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. Orphan Journal of Rare Diseases. Full Text. 1999-2007. 11p.

**60- V. Velissarioua, S. Christopouloua, C. Karadimasa, I. Pihosb, C. Kanaka-Gantenbeinc, N. Kapranosd, G. Kallipolitise and A. Hatzakia.** Rare XXY/XX mosaicism in a phenotypic male with Klinefelter syndrome: case report. European Journal of Medical Genetics Volume 49, Issue 4, July-August 2006, Pages 331-337.

**61- T. Diemer, C. Desjardins:** Developmental and genetic disorders in spermatogenesis, Human Reproduction Update 1999, Vol. 5, No. 2 pp. 120–140.

**62- Nieschlag, E., Behre, H.M., Meschede, D. et al.** Disorders at the testicular level. In Nieschlag, E. and Behre, H. (eds), Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction. Springer-Verlag, Berlin, 1997 pp. 133–159.

**63- Carlo Foresta, Alberto Ferlin, Luca Gianaroli and Bruno Dallapiccola.** Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples May 2002, Volume 10, Number 5, Pages 303-312.

**64- G.R. Dohle, W. Weidner, A. Jungwirth, G. Colpi, G. Papp, J. Pomerol, T.B. Hargreave.** Guidelines on male infertility. European Association of Urology MARCH 2004.

**65- Johannes Nielsen.** Le Syndrome XYY. Encyclopédie Orphanet Grand Public. Septembre 2006.

**66- Daniel L. Hartl, Elisabeth W. Jones.** Génétique : Les grands principes. 3<sup>ème</sup> édition Paris, Dunod, 2003. p 182-3.

**67- Margaret W. Thompson, Roderick R. McInnes, Huntington F. Willard.** Génétique médicale. 5<sup>ème</sup> édition. Médecine-Science, Flammarion. 1995. p 239-240.

- 68- Dilek Aktas, Mehmet Alikasifoglu, Nazlı Gonc, Mehmet E. Senocak , Ergul Tuncbilek.** IsodicentricY (p11.32) chromosome in an infant with mixed gonadal dysgenesis. *European Journal of Medical Genetics* 49, **2006**; 141–149
- 69- Heather Hall, Patricia Hunt and Terry Hassold.** Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Current Opinion in Genetics & Development* **2006**, 16:323–329.
- 70- Chang H.J., Clark R.D., Bachman H.** The phenotype of 45, X/46, XY mosaicism and analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am. J. Hum. Genet.*, **1990**, 46, 156-167.
- 71- J.M. Rigot.** Physiologie et impact de la varicocèle sur la fertilité [en ligne]. Service Andrologie. Chru lille.**2006**.
- 72- H. Yavetz.** Cryptorchidisme: incidence and sperm quality in infertile men [en ligne]. *Andrologia*, **1992**.
- 73- Dania Bazarbachi.** Les cryptorchidies opérées selon la technique de stephen-fowler Thèse n° 10317 Genève **2003**.
- 74- Hervé Lejeune, Michel Pugeat.** Étiologies de l'infertilité masculine [en ligne]. FC\_Stérilité\_Homme\_Etiologies **2000**.
- 75- Punam Nagvenkar, Kundan Desai, Indira Hinduja & Kusum Zaveri.** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res* 122, July **2005**, pp 34-42.
- 76- Arzu Vicdan, Kubilay Vicdan, Serdar Gunalp, Aykut Kence, Cem Akarsub, Ahmet Zeki Is, Eran Soʻzen.** Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2004**; 117,49–54.

- 77- J. Egozcue, J. Blanco, E. Anton, S. Egozcue, Z. Sarrate and F. Vidal.** Genetic Analysis of Sperm and Implications of Severe Male Infertility—A Review. *Placenta* **2003**, 24, S62–S65.
- 78- J.M. Pina-Neto, R.C.V. Carrara, R. Bisinella, L.F. Mazzucatto, M.D. Martins E. Sartoratto and R. Yamasaki.** Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. Cytogenetic and Y microdeletion studies of infertile men *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **2006**; 39: 555-561.
- 79- F.Vialard, M. Benahmed, R. Lombroso, J. Selva.** Instabilité génomique et infertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32, **2004** ; 1013–1022.
- 80- Feodora Stipoljev , Sanja Vujisic, Josip Parazajder , Daria Hafner , Davor Jezek , Jadranka Sertic.** Cytogenetic analysis of azoospermic patients: karyotype comparison of peripheral blood lymphocytes and testicular tissue. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 124, **2006**; 197–203.
- 81- J.P. Siffroi, S. Chantot-Bastaraud, C. Ravel.** Origines géniques et chromosomiques des anomalies de la spermatogenèse : aspects cliniques et rapports avec les modèles animaux. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 31, 2003; 504–515.
- 82- Alberto Ferlin, Barbara Arredi, Carlo Foresta.** Genetic causes of male infertility. *Reproductive Toxicology* 22, **2006**; 133–141.
- 83- Polani B Seshagiri.** Molecular insights into the causes of male infertility. November **2001**. Vol. 26 No. 4 Suppl. 429–435.
- 84- Sylvie Odent, Sophie Taque, Josette Lucas, Franceza Le Mee and Bernard Le Marec.** Prader–Willi syndrome and polygonosomal abnormalities in males: about a Prader–Willi/47, XYY patient. *Annales de Génétique* Volume 44, Issue 1, January-March 2001, Pages 1-3.

- 85- N. Rives, N. Mousset-Siméon, L. Sibert, V. Duchesne, L. Macé, J.-P. Milazzo, S. Mazurier, B. Macé.** Anomalies chromosomiques du spermatozoïde. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 32, **2004**; 771–778.
- 86- Hsu, L.** Phenotype/caryotype correlation of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am. J. Med. Genet.* **1994.**, 53, 108-140.
- 87- Iris Bartels, Heike Starke, Loukas Argyriou, Simone M. Sauter, Barbara Zoll, Thomas Liehr.** An exceptional complex chromosomal rearrangement (CCR) with eight breakpoints involving four chromosomes (1;3;9;14) in an azoospermic male with normal phenotype. *European Journal of Medical Genetics* 50, **2007**; 133e138.
- 88- Suzanne Demczuk, Myriam Pelletier, Francois Bénard, Serge B. Melançon, Pierre St-Miche.** Genetic testing experience of a private fertility clinic. *International Congress Series* 1271, **2004**; 177– 180.
- 89- Peter H. Vogt.** Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Molecular and Cellular Endocrinology* 224, **2004**; 1–9.
- 90- C. Ravel, S. Chantot-Bastaraud, K. McElreavey, J.-P. Siffroi.** Polymorphismes du chromosome Y et fertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34, **2006**; 885–893.
- 91- Sjoerd Repping, Saskia K.M. van Daalen, Cindy M. Korver, Laura G. Brown, Janet D. Marszalek, Judith Gianotten, Robert D. Oates, Sherman Silber, Fulco van der Veen, David C. Page, and Steve Rozen.** A family of human Y chromosomes has dispersed throughout northern Eurasia despite a 1.8-Mb deletion in the azoospermia factor c region. *Genomics* 83 (2004) 1046–1052.
- 92- A Ferlin<sup>1</sup>, E Moro<sup>1</sup>, A Rossi<sup>1</sup>, B Dallapiccola and C Foresta.** The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *Journal of Medical Genetics* 2003;40:18-24.

- 93- Sun C, Skaletsky H, Rozen S, Gromoll J, Nieschlag E, Oates R, et al.** Deletion of azoospermia factor a (AZFa) region of human Y chromosome caused by recombination between HERV15 proviruses. *Hum Mol Genet* 2000;9:2291–6.
- 94- Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, Minx PJ, Cordum HS, Waterston RH, et al.** The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet* 2001;29:279–86.
- 95- M. C. Martiñez, M. J. Bernabe, E. Goñmez, A. Ballesteros, J. Landeras, G. Glover, M. Gil-Salom, J. Remohí, And A. Pellicer.** Screening for AZF Deletion in a Large Series of Severely Impaired Spermatogenesis Patients. *Journal of Andrology*, Vol. 21, No. 5, September/October 2000.
- 96- Rima Dada,<sup>a</sup> N. P. Gupta,<sup>b</sup> and K. Kucheria<sup>c</sup>.** Yq Microdeletions Azoospermia Factor Candidate Genes and Spermatogenic Arrest. *Journal of Biomolecular Techniques* 15:176–183 © 2004 ABRF.
- 97- Chang PL, Sauer MV, Brown S.** Y chromosome microdeletion in a father and his four infertile sons. *Hum Reprod* 1999;14:2689–94.
- 98- C. Ferrás<sup>1</sup>, S. Fernandes, C.J. Marques, F. Carvalho, C. Alves<sup>1</sup>, J. Silva<sup>1</sup>, M. Sousa and A. Barros** AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome. *Molecular Human Reproduction* 2004 10(10):755-761; doi:10.1093/molehr/gah104
- 99- S.E. Kleiman, L. Yogev, R. Hauser, A. Botchan, B. B.-S. Maymon, G. Paz, and H. Yavetz.** Expression profile of AZF genes in testicular biopsies of azoospermic Human Reproduction, doi:10.1093/humrep/del341.
- 100- Chen SU, Lien YR, Ko TM, Ho HN, Yang YS, Chang HC.** Genetic screening of karyotypes and azoospermic factors for infertile men who are candidates for ICSI. *Arch Androl.* 2003 Nov-Dec;49(6):423-7.

# LISTE DES FIGURES

## Partie bibliographique

Figure 1 : L'appareil génital masculin.....	3
Figure 2 : Structure histologique du testicule.....	4
Figure 3 : Structure histologique des tubes séminifères.....	5
Figure 4 : Structure des cellules de Sertoli.....	6
Figure 5 : Structure du spermatozoïde humain.....	9
Figure 6 : Le tissu interstitiel.....	10
Figure 7 : Constitution du pénis.....	13
Figure 8 : Les glandes Annexes.....	14
Figure 9 : Origine des cellules germinales.....	15
Figure 10 : Evolution des cellules germinales .....	16
Figure 11 : Les phases de la spermatogenèse.....	18
Figure 12 : Les étapes de la spermiogenèse.....	19
Figure 13 : Structure du chromosome Y.....	23

## Partie pratique

Figure 14 : Caryotype masculin normal en bande R 46, XY.....	52
Figure 15 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G×100.....	62
Figure 16 : Caryotype standard d'un Klinefelter 47, XXY.....	62
Figure 17 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé du cas n°2 G ×100.....	64
Figure 18 : Caryotype standard du cas n°2 : 46, XY.....	64
Figure 19 : Chromosomes métaphasiques en bande R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G 100.....	65

<b>Figure 20 : Caryotype standard en bande R du cas N° 2 : 46, XY.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure 21 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé G 100.....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 22 : Caryotype standard du cas n°2 : 45, XO.....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 24 : Caryotype standard du cas n°3, une cellule à 46, XY.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 25 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé cas n°3.....</b>	<b>69</b>
<b>Figure 26 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>70</b>
<b>Figure 27 : Caryotype standard avec début de bandes R d'un homme infertile, une cellule à 45, XO.....</b>	<b>70</b>
<b>Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>71</b>
<b>Figure 29 : Caryotype standard d'un homme infertile, 47, XYY.....</b>	<b>72</b>
<b>Figure 30 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement 100.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 31 : Caryotype standard avec début de bandes R du 47, XYY.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 32 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 33 : Caryotype standard du cas n° 5, 46, XY.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 35 : Chromosomes métaphasiques en bandes R d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.....</b>	<b>77</b>
<b>Figure 22 : Caryotype standard du cas n°6, 46, XY.....</b>	<b>77</b>



# Annexe

**Tableau 1** : Étiologies du défaut de la spermatogénèse.[K. Mc Elreavey ,2002].

Étiologie	Phénotype
<p><b>Pré-testiculaire</b></p> <p><b>Endocrine</b> (insuffisance gonadotrope)            - congénitale (syndrome de Kallman)            - acquise (tumeur, post-traumatique, selle turcique vide, iatrogène)</p> <p><b>Troubles du coït</b>            - dysfonction érectile            - dysfonction éjaculatoire</p>	<p>Azoospermie            Azoo / Oligozoospermie</p> <p>Aspermie            Aspermie</p>
<p><b>Testiculaire</b></p> <p><b>Congénitale</b>            - Anorchie            - Cryptorchidisme</p> <p><b>Génétique</b>            Anomalies chromosomiques            - Klinefelter et ses variantes            - Translocations, inversions            - Délétions du chromosome Y            - Anomalies monogéniques</p> <p><b>Varicocèle</b></p> <p><b>Agents anti-spermatogéniques</b>            (environnementaux, médicaments)</p> <p><b>Chimiothérapie, radiations ionisantes</b></p> <p><b>Torsion vasculaire, traumatismes, orchite</b></p>	<p>Azoospermie            Azoo / Oligozoospermie</p> <p>Azoo / Oligozoospermie sévère            Azoo / Oligozoospermie            Azoo / Oligozoospermie sévère            Azoo / Oligozoospermie            Oligozoospermie            Oligozoo / Azoospermie            Azoo / Oligozoospermie sévère            Azoo / Oligozoospermie</p>
<p><b>Post-testiculaire</b></p> <p><b>Obstructive</b>            - Epididymale (congénitale ou post-infectieuse)            - Déférentielle (génétique ou post-vasectomie)</p> <p><b>Infection des glandes accessoires</b></p> <p><b>Immunologique</b> (idiopathique ou secondaire)</p>	<p>Azoo / Cryptozoospermie            Azoo / Cryptozoospermie            Oligozoospermie            Normospermie / Oligozoospermie</p>
<p><b>IDIOPATHIQUE</b></p>	<p>Azoo / Oligozoospermie</p>

**Tableau 2 :** Les autres gènes impliqués dans la détermination testiculaire.  
[Françoise Jauzein, 2001].

GENE	LOCALISATION CHROMOSOMIQUE (humaine)	TISSU OU LE GENE S'EXPRIME (souris)	PERIODE D'EXPRESSION (souris)	CARACTERISTIQUES DE SA PROTEINE (humaine)	ROLE DE LA PROTEINE
<b>SRY</b>	bras court du chr Y	précurseurs et cellules de Sertoli, cellules germinales mâles	juste avant la différenciation des testicules reprise à l'âge adulte	204 aa, possède un domaine de liaison à l'ADN entraînant sa courbure	différenciation de la gonade en testicule
<b>WT1</b>	bras long du chr 11	crête urogénitale puis cellules de Sertoli ou cellules de la granulosa, mésonéphros et rein en développement	dès le 9ème jpc et reste exprimé toute la vie dans les gonades	différentes isoformes protéiques présentant une capacité de liaison à l'ADN (par des domaines en doigt de Zinc) jouant le rôle de facteur d'épissage ou de transcription	indispensable à la morphogénèse de la cête génitale et régulerait la transcription du gène SRY
<b>SOX9</b>	bras long du chr 17	crêtes génitales des deux sexes puis cellules de Sertoli	courte chez la femelle et plus longue chez le mâle	509 aa, un domaine de liaison à l'ADN	activation de l'expression du gène de l'AMH
<b>DAX1</b>	bras court du chr X	crêtes génitales et autres tissus	courte chez les mâles et plus longue chez les femelles	470 aa, possède une zone de liaison à l'ADN et une zone similaire aux sites de liaison des ligands des récepteurs nucléaires	inhibition de l'action de SF1
<b>SF1</b>	bras long du chr 9	ébauches des gonades des deux sexes et autres tissus	très précoce dans les deux sexes, se poursuit à l'âge adulte	récepteur nucléaire	active l'expression de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse
<b>AMH</b>	bras court du chr 19	cellules de Sertoli , cellules de la granulosa	commence lors de la différenciation testiculaire, est maximale lors de la régression des canaux de Müller et baisse à la puberté	homologie avec certains facteurs de croissance (TGF- $\beta$ )	provoque la régression des canaux de Müller et inhibe l'aromatase

**Tableau 3** : Autres anomalies chromosomiques causant l'infertilité d'origine sécrétoire. [T.Diemer, C.Desjardins, 1999].

<b>Translocations entre les autosomes</b>
t (1;9) (q32.1; q34.3)
t (1;16) (q22; p 12)
t (1;16) (q23; p13)
t (1;18) (p31.2; q23)
t (1;19) (p13; q13), 1qh+
t (2;4) (q23; q27)
t (2;8) (q23; p21)
t (2;22) (q33; q22)
t (3;4) (p25; q21.3)
t (3;5) (q29; q14) (p12; q34)
t (3;14) (q27; q11)
t (3;20) (q11; p13)
t (4;6) (q26; q27)
t (4; 13) (q11; q12.3)
t (5; 8) (q22; q24.1)
t (9;12) (q22; q22)
t (9;13) (q22; q32)
t (9;15) (q22; q15)
t (9;17) (q11.3; q11.3)
t (9;17) (q11; q11)
t (9;20) (q34; q11)
t (10; 14)
t (11;15) (q25-qter; pter)
t (13;14)
t (14;21) (q13; p13)
t (14;22) (p11; q11.1)
t (17;21) (p13; q11)
t (19;22) (p13.1; q11.1)
<b>Translocations entre les autosomes et les chromosomes sexuels</b>
t (13q;15q)/46, XY
t (Y;1) (q12; p34.3)
t (Y;3) (q12; p21)
t (Y;11) (q11.2; q24)
<b>Translocations entre les chromosomes sexuels</b>
t (X;Y)
t (X;Y) (p22.3; q11)
<b>Y dicentrique</b>

**Tableau 4 :** Valeurs de référence du spermogramme définies par l’OMS.  
 [Geneviève GRIZARD, Clément JIMENEZ. 1997].

<b>Paramètres spermatiques</b>	<b>Valeurs normales</b>	<b>Pathologie</b>
<b>Volume de l'éjaculat</b>	2 à 6 mL	Hypo ou hyperspermie
<b>pH</b>	>7.2	
<b>Leucocytes</b>	< 10 <sup>6</sup> / mL	Leucospermie
<b>Concentration en spermatozoïdes</b>	≥ 20 x 10 <sup>6</sup> /ml ou ≥ 40 x 10 <sup>6</sup> /éjaculat	Oligospermie Azoospermie si absence
<b>Mobilité normale à 1 heure</b>	≥ 50% et au moins 25% de mobilité	Asthénospermie
<b>% de formes mortes</b>	< 30 %	Nécrospermie
<b>% de formes anormales</b>	< 70 %	Tératospermie

**Tableau 5 :** Valeurs de références des taux d'hormones gonadotropes chez l'homme. [Laboratoire d'hormonologie du CHUC].

<b>Paramètres</b>	<b>Normales</b>	<b>Résultats</b>
<b>FSH</b>	<b>1.0-12.4 mUI/ml</b>	
<b>LH</b>	<b>2-12 mUI/ml</b>	
<b>Testostérone</b>	<b>2.25-9.0 ng/ml</b>	

**Fiche de renseignement sur les infertilités masculines d'origine  
sécrétoire.**

<b>Numéro du dossier</b>	<b>Service</b>	<b>Médecin traitant</b>
--------------------------	----------------	-------------------------

**I- Etat civil du patient**

<b>Nom et prénom :</b>	<b>Adresse/Tel :</b>
<b>Profession :</b>	<b>Age :</b>

**II- Renseignements cliniques**

-.....  
-.....  
-.....

**III- Biologie**

**1- Les hormones**

FSH = , LH = , Testostérone = ,

**2- Spermogramme**

	Volume (ml)	NB de SPZ (millions/ml)	Vitalité (%)	Mobilité (%)	Morphologie (%)	Classification
1° Spermogramme						
2° SPG						

**3- Caryotype**

- Anomalie numérique :
- Anomalie structurale :

## **Abstract**

Infertility is a reproductive health problem that affects many couples in the human population. About 13 to 18 % of couple suffers from it and approximately one-half of all cases can be traced to either partner.

Many cases of idiopathic infertility have a genetic or molecular basis. The knowledge of the molecular genetics of male infertility is developing rapidly; new “spermatogenic genes” are being discovered.

Chromosomal abnormalities found in infertile patients are either gonosomal aneuploidies or structural anomalies, which interfere with the normal chromosome behavior at meiosis and lead to germ cell breakdown. Microdélétions of the Y chromosome are often undetectable at karyotype and are responsible for the loss of genes, which compose the AZF factor.

The main purpose of this study is to detect the type of chromosomal abnormalities in patients with severe male factor infertility. The association between the genetic abnormality and clinical parameters was also evaluated.

This study was carried out in 14 infertile men. Results of 14 patients, 12 had non obstructive azoospermia and 2 had severe oligospermia. Four of 14 patients had sex chromosomal abnormalities. The other cases have a normal karyotype.

Various chromosomal abnormalities can cause spermatogenic breakdown resulting in chromosomally derived infertility. All these findings strongly support the recommendation of genetic screening of infertile patients.

**Key Word :** Male, infertility, Cytogenetic study.

## Résumé :

L'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples dans la population humaine. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement la moitié de tous les cas peuvent être attribués à l'un ou à l'autre partenaire.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base cytogénétique ou moléculaire. Les connaissances acquises dans le domaine de la cytogénétique et de la biologie moléculaire de l'infertilité masculine se développent rapidement.

Les anomalies du caryotype retrouvées chez des patients infertiles sont, soit des aneuploïdies touchant principalement les gonosomes X et Y, soit des anomalies de structure entraînant des troubles de la répartition chromosomique à la méiose et le blocage des cellules germinales. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF.

Le but principal de cette étude est de détecter les anomalies chromosomiques chez des patients présentant une infertilité masculine non obstructive. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée.

Cette étude a été effectuée sur 14 hommes stériles. Parmi ces patients 12 ont une azoospermie et 2 présentent une oligospermie. 4 / 14 patients azoospermiques ont des anomalies des chromosomes sexuels. Les autres cas ont un caryotype normal.

Ces diverses anomalies chromosomiques peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine chromosomique. Tous ces résultats soutiennent fortement les recommandations du criblage génétique des patients stériles.

**Mots clés :** Mâle, infertilité, Étude Cytogénétique.



Année Universitaire : 2006/2007.

Présentée par : REZGOUNE- CHELLAT DJALILA

## Analyse cytogénétique des anomalies chromosomique des hommes infertiles.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister en Génétique des pathologies humaines.

### Résumé :

L'infertilité est un problème de santé majeur qui affecte beaucoup de couples dans la population humaine. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement la moitié de tous les cas peuvent être attribués à l'un ou à l'autre partenaire.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base cytogénétique ou moléculaire. Les connaissances acquises dans le domaine de la cytogénétique et de la biologie moléculaire de l'infertilité masculine se développent rapidement.

Les anomalies du caryotype retrouvées chez des patients infertiles sont, soit des aneuploïdies touchant principalement les gonosomes X et Y, soit des anomalies de structure entraînant des troubles de la répartition chromosomique à la méiose et le blocage des cellules germinales. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF.

Le but principal de cette étude est de détecter les anomalies chromosomiques chez des patients présentant une infertilité masculine non obstructive. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée.

Cette étude a été effectuée sur 14 hommes stériles. Parmi ces patients 12 ont une azoospermie et 2 présentent une oligospermie. 4 / 14 patients azoospermiques ont des anomalies des chromosomes sexuels. Les autres cas ont un caryotype normal.

Ces diverses anomalies chromosomiques peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine chromosomique. Tous ces résultats soutiennent fortement les recommandations du criblage génétique des patients stériles.

**Mots clés :** Mâle, infertilité, Étude Cytogénétique.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de biologie génétique du CHUC.

**Les membres du jury :**

**Président :** BENLATRECHE C. : *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**Rapporteur :** SATTA D. : *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**Examineurs :**

**ABADI N. :** *Professeur de la faculté de médecine, Constantine.*

**NAIMI D. :** *Professeur de l'université de Mentouri, Constantine.*

**ROUABAHL :** *Maitre de conférences de l'université de Mentouri, Constantine*

**Date de soutenance :** le / /2007.