

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département de Biochimie-Microbiologie**

# **Mémoire De Fin D'Etudes**

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques  
**Option : Biochimie Appliquée**

## **Sujet**

*Etude bibliographique de la relation entre le  
stress oxydant et l'infertilité masculine*

**Réalisé par :**

**M<sup>lle</sup> AHMED ZAID Kaissa**

**M<sup>lle</sup> AMMOURI Sarah**

**Soutenu le : 27 / 11 / 2020 devant le jury composé de :**

**Président :** M<sup>r</sup> HOUALI K.                      Professeur à l'UMMTO

**Encadreur :** M<sup>r</sup> MOUALEK I.                    Maître de Conférences B à l'UMMTO

**Co-encadreur :** M<sup>me</sup> BENARABE K.            Assistante au CHU de Tizi-Ouzou

**Examineur :** M<sup>r</sup> SEBBANE H.                Maître assistant classe A à l'UMMTO

*Année universitaire : 2019 / 2020*



# Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier celui qui nous a protégées, aidées et soutenues, jusqu'à pouvoir « mener la graine au fruit », nous nous incluons pour dire :*

*« DIEU MERCI »*

*On exprime nos remerciements et notre gratitude à notre promoteur **Monsieur MOUALEK I. Maître de conférences B** à l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou de nous avoir guidées et encouragées pendant toute la durée de notre travail.*

*On tient à remercier très chaleureusement **Monsieur HOUALI K, Professeur en Biochimie Appliquée** à l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou pour avoir accepté de présider le jury.*

*On exprime non sincères remerciements à **Monsieur SEBBANE H. Maître assistant classe A** à l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou pour avoir accepté d'évaluer ce travail*

*Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à tous*



# *Dédicaces*

*En hommage et à la mémoire de  
nos grands parents.*

*A nos parents, pour leurs  
soutiens et encouragements,*

*A nos frères et sœurs,*

*A toutes nos familles,*

*Ainsi qu'à tout(e) nos ami(e)s.*

---

***TABLE DES***

***MATIERES***

---

## *Table des matières*

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Chapitre I : Rappels anatomiques et physiologie du système reproducteur mâle</b>	
<b>1. Anatomie de l'appareil génitale mâle</b> .....	03
<b>1.1. Les organes génitaux externes</b> .....	04
<b>1.2. Les organes génitaux internes et les voies spermatiques</b> .....	05
<b>1.3. Les glandes annexes</b> .....	09
<b>2. La spermatogenèse</b> .....	11
<b>2.1. La phase de multiplication</b> .....	11
<b>2.2. La phase d'accroissement</b> .....	12
<b>2.3. La phase de maturation</b> .....	12
<b>2.4. La phase de différenciation ou la spermiogenèse</b> .....	12
<b>3. Le spermatozoïde</b> .....	14
<b>3.1. La morphologie</b> .....	15
<b>3.2. Les caractéristiques physiologiques</b> .....	16
<b>3.3. La fonction</b> .....	17
<b>4. Le sperme</b> .....	19
<b>4.1. La composition</b> .....	20
<b>4.2. Les anomalies spermatiques</b> .....	21
<b>4.2.1. Les anomalies de la qualité du sperme</b> .....	21
<b>4.2.2. Les anomalies de quantité du volume spermatique</b> .....	22
<b>4.2.3. Les anomalies du nombre de spermatozoïdes</b> .....	22
<b>5. L'infertilité masculine</b> .....	23
<b>5.1. Définition</b> .....	23
<b>5.2. Les causes de l'infertilité masculine</b> .....	24
<b>5.2.1. Varicocèle</b> .....	24
<b>5.2.2. Problèmes immunitaires</b> .....	24
<b>5.2.3. Cryptorchidie</b> .....	24
<b>5.2.4. Infections</b> .....	25
<b>5.2.5. Dysfonctions sexuelles</b> .....	25

5.2.6. Causes génétiques .....	25
5.2.7. Causes endocriniennes et hormonales .....	26
5.2.8. Causes obstructives séminales .....	26
5.3. Les facteurs impliqués dans l'infertilité masculine .....	26
5.3.1. Âge .....	26
5.3.2. Tabac .....	27
5.3.3. Alcool et diverses drogues .....	27
5.3.4. Radiations .....	27
5.3.5. Chaleur (hyperthermie) .....	27
5.3.6. Perturbateurs .....	28
5.3.7. Médicaments .....	28
5.3.8. Alimentation .....	28
5.3.9. Paramètres anthropométriques .....	28
5.4. Les techniques d'investigation de l'infertilité masculine .....	29
5.4.1. Le spermogramme .....	29
5.4.2. Le spermocytogramme .....	32
5.4.3. Examens complémentaires .....	33
<b>Chapitre II : Radicaux libres et stress oxydant</b>	
1. Radicaux libres .....	40
1.1. Définition .....	40
1.2. Principales sources des radicaux libres .....	40
1.2.1. Sources endogènes .....	41
1.2.2. Sources exogènes .....	44
1.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	45
1.4. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire .....	50
1.4.1. Phagocytose .....	50
1.4.2. Signalisation cellulaire .....	51
2. Stress oxydant .....	51
2.1. Définition .....	51
2.2. Conséquences biochimiques du stress oxydant .....	52
2.2.1. Oxydation de l'acide désoxyribonucléique (ADN) .....	52
2.2.2. Oxydation des protéines .....	54
2.2.3. Peroxydation des lipides.....	55
2.2.4. Oxydation des glucides .....	56

### **Chapitre III : La relation entre le stress oxydant et l'infertilité masculine**

1. Origines des espèces réactives de l'oxygène dans les spermatozoïdes .....	57
2. Rôles des espèces réactives de l'oxygène dans la fertilité masculine .....	57
2.1. Capacitation et l'hyper-activation .....	58
2.2. Réaction acrosomique .....	59
2.3. Liaison du spermatozoïde-ovocyte.....	59
2.4. Activation de la motilité.....	60
2.5. Maturation des spermatozoïdes .....	60
3. Impact des espèces réactives de l'oxygène sur la fertilité masculine .....	60
3.1. Peroxydation des lipides membranaires des spermatozoïdes .....	60
3.2. Diminution de la motilité des spermatozoïdes .....	61
3.3. Dommages de l'ADN des spermatozoïdes .....	62
3.4. Apoptose des spermatozoïdes .....	62
3.5. Oxydation des protéines spermatiques .....	63
4. Techniques de mesure du stress oxydatif dans le sperme .....	63
4.1. Technique de chimiluminescence .....	64
4.2. Dosage du marqueur de la peroxydation lipidique malondialdéhyde (MDA) .....	64
4.3. Capacité antioxydante totale (TAC) .....	65
4.4. Méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction par système MiOXSYS .....	65
5. Systèmes de défense antioxydant et l'infertilité masculine .....	67
5.1. Système antioxydant enzymatique .....	67
5.1.1. La superoxyde dismutase .....	68
5.1.2. La catalase .....	69
5.1.3. La glutathion peroxyde .....	69
5.2. Système antioxydant endogène non enzymatique .....	70
5.2.1. Le glutathion .....	70
5.2.2. Le coenzyme Q <sub>10</sub> .....	71
5.3. Système antioxydant exogène .....	71
5.3.1. La vitamine E .....	72
5.3.2. La vitamine C .....	73
5.3.3. Le sélénium .....	73
5.3.4. Le zinc .....	74
5.3.5. La carnitine .....	74
5.3.6. Le lycopène .....	75

<b>5.3.7. La taurine et l' hypotaurine .....</b>	<b>76</b>
<b>6. Traitements possibles de l'infertilité masculine .....</b>	<b>77</b>
<b>6.1. Les médicaments .....</b>	<b>77</b>
<b>6.2. La chirurgie .....</b>	<b>78</b>
<b>6.3. Les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) .....</b>	<b>78</b>
<b>6.3.1. Insémination artificielle .....</b>	<b>79</b>
<b>6.3.2. Fécondation <i>in vitro</i> .....</b>	<b>79</b>
<b>6.3.3. Techniques de micro-fécondation ou micro-injection .....</b>	<b>80</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>83</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	

## *Liste des abréviations*

<b>%</b>	Pourcentage
<b>β</b>	Bêta
<b>μl</b>	Microlitre
<b>μm</b>	Micromètre
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	Oxygène singulet
<b>8-Oxod-G</b>	8-hydroxy-2 déoxyguanosine
<b>A</b>	Adénine
<b>ABCC7</b>	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
<b>AC anti-spz</b>	Anticorps anti spermatozoïdes
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AGE</b>	Advanced glycation end produits
<b>AGPI</b>	Acide gras polyinsaturé
<b>AIF</b>	Facteurs induisant l'apoptose
<b>AMP</b>	Assistance médicale à la procréation
<b>AMPc</b>	Adénosine monophosphate cyclique
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>ARNm</b>	Acide ribonucléique messenger
<b>As</b>	Arsenic
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>AZF</b>	Azoospermia factor
<b>BER</b>	Réparation par excision de base
<b>C</b>	Cytosine
<b>C°</b>	Degré Celsius
<b>Ca</b>	Calcium
<b>CAT</b>	Catalase
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>CFTR</b>	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

<b>CFU</b>	Unité formant colonie
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Ion chlorure
<b>Cm</b>	Centimètre
<b>Cm<sup>3</sup></b>	Centimètre cube
<b>CoA</b>	Coenzyme A
<b>Cu</b>	Cuivre
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	Ion de cuivre
<b>d UTP</b>	Déoxy Uridine Tri phosphate
<b>e<sup>-</sup></b>	Electron
<b>EGF</b>	Epidermal growth factor
<b>ERO</b>	Espèces réactives dérivées de l'oxygène
<b>Fe</b>	Fer
<b>Fe Cl<sub>3</sub></b>	Chlorure ferrique
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Fer ferrique
<b>FRAP</b>	Ferric reducing antioxydant power
<b>FSH</b>	Hormone folliculo-stimulante
<b>G</b>	Guanosine
<b>G6PD</b>	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Disulfure de Glutathion
<b>H</b>	Heure
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique
<b>Hg</b>	Mercure
<b>HOCl</b>	Acide hypochloreux

<b>IBT</b>	Test aux immunobilles
<b>ICSI</b>	Injection intra- cytoplasmique d'un spermatozoïde
<b>IgA</b>	Immunoglobulines A
<b>IgG</b>	Immunoglobulines G
<b>IgM</b>	Immunoglobulines M
<b>IUI</b>	Insémination intra-utérine
<b>IMC</b>	Indice de la masse corporelle
<b>INF<math>\gamma</math></b>	Interféron gamma
<b>IRM</b>	Imagerie par résonance magnétique
<b>KCl</b>	Chlorure de potassium
<b>L</b>	Litre
<b>LDL</b>	Lipoprotéines de basse densité
<b>LH</b>	Hormone lutéinisante
<b>LO<math>\cdot</math></b>	Radical lipidique
<b>LOO<math>\cdot</math></b>	Radicaux lipidiques peroxydes
<b>M</b>	Mole
<b>MAPK</b>	Mitogen-activated protein kinases
<b>MAR test</b>	Test de réaction d'agglutination mixte
<b>MDA</b>	Acide malondialdéhyde
<b>MDA-guanosine</b>	Malondialdehyde Guanosine
<b>Min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>Mn</b>	Manganèse
<b>Mol</b>	Mole
<b>MPO</b>	Myéloperoxydase
<b>N</b>	Lot haploïde de chromosome
<b>NADH</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

<b>NADPH</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
<b>NER</b>	Réparation par excision de nucléotide
<b>Ni</b>	Nickel
<b>Nm</b>	Nanomètre
<b>NO</b>	Oxyde d'azote
<b>NO<sup>•</sup></b>	Monoxyde d'azote
<b>NO<sub>2</sub></b>	Dioxyde d'azote
<b>NOS</b>	Oxyde nitrique synthase
<b>NR<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Ammonium quaternaire
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>O<sub>2</sub><sup>-2</sup></b>	Anion peroxyde
<b>OH<sup>•</sup></b>	Radical hydroxyle
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la sante
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroxynitrite
<b>ORP</b>	Potentiel d'oxydoréduction
<b>PCR</b>	Amplification en Chaîne par Polymérase
<b>PDGF</b>	Platelet-derived growth factor
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>PKC</b>	Protéine kinase C
<b>PM</b>	Poids moléculaire
<b>PMA</b>	Procréation médicalement assistée
<b>RO<sup>•</sup></b>	Radical alkoxyde
<b>ROH</b>	Alcool
<b>ROO<sup>•</sup></b>	Radical peroxyde
<b>ROOH</b>	Hydroperoxyde
<b>S</b>	Seconde
<b>Se</b>	Sélénium

<b>SH</b>	Groupement sulfhydryle
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>Spermatogonies Ad</b>	Spermatogonies avec noyau sombre
<b>Spermatogonies Ap</b>	Spermatogonies avec noyau pâle.
<b>Spermatogonies B</b>	Spermatogonies de type B
<b>STS</b>	Sequence-tagged site
<b>T</b>	Thymine
<b>TAC</b>	Capacité antioxydante totale
<b>TdT</b>	Terminal désoxynucleotidyl Transférase
<b>TMS</b>	Test de migration survie des spermatozoïdes
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumor Necrosis Factor alpha
<b>TO<math>\cdot</math></b>	Forme radicalaire de l' $\alpha$ -tocophérol
<b>TPC</b>	Test post coïtal
<b>TPTZ</b>	Tris-pyridyl triazine
<b>TUNEL</b>	TdT mediated- dUTP nick end labeling
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>Zn</b>	Zinc

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Appareil génital masculin	<b>3</b>
<b>02</b>	Vue cadavérique de la verge disséquée	<b>4</b>
<b>03</b>	Coupe sagittale du testicule	<b>5</b>
<b>04</b>	Schéma d'un épидидyme humain	<b>8</b>
<b>05</b>	Coupe longitudinale du testicule	<b>9</b>
<b>06</b>	La spermatogenèse	<b>11</b>
<b>07</b>	Formation de l'acrosome au cours de la spermiogenèse	<b>13</b>
<b>08</b>	Le spermatozoïde mature	<b>14</b>
<b>09</b>	Structure d'un spermatozoïde	<b>16</b>
<b>10</b>	Les supports de l'épigénome spermatique	<b>19</b>
<b>11</b>	Aspect du sperme après centrifugation	<b>20</b>
<b>12</b>	Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes selon la classification de Kruger et Coll	<b>33</b>
<b>13</b>	Position des marqueurs biochimiques dans l'appareil génital mâle	<b>34</b>
<b>14</b>	Les anticorps anti spermatozoïdes (révélés par la technique immunobilles)	<b>36</b>
<b>15</b>	Technique TUNEL	<b>38</b>
<b>16</b>	Origine extra et intracellulaire des radicaux libres oxygénés	<b>40</b>
<b>17</b>	Génération des radicaux libres oxygénés par la NADPH oxydase des cellules phagocytaires	<b>41</b>
<b>18</b>	Fuites d'électrons au cours de la respiration cellulaire	<b>43</b>
<b>19</b>	Production de radicaux libres lors de la phagocytose d'une bactérie	<b>50</b>
<b>20</b>	Déséquilibre de la balance radicaux libres /antioxydants	<b>52</b>
<b>21</b>	Les principaux dommages oxydatifs au niveau de l'ADN médiés par les ERO	<b>53</b>

<b>22</b>	Représentation de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	<b>54</b>
<b>23</b>	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés	<b>55</b>
<b>24</b>	Cascades de phosphorylation modulées par les ERO conduisant à la capacitation des spermatozoïdes	<b>59</b>
<b>25</b>	Schéma récapitulatif des rôles physiologiques et pathologiques des espèces réactives de l'oxygène	<b>63</b>
<b>26</b>	Méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction par système MiOXSYS	<b>66</b>
<b>27</b>	Systèmes de défense enzymatique présents au niveau des spermatozoïdes et du plasma séminal	<b>68</b>
<b>28</b>	Structure chimique des vitamines E	<b>72</b>
<b>29</b>	Structure chimique de l'acide ascorbique	<b>73</b>
<b>30</b>	Structure chimique de la carnitine	<b>75</b>
<b>31</b>	Structure chimique de lycopène	<b>76</b>
<b>32</b>	Structure chimique de l'hypotaurine	<b>77</b>
<b>33</b>	Structure chimique de la taurine	<b>77</b>
<b>34</b>	Schéma de la technique d'insémination artificielle	<b>79</b>
<b>35</b>	Fécondation <i>in vitro</i>	<b>80</b>
<b>36</b>	Etapas de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde	<b>82</b>

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Tableau comparatif d'un spermogramme normal et pathologique en fonction des critères de l'OMS 2010	<b>32</b>
<b>II</b>	Les résultats d'un test post coïtal	<b>35</b>

---

***INTRODUCTION***  
***GENERALE***

---

## **Introduction générale**

Plusieurs anomalies et certaines pathologies peuvent affecter la reproduction humaine rendant ainsi les couples infertiles. L'infertilité touche environ 80 millions de personnes dans le monde et environ un couple sur six est confronté à celle-ci (EL HAJJAMI, 2017). Autrefois, l'infertilité du couple est attribuée uniquement au genre féminin mais avec l'avancement de la science, de nombreuses études portant sur l'infertilité durant ces dernières décennies, affirment que l'homme est également incriminé dans l'incapacité du couple à procréer, rendant ainsi, l'infertilité masculine un sujet de recherche d'actualité.

L'infertilité masculine ou l'impossibilité pour un homme de procréer constitue un problème majeur de santé publique. Plusieurs causes sont à l'origine de ce phénomène dont les problèmes obstructifs, hormonaux, immunologiques, varicocèle et également les causes idiopathiques, où le stress oxydatif est l'une des principales causes. Ce dernier, contribue non seulement aux dysfonctions des spermatozoïdes mais aussi limite le potentiel de fertilisation des cellules et le développement embryonnaire (HAIBA *et al.*, 2014).

La production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les spermatozoïdes est un processus physiologique normale et nécessaire pour l'acquisition des capacités fonctionnelles. Néanmoins, un état de déséquilibre entre une production excessive des dérivés actifs de l'oxygènes, dont l'origine est leucocytaire et les moyens de défense spécifique définit le stress oxydatif qui peut avoir plusieurs origines (obésité, tabagisme, consommation excessive d'alcool, radiations...) et peut avoir des effets délétères sur de nombreux constituants des cellules comme les protéines, les lipides ou encore l'intégrité de l'ADN qui une fois touchés peuvent compromettre le potentiel des gamètes par conséquent le succès de la reproduction (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008).

Vis-à-vis de ce stress oxydant, les spermatozoïdes sont dotés de systèmes antioxydants dont les enzymes antioxydants (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydas, etc.) qui interviennent dans l'intégrité structurale des spermatozoïdes ; les éléments traces (zinc, sélénium, etc.) qui jouent un rôle très important dans la fertilité masculine et autant d'autres molécules de faibles poids moléculaire (PM) (glutathion, vitamine E, vitamine C, lycopène, etc.) (BEN ALI *et al.*, 2012).

Avec les progrès scientifiques, nous avons une meilleure prise en charge thérapeutiques des patients infertiles. Celle-ci, est réalisée soit par voie chirurgicale en éliminant les différents obstacles anatomiques ou par la prise de différents médicaments.

Cette thérapeutique, fonction de la cause de cette infertilité, est prescrite accompagnée de compléments alimentaires antioxydants, qui contribuent de manière significative à l'amélioration de la qualité et le potentiel des spermatozoïdes.

Les techniques de procréation médicalement assistée (PMA) compte à elles sont adaptées lorsque les traitements médicamenteux et chirurgicaux sont inefficaces pour déclencher une grossesse, en permettant d'outrepasser les entraves à une fécondation par un sperme déficient, ce qui soulève le problème de la transmission de certaines anomalies (génétiques par exemple) à la descendance.

A travers cette étude, nous voulons apporter notre contribution en essayant d'approfondir la relation existant entre le stress oxydant et l'infertilité masculine. Pour atteindre ce but, nous nous sommes fixées comme objectif, la mise en évidence de l'impact du stress oxydant sur l'incapacité de procréation chez l'homme. Pour cela, notre travail est composé de trois (3) grands chapitres :

Le premier chapitre est consacré aux rappels anatomiques et physiologie du système reproducteur mâle et une introduction sur l'infertilité masculine.

Dans le deuxième chapitre de ce travail, nous présentons des généralités sur les radicaux libres et le stress oxydant.

Le troisième chapitre est réservé à l'étude de la relation qui existe entre le stress oxydant et l'infertilité masculine et les traitements possibles à ce problème d'infertilité.

A la fin, une conclusion générale pour présenter les principales conclusions auxquelles nous sommes arrivées.

---

***CHAPITRE I***  
***RAPPELS ANATOMIQUES ET***  
***PHYSIOLOGIE DU***  
***SYSTEME REPRODUCTEUR MÂLE***

---

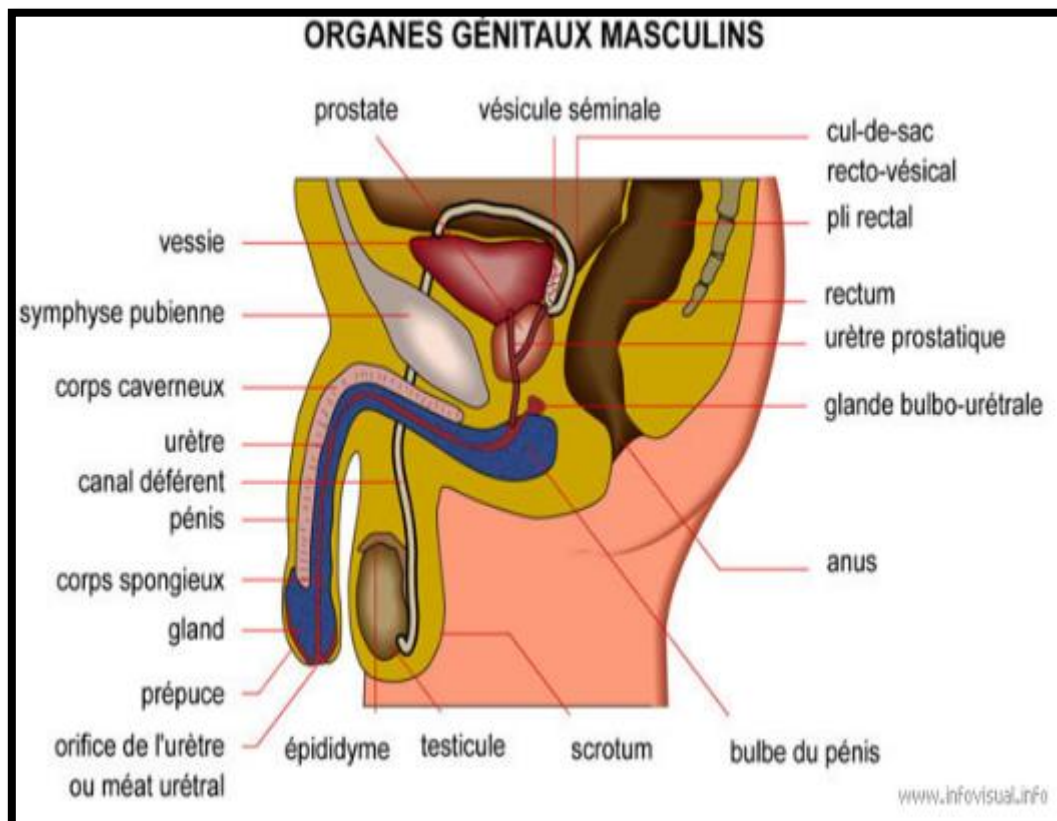
## 1. Anatomie de l'appareil génitale mâle

À l'exception de la plupart des systèmes de l'organisme qui fonctionnent sans arrêt pour maintenir l'homéostasie, l'appareil génital masculin semble « dormir » jusqu'à la puberté. Ce dernier, est constitué par un ensemble d'organes et de structures participant à la formation, la maturation et l'émission sous pression des différents constituants du sperme. Ces organes et structures sont (MARIEB et LACHAÎNE, 2008) :

- **Les gonades masculins ou testicules** : produisent les gamètes (spermatozoïdes) et secrètent les hormones sexuelles (androgènes).

- **Les organes génitaux annexes** :

- ✓ gonophores masculins ou voies spermatiques ;
- ✓ glandes annexes ;
- ✓ organes génitaux externes.



**Figure 01:** Appareil génital masculin (KONATE, 2009).

## 1.1. Les organes génitaux externes

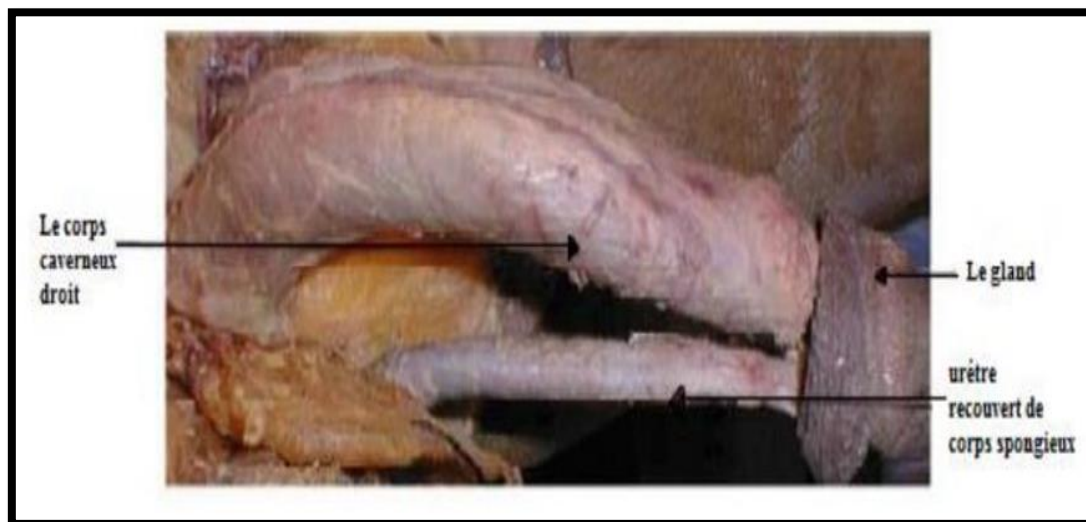
Les organes génitaux externes sont constitués par la verge et les bourses. La verge ou pénis est l'organe de l'accouplement et de la miction. Les bourses contiennent les testicules assurant un double rôle sécrétoire, endocrine et exocrine en permettant la formation de manière continue des spermatozoïdes.

### 1.1.1. Le scrotum (Bourses)

C'est un sac de peau et de fascia superficiel suspendu à l'extérieur de la cavité abdomino-pelvienne qui contribue au maintien d'une température scrotale relativement stable (32 à 35°C). Il s'agit d'une adaptation essentielle à la spermatogénèse.

### 1.1.2. Le pénis (Verge)

Le pénis est l'organe de l'accouplement chez l'homme. Il est situé en avant de la symphyse pubienne et au dessus des bourses (MELLAL, 2010). Il est constitué de trois corps érectiles : deux corps caverneux et un corps spongieux, dans lequel se trouve l'urètre. Le corps spongieux se dilate à son extrémité formant ainsi le gland du pénis qui est recouvert d'une peau fine et mobile dite le prépuce (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

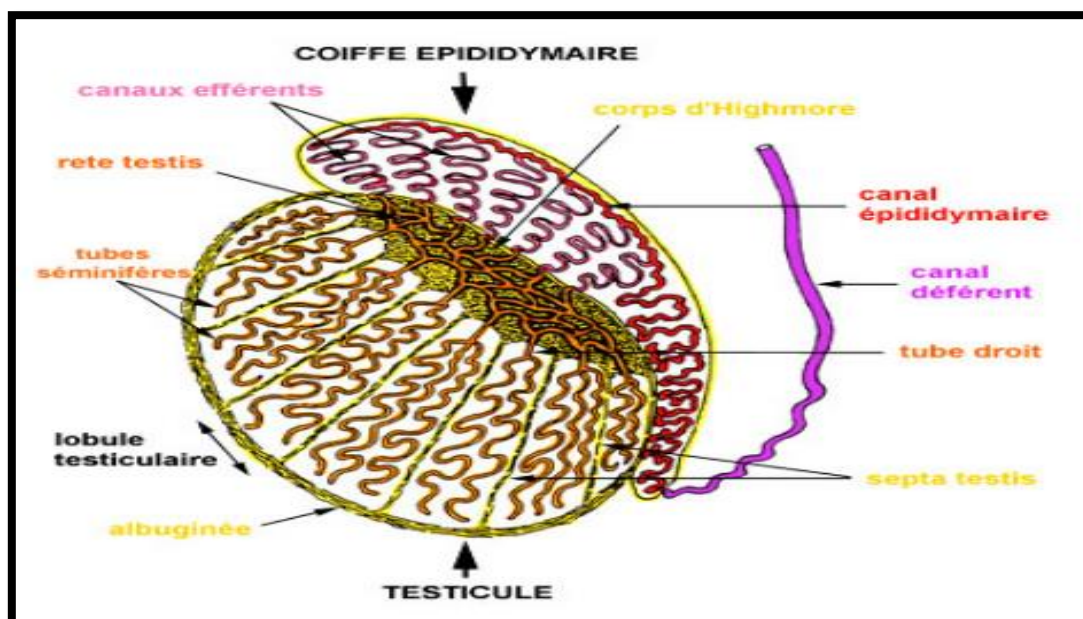


**Figure 02 :** Vue cadavérique de la verge disséquée (EL HAJJAMI, 2017).

## 1.2. Les organes génitaux internes et les voies spermatiques

### 1.2.1. Les testicules

Appelés aussi gonade mâle est un organe double, lisse et brillante de couleur nacré, sa consistance est ferme et régulière, logé dans le scrotum (bourses), à la partie antérieure du périnée, sous la verge. Suspendus au cordon spermatique, le testicule gauche en général situé un peu plus bas que le droit, ils sont mobiles sous l'effet des fibres crémaster et de la pesanteur. La gonade mâle, dont les dimensions sont en moyenne 4 à 5 cm de longueur, 2 à 3 cm de largeur, 2,5 cm d'épaisseur, et pèse 20g, est une glande ovoïde délimitée par un tissu conjonctif (albuginée) qui émet des cloisons à l'intérieur formant ainsi entre 200 et 300 lobules. Chaque lobule renferme entre 1 et 4 tubes séminifères, dans lesquels s'effectue la spermatogenèse (MARIEB et LACHAÎNE, 2008). Ils sécrètent une hormone, la testostérone responsable des caractères sexuels secondaires, après la puberté (MELLAL, 2010). Le sperme est stocké dans les canaux de l'épididyme. Ce dernière se moule sur la face postérieure du testicule et reçoit du rete testis. Plusieurs canaux fortement spiralés qui se réunissent pour former le canal épидидymaire, lui aussi fortement spiralé. Dans ce dernier, la plus grande partie du liquide séminal produite sera stockée et y sera enrichie avec une sécrétion qui inhibe la mobilité des spermatozoïdes évitant ainsi l'utilisation prématurée de l'énergie stockée. Les spermatozoïdes non fonctionnels seront phagocytés par les macrophages testiculaires (SCHÄFFLER et MENCHE, 2004).



**Figure 03 :** Coupe sagittale du testicule (HOCEDE, 2017).

### **1.2.2. Les voies excrétrices**

Appelées aussi conduits excréteurs, sont chargés du transport de sperme des testicules jusqu'à l'urètre (Mellal., 2010). Les conduits excréteurs sont de deux types, à savoir :

#### **a. La voie intra-testiculaire**

Les conduits excréteurs intra testiculaires sont représentés par les tubes droits de 1 mm de longueur. Ils s'ouvrent dans le rete testis. Ces deux structures sont noyées dans un tissu conjonctif dit le corps de High more (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

##### ➤ **Les tubes séminifères contournés**

Chaque lobule contient environ 1 à 4 tubes séminifères contournés qui atteignent dans le testicule mature un diamètre de 140 à 300  $\mu\text{m}$  et à l'état déroulé une longueur de 30 à 60 cm. C'est dans ces tubes que se forment les spermatozoïdes qui sont ensuite transportés dans les tubes séminifères droits.

##### ➤ **Les tubes séminifères droits**

Courts et rectilignes, ils prolongent les tubes séminifères et sont bordés par un tissu épithélial simple formé de cellules cubiques qui sont équivalentes aux cellules de Sertoli des tubes séminifères. Au niveau des tubes droits, on ne trouve par contre plus de cellules de la lignée germinale, à l'exception d'amas de spermatozoïdes en cours de migration (ALLIMANT, 2010).

##### ➤ **Le rete testis ou réseau de Haller**

Il est bordé d'un épithélium simple et cubique (ALLIMANT, 2010). Le liquide du rete testis véhicule des spermatozoïdes immobiles. Il ne serait qu'une sécrétion tubulaire remaniée, probablement du fait d'échanges avec les veines testiculaires superficielles (THIBAUT, 2001).

#### **b. La voie extra-testiculaire**

Les conduits excréteurs extra testiculaires sont représentés par l'épididyme, constitué par les canaux efférents et le canal épидидymaire, dont la longueur est de 06 mètres en moyenne. Les spermatozoïdes acquièrent leur mobilité et leur pouvoir fécondant dans ce

dernier. De l'épididyme se détachent deux canaux déférents droit et gauche constituant les deux canaux éjaculateurs. Après la prostate, ils débouchent dans l'urètre (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

➤ **Canalicules efférents**

Ils trottent dans le tissu conjonctif. Après la traversée de l'albuginée, ils prennent le nom de cônes efférents qui, par fusion, forment le canal épидидymaire unique. Ils ont un rôle de conduction et de progression des spermatozoïdes (ALLIMANT, 2010).

➤ **Epididyme**

C'est une formation allongée d'avant en arrière, en forme de virgule, long d'environ 3.8cm. Il coiffe le testicule à la manière du " cimier d'un casque " (BOUCHET et CUIILLERT, 2001). Composé d'une albuginée et de nombreux canaux commençant par une quinzaine de canalicules issus du rete testis qui forment la tête puis qui convergent en un conduit très sinueux, le conduit épидидymaire, qui devient ensuite plus épais et moins sinueux au niveau de la partie queue de l'épididyme , formant par la suite le conduit déférent (ALLIMANT, 2010).

L'épididyme possède plusieurs fonctions (THIBAULT, 2001) :

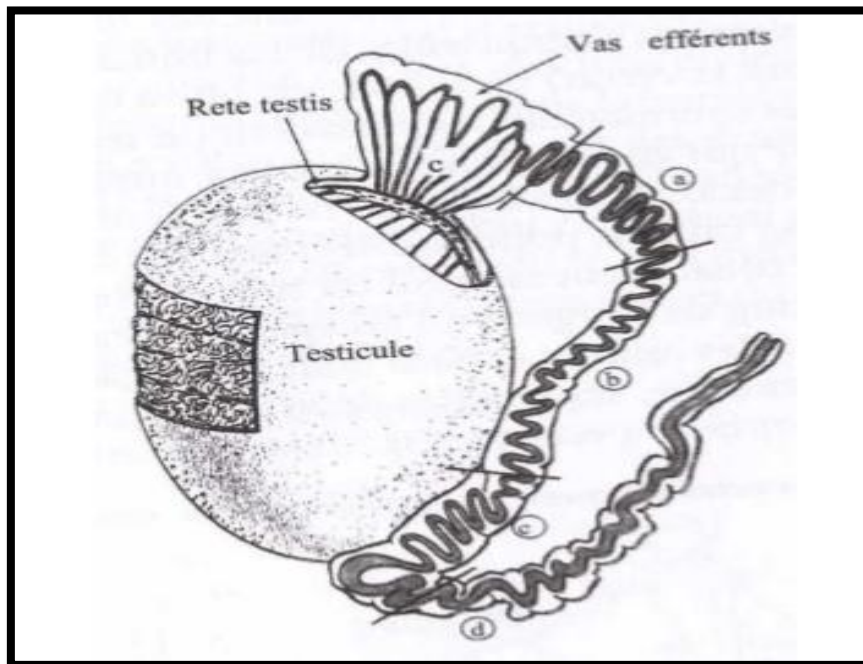
- l'acheminement des spermatozoïdes vers le conduit déférent par contraction de la paroi musculaire de l'épididyme ;

- la réabsorption, d'eau, d'ions et de protéines, essentiellement dans les premières régions épидидymaires, ce qui entraîne une augmentation de la concentration en spermatozoïdes ;

- la concentration de substances provenant du sang dans la lumière du tube (carnitine, inositol). La carnitine est captée par les spermatozoïdes et transformée en acétylcarnitine qui sera utilisée comme substrat énergétique pour la mobilité. L'inositol dont le rôle n'est toujours pas élucidé, provient du testicule, de la synthèse épидидymaire et du sang ;

- la sécrétion dans sa lumière de petites molécules organiques et d'enzymes (glycérilphosphorylcholine, phosphatases, protéases, glycosidases) permettant de maintenir les gamètes en vie, de stabiliser leur membrane plasmique et de leur conférer leur mobilité et leur fertilité. La composition protéique du fluide épидидymaire est en constante évolution tout

au long de l'organe, les protéines épидидymaires pouvant être très différentes de celles du sang et du testicule. À la sortie de l'épididyme, les spermatozoïdes sont fertiles et mobiles.



**Figure 04** : Schéma d'un épидидyme humain : (a) tête ; (b) corps ; (c)+(d) queue

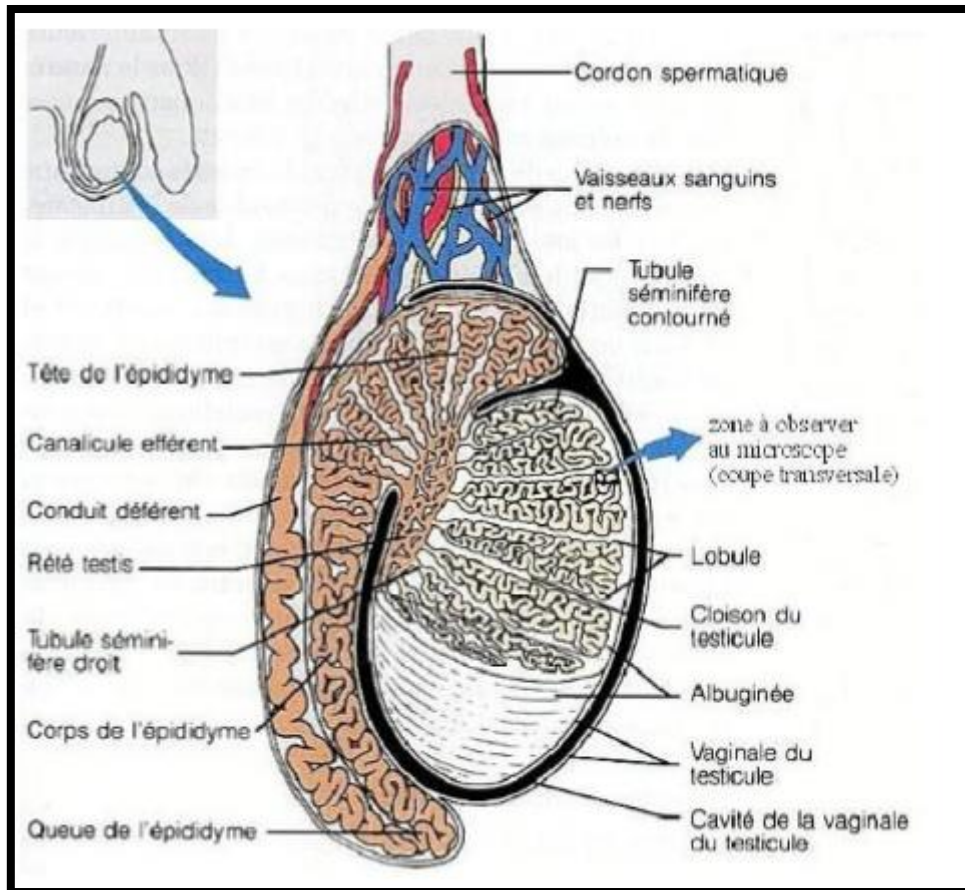
(THIBAULT, 2001).

#### ➤ Canal déférent

Il s'étend depuis la queue de l'épididyme jusqu'à la base de la prostate. Il chemine sur la face médiale du testicule puis traverse successivement la racine des bourses, la région inguinale, la fosse iliaque et la cavité pelvienne. Sa longueur est de 35 à 45 cm, diamètre externe de 2 à 3 mm, sa paroi très épaisse lui confère une résistance particulière qui permet de le palper facilement car : il se déroule sous les doigts (EL HAJJAMI, 2017).

#### ➤ Canal éjaculateur

Il est formé par l'union de la vésicule séminale et du conduit déférent correspondant, est situé dans la quasi-totalité dans l'épaisseur de la prostate. Il est en contact avec l'urètre au niveau d'une zone bombée : le colliculus séminal ou veru montanum, long de 2 cm sur 1 mm de diamètre. Ses dimensions diminuent progressivement de son origine à sa terminaison. Le canal éjaculateur est un simple conduit vecteur (BOUCHET et CUIILLERT, 2001).



**Figure 05 :** Coupe longitudinale du testicule (JACQUES *et al.*, 1997).

### 1.3. Les glandes annexes

Trois glandes sont annexées aux voies excrétrices masculines : les deux vésicules séminales (droite et gauche), la prostate (impaire et médiane) et les deux glandes de Cowper. Ces glandes produisent la majeure partie du sperme. Le rôle majeur du plasma séminal est l'apport de substrats énergétiques aux spermatozoïdes et la dilution des gamètes afin d'activer leur mobilité progressive et d'assurer leur transfert dans le tractus génital femelle. Cependant, l'importance de ces glandes dans le pouvoir fécondant des gamètes est discutable puisqu'il n'y a pas de différence entre les taux de fécondation obtenus avec des spermatozoïdes prélevés dans la queue de l'épididyme ou avec des spermatozoïdes éjaculés (THIBAUT, 2001).

#### 1.3.1. Les vésicules séminales

Ce sont deux réservoirs membraneux dans lesquels s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations (EL HAJJAMI, 2017). Les vésicules séminales sont au nombre

de 2, ressemblent à de petites poches bulbeuses. Elles joignent sur la terminaison des canaux déférents. Elles mesurent environ 5cm de long et font 1,5 cm de large (MARIEB et LACHAÎNE, 2008). Elles sont situées entre la vessie et le rectum, en arrière et juste au dessus de la prostate (SCHAFFLER et MENCHE, 2004). Les sécrétions des deux vésicules séminales constituent 50 % du sperme. Les vésicules séminales sécrètent un liquide clair, visqueux et alcalin, qui agit sur l'état physiologique des spermatozoïdes en maintenant normale leur mobilité et en leur assurant une vitalité maximale dans le sperme (EL HAJJAMI, 2017). Ces sécrétions sont représentées essentiellement par des lipides, des protéines, des sels minéraux, de l'acide ascorbique, du fructose et de la prostaglandine (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

Visiblement, les vésicules séminales apparaissent comme des organes allongés aplatis d'avant en arrière et bosselés sur toute leur surface. Leur diamètre augmente depuis leur origine sur le canal déférent, jusqu'à leur extrémité supéroexterne (EL HAJJAMI, 2017).

### **1.3.2. La prostate**

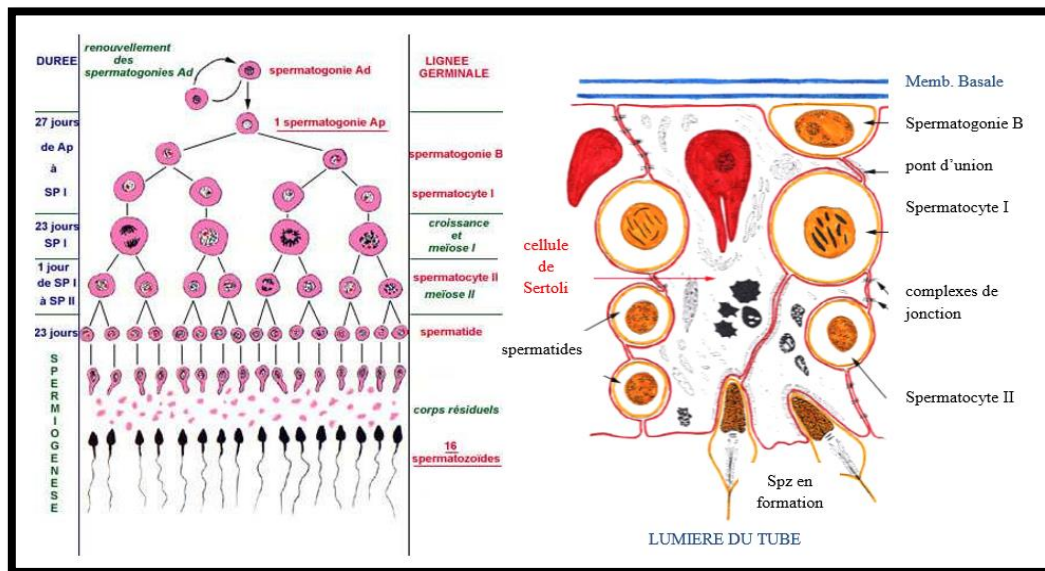
La prostate est une glande sexuelle male impaire, située sous la vessie et entoure la partie initiale de l'urètre (MELLAL, 2010). En outre, elles sont riches en zinc qui a un pouvoir bactéricide. Le liquide prostatique renferme la spermine qui est une protéine responsable de l'odeur du sperme (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

### **1.3.3. Les glandes de COWPER (Bulbo urétrales)**

Elles sont encore appelées glandes de MERY-COWPER. Elles sont constituées de deux petites masses glandulaires de la taille de petites noisettes situées à la jonction de l'urètre spongieux dans l'épaisseur de l'aponévrose pénienne moyenne. Elles possèdent un canal excréteur relativement long chez l'homme adulte, qui atteint 30 à 40 mm de long et il s'ouvre sur la paroi postérieure de l'urètre pénien au niveau de la partie antérieure du cul-de-sac du bulbe. Elles sécrètent un liquide mucoïde alcalin, qu'elles déversent dans la région postérieure de l'urètre membraneux (EL HAJJAMI, 2017). Ce liquide neutralise l'acidité intra urétrale avant l'éjaculation afin de protéger les spermatozoïdes et d'en faciliter leur transport (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

## 2. La spermatogenèse

La production de spermatozoïdes s’installe au début de la puberté et se poursuit durant toute la vie. Chaque jour, l’organisme de l’homme fabrique des millions de spermatozoïdes. La spermatogenèse est le processus par lequel les cellules germinales se différencient afin de donner les spermatozoïdes. Ainsi, des cellules germinales diploïdes ( $2n$  chromosomes), les spermatogonies souches, génèrent des gamètes masculins haploïdes ( $n$  chromosomes), les spermatozoïdes. Ce processus de maturation des cellules germinales a lieu dans le tube séminifère. La spermatogenèse a une durée fixe pour chacune des espèces mais variable d’une espèce à l’autre (74 jours dans l’espèce humaine) (BELLVE *et al.*, 1977). D’un point de vue fonctionnel, la spermatogenèse peut être scindée en quatre phases impliquant des types de cellules germinales différents.



**Figure 06 :** La spermatogenèse : (**Ad**) spermatogonies avec noyau sombre ; (**Ap**) spermatogonies avec noyau pâle ; (**B**) spermatogonies de type B ; (**n**) lot haploïde de chromosomes (ALLIMANT, 2010).

### 2.1. La phase de multiplication

Au cours de cette première phase, les spermatogonies se divisent par mitose pour aboutir au stade de spermatocytes primaires. Les spermatogonies Ad se divisent en une spermatogonie Ap (qui évoluera en spermatogonie B), et en une spermatogonie Ad (qui permettra de reconstituer continuellement le stock de cellules souches).

## 2.2. La phase d'accroissement

Cette phase correspond à l'interphase et au début de prophase I. Les spermatocytes I, initialement localisés dans le compartiment externe du tube séminifère, passent dans le compartiment interne. Durant cette phase, il existe de nombreuses modifications cytoplasmiques et des synthèses importantes avec la réplication de l'ADN. Les spermatocytes I doublent leur ADN (2n chromosomes, 4n ADN).

## 2.3. La phase de maturation

La méiose a lieu au stade des spermatocytes. La méiose permet de passer du stade diploïde (spermatocytes I) au stade haploïde (spermatocytes II). Une cellule diploïde comporte 23 paires de chromosomes (« 2n »). Un lot haploïde est constitué de 23 chromosomes (« n »). Le rôle de la méiose est d'assurer la réduction chromatique et le brassage de l'information génétique. Elle consiste en deux étapes successives :

- **La méiose réductionnelle** : durant cette étape, a lieu le mécanisme de crossing over (c'est à dire des échanges de matériel chromosomique entre les chromatides non sœurs des paires de chromosomes) permettant le brassage génétique. Ensuite a lieu la séparation de chaque paire de chromosomes. On obtient donc 2 cellules filles contenant un seul exemplaire de chaque chromosome. Les chromosomes sont constitués de 2 chromatides à ce stade.

- **La méiose équationnelle** : chaque chromatide sœur va migrer à un pôle de la cellule, aboutissant ainsi à la formation des spermatides contenant chacune une quantité « n » de matériel génétique.

## 2.4. La phase de différenciation ou la spermiogenèse

La spermiogenèse permet le passage de la spermatide (cellule arrondie ayant une organisation cytoplasmique banale) au spermatozoïde (petite cellule très effilée, mobile, pauvre en cytoplasme et en réserves). Elle est caractérisée par (THIBAUT, 2001) :

- **une condensation nucléaire** : les histones riches en lysine sont éliminées et remplacées par des protamines, protéines basiques de faible poids moléculaire riches en arginine et cystéine. Le nucléole disparaît, les ARNm nucléaires sont éliminés et le noyau se déshydrate : l'ensemble du noyau devient une masse compacte d'hétérochromatine.

- **la formation de l'acrosome** : il se forme progressivement par confluence de vésicules golgiennes ; il y a d'abord mise en place d'une vésicule arrondie, la vésicule proacrosomiale, qui se positionne à l'opposé de l'appareil cinétique et donne la vésicule acrosomiale puis l'acrosome. Il continue à grossir par apport aux vésicules golgiennes ; puis il s'étale sur la partie supérieure du noyau et finit par coiffer complètement le noyau.

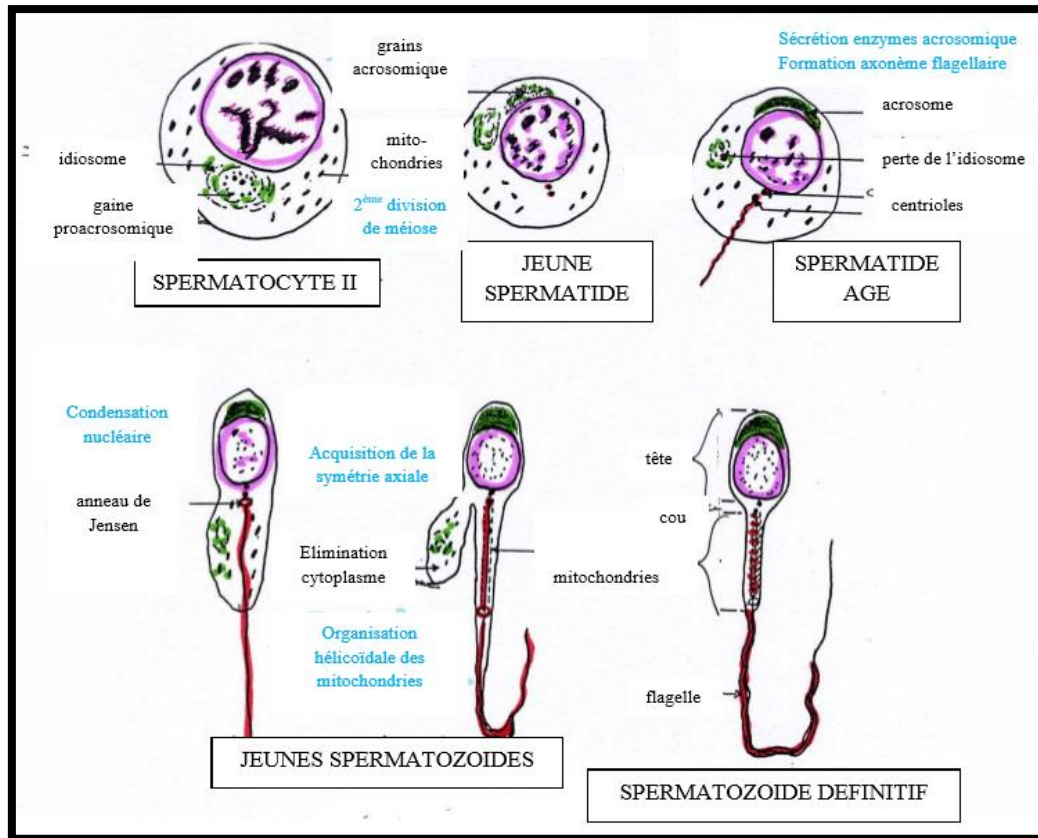


Figure 07 : Formation de l'acrosome au cours de la spermiogénèse (ALLIMANT, 2010).

- **la différenciation de l'appareil cinétique** : le complexe centriolaire, voisin de la vésicule proacrosomiale, migre à l'opposé du noyau. Le centriole proximal se positionne dans une invagination de la membrane nucléaire tandis que le centriole distal induit la polymérisation d'un axonème. Les mitochondries s'organisent en un manchon à la base de l'axonème.

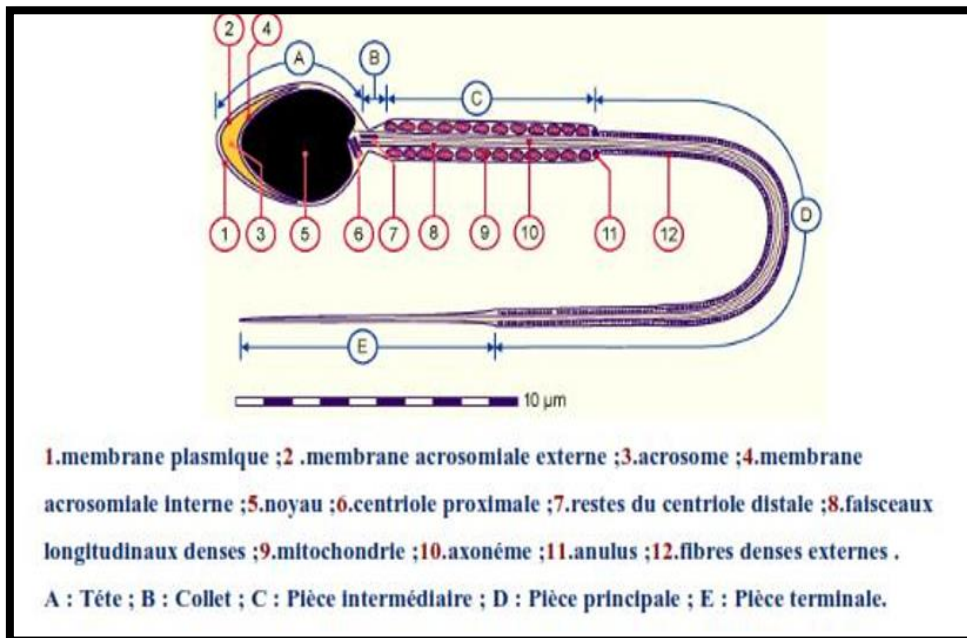
- **l'élimination du cytoplasme excédentaire** : l'essentiel du cytoplasme est d'abord éliminé et phagocyté par les cellules de Sertoli, et seule une goutte de cytoplasme persiste à la base du flagelle qui sera éliminée lors du passage dans l'épididyme. Les spermatozoïdes, à la sortie du testicule, n'ont pas encore la capacité de féconder un ovule. Ils vont séjourner dans l'épididyme et subir encore une série de transformations. Lorsqu'ils quittent les testicules, ils

sont dilués dans le liquide séminal sécrété par les voies génitales et les glandes annexes, puis stockés temporairement dans les vésicules séminales.

### 3. Le spermatozoïde

Le spermatozoïde tire son nom du préfixe grec « *sperma* » désignant la « semence, la graine » et du suffixe « *zoïde* » signifiant « ce qui est semblable à un animal ». Découvert en 1677 par le microscopiste hollandais Antoine Van Leeuwenhoek, le spermatozoïde fût d'abord considéré comme un parasite du sperme, sans fonction apparente. Quelques années plus tard, en 1694, Nicolas Hartsoeker croit en la « toute-puissance » du spermatozoïde puisque ses observations microscopiques l'amènent à soutenir la théorie selon laquelle le spermatozoïde contiendrait la réplique en miniature d'un être humain préformé. Il appellera alors le spermatozoïde « homoncule », du latin *homonculus* signifiant « petit homme ».

Un homme adulte produit environ 400 millions de spermatozoïdes par jour. Le spermatozoïde est une cellule haploïde, allongée d'environ 60  $\mu\text{m}$ . Son union avec l'ovule, lui aussi haploïde, permet de constituer une cellule-œuf diploïde, qui contient deux exemplaires (une paire) de chaque chromosome.



**Figure 08 :** Le spermatozoïde mature (AMRANI, 2017).

### **3.1. La morphologie**

Le spermatozoïde humain est une cellule hautement différenciée, effilée, constituée d'une tête séparée de la pièce intermédiaire par le cou, et d'un flagelle constitué de cette pièce intermédiaire, d'une pièce principale et d'une pièce terminale. Il est caractérisé par un minimum de cytoplasme. C'est pendant la migration dans l'épididyme que les spermatozoïdes acquièrent des sites d'ancrage à la zone pellucide et à la membrane ovocytaire (MARIEB et LACHAÎNE, 2008).

#### **➤ La tête**

Le cytoplasme est très peu présent et l'essentiel de l'espace est occupé par le noyau et l'acrosome. Le noyau présente exclusivement de l'hétérochromatine, qui est particulièrement condensée grâce à des protéines particulières : les protamines. Il s'agit de protéines riches en arginine et cystéine capables d'établir entre elles des ponts disulfures. Sous cette forme la chromatine est également protégée contre les altérations possibles lors du stockage ou lors du transfert dans les voies génitales femelles. L'acrosome est une poche limitée par une membrane. A l'avant, la membrane est accolée contre la membrane plasmique et à l'arrière, la membrane épouse la forme du noyau. Son contenu est riche en enzymes protéolytiques (ALLIMANT, 2010).

#### **➤ La région intermédiaire**

Le cou comporte deux centrioles : le centriole proximal, bien individualisé et situé derrière le noyau et le centriole distal, incorporé à la base de l'axonème. La pièce intermédiaire comporte l'axonème dans sa partie centrale entourée d'un faisceau de fibres et d'un manchon de mitochondries. Ces dernières sont le reflet d'un métabolisme aérobie et assurent une production importante d'ATP (Adénosine Tri Phosphate) utilisée dans le fonctionnement de l'axonème. Chez les mammifères l'approvisionnement énergétique, en l'absence de toute réserve intracellulaire, est assuré par le liquide séminal (sous forme de fructose) (ALLIMANT, 2010).

#### **➤ Le flagelle**

Le flagelle est la formation locomotrice qui permet d'amener le contenu chromosomique mâle jusqu'aux gamètes femelles. La pièce principale est constituée de neuf faisceaux de fibres denses ainsi que d'une gaine protéique fibreuse périphérique. La pièce

terminale n'est constituée que de l'axonème enfermé dans la membrane plasmique (ALLIMANT, 2010).

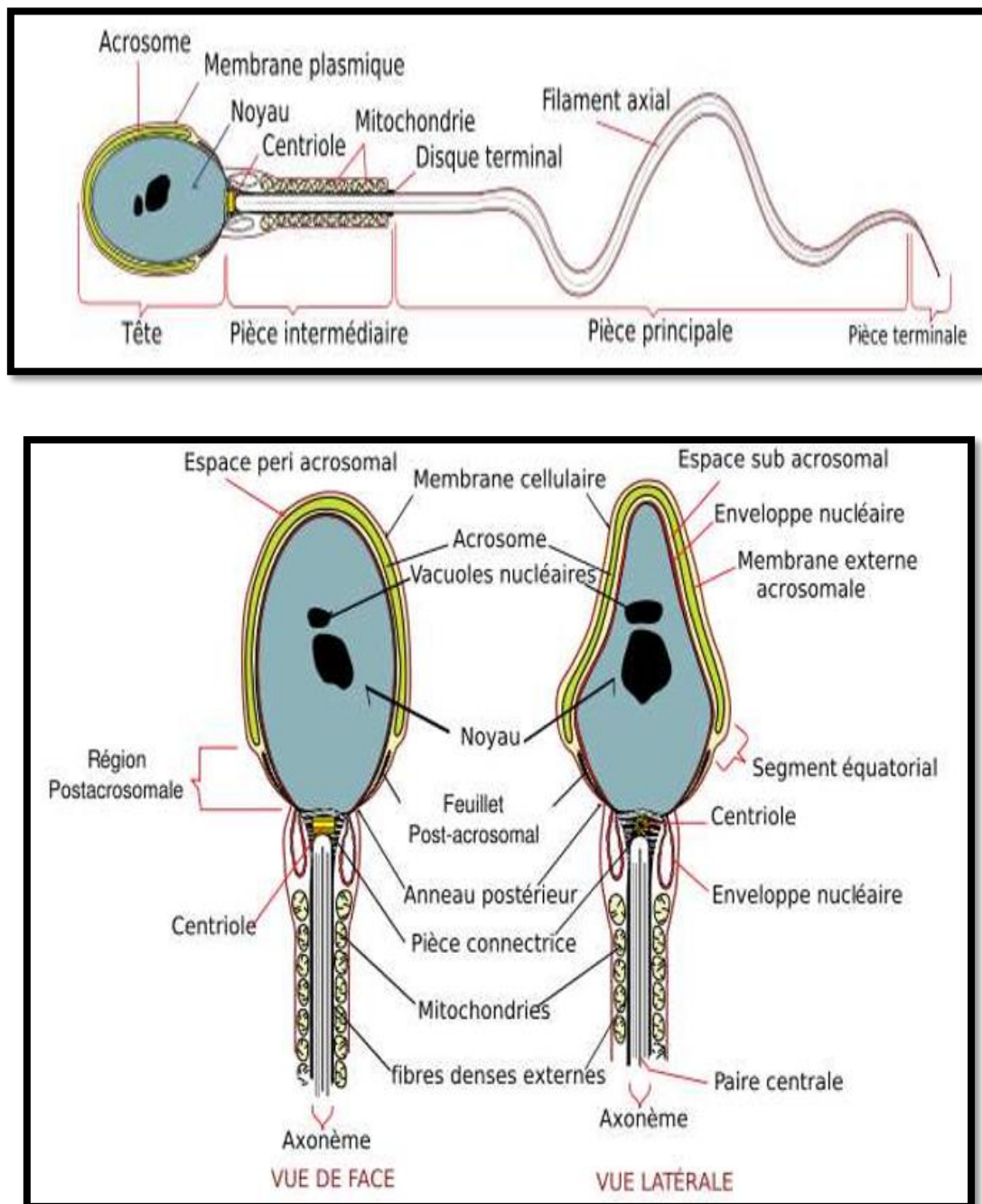


Figure 09 : Structure d'un spermatozoïde (NGUYEN, 2015).

### 3.2. Les caractéristiques physiologiques

La mobilité est un caractère essentiel du spermatozoïde. Le mouvement flagellaire est de type ondulatoire, les ondes naissent au niveau du col et se propagent vers l'extrémité selon une fréquence de 10 par seconde. Le déplacement du spermatozoïde est sinusoïdal suivant une

direction générale plus ou moins rectiligne. La vitesse du spermatozoïde dépend de l'environnement (liquide séminal liquéfié ou non, glaire cervicale, liquide utéro-tubaire).

La capacité fécondante d'un spermatozoïde dépend de plusieurs facteurs : sa morphologie, sa mobilité, l'équipement enzymatique acrosomial, le degré de condensation de la chromatine, la présence de protéines cytoplasmiques, des caractéristiques membranaires... etc. Dans un sperme, les spermatozoïdes ne sont pas tous féconds.

Concernant les activités métaboliques, le spermatozoïde est inerte, c'est-à-dire il n'existe pas d'activité transcriptionnelle et traductionnelle à cause d'une chromatine condensée et de l'absence des ARN ribosomiaux. Seule l'activité respiratoire des mitochondries permet aux spermatozoïdes la mobilité.

En regardant l'équipement chromosomique, il y a deux sortes de spermatozoïdes : 23X et 23Y. Ils ne peuvent pas être différenciés morphologiquement les uns des autres.

### **3.3. La fonction**

Le spermatozoïde assure trois fonctions successives : le transport du contenu chromosomique mâle jusqu'aux gamètes femelles, la pénétration du génome mâle dans le gamète femelle et la fusion des deux noyaux gamétiques (ou caryogamie) aboutissant au zygote (ALLIMANT, 2010).

#### **3.3.1. Rôles dans la fécondation**

La fécondation humaine implique une succession d'étapes paléales aboutissant à l'activation de l'ovocyte et à l'initiation de l'embryogenèse. Le chemin jusqu'à l'ovocyte est long et semé d'embûches. Physiologiquement, il s'impose aux spermatozoïdes, d'être mobiles et féconds. Au terme d'un parcours de près de 3000 fois leur taille, les spermatozoïdes ayant franchi le col et le maillage du mucus cervical puis escaladent les voies génitales féminines, atteignent finalement le sommet des trompes de Fallope et gagnent l'ampoule tubaire. Le spermatozoïde, doit pénétrer le complexe cumulo-ovocytaire, reconnaître et se lier à la zone pellucide de l'ovocyte, réaliser sa réaction acrosomique et forer la zone pellucide. Parvenu dans l'espace péri vitellin, il s'arrimera à la membrane plasmique ovocytaire. Les membranes spermatiques et ovocytaires fusionneront et le « contenu » du spermatozoïde s'intégrera alors au cytoplasme ovocytaire. L'ADN très condensé contenu dans la tête spermatique devra être décondensé pour former le pronucléus mâle. Ainsi, le

spermatozoïde élu aura franchi de nombreux obstacles pour apporter au but, ce qu'il aura jusqu'alors protégé, la moitié du patrimoine génétique du futur zygote (BOITRELLE, 2014).

### 3.3.2. Rôles dans le développement embryonnaire

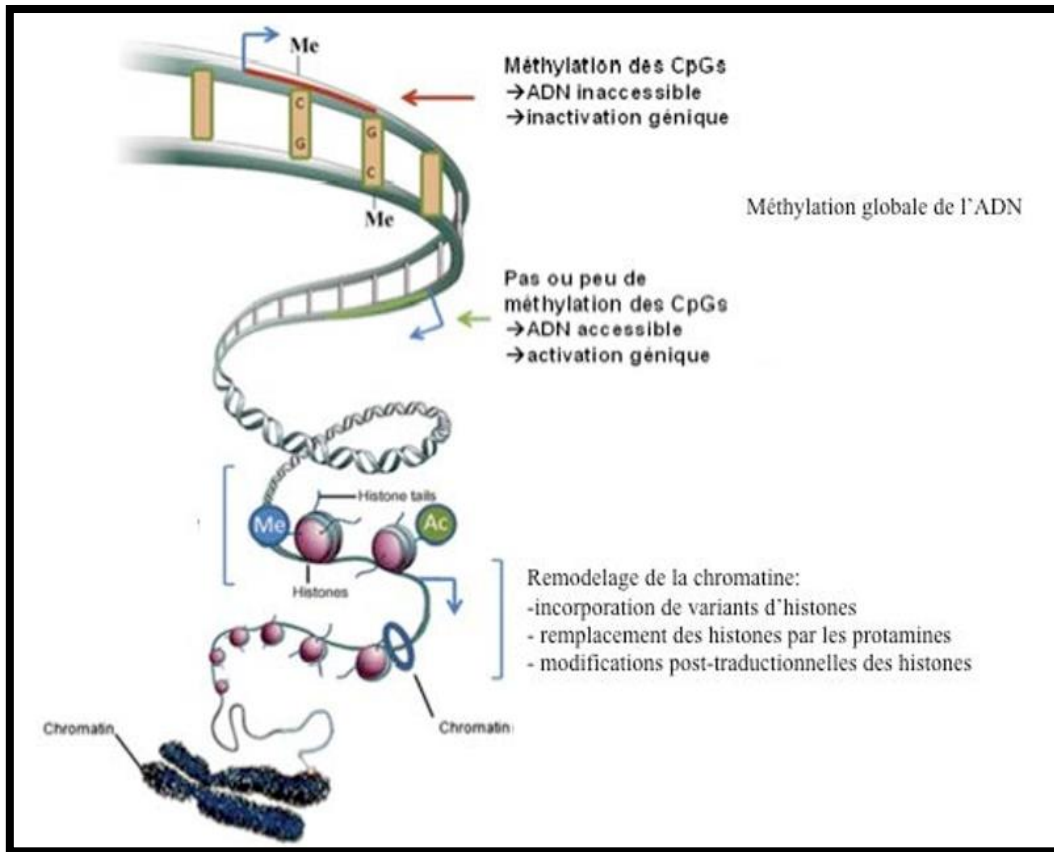
Le spermatozoïde ne peut pas (plus) être considéré comme un simple transporteur d'ADN paternel. Le spermatozoïde est vecteur d'une information épigénétique qui a un rôle très important dans le développement embryonnaire. Cette notion d'épigénome spermatique est une donnée relativement nouvelle. L'épigénétique a été définie il y a plusieurs années (en 1957) par Conrad Waddington comme l'étude des relations entre génotype et phénotype. Aujourd'hui, elle s'envisage plus précisément comme l'étude des changements héréditaires (par mitose ou méiose) et réversibles modifiant l'expression des gènes et n'impliquant pas de changement de la séquence d'ADN (BOITRELLE, 2014). Il existe plusieurs supports à cette information épigénétique spermatique notamment :

- le remodelage de la chromatine avec le remplacement de la majorité des histones par les protamines et les modifications biochimiques post-traductionnelles des extrémités aminotermiales libres de l'histone persistante ;

- la méthylation globale de l'ADN spermatique ;

- la présence de petits ARN dans le sperme (OSTERMEIER *et al.*, 2002).

Ces informations épigénétiques sont liées et jouent des rôles importants dans le développement embryonnaire. Il a par exemple été démontré que les histones « retenues » ou « persistantes » dans le noyau spermatique n'étaient pas distribuées au hasard mais étaient en fait maintenues sur des zones bien particulières du génome, au niveau de promoteurs de gènes impliqués dans le développement embryonnaire (HAMMOUD *et al.*, 2011). Le spermatozoïde pourrait donc avoir un rôle à jouer sur le développement embryonnaire précoce et tardif. De même pour ce qui concerne les ARN, certains ARNm coderaient pour des protéines impliquées dans le développement embryonnaire (OSTERMEIER *et al.*, 2002 ; AINSWORTH, 2005). On admet donc aujourd'hui « qu'un sperme n'en vaut pas un autre » mais surtout « qu'un spermatozoïde n'en vaut pas un autre » et que les spermatozoïdes ne donnent pas les mêmes chances de grossesse ni les mêmes chances de bonne santé dans la descendance.



**Figure 10** : Les supports de l'épigénome spermatique (RAJENDER *et al.*, 2011).

#### 4. Le sperme

Le sperme est composé des spermatozoïdes, du fluide testiculaire et des sécrétions des glandes annexes. Il est éliminé par le méat urinaire lors de l'éjaculation, à raison d'une moyenne de 100 (20 à 300) cm<sup>3</sup> de sperme par éjaculat en moyenne. La couleur normale de l'éjaculat équin est grisâtre à blanchâtre selon la concentration en spermatozoïdes. Cette couleur peut devenir rose, rougeâtre ou rouge vif lorsque le sperme contient du sang (hémospermie). Une couleur jaunâtre peut signaler la présence d'urine (urospermie) ou de pus (pyospermie). L'éjaculat est homogène et de consistance aqueuse sauf lorsqu'il contient une partie de la fraction gélatineuse. Il peut paraître trouble (ALLIMANT, 2010).



**Figure 11** : Aspect du sperme après centrifugation (ALLIMANT, 2010).

#### **4.1. La composition**

##### **4.1.1. La sécrétion prostatique**

Elle est discontinue et fonctionne à l'occasion des rapports sexuels, elle représente 10 à 20 % du volume total de l'éjaculat et est composée de phosphatase acide, protéine, sodium, potassium, zinc, spermine et spermidine (qui sont des substances responsables du tonus physiologique du sperme contre les autos intoxications).

##### **4.1.2. La sécrétion des vésicules séminales**

Elle représente 60 à 80 % du volume total et elle est composée de fructose, acide ascorbique, bicarbonate, prostaglandine, lactoférine et globuline (qui sont des substances responsable du coagulum du sperme éjaculé).

##### **4.1.3. La sécrétion épидидymaire**

Elle représente moins de 1% du volume total et comprend la L-carnitine et la  $\alpha$ -glucosidase. Autres composantes : phosphatase, hyaluronidase constituent des substances tampons (LORNAGE, 2004).

La composition chimique du sperme est la suivante :

- eau (80%) ;
- matière organique (6%) ;

- ions (calcium, phosphate, etc.) ;
- lipides ;
- glucides (fructose) ;
- albumines et globulines ;
- bases aminées.

## 4.2. Les anomalies spermatiques

### 4.2.1. Les anomalies de la qualité du sperme

**a. Asthénospermie** : se définit par moins de 40 % des spermatozoïdes mobiles une heure après l'éjaculation (FAZAZI, 2016). On distingue :

- **Asthénozoospermie primaire** : se définit par moins de 40 % de spermatozoïdes mobiles (mobilité totale) à la première heure après l'éjaculation.

- **Asthénozoospermie secondaire** : Elle se définit à la quatrième heure après l'éjaculation par une chute de mobilité supérieure à 40% comparativement à la première heure.

**b. Nécrozoospermie** : se caractérise par la présence d'un très grand nombre de spermatozoïdes morts dans le sperme de l'homme, il faut rechercher un problème infectieux ou oxydatif (COOK *et al.*, 2007).

**c. Leucospermie** : se définit par une numération des leucocytes supérieure à 1 millions /ml, elle évoque une infection ou un processus inflammatoire (lithiase prostatique ; abstinence trop longue) (FAZAZI, 2016).

**d. Tératospermie** : se caractérise par un taux de spermatozoïdes normaux morphologiquement inférieur à 15 %. Les spermatozoïdes humains présentent un fort pourcentage d'anomalies morphologiques. L'étude morphologique a été codifiée et quantifiée et la plupart des laboratoires utilisent la classification de David qui tient compte de polymalformation des spermatozoïdes (AUGER *et al.*, 2000). Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes sont classées en trois catégories selon la classification de David :

- Sept anomalies de la tête : spermatozoïdes micro céphaliques (longueur de la tête inférieure à 3  $\mu\text{m}$ ), spermatozoïdes macro céphaliques (longueur de la tête supérieure à 5 $\mu\text{m}$ ), spermatozoïde à tête allongée, spermatozoïde à tête multiple, spermatozoïde à tête amincie, spermatozoïde présentant un acrosome anormal ou absent, spermatozoïde présentant une base (région post acrosomique) anormale.

- Trois anomalies de la pièce intermédiaire : restes cytoplasmiques (le cytoplasme est attaché à la pièce intermédiaire, mais rarement à la tête), angulation (la pièce intermédiaire ne se trouve pas dans l'axe longitudinal de la tête mais possède une angulation dépassant les 90°), pièce intermédiaire grêle.

- Cinq anomalies du flagelle : spermatozoïde à flagelle absent, spermatozoïde à flagelle enroulé, spermatozoïde à flagelle écourté, spermatozoïde à flagelle multiple, spermatozoïde à calibre irrégulier

#### **4.2.2. Les anomalies de quantité du volume spermatique**

**a. Aspermie** : Elle se traduit par l'absence d'éjaculat ou un volume de sperme inférieur à 0,5 ml. Cela peut être dû soit à une éjaculation rétrograde (sperme déversé directement dans la vessie), soit à une anéjaculation (absence totale d'éjaculation, sténose des canaux éjaculateurs, agénésie des vésicules séminales, etc.) (SANKARÉ, 2009).

**b. Hypospermie** : le volume total de l'éjaculat est inférieur à 1,5 ml, elle peut être due soit à un problème technique de recueil du sperme, soit un déficit de sécrétion au niveau des glandes annexes (prostate et vésicules séminales) (FAZAZI, 2016).

**c. Hyperspermie** : le volume total de l'éjaculat est supérieur à 6 ml, elle évoque la présence de lésions infectieuses des glandes annexes et en particulier les vésicules séminales, elle peut être due aussi à une abstinence trop longue (OMS, 2004).

#### **4.2.3. Les anomalies du nombre de spermatozoïdes**

**a. Azoospermie** : se définit comme l'absence de spermatozoïdes dans un éjaculat lors de la réalisation d'au moins trois spermogrammes pratiqués dans des conditions optimales et à 3 mois d'intervalle. Ce diagnostic ne peut être affirmé que si l'on examine avec attention le culot de centrifugation avant et après coloration pour infirmer la présence de spermatozoïdes.

Il faut être très prudent dans le diagnostic définitif de l'azoospermie car un phénomène infectieux sévère peut entraîner une azoospermie réversible (SANKARÉ, 2009).

Il faudra aussi éliminer les anomalies de l'éjaculation, les anéjaculations, les éjaculations incomplètes ou tout simplement des éjaculations rétrogrades. Un petit volume de sperme doit en ce moment alerter le clinicien et une recherche de spermatozoïdes dans les urines doit être systématiquement entreprise. Il existe deux types d'azoospermies :

➤ L'azoospermie est dite sécrétoire s'il y'a une absence totale de la spermatogenèse, l'origine de l'altération de la spermatogenèse peut être soit une affection testiculaire primitive congénitale ou acquise soit une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise ou congénitale (SANKARÉ, 2009).

➤ L'azoospermie est dite excrétoire si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididyme, canaux déférents, canaux éjaculateurs), les lésions peuvent être congénitales ou acquises (MOREL *et al.*, 2007).

**b. Oligospermie :** se définit par une diminution du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat inférieur à 15 millions par ml, elle est dite sévère si la numération est inférieure à 5 millions par ml (OMS, 2004).

**c. Polyspermie :** se définit par une numération des spermatozoïdes supérieure à 200 millions par ml (OMS, 2004).

**d. Cryptozoospermie :** crypto c'est caché, donc il s'agit de l'absence de spermatozoïdes à l'examen d'observation direct d'une goutte de sperme mais à l'opposé de l'azoospermie, une recherche approfondie permet d'en trouver quelques uns (moins de 100000 spermatozoïdes dans la totalité de l'éjaculat) (FAZAZI, 2016).

## 5. L'infertilité masculine

### 5.1. Définition

Selon l'OMS, l'infertilité correspond à l'incapacité pour un couple à concevoir après un an de rapports sexuels efficaces et réguliers non protégés (sans moyens de contraception). Elle concerne plus de 48 millions de couples dans le monde et près d'un tiers des cas d'infertilité ont une cause masculine.

L'infertilité masculine est définie comme l'impossibilité de l'homme à assurer une procréation du fait d'une défaillance qualitative ou quantitative de son sperme (AUGER et EUSTACHE, 2000).

## **5.2. Les causes de l'infertilité masculine**

L'infertilité masculine se manifeste le plus souvent par des altérations à la fois quantitatives que qualitatives des spermatozoïdes. Ces altérations peuvent être dues à de nombreuses causes dont les détails sont donnés ci-dessous.

### **5.2.1. Varicocèle**

La varicocèle se définit par la dilatation des veines du cordon spermatique et du scrotum. Elle est associée à des taux élevés d'ERO dans le sperme et de fragmentation de l'ADN. Ce syndrome appelé stress testiculaire semble être associé à une anomalie morphologique (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008). Elle est caractérisée par un spermogramme particulier évocateur de l'atteinte : une asthénozoospermie prédominante sur une oligozoospermie modérée et surtout une tératozoospermie avec des formes immatures, des formes allongées et effilées (ARGAWAL *et al.*, 2007).

### **5.2.2. Problèmes immunitaires**

Il existe une infertilité immunologique ou infertilité auto-immune dans la quelle les spermatozoïdes peuvent provoquer dans certaines circonstances à la production d'anticorps anti-spermatozoïdes (AC anti-spz) (REZGOUNE, 2016), cela conduit à un défaut de mobilité ou à des agglutinations (les spermatozoïdes sont liés entre eux par la tête ou la queue et ils deviennent ainsi incapables de féconder). Cette auto-immunisation peut être déclenchée suite à une obstruction unilatérale ou bilatérale des voies spermatiques, des processus traumatiques (vasectomie) ou infectieux (épididymite /des organes génitaux) (SCHILL *et al.*, 2008).

### **5.2.3. Cryptorchidie**

La cryptorchidie est la non présence d'un ou des deux testicules dans les bourses à cause d'une absence de descente d'un ou des deux testicules dans le scrotum. Lors de l'examen clinique elle se traduit soit par une absence de testicules palpables dans les bourses, soit par un testicule palpable mais en haut et non abaissable (EL HAJJAMI, 2017). C'est une

cause majeure d'altérations de la spermatogenèse et un facteur de risque d'azoospermie (FAZAZI, 2016).

#### **5.2.4. Infections**

Certaines maladies infectieuses (virales, bactériennes, ou parasitaires) lorsqu'elles s'accompagnent d'une inflammation des organes génitaux, en particulier en période pubertaire, peuvent être responsables d'atteintes plus ou moins importantes de la spermatogenèse (PELLATI *et al.*, 2008). Les infections et les inflammations testiculaires, épидидymaires ou prostatiques sont associées fréquemment à une leucospermie ce qui altère la qualité de sperme (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008).

#### **5.2.5. Dysfonctions sexuelles**

Les troubles sexuelles représentent environ 5% des causes d'infertilité qui se traduisent par :

- l'impuissance qui se définit comme l'impossibilité partielle ou totale d'accomplir l'acte sexuelle ;
- l'éjaculation précoce ;
- l'anéjaculation : absence totale d'éjaculation ;
- l'éjaculation rétrograde : elle est affirmée par la présence de spermatozoïdes dans l'urine après une éjaculation (SANKARÉ, 2009).

#### **5.2.6. Causes génétiques**

Les facteurs génétiques de l'infertilité masculine peuvent être chromosomique ou génique, autosomiques ou gonosomiques, à effet pléiotrope ou limités à la lignée germinale. Les réarrangements chromosomiques peuvent être responsables d'un défaut de la méiose ou d'un dysfonctionnement d'un gène crucial pour la spermatogenèse. La présence de consanguinité chez les parents de certains patients ayant un problème d'infertilité laisse supposer une transmission de gènes impliqués dans la spermatogenèse. Parmi les causes génétiques d'infertilité masculine on retrouve les anomalies chromosomiques (syndrome de Klinefelter, translocations réciproques...), les micro-délétions du chromosome Y et les mutations du gène CFTR (FAZAZI, 2016).

### **5.2.7. Causes endocriniennes et hormonales**

Une diminution de la production hormonale notamment de testostérone avec l'âge est due à une altération de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire (AMRANI, 2017) congénitale, génétique, anatomique tumorale, traumatique, ischémique (drépanocytose) ou toxique (dépôts ferriques de la  $\beta$ -thalassémie ou hémochromatose) qui, elle-même responsable d'un hypogonadisme hypogonadotrophique. Ce dernier est souvent associé à un défaut ou un retard du développement pubertaire avec des testicules de petites tailles et une spermatogenèse réduite (LECOMTE et GERVAISE, 2001).

### **5.2.8. Causes obstructives séminales**

L'infertilité masculine peut être due à un obstacle au niveau des voies génitales empêchant ainsi les spermatozoïdes de venir se mélanger au liquide séminal au moment de l'éjaculation on parle alors d'azoospermie obstructive. Cette anomalie est fréquemment due à l'agénésie différentielle congénitale unilatérale ou bilatérale des canaux déférents (arrêt du développement de l'organe) qui est liée en général à des mutations du gène CFTR (mucoviscidose). L'obstruction acquise peut être de nature tumorale, infectieuse, ou iatrogène principalement après chirurgie de la bourse ou de l'aîne (FAZAZI, 2016).

## **5.3. Les facteurs impliqués dans l'infertilité masculine**

En dehors des causes connues de l'infertilité masculine (varicocèle, infections, cryptorchidie ...) de nombreuses études ont démontré l'implication de différents facteurs qui sont liés à l'environnement et aux conditions de vie.

### **5.3.1. Âge**

L'efficacité de la spermatogenèse diminue avec l'âge tant sur la quantité que sur la qualité après 37 ans-40 ans, est c'est à cause de phénomène de l'apoptose qui s'accroît avec l'âge avancé (Konate, 2009). A partir de 50 ans, on note une diminution du volume spermatique et de la mobilité des spermatozoïdes mais il n'y a pas de disparition brusque. Les fonctions hormonales et reproductives déclinent progressivement chez l'homme au cours d'un processus général de vieillissement pour ne disparaître qu'à la mort (SANKARÉ, 2009).

**5.3.2. Tabac**

Le tabagisme a des effets délétères sur la fertilité masculine puisque certaines substances (nicotine, cadmium ...) contenues dans la fumée de cigarette peuvent passer à travers la barrière hémato-testiculaire. La présence de tels composés dans le liquide séminal des fumeurs entraîne une altération des paramètres spermio-logiques classiques et de la qualité nucléaire des spermatozoïdes compromettant de ce fait les chances de grossesse (SEPANIAK *et al.*, 2004).

**5.3.3. Alcool et diverses drogues**

Une consommation excessive et prolongée d'alcool, drogue entraîne des perturbations sexuelles et une altération de la fonction de reproduction chez l'homme. D'une part, l'alcool a des effets néfastes sur la spermatogenèse car il inhibe la synthèse de testostérone. D'autre part, la consommation de plusieurs drogues telles que le cannabis, l'héroïne ou encore la cocaïne peut être à l'origine d'asthénospermie voire tératospermie (KONATE, 2009 ; FAZAZI, 2016).

**5.3.4. Radiations**

L'irradiation testiculaire par certaines doses de rayons X ou de rayonnement gamma est connue pour son impact sur la quantité et la qualité des spermatozoïdes. Ainsi une exposition à long terme conduit à l'apparition des lésions qui peuvent aller depuis la destruction des spermatogonies jusqu'aux aberrations chromosomiques (KONATE, 2009 ; SANKARÉ, 2009).

**5.3.5. Chaleur (hyperthermie)**

L'hyperthermie scrotale et testiculaire était associée à une augmentation de l'atteinte de l'intégrité de l'ADN et entraîne une altération de la spermatogenèse par une modification des paramètres spermatiques. L'élévation de la température testiculaire est due à une exposition à de nombreux facteurs environnementaux : forte exposition au soleil, lieu de vie sous un climat chaud voire tropical, professions exposées à la chaleur, la prise de bains chauds ainsi des situations cliniques particulières qui sont : la cryptorchidie et la varicocèle (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008).

### **5.3.6. Perturbateurs endocriniens**

Le développement de l'industrie chimique expose la population à des substances chimiques dont les plus incriminées sont les métaux lourds, pesticides, solvants. L'exposition professionnelle de l'homme à ces familles de toxiques (agriculteur, peintre, etc.) entraîne une diminution de production de testostérone, LH, progestérone et œstradiol ainsi que l'apparition des malformations génitales (hypospadias et cryptorchidie) chez les garçons nés d'un parent exposé (REMY, 2011).

### **5.3.7. Médicaments**

Il est établi que certains médicaments peuvent être à l'origine d'une infertilité masculine. Parmi les médicaments les plus incriminés on trouve : les  $\beta$ -bloquants, les inhibiteurs calciques, immunosuppresseurs, antimitotiques, les antibiotiques (gentamicine, sulfamides), les corticoïdes...etc. Ils ont une incidence directe (par toxicité directe sur les spermatozoïdes) ou indirecte (par perturbation des axes endocriniens de contrôle) sur la fertilité. S'ils sont utilisés transitoirement, la perturbation est réversible le plus souvent ; certains cytotoxiques où la radiothérapie est utilisée dans les traitements des cancers ont une toxicité irréversible obligeant la cryopréservation des gamètes (REMY, 2011 ; REZGOUNE, 2016).

### **5.3.8. Alimentation**

Un bon déroulement de la spermatogenèse humaine nécessite un apport quantitatif et qualitatif consommable en protéines notamment certains acides aminés dont l'arginine, des acides gras et des vitamines (A, C, E) (CAMHAIRE, 2010).

### **5.3.9. Paramètres anthropométriques**

De nouvelles études de JENSEN *et al* (2004) confirment l'existence d'une relation entre le surpoids et l'infertilité masculine. Un indice de la masse corporelle (IMC) trop faible ou trop élevé est associé à une réduction de la qualité du sperme et donc l'infertilité. Parmi les altérations des paramètres spermatiques associés à l'IMC on trouve : diminution de la concentration ou la numération totale en spermatozoïdes, diminution du nombre de spermatozoïdes mobiles, augmentation des formes atypiques de spermatozoïdes (FAZAZI, 2016). Une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique peut exister en cas d'obésité (CHAVARRO *et al.*, 2009).

**Notez bien :** Le point commun de tous les facteurs précédemment cités, c'est qu'ils ont un impact nocif sur la fertilité masculine, puisque ils génèrent du stress oxydant.

#### **5.4. Les techniques d'investigation de l'infertilité masculine**

Dans le cas d'infertilité masculine, le spermogramme associé au spermocytogramme constituent les examens de base dans le cadre de l'exploration de l'infertilité. Il existe également d'autres complémentaires afin d'élaborer un bon diagnostic.

##### **5.4.1. Le spermogramme**

Le spermogramme est un examen médical qui permet l'étude des caractères physico-chimiques et quantitatifs du sperme (KONATE, 2009). Il permet d'identifier les altérations quantitatives (azoospermie, cryptozoospermie, oligospermie) et qualitatives (asthénospermie, tératospermie, nécrospermie) des spermatozoïdes (LAKHDARI, 2013).

C'est un examen indispensable de première indication dans l'infertilité masculine, qui doit être fait au moins quatre à cinq mois à distance de toute période infectieuse, fébrile, de toute maladie virale ou de toute intervention chirurgicale même extra génital.

Les substances présentes dans le sperme comme le liquide prostatique, sont également analysées afin d'être sûr que les spermatozoïdes baignent bien dans les fluides adéquats (Konate, 2009). Cet examen regroupe une étude macroscopique et microscopique.

##### **➤ Examen macroscopique**

- **Volume d'éjaculat :** est un paramètre très important qui est estimé entre 2 et 6 ml. Il peut connaître certaines anomalies telles que : aspermie (absence d'émission de sperme), hyperspermie (volume d'éjaculat > 6 ml) et hypospermie (volume d'éjaculat < à 2 ml). Cette dernière est due à un obstacle dans les voies excrétrices et/ou dysfonctionnement des glandes qui produisent le sperme, soit à une faible sécrétion d'androgènes (KONATE, 2009). Le volume d'éjaculat est mesuré à l'aide d'une pipette ou d'un cylindre gradué.

- **pH :** doit être mesuré dans l'heure qui suit l'éjaculation à l'aide d'un papier indicateur sur lequel on dépose une goutte de sperme. La valeur normale du pH séminal est entre 7,2 et 8. Un pH acide (pH < 7,2) peut évoquer une atteinte ou insuffisance des canaux déférents et

vésicules séminales alors qu'un pH alcalin ( $\text{pH} > 8$ ) peut évoquer une atteinte prostatique (LAKHDARI, 2013).

- **Odeur** : l'éjaculat a une odeur bien définie dite « sui generis » due à l'oxydation de la spermine, en cas d'infection ou pyospermie (présence de pus dans le sperme sous forme de leucocytes altérés) l'odeur peut être fétide (KONATE, 2009).

- **Aspect** : le sperme est opaque, blanchâtre ou jaune paille, lactescent d'aspect floconneux. Lorsqu'il est d'aspect brunâtre une hemospermie (présence du sang dans le sperme) doit être recherchée (KONATE, 2009).

- **Viscosité et temps de liquéfaction** : avant de commencer l'analyse de sperme, une période de temps doit être accordée pour la liquéfaction. Cette dernière est de durée normale si elle est réalisée à 30 min, au-delà de ce laps de temps elle est considérée comme lente. Pour la viscosité elle s'évalue après une aspiration du sperme dans une pipette, en notant la façon dont il s'écoule par simple gravité (KONATE, 2009).

#### ➤ **Examen microscopique**

- **Numération des spermatozoïdes** : est appréciée par comptage dans un hémocytomètre (cellules de Thomas, de Malassez ou autres) après immobilisation des spermatozoïdes dans une solution de Ringer Formolée à 1% (KONATE, 2009). Cette étape permet de déterminer la concentration des spermatozoïdes dans l'éjaculat à analyser. Selon l'OMS le nombre de spermatozoïdes se trouve entre 20-200 millions de spermatozoïdes /ml. Il peut exister certaines anomalies de la numération telles que : azospermie, oligospermie, polyspermie. L'absence totale de spermatozoïdes dans l'éjaculat définit l'azospermie ; l'oligozoospermie est équivalente à une numération  $< 20$  millions /ml. Alors qu'un taux de spermatozoïdes  $> 200$  millions/ml est appelé polyspermie (LAKHDARI, 2013).

- **Mobilité** : Est l'un des paramètres les plus importants pour l'appréciation du pouvoir fécondant du sperme. La motilité se lit directement après la liquéfaction du sperme dans une étuve entre 30 min-1h après l'émission. Après avoir bien homogénéisé, une goutte de 10  $\mu\text{l}$  de sperme est déposée entre lame et lamelle afin de permettre aux spermatozoïdes de bouger librement sans qu'ils soient écrasés. L'évaluation de la mobilité se fait ensuite par comptage de 200 spermatozoïdes sur au moins cinq champs différents au microscope à contraste de phase (SAULA, 2017). Selon l'OMS, le nombre de spermatozoïdes mobiles doit être

supérieur à 50% à la première heure et inférieure à 50% après 4 heures d'éjaculation. Lorsque la mobilité est < à 50% on parle d'asthénospermie (KONATE, 2009).

**-Vitalité** : la vitalité des spermatozoïdes est estimée par l'intégrité de leurs membranes. Elle est vérifiée entre lame et lamelle après la coloration du frottis, cette technique de coloration consiste à faire un mélange du 10 µl de sperme, 10 µl du colorant Eosine et 20 µl du colorant Nigrosine (KONATE, 2009). Donc le pourcentage de spermatozoïdes vivants (blancs) est évalué en identifiant ceux qui ont une membrane cellulaire intacte par exclusion du colorant vital (colorant Eosine- Nigrosine). Les spermatozoïdes morts (rose) ont leurs membranes cellulaires endommagées donc le colorant peut pénétrer dans la tête blanche. D'après l'OMS, le pourcentage de vitalité doit être supérieur à 58 % de spermatozoïdes vivants à l'éjaculation. Une nécrozoospermie peut évoquer un problème infectieux ou oxydatif (SAULA, 2017).

**-Concentration de cellules rondes** : l'éjaculat peut contenir d'autres cellules que les spermatozoïdes. Celles ci sont regroupées sous le terme général de cellules rondes et peuvent être : des cellules épithéliales desquamées du tractus génital, des cellules germinales et des cellules de la lignée blanche (leucocytes). La concentration en cellules rondes est évaluée grâce à l'hémocytométrie de la même manière que pour l'évaluation de la concentration des spermatozoïdes, dans le même temps (POST, 2019). La présence des cellules germinales qui sont les cellules de base qui évoluent vers les spermatozoïdes après une transformation complexe à un taux hors normes (> à 5 %) doit faire penser à un trouble de spermatogénèse. Quand au taux de leucocytes dans le sperme doit être inférieure à 1 millions/ml et il est considéré comme un marqueur de l'existence d'une infection (leucospermie) (KONATE, 2009).

**-Appréciation d'agglutination** : l'agglutination des spermatozoïdes signifie que les spermatozoïdes mobiles collent les uns avec les autres, tête et tête, pièce intermédiaire et pièce intermédiaire, queue et queue, et elle ne doit pas être confondue avec les amas de spermatozoïdes non collés. Une agglutination est en faveur de l'existence d'un facteur immunologique ou la présence d'une infection génitale. Il est donc recommandé en cas d'agglutination, de réaliser une spermoculture afin d'éliminer une infection et le test de réaction d'agglutination mixte (MAR test) ou test aux immunobilles (IBT) (AMRANI, 2017).

**Tableau I :** Tableau comparatif d'un spermogramme normal et pathologique en fonction des critères de l'OMS 2010 (HOCEDE, 2017).

	Spermogramme normal	Spermogramme pathologique
<b>Volume de sperme</b>	2-6mL	<2 mL : hypospermie >6 mL : hyperspermie
<b>Temps de liquéfaction (à température ambiante)</b>	15-60 min	>60 min
<b>Aspect</b>	Blanchâtre ou lactescent	Jaunâtre ou hémorragique
<b>pH</b>	7,2 – 7,8	>7,8 : inflammation du sperme <7,2 : prédominance de liquide prostatique
<b>Numération des spermatozoïdes</b>	$\geq 20 \times 10^6/\text{mL}$	0 : azoospermie < $20 \times 10^6/\text{mL}$ : oligozoospermie > $200 \times 10^6/\text{mL}$ : polyzoospermie
<b>Mobilité</b>	$\geq 50\%$	< 50% : asthénozoospermie
<b>Morphologie normale</b>	$\geq 50\%$	< 50% : tératospermie
<b>Vitalité</b>	$\geq 58\%$	< 42% : nécrozoospermie
<b>Leucocytes</b>	< $1 \times 10^6/\text{L}$	> $1 \times 10^6/\text{L}$
<b>Agglutinats</b>	Absent	Présent : infection ?

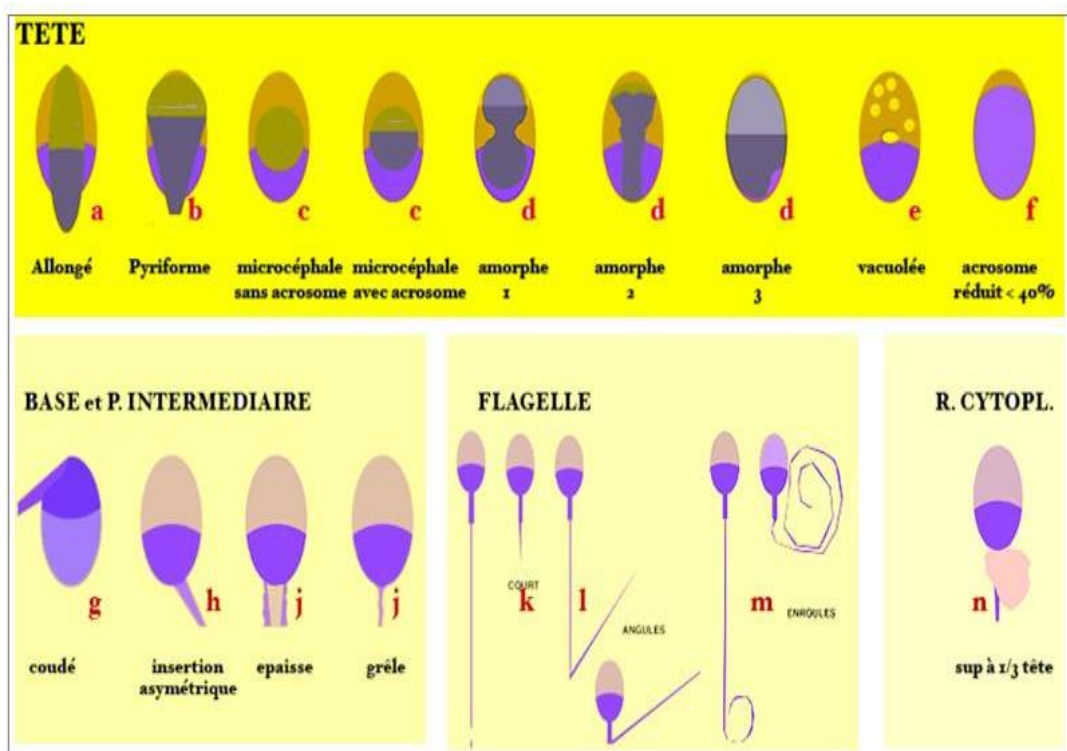
#### 5.4.2. Le spermocytogramme

C'est l'étude morphologique ou cytologique des spermatozoïdes humains. Cet examen comprend l'évaluation du pourcentage des spermatozoïdes normaux et la détermination des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (tête, la pièce intermédiaire, flagelle) (Konate, 2009). Il est normal lorsque la proportion de spermatozoïdes présentant des anomalies morphologiques est inférieure à 4 %, au dessus de cette valeur le sperme est classé dans la catégorie des tératozoospermies (LAKHDARI, 2013).

Selon l'OMS, la classification la plus recommandée des anomalies morphologiques est celle de Kruger dans la quelle les anomalies sont classées en quatre classes (Figure 12) :

- anomalies de la tête ;
- anomalies de la pièce intermédiaire ;

- anomalies du flagelle ;
- présence des restes cytoplasmiques.



**Figure 12 :** Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes selon la classification de Kruger et Coll (AMRANI, 2017).

### 5.4.3. Examens complémentaires

D'autres examens sont prescrits dans le cadre de l'exploration de l'infertilité masculine lorsque l'examen clinique initial ou l'examen spermatique mettant en évidence une anomalie. Ces examens visent à rechercher la cause de l'anomalie et à orienter au traitement adéquat qui sera proposé pour chaque situation.

#### ➤ Spermoculture

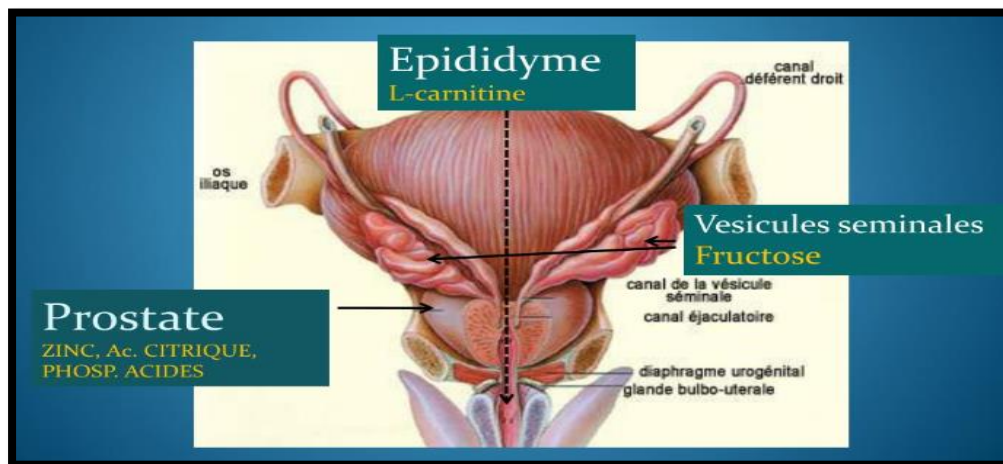
La spermoculture est l'examen cyto bactériologique du sperme qui recherche la présence de germes (chlamydial, mycoplasme) dans le sperme. Elle est indiquée généralement en cas d'apparition de signes infectieux ; ce test permet d'une part de retrouver une infection et d'autre part de vérifier l'innocuité bactériologique du sperme avant la PMA. L'intérêt de la spermoculture lors du bilan de fertilité pourrait se justifier par les effets délétères des infections bactériennes sur les paramètres spermatiques. Une spermoculture peut être

considérée comme positive pour une concentration de  $3 \times 10^3$  CFU /ml (SAMAKE, 2007 ; BELARBI, 2015).

### ➤ Biochimie séminale

L'exploration biochimique du sperme humain est fondée sur le dosage de certains composés de l'éjaculat, elle peut être considérée comme un complément du spermogramme dans le cadre de l'exploration de l'infertilité masculine (SAMAKE, 2007). La biochimie séminale consiste à la recherche de certains marqueurs spécifiques d'un organe de l'appareil génital mâle (BELARBI, 2015).

Ces marqueurs du plasma séminal peuvent être des indicateurs de la fonction des glandes annexes et du tractus génital mâle. En général, un défaut de sécrétion d'une des glandes s'accompagne d'une diminution de l'excrétion du marqueur correspondant. Il existe de nombreux marqueurs biochimiques dont la phosphatase acide, le citrate et le zinc pour la prostate ; le fructose pour les vésicules séminales ; la L-carnitine libre, la glycéro-phosphocholine et l'activité de l'alpha glucosidase pour l'épididyme. Leur mesure permet d'établir une cartographie biochimique, anatomique et /ou fonctionnelle de l'appareil génital masculin (CABANNES, 2008).



**Figure 13** : Position des marqueurs biochimiques dans l'appareil génital mâle

(CHASSAGNE, 2010).

➤ **Test de migration survie des spermatozoïdes (TMS)**

C'est un test qui permet d'isoler des spermatozoïdes mobiles afin d'évaluer leur concentration et leur survie après conservation 24h à température ambiante (MORESI, 2013). Il permet aux spermatozoïdes mobiles de migrer et de se séparer du reste des cellules de l'éjaculat ainsi de certaines bactéries (BELARBI, 2015) afin de sélectionner les spermatozoïdes mobiles et viables qui pourront être utilisés en assistance médicale à la procréation. Il existe deux principales méthodes de sélection, qui sont : la centrifugation sur gradient de densité et la migration ascendante avec ou sans centrifugation (EL FAROUK, 2015). Les tests de migration survie des spermatozoïdes sont généralement réalisés en cas d'oligo-asthéo-tératozoospermie.

➤ **Test de Hühner (test post coïtal)**

Test post coïtal (TPC) ou test de Hühner est un examen qui a pour objectif d'étudier le comportement des spermatozoïdes dans les sécrétions génitales féminines (SAMAKE, 2007). Il consiste à rechercher le nombre de spermatozoïdes vivants et mobiles dans la glaire cervicale, 6 h à 12 h après un rapport sexuel complet. Ce test est considéré comme positif quand il y a plus de cinq(5) spermatozoïdes vivants et mobiles par champs. Enfin, le test est négatif ou nul si aucun spermatozoïde n'est retrouvé dans la glaire (SANKARÉ, 2005)

**Tableau II :** Les résultats d'un test post coïtal (COULIBALY, 2009).

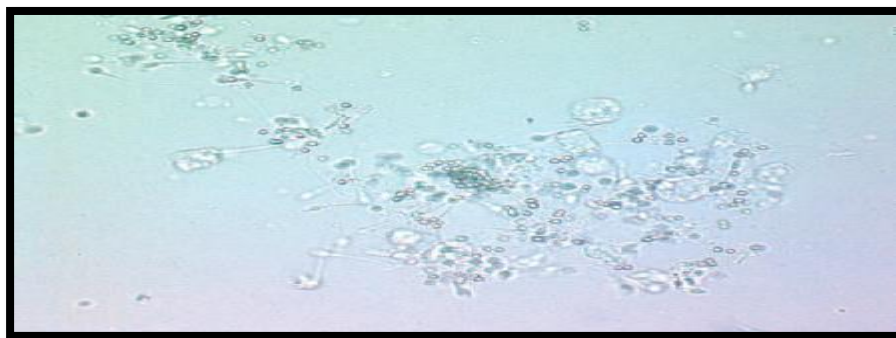
Nombre de spermatozoïdes	Appréciation du test
Absence de spermatozoïde ou présence de spermatozoïdes, morts ou immobiles	Négatif
Inférieur à 5 spermatozoïdes mobiles par champ	Pauvre
Supérieur ou égal à 5 spermatozoïdes mobiles par champ	Positif

### ➤ MAR test et test immunobilles

La recherche d'auto-anticorps dans le sperme (mais aussi dans le plasma sanguin ou la glaire) est programmée lorsque une asthénozoospermie avec agglutination spontanée des spermatozoïdes est constatée. Les auto-anticorps sont dépistés et dosés à l'aide des tests d'agglutination (MAR test et test aux immunobilles) (MORESI, 2013).

**-MAR test (Mixed Antiglobulin Réaction) ou test d'agglutination mixte** est une technique rapide et simple qui a pour principe d'utiliser des billes de latex couplées à des immunoglobulines. Ces billes sont mélangées à du sperme frais, l'ajout du sérum anti-immunoglobulines entraîne l'agglutination des spermatozoïdes. Lorsque les AC anti-spermatozoïde (ASA) sont présents, les billes recouvrent partiellement les spermatozoïdes. Les pourcentages établis sont interprétés comme suit : 0-9% (test est négatif), 10- 49% (test est douteux), > 50 % (test est positif).

**-Test de fixation des immunobilles directe** : La technique des immunobilles utilise des billes de polyacrylamide couplées aux anticorps IgA, IgM, IgG. L'intérêt de ce test est de définir les types d'immunoglobulines fixées sur les spermatozoïdes et de visualiser la localisation des billes (au niveau de la tête, pièce intermédiaire, flagelle ou localisation mixte). Il est considéré comme positif si le taux de spermatozoïdes mobiles porteurs de billes est > 20% (BELARBI, 2015).



**Figure 14** : Les anticorps anti spermatozoïdes (révélés par la technique immunobilles) (BELARBI, 2015).

### ➤ Dosages hormonaux

Les causes hormonales d'infertilité sont rares, elles sont présentes chez environ 1% des hommes infertiles. Cependant, il est utile de les dépister, car le traitement hormonal peut dans

certain cas, corriger les anomalies de la spermatogenèse et ainsi traiter l'infertilité. Le dosage hormonal permet l'évaluation de la fonction endocrinienne. Le dosage sérique de la FSH et testostérone complété par un dosage de la LH et de l'inhibine.

Un bilan hormonal est recommandé dans le cas d'une oligospermie et azoospermie, des signes d'endocrinopathies, une baisse de la fonction sexuelle (SAMAKE, 2007).

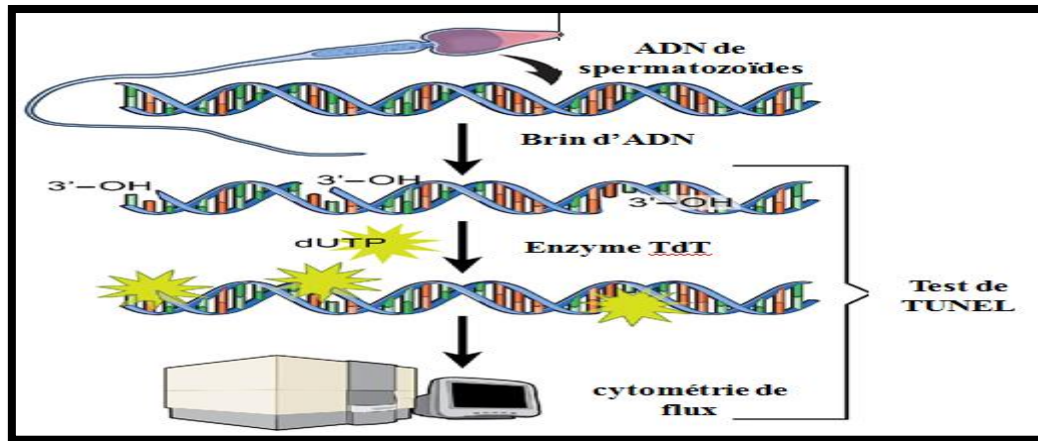
➤ **Caryotype**

C'est une analyse caryotypique des spermatozoïdes qui permet de préciser dans quelle proportion les gamètes elles mêmes sont porteuses d'anomalies chromosomiques. La réalisation d'un caryotype se fait à partir d'une prise de sang sur des « lymphocytes » sanguins en vue de rechercher une anomalie de nombre ou de structure des gonosomes et des autosomes (SAMAKE, 2007). C'est un examen qui permet d'examiner les chromosomes, les cellules, qui est indiqué généralement en cas d'azoospermie non obstructive ou dans le cas d'antécédents familiaux d'infertilité (BELARBI, 2015).

➤ **Test de fragmentation de l'ADN spermatique**

La fragmentation de l'ADN spermatique comme indicateur de bonne qualité spermatique est récemment devenue une source d'intérêt, et beaucoup de méthodes ont été développées pour mesurer l'intégrité de l'ADN spermatique. Il existe de nombreuses techniques pour détecter la fragmentation de l'ADN dont :

**-Technique TUNEL (TdT mediated- dUTP nick end labeling):** elle permet de quantifier l'incorporation de dUTP (Déoxy Uridine Tri phosphate) au niveau des groupements 3'OH accessibles suite aux cassures de l'ADN et cela en présence de TdT (Terminal désoxynucleotidyl Transférase). Le dUTP est couplé à un fluorochrome dont la fluorescence est détectable in situ. La quantification peut ainsi être réalisée par cytométrie de flux ou au microscope à fluorescence.



**Figure 15 :** Technique TUNEL (SHARMA *et al.*, 2015).

**-Technique COMET:** Les spermatozoïdes sont lysés en milieu alcalin et une électrophorèse est réalisée, l'ADN est alors révélé par un colorant fluorescent spécifique (CAIRE-TETAURU, 2017).

#### ➤ Recherche d'une microdélétion du chromosome Y

Pour l'analyse génétique, les microdélétions du bras long du chromosome Y ont été révélées par PCR multiplex par la recherche des marqueurs génomiques (STS) situés dans les trois régions AZF, suivie de l'électrophorèse du produit de PCR sur gel d'agarose. Une découverte d'une microdélétion permet d'une part d'attribuer aux azoospermiques et aux oligozoospermiques extrêmes et sévères (IBALA *et al.*, 2005).

#### ➤ Recherche d'une anomalie du gène CFTR de la mucoviscidose

Sur le plan génomique, une recherche des mutations du gène CFTR (ou ABCC7) de la mucoviscidose sera systématiquement faite en cas d'une azoospermie avec agénésie bilatérale des canaux déférents. Si la recherche est positive, un dépistage sera réalisé chez l'épouse pour écarter le risque de transmission de la maladie génétique au futur fœtus si elle aussi est porteuse de la mutation (AMRANI, 2017 ; MORESI, 2013).

#### ➤ Imagerie

Les examens radiologiques sont surtout intéressants pour explorer l'épididyme, la voie génital supra-testiculaires, lorsqu'on suspecte une infertilité d'origine excrétoire et en cas de

varicocèle. Les techniques utilisées sont : l'échographie, le scanner et l'IRM, la déférentographie (SAMAKE, 2007).

---

***CHAPITRE II***  
***RADICAUX LIBRES ET***  
***STRESS OXYDANT***

---

Le stress oxydant est un bon indicateur de l'infertilité masculine, en effet, son évaluation est importante pour le diagnostic clinique et la prise en charge de l'infertilité masculine en particulier chez les patients atteints de troubles inexpliqués et idiopathiques. Qu'est-ce donc le stress oxydant ?

## 1. Radicaux libres

### 1.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur la couche électronique périphérique (JACQUES et ANDRÉ, 2004), la présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules une grande instabilité et une grande réactivité donc une demi-vie très courte. Il réagit rapidement avec d'autres composants (lipide, protéine, ADN) en essayant de capturer l'électron nécessaire à sa stabilité (MARTINEZ-CAYUELA, 1995).

Ces radicaux libres peuvent entraîner des lésions tissulaires en captant des  $e^-$  d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule cible dans un état instable (FILAIRE et TONI, 2012).

### 1.2. Principales sources des radicaux libres

La production des radicaux libres dans les cellules des mammifères découle de plusieurs sources possibles mais sont essentiellement d'origine enzymatique.

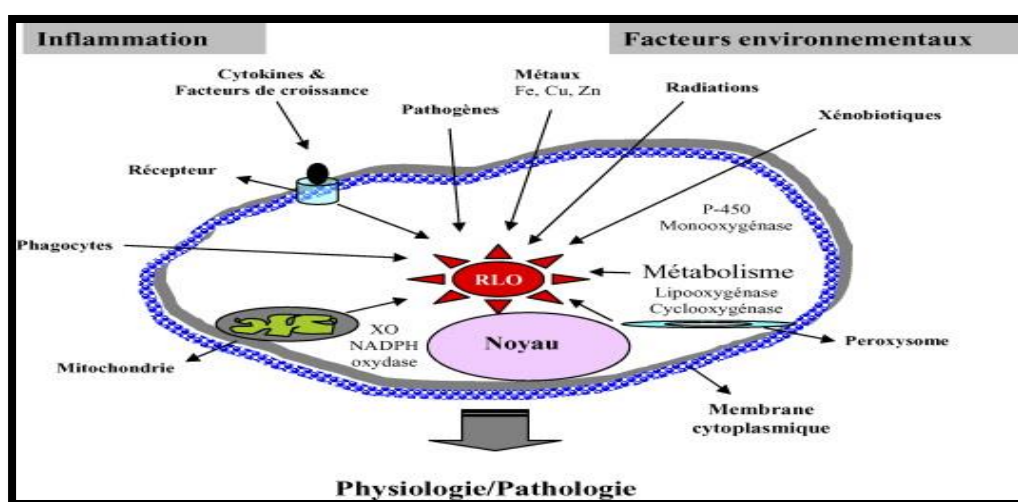


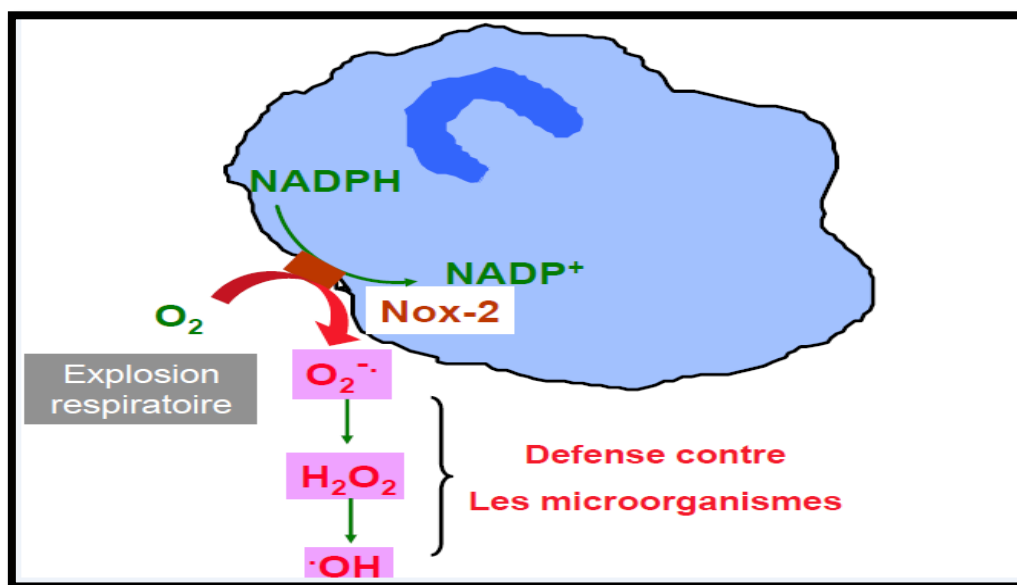
Figure 16 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés (AFONSO *et al.*, 2007).

### 1.2.1. Sources endogènes

Dans l'organisme, il y a de nombreuses sources de radicaux libres qui varient selon les tissus et les organites, que ce soit au niveau des mitochondries ou des membranes du réticulum endoplasmique. D'une manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production des radicaux libres oxygénés (THANNICKAL et FANBURG, 2000).

#### ✓ L'inflammation

L'inflammation est considérée comme une source importante de radicaux libres puisque une grande quantité d'ERO sont produites par les cellules immunitaires plus particulièrement les cellules phagocytaires. Ces cellules produisent des  $O_2^{\cdot-}$  et du  $H_2O_2$  pour éliminer les micro-organismes pathogènes et les cellules cancéreuses. Afin d'assurer la défense de l'organisme, les cellules phagocytaires utilisent le phénomène d'explosion oxydative, qui consiste à l'activation du complexe NADPH oxydase. Cette dernière utilise l'oxygène pour produire des  $O_2^{\cdot-}$  en grande quantité au niveau de la membrane cytoplasmique (Figure 13) (CARANGE, 2010).



**Figure 17 :** Génération des radicaux libres oxygénés par la NADPH oxydase des cellules phagocytaires (CILLARD, 2011).

**✓ Xanthine oxydase**

La xanthine oxydase est issue de l'oxydation et /ou de la conversion protéolytique de la xanthine déhydrogénase. Elle est exprimée dans les cellules vasculaires, peut circuler dans le plasma et se lier à la matrice extracellulaire des cellules endothéliales (WASSMANN *et al.*, 2004). Cette enzyme génère les ERO en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique en utilisant l'oxygène moléculaire comme un accepteur d'électron produisant ainsi l'anion superoxyde (HARRISON, 2002).

**✓ Oxyde nitrique synthase (NOS)**

Selon XIA *et al* (1998), il y a beaucoup de cellules qui sont capables de produire du monoxyde d'azote NO<sup>•</sup> à partir de l'arginine et de l'oxygène par une réaction catalysée par l'oxyde nitrique synthase.

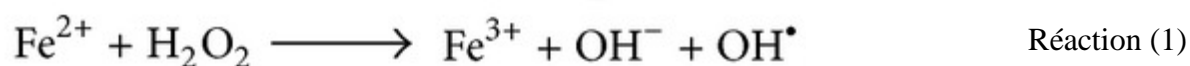
Cette enzyme est capable de générer des anions superoxydes dans des situations de déficit de son substrat L-arginine ou de ses cofacteurs d'activation.

**✓ Peroxysome**

Vu sa richesse en enzymes génératrices du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le peroxysome est une source cellulaire importante dans la production du peroxyde d'hydrogène. Ce dernier est utilisé comme substrat par la catalase peroxysomale pour réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Cette enzyme est importante dans les processus de détoxification que joue le foie (MOURE *et al.*, 2001).

**✓ Les ions métalliques**

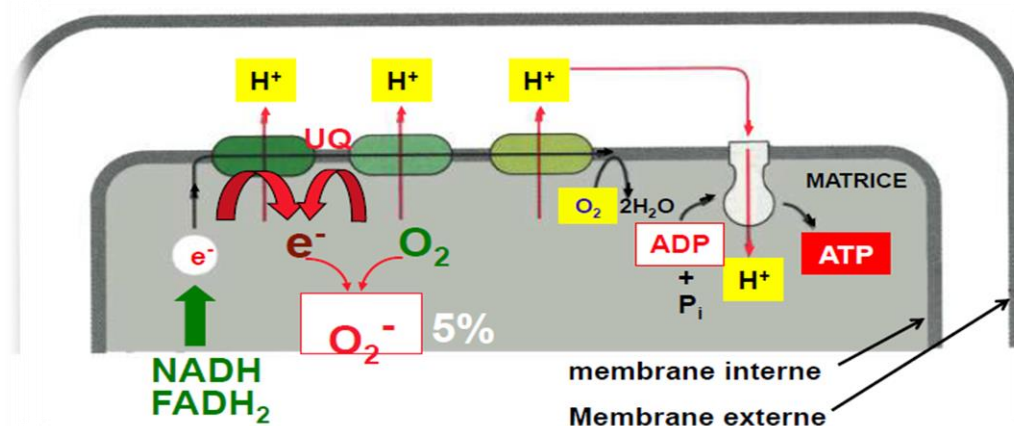
Les ions métalliques, comme le fer et le cuivre sous leurs formes réduites, sont considérés comme de remarquables promoteurs des processus radicalaires. Ils transforment le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en OH<sup>•</sup> selon la réaction de Fenton (réaction 1) (FONTAINE, 2007).



## ✓ Mitochondrie

Les êtres vivants trouvent leur énergie dans la respiration mitochondriale où la dernière étape consiste à réduire l'oxygène par l'ajout de quatre électrons. Cependant, au contact de l'oxygène et certaines protéines de la chaîne respiratoire, il advient une production inévitable d'anions superoxydes (MONGENS, 2013).

Selon VALKO *et al* (2007) qui estiment entre 1 à 4 % la quantité de dioxygène qui subit une réduction mono-électronique au niveau de l'ubiquinone au lieu de contribuer à la réduction complète du dioxygène en eau. Les fuites se produisent essentiellement au niveau du complexe I et du complexe II de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les radicaux superoxydes issus des fuites électroniques du complexe I sont exclusivement expulsés dans la matrice (MULLER *et al.*, 2004), leur formation est due à l'oxydation des semiquinones sur le site Q par l'oxygène dissous dans les membranes (Figure 14) (JUNGBLUTH, 2008).



**Figure 18 :** Fuites d'électrons au cours de la respiration cellulaire (ALBERTS *et al.*, 2009).

## ✓ Lipoxygénase

L'acide arachidonique qui provient de l'hydrolyse des phospholipides membranaires par la phospholipase A2 est utilisé comme substrat par la lipoxygénase pour la synthèse des leucotriènes (MARNETT, 1999). La voie catalytique de l'acide arachidonique par la lipoxygénase conduit à la génération de  $\text{OH}^\bullet$  et  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , suivis par des peroxydes lipidiques (NANDA *et al.*, 2007).

### 1.2.2. Sources exogènes

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme (SUMAY-MARTINEZ, 2004). Ces radicaux libres proviennent d'un apport extérieur c'est-à-dire lors d'une exposition à un environnement toxique.

Une large variété de xénobiotiques, pesticides, insecticides et médicaments (antibiotiques, anticancéreux) sont seulement quelques exemples de toxines qui peuvent pénétrer dans le corps humain et contribuent lors de leur métabolisation à la production de radicaux libres (VALKO *et al.*, 2007 ; SEIDLE *et al.*, 2010).

Les rayonnements ultraviolets (UV) induisent la synthèse de radicaux libres de type  $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^\bullet$ ,  $^1\text{O}_2$  et de molécules génératrices de radicaux libres tels que  $\text{H}_2\text{O}_2$  par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants. Par ailleurs, les radiations ionisantes provoquent également la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène (SEIDLE *et al.*, 2010).

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde avec production d' $\text{O}_2^\bullet$ . D'autre part, l'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NAD(P)H oxydase, NADPH cytochrome réductase et du cytochrome P450 (ROBINEAU *et al.*, 2012).

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2$ ), présents dans notre environnement (Suies, goudron, tabac, polluants industriels) participent à la genèse de radicaux libres. Ils peuvent aussi réagir avec le peroxyde d'hydrogène produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires et donner naissance à des radicaux  $\text{OH}^\bullet$  (GARG *et al.*, 2008).

Les métaux tels que le fer (Fe), cuivre(Cu), cadmium(Cd), mercure (Hg), nickel (Ni) et zinc(Zn) ont la capacité de produire les ERO par l'intermédiaire de la réaction de Fenton comme la production du radical hydroxyle et l' $\text{O}_2^\bullet$  (MENA *et al.*, 2009 ; WAGES *et al.*, 2014).

L'alimentation mal saine (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre...) favorise la genèse de radicaux libres (MENA *et al.*, 2009).

### 1.3. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

L'oxygène est normalement transformé en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale mais une faible partie de cet oxygène produit en permanence au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées activées (CALLARD, 2014). Ces dernières sont générées de façon permanente dans l'organisme car elles sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme et redox physiologique pour l'expression de gènes).

Les espèces réactives de l'oxygène sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante [anion peroxyde ( $O_2^{-2}$ ), peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et peroxynitrite ( $ONOO^-$ )] et les radicaux libres oxygénés (espèce chimique possédant un électron non apparié) [anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) et monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ )] (BELKHEIRI, 2010).

#### 1.3.1. Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

L'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  est issu de la réaction monoélectrique d'une molécule de dioxygène. Il est donc la première espèce réactive de l'oxygène produite dans une situation de stress oxydant. L'addition d'un électron au dioxygène forme le radical anion superoxyde (réaction 2).



Cet anion est produit au niveau cellulaire lors du catabolisme des bases puriques et du fonctionnement du cytochrome P450 dans le réticulum endoplasmique (MONGENS, 2013).

Selon CARRIERE *et al* (2006), la mitochondrie est responsable de 80% de la production d'anion superoxyde dans les cellules non phagocytaires. Le métabolisme cellulaire n'est pas le seul responsable de la formation d' $O_2^{\cdot-}$ . En effet, ce dernier est également produit par le système enzymatique des NAD(P) H oxydases (complexe enzymatique membranaire présent dans les cellules phagocytaires et dans les lymphocytes B qui est différent des systèmes précédent car il est inductible) (CHABORY, 2009). La demi vie de  $O_2^{\cdot-}$  est longue et est mille fois supérieur à celle du radical hydroxyle par exemple, ce qui lui permet de diffuser vers leurs cibles, en particulier la superoxyde dismutase (SOD), les ions ( $Fe^{2+}$ ) et la

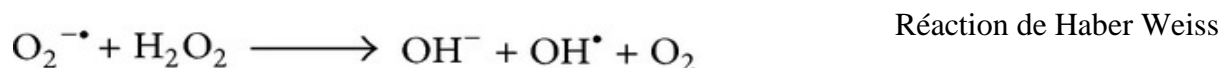
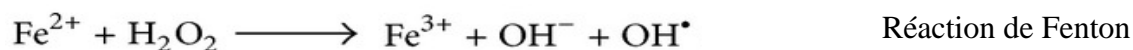
vitamine C (PALMIER et SBLENDORIO, 2007). D'après JUNGBLUTH (2008), la réaction de formation de l'anion superoxyde a une constante de vitesse faible ( $< 10^2 \text{ Mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{S}^{-1}$ ) comme toutes les réactions dans lesquelles l'anion  $\text{O}_2^{\cdot-}$  est impliqué.

Les  $\text{O}_2^{\cdot-}$  ont une faible réactivité avec les composés biologiques et ne réagissent ni avec les acides nucléiques, ni avec les protéines, ni avec les lipides. Ils peuvent interagir avec d'autres molécules pour former d'autres ERO ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{OH}^{\cdot}$ ,  $^1\text{O}_2$ ) de façon directe ou par intervention d'enzymes catalysant le processus (VALKO *et al.*, 2005).

L'anion superoxyde est capable de réagir avec l'oxyde nitrique pour former le peroxyntrite ( $\text{ONOO}^{\cdot}$ ) qui est capable de donner par la suite des composés très toxiques comme le radical hydroxyle et le dioxyde nitrique (HALLIWELL, 1997).

### 1.3.2. Radical hydroxyle $\text{OH}^{\cdot}$

Le radical hydroxyle  $\text{OH}^{\cdot}$  est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques. Il peut se former par réaction du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) avec un ion ferreux (réaction de Fenton) ou par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction de Haber Weiss) ou sous l'effet de radiations ionisantes (rayons X ou gamma) (BELKHEIRI, 2010).

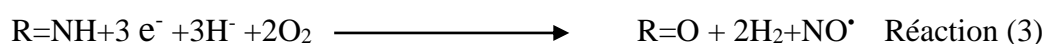


Ce radical possède une demi-vie de l'ordre de  $10^{-9}$  secondes à  $37\text{C}^\circ$  et une fois produit il est considéré comme un composé très dangereux car il est capable de réagir avec les composants cellulaires en oxydant les lipides, les protéines ou l'ADN mais son pouvoir de pénétration à l'intérieur des cellules est limité (HIPPELI et ELSTNER, 1997).

Il est l'oxydant le plus puissant des ERO avec une vitesse de réactivité élevée et ne possède pas de cibles privilégiées. Le  $\text{OH}^{\cdot}$  oxyde son substrat selon trois modes d'actions : l'arrachement d'un électron, l'arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique ou l'addition sur une double liaison (MIGDAL et SERRES, 2011).

### 1.3.3. Monoxyde d'azote NO•

Le monoxyde d'azote est une petite molécule qui contient un électron non apparié, qui est généré dans différents types cellulaires : les cellules endothéliales, les macrophages, les cellules du foie et les neurones. Il est synthétisé naturellement par l'organisme en transformant le L-arginine (R=NH) en citrulline (R=O) par une enzyme spécifique « la Nitric oxide synthase » (GHAFOURIFAR *et al.*, 2005). Cette enzyme peut être mitochondriale, neuronale, endothéliale ou inductible et elle requiert du Ca<sup>2+</sup> pour son activité (GRIFFITH *et al.*, 1995).



Dans les milieux aqueux, le NO• a une demi vie de quelques secondes mais elle peut dépasser les quinze secondes si la concentration en dioxygène est faible. Le monoxyde d'azote peut réagir avec O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, ce qui génère des peroxynitrites ONOO<sup>-</sup> composés encore plus réactif (réaction 04).



### 1.3.4. Peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Egalement appelé dioxyde de dihydrogène ou eau oxygénée est très soluble dans l'eau et pénètre facilement dans les membranes biologiques. Il peut provoquer la dégradation des protéines, production de Fe<sup>3+</sup> (réaction de Fenton), l'oxydation de l'ADN, des lipides ou de thiols mais encore l'inactivation des enzymes (DÉMARCHEZ, 2012).

Le radical peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ERO) même s'il n'a pas une structure radicalaire mais il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs. Ce radical peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivantes (PASTRE, 2005) :



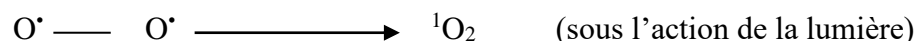
Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut être produit d'une part, à partir de l'anion superoxyde spontanément de manière très lente ou plus efficacement grâce à l'enzyme superoxyde dismutase (SOD).

D'autre part, il peut être généré au cours du phénomène d'ischémie reperfusion par la xanthine oxydase (BAUDRY *et al.*, 2008).

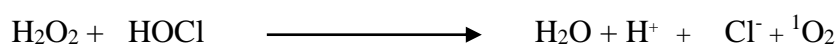
La nature non ionique du peroxyde d'hydrogène, lui permet de traverser facilement les membranes d'où une possibilité d'action à distance (HALLIWELL, 1997). Malgré une réactivité moins importante, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est un oxydant très puissant. Grâce à la myéloperoxydase des polynucléaires neutrophiles, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est converti en l'hypochlorite connu pour être un agent bactéricide en lui couplant un ion chlorure (STIEF, 2000). Cependant, il peut générer des radicaux hydroxyles OH<sup>•</sup> en présence de cations métalliques tels que Fe<sup>2+</sup> ou Cu<sup>2+</sup> (réaction de Fenton).

### 1.3.5. Oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>

L'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> est la forme excitée de l'oxygène moléculaire qui est très instable dont la durée de vie est très limitée. Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme active. Cette dernière est une forme très énergétique de grande réactivité. L'oxygène singulet est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante (PASTRE, 2005) :



L'oxygène singulet est formé en moindre quantité que les oxy-radicaux et est produit lors de la peroxydation lipidique, la flambée respiratoire ou suite à l'action des rayons ultraviolets sur le dioxygène (BENNAMARA, 2017). Il est considéré comme un agent oxydant très puissant qui peut directement oxyder les protéines, l'ADN, les lipides et cause des dommages tissulaires (HALLIWELL, 2006). Cette espèce est également formée *in vivo* par l'activation des neutrophiles, des éosinophiles et par d'autres réactions enzymatiques catalysées par des enzymes telles que les lipoxygénases, les dioxygénases et la lactoperoxydase (PHANIENDRA *et al.*, 2015). Durant la phagocytose, l'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> est formé probablement au cours de l'attaque de l'eau oxygénée par la myéloperoxydase qui est une enzyme hémique présente en concentration importante dans les granules primaires des cellules polymorphonucleaires neutrophiles (par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'acide hypochloreux HOCl) (BELKHEIRI, 2010).



### 1.3.6. Radical peroxyde ROO•

Les radicaux secondaires sont des radicaux qui se forment par réaction des radicaux primaires avec certains composés biochimiques de la cellule contrairement aux radicaux primaires qui dérivent directement de l'O<sub>2</sub> par une réaction de réduction, parmi ceux-ci nous citons le radical peroxyde ROO• (BELKHEIRI, 2010) qui est issu de l'oxydation de substrats organiques initiée par l'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> ou OH•. Ils sont dotés d'un pouvoir oxydant important mais inférieur à celui de OH•, avec le même mécanisme d'action que ce dernier. Les ROO• sont à l'origine de réactions en chaîne et de peroxydation des lipides qui représente un exemple d'oxydation très dangereux pour les cellules avec des conséquences multiples en induisant une diminution de la fluidité des membranes cellulaires et une augmentation de la charge négative à leur surface (BENNAMARA, 2017).

### 1.3.7. Peroxynitrite ONOO•

Le peroxynitrite est formé suite à la réaction entre O<sub>2</sub>• et NO• avec une constante de vitesse de 6,7.10<sup>9</sup> L.Mol<sup>-1</sup> S<sup>-1</sup>. La forme protonée du radical ONOO• (ONOOH) est un puissant agent oxydant causant des dommages importants similaires à ceux observés avec OH• (BENNAMARA, 2017).

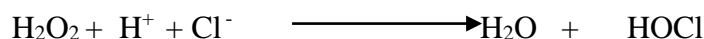


Par ailleurs, le ONOO• est produit dans les cellules contenant des enzymes « NOS » tels que le muscle lisse ou les cellules endothéliales et en particulier lors de la réponse inflammatoire (PIECHOTO-POLANCZYK et FICHNA, 2014). C'est un dérivé d'oxygène de nature très toxique car il provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL (HALLIWELL, 1997).

Il est également capable d'oxyder les protéines et les bases azotiques des brins d'ADN avec une grande similarité que l'oxydation par le radical hydroxyle.

### 1.3.8. Acide hypochloreux (HOCl)

Cet acide est essentiellement produit par les myéloperoxydases (MPO) leucocytaires à partir de peroxyde d'hydrogène et d'ion chlorure (BELKHEIRI, 2010).



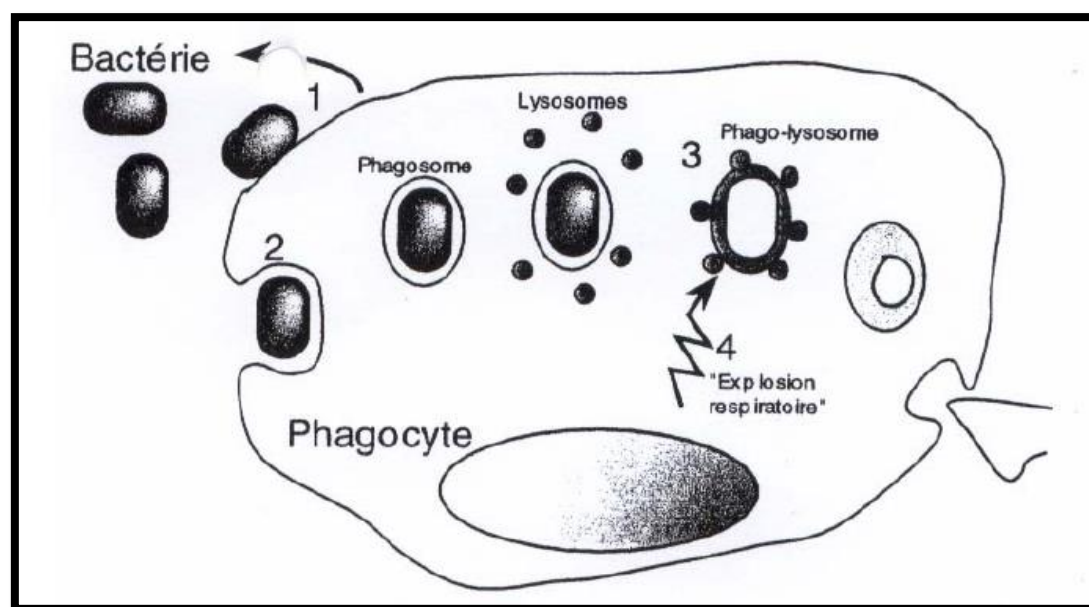
Il est doté d'une capacité oxydante très élevée et provoque la chloration oxydative sur les biomolécules telles que les lipides, les protéoglycanes, les acides aminés ainsi que d'autres composés intracellulaires ou membranaires (PISOSCH et POP, 2015).

#### 1.4. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, etc.

##### 1.4.1. Phagocytose

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. Ils sont produits par les cellules phagocytaires afin de lutter contre les bactéries. Après la phagocytose par un macrophage, la bactérie se retrouve dans une vésicule appelée phagosome, celui-ci va fusionner avec un lysosome pour donner un phago-lysosome. Une succession de réactions « explosion respiratoire » a lieu afin de générer des oxydants bactéricides ( $H_2O_2$ ,  $O_2^*$ ,  $NO^*$ ,  $OH^*$ ) (Figure 19) (PASTRE, 2005).



**Figure 19 :** Production de radicaux libres lors de la phagocytose d'une bactérie. **Légende :** 1.chimiotactisme et adhésion ; 2.ingestion ; 3.fusion phagosome-lysosome ; 4. l'« explosion respiratoire » génère dans le phagolysosome des oxydants bactéricides ( $H_2O_2$ ,  $O_2^*$ ,  $NO^*$ ,  $OH^*$ ) (PASTRE, 2005).

### **1.4.2. Signalisation cellulaire**

Un grand nombre de fonctions physiologiques sont sous le contrôle des ERO et de leurs effets activateurs/régulateurs dans les voies de signalisation. De nombreux ligands peuvent être à l'origine d'une production d'ERO, des facteurs de croissance comme le PDGF ou l'EGF, des cytokines telles que l'INF $\gamma$  ou le TNF $\alpha$  et des peptides comme l'angiotensine II. Ces ligands se fixent à leurs récepteurs spécifiques (récepteurs des cytokines, récepteurs à activité tyrosine kinase...) et induisent des ERO qui participent à la transduction et à l'amplification du signal, on parle de « signalisation redox ». Dans cette dernière, d'une part les ERO induites peuvent activer les récepteurs par phosphorylation, inhibent des phosphatases, amplifiant ainsi les cascades de signalisation. D'autre part, elles peuvent activer directement des kinases (MAPK et PKC) et des facteurs de transcription tout en modifiant l'équilibre redox intracellulaire par changement de l'état oxydatif des protéines (MIGDAL et SERRES, 2011).

## **2. Stress oxydant**

### **2.1. Définition**

En 1991, SIES a défini la notion du stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène. Cette incapacité résulte soit d'un déséquilibre de la balance oxydative en raison d'une production accrue d'ERO ou alors d'une diminution de la capacité de défense antioxydante. La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de la pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont autant d'exemples de sources de production ERO (Figure 20). Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants nécessaires (vitamine C, vitamine E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante. Si le stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses et implique, potentiellement, de nombreuses affections ou le développement de complication associées à celles-ci (DEFRAIGNE et PINCEMAIL, 2008).

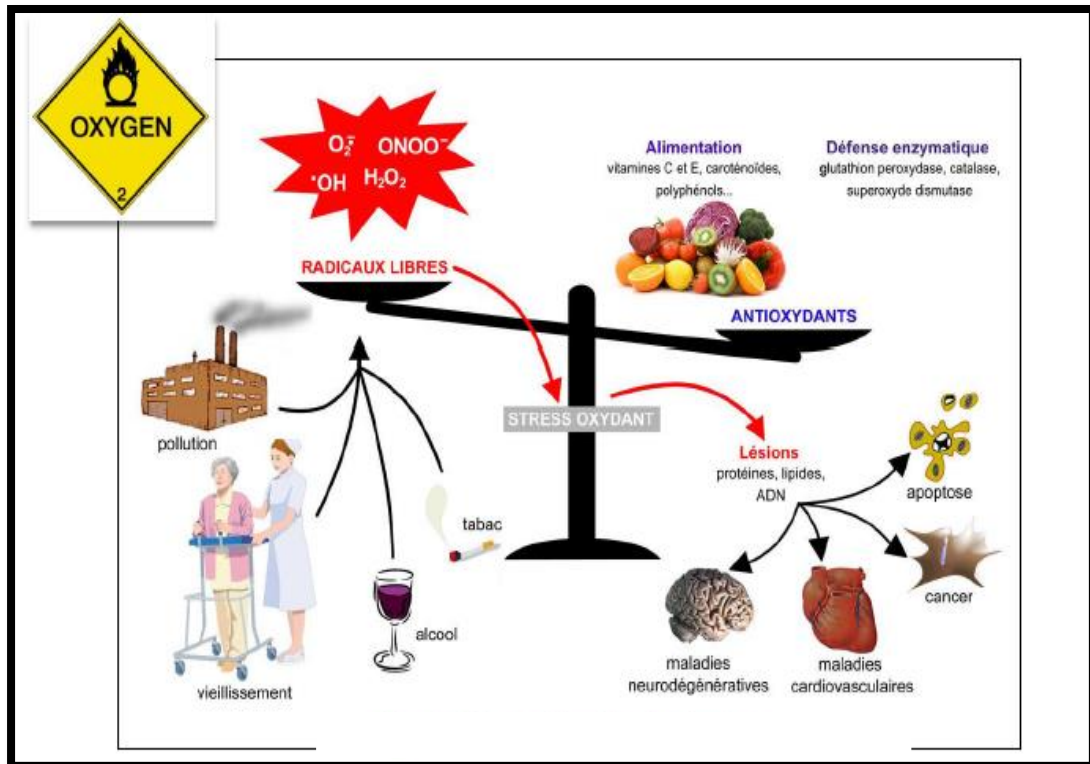


Figure 20 : Déséquilibre de la balance radicaux libres /antioxydants (BENZIDANE, 2014).

## 2.2. Conséquences biochimiques du stress oxydant

### 2.2.1. Oxydation d'ADN

Les acides nucléiques sont sensibles au stress oxydant au niveau des bases purines ou pyrimidines. L'ADN génomique est touché par cette oxydation mais la cible privilégiée est l'ADN mitochondrial pour plusieurs raisons :

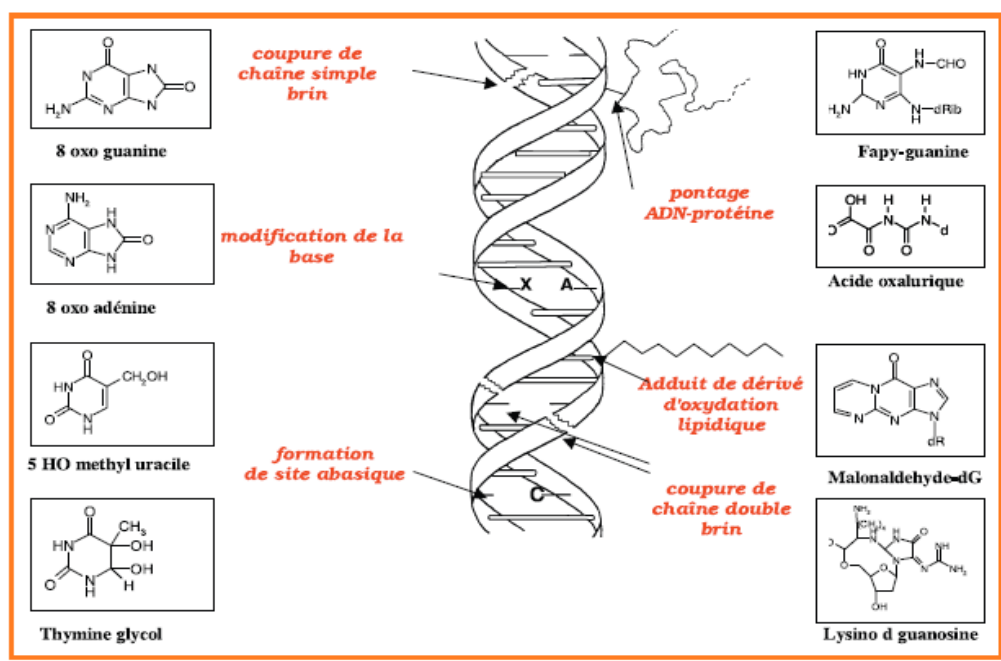
Cet ADN est sans aucune protéine associée, il possède peu de système de réparation et il est proche de la chaîne respiratoire impliquée dans la production d'ERO. Ces dernières induisent différentes formes de dommages sur l'ADN. La première est l'oxydation des nucléotides dont la base la plus touchée, dans les cellules des mammifères, est la guanine (G). L'oxydation de cette dernière conduit à la formation de 8-hydroxy-2-désoxyguanosine ou 8-Oxod G. Ce phénomène entraîne un mésappariement 8- Oxod G-A puis au final une mutation de transversion. La formation du 8-Oxod G peut être mise en évidence par un anticorps spécifique ce qui permet de détecter une modification oxydative de l'ADN. Mais, d'autres bases peuvent également subir une oxydation c'est le cas de l'adénine ou de la cystéine formant respectivement le 8-Oxod A et le 5-Oxod C. Les ERO peuvent attaquer également la

liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (Figure 21).

L'ADN peut encore être touché de manière indirecte par d'autres composés issus d'attaques radicalaires, par exemple l'oxydation des lipides peut entraîner la formation d'adduits comme MDA-guanosine (Malondialdéhyde-guanosine) qui entraîne de nombreuses mutations (WANG *et al.*, 2004).

L'oxydation des protéines liées à l'ADN comme les histones ou les facteurs de transcription peut créer des pontages ADN-protéine (NAKANO *et al.*, 2003) et modifier complètement les activités de réplication et de transcription. Ces attaques radicalaires ont des effets mutagènes sur les cellules. Afin de corriger ces altérations, il existe de nombreux systèmes de réparation différents, les plus connus sont :

La réparation par excision de bases (BER) et de nucléotides (NER) ou par recombinaison mais également par réparation des mésappariements. Par contre, lorsque le stress oxydant est trop important avec de nombreuses cassures de l'ADN ou que les systèmes de réparation sont touchés et ne fonctionnent pas de manière correcte, la cellule peut entrer en apoptose (CHABORY, 2009).

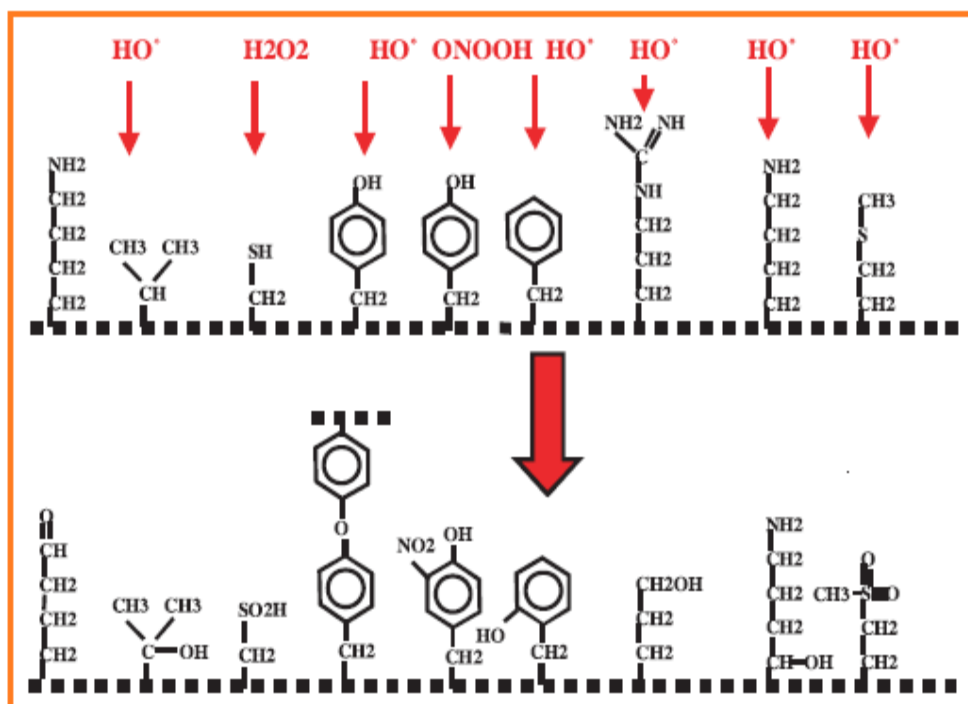


**Figure 21** : Les principaux dommages oxydatifs au niveau de l'ADN médiés par les ERO

(FAVIER, 2003).

### 2.2.2. Oxydation des protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire, donc les protéines peuvent soit : subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, subir des coupures en cas d'agression forte ou des modifications de certains acides aminés en cas d'agression modérées (Figure 22). Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, récepteurs....) et deviennent considérablement sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome. Les protéines oxydées deviennent également très hydrophobes par extériorisation de zones hydrophobes centrales. Ces protéines vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules. Ces amas vont s'associer aux lipides formant ainsi des dépôts de lipofuschines caractéristiques des tissus des sujets âgés (BENAMARA, 2017).

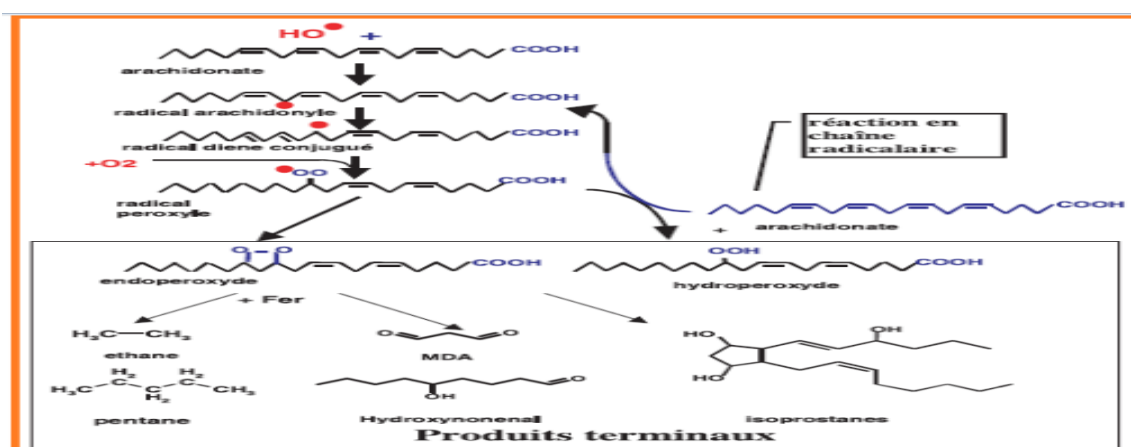


**Figure 22 :** Représentation de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

### 2.2.3. Peroxydation lipidique

Selon FAVIER (2003), les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle qui est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras ce qui engendre la formation d'un nouveau radical diène conjugué (Figure 23). Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution :

Être réduits et neutralisés par le glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leurs volatilité sont éliminés par voie pulmonaire. Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde ou l'hydroxynonanal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation de LDL oxydées (lipoprotéines de densité légère) qui sont captées par des macrophages qui formeront un dépôt d'athérome à l'origine de certaines maladies cardiovasculaires. Par contre, l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane affectant ainsi le fonctionnement de nombreux récepteurs, transporteurs et la transduction des signaux.



**Figure 23** : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (FAVIER, 2003).

#### **2.2.4. Oxydation des glucides**

L'attaque radicalaire des polysaccharides a été moins étudiée que celle des autres macromolécules. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldhydes,  $H_2O_2$ ,  $OH^\bullet$  qui entraîneront la coupure des protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant des produits de glycation avancée (ou AGE-Advanced glycation end products). Ce phénomène de glycos-oxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (BENNAMARA, 2017).

---

***CHAPITRE III***

***LA RELATION ENTRE LE STRESS***

***OXYDANT ET L'INFERTILITE***

***MASCULINE***

---

Après avoir eu une idée sur le stress oxydant dans le chapitre précédent, on cherche à savoir son impact sur la fertilité masculine et comment les systèmes antioxydants assurent le contrôle et la défense contre ce phénomène.

### **1. Origines des espèces réactives de l'oxygène dans les spermatozoïdes**

En conditions aérobiques, les spermatozoïdes produisent des ERO dont l'origine est le métabolisme de l'oxygène ainsi que certaines réactions enzymatiques (SALEH *et al.*, 2002). Une production excessive des ERO dans le spermatozoïde peut avoir différentes origines endogènes. D'une part, par les mitochondries et membranes plasmiques et d'autre part par les leucocytes, immatures et les défectueux circulant dans le liquide séminal (NGUYEN, 2015).

Tout le sperme contient des leucocytes (neutrophiles et macrophages particulièrement), source potentiel d'ERO puisqu'ils sont capables d'en produire principalement sous forme d' $O_2^{\cdot-}$  à partir de NADPH oxydase (CHABORY, 2009). Quant aux spermatozoïdes, deux systèmes enzymatiques sont potentiellement responsables de la génération d'ERO. Le premier est une diaphorase (oxydoréductase NADH dépendant) d'origine mitochondriale et le deuxième est une NADPH oxydase spermatique au niveau de sa membrane plasmique qui fonctionne en présence de calcium et sans activateur (contrairement à celle des leucocytes) (BAUMBER *et al.*, 2000 ; VERNET *et al.*, 2001).

Les ERO dont l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et l'oxyde nitrique sont produits par le spermatozoïde durant la capacitation, participent à l'induction de la réaction acrosomique et l'hyperactivation des spermatozoïdes. Elles peuvent également avoir une source exogène, leur production étant stimulée en cas d'intoxication tabagique, alcoolique mais aussi l'obésité et l'exposition à des toxiques environnementaux et radiations ionisantes (LEFRANC, 2018).

### **2. Rôles des espèces réactives de l'oxygène dans la fertilité masculine**

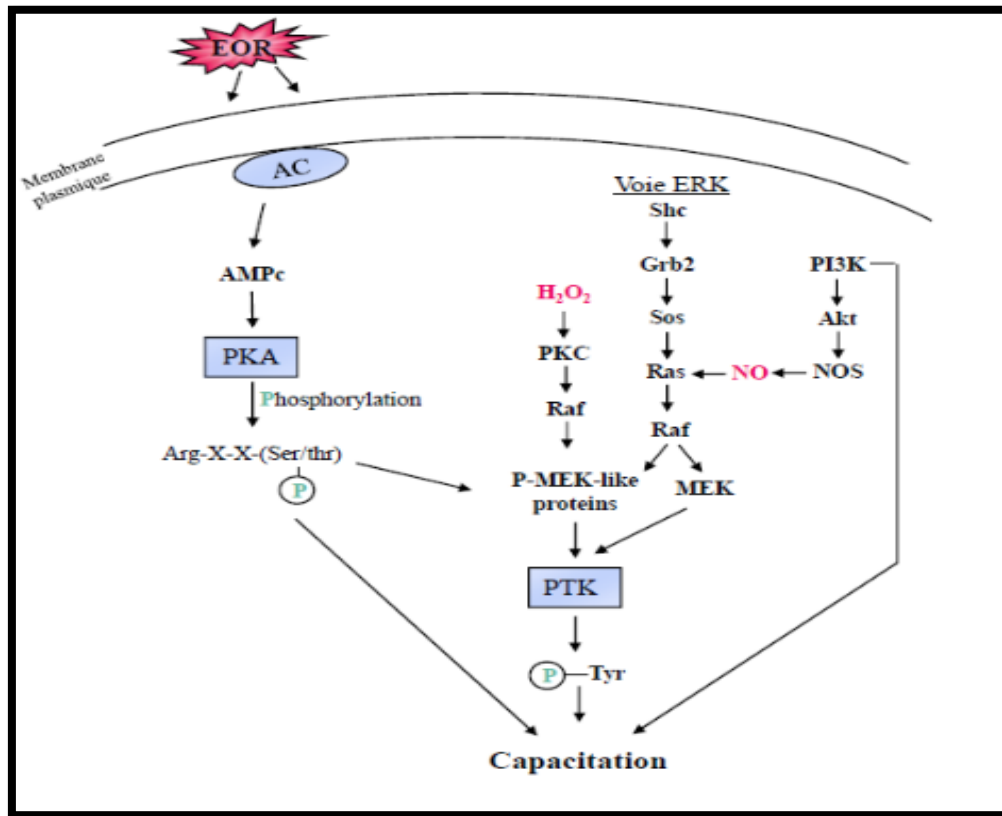
La production des ERO est un processus important car il permet de réaliser plusieurs réactions nécessaires aux fonctions du spermatozoïde. Elles sont impliquées dans les processus de maturation post-testiculaire et sont responsables de la préparation à la capacitation mais aussi à la réaction acrosomique.

### **2.1. Capacitation et l'hyperactivation du spermatozoïde**

La capacitation est un ensemble complexe et finement régulé de modifications des spermatozoïdes qui se déroulent tout au long du trajet de plusieurs heures dans le tractus femelle. Ces modifications comprennent, une augmentation de la fluidité membranaire, une augmentation intracellulaire du pH et de la concentration en AMPc et  $Ca^{2+}$  (NOBLANC, 2013).

Ce phénomène peut être modulé par la présence extracellulaire d'une faible concentration d'ERO tels que  $NO^*$ ,  $H_2O_2$  et  $O_2^{\cdot-}$  (LUSIGNAN, 2006). Ces derniers peuvent induire différentes cascades de transduction conduisant ainsi à une forte activité de phosphorylation des tyrosines de nombreuses protéines spermatiques qui sont primordiales pour l'acquisition et le maintien de l'hyperactivation (une transformation des caractéristiques des spermatozoïdes pour atteindre l'ovocyte et franchir les différentes couches du cumulus oophorus) (Figure24). L'ensemble de ces changements préparent le spermatozoïde à la réaction acrosomique.

D'après certaines études, une inhibition des enzymes génératrices des ERO (NOS) et l'ajout d'enzymes qui éliminent les ERO (SOD, catalase) conduit au blocage de la capacitation et limite l'hyperactivation des spermatozoïdes (NOBLANC, 2013).



**Figure 24 :** Cascades de phosphorylation modulées par les ERO conduisant à la capacitation des spermatozoïdes (CHABORY, 2009).

## 2.2. Réaction acrosomique

Les spermatozoïdes réussissant à rejoindre l'ovocyte dans l'ampoule de la trompe de Fallope vont subir de nouvelles modifications aussi complexes : c'est la réaction acrosomique. Cette réaction est la fusion de la membrane externe de l'acrosome avec la membrane plasmique de l'ovocyte, libérant ainsi des enzymes hydrolytiques dirigés vers la zone pellucide entourant ainsi l'ovocyte afin que le spermatozoïde puisse la traverser. Ainsi la réaction acrosomique toute comme la capacitation a besoin des ERO ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO^{\cdot}$ ) pour qu'elle soit enclencher (BOULANGER, 2005 ; NOBLANC, 2013).

## 2.3. Liaison spermatozoïde-ovocyte

Dans le spermatozoïde humain, des quantités faibles et contrôlées d'ERO semblent nécessaires pour l'acquisition du pouvoir fécondant (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2003). Après avoir contourné la barrière de la zone pellucide, un spermatozoïde peut fusionner avec l'ovocyte et donnant lieu à une fécondation. Un degré élevé de fluidité de la membrane du spermatozoïde est indispensable pour qu'une fusion adéquate se produise. Des études

effectuées sur des spermatozoïdes humains ont démontré que les ERO augmentaient les taux de fusion du spermatozoïde avec l'ovocyte en augmentant la fluidité de leurs membranes (KOTHARI *et al.*, 2010).

#### **2.4. Activation de la motilité**

Les spermatozoïdes sont maintenus dans un état d'immobilité dans l'épididyme par un pH acide ainsi que dans la lumière des tubules, ceci est dû à la présence d'une pompe à protons ATPase dépendante. L'activation de la motilité est la conséquence d'une augmentation du pH mais également celle de l'AMPc intracellulaire. Les espèces réactives de l'oxygène sont capables de moduler le taux d'AMPc intracellulaire donc il semble que ces ERO interviennent dans l'activation de la motilité par l'induction de l'AMPc (CHABORY, 2009).

#### **2.5. Maturation des spermatozoïdes**

La maturation des spermatozoïdes se produit dans l'épididyme et se caractérise par des altérations de la membrane cellulaire, le réarrangement des protéines de surface avec remodelage nucléaire et enzymatique. Cette étape vitale est nécessaire pour le développement des spermatozoïdes, elle est généralement régulée par un signal cellulaire et par un mécanisme de transduction. Ces derniers sont souvent influencés par les ERO dans le cas d'un stress oxydatif ce qui entraîne un défaut de maturation des spermatozoïdes (DUTTA *et al.*, 2019).

### **3. Impact des espèces réactives de l'oxygène sur la fertilité masculine**

La présence des ERO est donc indispensable à différents processus de fonctionnement des spermatozoïdes. Néanmoins, leur excès provoque un stress oxydant. Ce dernier peut altérer l'intégrité des spermatozoïdes et leurs fonctions aboutissant ainsi à une infertilité. Plusieurs dommages d'origine radicalaire sont enregistrés dans les spermatozoïdes : peroxydation lipidique, dommage de l'ADN spermatique, oxydation des protéines et diminution de la motilité

#### **3.1. Peroxydation des lipides membranaires des spermatozoïdes**

La membrane spermatique est une structure vulnérable aux ERO, en raison de sa richesse en acides gras, libres, associés à des lipoprotéines ou sous forme de phospholipides

et stérols (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008). Lorsque les ERO attaquent les acides gras polyinsaturés des spermatozoïdes, elles déclenchent une cascade de réactions chimiques appelée, chaîne de peroxydation lipidique. Ces réactions se déroulent en trois étapes, l'initiation, la propagation et enfin la terminaison (BEN ALI *et al.*, 2012).

La peroxydation lipidique une fois initiée par  $\cdot\text{OH}$  ou les radicaux lipidiques ( $\text{LO}\cdot$ ,  $\text{LOO}\cdot$ ), va produire différents produits intermédiaires lors des différentes étapes avant qu'elle ne soit terminée par association de deux radicaux en une molécule plus stable. Malgré la terminaison de la réaction en présence des formes ioniques des métaux de transitions comme le fer ou le cuivre, les lipides peroxydés peuvent générer de nouveaux radicaux lipidiques ( $\text{LO}\cdot$ ,  $\text{LOO}\cdot$ ) qui sont alors à l'origine d'une reprise des réactions de peroxydation des lipides (NOBLANC, 2013). L'acide malondialdéhyde (MDA) est l'un des bio- marqueurs utilisés pour surveiller le taux de peroxydation lipidique et le degré d'altération des fonctions spermatiques (BEN ALI *et al.*, 2012).

Cette peroxydation entraîne des dommages membranaires qui retentissent sur les capacités fonctionnelles des spermatozoïdes essentiellement la mobilité et la capacité de fusion (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008) mais aussi des dommages des protéines par les produits de dégradation lipidique ce qui va générer une perte de la fonction des protéines membranaires (enzymes, récepteurs) (NOBALNC, 2013).

### **3.2. Diminution de la motilité des spermatozoïdes**

L'attaque par les ERO provoque une perte de fluidité et une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique des spermatozoïdes, ces modifications entraînent une baisse de motilité. Les espèces réactives de l'oxygène peuvent également perturber l'activité des structures responsables du mouvement des spermatozoïdes. Ainsi, une addition d'une faible concentration des ERO cause des dommages réversibles de l'axonème. Cet effet résulterait surtout de la déplétion en ATP associée à une diminution de la phosphorylation AMPc dépendante des protéines de l'axonème. L'inhibition via une oxydation par le  $\text{H}_2\text{O}_2$  des enzymes comme la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) pourrait être responsable de cette diminution en ATP (BOULANGER, 2005).

### 3.3. Dommages de l'ADN des spermatozoïdes

Le stress oxydatif est aussi connu pour affecter l'intégrité du génome du spermatozoïde en provoquant des brisures simple ou double brin d'ADN (AITKEN et KRANSZ, 2001), oxyder les bases azotées de l'ADN et altérer le processus de condensation de l'ADN des spermatozoïdes (KOH *et al.*, 1997). Par ailleurs, l'ensemble de ces modifications de l'ADN spermatique sont des causes d'infertilité masculine fréquemment associées aux échecs reproductifs dans le cadre de conception naturelle ou artificielle chez l'homme (CHOMPROUX, 2018).

Dans le spermatozoïde, les dommages de l'ADN dus aux ERO peuvent se produire aussi bien sur l'ADN du noyau spermatique et sur l'ADN mitochondrial (SAWYER *et al.*, 2003). La condensation extrême de l'ADN nucléaire par les protamines le rend moins sensible aux lésions induites suite à une exposition aux ERO que celui des mitochondries (AITKEN *et al.*, 2004).

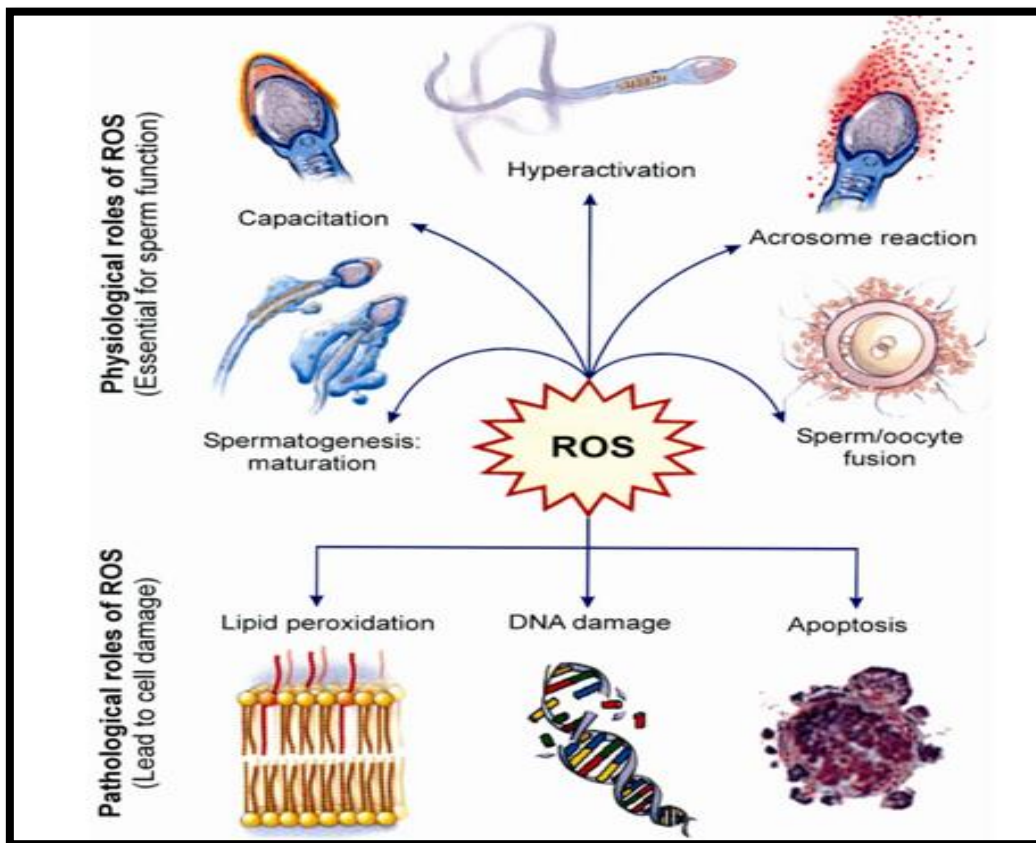
Les ERO peuvent interagir avec toutes les bases (A, T, C, G) bien que la guanine soit leur cible privilégiée du fait de son faible potentiel d'oxydoréduction (NOBLANC, 2013). Par conséquence, plusieurs adduits sont produits dont le plus étudié est le 8-oxo-guanine qui déforme la structure des bases (CHAKROUN FEKI *et al.*, 2008). Les dommages oxydants de l'ADN spermatique ne peuvent pas être réparés par le spermatozoïde lui-même car son ADN est très compacte donc inaccessible. C'est uniquement lors de la fécondation que l'ovocyte prendra en charge la réparation des dommages de l'ADN spermatique (NOBLANC, 2013).

### 3.4. Apoptose des spermatozoïdes

L'apoptose ou la mort cellulaire programmée peut être initiée dans le système reproducteur masculin où les spermatozoïdes peuvent être éliminés. Les ERO sont capables de perturber les membranes mitochondriales internes et externes pour libérer la molécule de signalisation cytochrome c104 et c105. Le cytochrome c à son tour va initier une cascade d'événements qui implique l'activation de plusieurs caspases dont les caspases 3 et 9 qui sont des caspases apoptotiques (KOTHAN *et al.*, 2010). L'exposition mitochondriale aux ERO entraîne également la libération des facteurs induisant l'apoptose (AIF) qui interagissent directement avec l'ADN spermatique provoquant ainsi sa fragmentation. (FANG et ZHOUG, 2019).

### 3.5. Oxydation des protéines spermatiques

Les protéines sont une cible de réactions redox, qui peuvent activer ou inactiver leur fonctionnalité. Selon le type des ERO, les protéines peuvent être modifiées par oxydation du thiol, nitration de la tyrosine, sulfonation ou glutathionylation. L'oxydation du thiol est la modification protéique la plus courante qui cible les enzymes glycolytiques et du cycle de Krebs, ce qui conduit à une réduction de l'efficacité de la production d'ATP, cible l' $\alpha$ -tubuline qui nuit à la polymérisation des microtubules et cible aussi les protamines, qui affectent le remodelage de la chromatine pendant la spermatogenèse (RIBAS-MAYNOU et YESTE, 2020).



**Figure 25 :** Schéma récapitulatif des rôles physiologiques et pathologiques des espèces réactives de l'oxygène (KOTHARI *et al.*, 2010).

### 4. Techniques de mesure du stress oxydatif dans le sperme

Les spermatozoïdes sont très sensibles aux dommages oxydatifs, cela tient à l'abondance des acides gras dans la membrane plasmique et à la faible concentration des piègeurs de radicaux libres à l'intérieur du cytoplasme. De ce fait, certains chercheurs ont

essayé de mesurer les taux d'ERO dans le spermatozoïde et le liquide séminal (KOTLOVA, 2003). Actuellement une combinaison de tests indépendants (tests directes et indirectes) est utilisée pour mesurer le stress oxydatif.

Les ERO peuvent être mesurées dans le sperme via un test de chimiluminescence, test de capacité antioxydante totale (TAC) et dosage de marqueur de peroxydation lipidique malondialdéhyde (MDA). Ces tests ne peuvent mesurer que des constituants uniques du stress oxydatif et nécessitent des compétences techniques spéciales ainsi le besoin de volumes d'échantillons importants. Cependant, le MiOXSYS introduit une nouvelle stratégie pour détecter le stress oxydatif en mesurant le potentiel d'oxydoréduction (ORP) qui est une évaluation directe de l'équilibre redox entre les ERO et les antioxydants dans le sperme (AGARWAL et DANH-BUI, 2017).

#### 4.1. Technique de chimiluminescence

C'est une technique qui a été proposée pour la première fois par l'équipe du professeur AITKEN, en 1992, elle est basée sur l'utilisation de la chimiluminescence comme une méthode indirecte pour détecter les ERO dans les spermatozoïdes. La luminescence est le phénomène par lequel certaines molécules portées à un état excité retournent à l'état fondamental en restituant une partie de l'énergie sous forme d'émission de lumière. Deux sondes sont souvent utilisées : le luminol et la lucigénine qui dérivent le plus souvent de la fluorescéine, de la rhodamine et l'éthidium (AITKEN *et al.*, 1992).

Dans les spermatozoïdes, le signal de chimiluminescence produit est amplifié par le luminol oxydé dans la région acrosomiale. Ce luminol subit la désoxygénation intracellulaire par des groupes hétérogènes de peroxydases des spermatozoïdes en présence du peroxyde d'hydrogène. En revanche, la lucigénine est oxydée dans la région extracellulaire par l'anion superoxyde (AITKEN *et al.*, 1992). Cette technique de chimiluminescence utilisant le luminol est plus avantageuse car elle permet de mesurer le taux global du  $H_2O_2$  et  $O_2^{\cdot-}$  au niveau extracellulaire et intracellulaire (SHARMA et AGARWAL, 1996).

#### 4.2. Dosage du marqueur de la peroxydation lipidique malondialdéhyde (MDA)

L'un des sous produits de la peroxydation lipidique est le malondialdéhyde (MDA) qui est un marqueur important du stress oxydant, largement étudié pour surveiller le degré de peroxydation lipidique. Une détermination de la concentration de MDA dans le liquide

séminale est importante en raison de sa capacité à affecter la qualité et la fonction du sperme (NAHER *et al.*, 2011). Les niveaux séminaux de MDA ont été mesurés par spectrophotométrie (UV- visible à 530nm) en utilisant l'acide thiobarbiturique (TBA). Une molécule de MDA en milieu acide et à chaud est condensée avec deux molécules de TBA pour former un complexe coloré en rose susceptible d'un dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde (530 nm) (SUBRAMANIAN *et al.*, 2018).

#### 4.3. Capacité antioxydante totale (TAC)

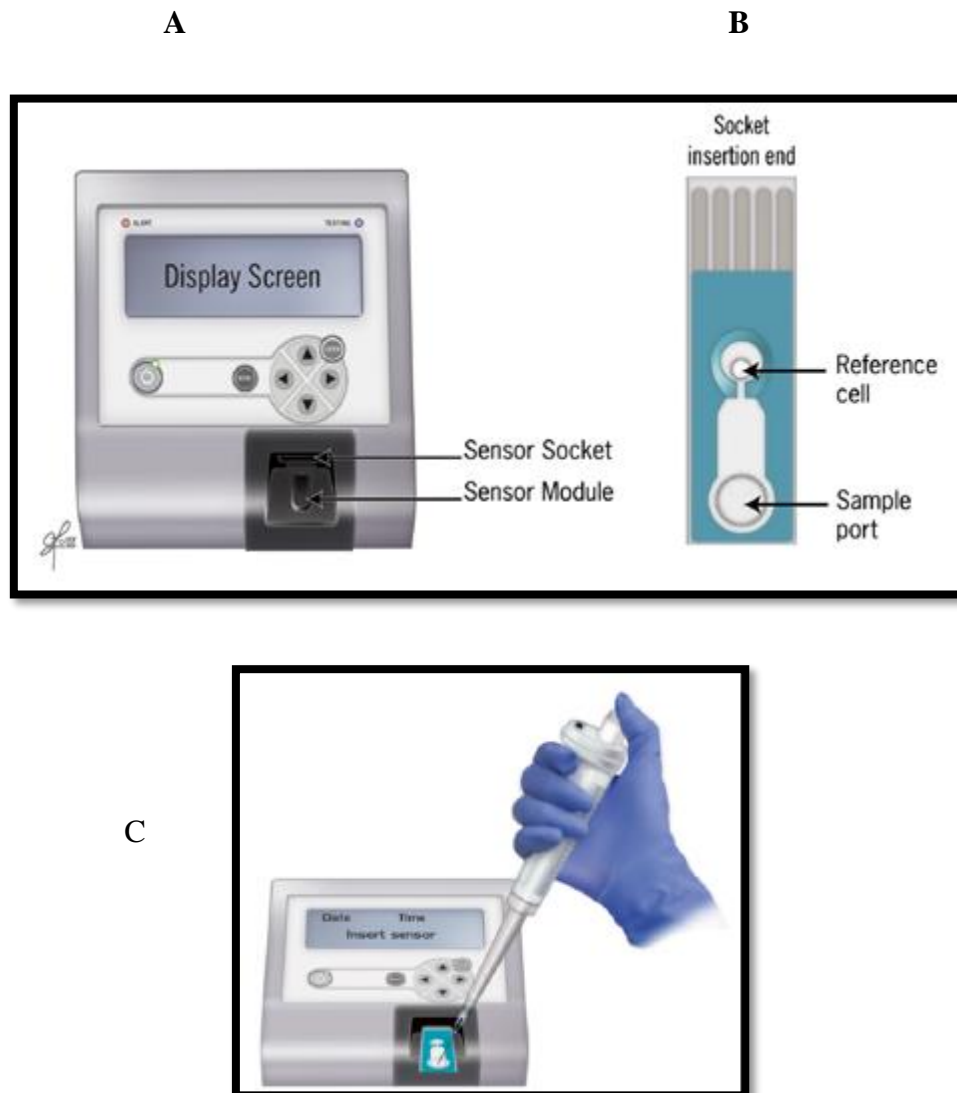
La capacité antioxydante totale (TAC) est l'évaluation de tous les antioxydants présents dans le sperme qu'ils soient antioxydants individuels ou en tant qu'agrégat de. Ces antioxydants offrent une protection contre le stress oxydatif excessif d'où la nécessité de mesurer ce paramètre. La TAC est obtenue en utilisant le test « FRAP » et la mesure est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre. Dans ce test, la forme incolore du fer oxydé ( $Fe^{3+}$ ) est convertie en une forme réduite en ( $Fe^{2+}$ ) tris-pyridyl triazine (TPTZ) de couleur bleu, cela est dû à la déléction d'électrons par les antioxydants. Le test « FRAP » mesure le changement de l'absorbance à une longueur d'onde de 593 nm et les résultats finals sont rapportés en micro-molaire de  $Fe^{2+}$  par litre de sperme. Le réactif utilisé pour le dosage « FRAP » est constitué par le mélange de TPTZ (Tris-pyridyl triazine), HCl et  $FeCl_3$  (GUPTA *et al.*, 2019).

#### 4.4. Méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction par système MiOXSYS

Le potentiel d'oxydoréduction (ORP) est une mesure directe du stress oxydatif ou du déséquilibre redox. Les laboratoires d'andrologie avancée ont rapidement adapté cette méthode afin d'évaluer l'ORP pour détecter le stress oxydatif dans les échantillons du sperme et du liquide séminale, en utilisant le système MiOXSYS pour obtenir une mesure d'oxydants et des antioxydants qui est cliniquement utile pour évaluer l'infertilité masculine (AGARWAL et DANH-BUI, 2019).

Cette méthode a pour principe de mesurer le transfert d'électrons d'un réducteur (antioxydants) à un oxydant (ERO) en utilisant le système MiOXSYS. Ce dernier est un automate opéré selon une technologie électrochimique qui utilise un système de capteur sous forme de bandelette à 3 électrodes (platine, contre électrode et une électrode de référence 3 M KCl) et un analyseur à galvanostat (LEFRANC, 2018). Un échantillon de sperme va être déposé sur la bandelette (exactement dans la place destinée au dépôt des échantillons)

insérée dans l'analyseur. Par la suite cet échantillon va passer à travers l'électrode de travail puis remplit la cellule de référence de sorte que le circuit électrochimique soit complet et le test démarre. Après une courte période (environ 2 min), les valeurs d'ORP en millivolts sont affichées sur l'écran. Un échantillon avec une valeur ORP significativement élevée que l'échantillon témoin indique un déséquilibre de l'activité de l'ensemble des oxydants et antioxydants disponibles dans l'éjaculat séminal (AGARWAL *et al.*, 2016).



**Figure 26 :** Méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction par système MiOXSYS Analyseur MiOXSYS (A), bandelette jetable (B), dépôt de l'échantillon (C) (AGARWAL et MAJZOUB, 2017).

## **5. Les systèmes de défense antioxydant et l'infertilité masculine**

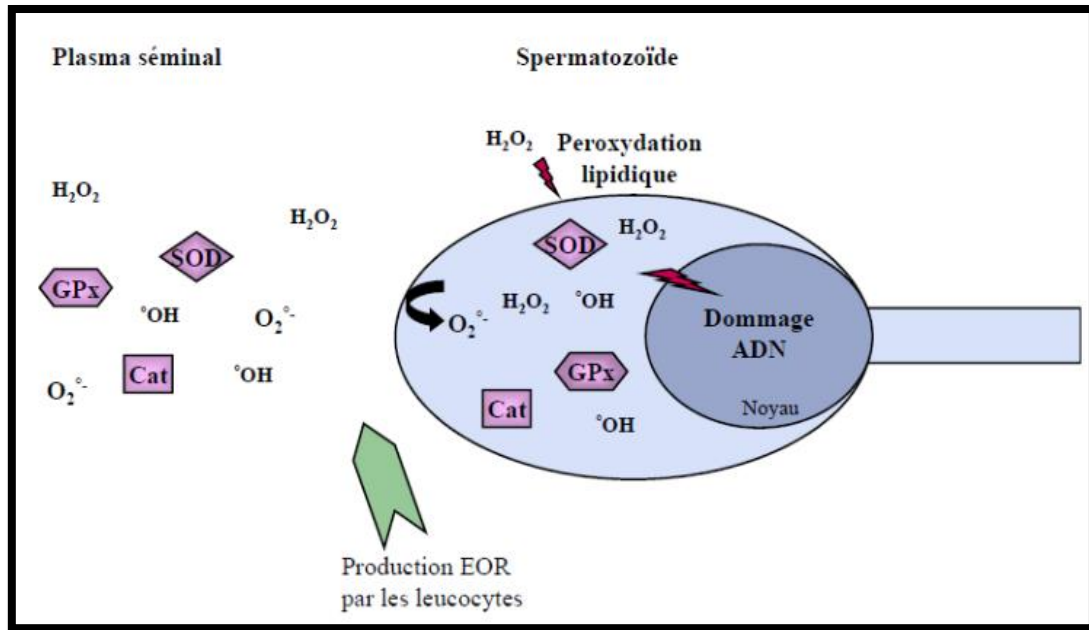
La production d'ERO, parfois excessive et potentiellement dangereuse est limitée par différents systèmes de régulation. Ces systèmes de défense, enzymatiques et non enzymatiques assurent le maintien d'un équilibre entre la production des espèces radicalaires et leur élimination et permettent de faire face aux différentes étapes du processus peroxydatif. Leur efficacité demande une coopération permanente de différents systèmes ayant chacun une localisation et des cibles qui lui sont spécifiques.

De ce fait, un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable à concentration relativement faible (par rapport aux substrats oxydables) d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables (lipides, protéines et ADN) et ainsi retarder ou empêcher leur oxydation (BERGER, 2006). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi à de petites molécules hydrosolubles ou liposolubles (CANO *et al.*, 2006).

### **5.1. Le système antioxydant enzymatique**

Les organismes vivants disposent des systèmes enzymatiques de défense qui les protègent des dommages liés aux ERO. Ces défenses permettent de maintenir leur concentration à un taux bas. Ils possèdent une grande affinité pour les ERO, avec lesquels ils réagissent très rapidement pour les neutraliser (FERRADJI, 2010). Dans le spermatozoïde, la protection majeure contre le stress oxydant est réalisée par les enzymes antioxydants présentes dans le plasma séminal. Ces enzymes sont produites par les glandes annexes comme la prostate mais elles proviennent aussi du fluide épидидymaire.

Parmi les enzymes présentes dans l'épididyme ou le spermatozoïde, nous avons la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.



**Figure 27 :** Systèmes de défense enzymatique présents au niveau des spermatozoïdes et du plasma séminal  
 Légende: SOD : la superoxyde dismutase, CAT : la catalase, GPx : la glutathion peroxydase, ADN : acide désoxyribonucléique, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d’hydrogène, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> : anion superoxyde, OH• : radical hydroxyle, ERO : espèces réactives de l’oxygène (GARRIDO *et al.*, 2004).

**5.1.1. La superoxyde dismutase**

La superoxyde dismutase ou SOD est une métallo-enzyme qui se trouve dans tous les organismes aérobies (BENHAMDI, 2014). Elle est la première enzyme antioxydante essentielle qui réagit lors de la défense de l’organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire (BARATLI, 2015) et contre le stress oxydatif biotique ou abiotique. Elle est capable de catalyser la dismutation de l’anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) en peroxyde d’hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et dioxygène (NOBLANC, 2013).

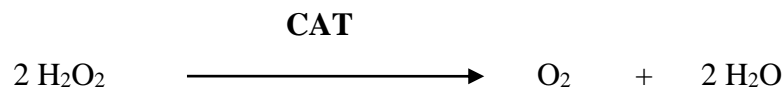


La SOD est l'enzyme principale de protection antioxydante des gamètes mâles et un bon indicateur de la qualité du sperme (BOULANGER, 2005). Elle est retrouvée dans l’épididyme et son expression par les cellules de sertoli dans les testicules est importante également.

Chez l'homme, deux SOD ont été décrites, l'une cytosolique dont le site actif contient du cuivre et du zinc (Cu-Zn SOD) alors que l'autre est mitochondriale et renferme du manganèse (Mn-SOD) (GRIVEAU et LE LANNON, 1995). La présence de cette enzyme dans le sperme peut améliorer la motilité des spermatozoïdes, diminuer la concentration en malondialdéhyde (MDA) et favorise ainsi une meilleure réaction acrosomiale (BOULANGER, 2005).

### 5.1.2. La catalase

La catalase ou CAT est une enzyme abondante dans le foie et les globules rouges mais se trouve préférentiellement dans les peroxysomes et en faible quantité dans le cytosol (BARATLI, 2015). L'élimination de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase s'accompagne d'une production de peroxyde d'hydrogène, qui en présence de métaux de transition se décompose en radicaux hydroxyles. Cette décomposition est évitée par l'action de la catalase, dont le rôle est de catalyser la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Son action est limitée par sa localisation exclusive dans le peroxysome.

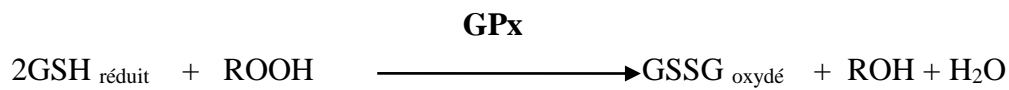
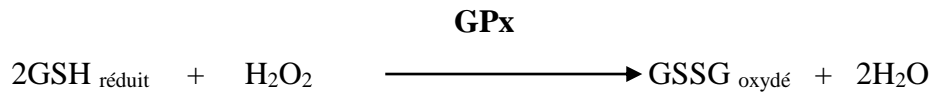


La présence de la catalase dans le sperme humain a été récemment rapportée, elle apparaît être essentiellement d'origine séminale même si une faible activité a été retrouvée dans le spermatozoïde lui-même (GRIVEAU et LE LANNON, 1995).

### 5.1.3. La glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une enzyme sélénium dépendante, formée de quatre sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine. Elle est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (FERRADJI, 2011). Certaines enzymes de la famille des glutathions peroxydases sont présentes dans le testicule, l'épididyme et au niveau du spermatozoïde. Dans le spermatozoïde, les cellules épithéliales épидидymaires et le plasma séminal quatre membres de la famille des GPx sont décrites (GPx1, GPx3, GPx4, GPx5) (CHABORY, 2009).

La glutathion peroxydase catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène et des hydroperoxydes d'acides gras en utilisant le glutathion réduit (GSH) et en le transformant en glutathion oxydé (GSSG). Ce système ne fonctionne que si le GSSG est continuellement régénéré en GSH. Cette réduction est assurée par une glutathion réductase et en présence du NADPH (GRIVEAU et LE LANNON, 1995).



## 5.2. Le système antioxydant endogène non enzymatique

Ce sont des antioxydants capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs de radicaux libres par des interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition. Ce type d'antioxydants possède un avantage considérable par rapport aux antioxydants enzymatiques du fait leur petite taille, ils peuvent en effet pénétrer facilement au cœur des cellules et se localiser à proximité des cibles biologiques. Ces antioxydants regroupent un grand nombre de substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont en partie produits par l'organisme au cours des processus biosynthétiques. Parmi ces molécules nous pouvons citer le glutathion et le coenzyme Q10 (BOUBEKRI, 2014).

### 5.2.1. Le glutathion

Le glutathion est un composé de faible poids moléculaire impliqué dans la régulation du stress oxydatif, il se trouve sous forme d'un tri-peptide (L-  $\gamma$ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) avec un groupement thiol, très abondant. Il se retrouve de façon ubiquitaire chez les animaux et les végétaux (DESCAMPS *et al.*, 2006). Le glutathion est une biomolécule nécessaire à l'activité de la GSH peroxydase ainsi que de la GSH S- transférase (BOULANGER, 2005). Celle-ci est dotée d'un potentiel antioxydant qui s'exprime notamment vis-à-vis des hydroperoxydes (peroxyde d'hydrogène et hydroperoxydes lipidiques) grâce aux groupements thiol apportés par la cystéine.

Le glutathion agit par réaction directe avec les ERO ou en participant aux réactions enzymatiques d'élimination de ces espèces radicalaires. Le GSH contribue à la décondensation nucléaire du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte fécondé (BOULANGER, 2005). La forte concentration en glutathion dans le fluide séminal est corrélée positivement à la mobilité des spermatozoïdes et négativement à leur morphologie (NOBLANC, 2009).

### **5.2.2. Le coenzyme Q<sub>10</sub>**

Le coenzyme Q<sub>10</sub> appelé aussi ubiquinone est un coenzyme sécrété de façon endogène, essentiel au fonctionnement de la chaîne respiratoire des mitochondries. Il joue un rôle principal dans le transport d'électrons dans la chaîne respiratoire, et protège les membranes cellulaires contre le stress oxydatif.

Ce coenzyme agit aussi comme un antioxydant dans la membrane des cellules de l'appareil reproducteur masculin, impliqué également dans la production d'énergie par les mitochondries, nécessaire aux spermatozoïdes pour atteindre l'ovule.

Une corrélation positive de la concentration en coenzyme Q<sub>10</sub> dans le plasma séminal avec le nombre, la mobilité et le pouvoir fécondant des spermatozoïdes chez l'homme (FAURE *et al.*, 2011).

### **5.3. Le système antioxydant exogène**

L'apport d'antioxydants exogènes est important dans la prévention du stress oxydatif et des dommages cellulaires mais aussi dans la prévention de l'infertilité masculine. Les antioxydants naturels comme la vitamine E, la vitamine C, le zinc et la taurine sont généralement considérés comme des composants bénéfiques (POLJSK et MILISAV, 2013).

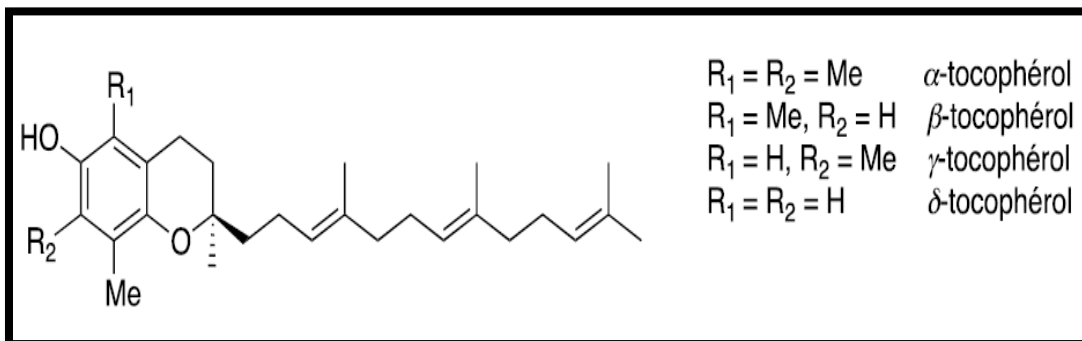
Actuellement un intérêt grandissant est accordé à notre alimentation puisque c'est notre source principale d'antioxydants. Les fruits et les légumes sont ainsi devenus de véritables aliments santé en raison de leur contenu très important et surtout très diversifié en antioxydants. Une alimentation pauvre en fruits et légumes, se traduit par des taux sanguins faibles en vitamine C et en carotène, ce qui est associé à un risque accru de développer des cancers, des maladies cardiovasculaires mais aussi l'infertilité (PINCEMAIL *et al.*, 2007).

### 5.3.1. La vitamine E

La vitamine E ou tocophérol est un élément alimentaire essentiel pour la fonction de reproduction chez l'homme, se trouve principalement dans les huiles végétales, les graines de plantes et les margarines (FAURE *et al.*, 2011). C'est une molécule organique liposoluble, apportée par l'alimentation qui peut être stockée par l'organisme. Il existe huit formes de vitamine E, les tocophérols et les tocotriénols de formes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  (NOBLANC, 2013).

La capacité antioxydante du tocophérol se traduit par l'inactivation des ERO et le piégeage des radicaux libres (FAURE *et al.*, 2011). Etant liposoluble, la vitamine E peut facilement s'insérer dans la bicouche lipidique des membranes ce qui en fait un antioxydant de choix dans la protection contre la peroxydation lipidique au sein des membranes. Cette propriété de la vitamine E est due à sa capacité à céder un atome d'hydrogène ce qui lui permet de réagir facilement avec les molécules radicalaires. Ainsi, le tocophérol devient à son tour un radical, qui va former une molécule neutre par conjugaison avec un autre radical ou il sera régénérée par d'autres molécules antioxydantes (vitamine C, glutathion, coenzyme Q10), de cette façon la vitamine E bloque les cascades de réactions générées par les ERO (NOBALNC, 2013).

La vitamine E préserve l'intégrité des AGPI en neutralisant les radicaux lipidiques ( $R^{\bullet}$ ,  $RO^{\bullet}$ ,  $ROO^{\bullet}$ ) et en neutralisant la propagation de la peroxydation lipidique. Elle agit également en captant des radicaux libres tels que  $l'O_2^{\bullet-}$  ou les radicaux hydroxyles (GRIVEAU et LE LANNON, 1995). De ce fait, le rôle de la vitamine E dans la diminution de la peroxydation lipidique des spermatozoïdes ce qui conduit à une augmentation de la motilité spermatique ainsi que le taux de fécondité (NOBLANC, 2013).

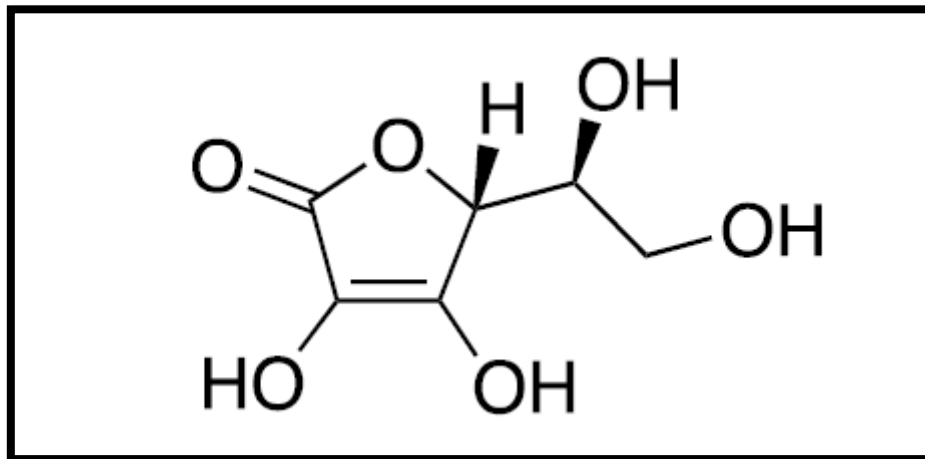


**Figure 28 :** Structure chimique des vitamines E (DESMIER, 2016).

### 5.3.2. La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est un composant essentiel dans l'alimentation humaine. C'est une vitamine hydrosoluble que l'on trouve particulièrement dans les fruits et les légumes mais aussi les abats. Elle est essentielle dans de nombreuses fonctions du corps et a un rôle précis dans l'infertilité masculine. La production d'ERO par différents organes, notamment les testicules est un événement physiologique normal, mais une surproduction des ERO est délétère pour les spermatozoïdes et est associée à l'infertilité. La vitamine C est facilement oxydable, d'où son rôle majeur comme antioxydant dans les spermatozoïdes (FAURE *et al.*, 2011). A pH physiologique, la vitamine C est principalement sous forme d'ascorbate monoanionique qui est la forme capable de céder un à deux électrons ce qui explique son pouvoir antioxydant. L'ascorbate réduit facilement différents radicaux comme le OH<sup>\*</sup>, les radicaux alkoxyles (RO<sup>\*</sup>), les radicaux lipidiques peroxyles (LOO<sup>\*</sup>) et la forme radicalaire de l' $\alpha$ -tocophérol (TO<sup>\*</sup>) (NOBLANC, 2013).

L'acide ascorbique est retrouvé à des niveaux élevés dans le liquide épидидymaire et dans le plasma séminal. Cette concentration élevée dans le plasma séminal a un rôle protecteur des spermatozoïdes contre les ERO et maintien leur intégrité génétique en prévenant les altérations oxydatives de leur ADN (FAURE *et al.*, 2011).



**Figure 29** : Structure chimique de l'acide ascorbique (DESMIER, 2016).

### 5.3.3. Le sélénium

Le sélénium est un oligoélément métalloïde qui apparaît comme un micronutriment primordial dans le maintien des défenses antioxydantes. Il est présent en concentration

importante dans les organes reproducteurs mâles avec un maximum dans les testicules, par conséquent le sélénium est connu comme un élément essentiel au développement testiculaire normal et à une production des spermatozoïdes mobiles et fertiles (BOULANGER, 2005). Ce composé est incorporé dans les mitochondries des spermatozoïdes et au niveau de la pièce intermédiaire.

Le « Se » joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire et cela est dû à sa présence dans le site actif des glutathion peroxydases sélénodépendantes. Cette dernière assure une protection contre les effets délétères des métabolites toxiques mais aussi des radicaux libres, prévenant ainsi la peroxydation des lipides membranaires des spermatozoïdes (FAURE *et al.*, 2011).

Une carence en sélénium conduit à une perte de motilité, une augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux et les anomalies affectant la pièce intermédiaire avec désorganisation de l'hélice mitochondriale (BOULANGER, 2005).

#### **5.3.4. Le zinc**

Le zinc est un oligoélément, il est considéré comme un cofacteur pour les protéines de liaison à l'ADN et pour de nombreuses métalloenzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN (FAURE *et al.*, 2011). Dans le tractus génital mâle, la concentration en zinc est très élevée par rapport aux autres organes et fluides de l'organisme. Sa présence dans le plasma séminal provient d'une sécrétion par la prostate (NOBLANC, 2013). Le zinc a un rôle dans le développement des testicules et des paramètres spermatiques (concentration, mobilité et vitalité des spermatozoïdes). Il influence la consommation en oxygène de spermatozoïdes, la réaction acosmique et la condensation de la chromatine.

Ce composé a un effet protecteur contre les anions superoxydes et influencerait ainsi la qualité du sperme (FAURE *et al.*, 2011). Une déficience en zinc chez des hommes en bonne santé et fertiles cause une chute du nombre de spermatozoïdes, du taux de testostérone et des pulsions sexuelles (NOBLANC, 2013).

#### **5.3.5. La carnitine**

La carnitine est une petite molécule très polaire et hydrosoluble possédant une fonction ammonium quaternaire (NR<sub>4</sub><sup>+</sup>). Elle peut être synthétisée par l'homme, à partir de lysine et de méthionine, ainsi qu'à l'aide de la vitamine C et du fer. Mais une partie de la carnitine

présente dans notre organisme provient de notre alimentation. Cette molécule est responsable du transport des acides gras à longue chaîne du cytosol vers les mitochondries lors du catabolisme des lipides dans le métabolisme énergétique.

Dans les voies génitales mâles la carnitine est sécrétée par l'épithélium testiculaire et épидидymaire dans le fluide séminal mais elle est aussi présente dans le spermatozoïde lui-même. Chez les spermatozoïdes, la carnitine assiste le métabolisme de ceux-ci comme source d'énergie ou intervient dans leur motilité et leur maturation.

La carnitine semble également jouer un rôle de molécule antioxydante dans différents tissus en diminuant la peroxydation lipidique et de la production d'ERO. Chez l'homme, il y a une corrélation significative entre la concentration en carnitine dans le plasma séminal et la concentration spermatique, la motilité, l'intégrité de l'ADN et la capacité de pénétration de la glaire cervicale des spermatozoïdes (FAURE *et al.*, 2011).

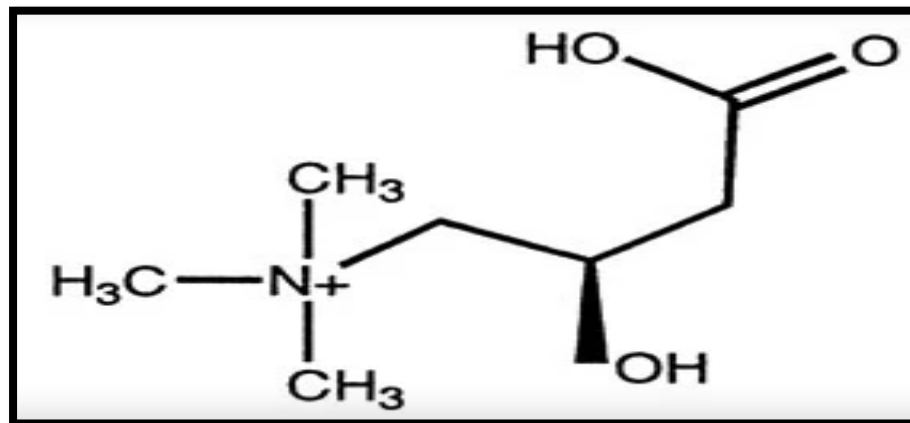
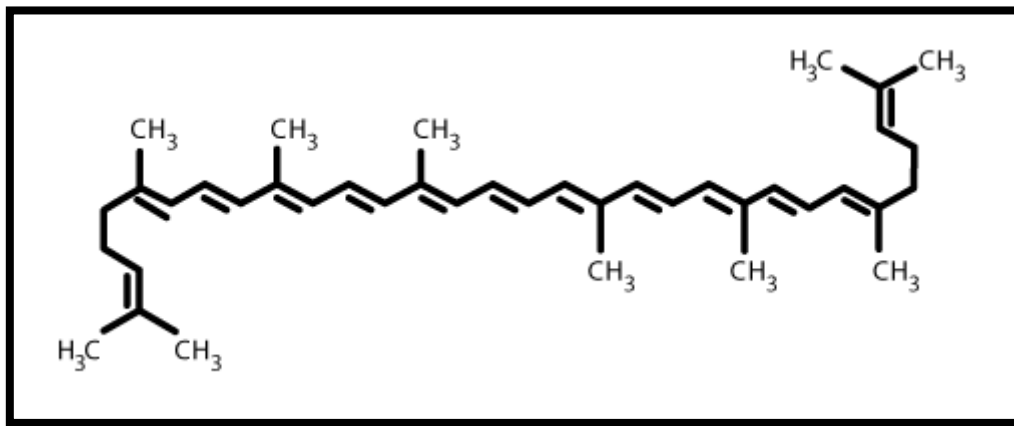


Figure 30 : Structure chimique de la carnitine (PETTEGREW *et al.*, 2000).

### 5.3.6. Le lycopène

La lycopène est un pigment naturel liposoluble rouge de la famille des carotènes uniquement synthétisé par les plantes et les micro-organismes. Il est donc présent dans de nombreux fruits et légumes. Cette molécule comporte deux doubles liaisons non conjuguées et onze conjuguées qui lui confèrent sa propriété antioxydante. En effet, les ERO réagissent facilement avec ces nombreuses doubles liaisons, en limitant ainsi les réactions avec d'autres composants de la cellule. Le nombre important de ces doubles liaisons conjuguées font que la molécule possède un fort pouvoir antioxydant. Le lycopène s'insère dans les membranes des

cellules et les protège des ERO. D'après certaines études (elles sont presque toutes réalisées *in vitro*), le lycopène a un effet sur la fonction de reproduction chez le mâle (NOBLANC, 2013).



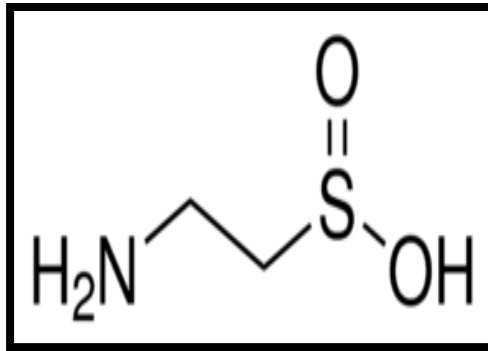
**Figure 31** : Structure chimique du lycopène (STAHL *et al.*, 2000).

### 5.3.7. La Taurine et l'hypotaurine

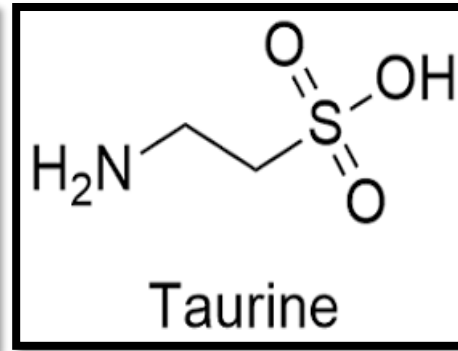
La taurine, également connue sous le nom acide-2-aminoéthane sulfonique est le principal produit final du métabolisme de la cystéine (PARTYKA *et al.*, 2017). La taurine ne participe ni à la synthèse des protéines, ni dans les voies métaboliques (SLANINA *et al.*, 2018).

L'hypotaurine (acide 2-aminoéthane sulfonique) est un précurseur de la taurine. Ses acides aminés possèdent des fonctions physiologiques dont l'osmorégulation, la modulation du calcium, l'activité antioxydante, la stabilisation membranaire et l'équilibre anionique.

La taurine et l'hypotaurine sont présentes dans les tissus reproducteurs mâles et les liquides tubaires, folliculaires et séminaux. L'hypotaurine neutralise le radical hydroxyl en générant la taurine qui neutralise à son tour les aldéhydes cytotoxiques produits lors des peroxydations (MÈNEZO et GUÈRIN, 2005). Ces composés ont un rôle dans la préservation de la motilité des spermatozoïdes, mais surtout leur capacitation améliorant ainsi les chances de succès de la fécondation et du développement embryonnaire (KROČKOVÁ *et al.*, 2013). Elles réduisent également la fragmentation de l'ADN favorisée par le stress oxydatif (PARTYKA *et al.*, 2017).



**Figure 32 :** Structure chimique de l'hypotaurine (TERRIENTE-PALACIOS *et al.*, 2018).



**Figure 33 :** Structure chimique de la taurine (TERRIENTE-PALACIOS *et al.*, 2018).

## 6. Les traitements possibles de l'infertilité masculine

Le traitement des troubles de la fertilité masculine dépend de l'exactitude du diagnostic, de l'évaluation des facteurs étiologiques en cause, et du partenaire féminin car le couple infertile doit être traité comme une unité.

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.

A 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 à l'infertilité féminine. 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

### 6.1. Les médicaments

Une fois le diagnostic posé, le traitement médicamenteux est justifié dans le cas d'une étiologie potentiellement curable. Moins de 5% des hommes infertiles présentent des troubles hormonaux pouvant être traités par thérapie hormonale. Les déséquilibres hormonaux résultant d'un dysfonctionnement du mécanisme d'interaction entre l'hypothalamus, l'hypophyse et les testicules affectent directement la spermatogenèse. Le traitement par les gonadotrophines est indiqué dans ces cas avec un succès élevé (SAMAKE, 2007). Les

gonadotrophines sont également utilisées pour traiter les infertilités masculines d'origine inexpliquée.

Lorsque l'infertilité masculine est due à une infection génitale, un traitement antibiotique adapté est entrepris de manière prolongée, en fonction de la bactérie et de sa sensibilité aux antibiotiques (LAFONT et TASSART, 2010).

Dans le cas où l'hyperprolactinémie serait à l'origine de l'infertilité, l'administration d'un traitement par la bromocriptine est nécessaire.

Des données récentes suggèrent que la supplémentation en compléments alimentaire riches en antioxydants chez les hommes infertiles (carnitine, vitamine C, vitamine E, sélénium, zinc et coenzyme Q<sub>10</sub>), améliore la qualité et la performance du sperme. Ces compléments jouent un rôle important dans la protection contre les réactions d'oxydation causées par les radicaux libres, l'augmentation du nombre, l'amélioration de la morphologie et de la mobilité des spermatozoïdes, ainsi ils luttent contre l'agglutination de ces derniers (KARAVOLOS *et al.*, 2013).

## **6.2. La chirurgie**

Le traitement chirurgical de l'infertilité masculine vise à éliminer les obstacles anatomiques empêchant la production et la maturation des spermatozoïdes (dans les testicules, et dans l'épididyme) ou l'éjaculation (SAMAKE, 2007 ; BELARBI, 2015).

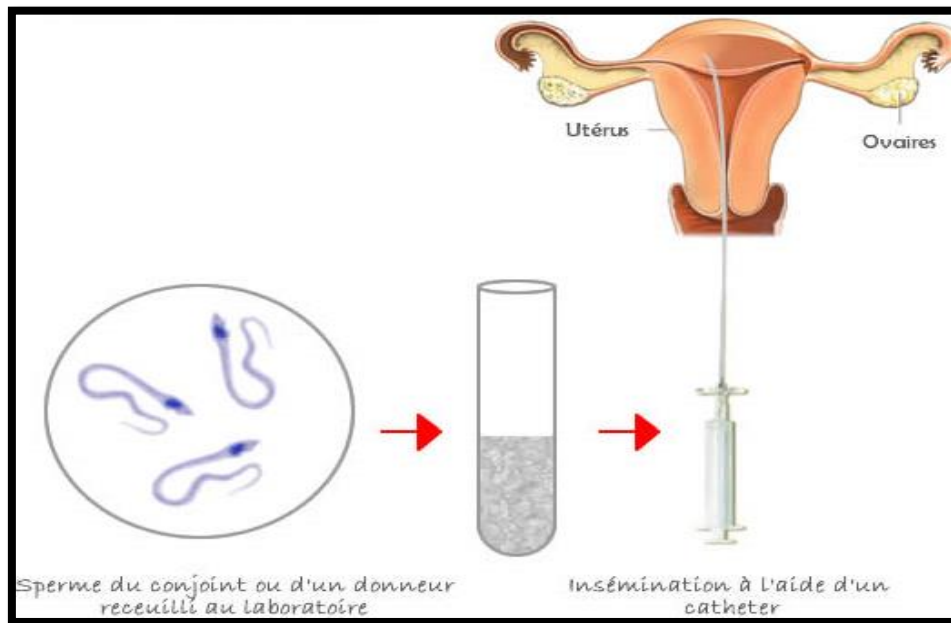
## **6.3. Les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP)**

La procréation médicalement assistée ou techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) sont l'ensemble des techniques médicales et biologiques qui comportent la manipulation d'au moins l'une des deux gamètes dans le but d'obtenir une grossesse chez un couple qui sans cela risquerait de demeurer infertile. Elles peuvent aussi s'appliquer dans le cas de risques importants de transmission à l'enfant de maladies graves et incurable, de façon à ne transférer que les embryons qui en seraient indemnes. Ces techniques peuvent manipuler uniquement les spermatozoïdes de l'homme, on évoque alors les pratiques d'inséminations artificielles, ou alors de manipuler les spermatozoïdes de l'homme et les ovocytes de la femme, on évoque ainsi les pratiques de fécondation in vitro avec ou sans assistance à la fécondation (ICSI) (ROYÉRE, 2011 ; EL HAJJAMI, 2017).

Le choix de la technique de PMA se fait en concertation avec le couple, le clinicien et le biologiste. Il dépend bien sûr du bilan d'infertilité des deux membres du couple, de l'âge de la partenaire et du délai d'infertilité (EL HAJJAMI, 2017).

### 6.3.1. Insémination artificielle

L'insémination intra-utérine (IIU) est une technique fréquemment proposée dans la prise en charge des couples infertiles. Elle consiste, après stimulation ovarienne, à déposer le jour de l'ovulation des quantités relativement importantes de spermatozoïdes sélectionnés, soit à l'entrée du col de l'utérus ou à l'intérieur en passant par le col, pour leur permettre d'accéder directement aux trompes de Fallope. L'inséminât doit contenir environ 500000 spermatozoïdes, mobiles. Ces inséminations sont indiquées dans les troubles de l'éjaculation, les oligospermies sévères, dans le cas de certaines infertilités immunologiques et stérilités inexplicables (BELARBI, 2015 ; EL HAJJAMI, 2017).



**Figure 34** : Schéma de la technique d'insémination artificielle (AMRANI, 2017).

### 6.3.2. Fécondation *in vitro*

Son principe est de confronter les gamètes mâles et femelles en dehors de l'appareil génital féminin par insémination simple « *in vitro* » et d'obtenir ainsi un embryon qui pourra secondairement être transféré dans l'utérus maternel (EL HAJJAMI, 2017). Au cours de cette manipulation, les ovocytes sont mis en contact avec une préparation de 50000 à 200000

spz /ml sélectionnée sur gradient de densité (sont obtenus soit directement à partir d'un éjaculat, ou par extraction chirurgicale dans le cas d'une azoospermie). Après 42 à 48 heures qui suivent l'insémination, deux voire trois embryons sont sélectionnés et transférés dans la cavité utérine. Les embryons surnuméraires de bonne qualité pouvant être conservés dans l'azote liquide dans l'attente d'un transfert ultérieur. Elle est indiquée dans le cas d'échec de l'insémination artificielle, ou dans le cas des infertilités immunologiques et inexplicables (BELARBI, 2015 ; El FAROUKI, 2015).

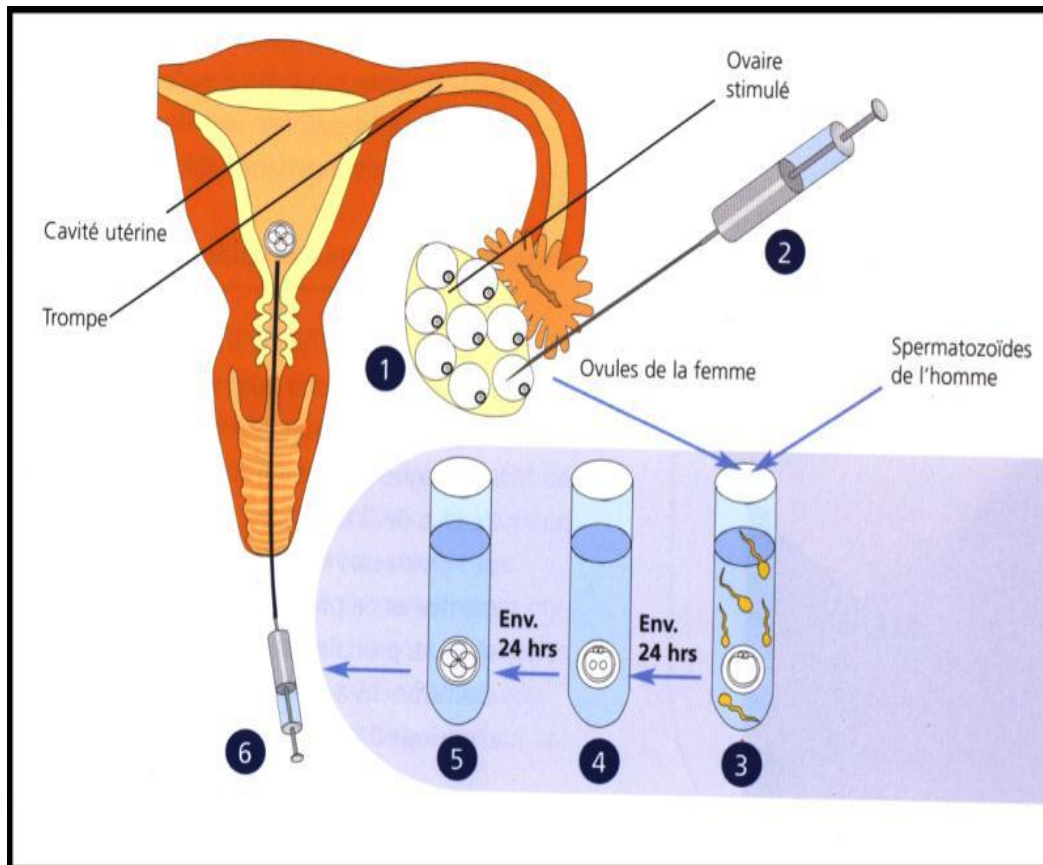


Figure 35: Fécondation *in vitro* (EL HAJJAMI, 2017).

### 6.3.3. Techniques de micro-fécondation ou micro-injection

Ces techniques de micro-injection sont réservées aux infécondités masculines sévères qui visent à faciliter la pénétration d'un spermatozoïde dans l'ovocyte où la fécondation a lieu sous microscope. La technique présentant le taux de succès le plus élevé est actuellement l'injection intra- cytoplasmique d'un spermatozoïde ou ICSI (intra cytoplasmic sperm injection). Elles sont indiquées généralement lorsque les spermatozoïdes sont de petit nombre et/ou pouvoir fécondant diminué (SAMAKE, 2007 ; BELARBI, 2015).

**- ISCI ou injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde**

Le traitement d'infertilité a connu un réel essor avec le développement de cette technique de micro-injection. Elle est fondée sur un principe différent de la technique de fécondation in vitro puisqu'elle consiste à injecter in vitro un seul spermatozoïde à l'aide d'une micropipette dans l'ovocyte pour obtenir un embryon qui lui va être secondairement transféré dans la cavité utérine. Cette technique impose une préparation spéciale des ovocytes et des spermatozoïdes (EL FAROUKI, 2015 ; AMARNI, 2017).

Les ovocytes sont prélevés par ponction écho-guidée ensuite dépouillés des cellules du cumulus et de la corona radiata qui les entourent par action chimique (brève exposition à la hyaluronidase) et mécanique (pipetage répété) (EL HAJJAMI, 2017). Une observation au microscope permet de noter le stade de maturité ovocytaire, seuls les ovocytes matures ayant émis le premier globule polaire seront micro-injectés (AMRANI, 2017).

Les spermatozoïdes sont recueillis par masturbation ou prélèvement chirurgical le jour de l'ICIS.

Les spermatozoïdes mobiles sont ralentis par une solution de polyvinyl pyrrolidone ce qui facilite leur capture et leur immobilisation mécanique pour diminuer le risque de perturbation structurelle de l'ovocyte lors de la micro-injection (MORESI, 2013 ; EL HAJJAMI, 2017).

Chaque spermatozoïde est alors injecté dans le cytoplasme ovocytaire en métaphase II à l'aide d'une micropipette d'injection. La fécondation est ensuite observée 16 à 20 heures après l'apparition des deux (2) pro-noyaux ou 48- 72 heures après la micro-injection, 2 voire 3 embryons en moyenne seront transférés dans la cavité utérine après 2 ou 3 jour d'insémination au stade de 2 à 8 cellules (MORESI, 2013 ; EL FAROUKI 2015 ; EL HAJJAMI, 2017).

La technique ICIS est une technique réservée aux infertilités masculines sévères, azoospermie avec prélèvement chirurgical, oligo et /ou asthénie et/ou teratozoospermie majeure et dans le cas d'auto-immunisation anti-spermatozoïdes sévères (EL FAROUKI, 2015).

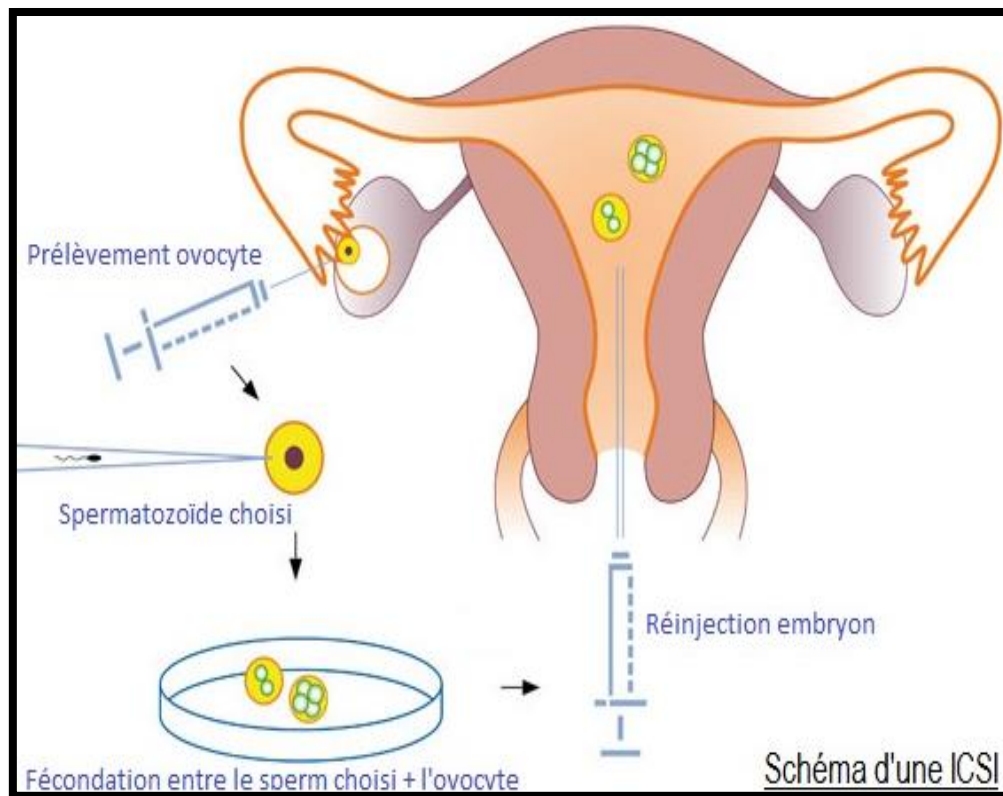


Figure 36 : Etapes de l'injection intracytoplasmique du spermatozoïde (AMRANI, 2017).

---

# ***CONCLUSION***

---

## **Conclusion**

La prévalence de l'infertilité ne cesse d'augmenter au cours des vingt dernières années. Au plan mondial, elle touche environ 48.5 millions de couples (1 couple sur 7 en âge de procréer) ce qui constitue un réel problème de santé publique.

L'infertilité du couple n'est plus attribuée uniquement à la femme, l'homme se trouve aussi impliqué dans la moitié des cas. La baisse continue de la fertilité chez l'homme s'avère un fléau mondial qui peut être lié à de nombreux facteurs ce qui suscite de plus en plus l'intérêt des scientifiques.

Bien que l'infertilité masculine puisse être d'origine médicale (varicocèle, infections, obstacles), des études scientifiques démontrent que des facteurs liés aux habitudes de vie (tabagisme, alcool, obésité, radiations...) engendrent ce qu'on appelle stress oxydant, affectant la capacité reproductive.

Le stress oxydatif est l'une des principales causes de l'infertilité masculine appelée « infertilité idiopathique » qui engendre de nombreux effets délétères sur les constituants de la cellule comme les protéines, les lipides ou encore l'intégrité de l'ADN.

L'analyse des paramètres spermatiques est la méthode conventionnelle de base pour évaluer la capacité d'un homme à concevoir. Néanmoins, dans certains cas il est impératif de recourir à des tests plus avancés pour évaluer avec précision la qualité du sperme et déterminer l'étiologie de l'infertilité chez l'homme.

En clinique, la prise en compte de l'altération oxydante des spermatozoïdes et de leur impact potentiel sur la fertilité masculine devra être accrue. L'intérêt grandissant pour la recherche sur les radicaux libres et le stress oxydatif, ainsi que leurs effets nocifs sur la fertilité a conduit au développement de plusieurs techniques pour mesurer le taux de production d'ERO par les spermatozoïdes humains.

L'intégration de mesure du stress oxydatif comme le potentiel d'oxydoréduction (ORP), la capacité antioxydante totale (TAC)...dans le bilan spermatique de première intention permettrait de cibler, traiter et suivre les populations d'hommes dont l'infertilité est induite par un état de stress oxydant. L'objectif de ces méthodes est d'améliorer la prise en charge des patients et de les préparer à une éventuelle technique de procréation médicalement assistée.

La prise en charge de l'homme infertile doit tenir compte de la multiplicité des causes possibles chez le même individu, et être adaptée à la fertilité de sa conjointe. De nombreux compléments alimentaires riches en antioxydants sont indiqués dans le cas d'infertilité masculine et qui peuvent être bénéfiques en améliorant la qualité et le nombre de spermatozoïdes. Ces traitements spécifiques sont dans la mesure du possible privilégiés, mais les techniques de procréation médicalement assistée (PMA) apportent souvent une solution aux formes d'infertilité les plus sévères.

Ainsi, nous avons montré dans ce travail que le stress oxydant engendre de graves dommages (peroxydation lipidique, altération de l'intégrité d'ADN, apoptose...) au niveau des spermatozoïdes et donc sur la fertilité masculine. Au vue des nombreuses données rapportées dans cette étude, il semble essentiel de poursuivre l'exploration via des techniques avancées pour mieux comprendre dans quelle mesure un stress oxydant altère les paramètres spermatiques.

---

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

---

**Références bibliographiques**

1. **AFONSO V., CHAMPY R., MITROVIC D., COLLIN P. & LOMRI A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7), pp.636-643.
2. **AGARWAL A. & DANH-BUI A. (2019).** Oxidation-reduction potential methodology using the MiOXSYS system. Oxidantes, Antioxydantes and impact of the oxidative status in male reproduction, P 217-224.
3. **AGARWAL A. & MAJZOUB A. (2017).** Laboratory tests for oxidative stress. *Indian J Urol*, 33(3), 199-206.
4. **AGARWAL A. & DANH-BUI A. (2017).** Oxidation-reduction potential as a new marker for oxidative stress: Correlation to male infertility. *Investig Clin Urol*, 58,385-399.
5. **AGARWAL A., SHARMA R., ROYCHONDHURY S., DU PLESSIS S. & SABANEHGH E. (2016).** MiOXSYS: a nouvel method of measuring oxidation reduction potential in semen and seminal plasma. *Fertility and Sterility*, Vol.106, N°03.
6. **AGRAWAL A., DEEPINDER F., COCUZZA M. & AL. (2007).** Efficacy of varicocelectomy in improving semen parqameters: new meta-analytical approach. *Urology*, 70, 532-8.
7. **AINSWORTH C. (2005).** Cell biology: the secret life of sperm. *Nature*; 436:770-771.
8. **AITKEN, R. J. & M. A. BAKER (2004).** Oxidative stress and male reproductive biology. *Reprod Fertil Dev*, 16(5), 581-8.
9. **AITKEN R.J. & KRAUSZ C. (2001).**Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reprod*, 122: 497-506.
10. **AITKEN R.J., BUCKINGHAM D. & WEST K.M. (1992).** Reactive oxygen species and human spermatozoa: analysis of the cellular mechanisms involved in luminol and lucigenin dependent chemiluminescence. *J Cell Physiol*, 151, 466-477.
11. **ALBERTS B., BRAY D., HOPKIN K. & AL. (2009).** Essential Cell Biology. 3rd ed. Garland, 860 p.
12. **ALLIMANT M. (2010).** Actualités sur les méthodes d'évaluation de la qualité de la semence de l'étalon. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard – Lyon I.
13. **AMRANI M. (2017).** Prise en charge de l'infertilité masculine. Thèse de doctorat en médecine, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.

14. **AUGER J. & EUSTACHE F. (2000).** Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. *Andrologie*, 10, N°4, 358-373.
15. **BARATLI Y. (2015).** Etude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de Fer (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) chez le rat. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg et Université de Carthage.
16. **BAUDRY N., LAEMMEL E. & VICAUT E. (2008).** In vivo reactive oxygen species production induced by ischemia in muscle arterioles of mice: involvement of xanthine oxidase and mitochondria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 294(2), H821-8.
17. **BAUMBER J., BALI B.A., GRAVOINCE C.G., MEDINA V. & DAVIES-MOREL M.C.G. (2000).** The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. *J Androl.*, 21(6), 895-902.
18. **BELARBI A.N. (2015).** Etude cytomorphologique du sperme dans l'infertilité masculine. Thèse de doctorat en sciences médicales, Université Ahmed Ben Bella d'Oran.
19. **BELKHEIRI N. (2010).** Dérives phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
20. **BELLVE A.R., CAVICCHIA J. C. , MILLETTE C. F. , DEBORAH A. O., BHATNAGAR Y. M. & DYM M. (1977).** Spermatogenic cells of the prepuberal mouse. Isolation and morphological characterization. *J Cell Biol*, 74(1), p. 68-85.
21. **BEN ALI H., ATIG F., MEHRI S., SAAD A. & AJINA M. (2012).** Analyse du statut oxydatif spermatique chez les patients infertiles. *Andrologie*, 22, 233-240.
22. **BENHAMDI A. (2014).** Etude des enzymes de stress oxydatif chez *Hedysarum pallidum* Desf. Et *Lygeum spartum* L. en réponse à la pollution du sol par l'antimoine. Thèse de doctorat Université Constantine 1.
23. **BENAMARA F.Z. (2017).** Stress oxydant et pathologies humaines. Doctorat en pharmacie, Université Mohammed V-Rabat.
24. **BENZIDANE N. (2014).** Effets antioxydant, vasoactif, bronchorelaxant et cytotoxique des extraits de *Capparis spinosa*. Thèse de doctorat en science, Université Ferhat Abbas Sétif 1.
25. **BERGER M.M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état de connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme* 20, 48–53. doi:10.1016/j.nupar.2005.12.005.

26. **BOITRELLE F. (2014).** Liens entre la morphologie, les marques épigénétiques, la qualité de l'ADN, le contenu chromosomique et les capacités fécondantes du spermatozoïde humain. Thèse de doctorat en science, Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines.
27. **BOUBEKRI C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, Université de Mohamed Khider-Biskra.
28. **BOUCHET A. & CUILLETT A. (2001).** Anatomie, volume 4(abdomen, région rétropéritonéale, le petit bassin, le périnée), 2eme édition, p2375-2392.
29. **BOULANGER K. (2005).** Influence du tabagisme et des antioxydants sur la fertilité masculine. Mémoire d'obtention du grade de maîtrise en sciences biomédicales, Université de Montréal.
30. **CABANNES C.R. (2008).** Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse.
31. **CAIRE-TETAURU E. (2017).** Les apports du tri de spermatozoïdes chez des hommes porteurs d'une anomalie chromosomique de structure. Thèse de doctorat en médecine, Université de Bretagne Occidentale.
32. **CANO N., BARNOUD D., SCHNEIDER S. M., VASSON M.P., HASSELMANN M. & LEVERVE X. (2006).** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *Edition Springer*, p 255.
33. **CARANGE J. (2010).** Rôle antioxydant et anti apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Mémoire de fin d'étude, Université du Québec à Trois Rivières.
34. **CARRIERE A., GALINIER A., FERNANDEZ Y., CARMONA M.C, PENICAUD L. & CASTEILLA L. (2006).** Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *Med. Sci.*, 22, 47-53.
35. **CHABORY E. (2009).** Caractérisation fonctionnelle de la glutathion peroxydase 5 murine. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal.
36. **CHAKROUN FEKI N., THEROND P., JOUANNET P. & AUGER J. (2003).** Stress oxydant et spermatozoïde: composition lipidique des spermatozoïdes humains et susceptibilité au stress oxydant avant et après migration dans le mucus cervical. *Andrologie*,13, N°4 381-392.

37. **CHAKROUN FEKI N., ZRIBI N., ELEUCH H., GDOURA R., SELLAMI A., BAHLOUL A., HAMMAMI A., GARGOURI J., REBAI T. & KESKES-AMMAR L. (2008).** Oxydation de l'ADN des spermatozoïdes : intérêt de l'étude de l'oxydation de l'ADN des spermatozoïdes par marquage de la 8-oxo-guanine en cytométrie en flux chez l'homme infertile. *Andrologie*, 18, N°3,197-205.
38. **CHASSAGNE L. (2010).** AMP Aide Médical à la Procréation. <file:///C:/Users/user/Downloads/explication/PPT%20%20AMP%20Aide%20M%C3%A9dical%20e%20%20C3%A0%20la%20Procr%C3%A9ation%20PowerPoint%20Presentation,%20free%20download%20-%20ID%204104798.htm>.
39. **CHAVARRO J.E., TOTH T.L., WRIGHT D.L. & AL. (2009).** Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *FertilSteril* ; 93,2222-2231.
40. **CHOMPROUX A. (2018).** Impact du stress oxydant sur l'intégrité de l'épigénome spermatique murin. Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne.
41. **CILLARD J. (2011).** Physiopathologie du Stress Oxydant: Faculté de Pharmacie Université de Rennes « Mouvement-Sport-Santé ».
42. **COLLARD J. (2014).** Stress oxydant. (WWW. Labocollard .be J. Collard : Stress oxydant 2014).
43. **COMHAIRE F. (2010).** The role of food supplementation in the treatment of the infertile couple and for assisted reproduction. *Andrologia*, 42(5), 331-340.
44. **COOK J., DICKENS B.M. & MAHMOUD F. (2007).** Assisted reproduction developments in the Islamic world. *International journal of genecology obstetric*,74,187-193.
45. **COULIBALY H.B. (2009).** Place de test post-coïtal et du spermogramme dans le bilan d'infertilité conjugale. Thèse de doctorat en médecine, Université Bamako, Mali.
46. **DEFRAIGNE J.O. & PINCEMAIL J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*, 6, p 10-19.
47. **DEMARCHEZ M. (2012)** .Le stress oxydant cutané .*biologie de la peau*.
48. **DESCAMPS E., GELE P., BORDET R. & VAMECQ J. (2006).** Modulation Pharmacologique du Stress Oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue*,vol.20-n°4.
49. **DESMIER T. (2016).** Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges.

- 50. DUTTA S., MAJZOUB A. & AGARWAL A. (2019).** Oxidative stress and sperm function: a systematic review on evaluation and management. *Andrologie/ Sexual , Arab Journal of Urology*, Vol 17, N°2, 87-97.
- 51. EL FAROUKI A. (2015).** Place de spermogramme dans l'exploration de l'infertilité de couple à l'hôpital militaire Avicienne de Marrakech. Thèse de doctorat en médecine, Université Cadi Ayyad, Marrakech.
- 52. EL HAJJAMI H. (2017).** Infertilité masculine : profil épidémiologique et clinique. Thèse de doctorat en médecine, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.
- 53. FANG Y. & ZHONG R. (2019).** Effects of Oxidative Stress on Spermatozoa and Male Infertility. *Free Radical Medicine and Biology*, Kusal Das, Swastika Das, Mallanagouda Shivanagouda Biradar, Varaprasad Bobbarala and S. Subba Tata, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.86585
- 54. FAURE C., DUPONT C., SERMONDADE N. & LEVY R. (2011).** Antioxydants et infertilité masculine. *Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, 13(4), 275-283.
- 55. FAVIER A. (2003).** Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, n°269-270, 108-115.
- 56. FERRADJI A. (2010).** Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas –Sétif.
- 57. FILAIRE E. & TOUMI H. (2012).** Rôle de dérivés réactives de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux : *Revue du Rhumatisme*, 79(5),341-346.
- 58. FIZAZI A. (2016).** Evaluation de l'infertilité masculine dans l'ouest algérien : étude épidémiologique et biologique. Thèse de doctorat en biologie, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes.
- 59. FONTAINE E. (2007).** Radicaux libres. *In: Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Springer-Verlag France*, pp, 251-257.
- 60. GARG D.P., KIRAN R., BANSAL A.N., MALHOTRA A. & DHAWAN D.K. (2008).** Role of vitamin E in mitigating methomyl acute toxicity in blood of male Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 31, 487-499.

61. **GARRIDO N. MESEGUER M., SIMON C., PELLICER A. & REMOHI J. (2004).** Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl*, 6(1), 59-65.
62. **GHAFOURIFAR P. & CADENAS E. (2005).** Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci*, 26(4), 190-5.
63. **GRIFFITH O. W. & STUEHR D. J. (1995).** Nitric oxide synthases: properties and catalytic mechanism. *Annu Rev Physiol*, 57, 707-36.
64. **GRIVEAU J.F. & LE LANNOU D. (1995).** Radicaux libres et spermatozoïdes humains : physiologie et physiopathologie. *Andrologie*, 5, N°3, 369-381.
65. **GUPTA S., CARABALLO M. & AGARWAL A. (2019).** Total antioxidant capacity measurement by colorimetric assay. *Oxidants, Antioxidants, and Impact of the Oxidative Statut in Male Rproduction*, 207-215.
66. **HAIBA F., KERBOUA K., AIT HAMI N. & BENMAHDI L. (2014).** Stress oxydatif et infertilité masculine : premières résultats de l'expérience Algérienne pilote a l'HMRUO/2° RM. *Revue Médicale de l'HMRUO*, N°1.
67. **HALLIWEL B. (2006).** Reactive species and antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life/Plant Physiol*, 141(2), 312-322.
68. **HALLIWELL B. (1997).** Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev*, 55, 44-49.
69. **HAMMOUD S.S., NIX D.A., HAMMOUD A.O., GIBSON M., CAIRNS B.R. & CARRELL D.T. (2011).** Genome-wide analysis identifies changes in histone retention and epigenetic modifications at developmental and imprinted gene loci in the sperm of infertile men. *Hum Reprod*, 26, 2558-2569.
70. **HARRISON R. (2002).** Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radical Biol. Med.*, 33, 774-797.
71. **HIPPELI S. & ELSTNER E.F. (1997).** OH-radical-type reactive oxygen species: a short review on the mechanisms of OH-radical- and peroxyxynitrite toxicity. *Z Naturforsch [C]*, 52(9-10), 555-63.
72. **HOCEDE A. (2017).** Effets indésirables des médicaments sur la fertilité masculine : Etude dans la base de données Vigibase. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Toulouse III Paul Sabatier.

73. **IBALA S., AJINA M., GRIBAA M., ELGHZEL H., AMOURI A. AJINA-ZAOUALI M. & SAAD A. (2005).** Recherche des microdélétions du bras long du chromosome Y chez des hommes infertiles. *Andrologie*, 15, N°1 82-136.
74. **JACQUES B. & ANDRE R. (2004).** Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219-220-223-225.
75. **JACQUES H., LUC C., VERONIQUE P. & HUBERTG. (1997).** Exploration clinique et paraclinique du testicule. *EMC - Urologie*.
76. **JENSEN M., LEFFERS H., PETERSEN J.H. & AL. (2004).** Frequent polymorphism of the mitochondrial DNA polymerase gamma gene (*POLG*) in patients with normal spermograms and unexplained subfertility. *Human Reproduction*, 19, 65-70.
77. **JUNGBLUTH G. (2008).** Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principales implications dans la physiopathologie canine. Thèse Méd.Vét., Lyon, n°14.
78. **KARAVOLOS S., STEWART J., EVBUOMWAN I., MCELENY K. & AIRD I. (2013).** «Assessment of the infertile male». *The Obstetrician & Gynaecologist*, Vol 15, Issue 1, pp 01-09.
79. **KOH Y.H., YOON S.J. & PARK J.W. (1997).** Lipid peroxidation product mediated DNA damage and mutagenicity. *J. Biochem. Mol. Biol*, 30, 188-193.
80. **KONATE H. (2009).** Etude de la morphologie des spermatozoïdes au cours d'un bilan d'infertilité masculine au service de cytogénétique et de biologie de la reproduction à l'INRSP de Bamako-coura. Thèse de doctorat en médecine, Université de Bamako, Mali.
81. **KOTHARI S., THOMPSON A., AGARWAL A. & PLESSIS S.S. (2010).** Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol 48, pp 425-435.
82. **KOTLOVA N. (2003).** Effet d'agents nocifs sur la production de radicaux libres pour les spermatozoïdes humains et sur leur viabilité. Mémoire d'obtention du grade de maîtrise en sciences biomédicales, Université de Montréal.
83. **KROCKOVA J., MASSANYI P., DUSAN P. & KOVACIK A. (2013).** In vitro effect of taurine on rabbit sperm motility. *Gödöllő*, 539-544.
84. **LAFONT C. & TASSART M. (2010).** Imagerie du tractus génital chez l'homme infertile. *Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*, Vol 12, Issue 3, pp 242-248.

- 85. LAKHDARI N. (2013).** Programmation néonatal de l'infertilité male: rôle de la dérégulation de l'expression des micro- ARNs dans l'apoptose des cellules germinales. Thèse de doctorat, Université Paris-Sud.
- 86. LECOMTE P. & GERVAISE N. (2001).** Troubles de la fertilité d'origine endocrinienne. *Endocrinologie-Nutrition; Encyclopédie Médico-chirurgicale*. 10-030-A-10.
- 87. LEFRANC E. (2018).** Impact du stress oxydant sur les paramètres du sperme, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire en assistance médicale à la procréation. Thèse de doctorat en médecine, Université de Picardie Jules Verne.
- 88. LORNAGE J. (2004).** Spermogramme : normes de l'OMS. *Gynécologie obstétrique pratique*, 2,144 :10-11.
- 89. LUSIGNAN M.F. (2006).** Induction de la capacitation des spermatozoïdes épидидymaires porcines par p B1 et BSP- A1/A2 des protéines de la famille des protéines BSP. Mémoire pour obtention du grade de Maître science en biochimie, Université de Montréal.
- 90. MARIEB E. & LACHAINE R. (2008).** Biologie humaine, principales d'anatomie et de physiologie. 8eme Ed, 574-576.
- 91. MARNETT L.J. (1999).** Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res*, 424,83–95.
- 92. Martinez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem*.77, 147-161.
- 93. MELLAL A. (2010).** Application Pratique de L'anatomie Humaine. Tome 1- viscères du troc. Editions Publibook. Paris- France, 229-236.
- 94. MENA S., ORTEGA A. & ESTRELA J. M. (2009).**"Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis."*Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 36-44.
- 95. MENEZO Y. & GUERIN P. (2005).** Protection des gamètes et de l'embryon contre le stress oxydatif en procréation médicale assistée. *Bull.Acad.Natlé Méd*, 189,N° 4, 715-728.
- 96. MIGDAL C. & SERRES M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences*, 27, 405-412.
- 97. MONGENS M. (2013).** Origine et conséquences du stress oxydant. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Aflort, Créteil.
- 98. MOREL F., LAUDIER B., GUERIF F., COUET M.L., ROYERE D., ROUX C., BRESSON J.L., AMICE V., DE BRAEKELEER M. & DOUET-GUILBERT N. (2007).**

Meiotic segregation analysis in spermatozoa of pericentric inversion carriers using fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod*, 22(1), 136-141.

**99. MORESI C. (2013).** Le pharmacien d'officine face à la prise en charge de l'infertilité en Lorraine. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine.

**100. MOURE A., CRUZ J. M., FRANCO D., DOMINGUEZ J. M., SINEIRO J., DOMINGUEZ H., NUÑEZ M. J. & PARAJO J. C. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*, 72,145–171.

**101. MULLER F.L., LIU Y. & VAN REMMEN H. (2004).** Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J. Biol. Chem.*, 279, 49064-49073.

**102. NAHER Z.U., ALI M., BISWAS S.K., KAMRUN N., BASHAR T. & ARSLAN M.I. (2011).** Study of seminal MDA level as a oxidative stress marker in infertile male. *J.Sci.Foundation*, 9(1-2), 85-93.

**103. NAKANO T., TERATO H., ASAGOSHI K., MASAOKA A., MUKUTA M., OHYAMA Y., SUZUKI T., MAKINO K.& IDE H. (2003).** "DNA-protein cross-link formation mediated by oxanine. A novel genotoxic mechanism of nitric oxide-induced DNA damage. *J Biol Chem*, 278(27), 25264-72.

**104. NANDA B.L., NATARAJU A., RAJESH R., RANGAPPA K.S., SHEKAR M.A. & VISHWANATH B.S. (2007).** PLA2 mediated arachidonate free radicals: PLA2 inhibition and neutralization of free radicals by antioxidants – a new role as anti-inflammatory molecule. *Curr. Top. Med. Chem*, 7, 765-777.

**105. NGUYEN M.H. (2015).** Infertilité masculine : fragmentation de l'ADN spermatique, ségrégation méiotique et facteurs génétiques. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale.

**106. NOBLANC A. (2013).** Contrôle des dommages oxydants au noyau spermatique. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal et Université d'Auvergne.

**107. OMS.** Présentation de l'infertilité. Serono 2003-2004 :1-2.

**108. OSTERMEIER G.C., DIX D.J., MILLER D., KHATRI P. ET KRAWETZ S.A.(2002).** Spermatozoal RNA profiles of normal fertile men. *Lancet*, 360,772-777.

**109. PALMIER B. ET SBLENDORIO V. (2007).**Oxidative stress test: overview on reliability and use. *Part I.Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*, 11,309-342.

- 110. PARTYKA A., RODAK O., BAJZERT J., KOCHAN J. ET NIZANSKI W. (2017).** The effect of L-carnitine, hypotaurine and taurine supplementation on the quality of cryopreserved chicken semen. Hindawi, *Bio Med Research international*, (3), 1-8.
- 111. PASTRE J. O. C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- 112. PELLATI D., MYLONAKIS I., BERTOLONI G. & AL. (2008).** Genital tract infections and infertility. *European Journal of Obstetrics and Gynecology*, 140, 3-11.
- 113. PETTEGREW J. W., LEVINE J. & MCCLURE R.J. (2000).** Acetyl-L-carnitine physical-chemical, metabolic, and therapeutic properties: relevance for its mode of action in Alzheimer's disease and geriatric depression. *Molecular Psychiatry*, 5(6), 616-32.
- 114. PHANIENDRA A., JESTADI D.B. & PERIYASAMY L. (2015).** Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases / *Indian J Clin Biochem* , 30 (1), 11 à 26.
- 115. PIECHOTA-POLANCZYK A. & FICHNA J. (2014).** The role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases / *Pharmacol J. Naunyn-Schmiedeberg*, 387 (7) ,6.
- 116. PINCEMAIL J., HALENG J., DEFRAIGNE J.O., CHARLIER C & CHAPELLE J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62, p 628-638.
- 117. PISOSCHI A.M. & POP A. (2015).** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- 118. POLJSAK B. & MILISAV I. (2013).** Aging, Oxidative Stress and Antioxidants. Chapter 14. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants*, 331-353.
- 119. POST L. (2019).** Validation de méthode du CASA (Computer – Aided Sperm Analysis) Hamilton Thorne CEROS II pour son application en routine dans un laboratoire de spermologie. Thèse de doctorat en médecine, Université Grenoble Alpes.
- 120. RAJENDER S., AVERY K. & AGARWAL A. (2011).** Epigenetics, spermatogenesis and male infertility. *Mutat Res*, 727, 62-71.
- 121. REMY A. (2011).** Perturbateurs endocriniens et stérilité masculine. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy 1.
- 122. REZGOUNE M.L. (2016).** Génétique mitochondriale des infertilités masculines. Thèse de doctorat en biologie, Université des Frères Mentouri Constantine.

- 123. RIBAS-MAYNON J. & YESTE M.** Oxidative stress in male infertility: causes, effects in assisted reproductive techniques and protective support of antioxydants. *Biology*, 9,77.
- 124. ROBINEAU P. & MERCIER T. (2012).** Quelle évaluation pour les produits phytopharmaceutiques Which assessment for plant protection products Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement 6, 927–933.
- 125. ROYERE D. (2011).** Assistance médicale à la procréation. *adsp* n° 75.
- 126. SALANINA T., MISKEJE M., TIRPAK F., BLASZCZYK M., STAWARZ R. & MASSANYI P. (2018).** Effect of taurine on Turkey (Meleagris gallopavo) spermatozoa viability and mobility. *Czech J. Anim, Sci*, 63(4), 127-135.
- 127. SALEH R., AGARWAL A. & KANDIRALI E. (2002).** Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. *Fertit. Steril.*, 78(6),1215-1224.
- 128. SAMAKE N.F. (2007).** Place des marqueurs biochimiques dans l'infertilité masculine. Thèse de doctorat en médecine, Université de Bamako, Mali.
- 129. SANKARE O. (2009).** Contribution à l'étude des aspects étiologiques de l'infertilité masculine au service de cytogénétique et de biologie de la reproduction de l'INRSP. Thèse de doctorat en médecine, Université de Bamako, Mali.
- 130. Saula A. (2017).** Infertilité masculine et obésité : étude rétrospective sur une cohorte de patients du centre médico- chirurgical obstétrique des hôpitaux universitaires de Strasbourg. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine.
- 131. SAWYER D. E., MERCER B. G., WIKLENDT A. M. & AITKEN R. J. (2003).** "Quantitative analysis of gene-specific DNA damage in human spermatozoa." *Mutat Res* 529(1-2): 21-34.
- 132. SCHAFFLER A. & MENCHE N. (2004).** Anatomie Physiologie Biologie. 2eme Ed, 387.
- 133. SCHILL W. B., MIEUSSET R., FRANK H. & AL. (2008).** Traité d'andrologie à l'usage des cliniciens. *Springer-Verlag France*. p219. ISBN : 2-287-72080-4.
- 134. SEIDLE T., ROBINSON S., HOLMES T. & AL. (2010).** Cross-sector review of drivers and available 3Rs approaches for acute systemic toxicity testing. *Tox. Sci.* 16, 382-396.
- 135. SEPANICK S., FORGES T., FONTAINE B., GERARD H., FOLIGUET B., GUILLET-MAY F., ZACCABI A. & MONNIER-BARBARINO P. (2004).** Impact négatif

du tabac sur la fertilité masculine : des spermatozoïdes à la descendance. *Journal de Gynecologie Obstetrique et Biologie de la Reproduction*, Vol 33, pp 384-390.

**136. SHARMA R., AHMAD G., ESTEVES S. & AGARWAL A. (2015).** Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay using Bench top flow cytometer for evaluation of sperm DNA fragmentation in fertility laboratories: protocol, reference values and quality control. *J Assist Reprod Genet*, 33(2),291-300.

**137. SHARMA, R.K. & AGARWAL A. (1996).** Role of oxygen species in male infertility. *Urology*, 48(6), 835-50.

**138. STIEF T.W. (2000).**The blood fibrinolysis/deep-sea analogy: a hypothesis on the cell signals singlet oxygen/photons as natural antithrombotics. *Thromb Res.*Vol 99:1–20.

**139. SUBRAMANIANV., RAVICHANDRAN A., THIAGARAJAN N., GOVINDARAJAN M., DHANDAYUTHAPARI S. & SURESH S. (2018).** Seminal reactive oxygen species and total antioxidant capacity: correlations with sperm parameters and impact on male infertility. *Clin Exp Reprod Med*, 45 (2), 88-93.

**140. STAHL W., HEINRICH U., JUNGSMANN H., SIES H. & TRONNIER H. (2000).** Carotenoids and Carotenoids plus Vit E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans.*Am.J.Clin.Nutri* . 71, 795-798.

**141. SUMAYA -MARTINEZ M. T. (2004).** Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes: étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante, fractionnement des substances actives et effet de la glycation. Microbiologie. Thèse de Doctorat.

**142. TERRIENTE-PALACIO C., DIAZ I. & CASTELLARI M. (2018).** A validated ultra-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry method to simultaneously quantify taurine, homotaurine, hypotaurine and amino acids in macro- and microalgae. *Journal of Chromatography A*.

**143. THANNICKAL V.J & FANBURG B.L. (2000)** .Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol*, 279(6), 1005-1028.

**144. THIBAUT C. (2001).**La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses

**145. VALKO M., LEIBFRITZ D., MONCOL J., CRONIN M.T.D, MAZUR M. & TELSNER J. (2007).**Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*Int. J. Biochem. Cell. B*, 39, 44-84

**146. VALKO M., MORRIS H. & CRONIN M.T.D. (2005).** Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, 12, 1161-1208.

- 147. VERNET P., FULTON N., WALTACE C. & AITKEN R.J. (2001).** Analysis of reactive oxygen species generating systems in rat epididymal spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 65, 1102-1113.
- 148. WAGES P.A., SILBAJORIS R., SPEEN A., BRIGHTON L., HENRIQUEZ A., TONG H., BROMBERG P.A., SIMMONS S.O. & SAMET J.M. (2014).** Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the oxidative effects of zinc exposure in human airway epithelial cells. *Redox Biology*, 3, 47–55.
- 149. WANG H., MARNETT L. J., HARRIS T. M. & RIZZO C. J. (2004).** A novel synthesis of malondialdehyde adducts of deoxyguanosine, deoxyadenosine, and deoxycytidine." *Chem Res Toxicol* ,17(2), 144-9.
- 150. WASSMANN S., WASSMANN K. & NICKENIG G. (2004).**Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hyperten*.Vol 44, 381-386.
- 151. XIA Y., TSAI A.L., BERKA V. & ZWEIER J.L. (1998).** Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase. A Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process. *Biol. Chem*, 273(40), 25804-8.

## **Résumé**

Environ 15 % des couples désirant enfanter, sont confrontés au problème d'infertilité. Dans la moitié des cas la cause est masculine alors que chez 25% de ces hommes aucune cause ne peut être diagnostiquée ou élucidée, ceci est communément indiqué par « infertilité idiopathique ». Cette dernière est liée, selon plusieurs études, au stress oxydant.

Le stress oxydatif contribue aux dysfonctions des spermatozoïdes et par conséquence induit une infertilité masculine ainsi que des anomalies de développement embryonnaire. De nombreuses conditions dont l'obésité, tabagisme, les infections et l'exposition à certaines substances chimiques ou à des radiations sont susceptibles de provoquer la formation en excès des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les spermatozoïdes. La fragmentation de l'ADN spermatique et la peroxydation des lipides membranaires des spermatozoïdes sont parmi les cibles les plus dommageables du stress oxydant. Dans les conditions normales les spermatozoïdes produisent une petite quantité d'ERO, ces dernières peuvent avoir un rôle dans la maturation, la capacitation et la réaction acrosomial des spermatozoïdes.

Le spermogramme est l'outil clé dans la stratégie d'exploitation de l'infertilité chez l'homme mais dans certains cas l'utilisation d'autres techniques complémentaires dans la détermination des oxydants séminaux est nécessaire dans le diagnostic et de pronostic significatif clinique d'infertilité masculine.

Afin d'atténuer les effets du stress oxydatif, il est tentant de proposer des suppléments en antioxydants vitaminiques (vitamine C, vitamine E, vitamine A) et minérales, en cas d'échecs, une orientation du couple vers les techniques de procréation médicalement assistées est une meilleure solution particulièrement dans le cas d'infertilité masculine sévère.

**Mots clés :** spermatozoïde, infertilité masculine, stress oxydant, antioxydant, espèces réactives de l'oxygène.

## **Abstract**

About 15% of couples wishing to give birth face the problem of infertility. In half of the cases the cause is male while in 25% of these men no cause can be diagnosed or elucidated, this is commonly indicated by "idiopathic infertility". The latter is linked, according to several studies, to oxidative stress.

Oxidative stress contributes to sperm dysfunction and consequently induces male infertility as well as embryonic development abnormalities. Many conditions including obesity, smoking, infections, and exposure to certain chemicals or radiation can cause excess reactive oxygen species (ROS) to form in sperm. Fragmentation of sperm DNA and peroxidation of sperm membrane lipids are among the most damaging targets of oxidative stress. Under normal conditions sperm produce a small amount of ROS, which may have a role in sperm maturation, capacitation and acrosomal reaction.

The spermogram is the key tool in the strategy of exploiting infertility in humans but in some cases the use of other complementary techniques in the determination of seminal oxidants is necessary in the diagnosis and clinically meaningful prognosis of male infertility.

In order to attenuate the effects of oxidative stress, it is tempting to offer vitamin antioxidant (vitamin C, vitamin E, vitamin A) and mineral supplements, in case of failure, an orientation of the couple towards medically assisted reproduction techniques, is a better solution especially in the case of severe male infertility.

**Keywords :** sperm, male infertility, oxidative stress, antioxidant, reactive oxygen species.