

Spermatozoïdes macrocéphales poly flagellés : facteur d'echec en FIV/ICSI

Polyflagellated macrocephalic spermatozoa: failure factor in IVF/ICSI

Fanny M*, Konan P, Olou L, Aka E, Koffi A, Adjoussou S, Koné M
Service de Gynécologie-Obstétrique du CHU de Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire)
21 BP 632 Abidjan 21

***Correspondances** : Fanny Mohamed, Service de Gynécologie-Obstétrique du CHU de Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire),
21 BP 632 Abidjan 21, Tel: (00225) 07 08 52 52 32

Email: mohfanny@yahoo.fr

Accepté le 21 juillet 2021 - Accepté le 23 août 2021 - Publié le 3 septembre 2021

RESUME

Les auteurs rapportent deux cas d'infertilité masculine caractérisée par des anomalies spermatiques de type spermatozoïdes polyflagellés macrocéphaliques affectant l'ensemble de la population de gamètes. Ils démontrent, d'une part, les limites techniques de la micro-injection avec de tels spermatozoïdes en raison du volume important de leur tête et, d'autre part, le résultat défavorable de la FIV-ICSI avec ce type de spermatozoïde porteur d'anomalies. L'analyse moléculaire de l'ADN somatique de ces sujets a révélé une mutation homozygote c.144delC du gène Aurora Kinase C. La consanguinité au niveau des parents de ces sujets semble être le principal facteur de risque. Cette situation constitue un facteur d'échec de la FIV et conduit à orienter le couple vers le don de gamètes ou vers l'adoption comme solution au projet parental.

Mots clés : Macrocéphalie, micro-injection, spermatozoïdes

ABSTRACT

The authors report two cases of male infertility characterized by spermatoc abnormalities of polyflagellated macrocephalic spermatozoa type affecting the entire gametes population. They demonstrate, on the one hand, the technical limitations of microinjection with such spermatozoa due to the large volume of their head and, on the other hand, the unfavourable outcome of the IVF-ICSI with this type of spermatozoa carrying abnormalities constituent. Molecular analysis of the somatic DNA of these subjects revealed a homozygous c.144delC mutation of the Aurora Kinase C gene. Consanguinity at the level of these subjects' parents appears to be the main risk factor. This situation constitutes a factor of failure of the IVF and leads to direct the couple towards the donation of gametes or the adoption as solution to the parental project.

Keywords: Macrocephaly, Microinjection, Spermatozoa

INTRODUCTION

L'introduction et le développement de la micro-injection ovocytaire des spermatozoïdes en assistance médicale à la procréation ont contribué à résoudre l'infertilité d'origine masculine. Cependant, cette technique a des limites qui, dans de nombreux cas, constituent une solution palliative aux perturbations qualitatives et quantitatives majeures de la spermatogenèse. En effet, certaines situations pathologiques exceptionnelles représentées principalement par des anomalies structurales affectant l'ensemble de la population de gamètes rendent l'ICSI inefficace. C'est le cas des spermatozoïdes macrocéphales polyflagellés, caractérisés par une tête volumineuse et plusieurs flagelles. Nous rapportons deux cas qui nous permettront d'expliquer l'apport de la cytogénétique dans la compréhension de l'anomalie et de démontrer les limites de la FIV-ICSI.

OBSERVATION 1

M. MD, 38 ans, maçon de profession, a consulté avec son épouse pour une infertilité primaire depuis 11 ans. Ses antécédents médicaux personnels étaient sans particularité sans notion de consommation de tabac ni d'alcool. Le spermogramme, après quatre contrôles, montrait, sur un volume de 7 ml, une numération de 0,1 million / ml avec une mobilité de 3% de spermatozoïdes "b". Sur un dénombrement de 66 spermatozoïdes, le spermocytogramme a révélé que 95% des formes atypiques étaient dominées par des anomalies de la tête à type de macrocéphalie et des anomalies flagellaires de type flagelles multiples. Un tel bilan spermatique a donc conclu à une oligoasthénospermie extrême avec des spermatozoïdes macrocéphales à flagelles multiples. En outre, la conjoints de M. MD, âgée de 33 ans, a présenté une réserve ovarienne en voie d'effondrement. Après stimulation ovarienne pour FIV-ICSI, la réponse ovarienne a été limitée à 3 ovocytes. Au moment de la tentative de micro-injection, la tératospermie s'est avérée telle que seuls 3 spermatozoïdes injectables mais de morphologie atypique pouvaient être extraits de l'éjaculat. Un embryon a été obtenu et transféré. Cependant, la FIV-ICSI a échoué. Suite à l'échec de la FIV-ICSI, un contrôle du test de pré-micro-injection a permis d'extraire des spermatozoïdes vivants mais non injectables en raison de l'atypie affectant les têtes spermatiques (grande taille de la tête). Devant ces anomalies importantes et compte tenu de l'anomalie génétique majeure de ces spermatozoïdes à faible potentiel évolutif des

embryons obtenus, une analyse du contenu chromosomique des spermatozoïdes par technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) a été réalisée. Les sondes utilisées étaient les suivantes: Xp11.1-q11 spectre DXZ1 vert, Yq12 DYZ1 spectre orange, 18p11.1-q11.1 Spectre Aqua D18Z1, marque Vysis (Abbott). Après lavage et fixation des spermatozoïdes, en technique d'hybridation sur lame et après plusieurs tentatives, il n'a pas été possible d'obtenir des signaux interprétables au niveau des spermatozoïdes. Ce qui a fait évoquer une anomalie profonde de la structure des noyaux des spermatozoïdes. Une étude moléculaire effectuée sur ces noyaux a révélé une mutation homozygote du gène C144DelC du gène Aurora Kinase C.

OBSERVATION 2

M. ZA, un commerçant âgé de 34 ans, a consulté pour une infertilité primaire depuis cinq ans. L'interrogatoire n'a trouvé aucune histoire personnelle particulière. Son spermogramme a montré que sur un volume de 5 ml, on comptait 10 millions de spermatozoïdes par ml. La mobilité était altérée avec 10% de spermatozoïdes progressifs lents. Dans le spermocytogramme, 100% des formes atypiques ont été observées avec une atypie prédominante au niveau de la tête spermatique et du flagelle sous la forme de spermatozoïdes macrocéphales à flagelles multiples. Le test de pré-micro-injection sur gradient n'a révélé aucune forme typique utilisable dans la technique FIV-ICSI. Une analyse cytogénétique du sperme par hybridation de fluorescence in situ à l'aide de sondes spécifiques des chromosomes X, Y, 1 et 18 a montré un contenu polyploïde pour toutes les cellules analysées. L'étude moléculaire de l'ADN somatique de M. ZA a montré une mutation homozygote c.144delC du gène Aurora Kinase C.

Chez nos deux patients, le caryotype plasmatique était normal et la recherche de micro délétion du chromosome Y était négative. L'enquête auprès de la famille n'a pas trouvé de cas similaire. Toutefois, M. MD et ZA tous deux originaires de la même zone géographique et du même groupe ethnique, sont nés de parents consanguins.

DISCUSSION

Il y a une douzaine d'années, Barrière a rapporté les propos d'un éditorial du Monde décrivant l'ICSI comme un traitement miracle contre l'infertilité masculine [1]. Pendant un certain temps, on pensait que l'ICSI pouvait tout résoudre, car elle ne nécessitait qu'un seul spermatozoïde vivant par ovocyte, que ce spermatozoïde soit éjaculé ou

prélevé chirurgicalement, cryoconservé ou non. Aujourd'hui, on sait que l'ICSI échoue également dans certains cas. De nouvelles voies de recherche ont été tentées: l'ICSI avec les spermatides et bientôt, nous pourrions travailler avec du sperme obtenu après repeuplement des tubules séminifères par des cellules souches. Il existe bien actuellement de nombreuses limites spermiologiques à la prise en charge en procréation médicalement assistée.

Rôle du spermatozoïde

Les spermatozoïdes ne jouent pas simplement un rôle activateur de l'ovocyte pour la fécondation. Il apporte le patrimoine nécessaire au développement embryonnaire précoce et à la croissance du conceptus.

Qualité génétique du spermatozoïde

Les anomalies du nombre de chromosomes ou aneuploïdies sont les anomalies les plus fréquemment observées dans les fausses couches à répétition et les altérations de la gamétogenèse [1]. Depuis le développement des techniques de FISH, l'étude des chromosomes dans les spermatozoïdes est devenue relativement facile. L'analyse par hybridation in situ permet une estimation précise de la proportion de spermatozoïdes porteurs d'une disomie (présence de deux chromosomes d'une même paire dans une cellule haploïde) ou d'une diploïdie (existence d'un lot complet de paires chromosomiques dans l'espèce humaine soit 22 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels) [2]. Une revue de la littérature sur les études d'analyse du sperme par FISH chez des hommes fertiles et infertiles montre que les taux d'anomalies chromosomiques sont variables. Pour certains auteurs tels que Guttenbach et Miharu, il n'y a pas de différence dans la proportion d'aneuploïdie entre hommes fertiles et hommes stériles; pour les autres, au contraire, on observe des taux d'aneuploïdie plus élevés chez les hommes infertiles présentant un caryotype somatique normal [3-9]. Certains auteurs signalent une corrélation entre la qualité du sperme et la proportion d'aneuploïdie [7, 8,10-12]. En effet, selon eux, il existe une relation d'une part entre l'aneuploïdie et la concentration de spermatozoïdes et, d'autre part, entre l'aneuploïdie et la mobilité des spermatozoïdes [8,12]. Ainsi, en cas de spermatogenèse pathologique avec caryotype normal, il existe un lien étroit entre l'oligospermie et les aneuploïdes. Il ne semble pas y avoir de lien entre tératospermie et aneuploïdie, à l'exception de certaines anomalies morphologiques spécifiques (macro, microcéphalie) [1]. En effet, en ce qui concerne la corrélation tératospermie et anomalies

chromosomiques, les avis sont partagés. Pour certains auteurs comme Viville et Vicari, une tératospermie grave ne s'accompagne pas d'une incidence plus importante d'aneuploïdie [13,14]. D'autres auteurs, en revanche, signalent un taux significativement plus élevé d'anomalies chromosomiques de spermatozoïdes en cas de tératospermie [15]. Dans l'observation 2, l'analyse par la technique FISH des chromosomes X, Y et 18 a révélé des anomalies chromosomiques spermatiques. Ces résultats concordent avec ceux de Mateu, qui signale également une incidence élevée d'anomalies de type aneuploïdie sur les chromosomes X, Y et 18. En effet, dans une étude publiée en 2006, Mateu a constaté un taux d'aneuploïdie de 91,2% chez les sujets présentant des spermatozoïdes macrophaliques polyflagelés.

Devant la présence d'anomalies morphologiques de type macrocéphalie polyflagelle, on peut s'interroger sur les facteurs favorisant la survenue de telles atypies. Est-ce une anomalie acquise (en relation avec une exposition toxique) ou est-ce une anomalie génétique?

Facteurs de risque

Dans la littérature, peu d'études suggèrent un lien entre des facteurs possibles tels que la toxicité et ce type d'anomalie spermatique. Dans une étude réalisée par Rosemberg en 1985, il a signalé les effets toxiques de l'exposition chimique des travailleurs d'une raffinerie de pétrole sur la morphologie du sperme [17]. Il a montré un lien entre l'anomalie morphologique et l'exposition chimique. Dans une publication relativement récente, Mateu a signalé un cas de spermatozoïdes macrocéphales polyflagelés avec polyplôidie chez un patient de 38 ans qui travaillait dans une raffinerie de pétrole avec une exposition quotidienne à des agents chimiques tels que l'acide sulfurique, l'asphalte et l'ammonium [16]. D'autres facteurs de risque comme l'origine ethnique et la consanguinité, peuvent être liés à la présence de spermatozoïdes macrocéphales polyflagelés. Comme nous, Dieterich a également constaté ce type d'anomalie chez des sujets du même groupe ethnique que nos deux patients et la notion de consanguinité [18]. Mais le lien entre ces facteurs et l'anomalie mérite d'être démontré dans d'autres études menées sur une plus grande série.

Pathogénèse

Mais d'une manière générale, l'on sait que le *primum movens* de l'anomalie est une perturbation de la méiose I et II [19,20]. Il s'agit en fait d'une non-disjonction méiotique sans division cellulaire ni spermiogenèse. Dans une étude portant sur dix patients atteints de spermatozoïdes polyplôides

macrocéphales, Dieterich a démontré une mutation du gène Aurora Kinase C (AURKC) dans une analyse moléculaire [18]. Pour lui, seule la mutation homozygote c144delC est liée à l'infertilité. Les patients hétérozygotes n'ont pas une fertilité réduite. Dans notre travail, nos deux patients étaient homozygotes pour la mutation c144delC du gène Aurora Kinase C.

Conséquences cliniques

Les résultats de l'ICSI utilisant des spermatozoïdes présentant des anomalies dans l'analyse cytogénétique ont été évalués par plusieurs auteurs [10, 12, 21, 22]. Pour ces derniers, il apparaît que les anomalies chromosomiques des spermatozoïdes ont un effet délétère sur les résultats de l'ICSI, réduisant ainsi les taux de grossesse. Dans une étude cas-témoin de la fécondité et le devenir de l'embryon sur une série de 17 patients présentant diverses anomalies morphologiques spermatiques, dont la macrocéphalie, Kahraman a observé une diminution statistiquement significative du taux de grossesse par rapport au groupe témoin (9,1% contre 40%) [22]. Il a trouvé un nombre limité d'embryons transférables et sur 22 cycles, deux grossesses seulement ont été obtenues, mais sans issue favorable. Il a conclu que la présence de spermatozoïdes macrocéphales altère considérablement la fertilité et compromet les chances de grossesse. Cette conclusion est également partagée par d'autres auteurs qui observent également un risque accru d'anomalies génétiques des embryons obtenus avec une incidence accrue d'aneuploïdie et de mosaïques [23, 24]. Comme la plupart des auteurs, nous pensons que la présence de spermatozoïdes macrocéphales polyflagelés polyploïdes ne laisse pas présager de conception d'embryon viable [18, 20]. Ceci contre-indique la FIV-ICSI et les alternatives que nous proposons sont l'adoption et le don de gamètes.

CONCLUSION

La FIV-ICSI présentée comme une solution miracle à l'infertilité masculine n'apporte pas toujours la solution. Une oligoasthénospermie grave accompagnée d'une tératospermie importante peut être le signe d'un trouble profond de la structure du sperme. L'étude cytogénétique par hybridation in situ peut aider à clarifier la nature des anomalies chromosomiques, tandis qu'une étude moléculaire permet d'identifier la mutation du gène responsable dans certains cas. Une oligoasthénospermie avec tératospermie totale monomorphe constituée de spermatozoïdes macrocéphales polyflagelés en est

un exemple. Outre la difficulté technique de l'ICSI liée à la grande taille de la tête du spermatozoïde, une telle perturbation du spermogramme contre-indique l'utilisation du sperme dans la procréation médicalement assistée car les embryons n'ont aucun potentiel d'évolution. Après avoir été informés du risque, les couples devraient être dissuadés d'entreprendre une assistance médicale à la procréation intra-conjugale.

RÉFÉRENCES

- 1. Barriere P.** Les limites spermiologiques à l'AMP. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2005; 34: 5S34-5S37.
- 2. In't Veld PA, Broekmans FJ, de France HF, Pearson PL, Pieter MH, Van Kooij RJ.** Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and chromosomal abnormal spermatozoa. *Hum Reprod.* 1997; 12: 752-754.
- 3. Guttenbach M, Martinez-Exposito MJ, Michelmann HW, Engel W, Schmid M.** Incidence of diploid and disomic sperm nuclei in 45 infertile men. *Hum Reprod.* 1997; 12: 468-473.
- 4. Miharuru N, Best RG, Young SR.** Numerical chromosome abnormalities in spermatozoa of fertile and infertile men detected by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet.* 1994; 93: 502-506.
- 5. Bernardini L, Borini A, Preti S, Conte N, Flamigini C, Capitanio GL, Venturini PL.** Study of aneuploidy in normal and abnormal germ cells from semen of fertile and infertile men. *Hum Reprod.* 1998; 13: 3406-3413.
- 6. Aran B, Blanco J, Vidal F, Vendrell JM, Egozcue S, Barri PN, Egozcue J, Veiga A.** Screening for abnormalities of chromosomes X, Y, and 18 and for diploidy in spermatozoa from infertile men participating in an in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection program. *Fertil Steril.* 1999; 72: 696-701.
- 7. Ushijima C, Kumasako Y, Kihale PE, Hirotsuru K, Utsunomiya T.** Analysis of chromosomal abnormalities in human spermatozoa using multi-color fluorescence in situ hybridization. *Hum Reprod.* 2000; 15: 1107-1111.
- 8. Vegetti W, Van Assche E, Frias A, Verheyen G, Bianchi MM, Bonduelle M, Liebaers I, Van Steirteghem A.** Correlation between semen parameters and sperm aneuploidy rates investigated by fluorescence in-situ hybridization in infertile men. *Hum Reprod.* 2000; 15: 351-365.
- 9. Martin RH, Rademaker AW, Greene C, Ko E, Hoang T, Barclay L, Chernos J.** A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate, and severe oligozoospermia. *Biol Reprod.* 2003; 69: 535-539.

- 10. Bernadini L, Gianaroli L, Fortini D, Conte N, Magli C & coll.** Frequency of hyper, hypohaploidy and diploidy in ejaculate, epididymal and testicular germ cells of infertile patients. *Hum Reprod.* 2000; 15: 2165-2172.
- 11. Nishikawa N, Murakami I, Ikuta K, Suzumori K.** Sex chromosomal analysis of spermatozoa from infertile men using fluorescence in situ hybridization. *J Assist Reprod Genet.* 2000; 17: 97-102.
- 12. Rubio C, Gil-Salom M, Simon C, Vidal F, Rodrigo L & coll.** Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum Reprod.* 2001; 16: 2084-2092.
- 13. Viville S, Mollard R, Bach ML, Falquet C, Gerlinger P, Warter S.** Do morphological anomalies reflect chromosomal aneuploidies? Case report. *Hum Reprod.* 2000; 15: 2563-2566.
- 14. Vicari E, Perdichizzi A, De Palma A, Burrello N, D'Agata R, Calogero AE.** Globozoospermia is associated with chromatin structure abnormalities : case report. *Hum Reprod.* 2002; 17: 2128-2133.
- 15. Lewis-Jones I, Aziz N, Seshadri S, Douglas A, Howard P.** Sperm chromosomal abnormalities are linked to sperm morphologic deformities. *Fertil Steril.* 2003; 79: 212-215.
- 16. Mateu E, Rodrigo L, Prados N, Gil-Salom M, Remohi J & coll.** High incidence of chromosomal abnormalities in large-headed and multiple-tailed spermatozoa. *J Androl.* 2006; 27: 6-10.
- 17. Rosemberg MJ, Wyrobek AJ, Ratcliffe J, Gordon LA, Watchmaker G & coll.** Sperm as an indicator of reproductive risk among petroleum refinery workers. *Br J Ind Med.* 1985; 42: 123-127.
- 18. Dieterich et coll.** Homozygous mutation of AURKC yields large-headed polyploid spermatozoa and causes male infertility. *Nat Genet.* 2007; 39: 661-665.
- 19. Achard V, Guichaoua MR.** Syndrome des spermatozoïdes macrocéphales polyflagelles et Assistance Médicales à la Procréation. *Androl.* 2005 ; 15: 185-188.
- 20. Devillard F, Metzler-Guillemain C, Pelletier R, De Robertis C, Bergues U & coll.** Polyploidy in large-head sperm : FISH study of three cases. *Hum Reprod.* 2002; 17: 1292-1298.
- 21. Pfeffer J, Pang MG, Hoegerman SF, Osgood CJ, Stacey MW & coll.** Aneuploidy frequencies in semen fractions from ten oligoasthenoteratozoospermic patients donating sperm for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 1999; 72: 472-478.
- 22. Karhaman S, Akarsu C, Cengiz G, Dirican K, Sözen E & coll.** Fertility of ejaculated and testicular megalohed spermatozoa with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1999; 14 (3): 726-730.
- 23. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Iammarrone E.** Preimplantation diagnosis after assisted reproduction techniques for genetically-determined male infertility. *J Endocrinol Invest.* 2000; 23: 711-716.
- 24. Silber S, Escudero T, Lenahan K, Abdelhadi I, Kilani Z, Munne S.** Chromosomal abnormalities in embryos derived from testicular sperm extraction. *Fertil Steril.* 2003; 79: 30-38.