

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie-Biologie moléculaire et cellulaire

قسم الكيمياء الحيوية-البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : *Physiologie cellulaire et physiopathologie (PCPP)*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

## Profil Clinico-pathologique et moléculaire des azoospermies au niveau de l'Est Algérien.

---

Présenté par :MHAMEDI El Cheima  
KHALED Maya Selsabil

Le 22/06/2022

Jury d'évaluation :

**Encadreur1 :** Dr DAHMANI Dahbia Ines (MC.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadreur1 :** Dr SELLAM-DJENNANE Feriel (MC.B - Centre de Recherche National en Biotechnologie).

**Examineur 1 :** Pr ROUABAH Leila (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** Dr OUNIS Leila (MC.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire  
2021 – 2022

## *Remerciement*

We firstly express our deep indebtedness to the almighty Allah who grants us success, and shows us the way to attain our own aims

We simply cannot express enough thanks to Dr. Dahbia Ines Dahmani and Dr. Ferial Sellam-Djennane for having supervised and co-supervised this subject; Dr. I. Dahmani for the trust she has placed in us by agreeing to oversee this work, for the very valuable help she has given us and for her patience. Dr. F. Sellam-Djennane for the never-ending feedbacks, continual support, and the quite remarkable amount of encouragements. We are indeed grateful to their ultimate belief in our sometimes unusual ideas. It has been a true pleasure working with such supervisors

We would like also to express our sincere gratefulness to Mrs. Anissa Nini and Dr. Sariyah Ayachi for their insightful criticisms, and patient encouragement and efforts, and to all the staff of the laboratory of cytogenetics and histology at The National Biotechnology Research Center, for welcoming us and for ensuring that this thesis was completed in best conditions.

Acknowledgments also extend to the members of the thesis committee:

Pr. Rouabah Leila, it is with all our pleasure we thank you, and we show our sincere gratitude.

Thank you for giving us the honor of evaluating our work. We'd also love to show our appreciation for all what you've done to us and to our specialty throughout the years, and for your kind words and support. We express our respect and love to you.

Dr. Ounis Leila for evaluating our thesis and for allowing us to make the most of your knowledge and hard work throughout the last years.

We would also like to thank all our teachers during our university cycle for their efforts and their advice throughout the years.

Finally, we would like to show our appreciation to everyone who contributed in any way to help write this thesis.

## *Dédicace*

I would love to dedicate this work to the memory of my father and grandfather

My deep love and profound affection go to my dear mother '**Hafida**', and my grandmother '**Habiba**' without whom I could not do anything in my life

To my three beloved siblings: **Manal**, **Bakir** and **Samy** who surround me with their care and love and to whom I wish successful lives.

My best friends: **Rania**, **Abderrahmane**, **Ahmed** and **Chaouki** for always being there for me and for their endless support and love.

A special thanks to my aunts and uncles: **Fatima**, **Yasmina**, **Amar** and **Saïd** and to my cousin '**Lina**' for believing in me.

And to my lovely **Cheima**, I literally couldn't have done it without you

Finally, to my nephew **Amdjad**, we love you.

## *Dédicace*

Words can never express my deep love and gratitude to my parents '**Moundji**' and '**Chehla**' to whom I owe a great debt.

My beloved brothers: **Saber**, **Walid** and **Anis** and my sister **Chiraz** for being loving and supportive

My dear aunts: **Nawel** and **Farida** for their love and encouragements

A special thanks to my beautiful cousins: **Housna** for always believing in me and **Noursine** for her joyful presence and cuteness

I also dedicate this work to all my friends but especially **Meriem** and **Racha** who have been a constant source of support and encouragement

Also a huge thanks to **Kabil** and **Maya** for always having my back.

I would love to dedicate this work to the memory of my grandparents, my grandmother, may God protect her and to every member of Mhamedi family. My great gratitude for your eternal love, this work is the best gift I can offer you.

At the end, a special thanks goes to our classmates that we got to share so many memories with throughout our years in the university. It has been a ride and we are glad we got to go through it with each and every one of you. We hope you guys have a bright future.

## Résumé

**Contexte :** L'azoospermie non obstructive est diagnostiquée dans environ 10% dans l'infertilité masculine dans laquelle aucun spermatozoïde est trouvé dans l'éjaculat à la suite de l'échec de la spermatogenèse.

**Objectif :** L'objectif de cette étude est d'évaluer le profil cytogénétique et moléculaire des patients atteints d'azoospermie non obstructive afin de déterminer la prévalence des anomalies chromosomiques et des microdélétions du facteur azoospermique (AZF)

**Méthodes :** 25 patients de l'Est algérien souffrant d'azoospermie non obstructive (NOA) ont été inclus dans cette étude sur 31 patients recrutés au laboratoire de diagnostic génétique au Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt). Ils ont tous eu une biopsie testiculaire et une évaluation hormonale. Ils ont subi une analyse cytogénétique par banding G standard ; les microdélétions d'AZF ont été examinées par réaction en chaîne de polymérase (PCR) multiplex et électrophorèse capillaire.

**Résultats :** La plupart des patients avaient un niveau anormal des hormones ; un niveau élevé de FSH et de LH avec un niveau moyen de 18,29 mIU/mL et 8,89 mIU/mL respectivement, un faible niveau de testostérone avec une moyenne de 5,24nmol/L. Seulement SCO a été corrélé avec les autres paramètres (Age : **0.35** FSH : **0.22** LH: **0.22** Testostérone: **0.094**). Tous les patients avaient un caryotype normal, et un pourcentage de 8 % d'entre eux ont reçu un diagnostic de microdélétions.

**Conclusion :** C'est toujours un challenge d'identifier les patients qui ont une meilleure chance de biopsie réussie, ceci montre le grand intérêt de multiplier ce type de travaux par les biologistes pour mieux assister, voire éclairer le clinicien sur les démarches à suivre auprès de chaque patient souffrant d'azoospermie non obstructive afin d'avoir une meilleure prise en charge et augmenter la possibilité de la paternité biologique.

**Mots-clés :** Azoospermie non obstructive, infertilité masculine, cytogénétique, réaction en chaîne polymérase multiplex, microdélétions.

## **Abstract**

**Background:** Non-obstructive azoospermia is diagnosed in approximately 10% within male infertility in which no sperm is found in the ejaculate as a result of spermatogenesis failure.

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the cytogenetic and molecular profile of patients with non-obstructive azoospermia in order to determine the prevalence of chromosome abnormalities and azoospermia factor (AZF) microdeletions.

**Methods:** 25 patients from the Algerian east with non-obstructive azoospermia (NOA) were included in this study out of 31 patients who were recruited to the laboratory of genetic diagnosis at The National Biotechnology Research Center (CRBT). They all had a testicular biopsy and a hormonal assessment. They underwent cytogenetic analysis by standard G-banding; AZF microdeletions were examined by multiplex polymerase chain reaction (PCR) and capillary electrophoresis.

**Results:** Most of the patients had an abnormal level of hormones; a high level of FSH and LH with an average level of 18.29 mIU/mL and 8.89 mIU/mL respectively, a low level of testosterone with an average of 5.24nmol/L. Only SCO was correlated with the other parameters (Age: **0.35** FSH: **0.22** LH: **0.22** Testosterone: **0.094**). All patients had a normal karyotype, and a percentage of 8% of them were diagnosed with microdeletions.

**Conclusion:** It is always a challenge to identify patients who have a better chance of successful biopsy, this shows the great interest of multiplying this type of work by biologists to better assist, and provide guidance to the clinician on the steps to be taken with each patient with non-obstructive azoospermia in order to improve the management and increase the possibility of biological paternity.

**Keywords:** Non-obstructive azoospermia, male infertility, cytogenetics, multiplex polymerase chain reaction, microdeletions.

## ملخص

**المقدمة :** يتم تشخيص فقد النطاف غير الانسدادي في حوالي 10% في حالات العقم عند الذكور حيث لا توجد حيوانات منوية في السائل المنوي نتيجة لفشل تكوين الحيوانات المنوية.

**الهدف :** الهدف من هذه الدراسة هو تقييم المظهر الخلوي والجزئي للمرضى الذين يعانون من فقد النطاف غير الانسدادي لتحديد مدى انتشار تشوهات الكروموسومات وحذف عامل نقص النطاف (AZF).

**النتائج :** كان لدى معظم المرضى مستوى غير طبيعي من الهرمونات. مستوى مرتفع من FSH و LH بمتوسط 18.29 ميكرو وحدة دولية / مل و 8.89 ميكرو وحدة دولية / مل على التوالي ، ومستوى منخفض من هرمون التستوستيرون بمتوسط 5.24 نانومول / لتر. كان لدى جميع المرضى نمط نووي طبيعي ، وشخصت نسبة 8% منهم بحذف دقيق.

**الطرق:** تم تضمين 25 مريضًا من الشرق الجزائري يعانون من فقد النطاف غير الانسدادي (NOA) في هذه الدراسة من بين 31 مريضًا في مختبر التشخيص الوراثي في المركز الوطني لبحوث التكنولوجيا الحيوية (CRBt). كان لديهم جميعًا خزعة من الخصية وتقييم هرموني. لقد خضعوا للتحليل الوراثي الخلوي عن طريق التطبيق شريطي G ؛ تم فحص الحذف الصغير AZF عن طريق تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد والرحلان الكهربائي الشعري.

**الخاتمة :** من الصعب دائمًا تحديد المرضى الذين لديهم فرصة أفضل لأخذ خزعة ناجحة ، وهذا يدل على الاهتمام الكبير بمضاعفة هذا النوع من العمل من قبل علماء الأحياء لمساعدة أفضل ، وتقديم إرشادات للطبيب حول الخطوات التي يجب اتخاذها مع كل مريض فقد النطاف غير الانسدادي من أجل تحسين الإدارة وزيادة إمكانية الأبوة البيولوجية.

**الكلمات المفتاحية :** فقد النطاف غير الانسدادي ، وعقم الذكور ، وعلم الوراثة الخلوية ، وتفاعل البوليميراز المتعدد المتسلسل، والحذف الصغير.

## TABLE DE MATIERE

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
CHAPITRE.I.....	4
I. Infertilité : .....	4
II. Infertilité masculine : .....	6
III. Spermatogénèse .....	7
III.1. Structures et cellules : .....	8
III.1.1. Tubes séminifères : .....	9
III.1.2. Cellules péritubulaires : .....	9
III.1.3. Cellules de Leydig : .....	9
III.1.4. Cellules de Sertoli : .....	9
III.1.5. Cellules germinales : .....	10
III.2. Etapes de la spermatogénèse : .....	11
III.3. Structure des spermatozoïdes : .....	12
III.3.1. Tête : .....	13
III.3.2. Flagelle : .....	13
III.4. Sperme : .....	14
IV. Types et causes de l'infertilité masculine : .....	14
IV.1. Causes de l'Azoospermie : .....	16

IV.1.1. Centrale : .....	16
IV.1.2. Périphérique : .....	17
V. Diagnostic de l'infertilité masculine : .....	28
V.1. Spermogramme: .....	28
V.2. Polymerase Chain Reaction (PCR) : .....	30
V.3. Caryotype : .....	32
Matériel et méthodes.....	34
I. Type d'étude .....	34
II. Patients et témoins : .....	34
II.1. Recrutement des patients : .....	34
II.1.1. Critères d'inclusion: .....	34
II.1.2. Critères d'exclusion: .....	34
II.2. Témoins : .....	34
III. Méthodes : .....	35
III.1. Analyse hormonale : .....	35
III.2. Biopsie : .....	35
III.3. Etude cytogénétique : .....	35
III.3.1. Le caryotype : .....	35
III.4. Etude moléculaire : .....	38
III.4.1. Extraction d'ADN à partir de sang total : .....	38
III.4.2. Recherche des micro-délétions du chromosome Y : .....	40
III.5. Analyse statistique .....	42
Résultats et discussion .....	43
I. Répartition de la population étudiée selon l'âge : .....	43
II. Répartition de la population étudiée selon le niveau du FSH : .....	44
III. Répartition de la population étudiée selon le niveau du LH : .....	46
IV. Répartition de la population étudiée selon le niveau de la testostérone : .....	47
V. Diagnostic histologique : .....	48
VI. Caryotype : .....	53
VII. Etude des micro-délétions : .....	54
Conclusion et perspectives.....	57
Références.....	60

## Liste des figures

<b>Figure. 1 :</b> Fréquences de l'infertilité masculine à l'échelle mondiale .....	4
<b>Figure. 2 :</b> La différence entre stérilité et infertilité.....	5
<b>Figure. 3 :</b> Caractéristiques de sperme d'un homme infertile. ....	6
<b>Figure. 4 :</b> Prévalence de l'infertilité primaire en 2010. ....	7
<b>Figure. 5 :</b> Prévalence de l'infertilité secondaire en 2010.....	7
<b>Figure. 6 :</b> Complexité des facteurs impliqués dans la régulation endocrinienne et paracrine du testicule. ....	8
<b>Figure. 7 :</b> structures et cellules testiculaires. ....	10
<b>Figure. 8 :</b> Les étapes de la spermatogénèse. ....	12
<b>Figure. 9 :</b> La structure des spermatozoïdes. ....	14
<b>Figure. 10 :</b> Localisation cytogénétique, principales fonctions, caractéristiques saillantes et troubles associés aux aberrations associées au chromosome Y mammifère. ....	21
<b>Figure. 11 :</b> Structure du chromosome Y humain.....	22
<b>Figure. 12 :</b> gènes liés à l'X associés aux maladies avec une expression spécifique des testicules chez la souris et l'homme. ....	23
<b>Figure. 13 :</b> Groupes de gènes spécifiques aux testicules sur le chromosome humain X. ....	24
<b>Figure. 14 :</b> Caryotype d'un homme infertile touché par le syndrome de klinefelter.....	25
<b>Figure. 15 :</b> Réaction en chaîne de la polymérase (PCR). ....	31
<b>Figure. 16 :</b> Caryotype humain normal (homme). ....	33
<b>Figure. 17 :</b> Types de chromosomes. ....	33
<b>Figure. 18 :</b> Répartition de la population étudiée selon l'âge. ....	43
<b>Figure. 19 :</b> Répartition de la population étudiée selon le niveau du FSH. ....	44
<b>Figure. 20 :</b> Répartition de la population étudiée selon le niveau du LH. ....	46
<b>Figure. 21 :</b> Répartition de la population étudiée selon le niveau de la testostérone. ....	47
<b>Figure. 22 :</b> Répartition des diagnostics histologiques chez les patients azoospermes. ....	48
<b>Figure. 23 :</b> Caryotype d'un patient azoospermique ne présentant aucune anomalie de structure ou de nombre.....	53

**Figure. 24 :** profile d'électrophorèse sur gel de la PCR du gène SRY, région AZFa, AZFb et AZFc. .... 54

**Figure. 25 :** Profile de migration par électrophorèse de patients montrant une délétion dans la région AZF du chromosome Y. .... 55

## Liste des tableaux

<b>Tableau. 1 :</b> Causes congénitales courantes d'insuffisance testiculaire et d'azoospermie obstructive avec corrélations génotypes et phénotypes. ....	27
<b>Tableau. 2 :</b> Normes des spermogrammes et spermocytogramme selon l'OMS (2010). ....	29
<b>Tableau. 3 :</b> Composition du milieu réactionnel de PCR pour l'amplification du gène SRY....	41
<b>Tableau. 4 :</b> Programme du thermocycleur pour l'amplification du gène SRY. ....	41
<b>Tableau. 5 :</b> Corrélations entre les paramètres cliniques des patients et l'histologie testiculaire. ....	49

## Liste des abréviations

<b>ABCD :</b>	Agénésie bilatérale des canaux déférents
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléase
<b>APS :</b>	Agence de Presse Algérienne
<b>AR:</b>	Androgen Receptor
<b>ARN:</b>	Acide ribonuclease
<b>AZF:</b>	Azoospermia factor
<b>CBAVD:</b>	Congenital bilateral absence of the vas deferens
<b>CFTR:</b>	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
<b>CHRU :</b>	Centre Hospitalier Regional Universitaire
<b>DHT :</b>	5 $\alpha$ -dihydrotestostérone
<b>FB:</b>	Fibrose
<b>FSH:</b>	Follicle-stimulating hormone
<b>GnRH:</b>	Gonadotropin hormone-releasing hormone
<b>HH:</b>	Hypogonadisme hypogonadotrope
<b>HPRL:</b>	Protein hormone of anterior lobe of hypophysis
<b>ICSI :</b>	Intracytoplasmic sperm injection
<b>INSL3:</b>	Insulin-like peptide 3
<b>KS:</b>	Klinefelter syndrome
<b>LC:</b>	Leydig cells

<b>LH:</b>	Luteinizing hormone
<b>NOA :</b>	Non-obstructive azoospermia
<b>OA :</b>	Obstructive azoospermia
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PCR:</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PSC:</b>	Primary spermatocyte
<b>ROS:</b>	Reactive oxygen species
<b>SPT:</b>	Spermatid
<b>SRY:</b>	Sex Determining Region Y
<b>SSC:</b>	Secondary spermatocyte
<b>ST:</b>	Seminiferous tubes
<b>TDF:</b>	Testis-determining factor
<b>TEX11:</b>	Testis Expressed 11

# Introduction

### Introduction

Au cours de la deuxième décennie du nouveau millénaire, l'infertilité demeure une condition mondiale très répandue, elle touche entre 8 à 12% des couples en âge de procréer dans le monde, 9% étant actuellement cités comme la moyenne mondiale probable, les données suggèrent qu'entre 48 millions de couples et 186 millions de personnes souffrent d'infertilité dans le monde (Leslie, Siref, et al., 2022; WHO, 2010).

Cependant, dans certaines régions du monde, les taux d'infertilité sont beaucoup plus élevés, atteignant 30% dans certaines populations, y compris l'Asie du Sud, l'Afrique subsaharienne, le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord, l'Europe centrale et orientale et l'Asie centrale (Inhorn & Patrizio, 2015).

Bien que l'infertilité ait toujours été presque exclusivement liée aux femmes et évaluée sur elles, probablement pour des raisons culturelles, le taux d'infertilité des facteurs masculins a augmenté plus rapidement que celui des facteurs féminins au cours des dernières décennies ; on estime à peu près que le facteur masculin représente environ 50 % des cas, tandis que 30 % de tous les cas d'infertilité sont exclusivement liés à un facteur d'infertilité masculine (Rivera & Garrido, 2019).

La qualité du sperme est considéré comme l'un des déterminants les plus importants de l'infertilité chez les hommes (Amini et al., 2020). Des plus en plus de preuves suggèrent que la fécondité chez les hommes est en baisse et que le nombre de spermatozoïdes a diminué de 50 % au cours des 50 dernières années à l'échelle mondiale. Un homme des années 2000 produit deux fois moins de spermatozoïdes que son propre père soit une diminution de 2% par an (Dai et al., 2021).

Ces altérations spermatiques peuvent être dues à différentes causes telles que la varicocèle, des causes hormonales, infectieuses, génétiques, troubles de l'éjaculation ou de l'érection. Comme elles peuvent être inexplicables (Pelzman & Hwang, 2021).

La fertilité peut également être altérée par différents facteurs : tabac, alcool, drogues, médicaments, poids, alimentation, exposition professionnelle, sport intense, stress.

Les hommes qui ont une absence complète de sperme dans l'éjaculat sont azoospermiques. Cela représente 10-15% des patients d'infertilité masculine, parmi eux 50-60% qui sont azoospermie non obstructive (NOA), qui est caractérisée par l'absence de sperme dans l'éjaculat sans l'obstruction de la voie du tractus reproducteur. NOA survient dans ~1 % de la population masculine et environ 20 à 25 % des patients atteints NOA sont causés par des anomalies génétiques connues. Ceux qui impliquent des anomalies chromosomiques à environ 15% -16% (Hammami et al., 2015).

L'anomalie chromosomique la plus fréquente étant le caryotype 47, XXY qui caractérise le syndrome de Klinefelter (KS) avec une fréquence de 14%, suivi par les microdélétions du bras long du chromosome Y (Yq) en supprimant le facteur azoospermique (AZF) région ou parties avec une fréquence de 8%. Cependant, il y a encore une proportion importante de patients NOA dont l'étiologie est inconnue (Hauptman et al., 2021).

Le bilan initial de l'infertilité devrait comprendre au moins des antécédents médicaux complets, un examen physique axé sur les organes génitaux masculins et au moins une analyse du sperme. L'achèvement de cette évaluation, en plus des taux sériques de la FSH et de la testostérone, peut identifier l'étiologie de l'infertilité chez jusqu'à 70% des hommes (Pelzman & Hwang, 2021).

Des tests génétiques devraient être envisagés chez les hommes atteints NOA, d'oligospermie grave ou de vases non palpables. Les tests génétiques servent deux objectifs principaux dans le cadre de l'infertilité : déterminer les conditions héréditaires qui peuvent être transmises à la progéniture et évaluer les conditions qui peuvent avoir une incidence sur le succès des techniques de procréation assistée. Le diagnostic de problèmes génétiques causant l'infertilité peut également avoir des répercussions sur la prise en charge de la santé globale du patient (Pelzman & Hwang, 2021). Sauf que dans certains pays d'Afrique du nord comme en Algérie, les patients souffrent souvent de manque de moyens et par conséquent de diagnostic

non spécifique ou même erroné, d'où l'importance de la généralisation de l'utilisation de tests cytogénétiques et moléculaires spécifiques au type d'infertilité comme est le cas de l'azoospermie.

Les objectifs de notre étude sont :

- D'évaluer le profil cytogénétique et moléculaire des patients atteints d'azoospermie non obstructive
- Déterminer la fréquence des anomalies chromosomiques
- Déterminer la fréquence des microdélétions du facteur azoospermique (AZF)

# CHAPITRE I

## Recherche Bibliographique

## CHAPITRE.I

## I. Infertilité :

L'infertilité est une condition prévalente qui affecte environ 70 millions de personnes dans le monde. Qu'elle soit masculine, féminine ou conjugale, l'infertilité involontaire reste un problème humain, psychologique et social, subi par les sujets atteints comme une fatalité et un facteur d'instabilité conjugale. L'Organisation mondiale de la santé estime que 9 % des couples dans le monde sont aux prises avec des problèmes de fertilité et que le facteur masculin contribue de 50 % à 66 % de ces problèmes (Fainberg & Kashanian, 2019).

Région	Hommes reportés infertiles	Couples reportés infertiles	Couples dans lesquels le facteur masculin est l'un des multiples facteurs impliqués
Amérique du Nord	4.5-6%	15%	50%
Moyen-Orient	Inconnue	Inconnue	60%-70%
Afrique subsaharienne	2.5%-4.8%	12.5%-16%	20-40%
Europe	7.5%	15%	50%
Australie	8% - 9%	15%	40%
Europe centrale	8%-12%	20%	56%
Asie	Inconnue	Inconnue	37%
Amérique Latine	Inconnue	Inconnue	52%
Afrique	Inconnue	Inconnue	43%

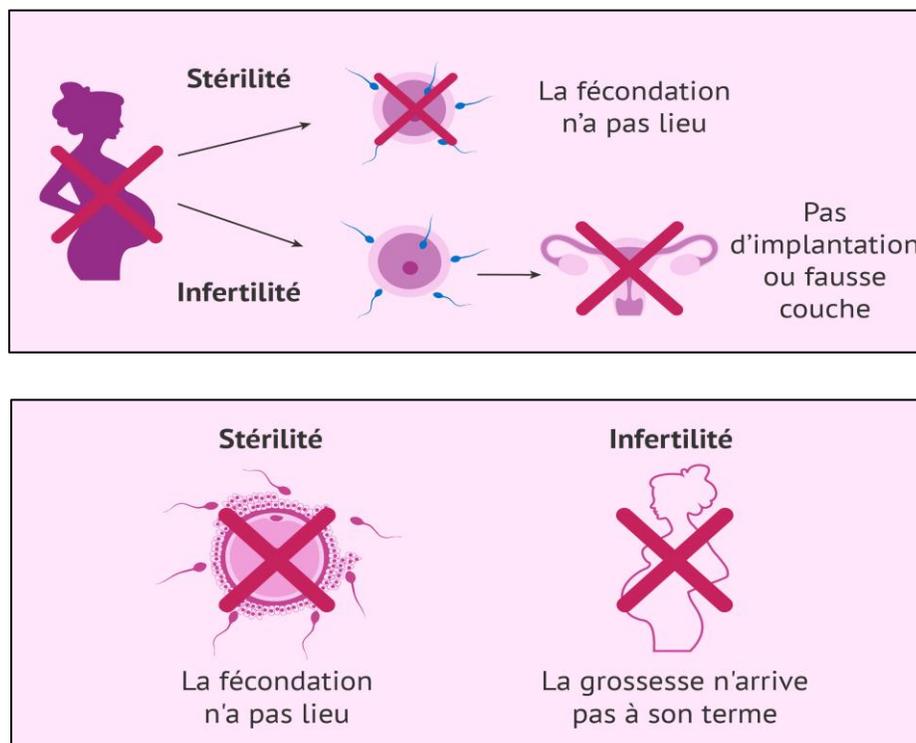
**Figure. 1** : Fréquences de l'infertilité masculine à l'échelle mondiale (Fizazi & Encadreur: BENDAHMANE, 2016)

Selon les statistiques fournies par l'Agence de Presse Algérienne (APS) en 2012, le taux d'infertilité en Algérie se situe aux environs de 15%.

La définition de la stérilité et de l'infertilité n'est pas la même selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) : (Figure. 2)

L'infertilité est l'incapacité d'un adulte sexuellement mature de se reproduire par des moyens naturels. À des fins scientifiques et médicales, l'infertilité est généralement définie comme l'échec d'une grossesse réussie après au moins un an de rapports sexuels réguliers non protégés, pour un groupe d'experts de l'OMS (organisation mondiale de la Santé) l'infertilité comprend aussi bien l'incapacité de concevoir que celle d'amener le produit de conception jusqu'à naissance vivante (22.10, 2018; Masson, s. d.; WHO, 2010).

**La stérilité** : au niveau physiologie et biologie se définit comme l'inaptitude à la reproduction, une anomalie qui empêche la reproduction d'un organisme vivant suite à des altérations de la structure ou de la fonction des organes sexuels ou de leurs gamètes défectueux.



**Figure. 2** : La différence entre stérilité et infertilité. (Rodrigo, 2019)

Dans les cas de stérilité, la fécondation n'a même pas lieu et, par conséquent, la gestation n'aura pas lieu non plus. D'autre part, dans les situations d'infertilité, bien qu'il y ait fécondation

de l'ovule par le spermatozoïde, l'embryon créé n'atteint pas le développement, c'est-à-dire que la grossesse n'arrive pas à terme (Fainberg & Kashanian, 2019).

### II. Infertilité masculine :

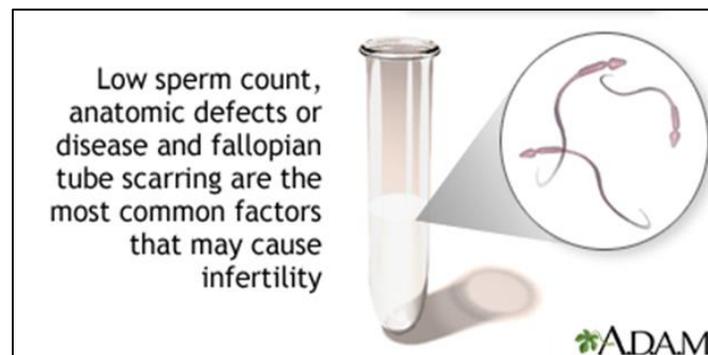
Durant des siècles, la responsabilité de l'homme dans l'infertilité du couple a été niée : depuis toujours, on a assimilé l'infertilité à l'impuissance, et que seule l'impuissance peut entraîner l'infertilité de l'homme.

Mais, depuis la découverte des spermatozoïdes par Anton Vanwenhoek, en 1679, et leurs absences dans certains spermes, découvert en 1850, la responsabilité de l'homme a été mise en cause et prise en considération (Mariko, 2009).

L'infertilité masculine est une affection pathologique multifactorielle qui touche environ 7 % de la population masculine. Survient lorsqu'il y a trop peu ou pas de spermatozoïdes, à cause d'un blocage qui empêche le sperme d'être libéré ou lorsque les spermatozoïdes ne sont pas sains et mobiles et ne peuvent pas traverser le système reproducteur féminin pour féconder un ovule (Krausz & Riera-Escamilla, 2018).

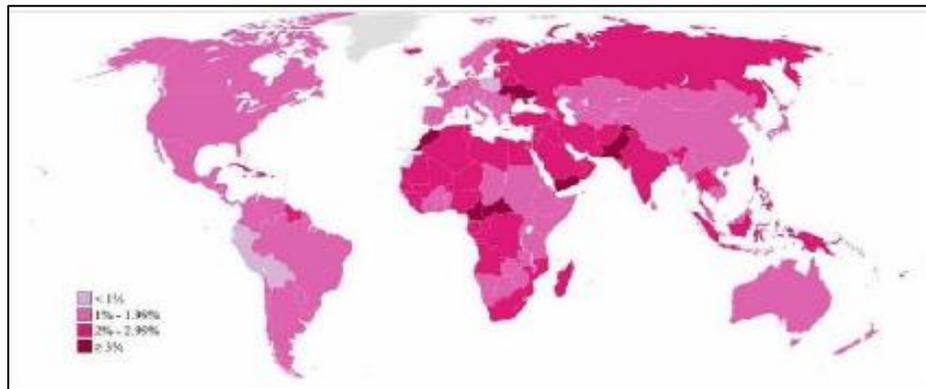
L'infertilité peut être **primaire** ou **secondaire** :

**Infertilité primaire** : est un terme utilisé pour décrire un couple qui n'a jamais été en mesure de concevoir une grossesse après un minimum d'un an de tenter de le faire par des rapports sexuels non protégés (Abebe et al., 2020).

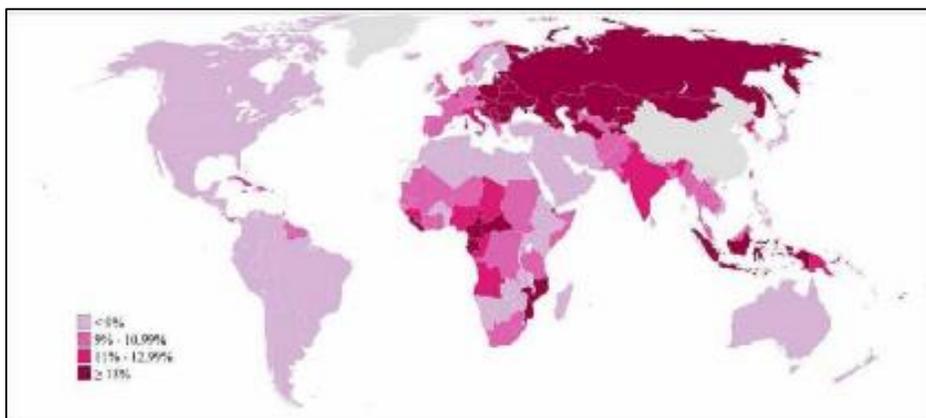


**Figure. 3** : Caractéristiques de sperme d'un homme infertile. (D. Jacobson, 2021)

**L'infertilité secondaire** : désigne les couples qui ont pu aboutir à une grossesse au moins une fois, voire une naissance qui a déjà eu lieu, mais peine à se renouveler (Abebe et al., 2020).



**Figure. 4** : Prévalence de l'infertilité primaire en 2010. (Mascarenhas et al., 2012)



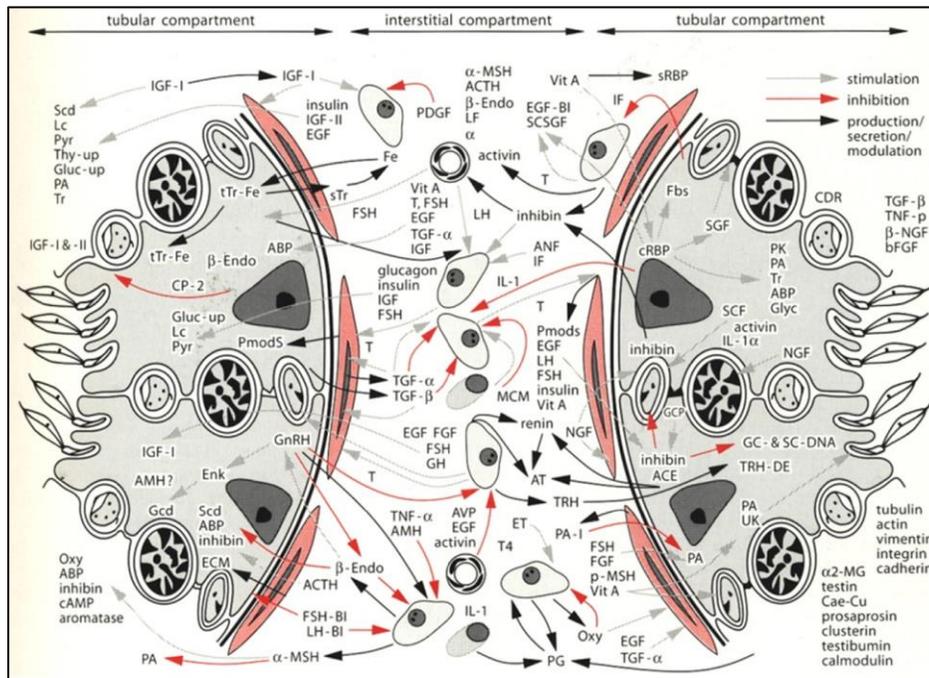
**Figure. 5** : Prévalence de l'infertilité secondaire en 2010. (Mascarenhas et al., 2012)

### III.Spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus de développement des cellules germinales chez l'homme à partir des cellules germinales diploïdes (2n), par la spermatogonie ; spermatocytes ; spermatides ; aux spermatozoïdes haploïdes (n) matures (*Spermatogenesis - MeSH - NCBI*, s. d.).

Chez les mammifères, la fertilité masculine dépend de la production quotidienne continue de millions de spermatozoïdes (elle varie de 150 à 275 millions de spermatozoïdes). Le processus de spermatogénèse est très compliqué qui exige de 6 à 9 semaines pour être complété

et il est suivi par une interaction extraordinaire de facteurs autocrines, paracrines, et endocrines (**Figure. 6**) (Schlatt & Ehmcke, 2014). La spermatogenèse englobe un réseau complexe de processus qui se produisent dans les tubules séminifères (ST) et qui aboutissent à la production de gamètes mâles matures. Les processus sont les suivants : prolifération des spermatogonies ; différenciation des spermatogonies en spermatocytes ; division méiotique des spermatocytes produisant des spermatides ; maturation des spermatides ronds ; et libération de spermatozoïdes matures hautement spécialisés dans la lumière des tubules testiculaires (Neto et al., 2016; Peña, 2020).



**Figure. 6** : Complexité des facteurs impliqués dans la régulation endocrinienne et paracrine du testiculaire. (Schlatt & Ehmcke, 2014)

### III.1. Structures et cellules :

Plusieurs structures testiculaires et cellules jouent un rôle important pendant la spermatogenèse (**Figure. 7**), tandis qu'un large éventail de facteurs peuvent influencer sa qualité et la quantité :

**III.1.1. Tubes séminifères :**

Les tubes séminifères (ST) sont l'unité fonctionnelle du testicule et occupent les deux tiers du volume de l'organe ; le parenchyme est divisé en 200 à 300 lobules par des septations provenant de la tunique albuginée. Chacun de ces lobules contient une à trois boucles de TS, chacune mesurant 70-80 cm de longueur lorsqu'elle est étirée, et avec une longueur totale de 250 mètres par testicule. La paroi de chaque tube est constituée par l'épithélium séminifère et se compose d'une membrane basale, de cellules de Sertoli, et de cellules germinales à différents stades de maturation (Neto et al., 2016, 2021).

**III.1.2. Cellules pérítubulaires :**

Les cellules pérítubulaires sont des grandes cellules mésenchymateuses plates ayant des caractéristiques semblables à des fibroblastes et des cellules musculaires lisses. Elles forment deux à six couches cellulaires discontinues autour de le ST jouant plusieurs fonctions importantes telles que la propulsion du liquide testiculaire contenant des spermatozoïdes immobiles vers le rete testis en utilisant des filaments contractiles d'actine et de myosine, la production de composants de la matrice extracellulaire, et la régulation de la réponse inflammatoire dans le testicule (Neto et al., 2016, 2021; Schlatt & Ehmcke, 2014).

**III.1.3. Cellules de Leydig :**

Les cellules de Leydig (LC) sont situées dans des groupes généralement situés dans des positions stratégiques entre les vaisseaux sanguins et les ST. Elles ont une forme polygonale et présentent toutes les caractéristiques ultrastructurelles d'une cellule stéroïdogène, comme un nucléole proéminent, un vaste réseau de réticulum endoplasmique granulaire, de nombreuses mitochondries et des inclusions lipidiques qui correspondent à leur fonction en tant que source principale de testostérone chez les mâles (Neto et al., 2016, 2021).

**III.1.4. Cellules de Sertoli :**

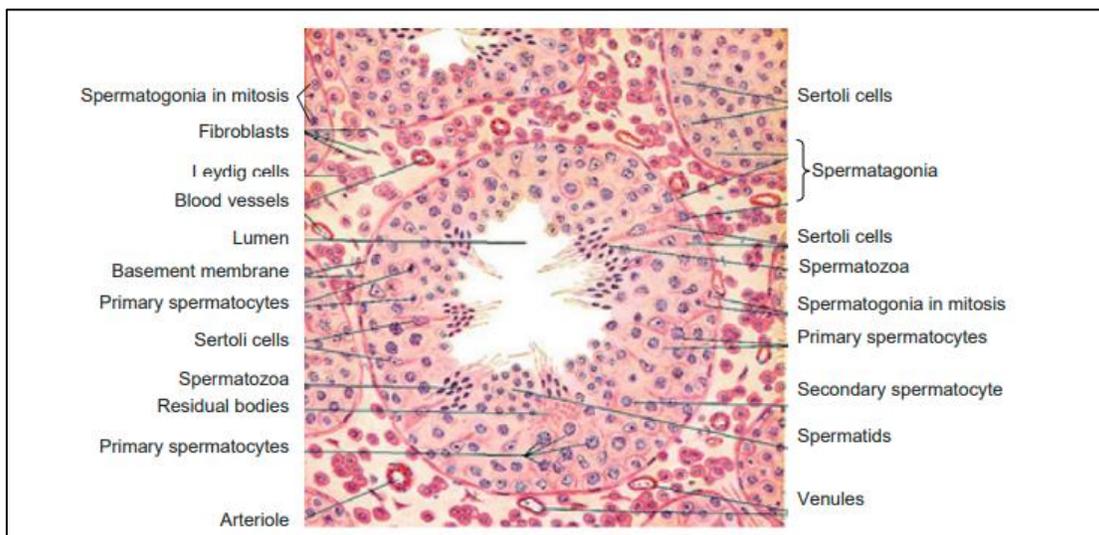
Les cellules de Sertoli sont considérées comme les conducteurs indispensables de la spermatogenèse et occupent de 17 à 20 % de l'épithélium séminifère chez l'homme adulte. Elles

présentent une forme irrégulière et un alignement polarisé, la base reposant sur la membrane basale et le sommet pointant vers la lumière du ST. Elles sont responsables de la nutrition, du transport et de la protection des cellules germinales (Neto et al., 2016, 2021).

**III.1.5. Cellules germinales :**

Les cellules germinales sont un groupe de cellules qui subissent plusieurs étapes de différenciation pour devenir des spermatozoïdes, et ainsi, de transmettre des informations génétiques et épigénétiques à travers les générations étant le seul type de cellule humaine capable de méiose. Leur emplacement est limité à l'intérieur du ST, où elles sont distribuées de manière très organisée, avec les cellules moins matures occupant le compartiment basal et progressant vers le compartiment adluminal comme elles se différencient (Neto et al., 2016).

Les cellules germinales sont classées en quatre sous-types généraux : spermatogonie (SPG), spermatocytes primaires (PSC), spermatocytes secondaires (SSC) et spermatozoïdes (SPT). Même si leur différenciation est un continuum et les limites exactes entre eux sont difficiles à établir, chaque sous-type a des caractéristiques spécifiques concernant la morphologie, la localisation, le métabolisme et la régulation (Neto et al., 2021).



**Figure. 7 :** structures et cellules testiculaires. (Goodman, 2009)

### III.2. Etapes de la spermatogénèse :

La spermatogénèse commence à la puberté, lorsque les cellules de Leydig dans les testicules commencent à produire des androgènes sous l'influence de l'hormone folliculostimulante (FSH) et de l'hormone lutéinisante (LH), qui sont à leur tour contrôlées par l'hormone gonadotrophine (GnRH) produit par l'hypothalamus. En l'absence de LH et de FSH, les niveaux d'androgènes chutent et la spermatogénèse s'arrête (Szmelskyj et al., 2015).

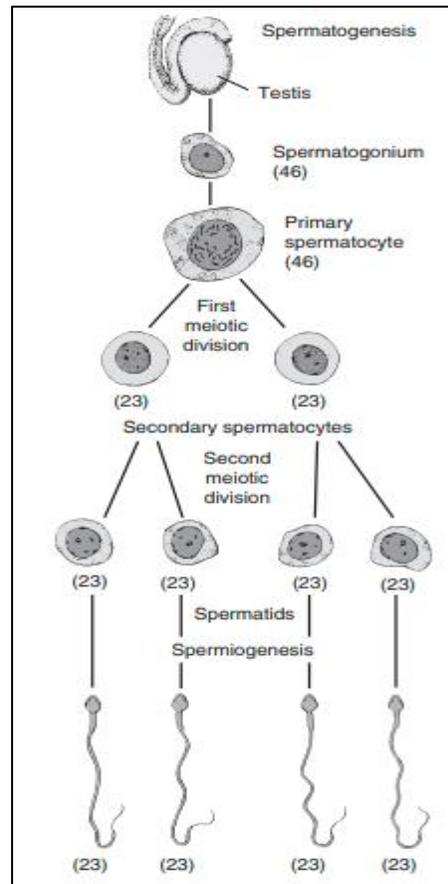
Bien qu'il s'agisse d'un processus continu, la spermatogénèse peut être divisée en trois phases distinctes (**Figure. 8**) :

1. Les divisions mitotiques, qui maintiennent une population de cellules souches de spermatogonie et qui fournissent les cellules destinées à devenir des spermatozoïdes matures.
2. Divisions méiotiques qui réduisent le nombre de chromosomes et produisent une grappe de spermatides haploïdes.
3. Transformation des spermatides en spermatozoïdes matures (spermiogénèse), un processus impliquant la perte de la plupart du cytoplasme et le développement de flagelles (Goodman, 2009, p. 12).

La spermatogénèse commence par une spermatogonie (les spermatozoïdes diploïdes (2n) immatures provenant de cellules germinales embryonnaires. Il existe 3 sous-types de spermatogonies humaines : les types Apale, Adark et B, basés sur leurs caractéristiques de noyaux) qui se divise par mitose (Neto et al., 2021; Szmelskyj et al., 2015, p. 2).

Pendant leur phase méiotique prolongée, les spermatocytes sont sensibles aux dommages. Une partie de la spermatogonie se développe en spermatocytes primaires. À la puberté, il y a une augmentation des niveaux de testostérone, ce qui initie la méiose I. Pendant ce stade, un spermatocyte primaire génère deux spermatocytes secondaires, qui subissent ensuite la méiose II. Deux spermatides haploïdes sont générées par chaque spermatocyte secondaire, ce qui donne un total de quatre spermatides (Szmelskyj et al., 2015, p. 2).

La spermiogénèse est la dernière étape de la spermatogénèse et, au cours de cette phase, les spermatides mûrissent en spermatozoïdes. La phase de spermiogénèse est complétée par la maturation d'un spermatozoïde. La spermatogénèse dure de 65 à 75 jours et a lieu simultanément à différents moments dans différentes régions du testicule pour une production et une disponibilité égales de spermatozoïdes matures (Neto et al., 2021; Szmelskyj et al., 2015).



**Figure. 8** : Les étapes de la spermatogénèse. (Szmelskyj et al., 2015)

### III.3. Structure des spermatozoïdes :

Les spermatozoïdes de mammifères ont une organisation polarisée suivant trois grandes régions sous-cellulaires : la tête du spermatozoïde, la partie médiane et la partie principale du flagelle qui peut être généralement observée par diverses approches microscopiques. Le spermatozoïde humain varie généralement de 60 à 70  $\mu\text{m}$  (Auger, 2018). Les fonctions du

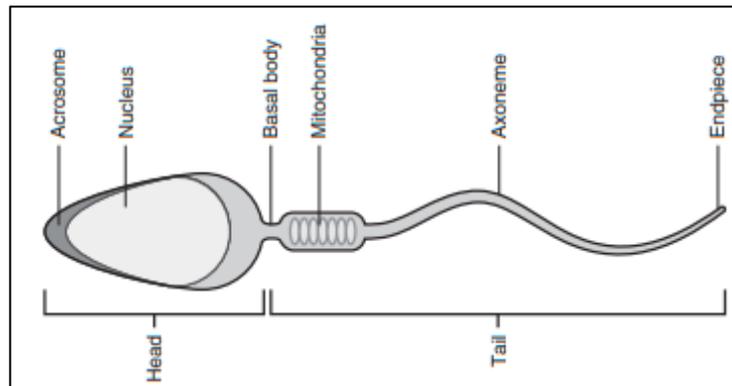
sperme sont de transporter et de contribuer à une copie haploïde du génome paternel à l'ovule et d'initier le développement de l'embryon. Pour atteindre ce but efficacement, la structure des spermatozoïdes a évolué pour être compacte et compartimentée (**Figure. 9**) (**Schlatt & Ehmcke, 2014**).

### **III.3.1. Tête :**

La tête contient le noyau, qui est coiffé à son extrémité antérieure par une vésicule sécrétoire unique appelée acrosome. Au cours de la spermatogenèse, le noyau devient considérablement condensé et le cytoplasme résiduel est retiré du corps cellulaire, résultant en un spermatozoïde mature et étroitement compact. Dans la tête, le noyau est entouré de quantités modérées de composants cytosquelettiques et d'un très petit volume de cytoplasme. Les composants cytosquelettiques se trouvent dans l'espace étroit entre l'acrosome et le noyau, ainsi qu'entre l'acrosome et la membrane plasmique (Gerton & Vadnais, 2018).

### **III.3.2. Flagelle :**

La biogenèse du flagelle se produit au cours de la dernière phase de la spermatogenèse lorsque les spermatides haploïdes se différencient en spermatozoïdes. Immédiatement après l'achèvement de la méiose, chaque spermatide ronde élabore un flagelle primitif, qui consiste initialement en l'axonème entouré par la membrane plasmique. Par la suite, les trois structures accessoires flagellaires principales restantes, les fibres denses extérieures, la gaine mitochondriale et la gaine fibreuse, sont produites de manière régulée dans le temps (Gerton & Vadnais, 2018).



**Figure. 9** : La structure des spermatozoïdes. (Szmelskyj et al., 2015)

#### III.4. Sperme :

C'est la sécrétion liquide visqueuse épaisse, blanc jaunâtre, des organes reproducteurs mâles déchargés lors de l'éjaculation. En plus des sécrétions d'organes reproducteurs, il contient des spermatozoïdes (phase cellulaire) et leur plasma (phase liquide) (*semen* - MeSH - NCBI, s. d.).

#### IV. Types et causes de l'infertilité masculine :

On rencontre parmi les causes les plus fréquentes de l'infertilité un défaut de la spermatogenèse. Il peut s'agir d'une :

- **Oligozoospermie** : Une oligozoospermie se définit par un nombre de spermatozoïdes inférieur à 30 millions/ml.
- **Asthénozoospermie** : Une asthénozoospermie se définit par moins de 40 % de mobilité, la mobilité des spermatozoïdes est insuffisante Ses causes sont liées à l'oligospermie.
- **Thératozoospermie** : Une thératozoospermie se définit par la présence de plus de 60 % de formes anormales, le nombre de spermatozoïdes anormaux est trop important (moins de 4% des spermatozoïdes sont de forme normale). Les causes sont d'ordre génétique et dépistées par le caryotype.
- **Nécrozoospermie** : est le terme médical qui décrit quand le sperme est mort ou nécrotique dans un échantillon de sperme frais. Elle peut être classée comme modérée

(50 % à 80 % de spermatozoïdes nécrotiques) ou grave (80 % ou plus de spermatozoïdes sont nécrotiques). Un échantillon de sperme est considéré comme "normal" si 30 % ou moins des spermatozoïdes sont nécrotiques. La nécrozoospermie complète est très rare. On estime que seulement 0,2% à 0,5% des hommes stériles souffrent de nécrozoospermie complète.

- **Cryptozoospermie** : état intermédiaire entre l'absence complète de spermatozoïdes (azoospermie) et la diminution significative du nombre de spermatozoïdes (oligospermie). Elle est définie comme un très faible nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat. En fait, il est souvent confondu avec l'azoospermie, c'est-à-dire l'absence totale de sperme dans l'éjaculat. En particulier, un homme est diagnostiqué avec cryptozoospermie lorsque son nombre de spermatozoïdes inférieur à 100000 millilitres spermophiles.
- **Aspermie** : est l'absence de spermatozoïdes dans le sperme ou l'incapacité de produire ou d'éjaculer le sperme.
- **Azoospermie** : se définit par absence complète de spermatozoïdes dans l'éjaculat (sperme). Elle peut être classée en azoospermie obstructive 40% (OA obstructive azoospermia) et azoospermie non obstructive 60% (NOA non obstructive azoospermia). Il est important de faire la distinction entre l'azoospermie obstructive et l'azoospermie non obstructive.

**Azoospermie non obstructive (NOA)** est l'absence de sperme dans l'éjaculat en raison de la spermatogenèse altérée ou absente, tandis que l'azoospermie obstructive est causée par un blocage dans le conduit du sperme.

Le plus souvent, l'azoospermie est d'ordre sécrétoire ou non obstructive 60%.

**Azoospermie obstructive OA 40%** : Dans l'azoospermie obstructive, la spermatogenèse est souvent normale. Peut être due aux raisons suivantes :

- **Agénésie bilatérale des canaux déférents (ABCD)** : est une affection congénitale de transmission autosomique récessive retrouvée chez environ 1 homme sur 1000, est la plus fréquente des anomalies des voies génitales masculines découvertes à l'âge adulte, elle

est souvent associée à l'absence des canaux déférents, des anomalies des vésicules séminales, et de l'épididyme. Elle se produit principalement en raison de mutations dans le gène régulateur transmembranaire de la mucoviscidose (CFTR) et de la différenciation défectueuse des canaux mésonéphriques (Kassogué et al., 2014).

- **Obstruction des canaux éjaculatoires et épididymaux** : est observé chez 5% des hommes azoospermiques, caractérisée par l'obstruction d'un ou des deux canaux éjaculatoires. Ainsi, l'efflux de sperme n'est pas possible (Silber, 1980).
- **Atrésie des vésicules séminales** : L'échec simultané du bourgeon urétéral à se séparer de la partie inférieure du conduit mésonéphrique conduit à l'atrésie des canaux éjaculatoires et l'obstruction des vésicules séminales avec accumulation de sécrétions entraînant une dilatation kystique (Mehra et al., 2016).
- **Diverses infections du tractus génito-urinaire entraînant une obstruction ou des procédures pelviennes et inguinales conduisant à un blocage complet tel qu'une vasectomie bilatérale.**

**Azoospermie non obstructive NOA 60 %** : C'est le type d'azoospermie le plus courant, souvent en raison de défauts graves dans la spermatogenèse, qui sont souvent dus à une défaillance ou un dysfonctionnement testiculaire primaire. Il peut également résulter d'un dysfonctionnement de l'hypophyse ou de l'hypothalamus.

#### **IV.1. Causes de l'Azoospermie :**

##### **IV.1.1. Centrale :**

###### **IV.1.1.1. Endocrinienne :**

- **Hypogonadisme Hypo-gonadotrope (HH)** : L'hypogonadisme est une autre condition qui peut affecter la spermatogenèse. Ceci est dû à un faible niveau de testostérone étant disponible, soit en raison de la défaillance testiculaire (hyper-gonadotrophique), qui est primaire, ou hypogonadisme secondaire (hypo-gonadotrophique), qui est en conséquence d'une hormone de libération gonadotrophique insuffisante et/ou la sécrétion de gonadotrophine (Barratt et al., 2017; El Osta et al., 2017).

- **Hyperprolactinémie (HPRL) masculine :** C'est la production excessive de l'hormone prolactine. Pathologie à ne pas méconnaître car elle est souvent associée à un adénome hypophysaire qui peut exposer à des complications sérieuses, entraîne un dysfonctionnement sexuel dû à l'inhibition de la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus, ce qui entraîne une altération de la fertilité. On attribue fréquemment les dysfonctions sexuelles des hommes hyperprolactinémiques à une diminution de la sécrétion de testostérone, chez ces patients, la spermatogenèse diminue en raison d'anomalies testiculaires des deux côtés (Buvat & Bou-Jaoude, 2005).

### IV.1.2. Périphérique :

#### IV.1.2.1. Acquisse :

- **Cryptorchidie :** C'est la malformation congénitale la plus fréquente du tractus génital masculin. Se définit par l'absence d'un ou des deux testicules du scrotum à cause de l'arrêt de la migration testiculaire sur son trajet entre le rétro-péritoine et le fond de la bourse. On distingue les cryptorchidies hautes où le testicule n'est pas palpable, des cryptorchidies basses où le testicule est palpable (Leslie, Sajjad, et al., 2022).
- **La varicocèle :** La varicocèle est significativement retrouvée chez les hommes présentant une infertilité. Les altérations spermiologiques concernent aussi bien la concentration des spermatozoïdes que la qualité du sperme. Plusieurs études ont montrées que le traitement chirurgical de la varicocèle permet d'améliorer ces paramètres spermatiques ce qui aboutit à l'obtention de grossesses naturelles (Diao et al., 2012).
- **Le traumatisme testiculaire :** Est quand un testicule est blessé par la force. Un traumatisme au niveau du testicule ou du scrotum peut nuire à tout son contenu. Lorsque la gaine dure du testicule est déchirée ou brisée, le sang fuit de la plaie. Cette mare de sang étire le scrotum jusqu'à ce qu'il soit tendu, et peut conduire à l'infection. L'épididyme a une paroi très mince, il devient facilement rouge et gonflé par une infection ou une blessure. Si elle n'est pas traitée, dans de rares

cas, l'approvisionnement en sang du testicule peut être bloqué. Cela peut conduire à la perte du testicule (Starmer et al., 2018).

- **Orchite testiculaire :** L'orchite est une inflammation des testicules le plus souvent associée à une inflammation de l'épididyme. Souvent d'origine infectieuse, elle peut être aiguë ou chronique, survenir chez l'enfant ou l'adulte. Elle peut causer l'infertilité parce qu'en raison de l'inflammation, la température dans le testicule augmente, affectant ainsi la spermatogenèse (Baulier et al., 2021).
- **La torsion testiculaire :** La torsion du cordon spermatique est une urgence urologique qui doit être traitée par chirurgie aiguë. Il a été démontré que la torsion testiculaire entraîne une diminution à long terme de la motilité des spermatozoïdes et réduit le nombre global de spermatozoïdes. La qualité réduite du sperme peut être causée par des dommages ischémiques et des lésions de reperfusion (Jacobsen et al., 2020).
- **Hernie inguinale et scrotale :** La cure de hernie inguinale fait partie des interventions chirurgicales les plus fréquemment pratiquées dans le monde. Il est reconnu que toute intervention chirurgicale dans la région du pelvis ou des bourses représente un facteur de risque potentiel d'infertilité masculine (Khodari et al., 2015).
- **Infection chronique s'accompagnant de pyospermie :** La pyospermie (aussi appelée **leucocytose**) est une affection dans laquelle le sperme contient un nombre anormalement élevé de globules blancs, soit plus d'un million de globules blancs par millilitre de sperme. Ces globules blancs peuvent affaiblir le sperme, et peuvent endommager son matériel génétique par la libération des espèces réactives d'oxygène (ROS), qui détruisent les organismes qui causent des infections. Mais elles peuvent également affecter les tissus sains, qui comprennent les spermatozoïdes, ROS détruire la membrane, entraver le mouvement et endommager l'ADN de ces spermatozoïdes (*Pyospermia*, s. d.).
- **Fibrose testiculaire :** Formation d'un excès de tissu conjonctif au niveau des testicules. La fibrose testiculaire est considérée comme un stade de guérison final

irréversible après la nécrose et inflammation. Il se compose d'une association variable d'hyalinose marquée de la membrane de base des tubules séminifères avec certaines zones de sclérose complète, des changements atrophiques marqués des cellules de Sertoli, ce qui a été attribué à une réduction du nombre de cellules germinales et de la taille des tubules séminifères suivie d'une fibrose interstitielle périlitubulaire et d'une diminution du nombre de cellules de Leydig et focal plus ou moins fibrose interstitielle intense et enfin remplacement du parenchyme testiculaire par des fibroblastes et du collagène (Profka et al., 2020a).

- **Diverses maladies générales : intoxication alcool-tabagique, toxicomanie, maladies endocriniennes (diabète, obésité, hypothyroïdie, hyper-androgénies surrénaliennes).**

#### **IV.1.2.2. Génétique :**

Les facteurs génétiques représentent au moins 15 % de l'infertilité masculine et contribuent aux quatre principales catégories étiologiques de l'infertilité masculine : spermatogène défauts quantitatifs ; obstruction ou dysfonctionnement canalaire ; perturbations de l'axe hypothalamique-hypophysaire ; défauts qualitatifs spermatogéniques (Krausz & Riera-Escamilla, 2018).

La génétique de l'infertilité masculine est très complexe car les phénotypes histologiques du sperme et des testicules sont extrêmement hétérogènes, et au moins 2000 gènes sont impliqués en spermatogenèse. Les anomalies des chromosomes sexuels jouent un rôle majeur dans les déficiences spermatogènes graves. Les mutations génétiques autosomiques sont principalement impliquées dans l'hypogonadisme central, la tératozoospermie mono-morphique ou l'asthénopérose, l'azoospermie obstructive congénitale et les cas familiaux de perturbations spermatogènes quantitatives (Krausz & Riera-Escamilla, 2018).

La fréquence la plus élevée de facteurs génétiques connus contribuant à l'infertilité masculine est dans l'azoospermie, les hommes atteints d'azoospermie sont plus susceptibles d'être porteurs d'anomalies génétiques avec un pourcentage de (25%), où le risque diminue progressivement avec l'augmentation de la production de sperme. Mais le nombre d'anomalies

génétiques identifiées dans d'autres spermatozoïdes et les catégories étiologiques ne cessent de croître (Andrade et al., 2021).

Cette hétérogénéité clinique intrinsèque implique l'implication de plusieurs facteurs génétiques acquis ou congénitaux différents. La multitude de facteurs génétiques connus et validés comprend des anomalies chromosomiques numériques et structurelles et quelques mutations génétiques.

- **Syndrome de Sertoli Cell Only** : également connu sous le nom de syndrome del Castillo ou aplasie des cellules germinales, survient généralement chez les hommes âgés de 20 à 40 ans. Dans ce syndrome, seules les cellules de Sertoli tapissent les tubules séminifères du testicule, et les patients ont une spermatogenèse très faible ou absente, Par conséquent, il n'y a pas de spermatozoïdes présents dans les tubules séminifères. Ces patients sont généralement normaux à l'examen physique que cette condition présente avec l'infertilité sans anomalie sexuelle Le diagnostic est généralement fondé sur les résultats de la biopsie testiculaire. Les patients peuvent encore se reproduire avec la technologie de procréation assistée (Jain & Halder, 2012). La plupart des cas de syndrome SCO sont idiopathiques, mais les causes peuvent inclure des délétions d'information génétique sur les régions du chromosome Y, en particulier sur le facteur azoospermique (AZF) région du chromosome Y. Les autres causes comprennent l'exposition à des produits chimiques ou à des toxines, les antécédents de radiothérapie et les antécédents de traumatisme grave (Ghanami Gashti et al., 2021).

#### **IV.1.2.2.1. Chromosomes sexuels :**

Les chromosomes sexuels sont des acteurs essentiels pour déterminer le sexe de presque tous les organismes multicellulaires. Les deux chromosomes sexuels chez les mâles (X et Y) sont enrichis en gènes spécifiquement ou surexprimés dans le testicule. De plus, chez les mâles, des mutations de novo ou rares dans ces chromosomes peuvent avoir un effet phénotypique direct parce qu'il n'y a pas de second allèle X ou Y compensatoire (Vockel et al., 2021).

IV.1.2.2.1.1. Chromosome Y :

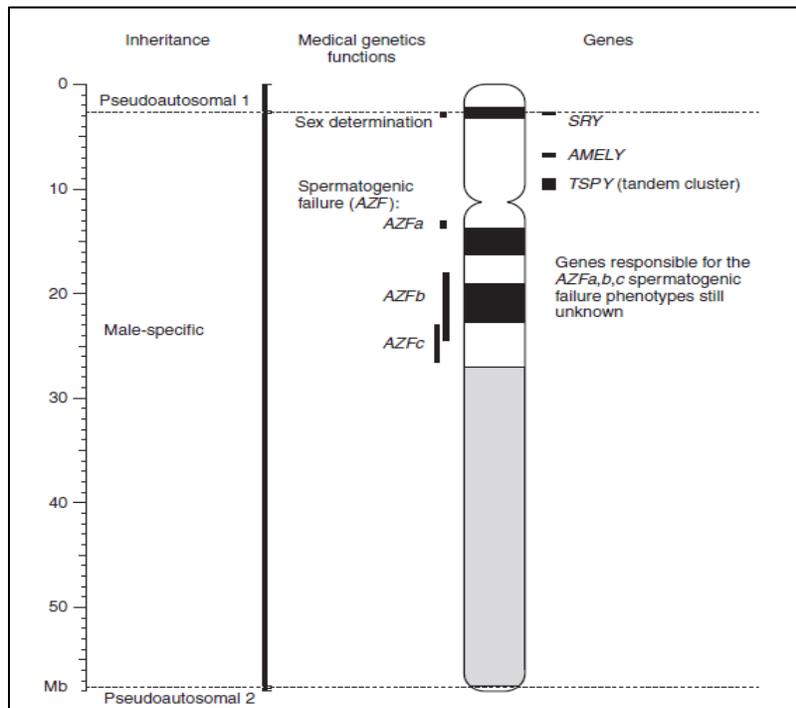
Le chromosome Y est l'un des deux chromosomes sexuels chez les mammifères et est habituellement le plus petit chromosome du caryotype. Il convient à l'étude des reliques évolutives, de la spéciation et de l'infertilité masculine en raison de ses caractéristiques uniques telles que la longue région non recombinante et le modèle d'héritage holandrique (Tyler-Smith, 2013). Il se compose de 2 à 3% du génome haploïde et peut contenir entre 70 et 200 gènes. Au cours de l'évolution, le chromosome Y a acquis un grand nombre de gènes spécifiques aux testicules responsables de la spermatogenèse et toute délétion dans ces gènes entraîne l'infertilité (Dhanao et al., 2016).

Gene name, size, location*	Expression	Role/Function	Disorder
USP9Y, 2555 aa, Yq11.2	Embryonic and adult tissues including testis	Spermatogenesis	Sertoli cell only syndrome, Y-chromosome based infertility, impaired or no sperm production [69]
BPY2, 106 aa, Yq11.223	Testis	Male germ cell development, male infertility	Y-chromosome infertility, male infertility, spermatogenic failure, Y-linked 2 [70]
RBMV, 391 aa	Developing germ cells	Transcriptional regulation processes, tumor suppression	Infertility in males [17], deletion in mice results in high level of sperm development [16]
DAZ, 744 aa, Yq11.223	Restricted to pre-meiotic germ cells, particularly in spermatogonia	Spermatogenesis, translational regulation, promotes germ-cell progression to meiosis and formation of haploid germ cells	Persistent fetal circulation syndrome, azoospermia, deletion of DAZL1 in mouse results in complete absence of gamete production and reduced number of germ cells [18]
SRV, 204 aa, Yp11.3	Adult testis by germ cells	Sex determination acts as transcriptional regulator, promotes DNA bending, involved in premRNA splicing	Mixed gonadal dysgenesis, 46XYsex reversal 1, XX male syndrome [21]
TSPY, 308 aa, Yp11.2	Testis, tumor germ cells of gonadoblastoma specimens	Sperm differentiation and proliferation, cell cycle regulation, transcription regulation, neurotransmission, meiotic division, tumor suppression and promotion	Gonadoblastoma, sudden infant death with dysgenesis of the testis syndrome, infertility, cancers, diabetes, and neural dysfunctions [71]
AmelogeninAMELY-206 aa, Yp11.2 [29]	Testis, ovary, lungs, liver (based on microarray)	Organizing of enamel rods during tooth development, biomineralization	Dental pulp necrosis, dental fluorosis, amelogenesis imperfecta [29], deleted amelogenin males [31]

**Figure. 10 :** Localisation cytogénétique, principales fonctions, caractéristiques saillantes et troubles associés aux aberrations associées au chromosome Y mammifère. (Dhanao et al., 2016)

IV.1.2.2.1.2. Sex Determining Region Y (SRY):

SRY (pour la région du chromosome Y qui détermine le sexe), aussi appelé TDF, TDY, SRXX1 et SRXY1. Le gène SRY fournit des instructions pour la fabrication d’une protéine appelée protéine de région Y de détermination du sexe. Cette protéine est impliquée dans le développement du sexe masculin typique, qui suit habituellement un certain modèle basé sur les chromosomes d’un individu. Beaucoup de gènes sont impliqués dans la détermination du sexe, mais SRY est le commutateur clé ; les individus avec SRY se développent en mâles, tandis que ceux sans SRY se développent en femelles. La protéine Y de la région de détermination du sexe produite à partir de ce gène agit comme facteur de transcription, ce qui signifie qu’elle s’attache à des régions spécifiques de l’ADN et aide à contrôler l’activité de gènes particuliers. Cette protéine déclenche des processus qui font que le fœtus développe des gonades mâles (testicules) et empêchent le développement des structures reproductrices féminines (utérus et trompes de Fallope) (*SRY Gene*, s. d.; *SRY sex determining region Y [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI*, s. d.; Tyler-Smith, 2013).



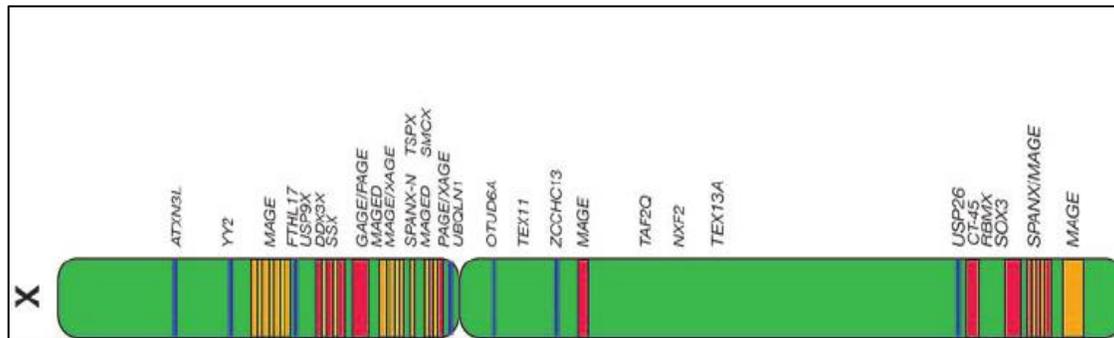
**Figure. 11** : Structure du chromosome Y humain. (Tyler-Smith, 2013)

IV.1.2.2.1.3. Chromosome X :

Le chromosome X était auparavant considéré comme le chromosome le plus stable du génome et était largement perçu comme une contrepartie « féminine » du chromosome Y « mâle ». Mais, au contraire, il s’avère que le chromosome X est dans un état actuel d’évolution rapide vers un rôle spécialisé pour la production de sperme , il est enrichi de gènes spécifiques aux cellules germinales exprimés au début de la spermatogenèse (Kasowitz & Wang, 2018; Vockel et al., 2021). La composition unique du chromosome X permet également une compensation équilibrée du dosage des gènes grâce à une expression spatiale et temporelle bien régulée des gènes liés à l’X, il contient environ 800 gènes codant des protéines (Vockel et al., 2021).

Gene	Semen/testicular phenotype	Proposed functions	Mouse phenotype
Phenotype: isolated spermatogenic failure			
<i>AR</i>	Oligozoospermia, azoospermia	Hormone activated transcription factor	Infertile; partial androgen insensitivity syndrome
<i>TEX11</i>	Non-obstructive azoospermia, meiotic arrest	Meiotic DNA recombination	Infertile; meiotic arrest
<i>MAGEB4</i>	Non-obstructive azoospermia	Germ cell-specific mitosis	No mouse model
<i>HAUS7</i>	Severe oligozoospermia	Meiotic chromosome alignment	No mouse model
<i>USP26</i>	Oligozoospermia, azoospermia	Deubiquitinating peptidase	Fertile
<i>RHOXF1/2</i>	Oligozoospermia, severe	Homeodomain transcription factor	No mouse model
<i>TAF7L</i>	Non-obstructive azoospermia	TFIID transcription factor	Complete spermatogenesis; abnormal sperm number/morphology
Phenotype: obstructive azoospermia/CBAVD			
<i>ADGRG2</i>	Congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD)	G-protein-dependent fluid homeostasis	Infertile; obstructive
<i>CLDN2</i>	Obstructive azoospermia	BTB tight junction formation	Fertile
Phenotype: astheno-/teratozoospermia			
<i>PIH1D3</i>	Asthenozoospermia	Flagella dynein assembly	Infertile; mild PCD

**Figure. 12 :** gènes liés à l'X associés aux maladies avec une expression spécifique des testicules chez la souris et l'homme. (Vockel et al., 2021)



**Figure. 13:** Groupes de gènes spécifiques aux testicules sur le chromosome humain X.

(Delbridge & Graves, 2007)

#### IV.1.2.2.2. Anomalie de nombre :

Le caryotype est le premier test génétique qui devrait être effectué dans patients présentant des perturbations spermatogènes quantitatives pour détecter ce type d'anomalie, car environ 15 % des hommes atteints d'azoospermie non structurante et 4 % des hommes atteints d'oligozoospermie modérée (< 10 millions de spermatozoïdes par ml) présentent anomalies chromosomiques. En outre, ce test génétique est indiqué pour les hommes ayant des antécédents familiaux d'avortements récurrents, malformations, développement cognitif déficience ou infertilité indépendamment de la concentration du sperme (Dhanao et al., 2016).

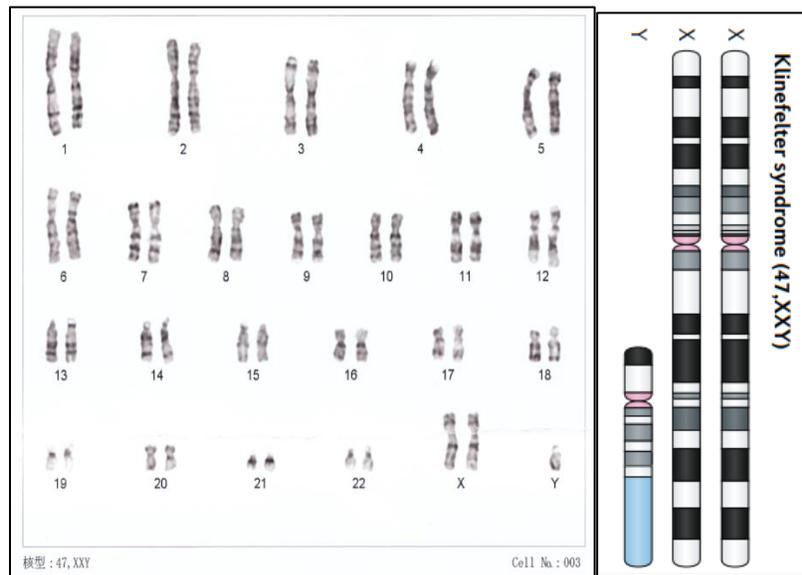
L'anomalie chromosomique la plus fréquente dans l'azoospermie non structurante est :

Le syndrome de Klinefelter et ses variantes (47, XXY et mosaïques 46, XY/47, XXY) :

Le syndrome de Klinefelter (KS) est l'aneuploïdie génétique la plus courante de l'insuffisance testiculaire chez les hommes oligozoospermiques et azoospermiques (10 à 15 %), c'est la présence d'un chromosome X supplémentaire (XXY). Il touche 1/1000 à 1/500 hommes. Il existe 2 formes principales : Non mosaïque 47XXY (80-90 %) ou Mosaïque 47XXY/46XY (5-10 %) (A. Sharma et al., 2021).

Le phénotype classique est celui des hommes de grande taille, ils sont caractérisés par un grand phénotype eunuchoïde, une diminution des poils du visage, une puberté tardive, une diminution de la taille du pénis, des petites testicules durs et fermes avec hyalinisation des tubules séminifères, perte de cellules souches spermatogoniales, dégénérescence et hyperplasie

des cellules de Leydig, une défaillance spermato-génique, une diminution des capacités cognitives et une diminution des niveaux de testostérone , et une gynécomastie. Mais le phénotype peut varier d'un mâle entièrement virilisé à un avec une carence en androgènes. Par conséquent, 70 % des hommes atteints de KS demeurent non diagnostiqués jusqu'à la fin de l'âge adulte. Ces patients souffrent d'azoospermie. Lors de l'extraction des spermatozoïdes testiculaires, des spermatozoïdes sont observés chez près de 69% des hommes atteints du syndrome de Klinefelter (Krausz & Riera-Escamilla, 2018).



**Figure.14** : Caryotype d'un homme infertile touché par le syndrome de klinefelter. (Krausz & Riera-Escamilla, 2018)

**IV.1.2.2.3. Structure des chromosomes :**

Ceux-ci peuvent en outre être classés comme des aberrations structurales équilibrées ou déséquilibrées. Les aberrations équilibrées :

**IV.1.2.2.3.1. Translocation :**

Translocations et inversions robertsoniennes. Il s'agit de réarrangements chromosomiques et de « croisements » de chromosomes. Les individus avec translocation robertsonienne ont 45 chromosomes. Ce sont les anomalies autosomiques structurelles les plus communes chez les hommes infertiles, affectant 1/1000 hommes, avec une prévalence plus élevée chez les hommes oligozoospermiques (1,6 %). Les aberrations équilibrées sont caractérisées par un écart par rapport à la structure chromosomique normale, mais sans perte ou gain net de matériel génétique. Ceux-ci entraînent principalement une défaillance spermatogénique (oligozoospermie ou azoospermie) et une infertilité masculine, ainsi qu'un risque de déséquilibres génétiques chez les progénitures.

Les points de rupture (the break points) des réarrangements chromosomiques sont essentiels pour déterminer le phénotype résultant et les implications pour les progénitures, bien que les réarrangements chromosomiques soient responsables d'une défaillance de la spermatogénèse, leur impact dépend grandement des chromosomes impliqués, une expertise en génétique clinique est donc nécessaire pour interpréter les résultats (Ghieh et al., 2021). Les anomalies chromosomiques structurelles déséquilibrées entraînent un gain net ou une perte nette de matériel génétique.

**IV.1.2.2.3.2. Micro-délétions :****IV.1.2.2.3.2.1. Micro-délétion du chromosome Y :**

Tous les hommes ayant une défaillance testiculaire primaire devraient subir des tests de micro-délétion du chromosome Y. L'évolution du chromosome Y humain a été progressivement orientée vers un rôle dans la détermination du sexe et la reproduction. Jusqu'à 30 % des hommes avec azoospermie non obstructive présentent des micro-délétions chromosomiques Y, sont des délétions génomiques de sections spécifiques du chromosome Y, contenant des gènes nécessaires à la spermatogénèse, ces micro-délétions sont appelées « facteur azoospermique » (Dhanao et al., 2016).

Les anomalies structurelles cytogénétiquement visibles ont déterminées les régions chromosomiques du bras long qui se définie : le facteur AZF qui contient des gènes impliqués dans le processus spermatogène. En utilisant des outils moléculaires, le facteur AZF a été subdivisé en trois loci, AZF a, b et c, dont la suppression entraîne des altérations spécifiques de la spermatogenèse dues à la perte de gènes particuliers (A. Sharma et al., 2021).

La plupart des gènes AZF sont spécifiquement exprimés dans le testicule, mais leurs fonctions sont loin d’être connues avec précision. Les suppressions partielles des régions AZF ont été décrites. Certains d’entre eux ont permis de définir des relations génotype-phénotype plus précises, tandis que d’autres sont considérés comme des variantes par rapport au polymorphisme du chromosome Y, les suppressions complètes des sous-régions AZFa, AZFb ou AZFc entraînent généralement une azoospermie non obstructive. Environ 6% des hommes atteints d’azoospermie non obstructive auront des micro-délétions du chromosome Y impliquant les sous-régions AZFa et/ou AZFb, les hommes ayant de telles micro-délétions ont généralement des taux de prélèvement de spermatozoïdes extrêmement faibles. 4% auront une micro-délétion de la sous-région AZFc, qui n’est pas tout à fait aussi grave avec l’infertilité, mais sera héritée par les progénitures mâles. Histologiquement, environ 46% des hommes avec des micro-délétions AZFc démontreront le syndrome de cellule de Sertoli seulement, et 38% auront l’arrêt de maturation. Il y a aussi de rares cas où des micro-délétions atypiques du chromosome Y seront trouvées (M. Sharma & Leslie, 2022).

**Tableau. 1** : Causes congénitales courantes d’insuffisance testiculaire et d’azoospermie obstructive avec corrélations génotypes et phénotypes. (A. Sharma et al., 2021)

Aberration génétique	Phénotype
Syndrome de Klinefelter Translocation robertsonienne Micro-délétions chromosomiques Y	Azoospermie à oligozoospermie sévère
Suppression AZFa Suppression d’AZFb	Azoospermie
Suppression d’AZFc	Azoospermie à normozoospermie

46 XX syndrome masculin	Azoospermie
CFTR	Azoospermie obstructive
INSL3-LGR8	Cryptorchidie

**IV.1.2.2.3.2.2. Micro-délétion du chromosome X :**

Testis Expressed 11 (TEX11) est un gène situé sur le chromosome X qui est exprimé spécifiquement dans les cellules germinales, ce gène sur Xq13.1 semble être un principal gène d'intérêt dans NOA. L'incidence des mutations du ce gène TEX11 dans l'infertilité primaire masculine est élevée, à environ 1 %, et la dysrégulation TEX11 a été mise en cause dans l'apoptose des spermatocytes, les troubles de maturation et l'azoospermie. Initialement, une délétion de 90 kb (englobant les exons 9, 10 et 11) dans un TEX11 a été identifiée chez des patients azoospermiques présentant un arrêt méiotique homogène ou mixte. Cette délétion a entraîné la perte de 79 acides aminés du domaine de sporulation spécifique à la méiose de la protéine TEX11 (Spo22). Des mutations TEX11 supplémentaires (mutations de mésense et d'épissure) ont été observées chez 2,4 % des patients azoospermiques. Une analyse histologique a mis en évidence l'arrêt méiotique et de faibles niveaux d'expression de la protéine TEX11 chez les patients porteurs de ces mutations. Les mutations de TEX11 signalées à ce jour sont fortement associées à l'apparition de l'ANO en raison de l'arrêt méiotique des testicules\_(Yu et al., 2021).

**V. Diagnostic de l'infertilité masculine :****V.1. Spermogramme:**

À ce jour, le seul outil accepté par l'OMS pour évaluer le potentiel de fertilité du mâle est l'analyse des spermatozoïdes de base ou spermogramme. Cependant, sa valeur pour prédire les chances d'un échantillon de sperme ou d'un mâle d'atteindre une grossesse réussie avec un bébé né sont relativement faibles (Rivera & Garrido, 2019).

Le spermogramme est une technique relativement simple, rapide, informative et économique qui peut être accompagnée d'un examen physique et d'une analyse hormonale et

génétique si son résultat de l’anamnèse du patient l’exige. Les différences de concentration, de motilité et de morphologie des spermatozoïdes sont utilisées pour diagnostiquer les hommes comme étant fertiles ou subfertiles (Dai et al., 2021; Rivera & Garrido, 2019). L’infertilité est fortement liée au nombre de spermatozoïdes, par conséquent, le processus de comptage est crucial. La zone d’infertilité est décrite dans le manuel publié par l’OMS comme la présence du nombre de spermatozoïdes détectés comme étant plus de 70% de tous les spermatozoïdes. En ce sens, un nombre de spermatozoïdes mobiles correctement identifié révèle la plupart du temps le problème d’infertilité possible (Ilhan & Aydin, 2018). Cependant, la technique a certaines limites, y compris la rareté de l’information sur la capacité fonctionnelle du sperme (Condorelli et al., 2020), puisque cet examen est basé sur l’aspect apparent ou visuel, laissant de côté les aspects moléculaires qui peuvent être multiples, comme on peut extrapoler à partir de toutes les informations disponibles dans la littérature où une ou plusieurs caractéristiques moléculaires du sperme ont été liées à l’état de fertilité. (Rivera & Garrido, 2019).

**Tableau. 2 :** Normes des spermogrammes et spermocytogramme selon l’OMS (2010). (Fizazi & Encadreur: BENDAHMANE, 2016)

Paramètres	Valeur de référence	Anomalie
Couleur	Blanchâtre	Opalescent, brun, Translucide
Volume	1,5 à 6 mL	Hypospermie Hyperspermie Aspermie
pH	7,2 à 7,8	Augmenté ou diminué
Mobilité totale	> 40% à la 1ère heure	Asthénospermie
Numération	> 15 M/mL > 39 M/éjaculat	Azoospermie Cryptozoospermie Oligospermie Polyzoospermie

Vitalité	> 58%	Nécrospemie
Morphologie	> 15%	Tératospermie
Cellules rondes	< 5M	Leucospermie

### **V.2. Polymerase Chain Reaction (PCR) :**

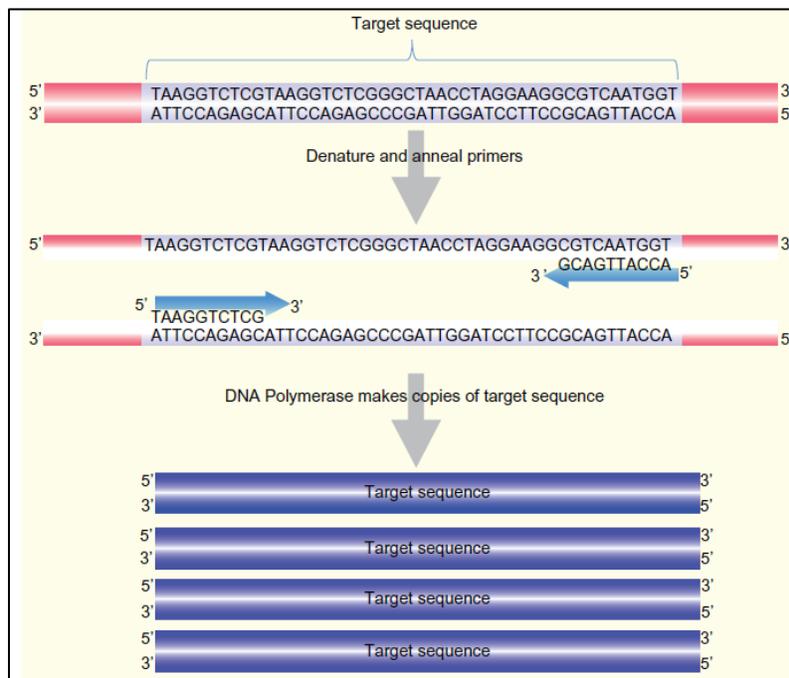
De toutes les techniques avancées en biologie moléculaire moderne, la réaction en chaîne par polymérase (PCR) est l'une des plus utiles. PCR a trouvé des applications dans tous les domaines de la biologie moléculaire et de la biotechnologie, à la fois fondamentale et appliquée et très peu d'inventions peuvent rivaliser avec l'importance de la PCR au cours des 100 dernières années, car elle a révolutionné la recherche biologique et génétique (Matsuda, 2017; Zhu et al., 2020).

La PCR est une technique extrêmement flexible et peut être adaptée à :

- Détecter les mutations (substitutions de paires de bases, insertions et délétions) dans les gènes.
- Démontrer de nouvelles transcriptions de fusion (fusions de gènes).
- Faire preuve de clonalité.
- Démontrer une perte d'hétérozygotie (perte d'un allèle).
- Détecter l'ADN ou l'ARN associés aux organismes infectieux.
- Détecter les niveaux d'expression de l'ARN messager (J. Eduardo Calonje, 2018).

Cette technique permet la génération rapide de grandes quantités de séquences d'ADN spécifiques qui sont plus faciles à purifier sans avoir besoin de transférer l'ADN dans une bactérie pour faire les copies. Cette capacité d'amplifier et de détecter spécifiquement n'importe quel segment d'ADN dans le génome humain a ouvert de nombreuses portes de diagnostic (Zhu et al., 2020). L'ADN polymérase est utilisé pour fabriquer des copies d'ADN à l'aide d'une molécule d'ADN préexistante. Chaque ADN nouvellement synthétisé devient un modèle pour

générer plus, créant ainsi une réaction en chaîne qui crée des copies d'ADN exponentiellement (**Figure. 15**). Une PCR typique amplifie en fait seulement une région choisie ou une séquence cible dans un échantillon d'ADN complexe qui est défini par les deux petits morceaux d'ADN monocaténaire appelés amorces de PCR (Matsuda, 2017). Puisque la séquence d'amorce de PCR doit être complémentaire au début et à la fin de la séquence cible, une certaine connaissance de la séquence du modèle d'ADN est nécessaire. Comme de nombreux organismes ont vu leur génome entier séquencé, cette information est facile à obtenir (Clark et al., 2019; J. Eduardo Calonje, 2018).



**Figure. 15 :** Réaction en chaîne de la polymérase (PCR). (Clark et al., 2019)

Au cours de la PCR, deux amorces recuisent à des séquences complémentaires à chaque extrémité d'une séquence cible sur un morceau d'ADN dénaturé. L'ADN polymérase synthétise un brin complémentaire d'ADN à partir des amorces, résultant en deux nouveaux brins d'ADN. Dans d'autres cycles, les molécules d'ADN nouvellement fabriquées sont dénaturées, les amorces sont recuites, et l'ADN polymérase copie les régions cibles, résultant en de multiples copies de la séquence cible originale (Clark et al., 2019).

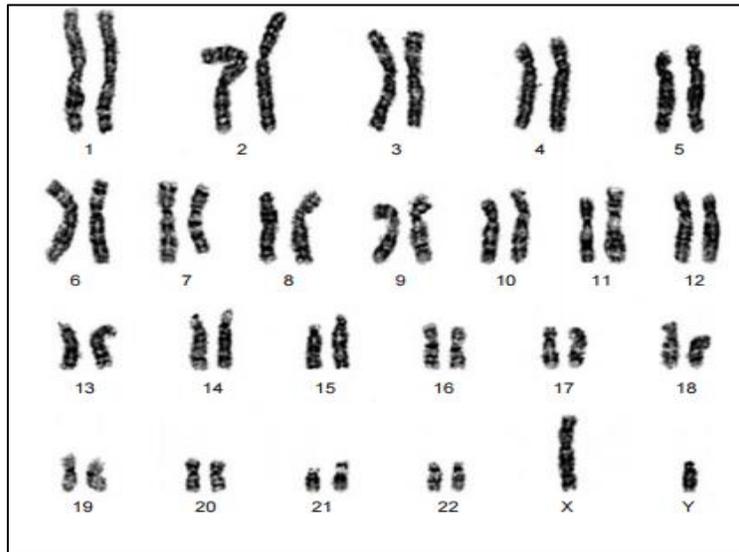
### V.3. Caryotype :

L'analyse du caryotype est une technique fondée sur la culture par laquelle des cellules de tissus frais viables sont cultivées et arrêtées au stade métaphasique de la division cellulaire (le moment de la plus grande condensation chromosomique). C'est le processus d'appariement et d'ordonnement de tous les chromosomes d'un organisme, qui donne une idée large du génome des chromosomes de n'importe quel individu, par perturbation du fuseau du chromosome en utilisant des drogues telles que la colchicine. Les chromosomes sont visualisés par coloration, y compris l'utilisation de taches spéciales pour obtenir des motifs de bandes. En général, les régions riches en CG ont tendance à être riches en gènes et tachées de G-banding, brillantes avec R-banding, et foncées avec Q-banding (Gomes & Korf, 2018; Sampson & McGuire, 2014). Le caryotypage conventionnel est particulièrement utile pour détecter les maladies génétiques congénitales. Cette méthode présente plusieurs avantages, y compris sa disponibilité dans la plupart des laboratoires cliniques.

La cytogénétique classique ou le caryotype est l'ensemble standard des chromosomes d'une cellule. Une cellule somatique humaine contient 46 (nombre diploïde) chromosomes dans 22 premières paires somatiques présentées (**Figure. 16**) selon :

- La taille (de la plus longue à la plus courte).
- Le nombre de bandes foncées et claires après coloration (l'ordre et la largeur de chaque bande sont spécifiques à chaque chromosome, ce qui aide à les identifier).
- L'emplacement des centromeres.

Sur la base de ces critères, les chromosomes sont différenciés en métacentriques, sous-centriques et acrocentriques et sous-classés en sept groupes (A à G) (**Figure. 17**). La dernière paire présente les chromosomes sexuels marqués X et Y ; les femelles possèdent 2 chromosomes X(XX) et les mâles possèdent 1 chromosome X et 1 chromosome Y(XY). Les cellules gamétiques ont 23 chromosomes (nombre haploïde). Le centromère est une région condensée qui sépare le bras court "p" et le bras long "q" de chaque chromosome, et il lie également 2 chromatides, et constitue le lien d'attachement pour les fibres de fuseau pendant la division cellulaire (Bates, 2011; Gorczyca,2013).



**Figure. 16 :** Caryotype humain normal (homme). (Gorczyca, 2013)

Group	Chromosomes	Characteristics	Example
A	1-3	Large metacentric chromosomes	
B	4-5	Large submetacentric chromosomes	
C	6-12 and X	Medium-sized submetacentric chromosomes	
G	13-15	Large acrocentric chromosomes	
E	16-18	Medium-sized acrocentric chromosomes	
F	19-20	Short metacentric chromosomes	
G	21-22 and Y	Short acrocentric chromosomes	

**Figure. 17:** Types de chromosomes. (Gorczyca, 2013)

# CHAPITRE II

## Matériel et méthodes

**Matériel et méthodes****I. Type d'étude**

Il s'agit d'une étude prospective transversale qui a porté sur profil clinico-pathologique et moléculaire des azoospermies au niveau de l'Est Algérien qui s'est déroulée sur une période d'un mois ; réalisée entre le 8 mai et le 9 juin 2022, sur un échantillon de 25 patients.

**II. Patients et témoins :****II.1.Recrutement des patients :**

Les patients qui été inclus dans l'étude provenaient des régions de l'Est algérien, les patients étaient recrutés au niveau du laboratoire de diagnostic cytogénétique au Centre national de recherche en biotechnologie (CRBt).

**II.1.1. Critères d'inclusion:**

Les patients ayant une azoospermie, d'origine sécrétoire avec ou sans hypogonadisme (FSH élevé, LH élevé ou normal), c'est-à-dire présentant une atteinte testiculaire, sont inclus dans cette étude. Au total 31 patients ont été recrutés.

**II.1.2. Critères d'exclusion:**

Infertilité d'origine obstructive.

Infertilité d'origine immunologique

Syndrome de Klinefelter

**II.2.Témoins :**

Un patient sein, ainsi qu'une femme seine étaient recrutés comme témoins de l'étude cytogénétique et moléculaire.

**III.Méthodes :****III.1. Analyse hormonale :**

Les résultats de l'analyse hormonale étaient déjà mentionnés dans les dossiers médicaux des patients au moment de leur recrutement

**III.2. Biopsie :**

Les résultats des biopsies étaient déjà mentionnés dans les dossiers médicaux des patients au moment de leur recrutement

**III.3. Etude cytogénétique :****III.3.1. Le caryotype :****➤ Mise en culture : 72h**

- Étiqueter les tubes du milieu de culture avec le nom et le numéro d'organisation.
- Travailler sous hotte à flux laminaire, ouvrir les tubes et éviter de passer les mains au-dessus des tubes.
- On met 10 gouttes de sang dans le milieu de culture PBM et CMP.
- Il faut bien fermer les tubes et les déposer horizontalement sur un plateau en inox et les mettre dans une étuve.

**➤ Synchronisation : Après 48h**

- Ajout de 100µl de Thymidine après 48h de mise en culture et remise en culture.

Lavage, remise en culture, blocage en métaphase, choc hypotonique, préfixation et fixation  
Après 72h

**➤ Lavage :**

- On commence par une centrifugation 1500 rpm durant 5min 30.
- Après avoir préparé les réactifs (solution de PBS) et après la centrifugation :
- On aspire le surnageant, on ajoute vers 1ml de PBS.
- On vortex pour bien mélanger.

- On met 10ml de PBS (jusqu'à l'étiquette).
- On mélange bien.
- On centrifuge une deuxième fois et on procède à un deuxième lavage « aspiration du surnageant, dilution au PBS, mélanger au vortex, rajouter du PBS et remettre à la centrifugeuse »

-Après centrifugation:

- Rajouter 1.5ml de RPMI et vortexer.
- Compléter avec 5ml de RPMI et 1.5ml de SVF. 'Pipette graduée'

Note

- Pour **les bandes R** : homogénéiser par retournements puis remettre à l'étuve pendant **5h à 5h30** en position horizontale.

- Pour **les bandes HR**: ajouter **50µl** de BrDU et remettre les tubes à l'étuve

### ➤ **Sortie de culture :**

#### ❖ **Blocage en métaphase :**

- Après incubation de **5h-5h30**, ajouter **60µl** de colchicine pure dans chaque tube, homogénéiser et remettre à l'étuve en position horizontale pendant **30 minutes**.

#### ❖ **Choc hypotonique et préfixation :**

- Centrifuger les tubes de culture «1500rpm à 5min30 »
- Sous hotte chimique, aspirer le surnageant avec la pompe à vide.
- Ajouter 1 à 2ml de KCl à la concentration de 5.6g/l préchauffé à 37°C.
- Vortexer et compléter avec 10ml de KCl
- Homogénéiser par retournements.
- Incuber en position horizontale pendant 20min.
- Préfixation : ajouter 0.5ml à 1ml de carnoy (acide acétique + éthanol)
  - Homogénéiser par retournements.
  - Centrifuger les tubes de culture «1500rpm durant 5min 30 »

- Sous hotte aspirer le surnageant avec la pompe à vide.

### ❖ Fixation :

- Ajouter 1 à 2ml de carnoy.
- Vortexer et compléter avec du carnoy.
- Homogénéiser par retournements.
- Fixer à température ambiante pendant 20 minutes.
- Centrifuger les tubes de culture « 1500rpm à 5minutes 30 »
- Sous hotte chimique, aspirer le surnageant avec la pompe à vide.
- Refaire une de deuxième fixation : ajouter le carnoy, vortex, compléter et on met au réfrigérateur

### ❖ Étalement :

- Centrifugation: 1500rpm pendant 5min30
- Aspirer le surnageant (l'ancien carnoy) et le remplacer par un nouveau carnoy
- A l'aide d'un compte-goutte aspirer et refouler le culot afin de le mettre en suspension.
- Placer une lame dégraissée et séchée à plat et laisser tomber une goutte de culot, rincer au carnoy « ou pas » car cela dépend de la qualité des étalements.
- Essuyer le bas de la lame ainsi qu'à côté de l'étalement.
- La faire sécher au bain marie.
- Observer au microscope optique.

### ➤ Denaturation :

#### ❖ Bandes R :

Les faire rapidement après étalement.

- Commencer par réhydrater les lames dans de l'eau distillée durant 5 minutes.
- Plonger les lames dans la solution phosphate qui se trouve au bain marie à 86°C de 13-20minutes (tout dépend du résultat de la première lame).

- Plonger les lames dans le colorant gimesa-tampon de Gürr durant 5 minutes.
- ❖ **Bandes G :**
- La lame doit dater d'une semaine.
- Plonger les lames dans la solution de trypsine ; le temps doit être adapté à l'ancienneté de l'étalement, et varie de 30 secondes jusqu'à 2 minutes :  
30 secondes pour le lendemain et on ajoute 5 secondes aux jours qui suivent.
- Rincer rapidement dans du PBS 1X.
- Coloration et rinçage.
- Faire sécher la lame avant de l'observer.

### III.4. Etude moléculaire :

#### III.4.1. Extraction d'ADN à partir de sang total :

##### ➤ **Principe :**

- Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K.
- L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec éthanol.
- L'ADN est solubilisé en phase aqueuse par le rapport de la DO à 260 nm (logueur d'onde d'absorption des protéines) qui doit être compris entre 1.8 à 2.

##### ➤ **Réactifs :**

- TE: Tris EDTA (20 :5).
- TE 10 :1.
- Tampon de Lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10 mM, pH 8.2).
- SDS à 10 %.
- Protéinase K à 10mg/ml.
- NaCl 4M.
- Éthanol à 70%.

- Éthanol absolu.
- **Consommable :**
- Tube Falcon 50ml.
- Tube Falcon 15 ml.
- Pastelle Stérile.

➤ **Procédure :**

❖ **Préparation des leucocytes :**

1. Dans un tube Falcon 50ml, mettre le sang.
2. Compléter à 25 ml avec Tris EDTA (20 :5), pour la lyse des GR.
3. Agitation manuel (forte agitation).
4. Laisser 10 min dans la glace.
5. Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm).
6. Aspirer le surnagent avec la trompe à vide.
7. Ajouter quelques ml de TE (20 :5) au culot et le remettre en suspension avec une pastelle stérile.
8. Compléter à 25 ml avec du TE (20 :5) et laisser 10 min dans la glace.
9. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
10. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes.

(Si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans un tube nue de 1.5 ml avec du TE 10:1 et les conserver à -20 dans le frigo).

❖ **Extraction d'AND :**

11. Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon 15 ml.
12. Ajouter 3 ml de tampon de lyse en dilacérant le culot avec une palette stérile.
13. Ajouter 200 µl de SDS à 10 %.
14. Ajouter 100 µl de protéinase K à 10mg/ml.
15. Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit. Incubation une nuit.
16. Le lendemain refroidir dans la glace.
17. Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
18. Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).

19. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
20. Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
21. Si la pelote d'ADN ne se forme pas, laisser éventuellement 30 min à -20°C.
22. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 02 fois dans éthanol à 70%.
23. Mettre la pelote d'ADN dans un tube nue.

❖ **Solubilisation d'AND :**

24. Ajouter entre 300 et 1000 µl de TE (10 :1) selon la grosseur de la pelote d'ADN et la concentration souhaitée.
25. Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

❖ **Mesure de la concentration de l'ADN :**

Pour confirmer la concentration et la pureté de l'ADN, on a aussi utilisé le NanoDrop® (Thermo Scientific Nanodrop® 2000/2000c) qui est un spectrophotomètre à UV. Cet appareil permet de déterminer la pureté de notre ADN, on considère que : l'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport  $R = DO\ 260/280$  est compris entre 1,6 et 2 ( $1,6 < R \leq 2$ ), l'ADN est contaminé par les protéines si  $R < 1,6$  et que l'ADN est contaminé par les ARN si  $R > 2$ .

**III.4.2. Recherche des micro-délétions du chromosome Y :**

• **Préparation de la PCR du gène SRY :**

La recherche de cette mutation est effectuée au niveau du gene SRY.

Les réactifs utilisés pour la préparation du milieu réactionnel de la PCR ainsi que les quantités nécessaires pour chaque tube sont mentionnées dans le tableau au-dessous.

**Tableau. 3** : Composition du milieu réactionnel de PCR pour l'amplification du gène SRY.

Protocole de PCR			
Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume (µl)
H2O	/	/	17,42
Tampon	10 X	1 X	2,5
MgCl <sub>2</sub>	25mM	1,5mM	0,5
dNTPs	10mM	200µM	0,5
Oligo F	10mM	0,2µM	0,5
Oligo R	10mM	0,2µM	0,08
Taq polymérase (Fermentas ®)	/	0,125U	0,2
ADN	/	50ng	2
Total			25

La réaction d'amplification est réalisée dans des plaques de PCR avec un thermocycleur (BIO-RAD® iCycler) avec les conditions suivantes :

**Tableau. 4** : Programme du thermocycleur pour l'amplification du gène SRY.

Processus	Température (°C)	Temps	Nombre de cycles
Dénaturation initiale	94	5 min	1
Dénaturation	94	2 min	35
Hybridation	51	1 min	
Elongation	72	1 min	

Elongation finale	72	10 min	1
-------------------	----	--------	---

- **Observation des produits de PCR :**

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2 % (2 g d'agarose + 100 ml TBE 1X) additionné a 2.5 µl de SYBER Safe. Dans le premier puits, on dépose 3 µl de marqueur de taille (PM 100pb LADDER) + 3µl H<sub>2</sub>O + 1µl BBP. Puis, on mélange 5 µl de produit d'amplification + 1.5 µl BBP (Bleu de Bromophénol) qui permet de suivre le front de migration, et on les dépose dans chaque puits. Les dépôts se font du coté cathode (-). Le système soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 20-30 min. Cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN survenue au cours de la PCR.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille.

### **III.5. Analyse statistique**

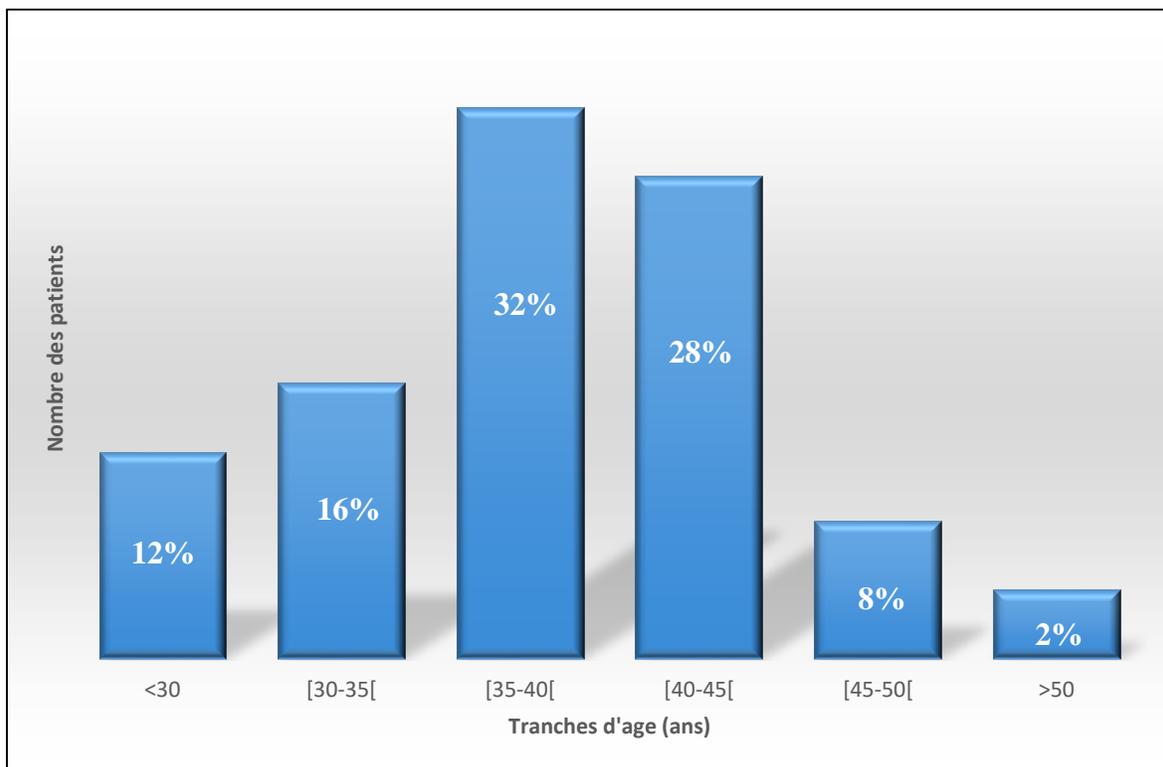
L'analyse statistique était faite par le biais du logiciel Excel Microsoft 2016, et SPSS 22 pour calculer la corrélation de Pearson.

# CHAPITRE III

## Résultats et discussion

## Résultats et discussion

## I. Répartition de la population étudiée selon l'âge :



**Figure. 18:** Répartition de la population étudiée selon l'âge.

Cette figure représente le nombre des patients azoospermiques reparti par tranche d'âge :

**<30; [30-35[; [35-40[; [40-45[; [45-50[; >50**

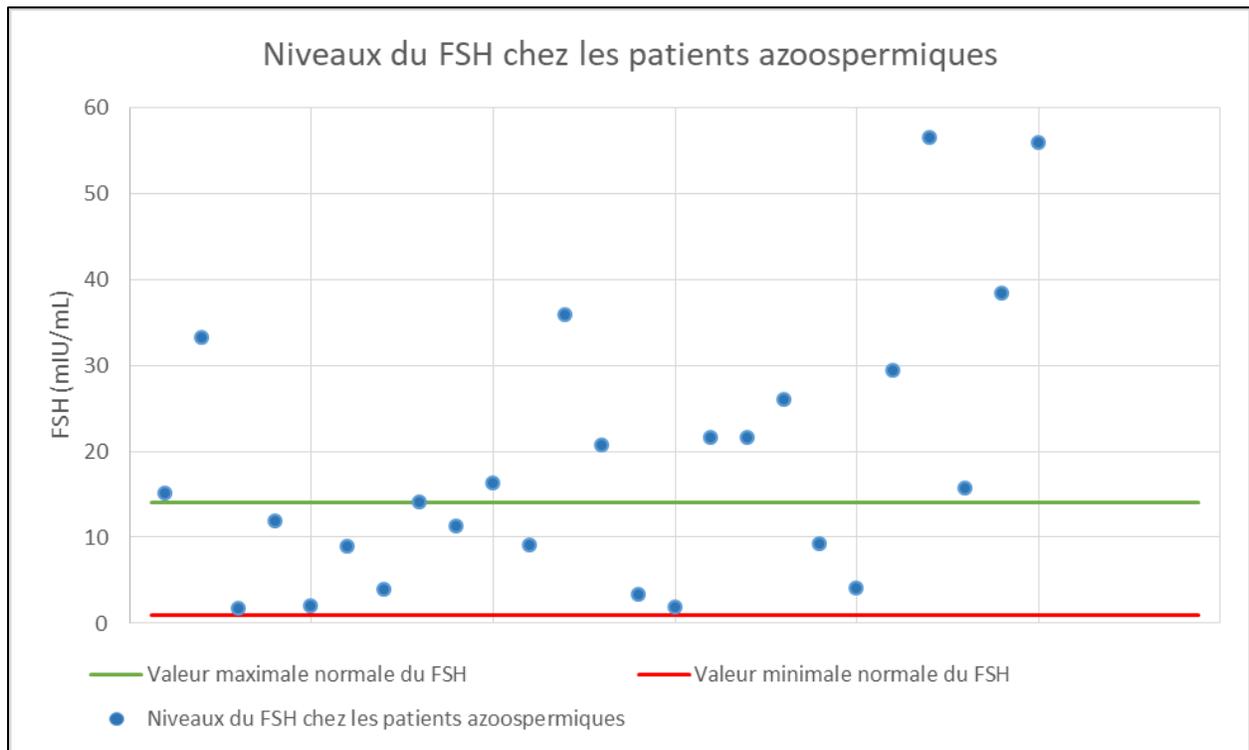
Il est important de signaler que plus de deux tiers de nos patients (72%) étaient âgés de plus de 35 ans, la tranche d'âge la plus représentée est celle de 35-40 ans.

Les patients âgés entre 35 et 40 présentent le nombre le plus élevé des patients azoospermiques avec un pourcentage de 32%, après c'est la tranche d'âge [40-45[avec un

pourcentage de 28%, suivi par la tranche d'âge [30-35[16%, <30 avec un pourcentage de 12%, [45-50[8% et >50 4%.

L'âge moyen de notre échantillon est de 38.08 ans avec des extrêmes allant de 28 ans à 55 ans. Cette valeur est très proche de la population tunisienne après une large étude de la génétique de l'azoospermie non obstructive d'un échantillon de 401 patients, qui avaient trouvé que l'âge moyen est de  $38.07 \pm 5.96$  (Naz & Kamal, 2017). Ceci concorde aussi avec les résultats trouvés par les chercheurs italiens ( $37.2 \pm 6.6$  ans) (Gnessi et al., 2018), et celle de la population marocaine après l'étude de la Prévalence de l'infertilité masculine dans un hôpital universitaire au Maroc, qui avaient trouvé que l'âge moyen des patients était de  $35,35 \pm 8,81$  ans, l'infertilité était primaire dans 61,8% (Frikh et al., 2021). Nous concluons que l'âge de nos échantillons est proche des statistiques disponibles sur l'azoospermie.

**II. Répartition de la population étudiée selon le niveau du FSH :**



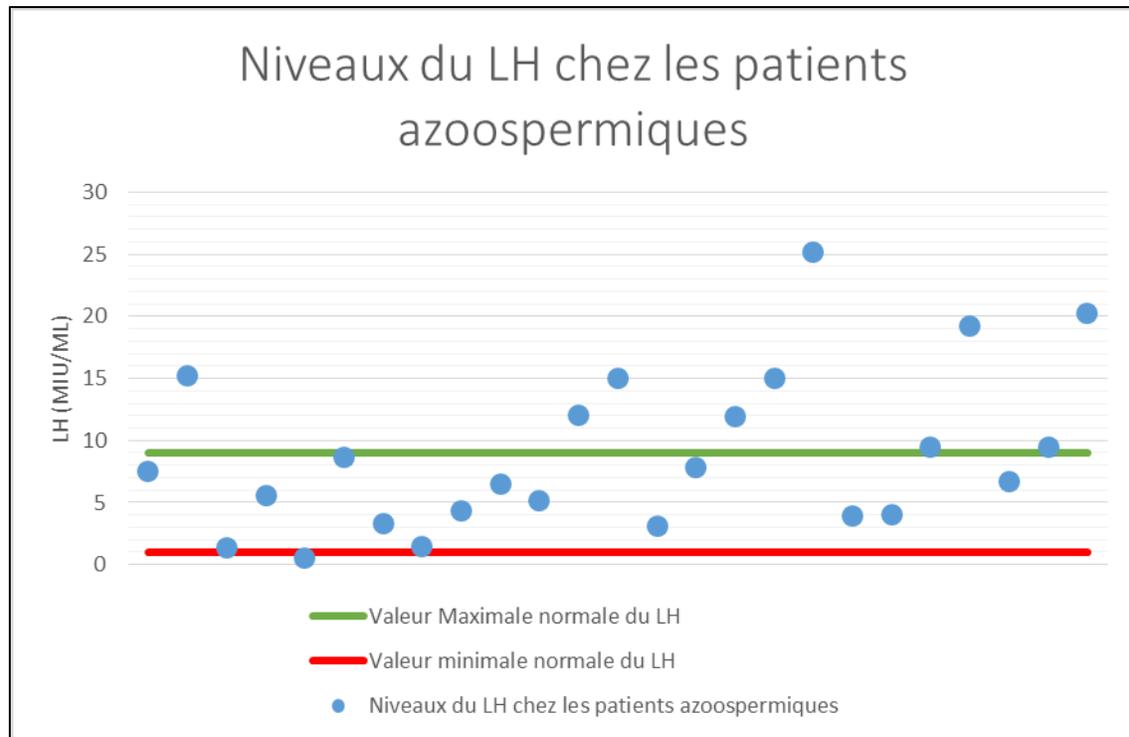
**Figure. 19:** Répartition de la population étudiée selon le niveau du FSH.

Cette figure représente le niveau du FSH chez les patients azoospermiques.

Nous avons noté que 48% des patients présentent un taux normal du FSH [1-14mIU/ml] et un pourcentage de 52% présenté par 13 patients hors normes avec un taux supérieur à 14mIU/ml.

Le taux moyen du FSH des patients est de 18.29 mIU/mL, c'est très proche de celui enregistré dans le Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Lille (18.8 mIU/mL) (Dauvergne, 2016) ,ainsi que c'est un peu inférieure que celui des taux enregistrés par Marie Garcia-Legname qui est de 20.5 mIU/mL(Garcia-Legname, 2010). Parmi l'ensemble des hormones, seule la FSH présente une différence significative. Les études réalisées à ce jour font état d'un rôle important de la FSH. Sa concentration serait inversement proportionnelle à la population de spermatogonies et associée à l'azoospermie non obstructive ; lorsque le nombre de spermatogonies est absent ou remarquablement réduit, les niveaux de FSH augmentent. Et plus le taux de FSH est élevé, plus le risque d'azoospermie augmente (Alkandari & Zini, 2021; Andrade et al., 2021).

### III. Répartition de la population étudiée selon le niveau du LH :



**Figure. 20 :** Répartition de la population étudiée selon le niveau du LH.

Cette figure illustre les niveaux du LH chez les patients azoospermiques.

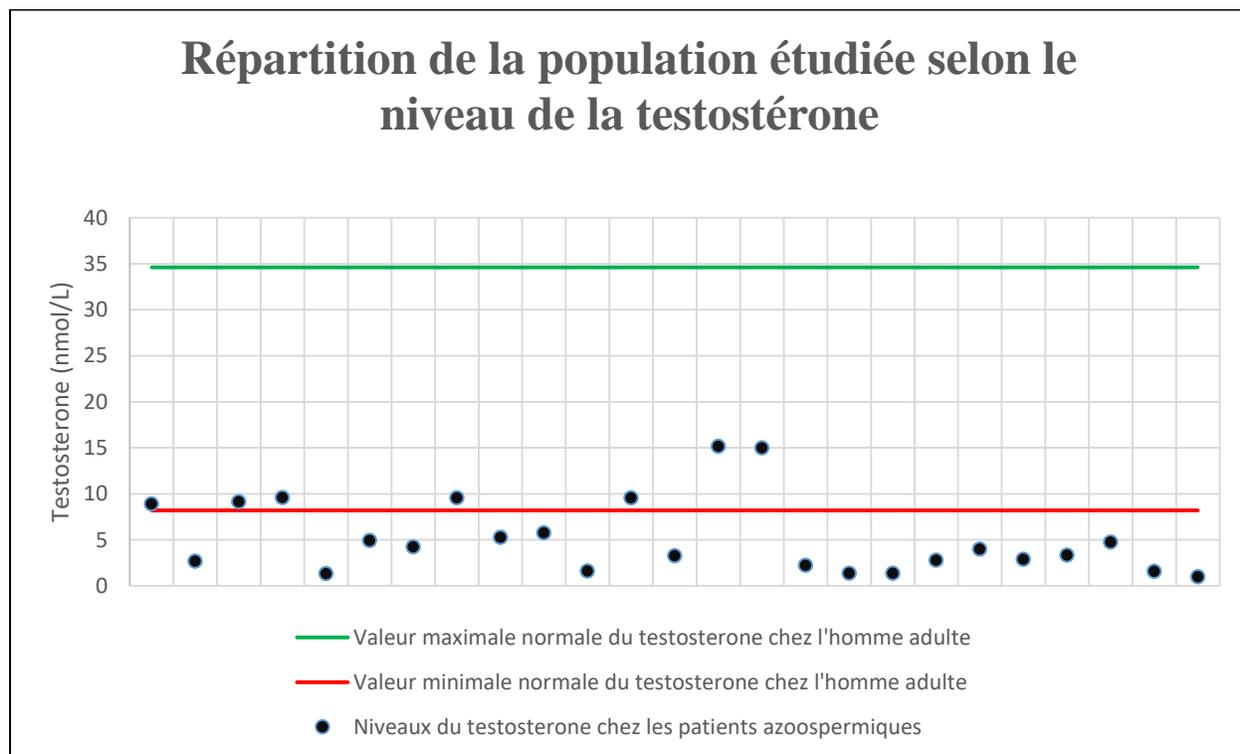
Selon les résultats de dosage du LH sérique de nos patients, nous avons trouvé un pourcentage de 60% des patients azoospermiques présentaient un niveau normal du LH [1-9 mIU/ml], et 40% des patients possédaient un taux élevé du LH supérieure à 9 mIU/ml.

Nous constatons que le taux de LH moyen est de 8.89 mIU/mL. Cette valeur est très proche de celle enregistrée par les chercheurs italiens :  $8.87 \pm 5.19$  mIU/ml (Gnessi et al., 2018) et proche de celle trouvée par les chercheurs français (8.0mIU/ml) (Garcia-Legname, 2010).

Selon nos références, ce résultat : 8.89 mIU/mL représente un taux élevé du LH, en basant sur les études précédentes de la littérature, de nombreuses études aient mis en évidence la corrélation inverse entre le taux élevé de LH et les taux bas de la testostérone et par conséquent

une hyper-trophie des cellules de Leydig, ce qui reflète une spermatogenèse altérée (Naz & Kamal, 2017).

#### IV. Répartition de la population étudiée selon le niveau de la testostérone :



**Figure. 21 :** Répartition de la population étudiée selon le niveau de la testostérone.

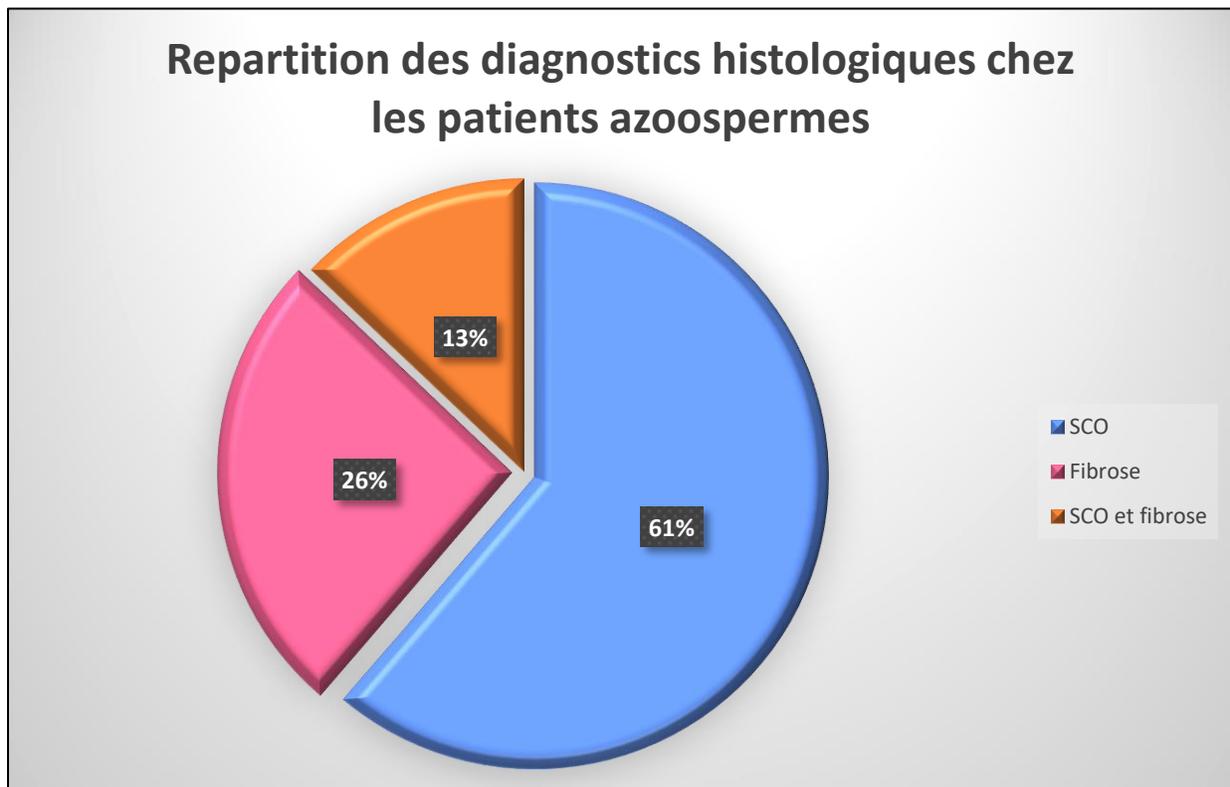
Cette figure représente les taux de la testostérone chez les patients azoospermiques

Nous remarquons que la majorité des patients (18) 72% souffrent d'un taux inférieur aux normes [8.6-34.6 nmol/L], et un nombre de 7 patients 28% présentent un taux normal.

Le taux de la testostérone est en moyenne de 5.24nmol/L, Ceci concorde avec les résultats du service d'urologie de Nancy, qui avaient trouvé que le taux de la testostérone est en moyenne de 5,4 nmol/L chez les patients azoospermes (Garcia-Legname, 2010). Un faible taux de testostérone indique un HH primaire ou secondaire. Dans de tels cas, l'azoospermie est le résultat d'une absence de stimulation testiculaire par les gonadotrophines hypophysaires, elle est associée à des niveaux faibles de testostérone sérique, à une altération de la spermatogenèse et à

des niveaux accrus de gonadotrophines, d'hormone lutéinisante (LH) et d'hormone folliculo-stimulante (FSH) (Andrade et al., 2021; Richard-Eaglin, 2018).

#### V. Diagnostic histologique :



**Figure. 22:** Répartition des diagnostics histologiques chez les patients azoospermes.

Les résultats d'étude de l'histologie testiculaire par biopsie de nos patients sont indiqués dans la figure.

Selon les biopsies testiculaires, parmi les 25 hommes infertiles un SCO a été diagnostiqué chez la majorité (61%), on distingue aussi dans cette figure une proportion assez importante de 26% a été diagnostiqué avec une fibrose.

Par ailleurs, 13% de notre échantillon présentaient à la fois SCO et une Fibrose positive.

La comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature indique que le SCO est l'histopathologie testiculaire majoritaire la plus sévère et la plus diagnostiquée chez les hommes

avec une azoospermie non obstructive, classait un des groupes histopathologiques défavorables, 57% dans l'étude de Parviz K. Kavoussil (Kavoussi et al., 2021), 42.18% ; 205 patients parmi 486 étudiés (Gnessi et al., 2018).

SCO se caractérise par des cellules germinales entièrement absentes avec seulement des cellules de Sertoli visibles dans l'épithélium germinal après observation microscopique.

Il a été démontré que les hommes ayant une architecture histopathologique plus sévère ont des taux de prélèvement de spermatozoïdes plus faibles, aussi que les hommes présentant cette histopathologie défavorable avaient des niveaux statistiquement significatifs de FSH et des fibres (Gnessi et al., 2018).

L'infertilité chez les hommes atteints de fibrose provient soit d'une anomalie du développement ou d'une lésion obstructive. Chez 97 à 98 % des hommes atteints de fibrose, une absence congénitale bilatérale du canal déférent (CBAVD) bloque le transport des spermatozoïdes des structures testiculaires ou épидидymales vers les voies génitales externes, ce qui entraîne une azoospermie (Profka et al., 2020b).

De plus, une fibrose importante du compartiment interstitiel a été démontrée dans certains échantillons de NOA, comme dans l'étude du Département d'Urologie, Hôpital Universitaire de Zagreb, où ils ont constaté que dans les cas graves de NOA, les tubules ont montré une diversité d'images histologiques, allant de l'arrêt de la maturation à une image du SCOS ou de la fibrose tubulaire (Hauptman et al., 2021).

Les zones de fibrose interstitielle portent la présence abondante de fibroblastes, de fibrocytes, et substance de masse des tissus conjonctifs. La fibrose s'accompagne fréquemment de cellules inflammatoires affectant les cellules de Leydig péri-vasculaires à proximité.

**Tableau. 5 :** Corrélations entre les paramètres cliniques des patients et l'histologie testiculaire.

Corrélation avec	SCO	FB
Age (ans)	<b>0.35*</b>	-0.23
FSH (mIU/mL)	<b>0.23*</b>	-0.25

LH ( mIU/mL)	<b>0.22*</b>	-0.135
Testosterone (nmol/L)	<b>0.094*</b>	-0.27
SCO	/	-0.26
FB	-0.26	/

Le tableau 5 présente les corrélations entre les paramètres étudiés et l'histologie testiculaire de nos patients :

Il y a une corrélation positive (0.35) entre l'âge et le SCOS, après plusieurs études d'influence du vieillissement sur la spermatogenèse par évaluation histologique, et cytogénétique moléculaire, des altérations de l'histologie testiculaire ont été observées chez les sujets d'âge avancé, en particulier un épaississement de la membrane propre des tubes séminifères ainsi qu'une diminution du nombre de cellules germinales et somatiques testiculaires avec le temps (Yoon et al., 2019).

De ce fait, avec l'âge, la production de testostérone par les cellules de Leydig diminue en relation avec une réduction de leur nombre mais aussi en raison des altérations fonctionnelles cellulaires dont témoignent les études histo-morphologiques. La baisse de la production de testostérone a probablement un effet direct sur la fertilité. En effet, un taux élevé de testostérone intra-testiculaire est nécessaire au maintien de la spermatogenèse (Hauptman et al., 2021).

Une spermatogenèse pourrait être conservée jusqu'à un âge avancé sans risque chromosomique particulier (les accidents génétiques et la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes) (Dakouane et al., 2005). Par ailleurs, la corrélation entre l'âge et la fibrose n'était pas significative.

Les données collectées précisent également qu'il y a des corrélations significatives positives entre les taux élevés de FSH (**0.22**), de LH (**0.23**), des taux bas de testostérone (**0.09**) et le syndrome de Sertoli Cell Only.

Le profil hormonal des patients de SCOS a été étudié, il est important de signaler que nous avons remarqué suite à l'analyse de la littérature que les patients avec SCOS présentent des taux élevés de FSH, et de LH, avec une testostérone à faibles taux (**Adamczewska et al., 2020**).

Les taux de FSH étaient les plus élevés, ceci peut être due à plusieurs causes étudiées relatives aux taux élevés de FSH, y compris SCOS qui en premier lieu corrélé avec l'absence ou le nombre réduit des cellules germinales et/ou une diminution des cellules de Sertoli fonctionnelles ce qui reflète l'augmentation de FSH sérique. Comme il a déjà été montré que la perturbation de la spermatogénèse est liée à la diminution des spermatogonies (Ghanami Gashti et al., 2021).

Les résultats de l'histopathologie comprennent l'absence de cellules germinales dans les tubules séminifères, l'immuno-expression des récepteurs d'androgènes au niveau des cellules de Sertoli et de Leydig qui était plus élevée ; ce qui suggère que les spermatogonies jouent un rôle régulateur de l'expression des AR (Hauptman et al., 2021).

Une autre cause assez importante a été mentionnée par plusieurs chercheurs qui est l'état de tubes séminifères. Les niveaux de FSH se rapportent à la proportion de tubes séminifères présentant le syndrome, ce qui explique la variation des valeurs élevées de FSH (Kavoussi et al., 2021). (**Figure 20**)

L'augmentation de l'épaisseur des tubes séminifères due à une fibrose péri-tubulaire et l'hyalinisation des parois ; cet épaissement et hyalinisation des parois peut altérer la relation entre la population des cellules de Sertoli et le tissu interstitiel, ce qui résulte une affectation de la perméabilité hormonale, c'est ce phénomène qui aboutit à l'élévation de taux de FSH du sang périphérique (**Yoon et al., 2019**).

Les niveaux de LH élevés, avec les niveaux observés de testostérone indiqueraient un endommagement des tubes séminifères et/ou la présence d'un dysfonctionnement des cellules de Leydig qui pourrait être dû à une influence négative des tubules endommagés.

Une altération du rapport œstradiol/testostérone intra-testiculaire : Les taux élevés de FSH assuraient à leur tour la conversion de la testostérone en œstradiol par les cellules de Sertoli, ces cellules sécrètent diverses protéines, y compris des protéines liant les androgènes, ainsi que des hormones telles que l'inhibine B ainsi que l'hormone anti-Müllérienne, ces cellules produisent des enzymes qui convertissent la testostérone en œstrogène et en DHT (Kavoussi et al., 2021).

L'œstradiol résultant par action locale et direct, diminue la synthèse et la libération de la testostérone par les cellules de Leydig ce qui explique donc les taux bas de cette hormone dans le sang; et par conséquence la diminution de feed-back, ce qui mènerait à une hyper-trophie des cellules de Leydig qui résulterait donc l'augmentation de niveau de LH sérique (de Kretser, 1979).

Cependant, la relation entre l'étiologie et les taux élevés de FSH ainsi que les perturbations hormonales ne sont pas encore bien comprise, serait-elle une cause ou une conséquence de la pathologie (Gnessi et al., 2018).

## VI. Caryotype :



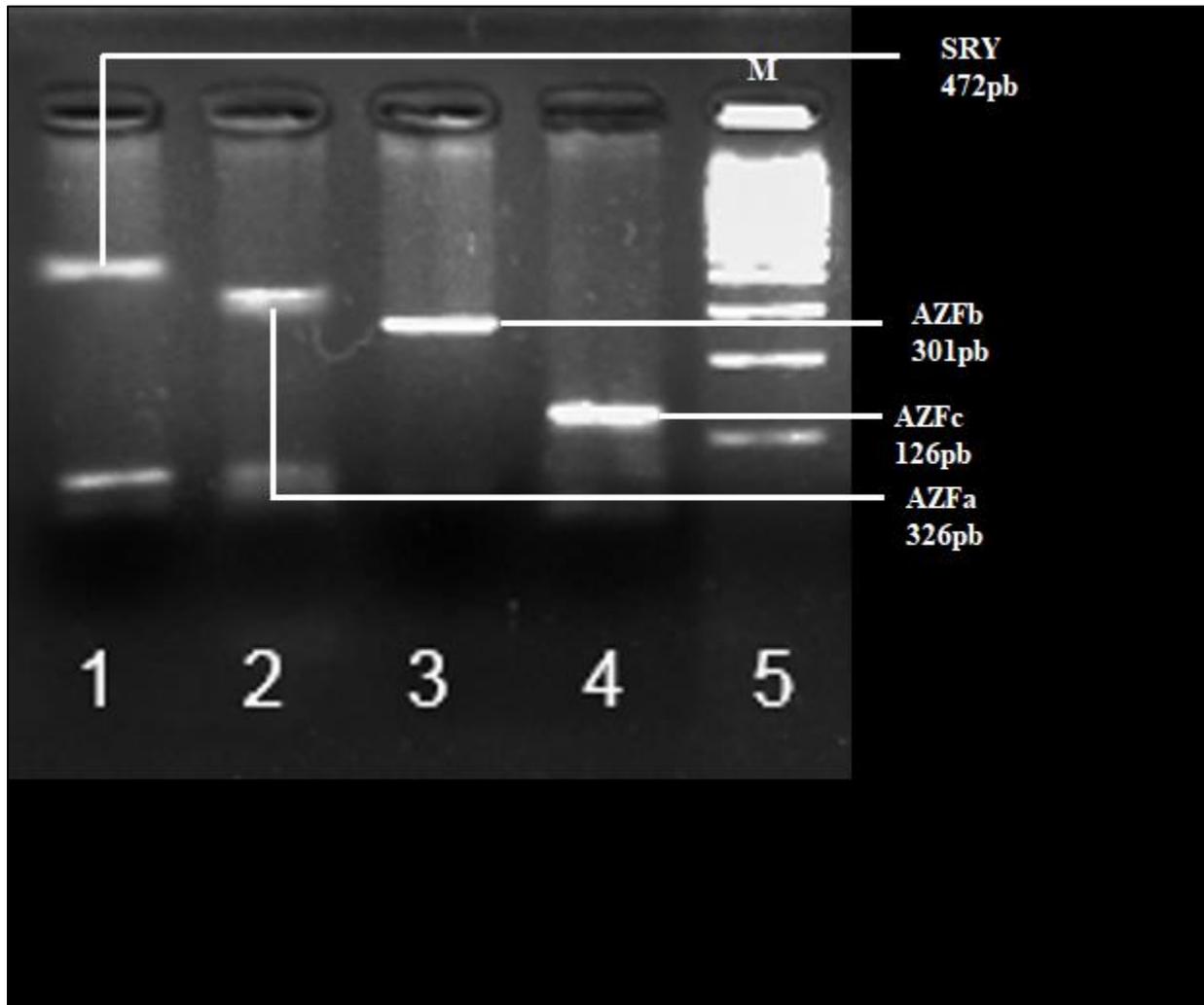
**Figure. 23** : Caryotype d'un patient azoospermique ne présentant aucune anomalie de structure ou de nombre.

Cette figure représente un caryotype avec banding d'un patient azoosperme.

Après l'étude cytogénétique et un caryotypage, la totalité de nos patients avaient un caryotype normal (46, XY). Après l'exclusion des patients klinefelter aucune anomalie chromosomique de nombre ou de structure n'a été détectée.

Une étude moléculaire est nécessaire afin de détecté des altérations au niveau du Chromosome Y qui pourraient être les causes de cette infertilité.

## VII. Etude des micro-délétions :



**Figure. 24:** profile d'électrophorèse sur gel de la PCR du gène SRY, région AZFa, AZFb et AZFc.

M : marqueur de taille (100bp ladder).

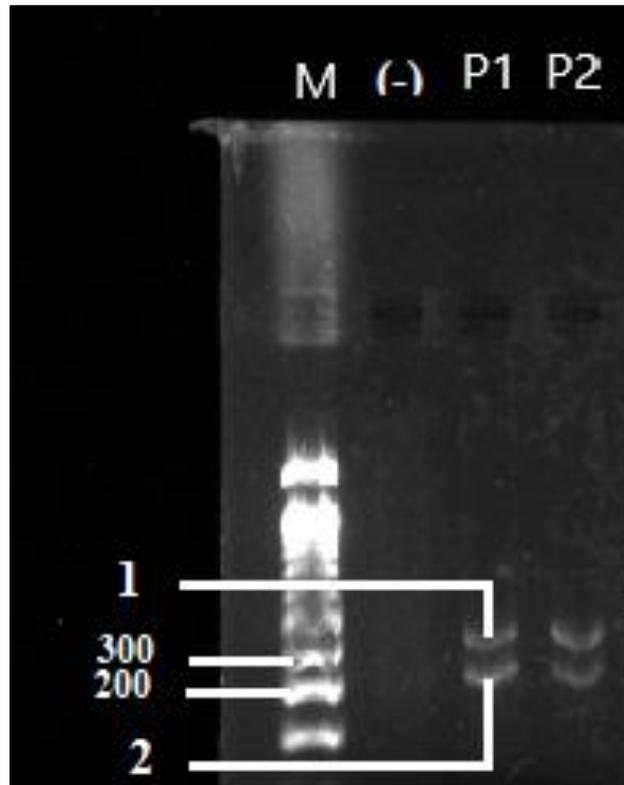
1 : Bande qui correspond au gène SRY (472pb).

2 : Bande qui correspond à la région AZFa (326pb).

3 : Bande qui correspond à la région AZFb (301pb).

4 : Bande qui correspond à la région AZFc (126pb).

92 % des patients azoospermiques (avec caryotype normal) n'avaient pas de délétion dans le gène SRY.



**Figure. 25 :** Profile de migration par électrophorèse de patients montrant une délétion dans la région AZF du chromosome Y.

M : marqueur de taille (100bp ladder)

P1 et P2 : patients atteints d'azoospermie non obstructive avec caryotype normal

(-) : Témoin (femme).

1 : Gène SRY et région AZFa.

2 : Région AZFb.

Des micro-délétions de Yq11 (AZF sub-region) ont été observées chez 2 des 25 patients ayant un caryotype normal (8 %).

Les deux cas présentaient des micro-délétions de Yq11 au niveau de la région AZFc. Ni les micro-délétions de AZFa ni AZFb n'ont été détectées chez aucun patient.

La faible fréquence des micro-délétions d'AZF dans nos échantillons est conforme à une étude antérieure rapportée en Chine (9,32% ; 33/354) (Sun et al., 2012).

Toutefois, ce taux est supérieur aux fréquences rapportées en Iran (2,13% ; 2/94) (Yousefi-Razin et al., 2016), et dans différentes régions d'Algérie (2,04%;1/49) (Chellat et al., 2013).

Les délétions dans la région AZFc sont les plus fréquemment signalées parmi les micro-délétions d'AZF, la perte totale de la région AZFc est l'une des causes génétiques moléculaires les plus fréquentes d'infertilité masculine sévère (60%). Lorsque AZFc est complètement supprimé ; les deux marqueurs AZFc (sY254 et sY255) sont supprimés pour chaque homme (Balkan et al., 2008; Patrat et al., 2010).

Histologiquement, la micro-délétion AZFc est associée à diverses altérations spermatogénétiques. En outre, elle n'affecte pas autant le profil phénotypique, ni la physiologie de la spermatogenèse résiduelle, et dans de rares cas, peuvent même être transmises naturellement à la progéniture mâle (Hammami et al., 2015).

Selon de récentes recherches qui étudient la génétique de la SCOS, ce dernier syndrome serait due aux micro-délétions du chromosome Y ; les délétions complètes d'AZFb et d'AZFc sont caractérisées par une image histologique du syndrome de Sertoli Cells Only ou un arrêt spermatogénétique entraînant une azoospermie (Ghanami Gashti et al., 2021).

La probabilité de parentalité biologique par l'ICSI ne semble pas être affectée par la microdélétion AZFc. Cependant, la progéniture mâle de ces pères héritera du défaut génétique et sera par conséquent infertile (Andrade et al., 2021)

# **Conclusion et perspectives**

### Conclusion et perspectives

L'infertilité est depuis plusieurs années, considérée par l'OMS comme une pathologie à part entière, dans le cadre du concept de santé reproductive qui reconnaît à chaque être-humain le droit à la procréation. La responsabilité des hommes est évoquée dans près de 50% des infertilités. Selon la littérature et les récentes recherches, l'infertilité masculine devient un problème majeur, et le pourcentage des hommes infertiles est en augmentation 2% par ans. Cette baisse continue de la fertilité masculine au fil du temps s'avère un fléau mondial et suscite de plus en plus l'intérêt des scientifiques.

En Algérie, le taux d'infertilité est estimé à 15% et les hommes sont à l'origine de cette infertilité dans 65% des cas. L'insuffisance flagrante de données et des recherches portant sur l'étude cytogénétique et moléculaire de l'infertilité masculine en Algérie nous a motivé à mener cette étude qui nous a permis d'évaluer l'infertilité masculine dans l'est Algérien. L'identification de l'étiologie de l'infertilité est une étape fondamentale dans l'évaluation de celle-ci car le pronostic et les options thérapeutiques en dépendent.

L'étude des biopsies testiculaires et des aspects endocriniens montre que le SCOS et la Fibrose sont des histopathologies défavorables altèrent l'aspect des cellules germinales et minimisent la présence des spermatozoïdes intra testiculaires, ainsi que l'augmentation des taux de FSH, LH et la diminution de la Testostérone influence négativement le processus de la spermatogénèse. En effet, nos résultats nous ont permis de constater que l'étiologie principale de l'infertilité masculine demeure inconnue, et qu'il n'est pas surprenant que la FSH et la biopsie ne prédisent pas de façon fiable l'existence des spermatozoïdes chez les patients azoospermiques non obstructive, ce qui impose une investigation plus approfondie.

Dans notre étude nous avons trouvé que la quasi-totalité de nos patients présentaient une SCOS positive, selon les récentes recherches qui étudient la génétique de la SCOS, ce dernier syndrome serait due aux micro-délétions du chromosome Y, en se basant sur les techniques de la cytogénétique et de la biologie moléculaire, après réalisation des caryotypes et exclusion des patients klinefelter, et par PCR permettant l'analyse du génome et la détection des micro-

délétions de chromosome Y: **SRY**, **AZF<sub>a</sub>**, **b**, **c** afin d'expliquer et de trouver une réponse aux différentes hypothèses.

D'après les résultats recensés, tous nos patients avaient des caryotypes normaux. Une faible prévalence de micro-délétions du chromosome Y a été détectée chez ces hommes azoospermiques non obstructive. Ceci a démontré que les micro-délétions du chromosome Y au niveau des régions AZFc, peuvent être la cause d'une SCOS, en revanche la physiopathologie elle-même ne veut pas dire que le patient est micro-déleté. Comme nous l'avons montré dans notre étude préliminaire, la physiologie dans les cas recensés était altérée, l'analyse physiopathologique pour évaluer la NOA et prédire l'extraction des spermatozoïdes était déterminante.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'intérêt de l'association de la physiopathologie qui était un facteur prédictif avec l'étude cytogénétique et biomoléculaire, et le profil hormonal pour mieux expliquer cette azoospermie non obstructive.

A l'issue de cette étude, malgré le faible nombre d'échantillon, et les limites de ce travail de recherche, avec les résultats préliminaires obtenus lors de sa réalisation, nous avons pu évaluer de manière fiable les étiologies et les facteurs génétiques impliqués dans l'infertilité masculine chez la population étudiée.

En effet, plusieurs études ont permis l'identification d'un nombre importants de gènes ont été responsables, lorsqu'ils sont mutés, d'infertilité masculine non syndromique, comme le TEX11, TAF7L au niveau du chromosome X. Une étude sur un grand nombre d'échantillon avec un criblage de génome en entier va permettre une meilleure compréhension du mécanisme de la spermatogénèse et par conséquent, il est probable de détecter l'origine génétique de nombreuses formes « idiopathiques » de l'infertilité masculine.

C'est toujours un challenge d'identifier les patients qui ont une meilleure chance de biopsie réussie, ceci montre le grand intérêt de multiplier ce type de travaux par les biologistes pour mieux assister, voire éclairer le clinicien sur les démarches à suivre auprès de chaque

## **Conclusion**

---

patient souffrant d'azoospermie non obstructive afin d'avoir une meilleure prise en charge et augmenter la possibilité de la paternité biologique.

**Références**

**bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### Références

22.10 : Infertility. (2018, décembre 31). Biology LibreTexts.

[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Human\\_Biology/Book%3A\\_Human\\_Biology\\_\(Wa  
kim\\_and\\_Grewal\)/22%3A\\_Reproductive\\_System/22.10%3A\\_Infertility](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Human_Biology/Book%3A_Human_Biology_(Wa%3A_kim_and_Grewal)/22%3A_Reproductive_System/22.10%3A_Infertility)

Abebe, M. S., Afework, M., & Abaynew, Y. (2020). Primary and secondary infertility in Africa : Systematic review with meta-analysis. *Fertility Research and Practice*, 6(1), 20.

<https://doi.org/10.1186/s40738-020-00090-3>

Adamczewska, D., Slowikowska-Hilczer, J., Marchlewska, K., & Walczak-Jedrzejowska, R.

(2020). Features of gonadal dysgenesis and Leydig cell impairment in testes with Sertoli cell-only syndrome. *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, 58(2), 73-82.

<https://doi.org/10.5603/FHC.a2020.0008>

Alkandari, M. H., & Zini, A. (2021). Medical management of non-obstructive azoospermia : A systematic review. *Arab Journal of Urology*, 19(3), 215-220.

<https://doi.org/10.1080/2090598X.2021.1956233>

Amini, L., Kahrobaie, M., Amiri-Farahani, L., & Haghani, H. (2020). The relationship between health life style and spermogram Indicators among infertile men : Preliminary data. *BMC Research Notes*, 13(1), 278. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-05102-5>

Andrade, D. L., Viana, M. C., & Esteves, S. C. (2021). Differential Diagnosis of Azoospermia in Men with Infertility. *Journal of Clinical Medicine*, 10(14), 3144.

<https://doi.org/10.3390/jcm10143144>

Auger, J. (2018). Testis Cell Biology/Chapter12—Spermatozoa and Sperm Structure.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64563-4>

## Références bibliographiques

---

- Balkan, M., Tekes, S., & Gedik, A. (2008). Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with Oligozoospermia and Azoospermia in Southeast Turkey. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 25(11-12), 559-565.  
<https://doi.org/10.1007/s10815-008-9272-8>
- Barratt, C. L. R., Björndahl, L., De Jonge, C. J., Lamb, D. J., Osorio Martini, F., McLachlan, R., Oates, R. D., van der Poel, S., St John, B., Sigman, M., Sokol, R., & Tournaye, H. (2017). The diagnosis of male infertility : An analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance—challenges and future research opportunities. *Human Reproduction Update*, 23(6), 660-680. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx021>
- Bates, S. E. (2011). Classical cytogenetics : Karyotyping techniques. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 767, 177-190. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-201-4\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-201-4_13)
- Baulier, G., Jarnier, D., Saunier, A., Nallet, A., Legrand, L., & Eyraud, A. (2021). [Cutaneous lesions and testicular pain]. *La Revue De Medecine Interne*, 42(4), 292-293.  
<https://doi.org/10.1016/j.revmed.2020.08.010>
- Buvat, J., & Bou-Jaoude, G. (2005). Hyperprolactinémie et fonction sexuelle chez l'homme. *Andrologie*, 15(4), 366-373. <https://doi.org/10.1007/BF03035295>
- Chellat, D., Rezgoune, M. L., McElreavey, K., Kherouatou, N., Benbouhadja, S., Douadi, H., Cherifa, B., Abadi, N., & Satta, D. (2013). First study of microdeletions in the Y chromosome of Algerian infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia. *Urologia Internationalis*, 90(4), 455-459. <https://doi.org/10.1159/000347046>
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., & McGehee, M. R. (2019). Chapter 6—Polymerase Chain Reaction. Dans D. P. Clark, N. J. Pazdernik, & M. R. McGehee (Éds.), *Molecular*

## Références bibliographiques

---

- Biology (Third Edition) (p. 168-198). Academic Cell. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00006-9>
- Condorelli, R. A., Calogero, A. E., Russo, G. I., & La Vignera, S. (2020). From Spermogram to Bio-Functional Sperm Parameters : When and Why Request Them? *Journal of Clinical Medicine*, 9(2), E406. <https://doi.org/10.3390/jcm9020406>
- D. Jacobson, J. (2021). Primary infertility : MedlinePlus Medical Encyclopedia Image. <https://medlineplus.gov/ency/imagepages/17074.htm>
- Dai, C., Zhang, Z., Shan, G., Chu, L.-T., Huang, Z., Moskovtsev, S., Librach, C., Jarvi, K., & Sun, Y. (2021). Advances in sperm analysis : Techniques, discoveries and applications. *Nature Reviews. Urology*, 18(8), 447-467. <https://doi.org/10.1038/s41585-021-00472-2>
- Dakouane, M., Albert, M., Bergère, M., Sabbagh, C., Brayotel, F., Vialard, F., Lombroso, R., Bicchieray, L., & Selva, J. (2005). Influence du vieillissement sur la spermatogenèse : Évaluation histologique, risque chromosomique et apoptose des spermatozoïdes. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 33(9), 659-664. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2005.07.014>
- Dauvergne, A. (2016). Azoospermie et antécédent de cryptorchidie : Analyse de la prise en charge andrologique et en assistance médicale à la procréation d'une population de 314 patients. 75.
- de Kretser, D. M. (1979). Endocrinology of male infertility. *British Medical Bulletin*, 35(2), 187-192. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071568>

## Références bibliographiques

---

- Delbridge, M. L., & Graves, J. A. M. (2007). Origin and evolution of spermatogenesis genes on the human sex chromosomes. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 65, 1-17.
- Dhanoa, J. K., Mukhopadhyay, C. S., & Arora, J. S. (2016). Y-chromosomal genes affecting male fertility : A review. *Veterinary World*, 9(7), 783-791.  
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.783-791>
- Diao, B., Sy, M., Fall, B., Sow, Y., Sarr, A., Mohamed, S., Sine, B., Fall, P., Ndoye, A., & Diagne, B. (2012). Varicocèle et infertilité masculine. *Andrologie*, 22.  
<https://doi.org/10.1007/s12610-012-0157-9>
- El Osta, R., Grandpre, N., Monnin, N., Hubert, J., & Koscinski, I. (2017). Hypogonadotropic hypogonadism in men with hereditary hemochromatosis. *Basic and Clinical Andrology*, 27, 13. <https://doi.org/10.1186/s12610-017-0057-8>
- Fainberg, J., & Kashanian, J. A. (2019). Recent advances in understanding and managing male infertility (8:670). *F1000Research*. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17076.1>
- Fizazi, A., & Encadreur: BENDAHMANE, M. (2016). Evaluation de l'infertilité masculine dans l'ouest algérien : Étude épidémiologique et biologique. [Thesis]. <http://rdoc.univ-sba.dz:8080/jspui/handle/123456789/1017>
- Frikh, M., Benaissa, M., Kasouati, J., Benlahlou, Y., Chokairi, O., Barkiyou, M., Chadli, M., Maleb, A., & Elouennass, M. (2021). Prévalence de l'infertilité masculine dans un hôpital universitaire au Maroc. *The Pan African Medical Journal*, 38, 46.  
<https://doi.org/10.11604/pamj.2021.38.46.19633>

## Références bibliographiques

---

- Garcia-Legname, M. (2010). Le spermatozoïde chirurgical : Étude des facteurs corrélés aux résultats du prélèvement testiculaire chez 209 patients (p. non renseigné) [Other, UHP - Université Henri Poincaré]. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731722>
- Gerton, G. L., & Vadnais, M. L. (2018). Structure of the Spermatozoon. Dans M. K. Skinner (Éd.), *Encyclopedia of Reproduction (Second Edition)* (p. 123-128). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64438-0>
- Ghanami Gashti, N., Sadighi Gilani, M. A., & Abbasi, M. (2021). Sertoli cell-only syndrome : Etiology and clinical management. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(3), 559-572. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02063-x>
- Ghieh, F., Barbotin, A.-L., Prasivoravong, J., Ferlicot, S., Mandon-Pepin, B., Fortemps, J., Garchon, H.-J., Serazin, V., Leroy, C., Marcelli, F., & Vialard, F. (2021). Azoospermia and reciprocal translocations : Should whole-exome sequencing be recommended? *Basic and Clinical Andrology*, 31, 27. <https://doi.org/10.1186/s12610-021-00145-5>
- Gnessi, L., Scarselli, F., Minasi, M. G., Mariani, S., Lubrano, C., Basciani, S., Greco, P. F., Watanabe, M., Franco, G., Farcomeni, A., & Greco, E. (2018). Testicular histopathology, semen analysis and FSH, predictive value of sperm retrieval : Supportive counseling in case of reoperation after testicular sperm extraction (TESE). *BMC Urology*, 18(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12894-018-0379-7>
- Gomes, A., & Korf, B. (2018). Chapter 5—Genetic Testing Techniques. Dans N. H. Robin & M. B. Farmer (Éds.), *Pediatric Cancer Genetics* (p. 47-64). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48555-5.00005-3>

## Références bibliographiques

---

- Goodman, H. M. (2009). Chapter 12—Hormonal Control of Reproduction in the Male. Dans H. M. Goodman (Éd.), *Basic Medical Endocrinology* (Fourth Edition) (p. 239-256). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373975-9.00012-4>
- Gorczyca, W. (Éd.). (2013). *Cytogenetics, FISH and Molecular Testing in Hematologic Malignancies*. CRC Press. <https://doi.org/10.3109/9780203091555>
- Hammami, W., Kilani, O., Ben khelifa, M., Ayed, W., Bouzouita, A., Zhioua, F., Abdelhak, S., & Amouri, A. (2015). Genetic Diagnosis in Non-Obstructive Azoospermic Tunisian Men. *Austin Journal of Reproductive Medicine & Infertility*, 2, 1012.
- Hauptman, D., Perić, M. H., Marić, T., Bojanac, A. K., Sinčić, N., Zimak, Z., Kaštelan, Ž., & Ježek, D. (2021). Leydig Cells in Patients with Non-Obstructive Azoospermia : Do They Really Proliferate? *Life*, 11(11), 1266. <https://doi.org/10.3390/life11111266>
- Ilhan, H. O., & Aydin, N. (2018). A novel data acquisition and analyzing approach to spermogram tests. *Biomedical Signal Processing and Control*, 41, 129-139. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2017.11.009>
- Inhorn, M. C., & Patrizio, P. (2015). Infertility around the globe : New thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Human Reproduction Update*, 21(4), 411-426. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv016>
- J. Eduardo Calonje. (2018). *McKee's Pathology of the Skin—5th Edition*. Dans *McKee's Pathology of the Skin* (5th Edition, Vol. 1-2). ELSEVIER LIMITED. <https://www.elsevier.com/books/mckees-pathology-of-the-skin/bresnahan/978-0-7020-6983-3>

## Références bibliographiques

---

- Jacobsen, F. M., Rudlang, T. M., Fode, M., Østergren, P. B., Sønksen, J., Ohl, D. A., Jensen, C. F. S., & CopMich Collaborative. (2020). The Impact of Testicular Torsion on Testicular Function. *The World Journal of Men's Health*, 38(3), 298-307.  
<https://doi.org/10.5534/wjmh.190037>
- Jain, M., & Halder, A. (2012). Sertoli cell only syndrome : Status of sertoli cell maturation and function. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(Suppl 2), S512-513.  
<https://doi.org/10.4103/2230-8210.104154>
- Kasowitz, S. D., & Wang, P. J. (2018). Sex Chromosomes and Sex-Linked Genes in Spermatogenesis. Dans M. K. Skinner (Éd.), *Encyclopedia of Reproduction* (Second Edition) (p. 114-119). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64436-7>
- Kassogué, A., El Ammari, J. E., Diarra, A., Amiroune, D., Ahsaini, M., Ouldin, K., Traoré, Z., Sqalli, H. N., Tizniti, S., Mellas, S., Tazi, M. F., Khallouk, A., El Fassi, M. J., & Farih, M. H. (2014). Agénésie bilatérale des vésicules séminales et des canaux déférents. *Canadian Urological Association Journal*, 8(7-8), E490-E492.  
<https://doi.org/10.5489/cuaj.1503>
- Kavoussi, P. K., Hudson, K., Machen, G. L., Barsky, M., Lebovic, D. I., & Kavoussi, S. K. (2021). FSH levels and testicular volumes are associated with the severity of testicular histopathology in men with non-obstructive azoospermia. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(11), 3015-3018. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02313-y>

## Références bibliographiques

---

- Khodari, M., Ouzzane, A., Marcelli, F., Yakoubi, R., Mitchell, V., Zerbib, P., & Rigot, J.-M. (2015). Azoospermie et antécédent de cure de hernie inguinale chez l'adulte. *Progrès en Urologie*, 25(12), 692-697. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2015.06.008>
- Krausz, C., & Riera-Escamilla, A. (2018). Genetics of male infertility. *Nature Reviews. Urology*, 15(6), 369-384. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0003-3>
- Leslie, S. W., Sajjad, H., & Villanueva, C. A. (2022). Cryptorchidism. Dans StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470270/>
- Leslie, S. W., Siref, L. E., Soon-Sutton, T. L., & Khan, M. A. (2022). Male Infertility. Dans StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562258/>
- Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., & Stevens, G. A. (2012). National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990 : A systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Medicine*, 9(12), e1001356. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
- Masson, E. (s. d.). Épidémiologie de la fertilité. EM-Consulte. Consulté 31 mai 2022, à l'adresse <https://www.em-consulte.com/article/868276/epidemiologie-de-la-fertilite>
- Matsuda, K. (2017). PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation : Real-Time PCR and Its Substantial Contribution Toward Technological Refinement. *Advances in Clinical Chemistry*, 80, 45-72. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.11.002>
- Mehra, S., Ranjan, R., & Garga, U. C. (2016). Zinner syndrome—A rare developmental anomaly of the mesonephric duct diagnosed on magnetic resonance imaging. *Radiology Case Reports*, 11(4), 313-317. <https://doi.org/10.1016/j.radcr.2016.04.002>

## Références bibliographiques

---

- Naz, M., & Kamal, M. (2017). Classification, causes, diagnosis and treatment of male infertility : A review. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 17(2), 89-109.  
<https://doi.org/10.1007/s13596-017-0269-7>
- Neto, F. T. L., Bach, P. V., Najari, B. B., Li, P. S., & Goldstein, M. (2016). Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 59, 10-26.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.04.009>
- Neto, F. T. L., Flannigan, R., & Goldstein, M. (2021). Regulation of Human Spermatogenesis. Dans C. Y. Cheng & F. Sun (Éds.), *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis* (p. 255-286). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-77779-1\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-77779-1_13)
- Patrat, C., Bienvenu, T., Janny, L., Faure, A.-K., Fauque, P., Aknin-Seifer, I., Davy, C., Thiounn, N., Jouannet, P., & Lévy, R. (2010). Clinical data and parenthood of 63 infertile and Y-microdeleted men. *Fertility and Sterility*, 93(3), 822-832.  
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.10.033>
- Pelzman, D. L., & Hwang, K. (2021). Genetic testing for men with infertility : Techniques and indications. *Translational Andrology and Urology*, 10(3), 1354-1364.  
<https://doi.org/10.21037/tau-19-725>
- Peña, F. J. (2020). Molecular Biology of Spermatozoa. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), E3060. <https://doi.org/10.3390/ijms21093060>
- Profka, E., Rodari, G., Giacchetti, F., Berrettini, A., Manzoni, G., Daccò, V., Arosio, M., Giavoli, C., & Colombo, C. (2020a). A case of testicular atrophy associated with cystic

## Références bibliographiques

---

- fibrosis. *Endocrinology, Diabetes & Metabolism Case Reports*, 2020, EDM200095.  
<https://doi.org/10.1530/EDM-20-0095>
- Profka, E., Rodari, G., Giacchetti, F., Berrettini, A., Manzoni, G., Daccò, V., Arosio, M.,  
Giavoli, C., & Colombo, C. (2020b). A case of testicular atrophy associated with cystic  
fibrosis. *Endocrinology, Diabetes & Metabolism Case Reports*, 2020, EDM200095.  
<https://doi.org/10.1530/EDM-20-0095>
- Pyospermia : Symptoms, Causes, Diagnosis, Treatment, and Prevention. (s. d.). Cleveland  
Clinic. Consulté 31 mai 2022, à l'adresse  
<https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/15220-pyospermia>
- Richard-Eaglin, A. (2018). Male and Female Hypogonadism. *The Nursing Clinics of North  
America*, 53(3), 395-405. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2018.04.006>
- Rivera, R., & Garrido, N. (2019). Chapter 4.4—Metabolomics. Dans R. Henkel, L. Samanta, &  
A. Agarwal (Éds.), *Oxidants, Antioxidants and Impact of the Oxidative Status in Male  
Reproduction* (p. 277-285). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812501-4.00025-0>
- Rodrigo, A. (2019). Stérilité ou infertilité : Est-ce la même chose ou y a-t-il différence?  
Babygest. <https://babygest.com/fr/sterilite-ou-infertilite/>
- Sampson, B., & McGuire, A. (2014). Genetics and the Molecular Autopsy. Dans L. M.  
McManus & R. N. Mitchell (Éds.), *Pathobiology of Human Disease* (p. 3459-3467).  
Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.06707-1>

## Références bibliographiques

---

- Schlatt, S., & Ehmcke, J. (2014). Regulation of spermatogenesis : An evolutionary biologist's perspective. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 29, 2-16.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.03.007>
- semen—MeSH - NCBI. (s. d.). Consulté 7 mai 2022, à l'adresse  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=semen>
- Sharma, A., Minhas, S., Dhillon, W. S., & Jayasena, C. N. (2021). Male infertility due to testicular disorders. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 106(2), e442-e459.  
<https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa781>
- Sharma, M., & Leslie, S. W. (2022). Azoospermia. Dans *StatPearls*. StatPearls Publishing.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK578191/>
- Silber, S. J. (1980). Ejaculatory duct obstruction. *The Journal of Urology*, 124(2), 294-297.  
[https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)55415-4](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)55415-4)
- Spermatogenesis—MeSH - NCBI. (s. d.). Consulté 7 mai 2022, à l'adresse  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68013091>
- SRY gene : MedlinePlus Genetics. (s. d.). Consulté 7 mai 2022, à l'adresse  
<https://medlineplus.gov/genetics/gene/sry/>
- SRY sex determining region Y [Homo sapiens (human)]—Gene—NCBI. (s. d.). Consulté 7 mai 2022, à l'adresse <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6736>
- Starmer, B. Z., Baird, A., & Lucky, M. A. (2018). Considerations in fertility preservation in cases of testicular trauma. *BJU International*, 121(3), 466-471.  
<https://doi.org/10.1111/bju.14084>

## Références bibliographiques

---

- Sun, K., Chen, X.-F., Zhu, X.-B., Hu, H.-L., Zhang, W., Shao, F.-M., Li, P., Miao, Q.-L., Huang, Y.-R., & Li, Z. (2012). A new molecular diagnostic approach to assess Y chromosome microdeletions in infertile men. *The Journal of International Medical Research*, 40(1), 237-248. <https://doi.org/10.1177/147323001204000124>
- Szmelskyj, I., Aquilina, L., & Szmelskyj, A. O. (2015). Chapter 2 - Anatomy and physiology of the reproductive system : Prerequisites for conception. Dans I. Szmelskyj, L. Aquilina, & A. O. Szmelskyj (Éds.), *Acupuncture for IVF and Assisted Reproduction* (p. 23-58). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5010-7.00002-3>
- Tyler-Smith, C. (2013). Y Chromosome (Human). Dans S. Maloy & K. Hughes (Éds.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)* (p. 376-379). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01658-2>
- Vockel, M., Riera-Escamilla, A., Tüttelmann, F., & Krausz, C. (2021). The X chromosome and male infertility. *Human Genetics*, 140(1), 203-215. <https://doi.org/10.1007/s00439-019-02101-w>
- WHO. (2010). Infertility. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
- Yoon, J. C., Casella, J. L., Litvin, M., & Dobs, A. S. (2019). Male reproductive health in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 18, S105-S110. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2019.08.007>
- Yousefi-Razin, E., Nasiri, M. J., & Omrani, M. D. (2016). Frequency of Y Chromosome Microdeletions Among Iranian Infertile Men with Azoospermia and Severe Oligozoospermia : A Meta-analysis. *Journal of Reproduction & Infertility*, 17(4), 208-212.

## Références bibliographiques

---

- Yu, X.-C., Li, M.-J., Cai, F.-F., Yang, S.-J., Liu, H.-B., & Zhang, H.-B. (2021). A new TEX11 mutation causes azoospermia and testicular meiotic arrest. *Asian Journal of Andrology*, 23(5), 510-515. [https://doi.org/10.4103/aja.aja\\_8\\_21](https://doi.org/10.4103/aja.aja_8_21)
- Zhu, H., Zhang, H., Xu, Y., Laššáková, S., Korabečná, M., & Nežil, P. (2020). PCR past, present and future. *BioTechniques*, 69(4), 317-325. <https://doi.org/10.2144/btn-2020-0057>

**Année universitaire:** 2021/2022

**Présenté par :** M'HEMDI El Cheima

KHALED Maya Selsabil

**Profil Clinico-pathologique et moléculaire des azoospermies au niveau de l'Est Algérien.**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Physiologie Cellulaire et Physio-Pathologie.**

L'azoospermie non obstructive est diagnostiquée dans environ 10% dans l'infertilité masculine dans laquelle aucun sperme est trouvé dans l'éjaculat à la suite de l'échec de la spermatogenèse.

L'objectif de cette étude est d'évaluer le profil cytogénétique et moléculaire des patients atteints d'azoospermie non obstructive afin de déterminer la prévalence des anomalies chromosomiques et des microdélétions du facteur azoospermique (AZF).

25 patients de l'Est Algérien souffrant d'azoospermie non obstructive (NOA) ont été inclus dans cette étude sur 31 patients recrutés au laboratoire de diagnostic génétique au Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt). Ils ont tous eu une biopsie testiculaire et une évaluation hormonale. Ils ont subi une analyse cytogénétique par banding G standard ; les microdélétions d'AZF ont été examinées par réaction en chaîne de polymérase (PCR) multiplex et électrophorèse capillaire.

La plupart des patients avaient un niveau anormal des hormones ; un niveau élevé de FSH et de LH avec un niveau moyen de 18,29 mIU/mL et 8,89 mIU/mL respectivement, un faible niveau de testostérone avec une moyenne de 5,24nmol/L. Seulement SCO a été corrélé avec les autres paramètres (Age : **0.35** FSH : **0.22** LH: **0.22** Testostérone: **0.094**). Tous les patients avaient un caryotype normal, et un pourcentage de 8 % d'entre eux ont reçu un diagnostic de microdélétions.

C'est toujours un challenge d'identifier les patients qui ont une meilleure chance de biopsie réussie, ceci montre le grand intérêt de multiplier ce type de travaux par les biologistes pour mieux assister, voire éclairer le clinicien sur les démarches à suivre auprès de chaque patient souffrant d'azoospermie non obstructive afin d'avoir une meilleure prise en charge et augmenter la possibilité de la paternité biologique.

**Mots-clés :** Azoospermie non obstructive, infertilité masculine, cytogénétique, réaction en chaîne polymérase multiplex, microdélétions.

**Laboratoire de recherche :** Centre de Recherche National en Biotechnologie (CRBt).

**Présidente :** Pr ROUABAH Leila – Pr. UFM Constantine 1.

**Encadreur1 :** Dr DAHMANI Dahbia Ines - MC.A - UFM Constantine 1.

**Encadreur2 :** Dr SELLAM-DJENNANE Feriel – MC. B - Centre de Recherche National en Biotechnologie.

**Examineurs :** Dr OUNIS Leila – MC.A - UFM Constantine 1.

