



Impacts du génotype et du phénotype sur la spermatogenèse des patients atteints de mucoviscidose

Dr Ahmed CHARGUI

Service de Biologie de la Reproduction –CECOS



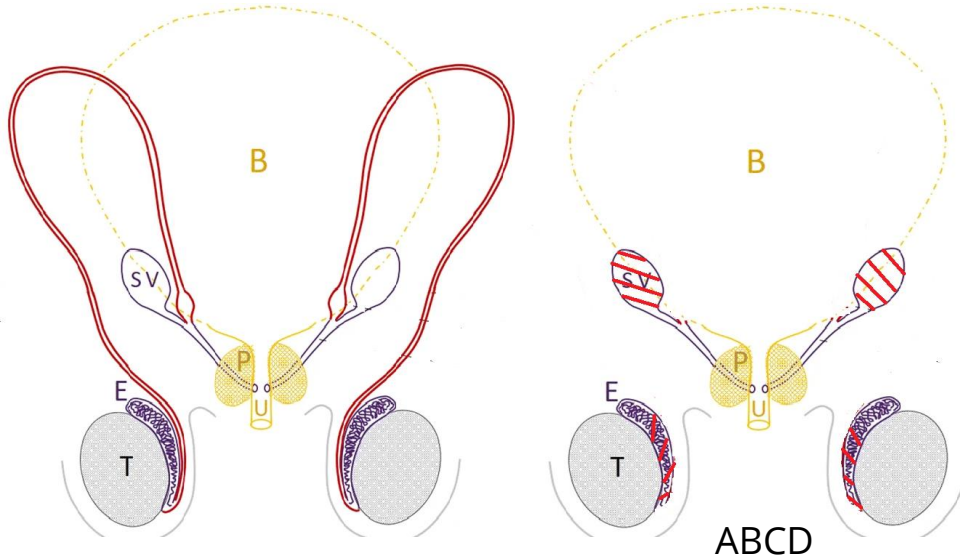
17èmes Journées Scientifiques de la Mucoviscidose
25 et 26/03/2024



FERTILITE ET MUCOVISCIDOSE

- Absence bilatérale des canaux déférents (98%)
- Atrophie ou absence des vésicules séminales
- Atrophie ou absence de la partie distale de l'épididyme

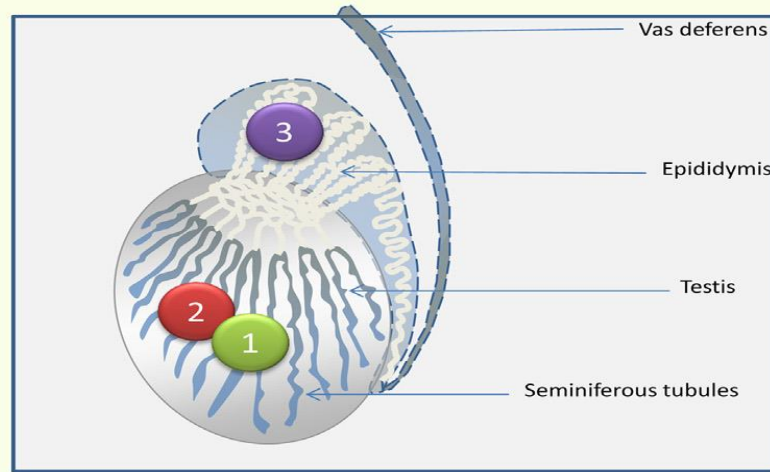
Azoospermie
obstructive



HYPOTHÈSES :

- **Agénésie** des canaux déférents
- **Involution secondaire**
 - Canaux déférents fonctionnels chez le fœtus
 - Obstruction du tractus génital
 - Mécanismes pro-apoptiques

CFTR ET IMPACTS SUR LES VOIES GÉNITALES



Spermatogenesis

Spermiogenesis

Epididymal maturation

Spermatozoon

Tight junctions
Electrolyte and fluid
transport
Fatty acid metabolism

CREB
Protamine 2
Electrolyte and fluid
transport
Fatty acid metabolism

Tight junctions,
Electrolyte and fluid
transport
Fatty acid metabolism

↘ HCO_3^- transport
↘ cAMP production

Pre-meiotic and meiotic steps

Post-meiotic steps

Spermatozoa production and maturation

Spermatogenèse : stade préméiotiques et méiotiques : CFTR-HCO₃⁻ depletion + \searrow AMPC

- **Cellules de Sertoli :**

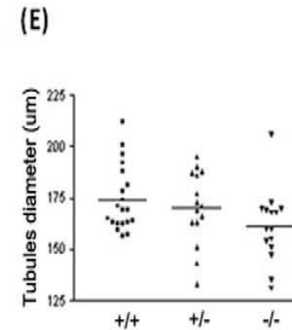
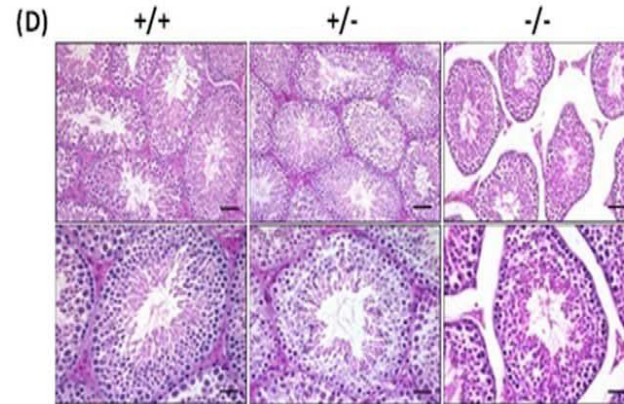
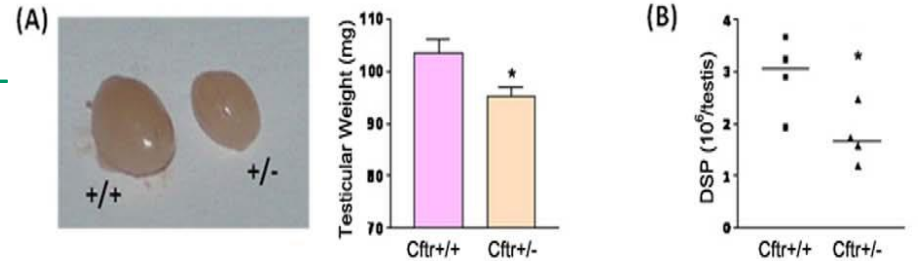
- Défaut de sensibilité à la FSH (\searrow vol. testi + \searrow DSP)

- **Spermatocytes I et spermatides:**

- Défaut d'activation du CREM (a specific spermatid transcription factor)

- **Dans les Tubes séminifères :**

- Perturbation de l'homéostasie par défaut d'interaction avec les AQP9
- Défaut de régulation des protéines des jonctions serrées par activation de la voie COX-2 (cryptorchidism –like)

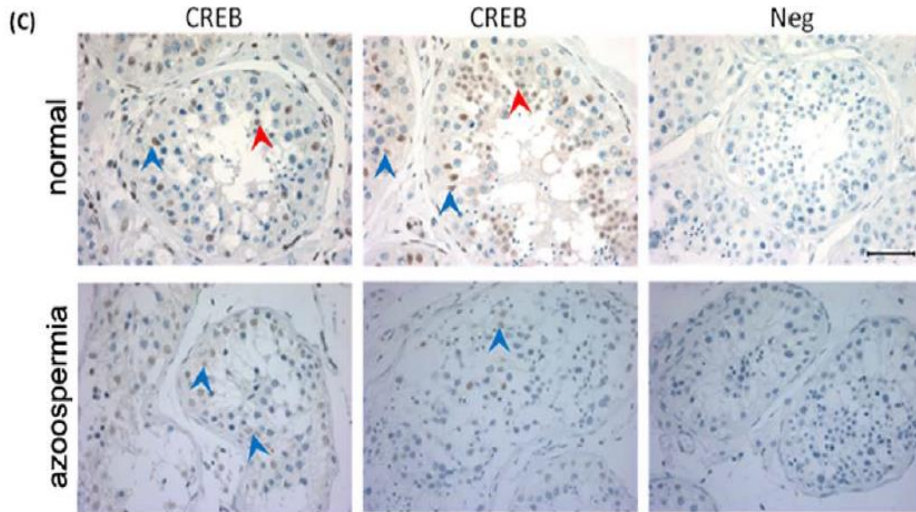
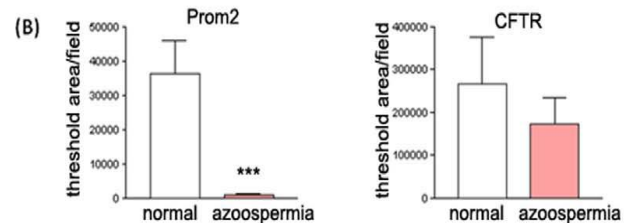
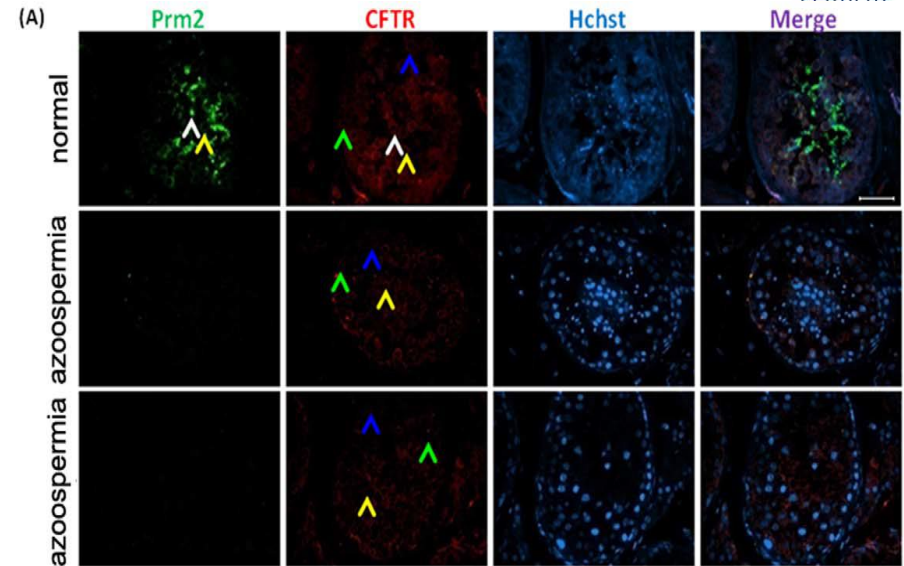


(Xu et al, Plos One 2011)



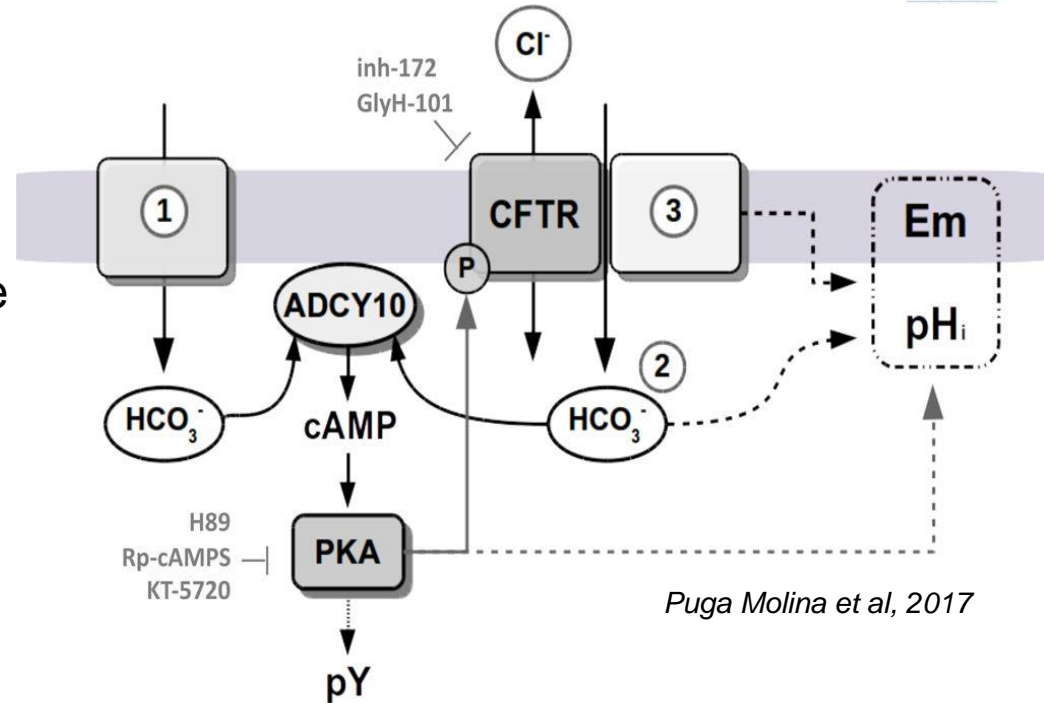
Spermiogénèse (stade post-méiotique)

Défaut de phosphorylation de **CREB** (cAMP responsive element binding protein) et baisse de production de **protamine-2** : mauvaise intégrité et condensation du noyau spermatique



Maturation épидидymaire :

- Défaut d'activation de la capacitation associée à la voie **cAMP/PKA**
- Baisse de l'hyperactivation spermatique (spz mobiles progressifs rapides « a ») mais pas du % total de spz mobiles par défaut d'hyperpolarisation (**Em bas**)
- K.O. CFTR => blocage de la capacitation médiée par l'alcalinisation du **pHi**.



CFTR ET IMPACTS SUR LES VOIES GÉNITALES

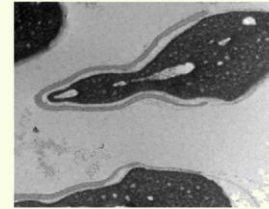
4 Sur le spz :

Baisse de la mobilité et désorganisation de l'acrosome :

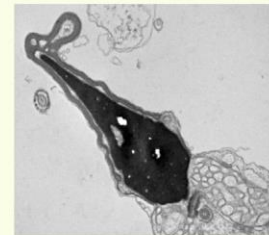
↘ Omega6 –omega3 PUFA + ↗ SFA (sg et épi)

Une anomalie du métabolisme des lipides,
conséquence de la malabsorption des
nutriments et des vitamines liposolubles

Acrosomal membrane of spermatozoa after its maturation in
normal and CF microenvironment



Normal
microenvironment



CF
microenvironment



Yefimova et al., 2019

LA PRISE EN CHARGE DE L'INFERTILITÉ DES HOMMES ATTEINTS DE MUCOVISCIDOSE

- Amélioration de la prise en charge (CRCM)
 - Allongement de l'espérance de vie
- } désir de parentalité

LA PRISE EN CHARGE ANDROLOGIQUE

- Interrogatoire et examen clinique
- Spermogrammes : **azoospermie**
- Biochimie séminale : **hypospermie** et **pH < 7,2**
- Échographie scrotale et carrefour urogénital



LE PRÉLÈVEMENT CHIRURGICAL DE SPERMATOZOÏDES

- **MESA/TESE**
- Examen extemporané
- Si positif : congélation en **paillettes**
- Analyse anatomopathologique de la biopsie testiculaire



LA TENTATIVE D'AMP

- Bilan gynécologique féminin
- Recherche de mutations du gène CFTR ♀
- Stimulation hormonale
- Mise en fécondation par **ICSI**
- Stratégie de transfert d'embryons
- Congélation/vitrification des embryons surnuméraires



- Etude rétrospective (de **janvier 1998 à décembre 2022**)*
- En collaboration avec le CRCM et le service de Biologie Moléculaire de l'hôpital Cochin



BUT DE L'ÉTUDE :

❖ Description :

- Profil clinique et génétique des patients
- Qualité du prélèvement chirurgical de spermatozoïdes et évaluation de la spermatogenèse
- Issues des tentatives d'AMP

❖ Questions posées :

- La sévérité **phénotypique** et **génotypique** peut-elle **impacter**

↗ la qualité du
prélèvement
chirurgical ?

↘ les chances
de réussite
en AMP ?

- **Corrélations** avec la sévérité clinique et génétique du patient ?

LES DONNÉES DES PATIENTS

Clinique

- Âge de l'homme
- CVF, **VEMS**
- **Colonisation à *Pseudomonas aeruginosa****
- **Nombre cures ATB IV***
- **IMC**
- **Insuffisance pancréatique externe**
- Test de la sueur

Génétique

- **Génotype "sévère"**
- **Génotype "modéré"**

Prélèvement chirurgical

- **Origine** (épididymaire et/ou testiculaire)
- Pour l'épididyme : **numération totale, mobilité progressive et totale (NSMP), vitalité** des spermatozoïdes, Examen histologique de la biopsie testiculaire

Tentative AMP

- Âge de la femme
- Infertilité féminine
- ICSI :
 - nombre d'ovocytes matures,
 - **taux de fécondation, taux de clivage embryonnaire (J2/J3) et/ou taux de blastulation (J5/J6)**
- Issues : taux d'implantation, **grossesse clinique, naissance, FCS**

RÉSULTATS

Entre janvier 1998 et décembre 2022 :

64 patients atteints de **mucoviscidose** ayant
bénéficié d'un **prélèvement chirurgical de**
spermatozoïdes

LES DONNÉES CLINIQUES ET GÉNÉTIQUES



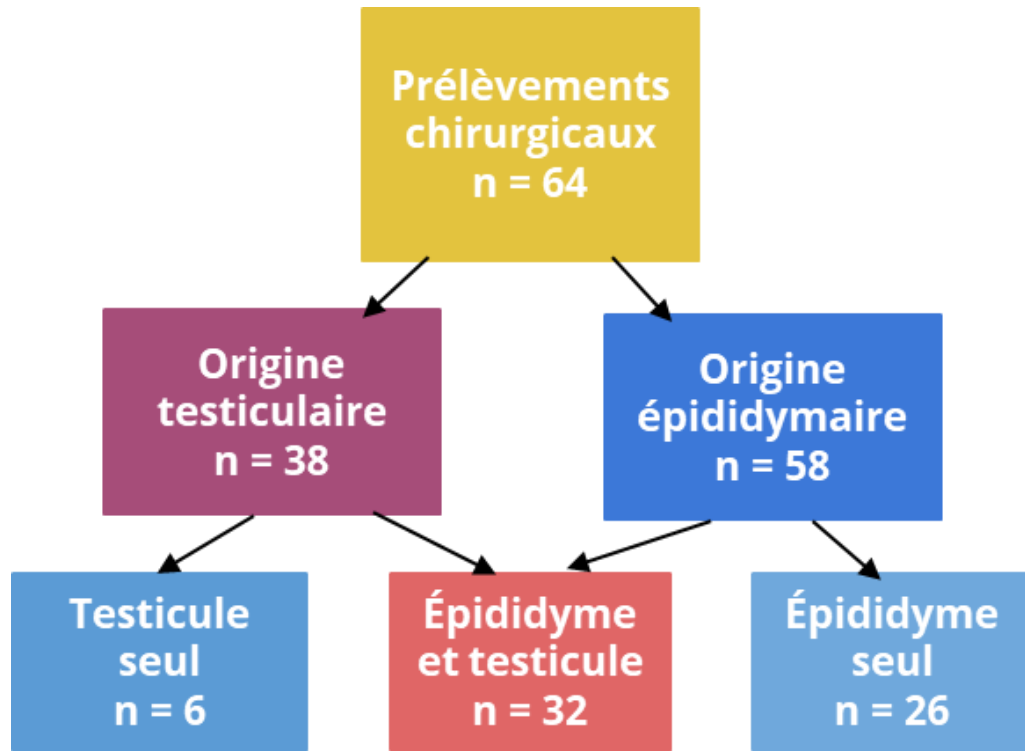
- **64 patients ***
- Tous **azoospermes**
- Âge moyen au prélèvement : $31,3 \pm 5,5$; [21-55]
- Taux de récupération des spermatozoïdes : **100%**

Données	Moyenne \pm ET	Intervalle	Médiane
IMC	21,2 \pm 3,0	[15,6 - 21,7]	20,5
CVF (%)	75,5 \pm 22,8	[31 - 117]	75
VEMS (%)	57,8 \pm 21,2	[17 - 119]	60
Test à la sueur (mmol/L)	94,5 \pm 20,8	[48 - 127]	98
Nb de cure ATB voie IV	1,0 \pm 1,5	[0 - 6]	0

Données	n (%)
Insuffisance pancréatique externe	41 (64,0)
Diabète	7 (10,9)
Colonisation à <i>P. aeruginosa</i>	35 (54,7)
Génotype modéré	22 (34,4)
Génotype sévère	42 (65,6)
F508del/F508del	29 (45,3)

LE PRÉLÈVEMENT CHIRURGICAL DE SPERMATOZOÏDES

Taux de récupération des spermatozoïdes : **100%**



LE PRÉLÈVEMENT CHIRURGICAL DE SPERMATOZOÏDES

Taux de récupération des spermatozoïdes : **100%**

ÉPIDIDYME	Moyenne ± ET	Intervalle	Médiane
Numération (10⁶)	66,0 ± 105,5	[0,03 - 390,2]	23,7
Mobilité progressive (%)	2,5 ± 4,7	[0 - 20]	1,0
Mobilité totale (%)	9,6 ± 9,5	[0 - 30]	5,0
Vitalité (%)	41,1 ± 25,3	[1 - 84]	42,0
NSMP (10⁶)	10,2 ± 18,83	[0 - 85]	1,1

LA PRISE EN CHARGE EN AMP PAR ICSI

- 55 couples
- A l'hôpital Cochin :
 - 51 couples
 - 111 tentatives d'ICSI (2,2 tentatives/couple)
 - 157 transferts embryonnaires

CHEZ LA CONJOINTE :

- Age : 31 ± 4 ; [21-41]
- Infertilité : 24,5%



ISSUES :

- 54 grossesses cliniques
- 46 enfants (29 couples)



Paramètres	%
Taux de fécondation	66,0
Taux de clivage	71,0
Taux d'implantation	21,5
Taux de grossesse clinique par transfert	37,4
Taux de naissance vivante par transfert	29,3
Taux de FCS par transfert	6,0

Numération spermatique

sévérité
génétique

sévérité
clinique

		Numération ≤ 39 Millions	Numération > 39 Millions	p	Test
Génotype	sévère	45%	29%	0,09	χ^2
	modéré	55%	71%		
VEMS	≥40%	75%	59%	0,8	χ^2
	<40%	25%	17%		
IMC	≥18,5	85%	90%	0,68	Fisher
	<18,5	15%	10%		
Insuff. Pancr.	absence	30%	45%	1	χ^2
	présence	70%	55%		
P. aeruginosa	absence	45%	31%	0,49	χ^2
	présence	55%	69%		
N cures ATB	absence	70%	90%	0,49	χ^2
	présence	30%	10%		

Vitalité spermatique

sévérité
génétique

sévérité
clinique

		Vitalité ≥ 58%	Vitalité < 58%	p	Test
Génotype	sévère	31%	31%	1	Fisher
	modéré	69%	69%		
VEMS	≥40%	65%	67%	1	Fisher
	<40%	35%	33%		
IMC	≥18,5	84%	92%	0,66	Fisher
	<18,5	16%	8%		
Insuff. Pancr.	absence	29%	33%	1	Fisher
	présence	71%	67%		
P. aeruginosa	absence	35%	42%	0,74	Fisher
	présence	65%	58%		
N cures ATB	absence	48%	50%	1	χ ²
	présence	52%	50%		

NSMP : cc° + mobilité spermatozoïdes

		NSMP < médiane	NSMP > médiane	p	Test	
sévérité génétique	Génotype	sévère	40%	31%	0,69	χ^2
		modéré	60%	69%		
	VEMS	≥40%	75%	56%		
	<40%	25%	44%			
sévérité clinique	IMC	≥18,5	92%	84%	0,67	Fisher
		<18,5	8%	16%		
	Insuff. Pancr.	absence	42%	24%	0,31	χ^2
		présence	58%	76%		
	P. aeruginosa	absence	38%	36%	1,00	χ^2
		présence	62%	64%		
	N cures ATB	absence	62%	48%	0,46	χ^2
		présence	38%	52%		

Issues AMP : Tx de fécondation

		Taux de fécondation < 60%	Taux de fécondation > 60%	p	Test
sévérité génétique	Génotype sévère	52%	57%	0,63	χ^2
	modéré	48%	43%		
sévérité clinique	VEMS ≥40%	67%	70%	0,73	χ^2
	<40%	33%	30%		
	IMC ≥18,5	86%	92%	0,34	Fisher
	<18,5	14%	8%		
	Insuff. Pancr. absence	43%	35%	0,41	χ^2
	présence	57%	65%		
P. aeruginosa absence	33%	37%	0,74	χ^2	
présence	67%	63%			
N cures ATB absence	57%	57%	1,00	χ^2	
présence	43%	43%			

Issues AMP : la grossesse clinique

		Absence de grossesse clinique	Grossesse clinique	p	Test
sévérité génétique	Génotype	sévère	53%	0,46	χ^2
		modéré	47%		
sévérité clinique	VEMS	$\geq 40\%$	60%	0,32	χ^2
		$< 40\%$	40%		
	IMC	$\geq 18,5$	93%	1,00	Fisher
		$< 18,5$	7%		
	Insuff. Pancr.	absence	40%	0,61	χ^2
		présence	60%		
P. aeruginosa	absence	40%	0,61	χ^2	
	présence	60%			68%
N cures ATB	absence	53%	0,99	χ^2	
	présence	47%			54%

Les données de la littérature

- Peu de données dans la littérature chez les hommes atteints de mucoviscidose :

- 3 études avec effectifs faibles
- Grande variabilité des paramètres spermatiques
- Données sur les issues d'AMP parcellaires

Mc Callum et *al.*, 2000 (**n = 8**)
 Hubert et *al.*, 2006 (**n = 25**)
 Beauvillard et *al.*, 2015 (**n = 30**)



	Cochin	Mc Callum	Hubert	Beauvillard
Taux de récupération des spermatozoïdes (%)	100	100	100	100
Numération épидидymaire (10⁶ - moyenne ± ET)	66 ± 105,5	41,6	NR	38,9 ± 40,8
Mobilité épидидymaire (% - moyenne ± ET)	progressive : 2,5 ± 4,7 totale : 9,6 ± 9,5	NR	NR	progressive : 5 ± 5 totale : 36 ± 4
Taux de fécondation (%)	66	75	61	50
Taux de grossesse clinique/transfert (%)	33,1	NR	40	NR

AZOOSPERMIE OBSTRUCTIVE

		Indication	Taux de fécondation (%)	Taux de grossesse clinique/transfert (%)	Taux de naissance vivante/transfert (%)
Notre étude		Mucoviscidose	66	33,1	29,1
La littérature	Lopes 2004	ABCD	70	42,5	29,7
		Azoospermie acquise	66,9	41,5	17,7
	Nicopoullos 2020	ABCD	42,4 (*)	23,5	11,8
		Azoospermie acquise	50,3 (*)	28,8	23,1

		Indication	Taux de FCS/transfert (%)	
Notre étude		Mucoviscidose	6	
La littérature	Lu 2014	Azoospermie obstructive	CFTR +	14,4 (*)
			CFTR -	7,8 (*)

- **Rôle de CFTR sur la spermatogenèse et la spermiogenèse ?**

- Analyse histologique de la biopsie testiculaire : 2 patients avec une **hypospermatogenèse**
- Chez le patient atteint de mucoviscidose : **aucune étude dans la littérature**

Analyse anatomopathologique de la biopsie testiculaire	Notre étude	La littérature (ABCD)		
		Weiske	Viville	Llabador
Hypospermatogenèse n/n total %	2/30 6,7	14/41 34,1	4/11 36,4	33/54 61,1

PATIENTS ABCD

Weiske et *al.*, 2000 (n = 41)

Viville et *al.*, 2000 (n = 11)

Llabador et *al.*, 2015 (n = 54)

- **Pas d'impact** du génotype et du phénotype sur

- Paramètres du prélèvement chirurgical épидидymaire de spermatozoïdes
- Paramètres clinico-biologiques de la tentative d'ICSI

Absence de corrélation

p > 0,05

CONCLUSION

- Peu de données dans la littérature malgré des preuves du rôle fondamental et varié (génétique et moléculaire) du CFTR sur la spermatogenèse.
- **Indications** du prélèvement chirurgical de spermatozoïdes :
 - **Prise en charge intraconjugale en AMP**
 - Résultats d'AMP encourageants
 - Accomplissement de la parentalité possible
 - Si échec : don de spermatozoïdes ou adoption
 - **Préservation de la fertilité**
 - **Chez les adolescents vs adultes en vue de la littérature?**
 - **PF avant greffe**
 - **PF avant mise sous modulateurs CFTR : manque de données de l'impact du KAFTRIO sur la fertilité masculine**
- Limites de l'étude :
 - Période analysée très longue
 - Changement des pratiques cliniques et biologiques
 - Focus sur les patients sous modulateurs CFTR (sous groupe ou comparaison)

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

