



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri
Constantine
Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique Moléculaire

Intitulé :

Génétique de l'infertilité masculine (Recherche de Microdélétions du chromosome Y)

Présenté et soutenu par : Boudechiche Khadidja
et Rouibah Amira Lyna.

Le : 30 /06/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : SATTI DALILA (Prof - Université Constantine 1)

Rapporteur : REZGOUNE-CHELLAT DJALILA (Dr - Université Constantine 1).

Examineur : ZIADA HADIA (Dr - Université Constantine 1).

*Année universitaire
2014 - 2015*

Remerciements et dédicaces

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABCD : absence bilatérale des canaux déférents.

ABP : androgen binding protein.

AIS : syndrome d'insensibilité aux androgènes.

AMH: hormone anti-müllérienne.

AMHR2: Anti-Mullerian Hormone Receptor, Type II.

AMP : assistance médicale à la procréation.

AR : récepteur d'androgène.

ARNs : small ARN.

ART : technologie de reproduction assistée.

AZF: azoospermia factor.

BET: bromure d'éthidium.

BPY2: basic protein on Y chromosome 2.

CDY1: CDY1a et CDY1b; chromodomain protein, Y chromosome 1.

CDY: Chromodomaine protein, Y chromosome.

CFTR: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator.

DAZ: deleted in azoospermia.

DAZL: Deleted In Azoospermia-Like.

DBY/DDX3Y : boîte Morte sur le chromosome Y.

EAA : l'Académie européenne d'andrologie.

EDTA : Éthylène diamine tétraacétate.

EIF1AY: Eucaryotic translation initiation factor 1A, Y chromosome.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

FIV : la fécondation in vitro

FSH: follicle-stimulating hormone.

FSHR : récepteur de la FSH.

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone.

ICMART : Comité international pour la surveillance des soins de procréation assistée.

ICSI : l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

INSL3 : Insulin-like factor 3.

LH: hormone lutéinisante.

MESA : Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration.

MSY: la région spécifique mâle du Y.

MTHFR : Méthylène Tétra Hydro Folate Reductase.

NRY : Non-Recombining Y.

OATS : oligo-asthéo-tératospermie.

OMS : l'Organisation mondiale de la Santé.

PA : âge paternel avancé.

PAR : pseudo autosomal region.

PCR : polymerase chain reaction.

PESA: Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration.

POLG : ADN polymérase gamma.

PR : récepteur à la progestérone.

RBMV : RNA binding protein.

RLF : facteur de relaxine.

S.C.O. : Sertoli Cells Only.

SMCY: Selected mousec DNA, Y chromosome.

SNP: polymorphismes nucléotidiques simples.

SRY: sex determining region of the chromosome Y.

STS: sequence-tagged site.

TB4Y: Thymosin beta-4, Y-chromosomal.

TDF: Testis Determining Factor.

TESA: Testicular Sperm Aspiration.

TESE: Testicular Sperm Extraction.

USP9Y : ubiquitine protéase 9, spécifique du chromosome Y.

UTY : TPR omniprésente motif sur Y.

XKRY: XK-related protein, Y chromosome.

LISTE DES FIGURES

Titre	Page
Figure 1 : Voie moléculaire simple pour la détermination du sexe dans les gonades des mammifères	07
Figure 2 : La différenciation sexuelle chez les humains	08
Figure 3 : Schéma morphologique de l'appareil génital masculin	09
Figure 4 : La spermatogenèse et organisation du génome de spermatozoïdes	10
Figure 5 : contrôle neuro-endocrinien de la spermatogenèse	11
Figure 6 : Chromosome Y en bandes G. Emplacement chromosomique de PAR1, PAR2, euchromatine, régions d'hétérochromatine interstitielles et terminales	17
Figure 7 : La structure du chromosome Y traduit son origine commune avec l'x et la partie male spécifique (MSY).	18
Figure 8 : Localisation et rapports génotype-phénotype des délétions complètes de région AZF	20
Figure 9 : Répartition des sujets selon le résultat du spermogramme.	32
Figure 10 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.	33
Figure 11 : Classification des patients en fonction de l'origine géographique.	34
Figure 12 : Répartition des patients selon la consommation du tabac.	35
Figure 13 : classification des patients selon l'utilisation des bains chauds	37
Figure 14 : Répartitions des patients selon le type d'infertilité	38
Figure 15 : Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux	40
Figure 16 : Classification des patients en fonction des antécédents familiaux	40
Figure 17 : Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques.	42
Figure 18 : Répartition des anomalies spermatiques en fonction des tranches d'âge.	44
Figure 19 : Répartition des anomalies spermatiques des patients infertiles en fonction du statut tabagique.	44
Figure 20 : Arbre généalogique du patient N°1.	46
Figure 21 : Arbre généalogique du patient N°02.	46
Figure 22 : Arbre généalogique du patient N°03.	47
Figure 23 : Arbre généalogique du patient N°04.	47
Figure 24 : Arbre généalogique du patient N°05.	48
Figure 25 : Arbre généalogique du patient N°06.	48

Figure 26 : Arbre généalogique du patient N°07. **49**

Figure 27 : Photographie du profil électrophorétique des patients. M, marqueur ; **50**
B, témoin négatif ; C, contrôle positif ; F, le contrôle négatif d'ADN féminin.

LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
Tableau 1: Séquences des amorces utilisées pour la recherche de microdélétions du chromosome Y et conditions d'amplification	30
Tableau 2: Composants du mélange réactionnel de PCR pour la région AZF.	31
Tableau 3: Répartition des sujets selon le résultat du spermogramme.	32
Tableau 4: Répartition des patients selon la tranche d'âge.	33
Tableau 5: Classification des patients en fonction de l'origine géographique.	34
Tableau 6: Répartition des patients selon la consommation du tabac	35
Tableau 7: Répartition des patients infertiles selon la durée de conduite	36
Tableau 8: Classification des patients en fonction d'utilisation des bains chauds	36
Tableau 9: classification des patients selon l'activité professionnelle.	37
Tableau 10: Classification des patients selon le type d'infertilité	38
Tableau 11: Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux	39
Tableau 12: Classification des patients en fonction des antécédents familiaux	40
Tableau 13: La moyenne des paramètres spermatiques des patients étudiés	41
Tableau 14: Répartition des patients selon les résultats du spermogramme.	42
Tableau 15: Distribution des cas en fonction de la tranche d'âge et des anomalies spermatiques.	43

Table des matières

	Page
Introduction	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre 1 : Généralités	
I. Définition.....	02
II. Epidémiologie.....	02
III. Type d'infertilité.....	03
1. Classification selon le type d'infertilité masculine	03
2. Classification physiologiques	04
2.1. Lieu d'anomalie	04
2.2. Obstructive /Non obstructive	04
3. Classification spermiologiques.....	04
4. Classification étiologique de l'infertilité masculine	04
IV. Causes d'infertilité masculine.....	04
1. Causes pré-testiculaires : cause endocriniennes.....	04
2. Causes testiculaire : insuffisance testiculaire.....	05
3. Cause post-testiculaire.....	05
4. Infertilité masculine idiopathique.....	05
V. Facteur de risque.....	05
Chapitre 2 : Physiologie de la reproduction	
I. Embryogénèse de l'appareil génital male	07
1. Le déterminisme testiculaire.....	07
2. La différenciation sexuelle	07
3. Système reproducteur male.....	08
3.1. Les organe sexuels male.....	08
II. Spermatogénèse.....	09

1. Contrôle neuroendocrinien de la reproduction.....	10
2. Contrôle génétiques.....	11
2.1 Les gènes.....	11

Chapitre 3 : Méthodes de diagnostic

I. Bilan Clinique d'un homme infertile.....	12
1.L'interrogatoire.....	12
2.L'examen Clinique.....	12
3.L'analyse du sperme.....	12
4.Bilan endocrinien.....	13
5.Autre examens paracliniques.....	13
6.Imagerie.....	13
7. L'évaluation génétique.....	13
8. Autres examens	13

Chapitre 4 : Infertilité masculine et génétique

I. Cause chromosomiques	15
1. Les anomalies de nombre.....	15
1.1 Le syndrome du Klinefelter (47, XXY)	15
1.2 Le syndrome du male 47, XXY « double Y ».....	16
1.3 Le syndrome du male XX	16
1.4 Mosaïque 45,XO/46 ,XY ou dysgénésie gonadique mixte.....	16
2. Les anomalies de structure	16
II. Les microdélétions du chromosome Y.....	16
1. Le chromosome Y.....	16
1.1 Structure.....	16
1.2 Type et catégorie des gènes	18
1.2.1 Gène SRY	18
1.2.2 Gènes ubiquitaire et gènes testiculaire sur le chromosome Y	18
1.2.3 Gènes candidats de la région AZF.....	18
III. Mutation génique	20
1. Le gène CFTR	21
2. Le gène KALIG-1(syndrome de Kallmann)	21
3. Le gène du récepteur aux androgènes.....	21
4. Le gène du récepteur de progestérone et d'œstrogène	22

5. Mutation du gène INSL3-LGR8.....	22
IV. Le polymorphisme	22
1. MTHFR	22
2. POLG	22
3. DAZL	23
4. FSHR	23
5. Récepteur d'œstrogène alpha (ER)	23
V. L'épigénétiques	23
1. ERO et les dommages d'ADN	23
VI. Anomalie mitochondriales.....	23

Chapitre 5 : Cancer et infertilité

I. Les microdélétions du Y.....	24
II. La Chimiothérapie.....	24
III. La radiothérapie	25
IV. Le traitement chirurgical.....	25

Chapitre 6 : Traitement et conseil génétique

I. Les médicaments.....	26
II. Chirurgie.....	26
1. Technique d'assistance médicale à la procréation.....	26
III. Le conseil génétique.....	27

PARTIE PRATIQUE

Patients et méthodes

1. Type d'étude.....	28
1.1 Population étudiée et échantillonnage	28
1.2 Considération éthiques.....	28
1.3 Recrutement des patients infertiles.....	28
1.3.1 Critères d'inclusion.....	28
1.3.2 Critères d'exclusion	28
1.4 Recrutement des témoins	28
1.4.1 Critères d'inclusion	28
1.5 Méthodes.....	29

1.5.1 Prélèvement sanguin	29
1.5.2 Extraction d'ADN.....	29
1.5.3 La PCR.....	29

Résultats et Discussion

I. Caractéristiques principales des patients.....	32
1. Répartition des patients selon l'âge.....	33
2. L'origine géographique.....	34
3. La consommation du tabac.....	35
4. Répartition des patients selon la durée de conduit.....	36
5. Bain chauds.....	36
6. Distribution selon l'activité professionnelle.....	37
7. Répartition des patients selon le type d'infertilité.....	38
8. Antécédents urogénitaux.....	39
9. Antécédents familiaux.....	40
10. Résultats de l'analyse spermatique.....	41
10.1. Répartition des patients en fonction des paramètres spermatiques.....	41
10.2. Fréquences des anomalies spermatiques.....	42
10.3. Répartition des patients en tranche d'âge selon le résultat du spermogramme.....	43
10.4. Répartition des patients fumeurs et non fumeurs en fonction des anomalies spermatique.....	44
II. Résultats de l'étude génétique.....	46
1. Arbre généalogiques des patients avec antécédents familiaux.....	46
2. Résultats de l'analyse moléculaire.....	49
2.1 Les microdélétions du chromosome Y	49
Conclusion et perspectives	53
Références bibliographiques	
Résumés	
Annexes	

Introduction

Longtemps, les difficultés pour obtenir une grossesse étaient spontanément attribuées aux femmes, alors que les études de population remplies dès les années 1980, a révélé que l'infertilité masculine est seule responsable de jusqu'à 20% de tous les couples infertiles et un pourcentage supplémentaire de 30-40% des couples ont un composant d'infertilité masculine (Lawrence et Chandrasekar, 2015). C'est pourquoi une évaluation du conjoint est toujours nécessaire. Le plus souvent, il s'agit d'une diminution du nombre et de la qualité des spermatozoïdes contenus dans l'éjaculat. La cause peut être pré, post ou testiculaire, d'origine chromosomique ou génétique, congénitale ou acquise. Il n'est cependant pas rare de ne pas trouver de cause évidente à une diminution de la qualité du sperme.

L'infertilité tel que défini par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et le Comité international pour la surveillance des soins de procréation assistée (ICMART) est : "une maladie du système reproducteur défini comme l'incapacité à parvenir à une grossesse clinique après 12 mois ou plus de rapports sexuels réguliers et non protégés" (Lawrence et Chandrasekar, 2015).

Un certain nombre de patients présente un défaut de spermatogénèse dont les causes (y compris les causes génétiques) demeurent largement inconnues. Les seuls tests génétiques pratiqués en routine correspondent à la recherche de micro délétions Yq et/ou d'anomalies chromosomiques. Différentes atteintes mono génique ou des défauts polygéniques ont également été impliqués dans la fertilité masculine. Cependant, leur implication causale reste souvent à démontrer. L'évolution et le développement récent des techniques de séquençage du génome entier peuvent aider à clarifier le rôle de ces gènes et d'autres facteurs génétiques impliqués dans la spermatogénèse (Lissens et al., 2014).

L'explosion actuelle de l'intérêt de la génétique pour la stérilité masculine a été déclenchée par deux découvertes : l'injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) comme traitement pour l'infertilité masculine et la présence des micros délétions de l'Y chez des hommes avec azoospermie sécrétoire ou oligospermie sévère.

Notre travail de recherche consiste à :

- Donner un aperçu de l'état actuel des connaissances sur les infertilités masculines et de répertorier les principaux gènes impliqués dans la spermatogénèse à travers une étude bibliographique.
- Rechercher d'éventuelles micro délétions au niveau du chromosome Y chez des patients avec un spermogramme anormal.

***Etude
bibliographique***

Chapitre 1 : Généralités

I. Définitions

De nombreuses définitions de l'infertilité ont été proposées : clinique, démographique, et épidémiologique. En grande partie, ces définitions placent un an de relations conjugales stables, sans enfants, comme la durée pendant laquelle un couple peut être considéré comme infertile (Ragab, 2014). Il est fréquent de trouver que l'infertilité est définie par d'autres durées, comme 2 ou 5 ans (Fasse et Niederberger, 2012).

L'infertilité peut être définie sur la base de considérations démographiques, comme «l'incapacité des personnes en âge de procréer (15-49 ans) pour devenir ou rester enceinte dans les 5 années d'exposition à la grossesse», ou comme «l'incapacité à devenir enceinte avec une naissance vivante, dans les 5 années d'exposition basées sur un statut d'union cohérente, le manque d'utilisation de contraceptifs, et de maintenir un désir d'enfant" (Turchi, 2015).

La fécondité représente le fait d'avoir obtenu un enfant, alors que la fertilité correspond à la capacité à en obtenir un, donc à une potentialité (Belaisch-Allart, 2011). Dans ce concept, le terme de "stérilité" est réservé à l'incapacité totale et définitive de concevoir à cause d'une étiologie évidente et non curable d'infertilité (orchidectomie bilatérale, obstruction tubulaire bilatérale, ou azoospermie définitive) (Khallouk et al, 2010) dont il ne devrait être utilisé qu'après la fin de la vie reproductive, pour les couples qui n'ont jamais réussi à concevoir (Belaisch-Allart, 2011).

II. Epidémiologie

L'infertilité masculine, qui touche environ la moitié des couples infertiles, correspond à une situation très hétérogène (Lissens et al, 2014).

Il est difficile d'estimer la prévalence de l'infertilité masculine dans la population générale, même en tenant compte de toutes les données et les études épidémiologiques disponibles aujourd'hui, nul ne peut définir l'incidence exacte de l'infertilité masculine. L'infertilité masculine peut varier considérablement en fonction des facteurs géographiques et de risques (Turchi, 2015),

La plupart des études conviennent que l'infertilité touche environ 15-20% de tous les couples (Turchi, 2015). En fait, seulement 3-5% des couples sont stériles (Fasse et Niederberger, 2012).

Selon Sharlip (2002), 50 % des cas d'infertilité sont dus à un facteur exclusivement féminin, les facteurs masculins représentent 20-30 % du problème, et le 20-30 % restant est

dû à une combinaison des deux facteurs masculins et féminins (Agarwal et al., 2015) ont utilisé le «facteur de Sharlip" comme une base pour les calculs, car il était le chiffre le plus largement cité et rapporté au sujet de l'infertilité masculine (Agarwal et al., 2015). En outre, le pourcentage d'hommes infertiles varie de 2,5 à 12% dans les pays suivants: Amérique du Nord, Moyen-Orient, l'Afrique subsaharienne, Europe, Australie, Europe centrale / orientale, l'Asie, l'Amérique latine et l'Afrique (Agarwal et al., 2015).

Et selon leurs résultats, au moins de 30 millions d'hommes dans le monde entier sont infertiles avec les taux les plus élevés en Afrique et en Europe de l'Est (Agarwal et al., 2015).

Les taux d'infertilité varient considérablement entre, et aussi à l'intérieur de ces pays: Iran 3-8% ; Royaume-Uni 2-26% ; la Chine 1-18%. Ces variations peuvent partiellement provenir des différences réelles dans la prévalence de l'infertilité chez les populations (Meng et al., 2015).

En Algérie, il n'y a pas de statistiques officielles, le Pr Mohamed Bouzekrini, président de la société algérienne de fertilité et de contraception (Safec), a estimé que le taux d'infertilité en Algérie se situe aux environs de 15 % (Le Midi Libre, 2012), et selon professeur Belkacem Chafi, chef du service gynécologique et obstétrique de l'EHU d'Oran, l'infertilité masculine représente 65% contre 40% en moyenne au niveau mondial (El Watan., 2011).

En Tunisie, l'infertilité touche 15 % de couples (Global net., 2009), et 17% de couples marocains souffrent d'infertilité" (maghress., 2009).

III. Types d'infertilité

Il existe de nombreuses classifications de l'infertilité masculine en fonction d'un certain nombre de variables, y compris: l'emplacement de l'anomalie causant l'infertilité, les anomalies constatées sur les paramètres de sperme, l'infertilité primaire ou secondaire, anomalies obstructives ou non obstructives (Lawrence et Chandrasekar, 2015).

1. Classification selon le type d'infertilité masculine :

La classification la plus commune est l'infertilité primaire et secondaire. L'infertilité masculine primaire est définie comme l'infertilité chez les hommes qui n'ont jamais été en mesure de concevoir un enfant. En revanche, l'infertilité masculine secondaire décrit les hommes qui ont déjà conçu un enfant sans techniques de procréation assistée, mais maintenant sont incapable de parvenir à une grossesse réussie (Lawrence et Chandrasekar, 2015).

2. Classifications physiopathologiques

2.1 Lieu d'anomalie :

Les positions des anomalies qui causent l'infertilité masculine sont subdivisées en:

- **Pré-testiculaire** : stimulation insuffisante du testicule par gonadotrophine (5–10 %),
- **Testiculaire** : les maladies du testicule (65–75 %),
- **Et Post-testiculaire** obstruction des voies séminales, les troubles de l'éjaculation, dysfonction érectile (10–20 %) (Lawrence et Chandrasekar, 2015) (Turchi , 2015).

2.2 Obstructive / Non-obstructive

L'importance de cette classification réside dans sa valeur pronostic et la capacité à définir ensuite la gestion ultérieure pour le patient (Lawrence et Chandrasekar, 2015).

2.2.1 L'obstruction acquise:

Elle est surtout de nature infectieuse (infections sexuellement transmissibles, tuberculose génitale ...), traumatique, tumorale (obstructions des canaux éjaculateurs) ou iatrogène (chirurgie de la hernie, varicocèle, hydrocèle) (Khallouk et al., 2010).

3. Classifications spermologiques

Les anomalies spermatiques peuvent être: oligozoospermie, asthénozoospermie, ou tératozoospermie, seule ou en combinaison (Lawrence et Chandrasekar, 2015).

La classification selon les paramètres spermatiques ne contribue pas à accroître les connaissances sur l'étiologie (Turchi, 2015).

4. Classification étiologique d'infertilité masculine

Les étiologies sont multiples et souvent plurifactorielles. À l'issue d'un bilan complet, peuvent parfois être identifiées des causes physiques, toxiques, infectieuses, immunologiques, anatomiques, endocriniennes, iatrogènes, sexuelles, cytogénétiques ou géniques. Cependant, une étiologie n'est retrouvée que dans environ 35 à 60 % des cas (Levy et al., 2010).

IV. Causes d'infertilité masculine

Les causes d'infertilité masculine sont nombreuses et multifactorielles (Coutton et al., 2012).

1. Causes pré-testiculaires: causes endocriniennes.

Les conditions qui agissent au niveau pré-testiculaire ont tendance à être de nature hormonale, insuffisance hypothalamo-hypophysaire (taux faible de LH et FSH) (Dohle, 2015),

2. Causes testiculaires: insuffisance testiculaire.

La cause la plus commune de l'infertilité masculine est un dysfonctionnement testiculaire. Ce dysfonctionnement peut être d'origine congénitale ou acquise plus tard dans la vie (Dohle, 2015). Les causes au niveau des testicules sont en grande partie irréversibles, mais peuvent être traitées avec la technologie de reproduction assistée (ART), si le sperme est récupérable (Karavolos et al., 2013)

2. Causes post-testiculaires :

Elles représentent l'ensemble des problèmes qui empêchent le cheminement des spermatozoïdes dans les voies génitales de l'homme (Khallouk et al., 2010). Les causes post-testiculaires peuvent être traitées avec la microchirurgie ou avec ART. Il est estimé que dans environ 50% des hommes ayant une mauvaise qualité du sperme, aucune cause ne sera identifiée (Karavolos et al., 2013).

3. Infertilité masculine idiopathique

Malheureusement, dans près de (30 – 40 %) (Dohle, 2015) des hommes infertiles, il est impossible de trouver une cause d'infertilité, et cette situation a été définie comme inexplicée ou idiopathique (Iammarrone et al., 2003)

Toutefois, dans ce groupe d'hommes, une modification des paramètres du sperme est souvent présente, comme une diminution de la concentration du sperme, mobilité réduite, et anomalies morphologiques (Iammarrone et al., 2003).

De nombreuses modifications des spermatozoïdes présentes dans l'infertilité idiopathique ont été récemment associées à une altération des processus de maturation des spermatozoïdes et, en particulier, à la présence de taux élevés d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Iammarrone et al., 2003).

V. Facteurs de risque

Les principaux facteurs de risque associés à l'infertilité masculine (Turchi, 2015)

- Age
- Mode de vie (consommation excessive de tabac, d'alcool, l'obésité, stress sévère, conduite prolongée.
- la température élevée (fièvre, l'exposition professionnelle à la chaleur, sauna régulière).
- Antécédents familiaux de l'infertilité.

- expositions professionnelle ou environnementale à certains produits chimiques.

Les expositions professionnelles à certains produits chimiques peuvent altérer, également la qualité du sperme. Plus de 104 000 de ces agents chimiques et physiques ont été identifiés: la chaleur, Rayons X, les métaux lourds (plomb, mercure), éthers de glycol (des composés très volatils utilisés comme solvants), et les pesticides. (Karavolos et al., 2013).

Chapitre 2 : Physiologie de la reproduction

I. Embryogénèse de l'appareil génital male

La première étape dans la mise en place de la fertilité d'un organisme supérieur est la détermination de l'identité sexuelle, qui est finalement déterminé par les chromosomes sexuels (Matzuk et al., 2008). Le développement de l'appareil génital et des organes sexuels secondaires dépend de la présence d'un testicule (Matzuk et al., 2008).

1. Le déterminisme testiculaire :

Le déterminisme testiculaire, c'est-à-dire l'orientation de la gonade indifférenciée vers le testicule pendant la vie embryonnaire, est sous la dépendance du facteur de détermination testiculaire ou TDF (testis determining factor), codé par le gène SRY, qui gouverne la cascade d'activation et/ou de répression géniques aboutissant à la différenciation du testicule, du tractus génital mâle et des organes génitaux externes ainsi qu'à la régression des structures mülleriennes (Chantot-Bastaraud et al., 2007). La présence du gène SRY induit la différenciation de cellule précurseur en cellules de Sertoli lesquelles vont exprimer l'hormone anti-müllérienne (AMH) (Drouin ,2007).

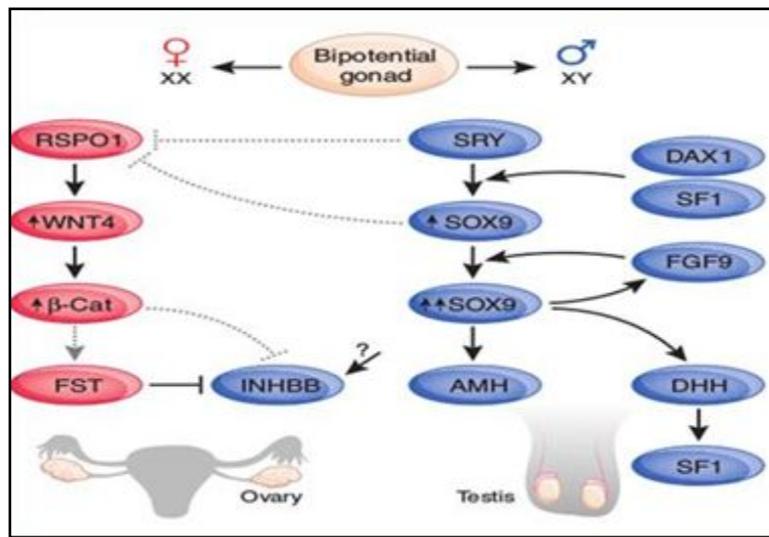


Figure 1 : Voie moléculaire simple pour la détermination du sexe dans les gonades des mammifères (Matzuk et al., 2008).

2. La différenciation sexuelle

La production de l'hormone testiculaire prénatal anti-müllérienne (AMH) par les cellules de Sertoli, agissant par l'intermédiaire de son récepteur AMHR2, induit la régression des structures mülleriennes – les trompes de Fallope, l'utérus et la partie supérieure du vagin – et induit la production de testostérone par les cellules de Leydig. Les cellules de

Leydig se différencieraient suites aux messages des cellules de Sertoli. La testostérone induit la formation des structures sexuelles mâles internes, comme l'épididyme, les canaux déférents, les vésicules séminales et le canal éjaculateur (Matzuk et al., 2008), La production de dihydrotestostérone induit la formation du pénis, des testicules, de la prostate et de l'urètre (Drouin et al., 2007). La sécrétion de l'hormone insulin-like 3 par les cellules de Leydig cause la descente des testicules (Drouin et al., 2007) Le développement de sexe masculin prénatale est enfin terminé à terme en descente des testicules dans le scrotum (Ahmed et Hughes, 2002).

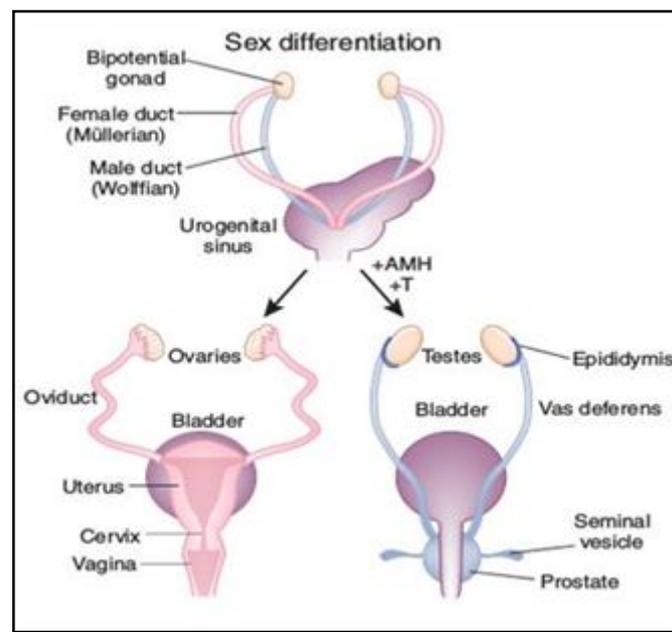


Figure 2 : La différenciation sexuelle chez les humains (Matzuk et al., 2008).

3. Système reproducteur mâle

3.1 Les organes sexuels mâle

Les organes sexuels mâles se composent de:

- Deux testicules
- Deux conduits excréteurs (épididyme, canal déférent),
- Les glandes accessoires (deux vésicules séminales, une prostate, deux glandes bulbo-urétrales),
- Canal éjaculateur, l'urètre et le pénis. (Godwin, 2001).

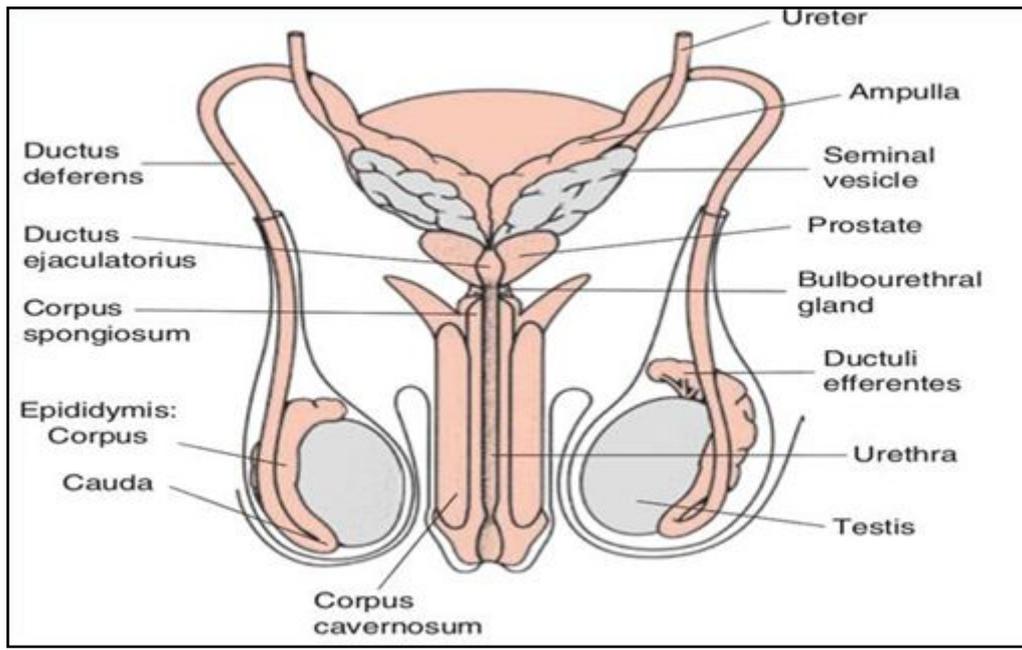


Figure 3 : Schéma morphologique de l'appareil génital masculin (Cooper et Yeung, 2010).

II. Spermatogenèse.

Le terme "spermatogenèse» décrit le développement du gamète mâle dans l'épithélium du tube séminifère à partir de spermatogonies diploïde, avoir des contacts avec la lame basale, jusqu'à la libération de cellules germinales haploïdes différenciées dans la lumière du tube séminifère (Bergmann et Kliesch, 2010).

Chez les êtres humains, le processus de la spermatogenèse commence à la puberté et se poursuit pendant toute la durée de vie de l'individu (Sharma et Agarwal, 2011). La durée du cycle de la spermatogenèse est constante, de l'ordre de 74 jours (Khallouk et al., 2010).

Le processus de formation des spermatozoïdes peut être divisé en trois composantes distinctes:

- **La spermatogenèse** : la formation de spermatozoïdes qui ont subi des première et deuxième divisions méiotiques,
- **Spermiogenèse** : pendant laquelle les spermatozoïdes subissent un changement morphologique, et la
- **Spermiation** : la libération des spermatides dans la lumière des tubules séminifères (Bronson, 2011).

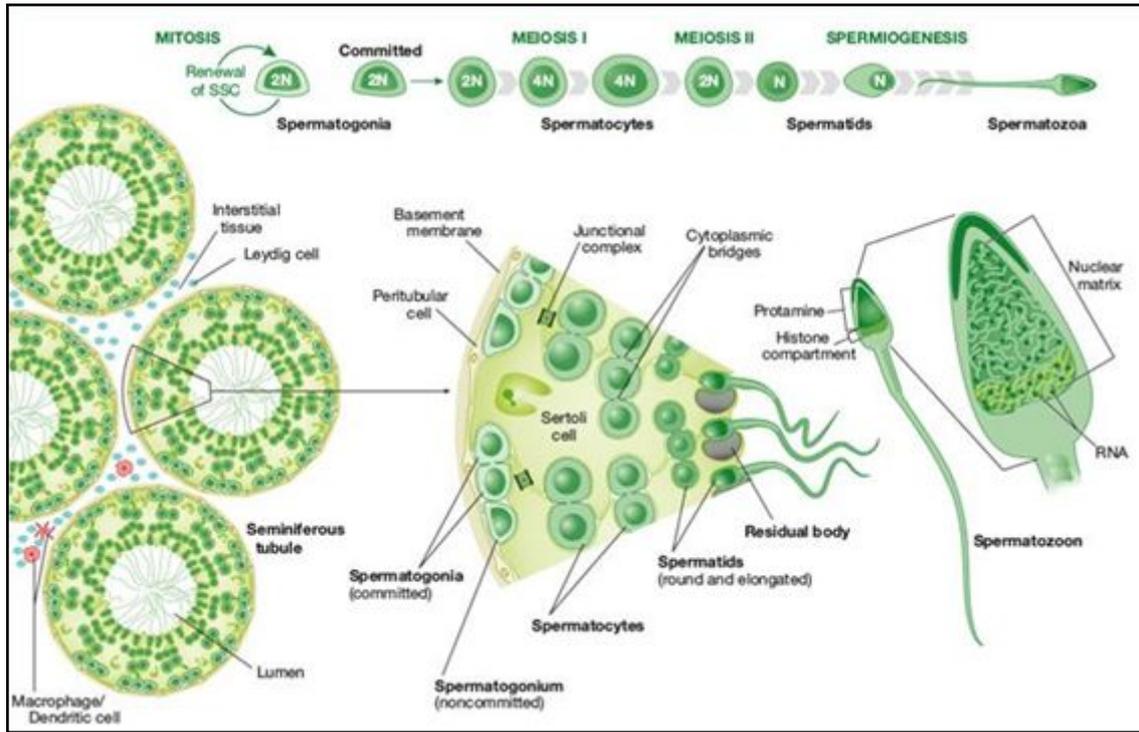


Figure 4 : La spermatogenèse et organisation du génome de spermatozoïdes (Krawetz et al., 2009)

1. Contrôle neuroendocrinien de la reproduction

Les fonctions principales des testicules sont la production d'androgènes et le développement des gamètes qui sont réglementés par l'hypothalamus et l'hypophyse par l'intermédiaire de GnRH et de gonadotrophines. Surtout, le circuit hypothalamo-hypophysaire est soumis à la réglementation de rétroaction négative médiée par des facteurs testiculaires (Weinbauer et al., 2010).

Deux hormones sont indispensables pour la production des spermatozoïdes, la follicle-stimulating hormone (FSH), l'hormone lutéinisante (LH) et la testostérone intratesticulaire (Khallouk et al., 2010).

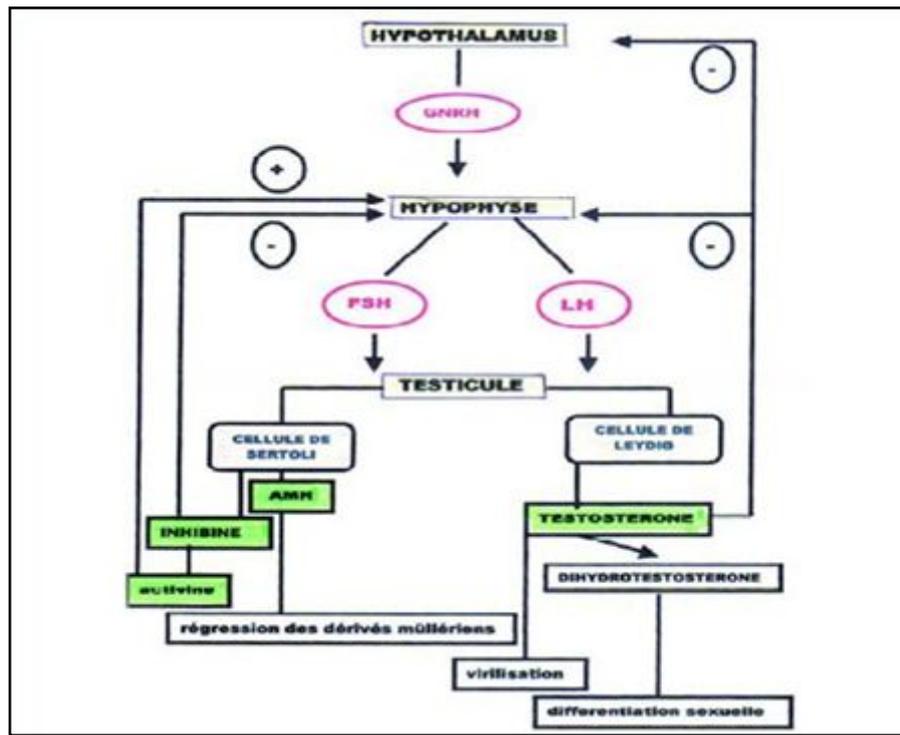


Figure 5 : contrôle neuro-endocrinien de la spermatogénèse (Khallouk et al., 2010)

2. Contrôle génétiques.

La spermatogénèse humaine est un processus complexe faisant intervenir plus de 4 000 gènes (Levy et al., 2010).

2.1. Les gènes

300 à 600 sont spécifiquement exprimés dans les cellules germinales masculines (Coutton et al., 2012). La plupart de ceux-ci étant présents sur les autosomes, mais il ya environ 30 gènes sur le chromosome Y (Hargreave, 2000) (Annexe I).

Les principaux gènes impliqués dans le contrôle de la spermatogénèse sont :

- Le gène SRY.
- Les gènes de la région AZF.
- Le gène du récepteur aux androgènes.
- Les gènes INSL3-LGR8.
- Le gène du récepteur d'Œstrogènes.
- Le gène du récepteur de progestérone.

Chapitre 3 : Méthodes de diagnostic

I. Bilan clinique d'un homme infertile

Dans de nombreuses cliniques de fertilité aujourd'hui, l'évaluation clinique de l'homme peut être superficielle et limitée à une évaluation de la présence ou l'absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat avant de passer à un traitement avec une technologie de reproduction assistée (Matzuk et al., 2008).

L'évaluation du partenaire masculin comprend un historique détaillé et un examen physique, des analyses de sperme (spermogramme), l'évaluation hormonale et génétique, et des tests de sperme spécialisés selon les besoins (Samplaski et al., 2010).

1. L'interrogatoire

C'est une étape fondamentale du diagnostic car l'interrogatoire fournit la moitié des éléments d'orientation lorsqu'il est conduit avec attention (Khallouk et al., 2010).

Il permet de préciser :

- Les expositions professionnelles : chaleur, radiation, toxiques chimique ;
- Les habitudes toxiques : tabac, éthylisme chronique, stupéfiants ;
- La nature de l'infertilité : primaire ou secondaire (paternité antérieure) ;
- La durée de l'infertilité et les résultats d'éventuels explorations et traitements entrepris ;
- L'âge de la partenaire ;
- Les antécédents chirurgicaux : ectopie testiculaire, cure d'hernie, varicocèle, traumatisme,
- Les antécédents médicaux : orchite ourlienne, orchi-épididymites, urétrites, radiothérapie, chimiothérapie,...
- Les antécédents familiaux d'infertilité pouvant orienter vers une cause génétique (Khallouk et al., 2010).

2. L'examen clinique

L'examen clinique peut détecter la présence anormale des organes génitaux (hypospadias, testicules atrophiques et la varicocèle) (Iammarrone et al., 2003).

3. L'analyse du sperme (bilan paracliniques de première intention)

L'infertilité d'origine masculine est presque toujours marquée par des anomalies spermatiques (Khallouk et al., 2010). Le spermogramme est l'examen biologique de référence pour identifier la cause d'infertilité (Khallouk et al., 2010).

Les principaux paramètres spermatiques à étudier sont la numération des spermatozoïdes, leur mobilité et leur morphologie (Khallouk et al., 2010) (Annexe II).

4. Bilan endocrinien

Il est réalisé en cas d'azoospermie, d'oligo-asthénospermie sévère (<5 millions/ml), de troubles de l'érection avec baisse de libido ou de signes cliniques d'endocrinopathie (Khallouk et al., 2010). L'évaluation minimale comporte un dosage sérique de la FSH et de la testostérone plasmatique.

- Dans les azoospermies et les oligospermies sévères, un taux élevé de la FSH est significatif d'une anomalie de production des spermatozoïdes par les testicules, c'est-à-dire d'une origine non obstructive (sécrétoire) (Khallouk et al., 2010).

- En cas de testostérone basse, il faut réaliser un dosage de LH et de prolactine (qui peut altérer la production des gonadotrophines et de la testostérone) (Khallouk et al., 2010).

Azoospermie en combinaison avec des taux normaux d'hormones suggère une cause obstructive (Karavolos et al., 2013).

5. Autres examens paracliniques

- Spermoculture.
- Recherche d'une éjaculation rétrograde.
- Test post-coïtal de hühner.
- Bilan d'auto-immunisation des spermatozoïdes.
- Biochimie du plasma séminal.

6. Imagerie (échographie des voies génitales)

7. L'évaluation génétique

Un caryotype est indiqué en cas d'oligospermie sévère ou azoospermie parce que ces hommes sont à risque accru d'anomalies numérique ou structurelle surtout des chromosomes sexuels (Karavolos et al., 2013) et pour les microdélétions du chromosome Y (Iammarrone et al., 2003).

8. Autres examens:

- Biopsie testiculaire
- Tests Leukocytospermia (Quantification des leucocytes séminaux)

- Signaux chimioluminescents.
- Test de dommages à l'ADN des spermatozoïdes.
- La technologie des bio puces/Les puces.

Chapitre 4 : Infertilité masculine et génétique

La base génétique de l'infertilité masculine est très hétérogène chez l'homme (Cram et al., 2001).

Les facteurs génétiques de l'infertilité masculine peuvent être chromosomiques ou géniques, autosomiques ou gonosomiques, à effet pléiotropique ou limité à la lignée germinale. Ces anomalies surviennent presque toujours de novo et, du fait de l'infertilité, ne sont en général pas transmises à la descendance. Néanmoins, certains cas peuvent apparaître familiaux ou s'intégrer dans une maladie héréditaire dont une des caractéristiques cliniques est le retentissement sur le fonctionnement normal de la lignée germinale mâle (Levy et al., 2010).

Les causes génétiques représentent 10-15% de l'infertilité masculine sévère, y compris des aberrations chromosomiques et des mutations géniques simples (Ferlin et al., 2006).

Un bilan clinique complet permet d'attribuer environ 30 % des cas d'azoospermies et d'oligozoospermies à des anomalies chromosomiques ou à des mutations géniques touchant des gènes intervenant dans la production ou la fonction de cellules germinales (spermatogénèse) (Annexe III). Par ailleurs, 30 % des infertilités restent inexplicables et près de 40 % ont des causes incertaines (Coutton et al., 2012).

Les deux causes génétiques les plus fréquemment observées de l'infertilité masculine sont :

- Les aberrations chromosomiques
- Les microdélétions de l'Yq (Lissens et al., 2014).

I. Les causes chromosomiques :

6 à 13% des hommes infertiles ont des anomalies chromosomiques sur leur caryotype (Khallouk et al., 2010).

Une anomalie chromosomique est retrouvée chez 6 à 13 % des hommes présentant une azoospermie, soit 21 fois plus que dans la population générale. Dans 93 % des cas, il s'agit d'anomalies des chromosomes sexuels. (Levy et al., 2010).

1. Les anomalies de nombre :

Sur la population masculine infertile, 5,8% ont une anomalie chromosomique explicative : 4,2% concerne les gonosomes et 1,5% les autosomes (Wallerand et al., 2003).

1.1 Le syndrome de Klinefelter (47, XXY) :

Le syndrome de Klinefelter 47, XXY est l'anomalie chromosomique du nombre la plus fréquente concernant les chromosomes sexuels chez l'homme infertile. Le caryotype de ces individus est une dysgonosomie: homogène 47, XXY dans 90 % des cas ou en mosaïque dans

10 % des cas (47, XXY/46, XY ou 48, XXXY, ou toute anomalie cytogénétique par surreprésentation du chromosome X alors qu'un chromosome Y est présent) (Levy et al., 2010).

Les syndromes de Klinefelter proviennent d'une non disjonction méiotique dans 97 % des cas soit d'origine paternelle (53 %), soit d'origine maternelle (44 % dont 34 % lors de la première division et 10 % lors de la seconde division). Dans les 3 % restants, il s'agit d'une erreur de division mitotique (Levy et al., 2010).

1.2 Le syndrome du mâle 47, XYY « double Y »

Le caryotype 47,XYY est la seconde aneuploïdie des chromosomes sexuels : sa fréquence est quatre fois plus élevée dans la population des hommes infertiles que dans la population générale. Il touche un à quatre hommes sur 1 000 (Levy et al., 2010).

1.3 Le syndrome du mâle XX :

Chez les hommes azoospermiques, il est également possible de trouver un caryotype 46, XX, bien que moins fréquente que le syndrome de Klinefelter (Lissens et al., 2014) avec une fréquence de 0,9 % (environ un individu sur 20 000) (Levy et al., 2010).

Dans la plupart des cas (90 %), le gène SRY est transloqués sur le chromosome X, mais ces hommes XX, SRY + présentent systématiquement une infertilité liée à une azoospermie et à une atrophie testiculaire avec hyalinisation des tubes séminifères (Levy et al., 2010). Dans de rares cas, il s'agit d'hommes XX, SRY – sans ambiguïté sexuelle : on suppose alors une mutation d'un gène impliqué dans la détermination sexuelle autosomique (Levy et al., 2010).

1.4 Mosaïque 45, XO/46, XY ou dysgénésie gonadique mixte

La plupart des individus porteurs sont stériles (Thielemans et al., 1998).

2. Les anomalies de structure :

Tous les types de remaniements chromosomiques ont été décrits dans les infertilités, que ce soient les translocations robertsonniennes, réciproques ou plus rarement les inversions et les insertions chromosomiques (Levy et al., 2010).

II. Les microdélétions du chromosome Y :

1. Le chromosome Y

Le chromosome Y humain est le plus petit chromosome, ne représente que 2% -3% du génome haploïde et est d'environ 60 Mb de longueur (Quintana-Murci et al., 2001).

1.1 Structure :

Le chromosome Y acrocentrique peut être divisé en deux territoires génomiques: l'une correspondant à un pseudoautosomale régions (PARs), l'autre est désigné comme la région

spécifique mâle du Y (MSY) (Navarro-Costa, 2012). Les régions pseudoautosomales (PARs) représentent 5% de l'ensemble du chromosome Y, les 95% restants font partie de la région non recombinante "non-Recombining Y" (NRY) (Quintana-Murci et Fellous, 2001).

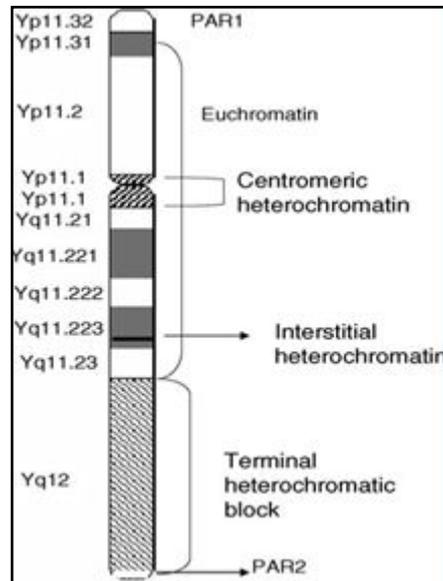


Figure 6: Chromosome Y en bandes G. Emplacement chromosomique de PAR1, PAR2, euchromatine, régions d'hétérochromatine interstitielles et terminales (Bianchi et al., 2006).

La partie fonctionnelle ou euchromatine de MSY s'étend sur environ 23 méga bases, à la fois sur le bras court et la partie proximale du bras long, ce qui représente un peu moins de 1 % du génome humain (Chantot-Bastaraud et al., 2007) (Annexe IV). Trois classes de séquences dans l'euchromatine MSY.

Le séquençage du chromosome Y a permis de préciser la structure moléculaire de cette région et trois types de séquences particulières.

- une région « X-transposée » de 3,4Mb
- Le deuxième type: séquences « X-dégénérées », présentes à la fois sur le bras court et le bras long, et qui s'étendent sur 8,5 Mb.
- le dernier type de séquences d'« amplicons », c'est-à-dire de larges segments d'ADN répétés avec une grande homologie le long du chromosome (Chantot-Bastaraud et al., 2007).

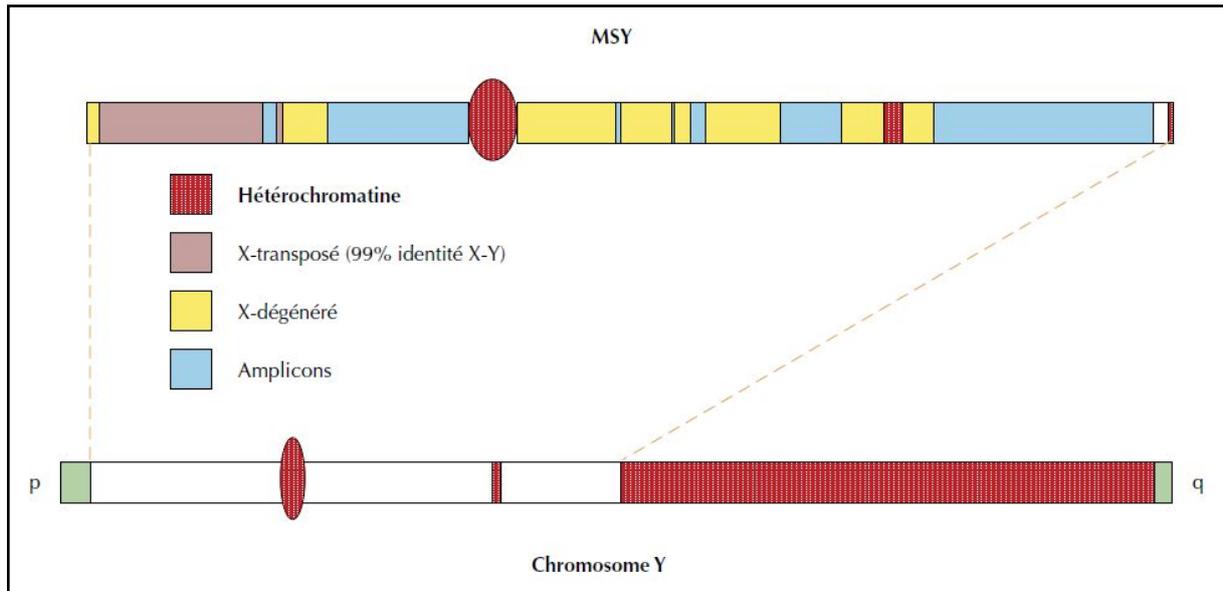


Figure 7 : La structure du chromosome Y traduit son origine commune avec l’x et la partie male spécifique (MSY) (Chantot-Bastarud et al., 2007).

1.2 Types et catégories des gènes

1.2.1 Gène SRY :

La découverte, en 1990 et 1991 du gène SRY (sex determining region of the chromosome Y), à l’issue d’une intense compétition internationale, levait enfin le voile sur le secret de la transformation de la gonade fœtale indifférenciée des mammifères en testicule lorsque SRY est exprimé par les cellules de Sertoli (Jégou, 2012).

Des mutations dans ce gène donnent lieu à des femelles XY avec dysgénésie gonadique (un type de syndrome Swyer) et translocation d’une partie du Y contenant ce gène au chromosome X conduit à phénotype mâle avec une formule chromosomique XX (Sher et Sayed, 2002).

1.2.2 Gènes ubiquitaires et gènes testiculaires sur le chromosome Y

Entre 15 et 20 gènes essentiels à la spermatogénèse sont localisés sur la portion non recombinante de l’Yq. Ils sont divisés en 2 catégories : d’un côté les **gènes ubiquitaires** possédant un homologue sur le chromosome X (Wallerand et al., 2003), et d’un autre côté, les gènes dits “**testiculaires**” (Wallerand et al., 2003).

1.2.3 Gènes candidats de la région AZF

Les régions AZF, situé dans le locus Yq11, regroupent de nombreux gènes impliqués dans l’infertilité masculine (Khallouk et al., 2010).

Tiepolo et Zuffardi (1976) sont les premiers qui ont supposé la présence d’un facteur de contrôle de la spermatogénèse AZF (azoospermia factor), grâce à la découverte des délétions

grossières sur le bras long du chromosome Y dans 0,6% des azoospermies non-obstructives. Ce facteur AZF est subdivisé en trois loci différents, AZFa, AZFb et AZFc (Siffroi, 2010). Les trois régions AZF contiennent au total 31 gènes exprimés dans le testicule dont seulement 14 ont une fonction connue ou supposée d'après leur séquence (Ravel et Siffroi, 2009)

- **La région AZFa**

Le locus AZFa possède une taille comprise entre 1 et 3 Mb et se compose de quatre gènes de copie unique, USP9Y (spécifique de l'ubiquitine protéase 9, chromosome Y), DBY/DDX3Y (boîte Morte sur Y), UTY (TPR omniprésente motif sur Y) et TB4Y (Ghorbian, 2012).

- **La région AZFb**

Le locus AZFb a une taille estimée entre 1 et 3 Mb. Il comprend 5 familles de gènes: SMCY (Selected mouse cDNA, Y chromosome), CDY (Chromodomain protein, Y chromosome), EIF1AY (Eucaryotic translation initiation factor 1A, Y chromosome), XKRY (XK-related protein, Y chromosome), et surtout RBMY (RNA binding protein). (Wallernad et al., 2003). Les délétions dans la région AZFb sont plus fréquentes que la région AZFa (Ghorbian, 2012).

- **La région AZFc**

Le locus AZFc a une taille approximative de 4,5 Mb (Wallernad et al., 2003). C'est dans cette région AZFc que se situent plusieurs gènes candidats de la fertilité masculine, 11 unités transcriptionnelles préférentiellement exprimées dans la gonade sont retrouvées dans ce locus, incluant notamment 3 copies de BPY2 (basic protein on Y chromosome, 2), 2 copies de CDY1 (CDY1a et CDY1b; chromodomain protein, Y chromosome 1) et 4 copies du gène DAZ (deleted in azoospermia) (Chantot-Bastaraud et al., 2007).

La prévalence des microdélétions du chromosome Y est estimée entre 8 et 12 % chez les patients porteurs d'un déficit sévère de la spermatogenèse (azoospermie non-obstructive et sévère oligozoospermie) (Coutton et al., 2012), dont la probabilité de trouver une délétion de l'Y est plus importante chez les patients azoospermiques que chez les oligozoospermiques et cela d'autant plus que l'infertilité est idiopathique (Siffroi et al., 2000).

Une délétion AZF est liée à la taille des éléments répétés où se font les recombinaisons homologues non alléliques. Ainsi, les délétions AZFc sont les plus fréquentes (Ravel et Siffroi, 2009). Les microdélétions se retrouvent surtout au niveau de la région AZFc ou AZFc + AZFb (75% des microdélétions), les microdélétions AZFa sont plus rares et représentent

moins de 5% des cas (Drouin ,2007)

Une délétion proximale de AZFa + AZFb provoque des troubles sévères de la spermatogénèse avec une haute prévalence à l'histologie de syndrome de cellules de Sertoli seules (S.C.O. : Sertoli Only Cells) alors que les délétions distales impliquant AZFb + AZFc sont compatibles avec une spermatogénèse résiduelle (Wallerand et al., 2003)(Annexe V).

La recherche d'une microdélétion peut être proposée aux hommes qui ont une azoospermie non obstructive ou une oligospermie sévère avant la réalisation d'une fécondation par injection intra cytoplasmique du spermatozoïde (ICSI) (Khallouk et al., 2010)

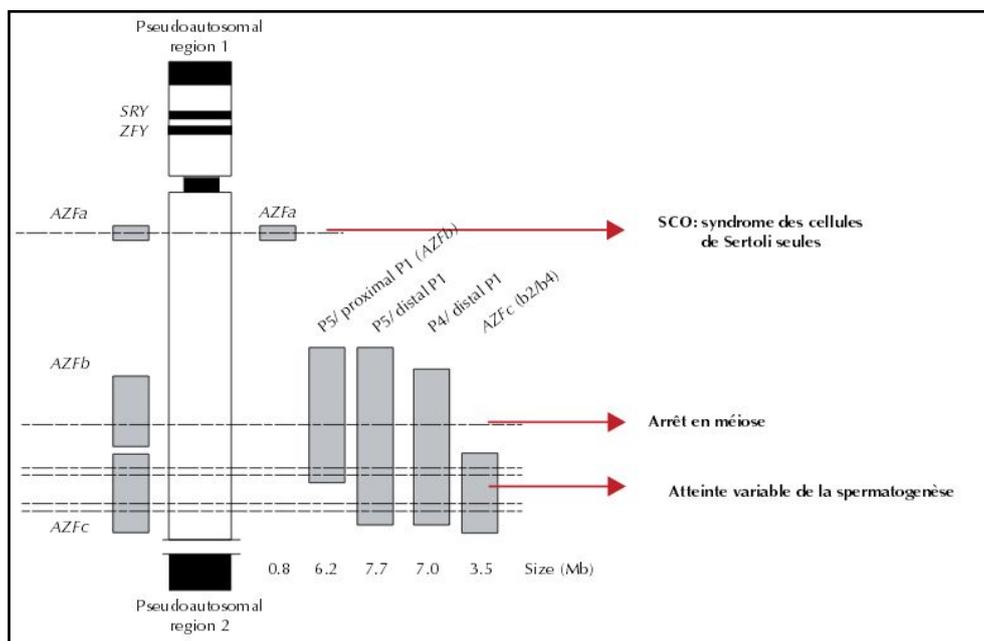


Figure 8 : Localisation et rapports génotype-phénotype des délétions complète des région AZF (Chantot-Bastaraud et al., 2007)

III. Mutations géniques

Beaucoup d'hommes souffrant d'infertilité masculine sévère abritent aussi dans leurs gènes des mutations géniques qui peuvent non seulement être la cause de leurs troubles de la reproduction, mais aussi peuvent affecter d'autres fonctions somatiques (Thielemans et al., 1998)(Annexe VI).

Des études récentes suggèrent une incidence accrue de troubles de l'infertilité masculine liés à des mutations géniques qui peuvent affecter différents niveaux, en interférant avec la production des cellules germinales et la maturation ou conduisant à la production de spermatozoïdes non fonctionnels (Iammarrone et al., 2003).

L'augmentation des cas au sein d'une même fratrie et l'étude des modèles animaux ayant un

phénotype d'infertilité suggèrent l'implication importante de la composante génétique dans les infertilités inexplicables (Coutton et al, 2012) (Annexe VII).

Plusieurs centaines de gènes sont nécessaires pour le développement normal sexuel, la détermination des testicules, la descente des testicules, et la spermatogenèse (Ferlin et al., 2006)(Annexe VIII). Cependant, seulement quelques-uns d'entre eux ont une importance clinique de routine. Ceux-ci comprennent :

1. Le gène CFTR:

Le gène CFTR est localisé dans la région chromosomique q31.2 du bras long du chromosome 7. Plus de 1 500 mutations germinales ont déjà été décrites ainsi que plus de 225 variations de séquence. Les mutations du gène CFTR ont été premièrement décrites en association avec la mucoviscidose. D'autres associations de mutations du gène CFTR ont été décrites sans tableau clinique de mucoviscidose, mais induisant une absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) sans anomalies urogénitales associées (Levy et al., 2010). Dans d'autres cas, des mutations du gène CFTR isolées peuvent induire un tableau clinique limité à un trouble sévère de la spermatogenèse, très probablement par altération de la sécrétion d'électrolytes et d'eau par l'épithélium épидидymaire (Levy et al., 2010).

2. Le gène KALIG-1

Syndrome de Kallmann :

Des mutations dans le gène KALIG-1 sont responsables du syndrome de Kallmann. Il s'agit d'une maladie génétique du développement embryonnaire caractérisée par un hypogonadisme hypogonadotrophique isolé et anosmie et peuvent avoir d'autres caractéristiques cliniques, y compris l'ectopie testiculaire, les anomalies rénales, la cryptorchidie, micropénis (Hargreave, 2000). Deux modes de transmission multiples sont observés, une forme récessive liée à l'X et une forme autosomique dominante. (Thielemans et al., 1998).

3. Le gène du récepteur aux androgènes

Les androgènes et le récepteur d'androgène fonctionnel (AR) sont essentiels pour le développement et la maintenance du phénotype masculin et la spermatogenèse (Ferlin et al., 2006). Des mutations dans le gène AR provoquent une variété de défauts connus collectivement sous le syndrome d'insensibilité aux androgènes (AIS). Les patients avec une légère AIS (MAIS) ont une infertilité masculine que leurs symptômes primaires ou même seul (Ferlin et al, 2006)

4. Le gène du récepteur de progestérone et d'œstrogène

Dans une autre étude menée sur le récepteur à la progestérone, il a été montré que les protéines tronquée (PR-A) et normale (PR-B) sont toutes les deux exprimés dans le tissu testiculaire normal et celui montrant un arrêt de maturation des cellules germinales (Wallerand et al., 2003).

D'autre part, le récepteur aux œstrogènes est faiblement exprimé dans le tissu testiculaire montrant un arrêt de la maturation, et fortement dans le syndrome de Sertoli seules (Wallerand et al., 2003)

5. Mutations du gène INSL3-LGR8

Insulin-like factor 3 (INSL3), aussi connu comme facteur de relaxine (RLF) est un membre de la famille de l'hormone relaxine produite par les cellules de Leydig (Ferlin et al., 2006). Une revue de la littérature a trouvé une prévalence des mutations de 4-5% chez les hommes atteints de cryptorchidie ou ex-cryptorchidie (Ferlin et al, 2006). Mis à part le rôle dans la descente des testicules et de la cryptorchidie, INSL3 a donc possible endocrinien importante non encore identifié et les actions paracrines chez les adultes, et la carence de cette hormone peut représenter un signe important de l'hypogonadisme fonctionnel (Ferlin et al, 2006).

IV. Le polymorphisme :

L'analyse des polymorphismes de gènes impliqués dans la spermatogenèse représente l'un des domaines les plus dynamiques de la recherche en génétique de l'infertilité masculine. Plusieurs variantes polymorphes ont été décrites en liaison avec l'infertilité masculine (Ferlin et al., 2006). Parmi les polymorphismes

1. MTHFR

L'enzyme 5-Méthylène Tétra Hydro Folate Reductase (MTHFR) est impliquée dans la conversion de l'homocystéine en méthionine (Ferlin et al., 2006). Une mutation ponctuelle dans sa région codante (C677T) diminue l'activité de l'enzyme d'environ 30% chez les hétérozygotes (CT) et 80% chez les homozygotes (TT) (Ferlin et al, 2006)

2. POLG

ADN polymérase gamma est responsable de la réplication et de la réparation du génome mitochondrial. Des mutations dans le gène de la sous-unité catalytique (POLG) ont été montrées pour être une cause fréquente de maladies mitochondriales. Les premières études ont suggéré que la modification de la répétition CAG pourrait être associée à une perte de la qualité du sperme et de contribuer à 5-10% des cas d'infertilité mâle dans la population

européenne (Ferlin et al., 2006)

3. DAZL

DAZL est un homologue du gène autosomique DAZ Y en alternance, et il est exprimé dans les cellules germinales où il code pour une protéine de liaison d'ARN. Deux polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) dans l'exon 2 (A260G) et l'exon 3 (A386G) dans le gène DAZL ont été rapportés (Ferlin et al., 2006).

4. FSHR

L'interaction entre la FSH et récepteur de la FSH (FSHR) est essentielle pour l'ovogenèse et la spermatogenèse normale. Récemment, des polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) ont été assignés au gène FSHR (Ferlin et al., 2006).

5. Récepteur d'œstrogène alpha (ER)

La réponse physiologique à une médiation par les œstrogènes sont au moins deux isoformes fonctionnelles du récepteur des œstrogènes (ER), à savoir ER alpha et ER bêta, codée par deux gènes différents. Le dépistage génétique du locus du gène ER alpha a révélé l'existence de plusieurs sites polymorphes. Des études récentes ont suggéré une association entre les polymorphismes ER alpha et l'infertilité masculine (Ferlin et al., 2006).

V. L'épigénétique

Des processus épigénétiques touchant notamment l'expression des microARN (miARN) sont également en cause dans une part croissante des infertilités (Coutton et al., 2012).

1. ROS et les dommages d'ADN:

Au cours des dernières années, il a été reconnu que la fonction des spermatozoïdes est souvent altérée en corrélation avec le stress oxydatif créé par excès de réactives de l'oxygène (ROS). Les spermatozoïdes humains sont extrêmement sensibles aux dommages par les ROS en raison de leurs défenses antioxydantes limitées (Samplaski et al., 2010)

Des niveaux élevés de ROS peuvent être détectés dans le sperme de 25-40% des hommes infertiles (Samplaski et al., 2010).

VI. Anomalies mitochondriales:

Les mutations de l'ADN mitochondrial (ADN mt) ont également été associées à une mauvaise qualité du sperme et en particulier à une diminution de la motilité (Iammarrone et al., 2003).

Chapitre 5 : Cancer et infertilité

Le cancer et son traitement, peuvent entraîner des effets tout aussi profonds sur la fertilité masculine dont les processus cancéreux peuvent eux-mêmes également contribuer à l'infertilité ultérieure (Ronn et Holzer, 2013).

L'impact quantitatif de tout cancer donné sur la fertilité d'un jeune patient peut être difficile à définir, mais les effets néfastes ont constamment été démontrés (Ronn et Holzer, 2013). Le dommage peut être secondaire à une variété de traitements, y compris la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie, ou, plus rarement, à la malignité lui-même (Ronn et Holzer, 2013).

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme, il représentait 34% de l'ensemble des cancers incidents (Salmi et al ; 2009). Ce cancer et ses traitements affectent gravement la sexualité et la fertilité des hommes qui en sont atteints (Colson et al, 2012).

Le cancer du testicule est un cancer rare puisqu'il ne représente que 1 à 2 % des cancers de l'homme et 3,5 % des cancers traités en urologie (Trebuq et Peyromaure Debord, 2009). Les anomalies du parenchyme testiculaire et les cancers du testicule sont plus fréquents chez les patients infertiles, ce qui conduit à recommander la réalisation d'une échographie testiculaire systématique (Butruille et al., 2012).

1. Les microdélétions du Y

Les délétions de la région AZF ont été retrouvées chez des sujets atteints de cancer des testicules, mais ne jouent aucun rôle dans le développement des cancers du testicule. Ces délétions ont également été identifiées dans les lymphomes non hodgkiniens et les cancers colorectaux (Bianchi et al., 2006).

2. La chimiothérapie :

Les chimiothérapies ont tendance à affecter les cellules germinales et pour la plupart provoquer des changements néfastes tels que la fibrose et l'hyalinisation des tissus au niveau des gonades (Ronn et Holzer, 2013). Les agents alkylants ont tendance à être les plus gonadotoxiques chez les hommes, pour une azoospermie prolongée (Ronn et Holzer, 2013).

3. La radiothérapie :

La radiothérapie est similaire, dommageable pour les gonades mâles. Les effets néfastes de la radiothérapie sur la fertilité sont le plus souvent à la suite de dommages à l'épithélium germinatif ou même sur l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (Ronn et Holzer, 2013).

La radiothérapie et surtout la chimiothérapie peuvent altérer la production et/ou la qualité des spermatozoïdes. Au total, on peut estimer qu'après traitement du cancer du testicule, les capacités de procréer sont réduites de 10 à 20 % (Trebucq et al., 2008).

4. Le traitement chirurgical :

Le traitement chirurgical de certains cancers peut également avoir des effets profonds sur la fertilité masculine si le champ opératoire implique l'appareil reproducteur. (Ronn et Holzer, 2013).

Chapitre 6 : Traitement et conseil génétique

Pendant plusieurs décennies, l'infertilité masculine a été considérée comme une condition idiopathique et incurable, cependant, avec les progrès des technologies de reproduction assistée, des traitements efficaces ont été mis au point et la recherche sur les facteurs affectant la qualité du sperme est croissante (Karavolos et al., 2013).

À l'échelle d'un couple, le traitement dépend des possibilités techniques de prise en charge, des traitements déjà entrepris, de l'âge des deux partenaires, de la durée de l'infertilité et des facteurs associés d'infertilité féminine (Chlosser et al., 2007). La prise en charge de l'homme infertile doit tenir compte de la multiplicité des causes d'infertilité possibles chez un même individu, et être adaptée à la fertilité de sa conjointe (Chlosser et al., 2007).

1. Les médicaments

Une petite proportion des hommes infertiles ont des causes qui sont traitables, seulement 1 à 2% des hommes infertiles être candidats à un traitement hormonal de la gonadotrophine à cause de l'insuffisance hypothalamo-hypophysaire (Iammarrone et al. 2003).

Des données récentes suggèrent que la supplémentation en antioxydants chez les hommes infertiles, y compris carnitine, vitamine C, vitamine E, le sélénium, le zinc et le coenzyme Q10, améliore la qualité du sperme (Karavolos et al. 2013).

Les infections génitales sont traitées par des antibiotiques de manière prolongée, en fonction de la bactérie et de sa sensibilité aux antibiotiques (Lafont et Tassart, 2010)

2. Chirurgie

Une intervention chirurgicale visant à rétablir la perméabilité des voies génitales peut être proposée dans différents cas de stérilités masculines. La varicocèle, Les adénomes à prolactine, les tumeurs surrenaliennes ou testiculaires sécrétrices d'androgènes ou d'œstrogènes sont traitées chirurgicalement (Chlosser et al., 2007).

2.1 Techniques d'assistance médicale à la procréation

Bien que la fécondation in vitro (FIV) puisse être utilisée pour traiter les formes légères d'anomalies du sperme, des formes plus graves nécessitent l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) (Karavolos et al. 2013) qui ont bouleversé le pronostic de l'infertilité masculine (Siffroi et al ; 2000).

♦ Spermatozoïdes prélevés dans l'épididyme ou dans le tissu testiculaire

Depuis l'introduction de l'ICSI, la récupération chirurgicale des spermatozoïdes de l'épididyme et du testicule est devenue une technique de routine des azoospermiques. (Iammarrone et al., 2003).

Les techniques de récupération de sperme à partir de testicules comprennent:

- TESA (Testicular Sperm Aspiration) et TESE (Testicular Sperm Extraction) et la microchirurgicale TESE (micro-TESE) (Karavolos et al., 2013).
- Le sperme de l'épididyme peut être récupéré par MESA (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration) ou PESA (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration) (Karavolos et al., 2013).

3. Le conseil génétique :

Actuellement, les progrès constants des techniques d'AMP (assistance médicale à la procréation) permettent déjà d'envisager une fécondation avec un sperme déficient mais, en raison de la présence possible d'une cause génétique de l'infertilité masculine, l'ICSI soulève le dilemme de la transmission de la maladie à la génération suivante et le conseil génétique est recommandé (Iammarrone et al., 2003).

Le conseil génétique représente aujourd'hui une étape indispensable du bilan d'une infertilité (Siffroi et al., 2000).

Des données récentes suggèrent que les progénitures nées de couples infertiles en utilisant l'ICSI ont une incidence plus élevée d'anomalies chromosomiques que les enfants qui sont conçus naturellement (Karavolos et al., 2013).

Le bilan génétique préalable est donc primordial (Chlosser et al., 2007) et la décision repose sur les données du caryotype, de l'étude des microdélétions du chromosome Y, de la pathologie génétique causale ou d'une mutation du gène de la mucoviscidose CFTR (Khallouk et al., 2010), à partir de l'affection du patient, mais également en établissant un arbre généalogique (Chlosser et al., 2007). Il oriente, en fonction des situations, vers un diagnostic prénatal (amniocentèse, biopsies de trophoblastes), un diagnostic préimplantatoire (anomalies caryotypiques) ou au renoncement à l'ICSI avec le sperme du conjoint (Chlosser et al., 2007).

Les patients affectés par quelques formes d'anomalies génétiques (par exemple des changements chromosomiques et des microdélétions chromosomes Y) produisent une plus haute fréquence de sperme avec des aneuploïdies (Ferlin et al., 2006).

Chapitre 6 : Traitement et conseil génétique

Pendant plusieurs décennies, l'infertilité masculine a été considérée comme une condition idiopathique et incurable, cependant, avec les progrès des technologies de reproduction assistée, des traitements efficaces ont été mis au point et la recherche sur les facteurs affectant la qualité du sperme est croissante (Karavolos et al., 2013).

À l'échelle d'un couple, le traitement dépend des possibilités techniques de prise en charge, des traitements déjà entrepris, de l'âge des deux partenaires, de la durée de l'infertilité et des facteurs associés d'infertilité féminine (Chlosser et al., 2007). La prise en charge de l'homme infertile doit tenir compte de la multiplicité des causes d'infertilité possibles chez un même individu, et être adaptée à la fertilité de sa conjointe (Chlosser et al., 2007).

1. Les médicaments

Une petite proportion des hommes infertiles ont des causes qui sont traitables, seulement 1 à 2% des hommes infertiles être candidats à un traitement hormonal de la gonadotrophine à cause de l'insuffisance hypothalamo-hypophysaire (Iammarrone et al. 2003).

Des données récentes suggèrent que la supplémentation en antioxydants chez les hommes infertiles, y compris carnitine, vitamine C, vitamine E, le sélénium, le zinc et le coenzyme Q10, améliore la qualité du sperme (Karavolos et al. 2013).

Les infections génitales sont traitées par des antibiotiques de manière prolongée, en fonction de la bactérie et de sa sensibilité aux antibiotiques (Lafont et Tassart, 2010)

2. Chirurgie

Une intervention chirurgicale visant à rétablir la perméabilité des voies génitales peut être proposée dans différents cas de stérilités masculines. La varicocèle, Les adénomes à prolactine, les tumeurs surrenaliennes ou testiculaires sécrétrices d'androgènes ou d'œstrogènes sont traitées chirurgicalement (Chlosser et al., 2007).

2.1 Techniques d'assistance médicale à la procréation

Bien que la fécondation in vitro (FIV) puisse être utilisée pour traiter les formes légères d'anomalies du sperme, des formes plus graves nécessitent l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) (Karavolos et al. 2013) qui ont bouleversé le pronostic de l'infertilité masculine (Siffroi et al ; 2000).

♦ Spermatozoïdes prélevés dans l'épididyme ou dans le tissu testiculaire

Depuis l'introduction de l'ICSI, la récupération chirurgicale des spermatozoïdes de l'épididyme et du testicule est devenue une technique de routine des azoospermiques. (Iammarrone et al., 2003).

Les techniques de récupération de sperme à partir de testicules comprennent:

- TESA (Testicular Sperm Aspiration) et TESE (Testicular Sperm Extraction) et la microchirurgicale TESE (micro-TESE) (Karavolos et al., 2013).
- Le sperme de l'épididyme peut être récupéré par MESA (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration) ou PESA (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration) (Karavolos et al., 2013).

3. Le conseil génétique :

Actuellement, les progrès constants des techniques d'AMP (assistance médicale à la procréation) permettent déjà d'envisager une fécondation avec un sperme déficient mais, en raison de la présence possible d'une cause génétique de l'infertilité masculine, l'ICSI soulève le dilemme de la transmission de la maladie à la génération suivante et le conseil génétique est recommandé (Iammarrone et al., 2003).

Le conseil génétique représente aujourd'hui une étape indispensable du bilan d'une infertilité (Siffroi et al., 2000).

Des données récentes suggèrent que les progénitures nées de couples infertiles en utilisant l'ICSI ont une incidence plus élevée d'anomalies chromosomiques que les enfants qui sont conçus naturellement (Karavolos et al., 2013).

Le bilan génétique préalable est donc primordial (Chlosser et al., 2007) et la décision repose sur les données du caryotype, de l'étude des microdélétions du chromosome Y, de la pathologie génétique causale ou d'une mutation du gène de la mucoviscidose CFTR (Khallouk et al., 2010), à partir de l'affection du patient, mais également en établissant un arbre généalogique (Chlosser et al., 2007). Il oriente, en fonction des situations, vers un diagnostic prénatal (amniocentèse, biopsies de trophoblastes), un diagnostic préimplantatoire (anomalies caryotypiques) ou au renoncement à l'ICSI avec le sperme du conjoint (Chlosser et al., 2007).

Les patients affectés par quelques formes d'anomalies génétiques (par exemple des changements chromosomiques et des microdélétions chromosomes Y) produisent une plus haute fréquence de sperme avec des aneuploïdies (Ferlin et al., 2006).

Partie

Pratique

***Patients
et méthodes***

I. Patients et méthodes

1. Type d'étude

Nous avons réalisé une étude transversale, de type descriptif, qui a duré 3 mois du mois de Février au mois d'Avril 2015. Cette étude a été menée au laboratoire d'analyses médicales Ibn Sina de Constantine (ST Jean) et au laboratoire de Biologie et de génétique Moléculaire de l'université de Constantine 3. Notre population d'étude est composée de 33 sujets.

1.1 Population étudiée et échantillonnage

Les sujets inclus dans notre étude sont des hommes infertiles ou des hommes avec spermogramme normal venus au laboratoire pour l'analyse du sperme dans le cadre d'un bilan d'infertilité ou un examen de contrôle demandé par leur médecin urologue ou gynécologue.

1.2 Considérations éthiques

Ces patients ont répondu à notre questionnaire, et ont signé un consentement éclairé (Annexe IX), à propos du caractère scientifique de l'étude et nous n'avons retenu dans l'échantillon que des patients qui ont donné leur accord. Le prélèvement ne s'effectuait que dans le but de la recherche, l'observation de l'anonymat dans la diffusion des résultats a été respectée dans tous les cas.

1.3 Recrutement des patients infertiles

1.3.1 Critères d'inclusion

Sont inclus dans cette étude tous les patients présentant un spermogramme anormal : azoospermie, oligospermie, asthénospermie et tératozoospermie.

1.3.2 Critères d'exclusion

- Patients infertiles dont la cause d'infertilité est connue.

1.4 Recrutement des témoins

1.4.1 Critères d'inclusion

- basées sur des paramètres spermatiques normaux selon les critères de l'OMS.
- une fertilité prouvée avec la naissance d'au moins un enfant.

Au total, 33 échantillons ont été obtenus et l'extraction de leur ADN a été réalisée. 15 hommes présentant un spermogramme normal ont été recrutés comme témoins.

1.5 Méthodes

1.5.1 Prélèvement sanguin

Chaque patient a subi : une prise de sang par ponction veineuse périphérique sur tube EDTA vacutainer de 4 ml (si nécessaire on procède à une conservation au réfrigérateur à +4°C pendant une nuit).

1.5.2 Extraction de l'ADN: (Technique au NaCl)

L'ADN a été extrait à partir du sang périphérique par technique classique au NaCl.

Le principe:

- Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique (en présence de solution de lyse (Annexe XI), 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 associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol.
- L'ADN est solubilisé en phase aqueuse. La pureté de l'ADN est vérifiée par le rapport de la DO à 260nm sur la DO à 280nm (longueur d'onde d'absorption des protéines) qui doit être comprise entre 1,5 à 2) (Miller et al., 1988).

Le protocole que nous avons suivi pour l'extraction de l'ADN est détaillé en Annexe X.

1.5.3 La PCR

La réaction de PCR comporte trois étapes qui se dérouleront à des températures différentes de façon cyclique (Rezgoune-Chellat., 2013). Le procédé s'effectue en une trentaine de cycles:

- **La dénaturation:** les molécules d'ADN sont dénaturées par chauffage de quelques minutes à 94 ou 95°C ce qui provoque la rupture des liaisons hydrogènes et donc la séparation des deux chaînes complémentaires.
- **L'hybridation :** La température est rapidement abaissée à 55-60°C environ (selon l'amorce utilisée) pendant 15 à 30 secondes. Les amorces s'hybrident chacune sur leur brin d'ADN cible grâce à l'appariement des bases complémentaires.
- **L'élongation :** La température est augmentée à 72°C pendant le temps nécessaire à la Taq polymérase pour ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5' vers 3'. Chaque base ajoutée est complémentaire de la base correspondante du brin matrice. Les cycles se succèdent rapidement (Rezgoune-Chellat., 2013).

1.5.3.1 Recherche des microdélétions du chromosome Y

Tous les patients et les témoins recrutés ont été testés pour les marqueurs analysant la région AZF : sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, ainsi que SRY272 par PCR directe. Les séquences des primers et les conditions d'amplification sont répertoriées dans le tableau 1. Tableau 1: Séquences des amorces utilisées pour la recherche de microdélétions du chromosome Y et conditions d'amplification.

	STS Y	Séquences des amorces	Dénaturation	Hybrdation	Élongation	Cycles
AZFa	sY 84	F 5' AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT 3' R 5' GCCTACTACCTGGAGGCTTC 3'	95°C, 30s	60°C, 30s	72°C30s	35
	sY 86	F 5'GTGACACACAGACTATGCTTC 3' R 5' ACACACAGAGGGACAACCT 3	95°C, 30s	60°C, 30s	72°C30s	35
AZFb	sY 127	F 5'GGCTCACAAACGAAAAGAAA 3' R 5' CTGCAGGCAGTAATAAGGGA 3	95°C, 30s	56°C, 30s	72°C30s	37
	sY 134	F 5'GTCTGCCTCACCATAAAACG 3' R 5' ACCACTGCCAAAACCTTCAA 3'	95°C, 30s	56°C, 30s	72°C30s	37
AZFc	sY 254	F 5'GGGTGTTACCAGAAGGCAAA 3' R 5' GAACCGTATCTACCAAAGCAG 3'	95°C, 30s	58°C, 30s	72°C30s	35
	sY 255	F 5'GTTACAGGATTCGGCGTGAT 3' R 5' CTCGTCATGTGCAGCCAC 3'	95°C, 30s	58°C, 30s	72°C30s	35
	SRY 272	F 5'CTCTAAGTATCAGTGTGAAACGGGG 3' R 5' CGAAGCGGGATCTGCGGGAAGCGGG 3'	95°C, 30s	58°C, 30s	72°C30s	35

F: Séquences d'amorces sens.

R: Séquences d'amorces antisens.

1.5.3.2 Réactifs utilisés pour la PCR

- Les enzymes

L'enzyme Taq DNA Polymérase (Kit Bioline) est utilisée à une concentration de 5 U/ μ l. La Taq polymérase est extraite de la bactérie *Thermophilus aquaticus*, elle est thermorésistante, sa température optimale d'action est de 72°C. C'est une enzyme capable d'associer des nucléotides en polymère d'ADN de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3'

- Les tampons

Le tampon de la Taq «Bioline» nommé 10X NH4 Reaction Buffer est composé de:160 mM (NH4)2SO4, 670 mM Tris-HCL (pH 8.8 à 25°C), 0.1% stabilizer.

- Les oligonucléotides

Les dNTP (DésoxyNucléotides-TriPhosphates) sont composés de :dATP, dTTP, dGTP, dCTP. Ce sont les éléments de bases utilisés par la Taq polymérase pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires lors de l'élongation.

- Le MgCl₂

Il s'agit d'un cofacteur pour la Taq polymérase. Il est utilisé à une concentration stock de 50 mM (Rezgoune-Chellat., 2013).

1.5.3.3 Préparation du mélange réactionnel de la PCR (QSP 10µl):(9 µl de solution + 1 µl d'ADN).

Tableau 2: Composants du mélange réactionnel de PCR pour la région AZF.

Composants	Volume (µl) pour 1 tube de PCR	Volume (µl) pour 10 tubes de PCR
dNTP(0,2 final)	1,6	16
Tampon 10X	1	10
Amorce F (sens 100 ng/ µl)	1	10
Amorce R (anti-sens 100 ng/ µl)	1	10
MgCl ₂ (à 1,5 final 50mM)	0,3	3
Taq polymérase 5U/ µl	0,08	0,8
Eau distillée (H ₂ O)	4,02	40,2
ADN 20 à 50 ng/ µl	1	/

1.5.3.4 Migration électrophorétique et révélation de la PCR

Un gel d'agarose à 2% est préparé (2g d'agarose dans 100 ml de TBE 1X) (Tris Borate, EDTA) (Annexe XII), pour des fragments de taille de 300 à 800 pb. Une goutte de solution de bromure d'éthidium (BET), substance intercalante s'interposant entre les bases d'acides nucléiques et rendant l'ADN fluorescent sous UV est ajouté au gel d'agarose.

Le gel est immergé dans la cuve d'électrophorèse contenant le tampon TBE 1X. 10µl du produit de PCR sont déposés dans les puits avec 2 µl de tampon de charge (Bleu de bromophénol) ; ce tampon de charge alourdit les fragments et permet de repérer le front de migration (120 V pendant 1h).Un marqueur de poids moléculaire 100pb (Invitrogen) est utilisé (10 µl de la solution) pour déterminer approximativement la taille des fragments. Après migration, le gel est visualisé sous lumière ultraviolette.

Résultats et Discussion

I. Caractéristiques principales des patients

Les sujets inclus dans cette étude sont classés en deux groupes : le groupe de sujets infertiles (18) et le groupe de sujets présentant un spermogramme normal (15) (Tableau 3).

Tableau 3: Répartition des sujets selon le résultat du spermogramme.

	Effectif
Sujets avec spermogramme normal	15
Sujets infertiles	18
Total	33

Sur les 33 spermogrammes obtenus, nous avons trouvés 18 anomalies portant aussi bien sur la qualité que sur la quantité du sperme. Tandis que 15 cas sont normaux (Figure 9) soit des taux de 55 % et de 45 % respectivement. Nos résultats sont en accord avec ceux de l'étude menée par Thonneau et al en France en 1991, sur 1467 hommes inféconds et que selon laquelle 61 % des cas ont un spermogramme anormal et 39 % de cas ont un spermogramme normal.

En Algérie, nos résultats concordent aussi avec ceux obtenus lors des études similaires effectuées dans la région d'Annaba où il a été enregistré dans une première étude 85,20 % de cas infertiles contre 14,80 % de cas normaux (Daroui, 2001), et dans une autre étude 87,92 % de cas présentant des anomalies spermatiques et 12,07 % de cas normaux (Nazzal, 2002 ; Zeghib, 2009 ; Chennaf, 2012).

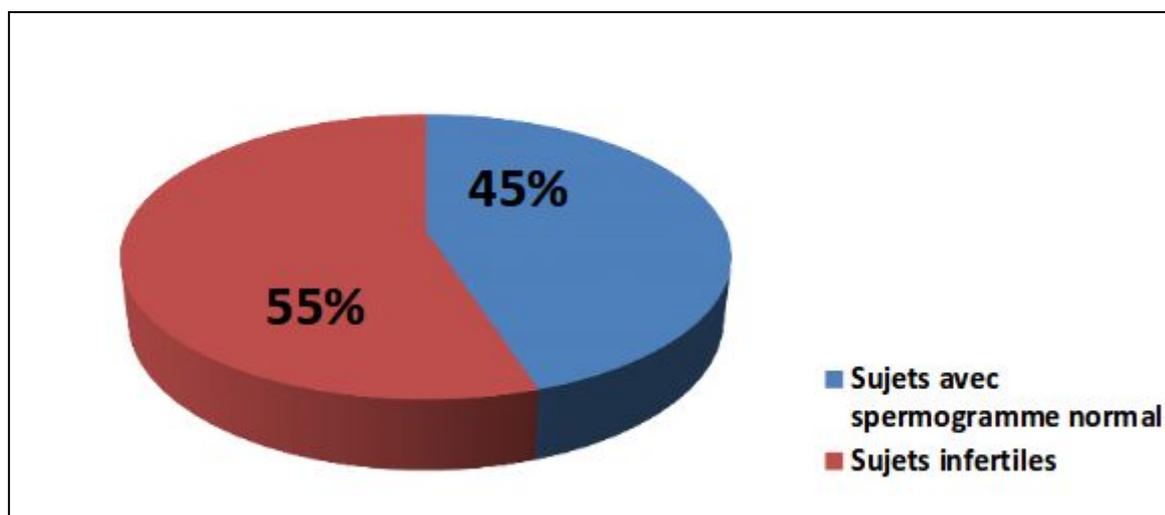


Figure 9: Répartition des sujets selon le résultat du spermogramme.

1. Répartition des patients selon l'âge

L'âge moyen des hommes infertiles est de 36 ans avec des extrêmes allant de 27 et 65 ans. La tranche d'âge la plus représentée est celle des [25-35] ans avec un taux de 67 %, suivi par une fréquence relativement élevée de 22 % pour la tranche d'âge [36 –46] ans, et une faible fréquence de 5,5 % pour les patients âgés au-delà de 47 ans (Tableau 4).

Tableau 4: Répartition des patients selon la tranche d'âge

Tranche d'âge	Effectif	%
[25 – 35] ans	12	67%
[36 – 46] ans	04	22%
[47 – 57] ans	01	5,5%
[58– 68] ans	01	5,5%
Total	18	100%

Ces groupes d'âge se rapprochent de ceux retrouvés par (Mohamdi et al., 1995). Ceci peut s'expliquer par l'âge du mariage qui est de plus en plus précoce. Selon nos résultats, nous pouvons dire que l'âge n'est pas un facteur de risque pour l'infertilité masculine (Figure 10).

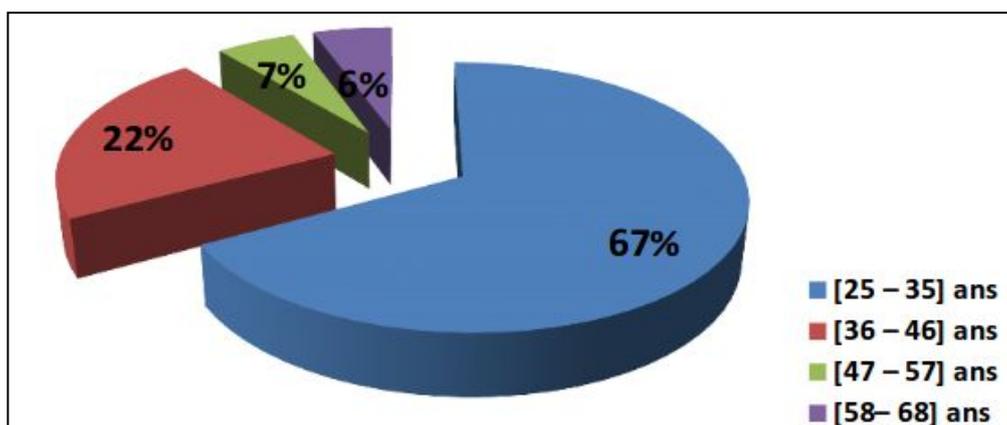


Figure 10 : Répartition des patients selon la tranche d'âge

Aujourd'hui, 35 ans est l'âge moyen pour les hommes pour avoir leur premier enfant, alors qu'à 50 ans, la possibilité de fécondation des ovocytes est fortement diminuée. Un taux de fausses couches plus élevé et un taux de grossesse diminué ont également été rapportés lorsque l'homme a plus de 50 ans. En revanche, la spermatogenèse augmente au cours de la puberté et atteint une phase de plateau à l'âge de 42 ans, et décroît ensuite (Chennaf, 2012).

La plupart des études ont montré que le vieillissement paternel est associé à des changements dans les paramètres du sperme. Plus précisément, il est lié à la baisse du volume de sperme, la motilité des spermatozoïdes et leur morphologie.

Bien que la concentration de sperme n'ait pas été démontrée de façon constante à diminuer avec le vieillissement, une baisse du nombre de spermatozoïdes a été rapportée. La cause sous-jacente de la baisse liée à l'âge dans les paramètres du sperme n'a pas été clairement définie. Cependant, des étiologies possibles peuvent inclure : l'insuffisance liée à l'âge vasculaire, la prévalence croissante de co-morbidités (diabète par exemple, hypertension), les infections chroniques (par exemple, la prostatite), l'obésité, insuffisance hormonale et le dysfonctionnement de la glande accessoire. Bien que la plupart des études ont observé que le vieillissement paternel est associé à des changements défavorables dans les paramètres du sperme et de l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes, les études relatives sur la fertilité fournissent des résultats contradictoires (Belloc et al., 2014).

2. L'origine géographique

Les patients qui ont été inclus dans cette étude proviennent de deux régions géographiques; Constantine et Mila, avec une fréquence de 90 % et 10 % respectivement (Tableau 5).

Tableau 5: Classification des patients en fonction de l'origine géographique

Ville	Nombre de patient	%
Constantine	30	90
Mila	3	10

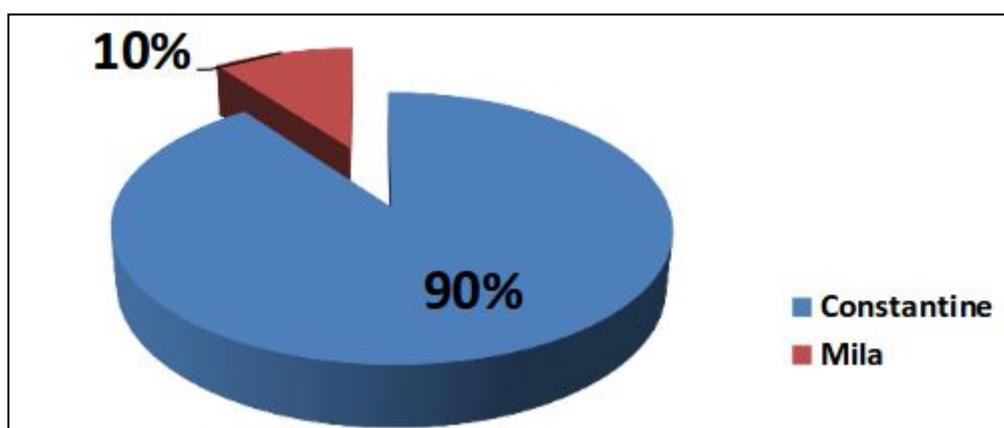


Figure 11 : Classification des patients en fonction de l'origine géographique

Nous pouvons expliquer les résultats obtenus par le fait que le recrutement a été réalisé au niveau d'un laboratoire dans la région de Constantine.

3. La consommation du tabac:

Après l'interrogatoire réalisé sur le mode de vie des patients infertiles, nous avons recensé un taux relativement élevé de fumeurs; il est de 44,44%, le taux d'anciens fumeurs est de 22,22% et les non fumeurs avec 33,33% (Tableau 6).

Tableau 6: Répartition des patients selon la consommation du tabac

	Effectif	%
Non fumeurs	6	33,33
Anciens fumeurs	4	22,22
Fumeurs	8	44,44
Total	18	99,99

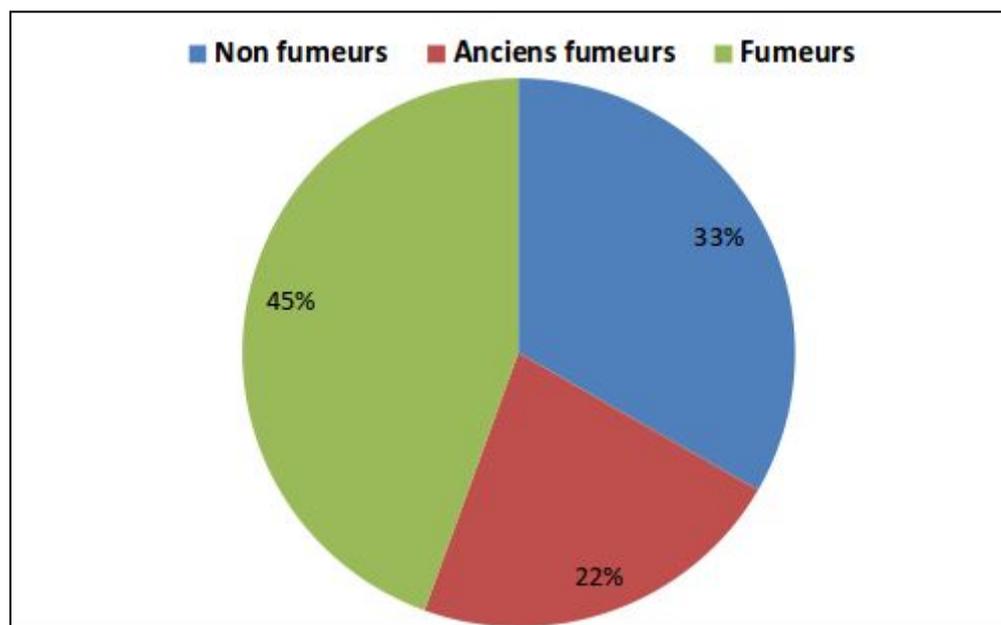


Figure 12 : Répartition des patients selon la consommation du tabac.

Plusieurs études publiées précédemment ont rapporté des taux élevés d'anomalies spermatiques parmi les patients fumeurs par rapport aux non fumeurs en concluant que le tabac représente un facteur de risque pour l'infertilité masculine.

4. Répartition des patients selon la durée de conduite

Tableau 7: Répartition des patients infertiles selon la durée de conduite

		Effectif	%
Non conducteurs		9	50
Conducteur	[0 - 1] h	1	5,55
	[2 - 3] h	6	33,33
	[4 - 5] h	1	5,55
	[6 - 18] h	1	5,55
Total		18	100

Selon le tableau 7, la moitié des patients ne conduisent pas, 33,33% ont une durée de conduite entre 2 et 3 heures alors qu'on note que 5,55% pour les intervalles de 0 à 1h, de 4 à 5h et de 6 à 18h.

5. Bains chauds:

Au cours de l'interrogatoire sur le mode de vie des patients présentant des anomalies spermatiques, nous avons recensé un taux très élevé des patients prenant des bains chauds, 10 cas sur 18 (56 %), et pour les patients ne prenant pas des bains chauds 8 cas/18 (44%).

Tableau 8: Classification des patients en fonction d'utilisation des bains chauds

	Effectif	%
Non prise de bains chauds	08	44%
Prise de bains	10	56%

L'utilisation de bains à remous et sauna a un effet négatif sur la qualité du sperme. L'immersion totale du corps dans un bain chaud, ou jacuzzi à des températures supérieures à 36,9° C pendant 30 min ou plus par semaine pendant 3 mois ou plus, conduit à une hyperthermie, ce qui pourrait avoir un effet négatif réversible sur la mobilité des spermatozoïdes. Des études montrent qu'après exposition de sauna, les températures atteignent le scrotum et il ya un effet négatif significatif mais réversible sur la spermatogenèse. Dans les saunas avec des températures allant de 80-90 ° C, et à des fréquences et des durées d'exposition différentes, l'utilisation de saunas pourrait perturber la spermatogenèse et altérer le nombre et la mobilité des spermatozoïdes. En outre, l'exposition régulière de sauna pendant

un cycle entier de la spermatogenèse peut également modifier la fonction mitochondriale, protamination et la condensation de la chromatine au niveau du sperme (Durairajanayagam et al., 2015)

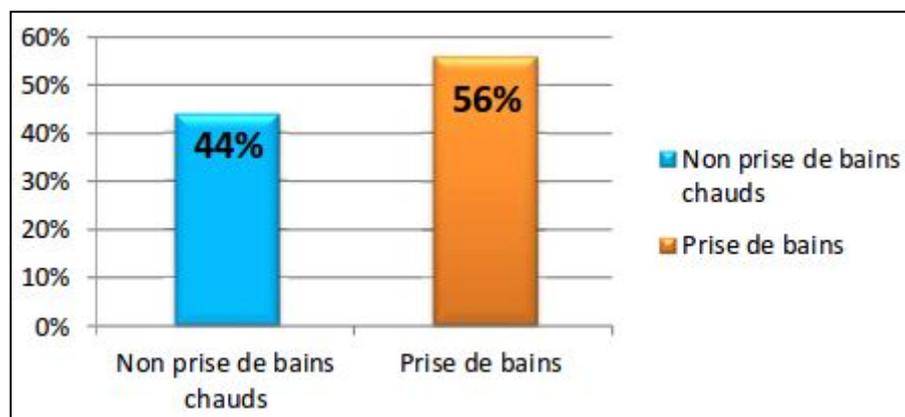


Figure 13: classification des patients selon l'utilisation des bains chauds

6. Distribution selon l'activité professionnelle:

La répartition des patients selon l'activité professionnelle, consignée dans le tableau 10. Les commerçants et les Maçons sont les plus représentés avec une fréquence de 22,22 %, suivi des fonctionnaires administratifs et des employeurs avec 11,11%, et les autres professions possèdent la même proportion de 5,55 %.

Tableau 9: Classification des patients sen l'activité professionnelle:

Profession	ni	%
Commerçants	4	22,22
Maçons	4	22,22
Employeurs	2	11,11
Fonctionnaires administratifs	2	11,11
Bijoutiers	1	5,55
Conducteurs	1	5,55
Coiffeur	1	5,55
Électriciens	1	5,55
Entrepreneurs	1	5,55
Douanier	1	5,55
Total	18	100

Les résultats de Daroui (2001) et Chennaf (2012) ont signalé que les patients sans profession et les boulangés sont les plus touchés par le problème de l'infertilité, ce qui est n'est pas le cas dans notre résultats à cause de l'absence des ces deux catégories dans notre population d'étude.

7. Répartition des patients selon le type d'infertilité

Dans notre population d'étude, et selon les données de la figure 14 (diagramme angulaire) qui montrent que la plupart des patients recensés ont une infertilité primaire soit une fréquence de 94%, et 6% seulement avec une infertilité secondaire.

Tableau 10: Classification des patients selon le type d'infertilité

	Effectif	%
Primaire	17	94
Secondaire	1	06
Total	18	100

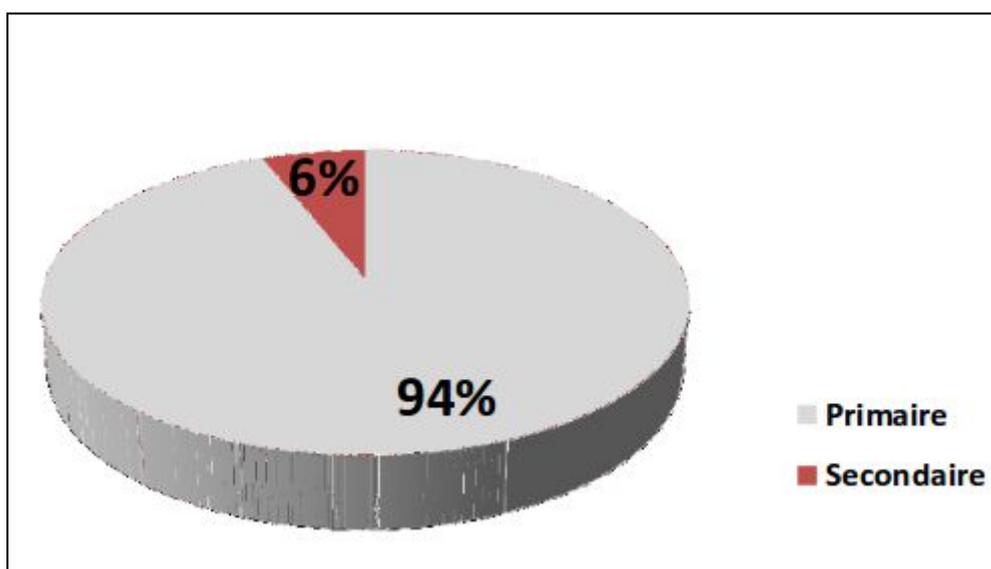


Figure 14: Répartitions des patients selon le type d'infertilité

Des études menées en Algérie par Mohamdi et al (1995) à Oran indiquent des taux d'infertilité primaire et secondaire de 67% et 33 % respectivement. Dans la région d'Annaba, Daroui (2001) a signalé des taux d'infertilité primaire de 73,48 % et d'infertilité secondaire de 26,52 %. Dans une autre étude menée par Nazzal en 2002, dans la même région, les taux respectifs signalés sont de 87% et 13%. Les travaux de Zagheb, en 2008 dans la région de

Constantine révèlent des pourcentages respectifs de 74,73 % et 25,27 %. Et également à Constantine, Ounis en 2014 a signalé que l'infertilité était primaire dans 90,3%, et secondaire dans 9,7%. Ce qu'est en accord avec nos résultats.

En France, les travaux de Thonneau et al. (1991) révèlent des taux d'infertilité primaire et secondaire de 67 % et 33 % respectivement.

Le taux élevé des cas consultants pour une infertilité primaire (94 %) par rapport au taux des infertilités secondaires (6%) peut s'expliquer par le contexte social et la tendance qu'auraient les couples n'ayant pas d'enfant à consulter plus souvent que les autres pour traiter leur infertilité (Chennaf, 2012).

8. Antécédents urogénitaux

Sur les 18 patients, que nous avons recrutés au cours de cette étude, 72,22 % d'individus, ne présentent pas d'antécédents uro-génitaux. Par contre pour le reste de la population, la varicocèle apparaît comme principal antécédent médical, avec un taux de 27,78% (Tableau 12).

Tableau 11: Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux

	Effectif	%
Avec antécédents de varicocèle	5	27,78
Sans antecedents	13	72,22
Total	18	100

La fréquence de la varicocèle retrouvée dans notre étude, concorde aux données de la littérature où elle varie de 4 à 22% dans la population générale et de 10 à 44% dans celle des hommes infertiles (**Diallo et al., 2015**).

Il a été constaté que les patients infertiles avec varicocèle présentent un spermogramme avec une densité diminuée, une diminution de la mobilité et une morphologie anormale.

La varicocèle peut affecter la fonction des testicules, et cet effet peut être progressif avec le temps. Le canal de l'épididyme peut être atteint par des germes urinaires. Où il y a un risque d'abcès et d'infection généralisée ou encore un risque de lésions irréversibles sur le petit canal de l'épididyme entraînant une obstruction de celui-ci et un risque ultérieur d'infertilité masculine (Chennaf, 2012).

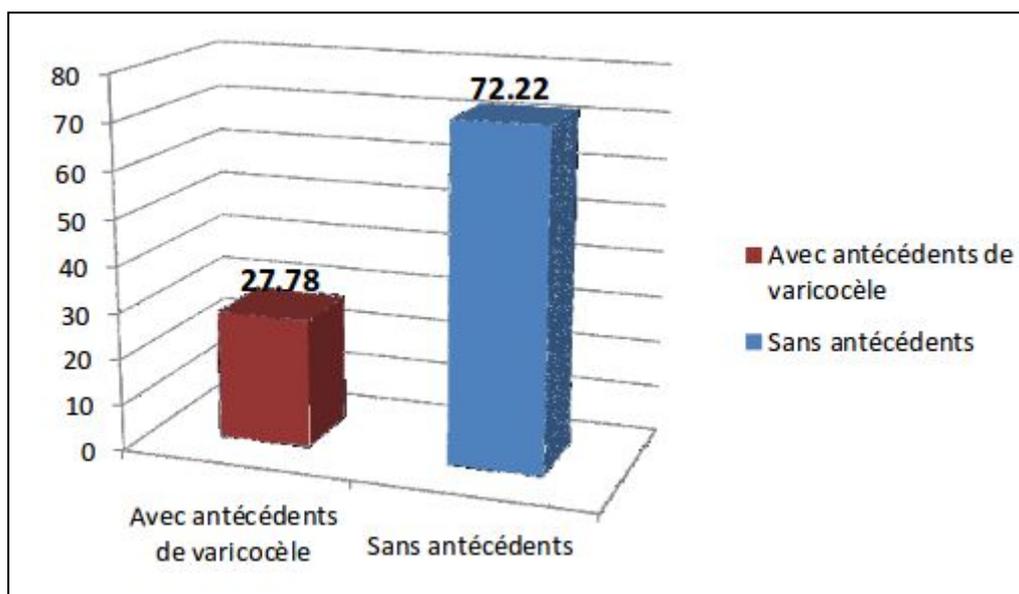


Figure 15: Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux

9. Antécédents familiaux

Tableau 12: Classification des patients en fonction des antécédents familiaux

	Effectif	%
Sans antécédents familiaux	11	61,11
Avec antécédents familiaux	7	38,88

Au cours de notre étude, nous avons trouvés que 61 % de nos patients ont des antécédents familiaux et que 38,8 % sont sans antécédents familiaux.

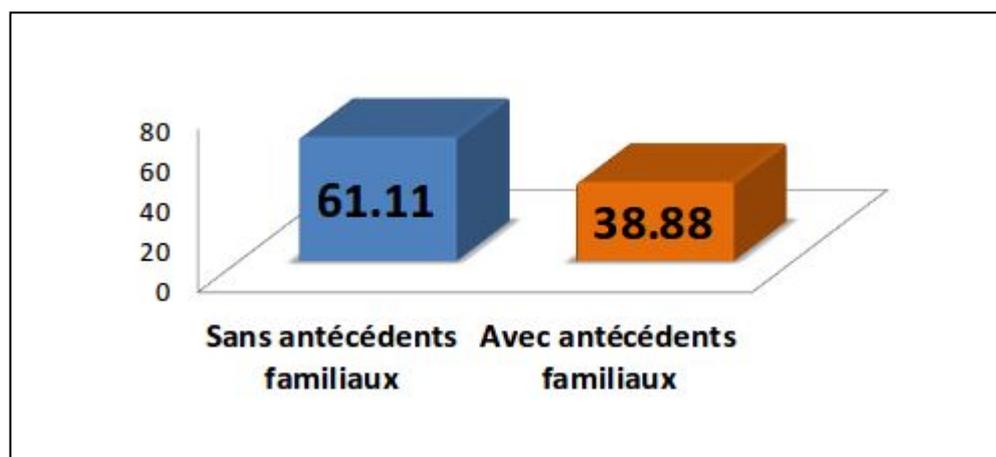


Figure 16 : Classification des patients en fonction des antécédents familiaux

10. Résultats de l'analyse spermatique

10.1 Répartitions des patients en fonction des paramètres spermatiques

Le groupe d'étude d'hommes infertiles a été subdivisé en quatre sous-groupes :

- les patients avec une absence totale de spermatozoïdes dans l'éjaculat « azoospermie » (n= 03)
- les patients avec une oligoasthénospermie (OATS) (n = 4).
- les patients avec une Oligoasthénospermie (n=08).
- les patients présentant une asthénospermie (n = 03).

Tableau 13: La moyenne des paramètres spermatiques des patients étudiés

	Volume (ml)	pH	Nb de SPZ (M/ml)	Mobilité (%)		Formes (%)	
				A	B	T	A
Azoospermie (n= 03)	02,83	7,0	/	/	/	/	/
OATS (n= 04)	01,6	8,0	08,51	05 %	03,6%	26%	74%
Oligospermie (n= 08)	04	7,5	08,57	10 %	06,57%	37,14%	62,85%
Asthénospermie (n= 03)	4,33	7,33	35,43	8,33 %	5,33%	50%	50%

A : mobilité rapide progressive, B : mobilité moyenne progressive.

T : Formes Typiques, A : Forme Atypiques.

Dans le groupe de patients OATS, une moyenne de nombre de spermatozoïde de 8,51 millions/ ml à mobilité réduite (a+b=8,6%) et forme atypique dans 74% a été observée.

Dans le groupe de patients avec oligo-asthénospermie, une moyenne de nombre de spermatozoïde de 8,57millions/ ml à mobilité réduite (a+b=16,57%) a été notée.

Dans le groupe de patients asthénospermique, la fréquence de spermatozoïdes à mobilité réduite était de (a+b=13,66%) (Tableau 13).

10.2 Fréquence des anomalies spermatiques

Parmi les 18 infertiles que nous avons recensés, l'anomalie majeure observée était l'oligo-asthénospermie avec une fréquence de 44,44 %, suivie par l'oligo-astheno-tératospermie (OATS) 22,22 %, et dans le cas de l'azoospermie et de l'oligospermie, des proportions identiques ont été enregistrées de l'ordre de 16,67%.

Tableau 14: Répartition des patients selon les résultats du spermogramme.

Anomalie	Effectif	%
Azoospermie	3	16,67
OATS	4	22,22
Asthénospermie	3	16,67
Oligo-asthénospermie	8	44,44
Total	18	100

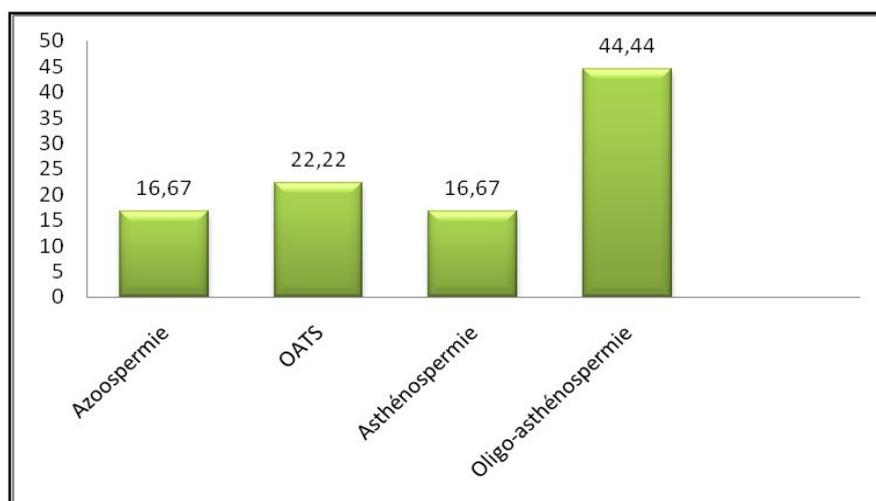


Figure 17: Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques.

L'analyse de la distribution des fréquences de différentes anomalies spermatiques montre que l'oligo-asthénospermie est la plus rencontrée avec une fréquence de 44,44%, ce résultat n'est pas identique à celui de Zeghib (2009) avec 1,58%, d'Ounis (2014) avec 8,66% à Constantine, Belmokhtar (2014) à Tlemcen avec 11,11%, Chenaf (2012) à Batna 9,09%. Par ailleurs, l'oligo-astheno-tératospermie occupe également une part importante dans notre échantillon avec 22,22% de fréquence. Cette valeur est proche de celle de Zeghib (2009) avec 20,37%, Ounis (2014) avec 25,7% dans la région de constantine, Belmokhtar (2014) à Tlemcen avec 25,92%, alors que Chenaf, 2012 à Batna a rapporté une fréquence de 7,58%.

Pour l'azoospermie la fréquence est de 16,67%. Nos valeurs sont analogues à celles de Zeghib (2009) avec 17,59%, et présente un taux plus élevé que celui de certains auteurs (Belmokhtar, 2014 ; Chenaf, 2012) qui ont trouvé respectivement 7,4% et 5,3%.

L'asthénospermie dans notre étude présente un taux de 16,67% moins élevé que celui de certains auteurs (Ounis, 2014; Chenaf, 2012) qui ont trouvé respectivement 20,5% et 27,7%. et un taux plus élevé que celui de Zeghib (2009) ; Belmokhtar (2014) qui ont trouvé respectivement 3% et 7,4%, respectivement.

10.3 Répartition des patients en tranches d'âge selon le résultat du spermogramme.

Tableau 15: Distribution des cas en fonction de la tranche d'âge et les anomalies spermatiques.

Tranches d'âges	Azoospermie	OATS	Asthénospermie	Oligo-asthénospermie	T	%
[25-35]	2	3	2	5	12	66,66
[36-46]	0	1	1	2	4	22,22
[47-57]	1	0	0	0	1	5,56
[58-68]	0	0	0	1	1	5,56
Total	3	4	3	8	18	100

La distribution des anomalies spermatiques selon l'âge des patients, rapportée par la figure 18 et le tableau 15, montre que pour toutes les tranches d'âge des anomalies spermatique ont été trouvées, mais elles sont plus accentuées dans les tranches d'âge 25-35 et 36-46 ans.

Pour la tranche d'âge des 25- 35 ans les principales anomalies observées sont l'oligosasthénospermie (5/12), l'oligo-astheno-tératospermie (OATS) (3/12), l'azoospermie et l'asthénospermie avec le même nombre des cas (2/12).

Les anomalies spermatiques retrouvées dans la tranche d'âge 36-46 ans sont principalement; l'oligo-asthénospermie (2/4), OATS et asthénospermie avec la même fréquence (1/4), et aucun cas pour l'azoospermie.

L'azoospermie et l'oligo-asthénospermie sont aussi observées respectivement dans les tranches d'âge 47-57 et 58-68 ans.

D'après nos résultats, nous pouvons dire qu'il n'existe pas de rapport entre l'âge des patients et le résultat du spermogramme.

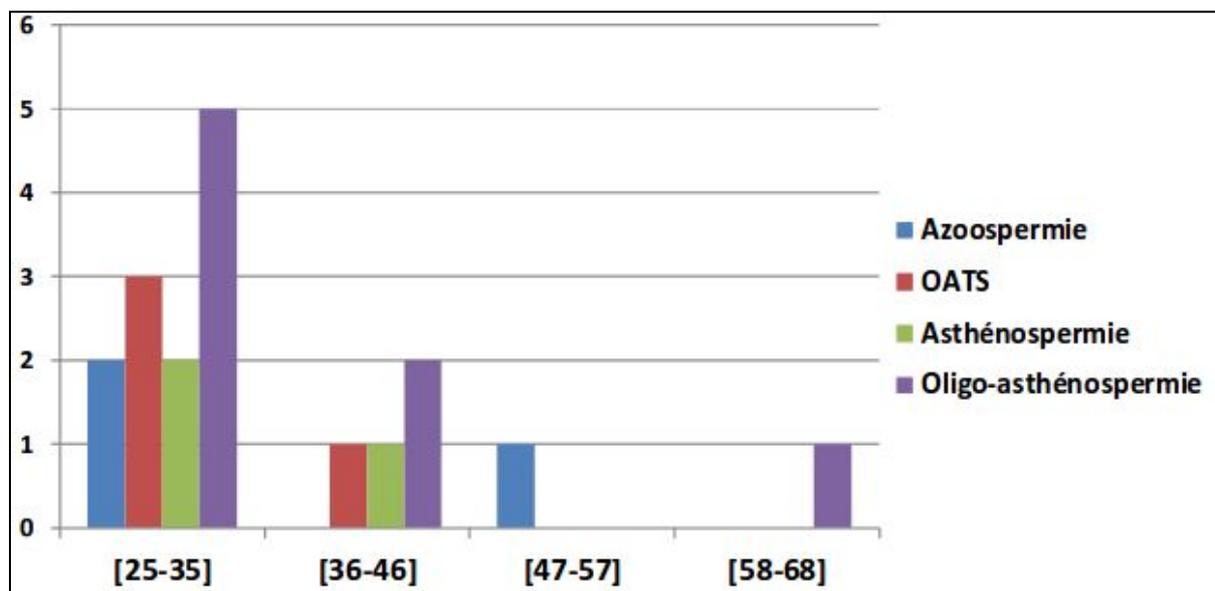


Figure 18: Répartition des anomalies spermatiques en fonction des tranches d'âge.

10.4 Répartition des patients fumeurs et non fumeurs en fonction des anomalies spermatiques

L'azoospermie et l'oligo-astheno-tératospermie sont les anomalies spermatiques observées chez les patients fumeurs, alors que l'asthénospermie a été observée chez les non fumeurs.

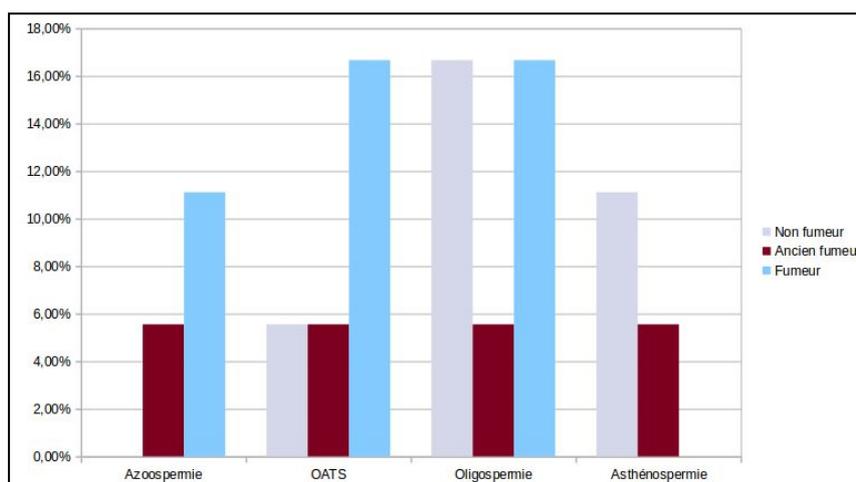


Figure 19: Répartition des anomalies spermatiques des patients infertiles en fonction du statut tabagique

Dans notre échantillon, pour le groupe de patients infertiles fumeurs, il existe un seul cas qui est azoospermique, donc nous pouvons dire qu'il n'existe pas de relation entre la concertation des spermatozoïdes et la fumée du tabac, cela n'exclut pas le fait que le tabac est un facteur de risque pour l'infertilité masculine. Des données suggèrent que certains composants de la cigarette peuvent interagir de manière directe ou indirecte avec la qualité des gamètes, affectant leur fonction et leur viabilité. Ce qui est en accord avec nos résultats où on a recensé parmi les fumeurs 4 cas d'OATS, et 3 cas Oligoasthénospermie.

Le tabagisme a des effets délétères sur la fertilité masculine. Des études ont montré qu'il existe un passage de la barrière hémato-testiculaire de certaines substances contenues dans la fumée de cigarette. La présence de tels composés dans le liquide séminal des fumeurs entraîne une altération des paramètres spermiologiques classiques et de la qualité nucléaire des spermatozoïdes, compromettant de ce fait les chances de grossesse. Le stress oxydatif généré par le tabac semble être l'une des principales causes d'altération de la qualité des spermatozoïdes, entraînant essentiellement une fragmentation de leur ADN. Plusieurs techniques sont désormais disponibles pour quantifier cette fragmentation (**Sepaniak et al., 2004**).

Pour conclure, notre étude n'a pas mis en évidence d'effets délétères majeurs de la consommation de tabac sur les gamètes. La littérature quand à elle est conflictuelle sur de nombreux points. Cela est dû à de nombreux facteurs : nombre de patients, consommation journalière moyenne, durée de la consommation, etc (Chennaf, 2012).

II. Résultats de l'étude génétique

1. Arbres généalogiques des patients avec antécédents familiaux

Les antécédents familiaux sont assez importants dans notre étude avec une fréquence de 39 %. C'est pour cette raison nous avons établi les arbres généalogique pour les patients présentant des antécédents familiaux.

- Patient N°01

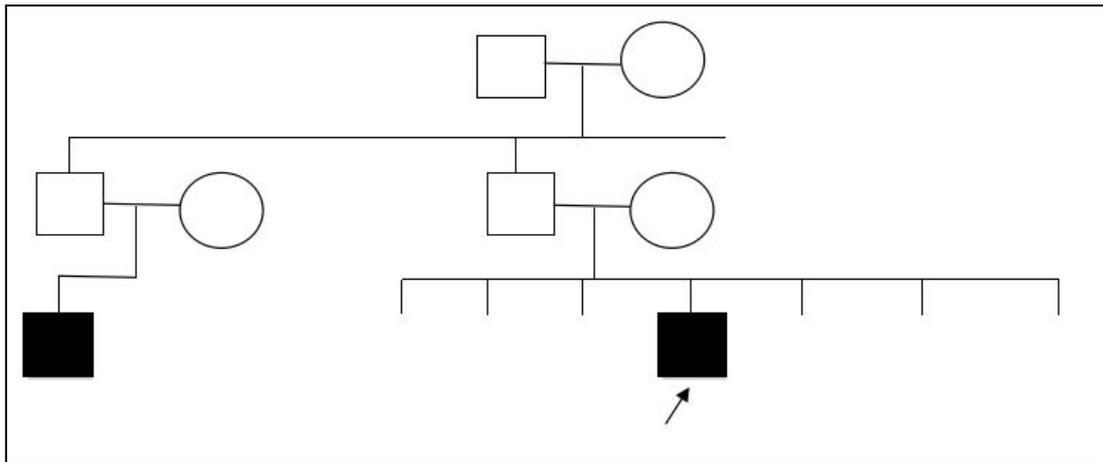


Figure 20 : Arbre généalogique du patient N°1

- Il s'agit d'un patient non fumeur sans antécédent médical.
Le spermogramme montre une oligo-asthénospermie modérée.
- Durée du mariage : 8 ans.

- Patient N°02

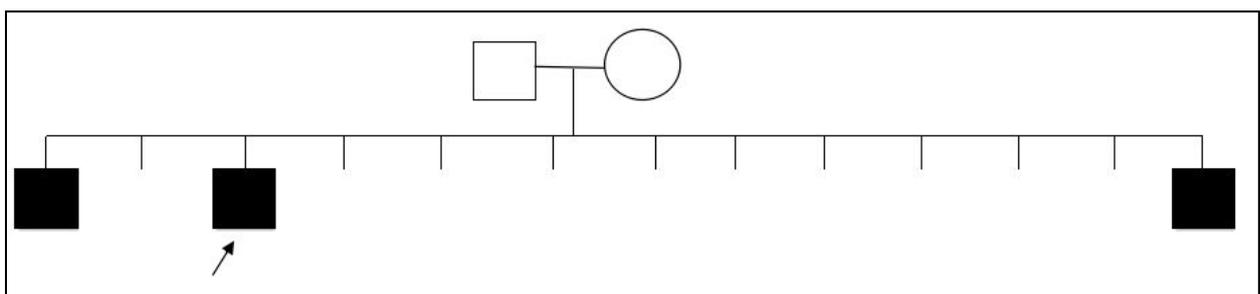
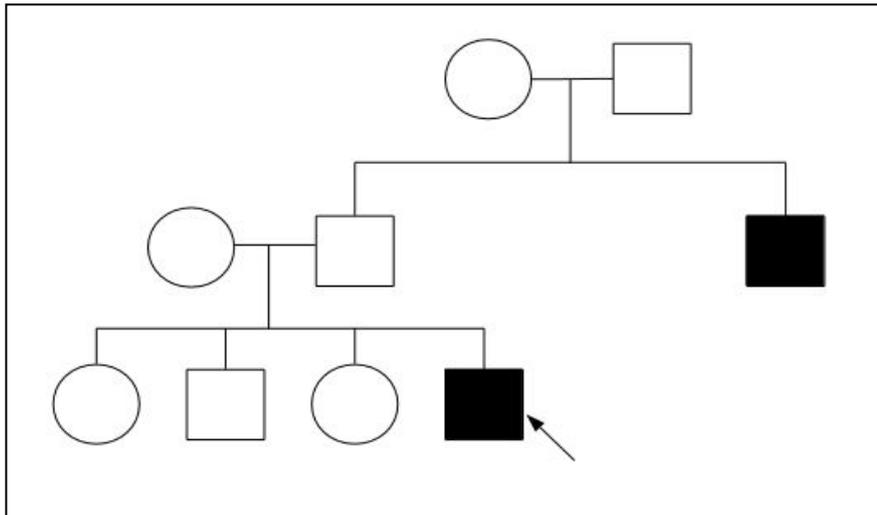
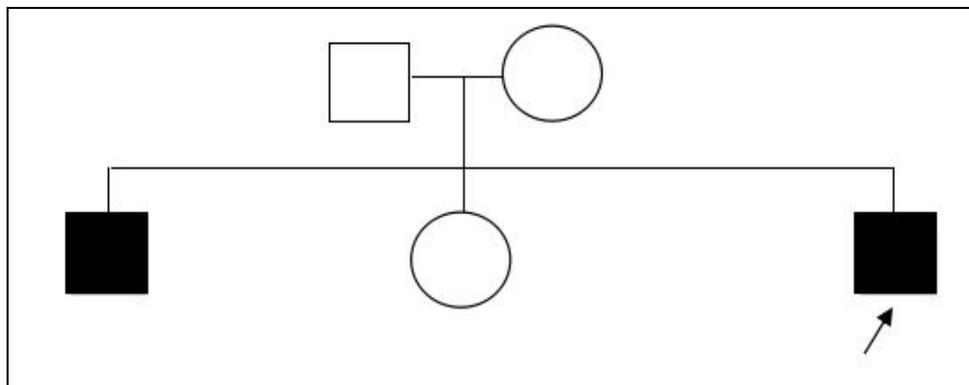


Figure 21 : Arbre généalogique du patient N°02

- Il s'agit d'un patient ancien fumeur, sans antécédents médicaux et dont le spermogramme révèle une hypospermie- Oligo- Asthéo-tératospermie.
- Durée du mariage: 9 ans.
D'après l'arbre généalogique, deux autres membres de la famille (2 frères) sont aussi infertiles.

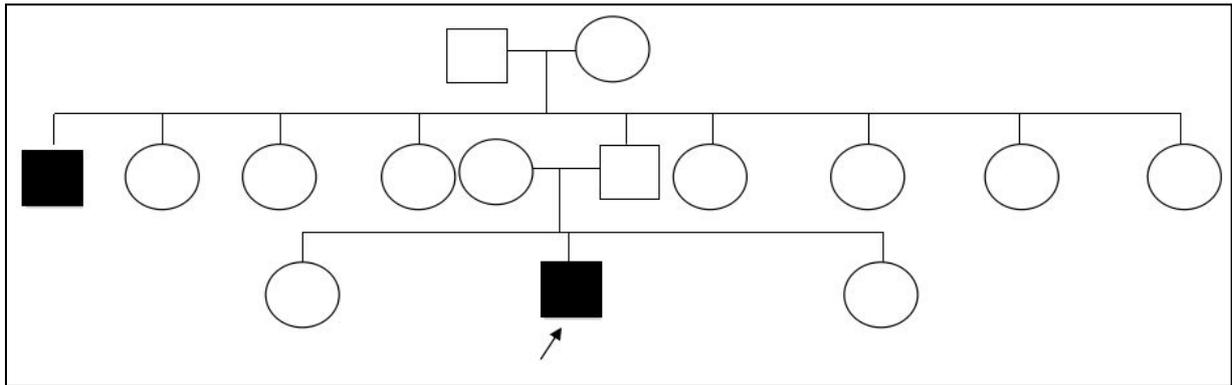
- **Patient N°03****Figure 22 : Arbre généalogique du patient N°03**

- Il s'agit d'un patient non fumeur sans antécédents médicaux, le spermogramme a montré une oligo-asthénospermie modérée.
 - Durée du mariage : 6 mois (exception).
- L'autre membre de la famille infertile est son oncle paternel.

Patient N°04**Figure 23: Arbre généalogique du patient N°04**

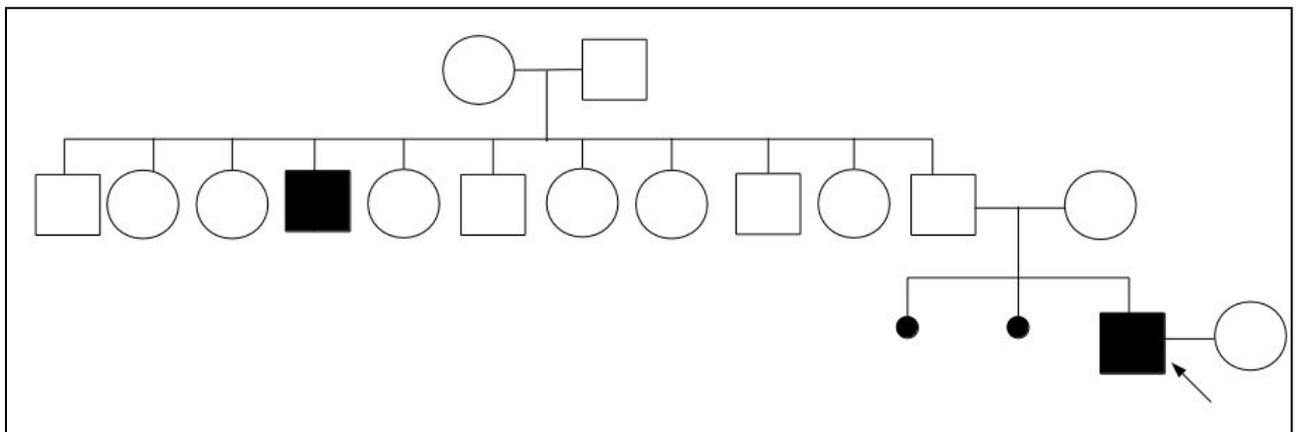
Il s'agit d'un patient fumeur avec antécédent médical de varicocèle, l'anomalie spermatique est une azoospermie totale.

- Durée du mariage 4 ans.
- Le deuxième membre de sa famille infertile est son frère.

- **Patient N°05****Figure 24: Arbre généalogique du patient N°05**

Il s'agit d'un patient grand fumeur sans antécédents médicaux, l'anomalie spermatique est une hyper-Oligo-Asthénospermie.

- Durée du mariage 14 mois.
- L'antécédent familial d'infertilité est son oncle paternel.

- **Patient N°06****Figure 25: Arbre généalogique du patient N°06**

- Il s'agit d'un ancien fumeur, avec antécédent médical de varicocèle, son spermogramme montre une oligo-asthénospermie modérée.
- Durée du mariage est d' 1 an.
- L'antécédent familial d'infertilité est son oncle paternel.

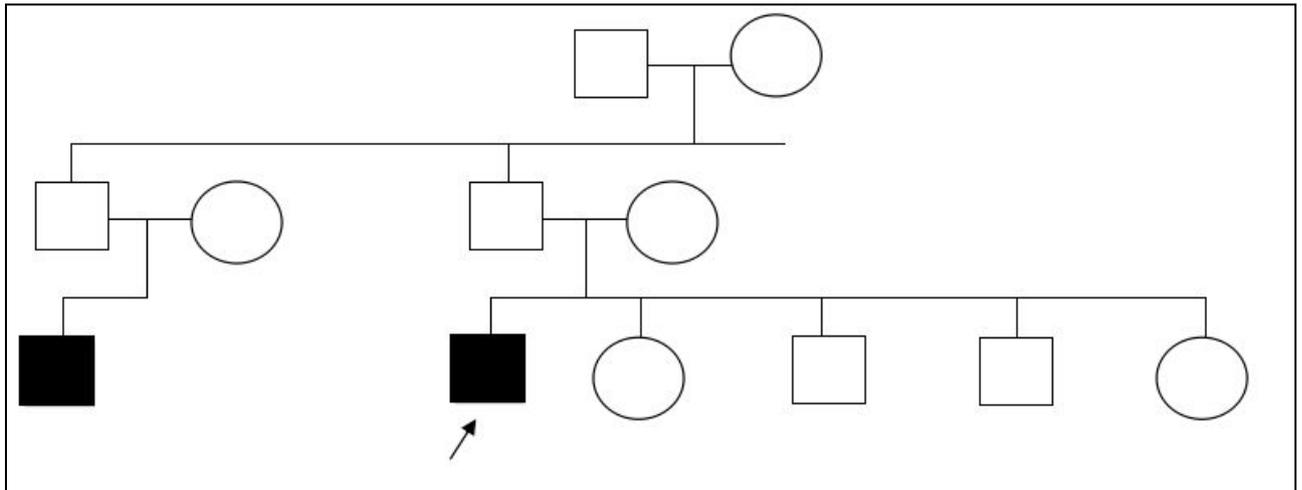
- **Patient N°07**

Figure 26: Arbre généalogique du patient N°07

- Il s'agit d'un patient non fumeur avec une Hypo-Oligo-Asthénospermie modérée comme anomalie spermatique.
- La durée de mariage était de 4 ans.
- Le deuxième membre de la famille est son cousin germain.

2. Résultats de l'analyse moléculaire

2.1 Les microdélétions du chromosome Y

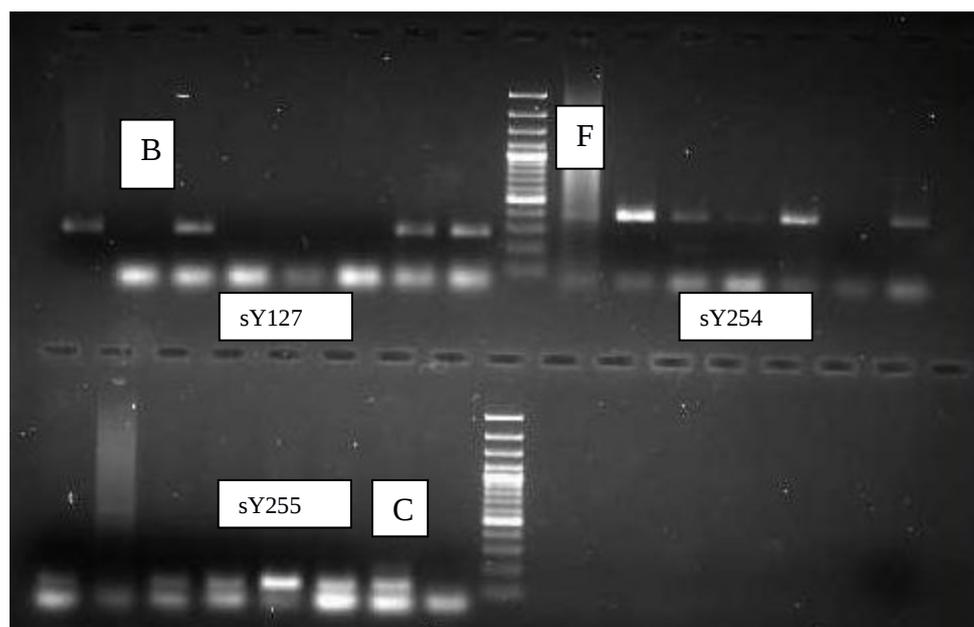
Afin d'explorer la possibilité de l'existence de microdélétions du chromosome Y, nous avons utilisé des amorces permettant de détecter les trois régions AZF (AZF a, b, c) par une PCR classique. Pour cela, l'analyse des régions AZF chez les 33 sujets recrutés a été réalisée. Les trois loci AZF sont explorés en utilisant les amorces STS suivants: Pour AZFa -sY84 et sY86; pour AZFb - sY127 et sY134; et pour AZFc- sY254 et sY255.

Ce jeu d'amorces a été suggéré par Simoni et al (1999) et est prescrit par l'Académie européenne d'andrologie et de l'European molecular genetics quality network et permet la détection de plus de 90% des microdélétions de la région AZF.

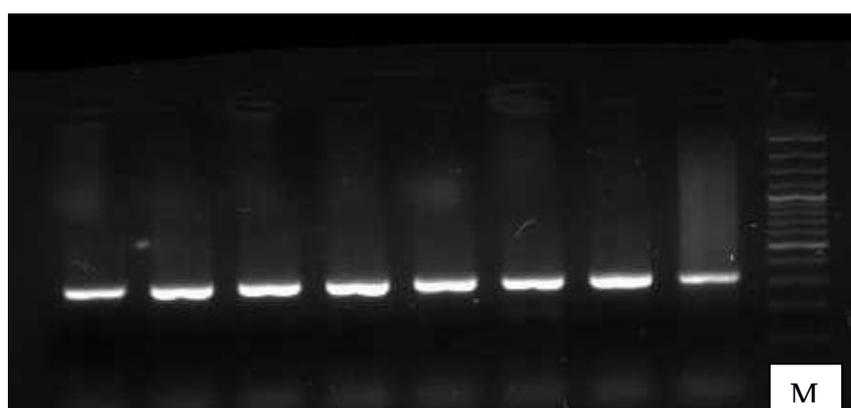
Le contrôle interne qui a été utilisé est SRY 272.

Un STS est considéré comme délété après au moins trois échecs d'amplifications indépendantes, en présence d'amplification réussie de SRY 272.

Aucune microdélétion du chromosome Y n'a été trouvée chez tous les hommes infertiles étudiés et chez les sujets présentant un spermogramme normal et aucune amplification n'a été détectée chez la femme 46,XX utilisée comme témoin négatif (Figure 27).



sY127, sY254, sY255



SRY272

Figure 27: Photographie du profil électrophorétique des patients. M, marqueur ; B, témoin négatif ; C, contrôle positif ; F, le contrôle négatif d'ADN féminin.

Les microdélétions du chromosome Y représentent l'une des anomalies génétiques les plus fréquentes (Drouin et al., 2007). Les données de la littérature indiquent que les microdélétions du chromosome Y peuvent être observés dans ~ 7% des hommes infertiles (Lissens et al., 2014), et plus particulièrement ces microdélétion seront retrouvée chez les patients présentant une azoospermie non obstructive et oligospermie sévères ($< 5 \times 10^6/\text{ml}$), leur prévalence est estimée entre 8 et 12 % (Coutton et al., 2012). En effet, la plupart des délétions sont retrouvées chez des patients présentant une numération inférieure à 1 million de

spermatozoïdes/ml, alors qu'elles ne sont retrouvées qu'exceptionnellement chez ceux présentant une numération supérieure à 5 millions/ml (Chantot-Bastaraud et al., 2007).

Dans la présente étude, aucune microdélétion du chromosome Y n'a été trouvée que ce soit pour le groupe d'homme infertiles ou pour le groupe de témoins, ce qui concorde bien avec les données de la littérature qui indiquent que la fréquence de ces microdélétions varie de 0 à 60% (Rezgoune-Chellat, 2013).

Dans la population algérienne, la première analyse des microdélétion du chromosome Y rapportée par Rezgoune-Chellat en 2013, a révélé une fréquence de 1,3% (1/80) seulement de tous les hommes infertiles étudiés et elle concerne la région AZFc.

Une étude effectuée par El Awady et al (2004) sur 33 patients infertiles égyptiens, ont trouvé une fréquence de 12% (Rezgoune-Chellat, 2013).

En Tunisie, une étude moléculaire du locus AZF, effectué par Hammami et al. chez 105 patients ayant un caryotype normal (74 azoospermiques et 31 oligozoospermiques sévères), a révélé l'existence de microdélétions dans 2 cas (1,9 %), tous deux azoospermiques (Hammami et al., 2014)

La fréquence microdélétion d'AZF était de 8,57% chez 1738 patients infertiles de la nord-est de la Chine (Zhang et al., 2013).

La différence constatée entre nos résultats et les résultats d'autres études rapportées par la littérature, pourrait s'expliquer par un certains nombre de facteurs tels que; l'influence de la taille des échantillons, les différences ethniques, les critères de sélection des patients, les aspects méthodologiques, et même le type et le nombre de marqueurs utilisés, de même que les méthodes expérimentales employées en fonction de l'utilisation de l'ADN du sang ou du sperme (Rezgoune-Chellat, 2013).

Depuis la mise en évidence de ces microdélétions, le séquençage du chromosome Y a permis une meilleure compréhension des mécanismes de leur survenue, les phénotypes ont été précisés et les techniques de détection ont été harmonisées. Ainsi, l'Académie européenne d'andrologie (EAA) recommande un screening par deux paires de marqueurs pour chacune des régions AZFa, AZFb et AZFc couvrant la détection de 95 % des délétions chez des patients azoospermiques ou oligozoospermiques sévères présentant une numération inférieure à cinq millions.

Les délétions moléculaires complètes des régions AZF entraînent obligatoirement un trouble de la spermatogenèse puisqu'elles ne sont jamais retrouvées dans des populations contrôles d'hommes fertiles, sauf exception mais pour laquelle les marqueurs testés étaient polymorphes (Chantot-Bastaraud et al., 2007).

Les délétions de la région AZFa conduisent généralement à l'absence de cellules germinales (syndrome de cellules Sertoli seules SCOS), alors que la délétion de la région AZFb aboutit à l'arrêt de maturation au stade de spermatocyte, et de la région AZFc ont été associées à une variété de SCOS à une oligospermie sévère.

Cette corrélation génotype /phénotype existe seulement dans les cas où la délétion enlève entièrement la région, c'est-à-dire lorsque la délétion est « complète ». Les délétions « partielles » peuvent être associées avec des phénotypes différents.

***Conclusion
et perspectives***

La relation entre la génétique et l'infertilité masculine est maintenant reconnue. Si elle ouvre de nouvelles perspectives, en matière de recherche, on est encore loin des résultats qui ont été obtenus pour d'autres pathologies.

Nous avons pratiqué un dépistage des microdélétion du chromosome Y par PCR sur un échantillon de 18 patients présentant un tableau clinique d'Oligoasthénoteratozoospermie, oligoasthénospermie, et azoospermie. La majorité de ces patients sont de la même région (Constantine) laissant penser que dans notre population le taux de microdélétions de la région AZF est très rare.

La découverte de l'ICSI a été déterminante dans la mesure où les hommes, qui ne pouvaient pas obtenir d'enfants auparavant, ont maintenant la possibilité d'avoir une paternité. Ainsi, une attention toute particulière se porte, depuis le milieu des années 90, sur les azoospermes non-obstructifs et oligospermes sévères. En effet, la procréation médicalement assistée, avec l'ICSI, a fait un bon énorme en matière de traitement de l'infertilité masculine. Cependant, la transmission verticale père fils d'anomalies génétiques, comme la microdélétion du chromosome Y, pourrait très bien, si elle ne reste pas stable au fil des générations, aboutir à des pathologies engageant le pronostic vital. Ainsi, le couple doit bénéficier d'une information exhaustive (conseil génétique) quant aux risques potentiels lui permettant de comprendre et d'assumer sa part de responsabilité de l'I.C.S.I. (consentement éclairé).

Les limites de la présente étude correspondent pour l'essentiel aux modalités d'échantillonnage et de prospection. Il serait par conséquent intéressant de prévoir dans nos perspectives :

- Explorer ces résultats par des études sur des échantillons plus importants pour déterminer la prévalence et l'ampleur de l'infertilité masculine en Algérie.
- L'identification d'anomalies chromosomiques, géniques et épigénétiques responsable d'altération de la gamétogénèse et de la production des gamètes génétiquement déséquilibrées.
- Explorer les gènes impliqués dans le métabolisme des ARNs (DAZ, RBM, eIF-1A, DBY...), et la maturation de ces ARNs est un aspect important de la différenciation des cellules germinales
- d'autres gènes candidats intervenant dans les fonctions clés de la biologie cellulaire (apoptose, transcription, protéines de structure de la chromatine) sont soupçonnés d'induire des stérilités masculines. La découverte de ces gènes permettrait peut-être d'identifier les gènes responsables pour les stérilités masculines.
- Étudier la génétique d'infertilité masculine chez les patients cancéreux et développer la notion d'Onco- fertilité à Constantine et en Algérie.
- Sensibiliser le problème de génétique de l'infertilité au sein des organismes de recherche, la communauté des médecins.

Références

Bibliographiques

Références

Articles

- **AGARWAL, Ashok. MULGIUND, Aditi. HAMADA, Alaa. CHYATTE, Michelle Renee.** «A unique view on male infertility around the globe». *Reproductive Biology and Endocrinology*, Vol 13, Issue37, pp 1-9, April 2015.
- **AHMED, Faisal. HUGHE, Ieuan A.** «The genetics of male undermasculinization». *Clinical Endocrinology*, Vol 56, Issue 01, pp 01-18, January 2002.
- **ALI, Sher. Hasnain, Seyed Ehtesham.** «Genomics of the human Y-chromosome Association with male infertility ». *Gene*, Vol 321, pp 25-37, December 2003.
- **BELLOC, Stephanie. HAZOUT, Andre. ZINI, Armand. et al,** «How to overcome male infertility after 40: Influence of paternal age on fertility». *Maturitas*, Vol 78, Issue 1, pp 22-29, May 2014.
- **BIANCHI, Néstor O. RICHARD, Silvina M. PAVICIC, Walter.** «Y chromosome instability in testicular cancer ». *Mutation Research*, Vol 612, Issue 3, pp 172-188, June 2006.
- **BRONSON, Richard.** «Biology of the Male Reproductive Tract: Its Cellular and Morphological Considerations». *American Journal of Reproductive Immunology*, Vol 65, Issue 3, pp 212–219, March 2011.
- **BUTRUILLE, C. MARCELLIA, F. GHONEIMA, T. et al.** «Prise en charge des nodules testiculaires dans une population de patients infertiles», *Progrès en Urologie*, Vol 22, Issue 1, pp 45-52, January 2012.
- **CHANTOT- BASTAARAUD, Sandra. RAVEL, Célia. MC ELREAVEY, Ken. SIFFROI, Jean-Pierre.** «Microdélétions du bras long du chromosome Y : relations génotype-phénotype Génotype-phénotype corrélations in Y chromosome long arm délétions», *mt médecine de la reproduction*, Vol 9, Issue 5, pp 303-310, septembre-octobre 2007.
- **COLSON, H. LECHEVALLIER, E. RAMBEAUD, J. et al,** «Sexualité et cancer de la prostate», *Progrès en Urologie*, Vol 22, Issue 1, pp 72-92, 2012.
- **COUTTON, Charles. STARE, Véronique. AENOULT, Christophe. RAY. Pierre.** «Génétique de l'infertilité masculine Les nouveaux acteurs», *medicine science*, Issue 5, Vol 28, pp 497-502, Mai 2012.
- **CRAM, David S. O'BRYAN, Moira K. DE KRETZER, David M.** «Male Infertility Genetics – The Future ». *Journal of Andrology*, Vol 22, Issue 5, pages 738–746, Sptember/October 2001.
- **DIALLO, Guinee. BAH, M. BARRY, M. et al,**«La varicocèle de l'adulte: aspects anatomo-cliniques et resultats therapeutiques au service d'urologie-andrologie du CHU de Conakry». *African Journal of Urology*, 5 pages, April 2015.
- **DROUIN, Régen.** (Février 2007). *Génétique de l'infertilité : quels tests demander?*. [brochure]. Montréal: Bulletin de la Clinique de fertilité OVO, 6 pages.

- **DURAIRAJANAYAGAM, Damayanthi. AGARWAL, Ashok. ONG, Chloe.** «Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress». *Reproductive BioMedicine Online*, Vol 30, Issue 1, pp 14-27, 2015.
- **FERLIN, Alberto. ARREDI, Barbara. FORESTA, Carlo.** «Genetic causes of male infertility ». *Reproductive Toxicology*, Vol 22, Issue 2, pp 133–141, August 2006.
- **GHORBIAN, Saeid.** «Genomics of the human Y-chromosome Association with male infertility Routine diagnostic testing of Y chromosome deletions in male infertile and subfertile ». *Gene*, Vol 503, Issue 1, pp 160-164, July 2012.
- **HAMMAMI, Wajih. KILANI, Olfa. BEN KHELIFA, Meriem. et al,** «Prevalence of Y chromosome microdeletions in infertile Tunisian men». *Ann Biol Clin*, Vol 72, Issue 3, pp 331-336, Mai-Juin 2014.
- **HARGREAVE, T B.** «Genetic basis of male fertility». *British Medical Bulletin*, Vol 56, Issue 3, pp 650–671 , 2000.
- **IAMMARRONE, E. BALET, R. LOWER, A. and all.** «Male infertility». *Best Practice Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, Vol 17, Issue 02, pp 211-229, 2003.
- **JÉGOU, Bernard.** «L'infertilité mâle aujourd'hui», *médecine/sciences*, Vol 28, Issue 5, pp 447-448, 2012.
- **KARAVOLOS, Stamations. STEWART, Jane. EVBUOMWAN, Isaac. MCELENY, Kevin. AIRD, Ian.** «Assessment of the infertile male». *The Obstetrician & Gynaecologist*, Vol 15, Issue 1, pp 01-09, January 2013.
- **KHALLOUK, A. TAZI, M F. ELFASSI, M J. FARIH, M H.** «L'infertilité masculine : physiopathologie, bilan et prise en charge», *Espérance Médicale*, Vol 17, Issue 170, pp 421-429, Juillet 2010.
- **KRAWETZ, Stephen A. ROOIJ, Dirk G. HEDGER, Mark P.** «Molecular aspects of male fertility ». *EMBO reports*, Vol 10, Issue 10, pp 1087–1092, October 2009.
- **LAFONT, Clarisse. TASSART, Marc.** «Imagerie du tractus génital chez l'homme infertile». *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, Vol 12, Issue 3, pp 242-248, Aout-Septembre 2010.
- **LEVY, Rachel. SERMONDADE, Nathalie. HAFHOUF, Emna et al.** «À la recherche d'une étiologie génétique chez les hommes infertiles». *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, Vol 12, Issue 1, pp 4-11, Mars 2010.
- **LISSENS, Willy. SENECA, Sara. STOUFFS, Katrien.** «Genetic causes of male infertility». *Annales d'Endocrinologie*, Vol 75, Issue 2, pp 109–111, May 2014.
- **MATZUK, Martin. LAMB, Doleres.** «The biology of infertility: research advances and clinical challenges». *nature medicine*, Vol 14, Issue 11, pp 1197-1213, november 2008.
- **MCELREAVEY, K. KRAUSZ, C. PATRAT, C. FELLOUS, M.** «Infertilité masculine et les microdélétions du chromosome Y ». *Gynécol Obstét Fertil*, Vol 30, Issue , pp 405-412, 2002.

- **MENG, Qinqin. REN, Aiguo. LE, Zhang. et al**, «Incidence of infertility and risk factors of impaired fecundity among newly married couples in a Chinese population», *Reproductive BioMedicine Online*, Vol 30, Issue 1, pp 92-100, January 2015.
- **MOSTAFA, Taymour**. «Cigarette smoking and male infertility ». *Journal of Advanced Research*, Vol 1, Issue 3, pp 179-186, July 2010.
- NAVARRO-COSTA, Paulo**. «Sex, rebellion and decadence: The scandalous evolutionary history of the human Y chromosome». *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol 1822, Issue 12, pp 1851-1863, December 2012.
- **QUINTANA-MURCI, Lluoas. KRAUSZ, Csilla. MCELREAVEY, Ken**. «The human Y chromosome: function, evolution and disease ». *Forensic Science International*, Vol 118, Issue 2-3, pp 169-181, July May 2001.
- **QUINTANA-MURCI, Lluís. Fellous, Marc**. «The human Y chromosome: the biological role of a functional wasteland». *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Vol 1, Issue 1, pp 18-24, 2001.
- **RAVEL, C. SIFFROI, J P**. «Chromosome Y et spermatogénèse ». *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, Vol 37, Issue 11-12, pp 901-907, December 2009.
- **RAVEL, Celia. MCELREAVEY, K. MANDELBAUM, Jacqueline. SIFFROI, Jean-Pierre**. «Polymorphismes génétiques et infertilité masculine». *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, Vol 9, Issue 4, pp 219-229, Juillet-Août 2007.
- **RONN, R. HOLZER, H.E.G**. «Oncofertility in Canada: the impact of cancer on fertility». *Current Oncology*, Vol 20, Issue 4, pp 338-344, August 2013.
- **SAMPLASKI, Mary K. AGARWAL, Ashok. SHARMA, Rakesh. SABANGHE, Edmund**. «New generation of diagnostic tests for infertility: Review of specialized semen tests». *International Journal of Urology*, Vol 17, Issue 10, pages 839–847, October 2010.
- **SCHLOSSER, J. NAKIB, I. CARRÉ-PIGEON, F. STAERMAN, F**. «Infertilité masculine: stratégie de la prise en charge», *Annales d'Urologie*, Vol 41, Issue 1, pp 6-11, February 2007.
- **SEPANIAK, S. FORGES, T. FONTAINE, B et al**, «Impact négatif du tabac sur la fertilité masculine : des spermatozoïdes à la descendance». *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, Vol 33, Issue 5, pp 384-390, 2004.
- **SIFFROI. Jean-Pierre, LE BOURHIS. Corine, KRAUSZ. Csilla, DADOUNE, Jean-Pierre. FELLOUS, Marc**. «Infertilité masculine: des anomalies moléculaires aux possibilités thérapeutiques», *médecine/sciences*, Vol 16, Issue 3, pp 307-15, Mars 2000.
- **SIFFROI Jean-Pierre**. «Génétique de l'infertilité : du polymorphisme à la pathologie ?». *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, Vol 12, Issue 1, pages 18-25, Mars 2010.
- **SHARLIP, Ira. JAROW, Jonathan. BELKER, Arnold et al**. «Best practice policies for male infertility ». *Fertility and sterility*, Vol 77, Issue 5, pp 873-882, May 2002.

- **SHER, Ali. HASNAIN, Seyed Ehtesham.** «Molecular dissection of the human Y-chromosome ». *Gene*, Vol 283, Issue 1-2, pp 1-10, January 2002.

SKALETSKY, Helen. KURODA-KAWAGUCHI, Tomoko. MINX, Patrick J. et al. «The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes». *Nature*, Vol 423, pp 825-, June 2003.

- **THIELEMANS, B F J. SPIESSENS, C. D'HOOGHE, T.** «Genetic abnormalities and male infertility. A comprehensive review». *European Journal of Obstetrics & Gynecology*, Vol 81, Issue 2, pp 217–225 , december 1998.

- **Trebuq, Alain. Peyromaure Debord, Michaël.** (Octobre 2009). *Le cancer du testicule*. [brochure]. Ligue Nationale Contre Le cancer, 20 pages.

-**VIALARD, F. MANDON-PÉPIN, B. PELLESTOR, F. et al,** «Anomalies génétiques et infertilité masculine», *Andrology*. Vol 19, Issue 1, pp 2-16, 2009.

- **WALLERAND. Hervé, BERNARDINI. Stéphane, CHABANNES. Eric, BITTARD. Hugues.** «Infertilité masculine de cause génétique et biologie moléculaire», *Prog Urol*, Vol 13, pp 560-563, 2003.

World Health Organization (1999), Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction (3rd ed.), Cambridge University Press, New York.

- **ZHANG, Young-sheng. DAI, Ru-Lin. WANG, Rui-Xue. et al,** «Analysis of Y Chromosome Microdeletion in 1738 Infertile Men From Northeastern China». *Urology*, Vol 82, Issue 3, pp 584-588, 2013.

Livres

- **BERGMAN, Martin. KLIIESCH, Sabine. 2010.** «Testicular Biopsy and Histology». In: NIESCHLAG, Eberhard. BEHRE, Hermann M. NIESCHLAG, Susan. (eds). *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction (3rd Edition)*. Springer Berlin Heidelberg, pp 155-167.

- **BELAISCH-ALLART, J. 2011.** «Épidémiologie de la fertilité féminine». In: PONCELET, Christophe. SIFER, Christophe (eds). *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain*. Springer-Verlag Paris, pp 115-122.

- **COOPER, Trevor G. YEUNG, Ching-Hei. 2010.** «Physiology of Sperm Maturation and Fertilization». In: NIESCHLAG, Eberhard. BEHRE, Hermann M. NIESCHLAG, Susan. (eds). *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction (3rd Edition)*. Springer Berlin Heidelberg, pp 61-86.

- **DOHLE, G R. 2015.** « Male Factors in Couple's Infertility». In: MIRONE, Vincenzo (ed). *Clinical Uro-Andrology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 197-201. DOI 10.1007/978-3-662-45018-5_12

- **FAASSE, Mark A. NIEDERBERGER, Craig S.** May 2012. «Epidemiological Considerations in Male Infertility ». In: PAREKATTIL, Sijo J. AGARWAL, Ashok (eds). *Male Infertility*. New York: Springer, pages 131-142.

- **GODWIN, Meniru I.** «Cambridge Guide to Infertility Management and Assisted Reproduction ». Cambridge, Cambridge University Press, November 2001, 276 pages.
- **Lawrence. Anna M, Chandrasekar. Thenu,** 2015. «Male Infertility and Prostate Ultrasound ». In: PORTER, Christopher., WOLFF, Erika (eds.), *Prostate Ultrasound: Current Practice and Future Directions*, Springer Science New York, pp 87- 100.
- **RAGAB, Ahmed Ragaa A.** December 2014. «Infertility». In: Encyclopedia of Global Bioethics. Pages 1-12. Springer. DOI 10.1007/978-3-319-05544-2_243-1
- **SHARMA, Rakesh. AGARWAL, Ashok.** 2011. «Spermatogenesis: An Overview ». In: ZINI, Armand. AGARWAL, Ashok. (eds). *Sperm Chromatin: Biological and Clinical Applications in Male Infertility and Assisted Reproduction*. Springer Science. pp 02-44.
- **TURCHI, Paolo.** 2014. «Prevalence, Definition, and Classification of Infertility». In: CAVALLINI, Giorgio. BRETТА, Giovanni.(eds.), *Clinical Management of Male Infertility*, Springer, pp 5-11. DOI: 10.1007/978-3-319-08503-6₂.
- **WEINBAUER, Gerhard F. LUETJENS, Craig Marc. SIMONI, Manuela, NIESCHLAG, Eberhard.** 2010. «Physiology of Testicular Function ». In: NIESCHLAG, Eberhard. BEHRE, Hermann M. NIESCHLAG, Susan. (eds). *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction (3rd Edition)*. Springer Berlin Heidelberg, pp 11-59.

Mémoires

- **(Belmokhtar, 2014)- BELMOKHTAR, Rahma.** *les anomalies Gonosomiques: cas de stérilité.* Mémoire de Magistère: Génétique Moléculaire des Populations Humaines. Université Abou Baker Belkaid Tlemcen, 2014.
- **(Chennaf., 2012)- CHENNAF, Ali.** *Étude des facteurs limitant la fertilité masculine dans la région de Batna.* Mémoire de Magistère: Biologie Animale. Université Hadj Lakhdar Batna, 2012.
- **(Ounis, 2014)- OUNIS, .***Les anomalies morphologiques responsables des infertilités masculines dans l'Est Algérien : Aspect épidémiologique et génétique.* thèse de doctorat: Biologie et Santé. Université Constantine 1, 2014.
- **(Rezgoune-Chellat., 2013)- REZGOUNE-CHELLAT, Djalila.** *Étude cytogénétique et moléculaire des infertilités masculines.* thèse de doctorat: Génétique des pathologies humaines. Université Constantine 1, 2013.
- **(Zeghib., 2009)- ZEGHIB, Fouad.** *Les Infertilités Masculines: Étude Cytologique et Biochimique.* Mémoire de Magistère: Biologie Cellulaire et Moléculaire. Université Mentouri de Constantine, Juin 2009.
- **(Salm, 2010)- SALM, Rachid.** *Dépistage du cancer de la prostate.* Rapport d'orientation: l'Institut de Santé Publique, d'Épidémiologie et de Développement. l'Université Victor Segalen Bordeaux 2, Juin 2010.

webographie

- **Le Midi Libre.** (30 - 04 - 2012). «Le taux d'infertilité en Algérie estimé à 15% », [En ligne], Disponible sur: <<http://www.djazairss.com/fr/lemidi/1204300112> >. Consulté le: 16 Mai 2015.

- **El Watan.** (02-07-2011). «Algérie - 65% de l'infertilité est masculine», [En ligne], Disponible sur : <<http://www.slateafrique.com/2589/algerie-65-pourcent-infertilite-est-masculine>>. Consulté le: 16 Mai 2015.

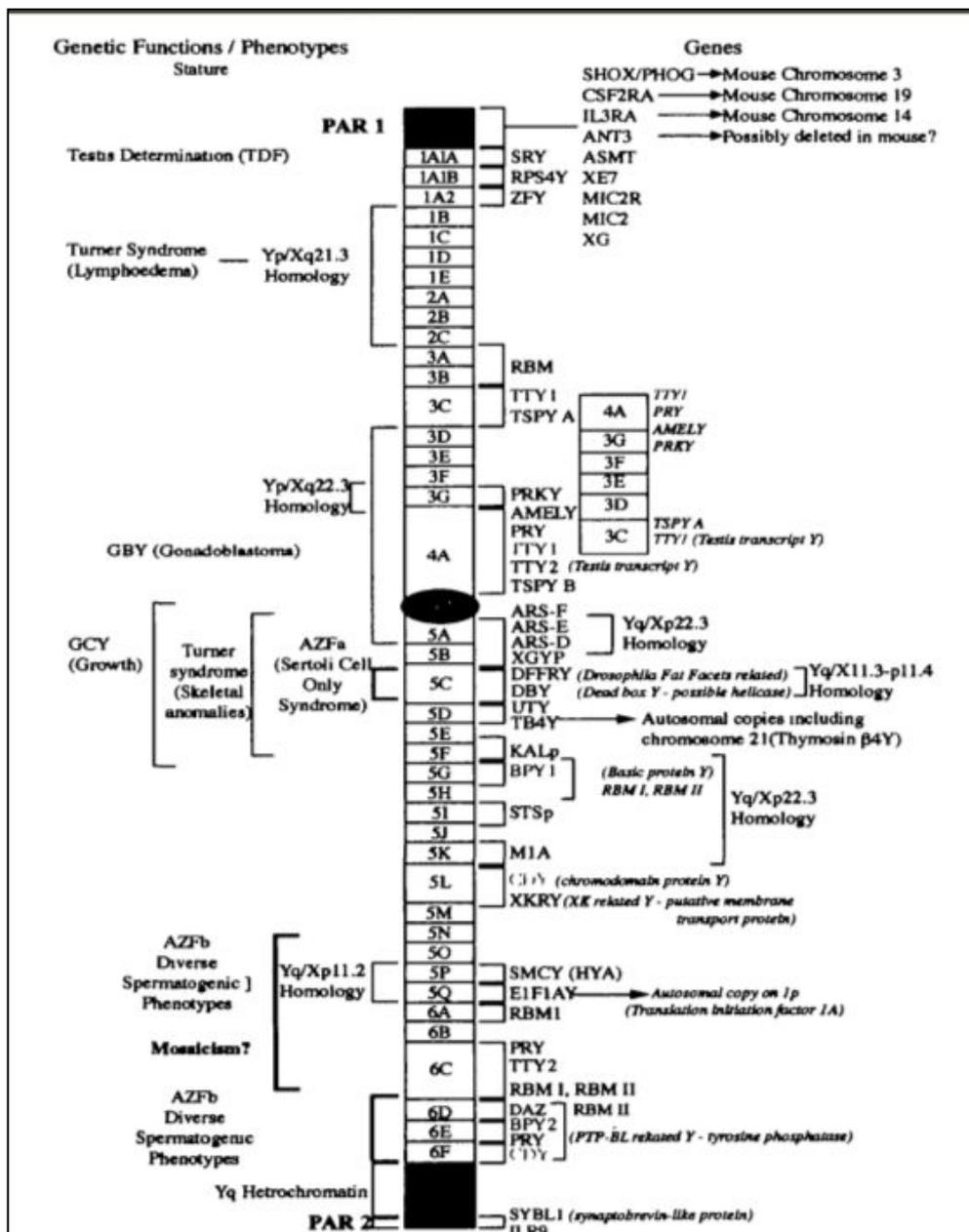
- **GlobalNet.** (31 Mai 2009). «Tunisie, la stérilité touche 15 % de couples», [En ligne], Disponible sur : <<http://www.gnet.tn/temps-fort/tunisie-la-sterilite-touche-15-de-couples/id-menu-325.html>>. Consulté le: 16 Mai 2015.

- **magress.** (30 - 10 - 2009). «Professeur Omar Sefrioui, spécialiste en recherche et traitement de la stérilité "17% de couples marocains souffrent d'infertilité», [En ligne], Disponible sur : <<http://www.maghress.com/fr/marochebdo/85921> >. Consulté le: 16 Mai 2015.

Annexes

Annexes

Annexe I : Le chromosome Y et gènes de fertilité (Hargreave, 2000)



Annexe II : Nomenclature liés à la qualité du sperme (World Health Organisation, 2010).

Terminologie	Signification
Normozoospermie	<ul style="list-style-type: none"> - Tous les paramètres spermatiques sont normaux : - volume de l'éjaculat : 1,5-6 ml - pH : 7,2 -8 - Concentrations des spermatozoïdes : > 20 M/ml nombre total de spermatozoïdes : > 40 millions par éjaculat - Vitalité : > 75 % à la première heure. - Le sperme doit contenir au moins 50 % de spermatozoïdes à mobilité progressive (a+b) ou plus de 25 % à mobilité normale (a) morphologie normale : <ul style="list-style-type: none"> > 30 % de formes typiques (classification de David) > 14 % (classification de Kruger) - Ces valeurs ne sont pas des seuils de "normalité" puisque des grossesses spontanées peuvent être obtenues avec des valeurs inférieurs.
Akinétospermie	- Absence de spermatozoïdes mobiles.
Aspermie	- Absence d'éjaculat /de sperme (an-éjaculation). (ou l'éjaculation rétrograde)
Asthénozoospermie	- Diminution de la mobilité des spermatozoïdes.
Asthénotératozoospermie	- Altération de la mobilité et de la morphologie
Azoospermie	- Absence de spermatozoïdes.
Cryptozoospermie	- spermatozoïdes absent de préparations fraîches mais observé dans une pastille de centrifugation.
hémospemie (haematospermie)	- présence de globules rouges dans l'éjaculat.
Leucospermie	- Présence de polynucléaires dans le sperme .
Nécrozoospermie	- Altération de la vitalité des spermatozoïdes.
Oligo-asthénozoospermie	- petit nombre de spermatozoïdes contenus dans le sperme et dont la mobilité est réduite.
OATS	- Altération des trois variables spermatiques : numération, mobilité et morphologie

Oligo-tératozoospermie	nombre total (ou de la concentration) de spermatozoïdes, et le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux, inférieurs aux limites.
Oligozoospermie	- Diminution de la numération spermatique : - modérée : entre 10 et 20 M/ml - importante : entre 5 et 10 M/ml - sévère : entre 1 et 5 M/ml - extrême : < 1 M/ml
Tératozoospermie	- Augmentation des formes atypiques.

M: million.

- (a) mobilité normale rapide et progressive ;
- (b) mobilité diminuée lente ou faiblement progressive;
- (c) mouvements sur place non progressifs;
- (d) spermatozoïdes immobiles.

Annexe III : Bases génétiques de l'infertilité masculine chez l'homme: des défauts de la spermatogenèse et la fonction des spermatozoïdes (Matzuk et al., 2008)

spermatogenèse anormale	ATM; ATMAC; DAZL; ERCC2; GTF2A1L; JUN; NLRP14; NRB0B1; POLG; PRM1; PRM2; SDHA; SOX8; XRCC1; YBX2
Azoospermie	APOB; ACSBG2; ART3; ATM; BOULE; BPY2; BRCA2; CDY1; CFTR; CREM; DAZ; DDX25; DDX3Y; DRFFY; ERCC1; ERCC2; FASLG; FHL5; FKBP6; HNRNPC; HSFY1; KLHL10; LAP3; MBOAT1; MEI1; MLH1; MLH3; MTR; NLRP14; PRDM16; RBMX; RBMY1A1; RBMY1F; SPATA16; SYCP1; SYCP3; TAF7L; TGIF2LX; TSPY; TSSK4; UBE2B; USP26; UTP14C; USP9Y; UTY; XPC; XPD; XRCC1; YBX2; ZNF230
Oligospermie	MT-ATP6; EGF; FASL; H19 et MEST; KLHL10; PIGA; PRM1; PRM2; SHBG; SDHA; TSSK4; UBE2B; VASA
Asthénospermie	AKAP3; AKAP4C; CATSPER2; DNMT3B; DHAH5; DNAH11; DNAL1; PDYN; GNA12; Mitochondrial DNA; MTHFR; MT-ND4; PIGA; POLG; PPM1G; PRKAR1A; SHBG; SPAG16; TEK1; TEK2; TPN1; TPN2; TXNDC3; T mt DNA haplotypes
Tératospermie	AURKC; PRM1; PVRL2; SPATA16; SP1
Oligoasthénotératospermie	JUND; mt-ND4; NALP14
Oligoasthénotératospermie	MTRR; IL1B; SABP
Acrosome ou la fertilisation	POIA3
altération d'ADN	GSTM1
infertilité	AR; GSTM1 KIT; KITLG; IL1A; OAZ3; PRM1; TSPY; AR; GSTM1 KIT; KITLG; IL1A; OAZ3; PRM1; TSPY;
effet varicocèle	MT-ATP6; MT-ATP; CACNA1C; MT-CO1; MT-CO2; MT-ND3
anomalie chromosomiques	Anomalie du nombre des chromosomes sexuelle (Klinefelters, XXY-XXXXY) Anomalie structurale (translocations, inversions or délétions) microdélétion du chromosome Y, Homme XX ou femme XY.

**Troubles systémiques qui affectent
la fertilité**

syndrome de Kartagener
Noonan (PTPN11)
Anémie de Fanconi (FANCA)
Drépanocytose (HBB)
Dystrophie myotonique (DMPK)
 β -thalassémie

Annexe I: Gènes et familles de gènes du chromosome Y

Séquence	Gène	Nom du gène	Locus	N° de copie	Fonction	Homologues	Réf
PAR1	CSFR2Ra	Colony stimulating factor 2 receptor, alpha, low-affinity, (granulocyte-macrophage)	Yp11.3-Yp11.3	1	Récepteur de cytokine	Xp22.32-Xp22.32,	[1], [2],[4]
	SHOX	Short stature homeobox-containing		1	Homeodomain transcription factor	+	[1],[4]
	IL3RA	Interleukin-3 receptor a subunit	Yp11.3-Yp11.3*	1	Interleukin 3 receptor	Xp22.3-Xp22.3*,	[1], [2],[4]
	ANT3	Ademine nucleotide translocase		1	Cellular energy metabolism	+	[1], [4]
	ASMTL	Acetylserotonine methyltransferase-like	Yp11.3-Yp11.3	1	Putative methyltransferase	Xp22.3-Xp22.3,	[1], [2],[4]
	ASMT	Acetylserotonine methyltransferase	Yp11.3-Yp11.3	1	Catalyst for melatonin synthesis	Xp22.3-Xp22.3	[1],[2],[4]
	XE7	X escapee	/	1	Encodes two hydrophilic proteins of unknown function	+	[1], [4]
	PGPL	Pseudoautosomal GTP binding protein-like	/	1	Putative GTP-binding protein	+	[1], [4]
	MIC2	MIC2	Yp11.3-Yp11.3	1	Encodes 12E7 antigen Expression of XG and MIC2 on erythrocytes	Xp22.32-Xp22.32,	[1], [2],[4]
	TRAMP	TRAMP	/	1	Sequence homology with transposases, maybe involved in transposition	+	[1]
PAR2	IL9R	Interleukin 9 receptor	Yq12-Yq12	1	Cytokine receptor	Xq28-Xq28*,	[1], [2],[4]
	SYBL1	Synaptobrevin-like 1	/	1	Putative membrane protein, may be involved in synaptic signalling	+	[1], [4]
	HSPRY3	Human-sprouty 3	/	1	Putative intracellular modulator of FGF and EGF receptor tyrosine kinase activity which antagonises ras/MAP kinase signalling	+	[1], [4]
	CXYorf1	CXYorf1 protein	/	1	Unknown function	+	[1], [4]

Séquence	Gène	Nom du gène	Locus	nb de copie	Fonction	Tissue expression	homologues	Réf
X-transposed	TGIF2LY	TGFB-induced factor homeobox 2-like, Y-linked	Y-Y	1		Testis	TGIF2LX (X chr.) TGIF2 (Chr. 20)	[3], [4], [5]
	PCDH11Y	Protocadherin 11 Y-linked	Yp11.2- Yp11.2	1	Transmembrane proteins (major constituents of the cadherin superfamily) serving as mediators of cell adhesion and signaling.	Fetal brain, , the X and Y copies display different regulation	PCDH11X (X chr.)	[2], [3], [4], [5]
X-degenerate	SRY	Sex determining region Y, TDF, testis determining factor	Yp: 1A1A Yp11.3- Yp11.3	1	Transcriptional activator of SOX9.	Predominantly testis	SOX9 (X chr.)*49 sox3*58	[1], [2] [3], [4] [5]
	RPS4Y1	Ribosomal protein S4 Y-linked isoform 1	Yp: 1A1B Yp11.3- Yp11.3	1	Probable ribosomal protein subunit that regulates mRNA binding to the ribosome.	Ubiquitous, the X and Y copies display significant differences in expression levels	RPS4X (X chr.) RPS4Y2 (Y chr.)	[1], [2], [3], [4] [5]
	ZFY	Zinc finger protein, Y-linked	Yp: 1A2 Yp11.3- Yp11.3	1	Transcription factor involved in the mid-pachytene spermatocyte apoptosis pathway.the timing of expression in the germline varies between the X and Y copies	Ubiquitous	ZFX (X chr.)	[1], [2] [3], [4] [5]
	AMELY	Amelogenin Y	Yp: 4A Yp11.2- Yp11.2	1	Extracellular matrix protein, major component of tooth enamel and regulator of tooth eruption.	Teeth	AMELX (X chr.)	[1], [2] [4], [5]
	TBL1Y	Transducin (beta)-like 1Y-linked, TBL1	Yp11.2- Yp11.2	1	Possible pseudogene belonging to a family of transcriptional regulators	Fetal brain, prostate	TBL1X (X chr.) TBLR1 (Chr. 3)	[2], [3] [4]
	PRKY	Protein kinase, Y-linked,	Yp: 3C-4A Yp11.2- Yp11.2	1	Variant of a X-encoded protein kinase, lost a coding exon.	Ubiquitous (transcript-only)	PRKX (X chr.)	[1], [1] [3], [4] [5]
	USP9Y (or DFFRY)	Ubiquitin specific protease 9 Y or Drosophila face facets related Y)	Yq: 5C Yq11.2- Yq11.2	1	Ubiquitin-specific protease tentatively linked to protein turnover in spermatogenesis	Ubiquitous	USP9X (X chr.)	[1], [2] [3], [4] [5]
	DBY	Dead box Y	Yq: 5C Yq-Yq	1	Putative RNA helicase	Ubiquitous	+	[1], [2] [3], [4]
	UTY	Ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y chromosome	Yq: 5C Ypter-Yqter	1	Presumable histone demethylase.	Ubiquitous,	UTX (X chr.)	[1], [2] [3]
	TMSB4Y	Thymosin beta 4, pair Y-linked	Y-Y	1	Probable regulator of actin polymerization (deduced by similarity with X copy).	Ubiquitous	TMSB4X (X chr.)	[3], [4] [5]

	NLGN4Y	Neurologin 4 isoform YY linked	Y-Y	1	Cell adhesion molecule with postsynaptic localization (deduced by similarity with X copy).	Fetal brain, brain, prostate, testis	NLGN1 (Chr. 3) NLGN2 (Chr. 17) NLGN3 (X chr.) NLGN4X (X chr.)	[2], [3] [4], [5]
	CYorf15A	Chromosome Y open reading frame 15A	Y-Y	1	Unknown function	Ubiquitous	CXorf15	[3],[4]
	Cyorf15B	Chromosome Y open reading frame 15B	Yq11.22- Yq11.22	1		Ubiquitous	CXorf15	[3], [4]
	SMCY	Selected mouse cDNA, Y	Yq: 5P Ycen- Yq11.23	1	Function unknown, encodes two H-Y antigen epitopes	Ubiquitous	SMCX	[1], [2] [3], [4]
	EIF1AY	Eukaryotic translation initiation factor 1A, Y chromosome	Yq: 5Q Ypter- Yqter, Yq11.22- Yq11.22	1	Initiation of translation	Ubiquitous	EIF1AX	[1], [2] [3],
	RPS4Y2	Ribosomal protein S4 Y isoform 2	Yp: 1A1B Yp11.3- Yp11.3	1	Probable ribosomal protein subunit that regulates mRNA binding to the ribosome.	Testis and prostate-specific	RPS4X (X chr.) RPS4Y1 (Y chr.)	[1],[2] [3],[4] [49]
Ampliconic	TSPY	Testis-specific protein, Y-encoded	Yp: 3C+5 Yp-Yp Ypter- Yp11.2	~35 variable	Presumable androgen-dependent regulator of early germ cell development. Putative functions in cell cycle regulation.	Testis and prostate-specific*49	TSPYL2 (X chr.) TSPYL1 (Chr. 6) TSPYL4 (Chr. 6) TSPYL5 (Chr. 8) TSPYL6 (Chr. 2)	[1],[3] [4],[5]
	VCY	Variable charge Y	Yq: 6A	2 VCY and VCY1B	Unknown function, possible nucleoli-related regulator of ribosomal assembly.	Testis	VCX (X chr.) VCX2 (X chr.) VCX3A (X chr.) VCX3B (X chr.)	[1], [3] [4], [5]
	XKRY	X Kell blood group precursor-related, Y-linked	Yq: 5L Yq11.22- Yq11.22	2 XKRY and XKRY2	Putative multipass transmembrane protein involved in gamete interaction.	Testis	XKRX (X chr.)	[1], [2] [3],[4] [5]
	CDY	Chromodomain protein, Y-linked	Yq: 5L, 6F Yq11.22- Yq11.22	4 CDY1, CDY1b, CDY2a CDY2b	Transcriptional co-repressor with histone acetyltransferase activity. Postulated role in gene expression regulation and chromatin remodeling.	Testis	CDYL (Chr. 6) CDYL2 (Chr. 16)	[1], [2] [3],[4] [5]
	HSFY	Heat shock transcription factor Y	Y-Y	2	Transcription factor.	Testis	HSFX1 (X chr.) HSFX2 (X chr.)	[3],[4] [5]
	RBMX	RNA binding motif Y	Yp+q Yq11.23- Yq11.23	6	RNA-binding protein involved in RNA splicing and metabolism, signal transduction and meiotic regulation.	Testis	RBMX (X chr.) RBMX2 (X chr.) RBMXL3 (X chr.) RBMXL1 (Chr. 1) RBMXL2 (Chr. 11)	[1],[2] [3],[4] [5]

	PRY	Putative tyrosine phosphatase protein-related Y	Y: 4A, 6E Yq11.22- Yq11.22	2 PRY PRY2	Putative pro-apoptotic signaling molecule.	Testis	/	[1],[2] [3],[4] [5]
	BPY2	Basic protein Y 2		3 BPY2, BPY2b BPY2c	Proposed role in cytoskeletal regulation.	Testis	/	[3],[4] [5]
	DAZ	Deleted in azoospermia	Yq: 6F Yq12-Yq12, Yq11-Yq11	4 DAZ 1 to 4	RNA-binding protein, regulates pre-meiotic transcript transport/storage and translation initiation.	Testis	DAZL (Chr. 3) BOLL (Chr. 2)	[1],[2] [3],[4] [5]

[1]- (Quintana-Murci et al., 2001).

[2]- (Ali et Hasnain., 2003).

[3]- (Skaletsky et al., 2003).

[4]- (Bianchi et al., 2006).

[5]- (Navarro-Costa., 2012).

Annexe V : Anomalies structurales du chromosome Y associées à des altérations de la spermatogenèse (Navarro-Costa., 2012)

nom de variante	phénotype de la lignée germinale	Gènes / familles de gènes altérés	extension	Mécanisme moléculaire responsable de réarrangement
Deletions AZFa	Absence totale de cellules germinales dans les testicules.	USP9Y et DDX3Y	800 kb	La recombinaison homologue intrachromosomique entre deux éléments flanquant le rétrovirus endogènes humains (HERV)
AZFb (P5/proximal P1 deletion)	Arrêt de la maturation, pratiquement de toutes les cellules germinales en développement.	XKRY, CDY, HSFY, KDM5D, EIF1AY, RPS4Y2, RBMY1A1, PRY, BPY2 et DAZ	~ 6 Mb	Recombinaison homologue intrachromosomique entre les domaines proximales des palindromes P5 et P1. Une minorité de ces délétions sont aussi le résultat de mécanismes de recombinaison non-homologie.
AZFb + c (P5/distal P1 deletion)	Identique au délétions d'AZFb.	Délétion complète de la familles des gènes BPY2 et DAZ.	~ 8 Mb	Recombinaison homologue intrachromosomique entre les domaines proximales des palindromes P5 et P1. Une minorité de ces délétions sont aussi le résultat de mécanismes de recombinaison non-homologie.
AZFc (b2/b4 deletion)	diminution significative de la production des spermés, en raison d'un degré variable de l'atrophie des cellules germinales dans le testicule.	BPY2, DAZ et CDY	~ 3.5 Mb	La recombinaison homologue intrachromosomique entre les amplicons B2 et B4 situé dans la partie distale des palindromes P3 et P1 respectivement.

gr/gr (partial AZFc)	Facteur de risque d'altération de la spermatogenèse chez plusieurs populations européennes et océaniques.	Identique au délétions AZFc, mais les trois familles de gènes ne sont pas supprimés dans leur intégralité.	~ 1.6 Mb	Recombinaison homologue intrachromosomique entre les deux «blocs d'amplicon» verts et rouges dans AZFc.
b2/b3 (partial AZFc).	Facteur de risque d'altération de la spermatogenèse chez plusieurs populations asiatiques. Ce risque est en fonction de la présence des duplication supplémentaires de AZFc.		~ 1.8 Mb	Recombinaison homologue intrachromosomique, dans le domaine AZFb/ c partiellement inversé. L'identité des amplicons impliqués dans l'événement de recombinaison varie en fonction du type d'inversion.
Duplications isodicentrique Y	cas Variables: altération de la spermatogenèse, l'inversion de sexe et monosomie X ont été attribués à ce réarrangement structural.	Variable (dépend de l'identité de la recombinaison intermédiaire).	Variable (dans l'échelle Mb)	recombinaison homologue non allélique Interchromatid entre les bras inversées des palindromes Y.
Duplications partielles AZFc	Facteur de risque d'altération de la spermatogenèse chez plusieurs populations asiatiques.	BPY2, DAZ et CDY	Variable (~2 Mb)	Produits réciproques des suppressions partielles AZF

Annexe VI : Syndromes cliniques et infertilité masculine (Vialard et al., 2009)

Syndrome	Position	Locus du gène
Insensibilité aux androgènes	Xq11-12	AR
Azoospermie (Y-linked)	Yq11	Multiples gènes AZF
Syndrome de Bardett-Biedl	16q21	BBS2
Mucoviscidose (CF)	7q31.2	CFTR
Aplasia congénitale des canaux déférents (CBAVD)	7q31.2	CFTR
Cryptorchidie	19q13.2	INSL3 , LGR8-GREAT
Dystrophie myotonique (DM-1)	19q13.2-q13.3	DMPK
X-Fragile (FRAXA)	Wq27.3	FMR-1
Globozoospermie	6q21 6q13.3-2	CAL/GOPC CSNK2A2
Syndrome de Gorlin (PPS)	1q32	Non connu
Kallmann 1 (X-linked) Anosomia	Xp22.3	KAL-1
Kallmann 2 (dominant)	8p11-12	FGFR1
Kallmann 3 (recessif)	Non connu	Non connu
Syndrome de Kartagener	5p15-p14 7p21	DNAH5 DNAH11
Syndrome de McKusick-Kaufman (MKKS)	20p12	MKKS
Syndrome de l'ADN cassure mitochondriale	15q25	POLG
Syndrome de Noonan (NS1)	12q24.1	PTPN11
Syndrome de Prader-Willi (PWS)	15q11-13	SNRPN Ncedin
Syndrome de Rothmund-Thomson (RTS)	8q24.3	RECQL4
Syndrome de Stein-Leventhal (PCO)	15q23-24	CYP11A
Syndrome de Werner (WRN)	8p12-p11.2	RECQL2
Syndrome de Denys-Drash	11p13	WT1

Annexe VII : Les causes d'infertilité masculine selon des modèles murins (Matzuk et al., 2008)

– Cellules de Sertoli, périvitulaire, Leydig et / ou cellules interstitielles	
<p>- Les facteurs de croissance, et les récepteurs gonadotrophine, - adhésion cellule-cellule, des stéroïdes et des récepteurs, transduction du signal, des complexes de jonction.</p>	<p>Acvr2a , Adralb, Ar , B4galnt1, Bcl2l2 , Cdkn2c , Cdkn2e Cldn11, Cyp17a1 , Cyp19a1 , Dhh , Dmrt1 , Dnaja1 , Efv5, Gdi1, Gdnf , Gja1 , Hmga1 , Hmgb2 , Inha, Kitl, Lhcgr, Man2a2, Mtap7 , Nr0b1 , Rbp4, Sfl , Sbf1 Serpina5, Slc12a2 , Sox8.</p>
– Spermatogonies (mitose et apoptose)	
<p>Pro-apoptotique, la survie, et l'apoptose, les cellules souches</p>	<p>Adamts2, Apaf1, Bax' , Bmp8b, Csf1 , Cdkn2d, Cyp19a1 , Dazl , Ddx4 , Dnmt3l, Etv5 , Gdnf, Gja1, Kit , Limk2 , Nanos2, Pin1 , P2rx1, Pi3K , Rbp4 , Rhox5 , Slc19a2 , Sohlh2 , Stra8, Sycp2, Utp14b , Zbtb16.</p>
– Spermatocytes (méiose)	
<p>- Appariement des chromosomes La recombinaison homologue l'intégrité du génome Réplication et la réparation de l'ADN</p>	<p>Adralb, Atm, Bat3, Bcl2, Bcl6, Bcl2l2, Bcl2l1, Bmp8a, Brca2, Btrc, Bsg, Bub1b, Cdk2 , Ccna1, Cks2 , Cnblip1, Cnot7 , Cpeb1 , Cstf2t , Csd , Dazap1, Dmcl, Dmrt1, Egr4, Ercc1 , Exo1 , Fanca , Fkbp6, Fus , Gal3st1, Gnpat , H2afx, H3f3a, Hsf1 , Hsf2 , Hspa2, Ihpk1 , Limk2 , Lmna , Mei1 , Mlh1 , Mlh3 , Morc1 , Msh4 , Msh5 , Mybl1 , Ovol1, Pafah1b2 , Piwil2 , Piwil4 , Pms2 , Psmc3ip , Rad51c , Rara , Rarb , Rec8 , Slc25a4, Sgol2 , Siah1a , Slc25a4, Smc1b, Sohlh1, Stx2, Spo11, Sycp1 , Sycp2, Sycp3, Tert , Tex11, Tex14 , Tex15 , Trip13, Ubb , Ube2b, Ubr2.</p>
Spermatides (différentiation)	
<p>remodelage cellulaire extrusion cytoplasmique Condensation de la chromatine condensation nucléaire Spermiation</p>	<p>Adamts2, Bcl2l2 , Cadm1 , Camk4, Cib1 , Crem , Csnk2a , Cugbp1, Ddx25, Fndc3a, H1fnt , Hip1 , Ihpk1 , Krt9 , Lmtk2, Mtap7, Pank2 , Pacrg , Pafah1b1 , Parp2 , Piwil1 , Prm1 , Prm2 , Prnd, Ppp1cc , Pygo2 , Rpb4 , Rnf17, Six5 , Slc12a2 , Slc4a2, Styx, Tdrd1 , Tbp11 , Theg, Tlp , Tnp1 , Tnp2 , Ube2b, Ybx2.</p>

Spermatozoïde (maturation, motilité et fertilisation)

Maturation dans les voies génitales
Capacitation
Fertilisation
décondensation nucléaire

Ace , Acr , Adad1 , Adam2 , Adam3 , Apob , Bub1 , Clgn , Csnk2a2 , Dnahc1 , Egr4 , Inpp5b , Jund , Klhl10 , Pebp1 , Prm1 , Prm2 , Rbmx12 , Rxrb , Ros1 , Spnr , Tekt2 , Tekt3 , Tekt4 , Tnp1 , Tnp2 , Pcsk4 , Vdac3.

motilité hyper-activé

la pénétration de Sperme, zona et l'œuf

Numération

Adamts2 , Arl4 , Ahr , Apob , Cenpb , Gamt , Gdi1 , Hspa4l , Pacrg , P2rx1 , Rxfp1 , Sh2b1 , Slc12a2 , Spag16 , Spag9 , Tsn , Vipr2.

Oligoteratozoospermie

Fhl5 , Gmcl1 , Nphp1 , Prkar1a.

Oligoasthénotéatospermie

Apob , Brdt , Cadm1 , Cnot7 , Cstf2t , Gmcl1 , Jam3 , Polg , Prnd , Rhox5 , Spg6 , Taf7l.

Défaut de Morphologie

Aff4 , Agtpbp1 , Bbs2 , Bbs4 , Cd59b , Cd81 , Csnk2a2 , Gba2 , Gopc , Gm101 , Hrb , Hook1 , Il2rn , Sepp1 , Sept4 , Smpd1 , Spem1 , Tssk6 , Zpbp , Zpbp2

défaut de mobilité

Apob , Adcy3 , Adcy10 , Akap4 , Agtpbp1 , Atp2b4 , Bbs1 , Bbs4 , CatSper1 , CatSper2 , CatSper3 , CatSper4 , Cd59b , Cga , Fllr , Gapdhs , Gm101 , Inpp5b , Ldhc , Lrp8 , Mthfr , Nsun7 , Pcsk4 , Pla2g4c , Pgs1 , Pltp , Pold4 , Prkaca , Prkar1a , Ros1 , Sirt1 , Slc9a10 , Smcp , Spag6 , Sult1e1 , Taldo1 , Tcf21 , Tekt2 , Tetk3 , Tetk4 , Tekt18 , Tgfb1 , Theg , Vdac3.

Fertilisation.

Acr , Ace , Adam2 , Adam3 , B4galt1 , Cadm1 , Camk4 , Cib1 , Cplx1 , Crem , Crisp , Fndc3a , HexbB , Mfge8 , Mmel1 , Pgap1 , Piwil1 , Plcb1 , Plcd4 , Prnd , Pvr12 , Rasip1 , Rbmx12 , Spam1 , Tyst2 , Wipf3 , Zpbp.

Autres défauts de fertilité

Acvr2a , Adora1, Aire , Amh , Amhr2, Ar , Atf4 , Bcl2l1 , Blimp1 , Bmp4 , Bmp8a , Bmp8b , Ccnd2 , Cdkn2d , Cdkn1b , Cdkn1c, Cenpb, Cga, Cpe, Crtc1 , Crybb2, Csf1 , Csf2 , Cux1 , Cyp11a1 , Ddr2 , Dhcr24, Ddr2 , Ddx4 , Dmrt1, Egr1 , Emx2, Esr2 , Fanca , Fancg , Fancg, Fancg, Fgf9 , Fkbp4, Fos , Foxa3 , Fmr1 , Fshb , Fshr , Gdf7 , Gdi1 , Ggt1 , Ghr , Gja1 , Glp1 , Gnrh , Gnrh5 , Gnrhr1 , Gpr64 H3f3a, HexbB , Hoxa10 , Hoxa11, Hnf1a , Immp2l, Inha , Ins13 , Igf1 , Insr , Kiss1r, Kiss , Kit , Kitl1 , Lep , Lepr , Lfng , Lgr4, Lhb, Lhcgr , Limk2, Lipe , Lrp8 , Mark2 , Mc4r , Mtmr2 , Nanos2 , Nanos3 , Ncoa1 , Ncoa6 , Nhlh2 , Nhlh2 , Nmp4 , Nos1 , Npc1 , Nr0b1, Nr2c2, Nr5a1 , Ncoa1, Otx1 , Oxt , Oxtr , Pax8 , Ppm1d , Prdm1, Piga , Pou1f1 , Prop1 , P2rx1 , Pcyt1b , Rad23b, Rara , Rxrb , Rec8, Rxfp2, Sbf1 , Serpine2, Smad1 , Smad5 , Sprm1, Sox3 , Stat3 , Sc19a2, Sh2b1 , Sp4 , Star , Stat3 , Strpb , Taf4b, Tert , Tial1 , Top3b, Ube3a, Utp14b , Vdr , Vhlh , Wnt7a, Wt1 , Zfx , Zbtb16.

Annexe VIII : Bases génétiques des défauts de différenciation de sexe masculin sont multifactorielles (Matzuk et al., 2008)

<p>Ambiguïté génitale</p>	<ul style="list-style-type: none"> • la biosynthèse des stéroïdes CYP11A1; CYP11B1; CYP11B2; CYP17; CYP21; CYP21A2; HSD3B2; POR; SRD5A2; StAR. • Autres AMH; AMHR2; AR; ARX; LHCGR; LHR; NRFA1; NR0B1; RSP01; SOX9; SRY; WT1.
<p>Dysgénésie Gonadique</p>	<p>CYP11A1; Y chromosome dicentrique ; NR5A1(Sf1); NR0B1; SRY; SRY promoter; WT1</p>
<p>Hypospadias</p>	<p>AR; ATF3; MAMLD1 (CXorf6); Dicentric Y; EFNB2; ESR1; ESR2; FGFR2; HOXA13; HOXD11; HOXD13; INSL3; MID1; RXFP2 (LGR8/GREAT).</p>
<p>Micropénis</p>	<ul style="list-style-type: none"> • altérations géniques ALKBH1; AHRR; ALG12; ESR1; GHR; NRSA1; SOX2; TBX3. • altération structurale des chromosomique Chromosomes 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12,14, 15, 16, 17, 18 and 21. • altération numériques des chromosomiques Ring X, Y; Trisomy 14; 49, XXXXY; 47, XYY.
<p>Cryptorchidie</p>	<p>ARX; CYP19A1; DHH; ESR1; HOXD13; INSL3; KRAS; NRSA1; PTPN11; PWCR; RAF1; RXFP2; SOS1; SOX2; SPAG4L; SPATA12; ZNF214; ZNF215.</p>
<p>cancer des testicules</p>	<p>AR; BMP; CTNNB1; DIABLO; DND1; EGFR; EEF1A; FOXL2; GNAS; HMGA1; HMGA2; KIT; KND1; KRAS; NANOG; PATZ1; POLG; POU5F1; REG1; SMAD1; SMAD5; SOX2; SOX17; SPATA12. TSPY1; WT1</p>
<p>Vas déférents</p>	<p>CFTR, HNF1B</p>

Annexe IX : Questionnaire

1. Indiquez

- votre Age : |__|__| ans
- votre poids : |_____| kg
- votre taille : |_____| cm
- origine wilaya: |_____|

2. Quelle est votre situation familiale ?

- Célibataire
- marié
 - Âge de son conjoint?..... |__|__| ans
 - durée de la vie commune?.....|_____|
 - Avez-vous déjà des enfants?..... Oui Non

3. Consommez-vous du tabac, alcool, ou toxicomanies?

.....

4. Habitude de vie: Bains chauds, conduite prolongée?

- A quelle fréquence: |.....|.....

5. Souffrez-vous d'une maladie ou d'un problème de santé ?

- Oui Non

.....

6. Avez-vous déjà été opéré:

- Oui Non

.....

7. Êtes-vous présentement sous les soins d'un médecin spécialiste?

- Oui Non

.....

Si oui,

- est ce que c'est la première fois?

- Oui Non

- quel est le traitement suivi?.....
- avez-vous réalisé des examens cliniques:
 - bilan hormonale.
 - imagerie médicale (échographie).
 - Spermogramme.
 - Un caryotype.

Milieu professionnel

1. Pouvez-vous décrire votre métier ? Quels sont les horaires du travail ?

3. Depuis combien de temps exercez-vous ce métier ?

4. Milieu et condition de travail? (êtes vous exposé à la chaleur, des produits chimiques.).....

.....

Antécédent familiaux

- nombre de fratrie de votre famille?.....

- Avez-vous dans la famille l'absence involontaire de fratrie?Oui . Non .

.....

Consentement du Patient

Je déclare avoir été informé, oralement et par écrit, des objectifs et du déroulement de l'étude sur les infertilités masculines.

le: |_|_|_|_| | |_|_|_|_| | |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|
 jour mois année

La signature du patient

.....

Les informations médicales que vous communiquez sont couvertes par le secret professionnel.

Annexe X : Protocole d'Extraction de l'ADN

Technique au NaCl

Préparation des leucocytes (le 1^{er} jour)

1. Dans un tube Falcon 50ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE 20:5 laisser 10 min dans la glace.
2. Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm)
3. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
4. Ajouter quelques ml de TE 20:5 au culot et le remettre en suspension avec une pastille stérile.
5. Compléter à 25 ml avec du TE et laisser 10 min dans la glace.
6. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
7. 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'ADN: (le 2^{ème} jour)

1. transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon 15 ml .
2. Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NACL 400mM, EDTA 2mM, Tris 10 mM, ph 8.2) en dilacérant le culot avec une palette stérile.
3. Ajouter 200 µl de SDS à 10 % .
4. Ajouter 100 µl de protéinase K à 10mg/ml.
5. Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit.
6. Le lendemain refroidir dans la glace.
7. Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
8. Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
9. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
10. 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.
11. Si la pelote d'ADN ne se forme pas, laisser éventuellement 30 min à -20°C.
12. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans éthanol à 70%.
13. mettre la pelote d'ADN dans un tube nue.

Solubilisation : (le 3^{ème} jour)

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

Annexe XI : Tampon de lyse

- Tris 1M --> 1 ml.
- NaCl 5M--> 5 ml.
- EDTA (0,5) --> 0,4 ml.
- H₂O Distillé--> complète au 100 ml.

Annexe XII : Préparation du TBE 10X et 1X

1. TBE 10X

- Tris 108 g
- Acide borique 55 g
- Ajuster le PH à 8,3 avec l'acide acétique glacial
- EDTA 9.3 g
- QSP H₂O pour 1L

2. TBE 1X

- 100 ml de TBE 10X
- 900 ml H₂O

Résumé :

L'infertilité est une affection du système reproducteur définie comme l'incapacité à parvenir à une grossesse clinique après 12 mois ou plus de rapports sexuels réguliers non protégés. Environ 13 à 18 % des couples souffrent de ces affections, et approximativement 20-30 % des cas sont dus à un facteur exclusivement masculin, et 20-30 % est dû à une combinaison des deux facteurs masculins et féminins. Donc le facteur masculin contribue à 50% dans l'infertilité du couple.

Beaucoup de cas d'infertilité idiopathique ont une base moléculaire. Les microdélétions du chromosome Y, souvent indétectables sur le caryotype, sont responsables de la perte des gènes composant le facteur AZF. Ces anomalies surviennent presque toujours de novo et, du fait de l'infertilité, ne sont en général pas transmises à la descendance.

L'objectif : Le but principal de cette étude est de rechercher d'éventuelles microdélétions de la région AZF du chromosome Y chez des patients présentant une infertilité masculine. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée. Ces diverses microdélétions peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine moléculaire/génique.

Patients et méthodes : Des échantillons de sang ont été prélevés sur 33 sujets, et l'ADN a été extrait par la méthode au NACL dans le cadre de la recherche des microdélétions du chromosome Y.

Six couples d'amorces (STS) ont été utilisés pour détecter les microdélétions AZF par PCR.

Résultats : Parmi les patients étudiés, 3 ont une azoospermie, 7 présentent une oligospermie et 5 ont une OATS. Sur les 18 hommes infertiles étudiés, aucun patient n'avait une microdélétion au niveau d'AZF pour tous les marqueurs étudiés.

Conclusion : l'absence de microdélétions dans notre groupe d'hommes infertiles peut être expliquée par la taille de l'échantillon réduite (18 patients). Les données bibliographiques indiquent que la présence des micro-délétions des régions AZF chez les Azoospermiques et oligospermiques sévères peuvent être utilisées comme marqueurs de l'infertilité. D'autre part, la présence d'autres anomalies géniques telles que les anomalies chromosomiques et les mutations peuvent expliquer le cas d'infertilité chez les patients.

Mots clés : Infertilité masculine, PCR, Microdélétions, facteur AZF.

الملخص:

العقم هو مرض يصيب الجهاز التناسلي يعرف بأنه عدم القدرة على الحمل بعد 12 شهرا أو أكثر من الجماع المنتظم دون مواعيد، حوالي 13 إلى 18% من الأزواج حول العالم يعانون من هذا المشكل، وما يقارب 20 إلى 30% من الحالات ترجع إلى العامل الذكوري حصرا، و 20 إلى 30% ترجع إلى العاملين المذكر و المؤنث معا .

- عدد كبير من حالات العقم مجهولة السبب لديها أسباب وراثية.

- الحذف الجزئي في الصبغي Y و الذي غالبا غير ملاحظ بالنمط الوراثي مسؤول عن حذف المورثات الموجودة في

• facteur AZF

• هذه الاختلالات تكون في اغلب الأحيان جديدة و لا تنتقل إلى الاولاد .

الهدف:

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو البحث عن الحذف الجزئي في الصبغي Y في المنطقة facteur AZF عند الأشخاص الذين يعانون من العقم الذكوري و الارتباط بين الاختلالات الوراثية و العقم في تقدم.

هذا الحذف الجزئي يمكن ان يسبب خلل في تشكل الحيوانات المنوية التي تؤدي كنتيجة الى عقم راجع لأسباب وراثية.

الأساليب:

أخذت عينات دم من 33 شخص واستخرج ال ADN في إطار البحث عن الحذف الجزئي في الصبغي Y

استعملت 6 مواقع محددة من ال (STS) لإيجاد الحذف الجزئي في الصبغي Y عن طريق ال PCR .

النتائج:

من بين الأشخاص الذين أجريت عليهم الدراسة 3 كانوا azoospermie و 7 oligospermie و 5OATS - من بين 18 رجل عقيم لا وجود لحذف جزئي على مستوى AZF بالنسبة لل 18 شخص (العينة المأخوذة للدراسة).

الاستنتاج:

غياب الحذف الجزئي في عينة الرجال العقيمين الذين أجريت عليهم الدراسة قد يعود الى صغر العينة 18 شخص فقط.

المعطيات تقول ان وجود الحذف الجزئي في المنطقة AZF عند الأشخاص azoospermie و oligospermie الحادة

يمكن أن يعتبر كدليل للعقم .

من جهة أخرى وجود اختلالات وراثية أخرى كالتشوذ في الصبغيات و الطفرات التي يمكن ان تفسر حالة العقم عند

الرجال .

Summary

Infertility is a disease of the reproductive system defined as the inability to achieve a clinical pregnancy after 12 months or more of regular unprotected intercourse. Approximately 13-18% of couples suffer from these diseases, and approximately 20-30% of cases are due to an exclusively male factor, and 20-30% is due to a combination of both male and female factors. So, the male factor contributes to infertility in 50% of the couple. Many cases of idiopathic infertility have a molecular basis. The Y chromosome microdeletions, often undetectable on the karyotype, are responsible for the loss of the genes comprising the AZF factor. These abnormalities almost always occur de novo and, because of infertility are usually not transmitted to the offspring.

Objective: The main purpose of this study is to investigate possible microdeletions of the AZF region of the Y chromosome in patients with male infertility. The association between genetic defect and clinical parameters was also assessed. These various microdeletions can cause spermatogenic impairment resulting the genetic origin infertility.

Methods: Blood samples were collected from 33 subjects, and the DNA was extracted according to NaCl method in order to study Y chromosome microdeletions. Polymerase chain reaction amplification (PCR) analysis was performed using 6 specific sequence-tagged sites (STS) to detect microdeletions, among AZF regions.

Results: In this study, 3 patients have azoospermia, 7 have oligospermia and 5 have an OATS. among 18 infertile men of our study, no case tested positive for azoospermia-factor microdeletions, for all markers studied.

Conclusion: no microdeletions of AZF in our group of infertile men were detected, and that can be explained by the small size of our population study (18 patients). Literature data indicate that the presence of microdeletions of AZF regions in azoospermic and severe oligospermic men can be used as markers of infertility. On the other hand, the presence of other genetic abnormalities such as chromosomal abnormalities and mutations can explain the infertility cases of patients.

Keywords: male infertility, PCR, microdeletions, AZF factor.

Année universitaire : 2014- 2015	Présenté par : BOUDECHICHE KHADIDJA ROUIBAH AMIRA LYNA
Génétique de l'infertilité masculine (Recherche de microdélétions du chromosome Y)	
<p>Objectif : Le but principal de cette étude est de rechercher d'éventuelles microdélétions de la région AZF du chromosome Y chez des patients présentant une infertilité masculine. L'association entre l'anomalie génétique et les paramètres cliniques a été également évaluée. Ces diverses microdélétions peuvent causer un déficit spermatogénique ayant pour résultat l'infertilité d'origine moléculaire/génique.</p>	
<p>Patients et méthodes : Des échantillons de sang ont été prélevés sur 33 sujets, et l'ADN a été extrait par la méthode au NACL dans le cadre de la recherche des microdélétions du chromosome Y. Six couples d'amorces (STS) ont été utilisés pour détecter les microdélétions AZF par PCR.</p>	
<p>Résultats : Parmi les patients étudiés, 3 ont une azoospermie, 7 présentent une oligospermie et 5 ont une OATS. Sur les 18 hommes infertiles étudiés, aucun patient n'avait une microdélétion au niveau d'AZF pour tous les marqueurs étudiés.</p>	
<p>Conclusion : l'absence de microdélétions dans notre groupe d'hommes infertiles peut être expliquée par la taille de l'échantillon réduite (18 patients). Les données bibliographiques indiquent que la présence des micro-délétions des régions AZF chez les Azoospermiques et oligospermiques sévères peuvent être utilisée comme marqueurs de l'infertilité. D'autre part, la présence d'autres anomalies géniques telles que les anomalies chromosomiques et les mutations peuvent expliquer le cas d'infertilité chez les patients.</p>	
<p>Mots clés : Infertilité masculine, PCR, Microdélétions, AZF.</p>	
<p>Jury d'évaluation : Président du jury : SATTI D Prof Université Constantine1 Rapporteur : CHELLAT-REZGOUNE D MC.B Université Constantine1 Examineur : ZIADA H MC.B Université Constantine1</p>	
<p>Structures de recherche : Laboratoire de Biologie et génétique Moléculaire (UC3), Laboratoire d'analyse médicale IBN SINA (Saint-Jean)</p>	
<p><i>Soutenu publiquement le mardi 30-06-2015</i></p>	