



HAL
open science

Impact du stress oxydant sur les paramètres du sperme, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire en assistance médicale à la procréation

Élodie Lefranc

► **To cite this version:**

Élodie Lefranc. Impact du stress oxydant sur les paramètres du sperme, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire en assistance médicale à la procréation. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02104672

HAL Id: dumas-02104672

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02104672>

Submitted on 21 May 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE
U.F.R. DE MEDECINE D'AMIENS
ANNEE 2018



Thèse 2018-129

DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE
THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

**IMPACT DU STRESS OXYDANT SUR LES PARAMETRES
DU SPERME, LES TAUX DE FECONDATION ET LA
QUALITE EMBRYONNAIRE EN ASSISTANCE MEDICALE A
LA PROCREATION**

Présentée et soutenue publiquement
le mardi 2 octobre 2018
par Madame Elodie LEFRANC
née le 31 aout 1990 à Boulogne sur Mer (62)

Président du Jury : Monsieur le Professeur Henri COPIN

Membres du Jury : Monsieur le Professeur Gilles DUVERLIE
Madame le Maître de Conférences des Universités Rosalie CABRY-
GOUBET
Madame le Docteur Naïma BELHADRI-MANSOURI

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur Moncef BENKHALIFA

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Henri COPIN

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Histologie-Embryologie-Cytogénétique

*Chef du Service de Médecine et Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique et CECOS
de Picardie*

Pôle « Femme-Couple-Enfant »

Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Monsieur le Professeur,

Il était logique que le Président officiel de tous les étudiants en médecine d'Amiens soit mon Président de jury. Merci pour ces années folkloriques passées sur les bancs de l'amphithéâtre, la P1 est passée bien plus vite sur fond de Marseillaise. Merci également pour votre bienveillance et votre pédagogie, il faut croire que vous avez réussi à me donner le goût de l'embryologie. Enfin, merci pour votre accueil au sein du service.

Je suis honorée que vous présidiez ma thèse.

A Monsieur le Professeur Gilles DUVERLIE

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

(Virologie, biologie)

Chef du laboratoire de Virologie

Pôle biologie, pharmacie et santé des populations

Doyen, Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche de Pharmacie d'AMIENS

Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Cher Professeur,

Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury. Je vous remercie pour vos précieux conseils, votre soutien et votre intérêt quant à ma formation et mon avenir professionnel.

Soyez assuré de mon plus profond respect.

A Monsieur le Professeur Moncef BENKHALIFA

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

Monsieur le Professeur,

Je vous remercie d'avoir accepté d'encadrer mon travail et de m'avoir proposée ce sujet passionnant. Merci pour vos conseils et vos enseignements avisés tout au long de ma formation, que ça soit au niveau de l'acquisition de connaissances fondamentales, de management et de travail en équipe ou d'investissement dans des activités de recherche. Vous m'avez fait découvrir des aspects nouveaux et ambitieux de la carrière de biologiste hospitalier.

A Madame le Docteur Rosalie CABRY-GOUBET

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Histologie, Embryologie et Cytogénétique

Médecine et Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et CECOS de Picardie

CHU Amiens Picardie, Centre de Biologie Humaine

Je tiens à vous adresser mes plus profonds remerciements pour avoir accepté de faire partie de mon jury. J'admire énormément votre investissement au sein du service, vos qualités en tant que chef, clinicienne et enseignante mais également en tant que collègue. Merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et votre bienveillance à mon égard.

À Madame le Docteur Naïma BELHADRI-MANSOURI

Praticien Hospitalier

Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

Chère Naïma,

Merci pour tout. Pour ton accueil, ta gentillesse (même quand je faisais de la résistance pour la tenue du laboratoire), ta bienveillance, ta disponibilité, tes conseils et ton soutien sans faille durant ces deux dernières années. Tu as été une formidable mentor et j'ai vraiment adoré me former à tes côtés. J'ai hâte de revenir travailler avec toi (et te prêterai avec plaisir ma carte café). Je n'aurai pas imaginé soutenir ma thèse sans ta présence dans mon jury, je te remercie pour cet honneur et t'adresse mon plus sincère respect.

Et aussi ...

Aux premiers arrivés et derniers partis de l'internat le midi, à ceux qui aiment les patients mais leurs préfèrent l'amélioré du jeudi, aux pros du babyfoot et du billard, aux plus gentils, bref aux supers internes de biologie médicale : un énorme merci. Les nouveaux, les anciens, le Grand Cru 2014 ... les promos passaient mais restaient au top. Merci pour les courses de trottinette, les festins en garde, les blind-tests, les formules petit-déjeuner de la cafet' à toute heure de la journée, les (trop nombreuses) pauses café, les soirées déguisées, les pulls moches, les mamiversaires, les marathons Game of Thrones, les weekends de vadrouille, les soirées (arrosées), les cinémas, les mariages, les bébés ... ! On en a vécu des choses en 4 ans. Je ne pensais pas que c'était possible de s'amuser autant pendant son internat, c'est grâce à vous.

A Vincent « Tarzan », Paul-Antoine « L'Ane » et Arthur « Le Loutron », mes co-internes biologistes reproducteurs. Merci pour tous ces bons moments passés avec vous au laboratoire, j'espère avoir l'occasion de retravailler à vos côtés dans l'avenir. « Best regards ».

A Camille, Héloïse, Maïté, Lucie, Marion C., Marion L. et Anaïs, mes cliniciennes préférées. J'ai été ravie de partager notre placard-salle-des-archives-bureau-des-internes avec vous, merci pour votre bonne humeur et la bonne ambiance instaurée en stage. A bientôt dans les couloirs de l'hôpital !

A Amel, Marie, Agathe et tous les amis de plus ou moins longue date, de médecine ou d'ailleurs. 10 ans d'étude c'est long, mais ça passe beaucoup plus vite quand on est bien entouré !

A la super équipe, actuelle ou ancienne, d'AMP d'Amiens :

Séverine, Ingrid, Florence, Elodie, Amandine, David : les meilleurs techniciens possibles. Merci de m'avoir adoptée au sein de l'équipe et m'avoir fait me sentir comme chez moi au laboratoire. Merci pour vos conseils, votre aide, votre (presque toujours !) bonne humeur, votre gentillesse, vos potins ... J'espère travailler avec vous encore un bout de temps, mais surtout, *surtout*, partager encore une multitude de pots de fin de stage, de buffets labos, de gouters et petit-déjeuners d'anniversaire avec vous.

Dany, Marie, Diane, Laure, Audrey : l'équipe de choc du secrétariat. Merci de m'avoir prise sous votre aile, de m'avoir guidée et aidée tout au long de mon internat. Vous êtes géniales.

Florence, Emmanuelle, Mélyne, Aviva, Isabelle, Monsieur Barbier, Madame Bury : merci pour les moments de partage et l'ambiance instaurée dans le service. J'ai adoré travailler à vos côtés.

A la génialissime équipe d'AMP de Nantes, « le sud » n'était pas si terrible finalement. Merci de m'avoir pleinement intégrée à votre service, d'avoir été si accueillants et bienveillants, j'ai passé 6 mois à la fois très instructifs et amusants. Travailler avec vous a été un réel plaisir.

A Audrey, Sana, Karen, Estelle et Emilie, mes co-internes « nantaises ». Merci de m'avoir fait encore plus apprécier la ville via nos escapades culinaires et culturelles (les glaces de la Fraiseriaie me manqueront) !

Enfin, à mes parents, merci de m'avoir accompagnée avec bienveillance tout au long de mes études, d'avoir toujours été là pour moi, me soutenir, me motiver, me remonter le moral, m'écouter (me faire des bons petits plats, mon plein d'essence, me rappeler de payer mes impôts ... !). Vous pourrez enfin dire aux gens que je suis docteur, il était temps ! Vous êtes géniaux. J'espère vous avoir rendus fiers.

A Cyril et Lise, et toute ma famille : merci de m'avoir accompagnée durant toutes ces années et d'avoir cru en moi, même si vous ne saviez pas toujours précisément où j'en étais et ce que je faisais (AMP ...?). Je vous embrasse.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES	9
TABLE DES TABLEAUX.....	9
GLOSSAIRE	10
1. Introduction	12
1.1 Rappels sur l'infertilité masculine.....	12
1.2 Rappels sur l'oxydo-réduction, les espèces réactives de l'oxygène et le stress oxydant.....	13
1.2.1 Réaction d'oxydo-réduction	13
1.2.2 Espèces réactives de l'oxygène	13
1.2.3 Potentiel d'oxydo-réduction et stress oxydant.....	15
1.2.4 Système anti-oxydant	16
1.3 Stress oxydant et infertilité.....	17
2. Objectif de l'étude	19
3. Matériels et Méthodes	20
3.1 Type d'étude et population étudiée	20
3.2 Recueil et préparation du sperme	21
3.3 Mesure du potentiel d'oxydo-réduction	21
3.4 Techniques d'AMP et culture embryonnaire.....	23
3.5 Transfert embryonnaire et issue de tentative.....	24
3.6 Analyses statistiques.....	25
4. Résultats.....	26
4.1 Caractéristiques des groupes	26
4.2 Stress oxydant et paramètres spermatiques	26
4.3 Stress oxydant et taux de fécondation	28
4.4 Stress oxydant et qualité embryonnaire.....	29
4.5 Stress oxydant et issues de tentative.....	29
5. Discussion.....	31
5.1 Dans la littérature.....	31
5.2 Limites de l'étude	34
5.3 Perspectives	36
6. Conclusion.....	38
BIBLIOGRAPHIE.....	39
ANNEXES.....	43

TABLE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Production et dismutation des ROS au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale	14
<u>Figure 2</u> : Equation de Nernst-Peters	15
<u>Figure 3</u> : Système cellulaire antioxydant.....	17
<u>Figure 4</u> : Principales sources de surproduction des ROS dans le liquide séminal et le spermatozoïde	18
<u>Figure 5</u> : Analyseur MioxSYS (A), bandelette jetable (B), dépôt de l'échantillon (C).	22
<u>Figure 6</u> : Corrélation entre le potentiel d'oxydo-réduction spermatique (ORP) ($\text{mV}/10^6$ sperm/mL), les paramètres spermatiques et la leucospermie de patients pris en charge en AMP	27

TABLE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Caractéristiques démographiques de nos groupes	26
<u>Tableau 2</u> : Paramètres spermatiques et moyenne d'ORP chez les patients avec ORP normal et ORP augmenté	28
<u>Tableau 3</u> : Taux de fécondation en fonction de l'ORP et de la technique d'AMP	29
<u>Tableau 4</u> : Caractéristiques des embryons à J2 et J3 et taux de blastulation selon l'ORP du sperme inséminé.....	29
<u>Tableau 5</u> : Issues des tentatives de FIV et d'ICSI selon le niveau d'ORP spermatique	30

GLOSSAIRE

ADN : Acide DésoxyriboNucléique
AMH : Hormone AntiMüllérienne
AMP : Assistance Médicale à la Procréation
ATP : Adenosine TriPhosphate
b-hCG : fraction Beta de l'hCG
CAT : Catalase
CFA : Compte des Follicules Antraux
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CCO : Complexe Cumulo-Ovocytaire
FC : Fausse Couche
FIV : Fécondation In Vitro
FSH : Follicle Stimulating Hormone
GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone
GP : Globule Polaire
GPX : Glutathion PeroXydase
G6PD : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
hCG : Human Chorionic Gonadotrophin hormone
ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection
IUI : Insémination Intra Utérine
IMC : Indice de Masse Corporelle
MDA : MalonDiAldéhyde
MioxSYS : Male Infertility Oxydative System
mV : milliVolt
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NRS : Nitrogen Reactive Species
OATS : Oligo-Asthéno-Tératospermie Sévère
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ORP : Oxidation Reduction Potential
PN : Pro Nuclei
PVP : PolyVinylPyrrolidone
ROS : Reactive Oxygen Species

SA : Semaine d'Aménorrhée

SOD : SuperOxyde Dismutase

TMS : Test de Migration Survie

10⁶ sperm/mL : millions de spermatozoïdes par millilitre

1. Introduction

1.1 Rappels sur l'infertilité masculine

L'infertilité correspond à l'incapacité pour un couple à concevoir après un an de rapports sexuels efficaces et réguliers. Elle concerne plus de 48 millions de couples dans le monde et un couple sur cinq en France. Son impact à la fois médical, socio-culturel, psychologique et financier en fait un véritable problème de santé publique.

Près d'un tiers des cas d'infertilité ont une cause masculine identifiée, comprenant les azoospermies obstructives, les azoospermies sécrétoires d'origine centrale ou périphérique, les oligo-astheno-téatospermies sévères (OATS) d'origine génétique, organique ou infectieuse, mais aussi les infertilités idiopathiques. Il a été noté une baisse significative de la qualité du sperme depuis ces trente dernières années, en partie expliquée par l'utilisation massive de perturbateurs endocriniens, l'exposition des populations à de nouveaux polluants environnementaux, et une dégradation de l'hygiène de vie de la population avec une tendance au surpoids et à la consommation de toxiques variés [1][2].

Chez l'homme, le bilan d'infertilité de première intention consiste en l'analyse des paramètres spermatiques standards évalués par le spermogramme, le spermocytogramme et le test de migration survie selon les critères 2010 de l'Organisation Mondiale de la Santé. Ce bilan, variable pour un même individu et opérateur dépendant [3], reste insuffisant pour statuer sur la fertilité d'un homme et ne permet pas l'analyse de la capacité des spermatozoïdes à féconder un ovocyte, engendrer un embryon de bonne qualité et aboutir à une naissance vivante.

L'avènement de la fécondation in vitro avec micro-injection (ICSI) au milieu des années 1990 a conduit à porter moins d'intérêt pour la compréhension et le diagnostic des étiologies de l'infertilité masculine. De nouveaux tests se doivent cependant d'être développés afin de servir d'outils diagnostiques permettant une étude plus approfondie des fonctions du spermatozoïde. Parmi ces tests fonctionnels du sperme nous pouvons par exemple citer la mesure de la fragmentation et la recherche de la dénaturation de l'ADN ainsi que la mesure du stress oxydant [4].

Le stress oxydant est devenu un facteur reconnu d'infertilité masculine [5][6]. En effet, bien que sa présence dans le liquide séminal soit souvent corrélée à des facteurs spermatiques altérés [7][8] on le retrouve aussi chez quelques patients avec une infertilité catégorisée de

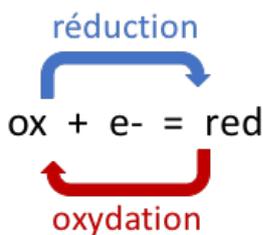
base comme idiopathique [9]. Sa détection semble donc utile à l'amélioration de la prise en charge d'un certain groupe de patients en assistance médicale à la procréation.

1.2 Rappels sur l'oxydo-réduction, les espèces réactives de l'oxygène et le stress oxydant

1.2.1 Réaction d'oxydo-réduction

L'oxydation correspond à la perte d'un ou plusieurs électrons d'un composé (ex : $\text{Fe} = \text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^-$). La réduction correspond à un gain d'électrons (ex : $\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Cu}$).

Un oxydant est donc une espèce chimique capable de gagner un électron et un réducteur une espèce chimique capable de céder un électron.



L'oxydation d'un corps s'accompagne systématiquement de la réduction d'un autre, les électrons ne pouvant circuler seuls. Une réaction d'oxydo-réduction se compose donc de deux demi-réactions et correspond à la somme de l'oxydation et de la réduction. Elle implique systématiquement un transfert d'électrons d'un réducteur vers un oxydant entre deux couples oxydant-réducteur :



Dans notre exemple, les deux couples oxydant/réducteur mis en jeu sont Cu^{2+}/Cu et Fe^{2+}/Fe . Le réducteur fer Fe (métal solide) perd deux électrons, et est oxydé en hydroxyde de fer Fe^{2+} (aqueux), tandis que l'oxydant Cu^{2+} (aqueux) est réduit en cuivre métallique Cu en récupérant ces deux électrons.

La réaction complète d'oxydo-réduction s'écrira : $\text{Fe(s)} + \text{Cu}^{2+}(\text{aq}) \rightarrow \text{Fe}^{2+}(\text{aq}) + \text{Cu(s)}$.

1.2.2 Espèces réactives de l'oxygène

Les cellules de l'organisme humain ont besoin d'énergie produite sous forme d'ATP pour leur fonctionnement. Cette production d'énergie se fait grâce à l'oxygène au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, via une réaction finale appelée la phosphorylation oxydative.

Durant les étapes de la chaîne respiratoire, qui comprend une succession de réactions d'oxydo-réduction aboutissant à la génération d'un flux d'électrons et à la formation d'un gradient de protons, des métabolites réduits de l'oxygène se forment : ce sont les espèces réactives de l'oxygène (ROS) [10].

1 à 3% des molécules d'oxygène utilisées par la mitochondrie sont incomplètement réduites et produisent des ROS.

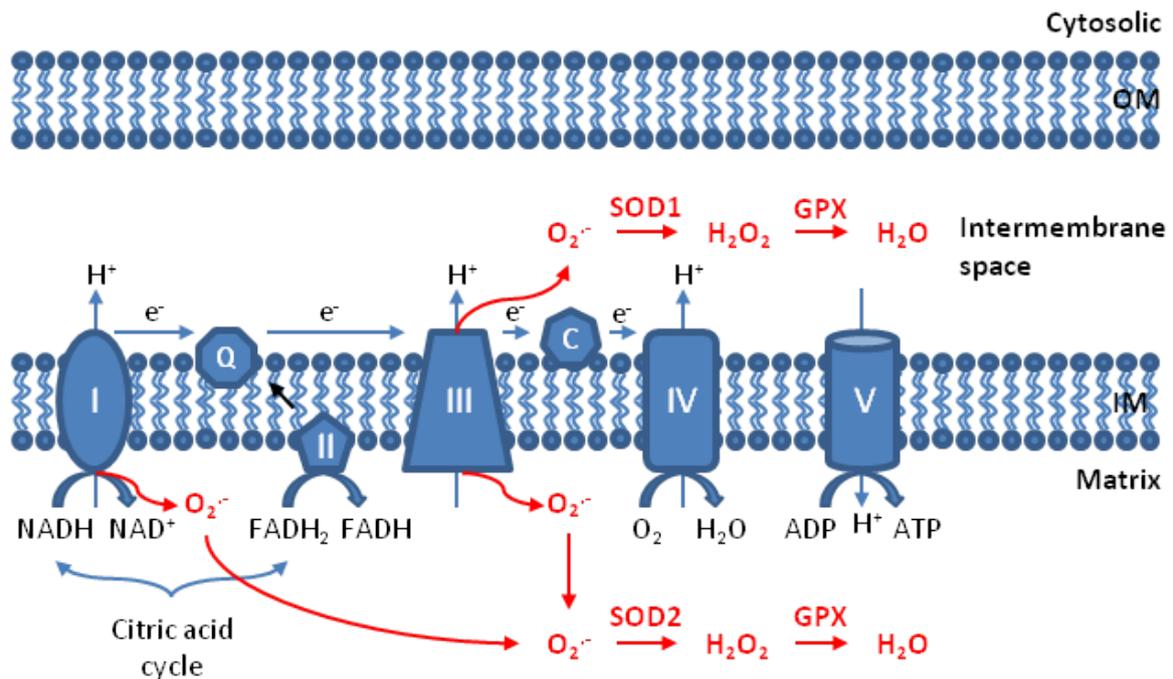


Figure 1 : Production et dismutation des ROS au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale. D'après Li et al. 2013. La chaîne respiratoire mitochondriale est formée de 4 complexes (I, II, III, IV) et d'une pompe ATP synthase (V). NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit; NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide ; FADH : Flavine adénine dinucléotide réduit ; Q : Ubiquinone ; C : cytochrome C ; OM : Outer Membrane ; IM : Inner membrane ; ADP : Adénosine diphosphate ; ATP : Adénosine Triphosphate

Les ROS sont donc des espèces chimiques oxygénées produites physiologiquement à un faible niveau par tout organisme aérobie, principalement au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elles comprennent notamment les radicaux libres qui correspondent à des molécules avec au moins un électron non apparié. La présence de ces électrons célibataires confère aux radicaux libres une très grande instabilité, leur donnant la possibilité d'interagir avec des molécules environnantes pour appairer leur électron. Un radical libre peut alors soit arracher un électron à une autre molécule (se comportant comme un oxydant), soit céder son électron (et agir comme un réducteur). Quelques exemples d'espèces réactives de l'oxygène

sont l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxyde nitrique $\bullet NO$ ou encore l'ion peroxydinitrite $ONOO^-$.

L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est formé dans les complexes I et III présents au niveau de la membrane mitochondriale interne par fuite des électrons durant les étapes de réduction de l'oxygène (Figure 1). Il est ensuite dismuté en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 par des enzymes antioxydantes superoxyde dismutases (SOD). Le peroxyde d'hydrogène est quant à lui dismuté en eau par l'enzyme glutathion peroxydase (GPX). L'anion superoxyde traverse rarement la membrane mitochondriale externe à cause de sa très courte demi-vie et a plutôt tendance à réagir avec un autre radical présent dans la mitochondrie, l'oxyde nitrique $\bullet NO$. L'oxydation de l'oxyde nitrique par l'anion superoxyde entraîne la formation d'un autre ROS très réactif, l'ion peroxydinitrite $ONOO^-$, entrant en jeu dans les phénomènes d'apoptose et de nécrose cellulaire [11].

1.2.3 Potentiel d'oxydo-réduction et stress oxydant :

L'ensemble des fluides de l'organisme tels que le plasma, le liquide céphalo-rachidien, le liquide folliculaire ou encore le liquide séminal ont un potentiel d'oxydo-réduction (ORP), aussi appelé potentiel redox. Ce potentiel est un reflet de la balance entre l'activité oxydante et réductrice totale d'un organisme et renseigne sur le statut d'oxydo-réduction d'un fluide ou d'un tissu. A l'état d'équilibre le potentiel d'oxydo-réduction d'un milieu est calculé selon l'équation de Nernst-Peters :

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[ox]^a}{[Red]^b}$$

Figure 2 : Equation de Nernst-Peters

E = potentiel d'oxydo-réduction en volts / E° = potentiel d'électrode normal en volts / T = température en degré Kelvin / R = constante des gaz parfaits / F = 1 Faraday = 96500 C / n = nombre d'électrons transférés

Physiologiquement, la présence des radicaux libres et d'un niveau contrôlé d'oxydation est essentielle, jouant un rôle dans de nombreux processus de transduction de signaux cellulaires, de synthèse enzymatique, de réparation cellulaire, de défense immunitaire contre des agents pathogènes et de régulation de l'apoptose [10].

Un déséquilibre dans la balance d'oxydo-réduction engendré soit par excès de production des oxydants ou par un déficit de fonctionnement du système protecteur réducteur d'un milieu va engendrer un état de stress.

1.2.4 Système anti-oxydant :

L'organisme ne cherche donc pas à éliminer les ROS, mais à contrôler leur niveau. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques et non enzymatiques (Figure 3).

Le système enzymatique constitue la première ligne de défense de l'organisme. Il comprend :

- La Superoxyde Dismutase (SOD), présente au niveau cytosolique, mitochondrial et extra-cellulaire, qui catalise la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2
- La Glutathion Peroxydase (GPX), présente au niveau du cytosol et de la mitochondrie, qui participe à la dismutation d' H_2O_2 en H_2O et O_2
- La Catalase (CAT), présente dans le cytosol, qui participe également à la dismutation d' H_2O_2 en H_2O et O_2

Le système antioxydant non enzymatique comprend des molécules principalement apportées par l'alimentation, il comprend :

- Des oligoéléments (cuivre, zinc, manganèse, sélénium et fer) qui servent de cofacteurs au système enzymatique
- La vitamine C et la vitamine E, capables de capter les ROS au niveau membranaire ou cytosolique
- L'ubiquinone et le cytochrome C
- Le glutathion

Quand ces mécanismes de contrôle sont dépassés, les perturbations du système d'oxydo-réduction de la cellule entraînent des effets toxiques et délétères pour celle-ci comme son oxydation protéique, la peroxydation de ses lipides ou encore la fragmentation de son ADN. Un état de stress oxydant trop important est associé à diverses pathologies chroniques et systémiques comme l'athérosclérose, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, les cancers, le diabète et le syndrome métabolique, les maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes ainsi que le processus de vieillissement [10].

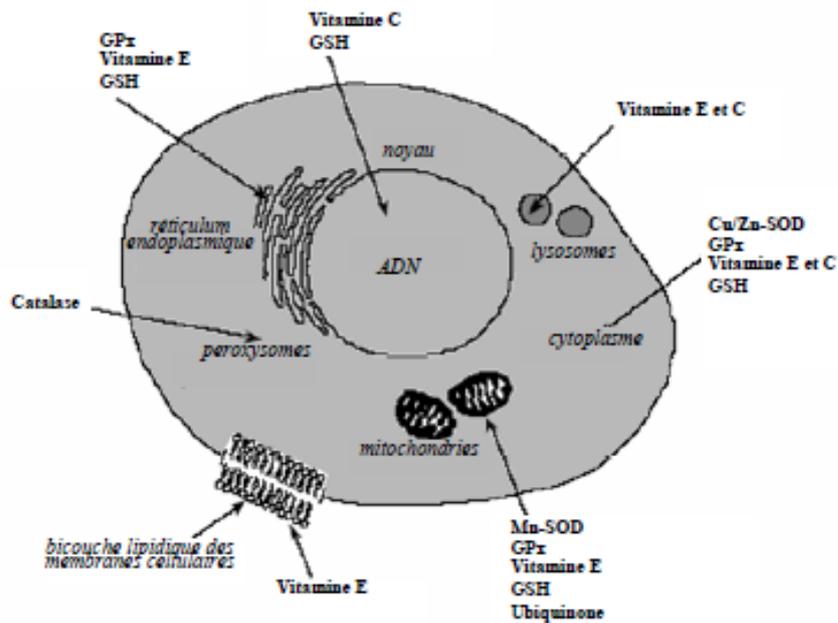


Figure 3 : Système antioxydant cellulaire. D'après : <http://www.biotech-ecolo.net/antioxydants.html>

GPX : Glutathion Peroxydase ; GSH : glutathion réduit; Cu/Zn-SOD : Superoxyde Dismutase cytosolique ; Mn-SOD : Superoxyde Dismutase mitochondriale

1.3 Stress oxydant et infertilité

Les ROS ont également un rôle important dans la fonction reproductrice. La production des radicaux libres dans le sperme a deux origines principales : le spermatozoïde via ses mitochondries et sa membrane plasmique et les leucocytes circulants dans le liquide séminal. Physiologiquement, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et l'oxyde nitrique sont produits par le spermatozoïde durant sa capacitation et participent à l'induction de la réaction acrosomique et à sa fusion avec la membrane de l'ovocyte. Un niveau contrôlé de ROS est donc nécessaire au maintien d'une fonction spermatique normale [12].

En cas d'excès de production de ROS, le spermatozoïde est normalement apte à se protéger via son système de défense antioxydant. L'acquisition de ce système de protection a lieu durant la spermatogenèse et permet une régulation fine des concentrations en ROS du liquide séminal. Il est constitué d'enzymes (SOD, CAT, GPX) et de molécules non enzymatiques comme les vitamines E, C et A, le zinc, le sélénium, la carnitine et la coenzyme Q10 [13], présentes au sein du spermatozoïde ou apportées dans le liquide séminal par la prostate et les vésicules séminales. En cas de production incontrôlée de ROS dans un état pathologique, la

capacité anti-oxydante se trouve dépassée, les ROS ne sont plus correctement éliminés et un état de stress oxydatif est atteint.

Une production excessive de ROS peut avoir différentes origines. Endogène d'une part, via les leucocytes activés du liquide séminal en cas d'infection du tractus génital masculin ou d'inflammation locale, ou via les spermatozoïdes eux-mêmes en cas de spermatogénèse altérée et de varicocèle. En effet, la capacité d'un spermatozoïde à produire des ROS est inversement proportionnelle à son état de maturation. Les spermatozoïdes immatures présentant des résidus cytoplasmiques sont riches en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), enzyme stimulant la production de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) qui elle-même stimule la production de ROS par le spermatozoïde. Les ROS peuvent également avoir une origine exogène, leur production étant stimulée en cas d'intoxication tabagique, alcoolique, d'obésité, et d'exposition à des toxiques environnementaux et radiations ionisantes [12].

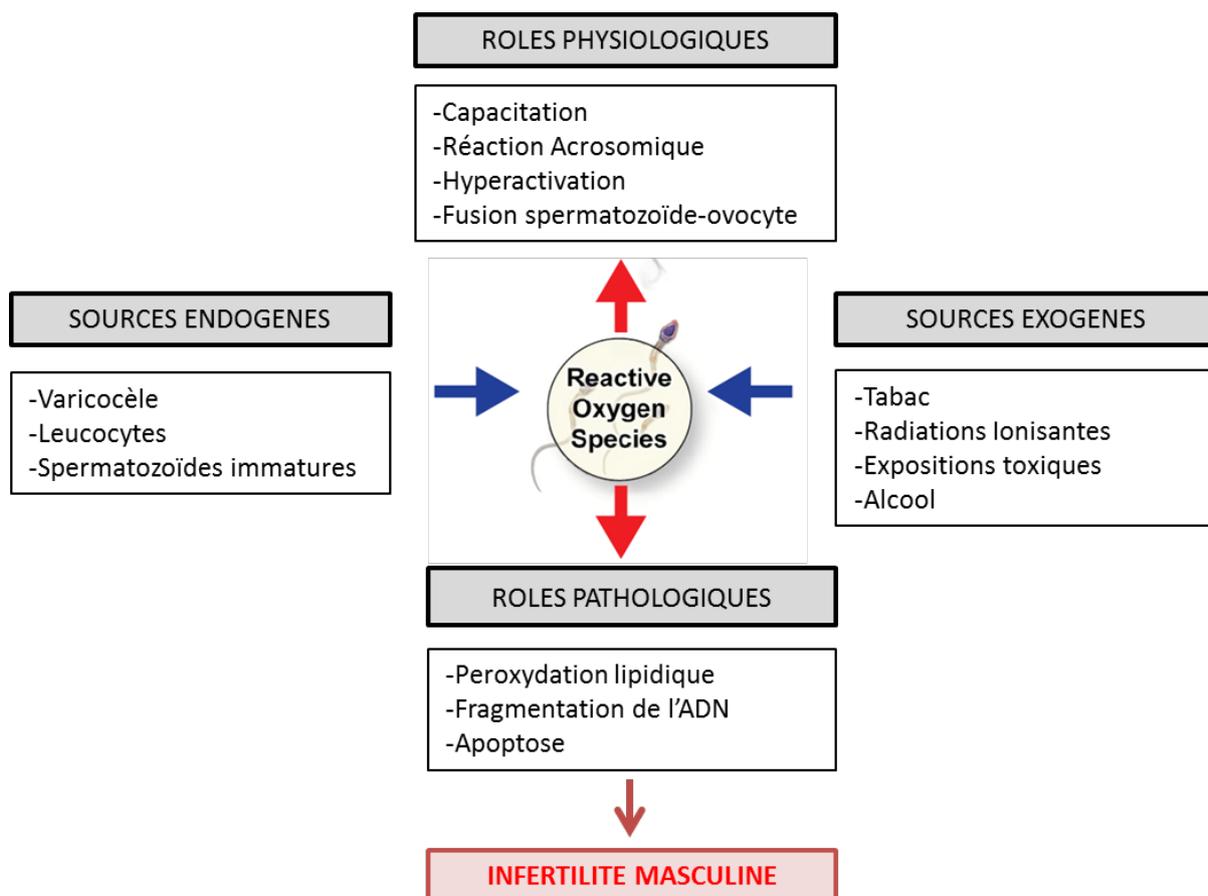


Figure 4 : Principales sources de surproduction des ROS dans le liquide séminal et le spermatozoïde. Adaptation selon Agarwal et al. 2017.

Cette production incontrôlée de ROS entraîne une cascade de réactions délétères pour le spermatozoïde comme l'altération de sa fonction mitochondriale et donc de sa mobilité, une fragmentation de son ADN via l'oxydation des acides nucléiques, une apoptose accrue, mais aussi une altération de sa capacité à féconder l'ovocyte via une perte de fluidité membranaire et une inactivation de récepteurs et d'enzymes de surface. Ces phénomènes sont la conséquence de la peroxydation des acides gras polyinsaturés présents en grande quantité au niveau de sa membrane plasmique [14].

Plusieurs études ont démontré un lien entre le stress oxydant et l'infertilité masculine, retrouvant notamment des taux élevés de ROS dans le liquide séminal de patients infertiles avec une relation entre ces taux augmentés et des paramètres spermatiques altérés.

2. Objectif de l'étude

Peu d'études ont néanmoins étudié les conséquences de cet état de stress sur les taux de fécondation et la qualité embryonnaire en FIV/ICSI. L'objectif principal de notre étude était d'examiner l'impact d'un état de stress oxydant sur les paramètres spermatiques, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire chez des patients pris en charge en assistance médicale à la procréation.

Les objectifs secondaires étaient d'évaluer les conséquences de cet état de stress sur l'issue de nos tentatives d'AMP, via l'évaluation des taux de grossesse et de fausse couche.

3. Matériels et Méthodes

3.1 Type d'étude et population étudiée

Notre étude est une étude de cohorte prospective, multicentrique, effectuée au sein des services de Médecine et Biologie de la Reproduction et Cytogénétique du CHU d'Amiens et Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction du CHU de Nantes.

197 patients issus de couples infertiles pris en charge en insémination intra-utérine (IIU), en fécondation in vitro classique (FIV) ou en FIV avec micro-injection (ICSI) sur une période s'étalant de janvier 2017 à juillet 2018 ont été inclus.

Deux groupes ont été établis à partir du potentiel d'oxydo-réduction mesuré dans le sperme des patients : notre groupe témoin (n=115) correspondant aux hommes avec un potentiel redox spermatique normal, et un groupe rassemblant les hommes avec un potentiel redox spermatique augmenté, correspondant à un état de stress oxydant (n=82).

Un consentement éclairé a été obtenu par chaque patient avant analyse.

Les renseignements cliniques suivants ont été récoltés lors d'une consultation préalable à la tentative : âge, consommation de tabac ou d'autres drogues récréatives, taille et poids, antécédents uro-génitaux (varicocèle, cryptorchidie, prostatite chronique), antécédents de paternité ou de fausse couche.

Les tentatives avec sperme congelé ont été exclues de notre étude. Les autres critères d'exclusion étaient la présence d'un état fébrile, d'une infection urogénitale, d'une chirurgie ou d'un traumatisme grave chez l'homme dans les trois mois précédents la tentative, ainsi que des antécédents de cancer évolutif dans les 5 ans ou la prise d'un traitement antioxydant dans les trois mois précédant la tentative.

Les patients pris en charge en IIU (n=39) n'ont été retenus que pour l'analyse des paramètres spermatiques.

Après la FIV ou l'ICSI, les embryons de 149 couples ont été au minimum cultivés pendant 3 jours jusqu'au stade 8 blastomères, 9 tentatives ayant abouties à des échecs de fécondation à J1. 130 couples ont bénéficié d'embryons poussés en culture prolongée jusqu'au stade blastocyste à J5.

3.2 Recueil et préparation du sperme

Le jour de la ponction, les patients sont venus faire leur recueil de sperme frais entre 8h et 9h le matin au laboratoire après avoir respecté un délai d'abstinence de 2 à 7 jours. Un bref interrogatoire du patient à l'accueil a permis d'éliminer tout critère d'exclusion. Après nettoyage des mains et désinfection soigneuse de la verge afin d'éviter une contamination bactérienne du prélèvement, le sperme a été récupéré après masturbation et éjaculation dans un réceptacle stérile.

Après 30 minutes à 1 heure de liquéfaction, le volume de l'éjaculat, la concentration, la mobilité totale et progressive et la morphologie des spermatozoïdes ont été évalués en microscopie optique selon les recommandations 2010 de l'OMS. Les altérations retrouvées pouvaient correspondre à l'une ou plusieurs des caractéristiques suivantes :

- une altération de la concentration en spermatozoïdes < 15 millions de spermatozoïdes par mL (oligospermie)
- une altération de la mobilité totale $< 40\%$ de spermatozoïdes mobiles (asthénospermie)
- une altération de la morphologie des spermatozoïdes avec $< 4\%$ de formes typiques selon la classification de Kruger (tératospermie)

Une évaluation de la leucospermie a été réalisée grâce à une bandelette réactive (Siemens, Multistix 8SG) et permettait de détecter un taux de leucocytes > 1 million/mL. La détection des polynucléaires a été confirmée par une coloration à la myeloperoxydase.

Après analyse des paramètres standards, les spermatozoïdes ont été préparés en vue de l'IIU, de la FIV ou de l'ICSI avec un gradient de densité discontinu à double couche (Puresperm® 40/80 ou 50/90 selon le centre). Si le volume de l'éjaculat le permettait, l'analyse du stress oxydant a été réalisée sur les résidus de sperme frais.

3.3 Mesure du potentiel d'oxydo-réduction

L'évaluation du stress oxydant de nos échantillons a été faite par la mesure de leur potentiel d'oxydo-réduction ou ORP. Ce potentiel permet l'évaluation globale des espèces oxydantes et réductrices d'un échantillon et, quand il est augmenté, est indicateur d'un état de stress oxydatif.

Cette mesure a été réalisée par le même opérateur sur nos échantillons de sperme frais à l'aide du système MioxSYS® (Aytu Biosciences). Cet automate opère selon une technologie

électrochimique qui utilise un système de capteur sous forme de bandelette à 3 électrodes et un analyseur à galvanostat (Figure 5). Un échantillon de sperme était appliqué sur le capteur inséré dans l'analyseur. L'échantillon, passant à travers l'électrode de travail puis remplissant la cellule de référence, complétait le circuit électrochimique.

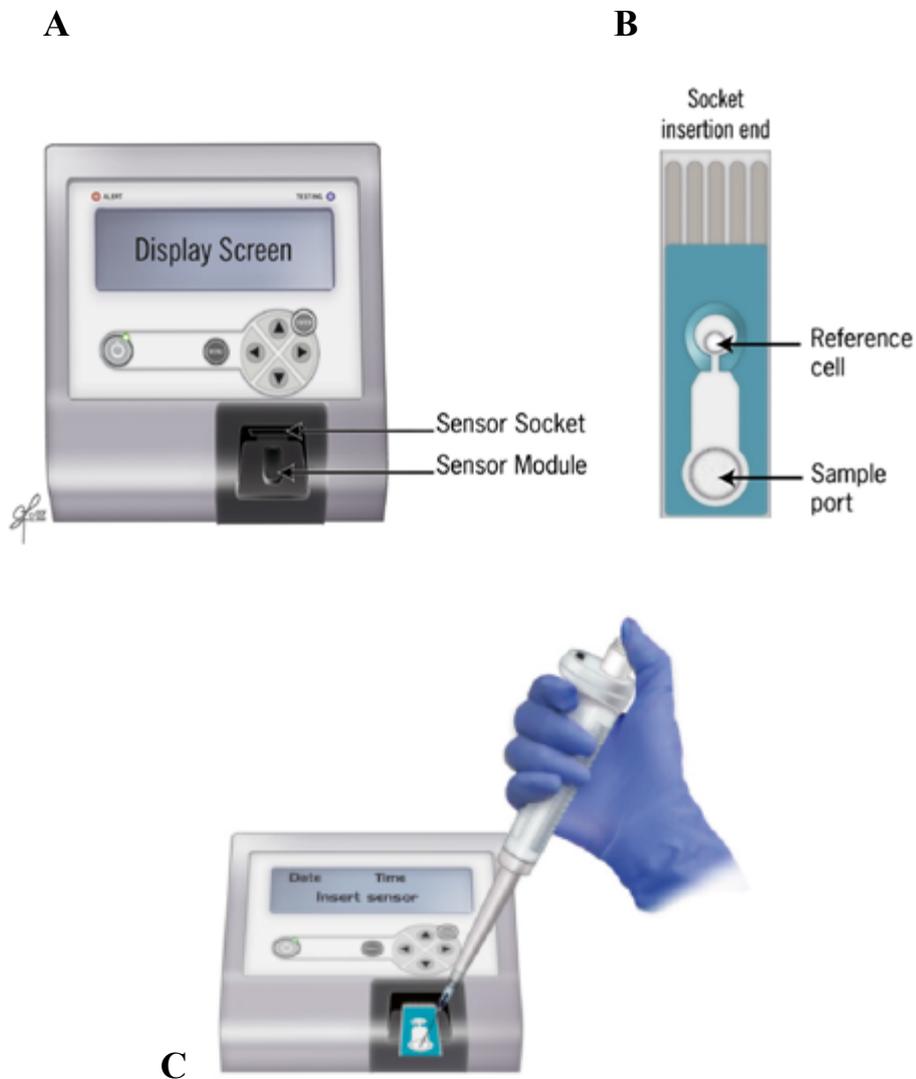


Figure 5 : Analyseur MioxSYS (A), bandelette jetable (B), dépôt de l'échantillon (C). Reference: Agarwal A, Majzoub A. Laboratory tests for oxidative stress. *Indian J Urol* 2017

Après liquéfaction à température ambiante, 30 microlitres (μl) de sperme étaient déposés à la micropipette sur la bandelette jetable insérée au préalable dans l'analyseur.

Une fois que l'échantillon de sperme a atteint par capillarité l'électrode de référence, un courant d'oxydation continu d'1 nano ampère (nA) était envoyé par l'analyseur dans l'échantillon, provoquant un transfert d'électrons des antioxydants vers les oxydants du milieu. Pendant la durée du test, la tension entre l'électrode de référence et l'électrode de

travail a été mesurée toutes les 0,5 secondes. Après un temps d'analyse d'environ 3 minutes, une valeur d'ORP en milliVolts (mV) était affichée sur l'analyseur, cette valeur correspondant à la moyenne des 20 dernières lectures de tension effectuées par l'automate. Elle correspond en fait à la mesure d'une différence de potentiel entre les oxydants et les antioxydants. Une différence de potentiel élevée est en faveur d'une activité oxydante majoritaire dans l'échantillon. La valeur d'ORP mesurée a été ensuite corrigée à la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat ($\text{mV}/10^6 \text{ sperm/mL}$).

Les spermés trop visqueux ont été exclus de notre analyse, le système MioxSYS ne permettant pas la mesure de leur ORP.

Une calibration de l'appareil a été réalisée lors de sa première mise en fonctionnement grâce à une clé de calibration fournie avec l'analyseur. Avant le passage de nos échantillons et lors de la première utilisation, des contrôles externes de qualité (un contrôle bas, un contrôle haut) ont été testés. Un passage des contrôles a été effectué à chaque changement de lot de bandelettes.

Le cut-off d'ORP utilisé afin de différencier nos échantillons normaux et pathologiques était de $1,38 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/mL}$. Ce cut-off a été utilisé pour tester les caractéristiques de performance de l'automate MioxSYS sur 458 échantillons au niveau international avec une VPP de 97,3% pour la détection d'un sperme d'une qualité anormale. Une valeur supérieure à ce cut off indiquait une modification dans l'équilibre d'oxydo-réduction en faveur des oxydants, et donc la présence de stress oxydant dans notre échantillon.

3.4 Techniques d'AMP et culture embryonnaire

Des protocoles standards de stimulation ovarienne ont été utilisés pour les tentatives de FIV et d'ICSI. Globalement, après réalisation d'un bilan de réserve ovarienne, les patientes ont bénéficié d'une induction de leur ovulation par injection de FSH recombinante et désensibilisation hypophysaire par un analogue de la GnRH. Après monitoring échographique et hormonal, l'ovulation a été déclenchée par une injection d'hCG dès qu'un nombre suffisant de follicules matures était observé. La ponction de ces follicules a été réalisée 36h après l'injection d'hCG, au bloc opératoire, par voie trans-vaginale écho-guidée. Après analyse des liquides folliculaires au laboratoire, les complexes cumulo-ovocytaires (CCO) ont été récupérés.

Pour la FIV classique, 2h après leur recueil, les CCO ont été mis en contact avec les spermatozoïdes mobiles progressifs préparés dans un milieu de culture pour fécondation (ORIGIO Sequential Fert™, VITROLIFE G-IVF™).

Pour l'ICSI, une étape supplémentaire préalable de décoronisation des CCO par hyaluronidase a permis la mise à nue des ovocytes matures en métaphase 2 aptes à être micro-injectés. La micro-injection a ensuite été réalisée en microgouttes grâce à un microscope inversé. Puis les ovocytes micro-injectés ont été replacés dans du milieu global de culture embryonnaire (ORIGIO SAGE-1step™, VITROLIFE G-TL™) et mis à l'étuve pour une culture trigaz à 37°C.

Les taux de fécondation ont été calculés 16h à 18h après l'insémination par l'observation au microscope des zygotes à 2 globules polaires (GP) et 2 pronuclei (PN). Ils ont été calculés selon le nombre de 2PN obtenus à J1 rapporté au nombre d'ovocytes matures en métaphase 2 ponctionnés à J0 pour les tentatives d'ICSI, et selon le nombre de 2PN rapporté au nombre de CCO ponctionnés mis en fécondation pour les tentatives de FIV.

La qualité embryonnaire a été analysée à J2 et J3 par l'évaluation de la cinétique de clivage (<4 blastomères, 4 blastomères ou >4blastomères à J2 et <8 blastomères, 8 blastomères ou >8 blastomères à J3) et du taux de fragmentation (<30% ou \geq 30%). Un embryon de bonne qualité correspondait à un embryon à 4 blastomères avec peu de fragmentation à J2, ou à 8 blastomères avec peu de fragmentation à J3.

Le taux de blastulation a été calculé selon le nombre de blastocystes obtenus à J5 dès le stade B1, selon la classification de Gardner (Annexe 1), rapporté au nombre total d'embryons poussés en culture prolongée.

3.5 Transfert embryonnaire et issue de tentative

Selon les centres, les embryons ont été transférés à J2/J3 ou J5. Un à deux embryons pouvaient être replacés. Lors du transfert, les embryons ont été montés dans un cathéter puis replacés dans l'utérus de la patiente sous écho-guidage. Les embryons surnuméraires de qualité satisfaisante ont été vitrifiés. Le support de la phase lutéale a été réalisé dès le jour de la ponction par la prise de progestérone en ovule ou en injection par voie intramusculaire.

Une grossesse biochimique était attestée par un dosage de bHCG > 100 UI quinze jours après le transfert frais et confirmée par un second dosage montrant une élévation de ces taux 7 jours plus tard.

Une grossesse clinique était confirmée par la présence d'un sac gestationnel avec activité cardiaque à l'échographie de S+7.

Les taux d'implantation ont été calculés en fonction du nombre total d'embryons transférés par tentative rapporté au nombre de sacs gestationnels visualisés à l'échographie précoce de S+7.

3.6 Analyses statistiques

Le test de corrélation de Spearman a été utilisé pour analyser la corrélation entre les différents paramètres spermatiques et le niveau de ROS des échantillons. Les caractéristiques de nos deux groupes ont été comparées en utilisant un test t de Student pour les variables quantitatives et un test du khi-2 de Fisher pour les variables qualitatives. Afin de détecter tout éventuel facteur de confusion concernant les taux de fécondation et la qualité embryonnaire, une régression multivariée a été effectuée prenant en considération l'âge des patientes, le nombre d'ovocytes mis en fécondation, la morphologie et la mobilité du sperme. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide des logiciels GraphPad Prism 6.0 et XLSTAT. Le recueil de nos données a été effectué à l'aide du logiciel Medifirst. Une valeur de $p < 0.05$ était considérée comme statistiquement significative.

4. Résultats

4.1 Caractéristiques des groupes

Parmi nos 197 patients, des potentiels d'oxydo-réduction augmentés ($>1.38\text{mV}/10^6$ sperm/mL) ont été observés chez 82 patients (42%). Aucune différence significative n'a été observée entre nos deux groupes en fonction de l'âge des patients, de leur consommation tabagique, des antécédents de cryptorchidie, de paternité antérieure ou de fausse couche.

Le groupe avec stress oxydant augmenté a montré une augmentation significative de prévalence de varicocèle et de surpoids ($\text{IMC}>25$) dans sa population.

L'âge des conjointes était sensiblement plus élevé dans le groupe avec ORP normal. Aucune différence significative n'a cependant été relevée sur l'estimation de leur réserve ovarienne par dosage de l'AMH (en ng/mL) ni sur le nombre d'ovocytes ponctionnés au cours des tentatives. Les caractéristiques de nos deux groupes sont résumées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques démographiques de nos groupes

Variable	ORP normal	ORP augmenté	p-value
Age homme (années)	36±7	35±6	0.349
Varicocèle (n)	2	8	0.045*
Cryptorchidie (n)	3	9	0.068
IMC	25±4	28±6	<0.001*
Tabac (n)	57	43	0.764
Paternité antérieure (n)	43	34	0.891
Atcd de fausse couche(n)	14	14	0.681
Age femme (années)	35±9	32±5	0.030*
AMH (ng/mL)	3.1±3.8	3.5±3.2	0.426
Nb de CCO ponctionnés	11±6	11±8	0.833

Les résultats sont présentés en moyenne±déviatoin standard

IMC : Indice de Masse Corporelle ; AMH : Hormone Antimüllérienne ; CCO : Complexes Cumulo-Ovocytaires ; * : résultat significatif

4.2 Stress oxydant et paramètres spermatiques

Parmi le groupe avec ORP augmenté, 63 patients (73%) avaient au moins un paramètre spermatique altéré contre 19 (17%) parmi le groupe avec ORP normal ($p<0.05$).

Un potentiel d'oxydo-réduction augmenté était négativement corrélé à la numération, à la concentration, à la mobilité totale et à la mobilité progressive des spermatozoïdes.

Un ORP augmenté était positivement corrélé au niveau de leucospermie de nos échantillons.

Aucune corrélation significative n'a été retrouvée pour la morphologie ($r= -0.131$; $p=0.159$).

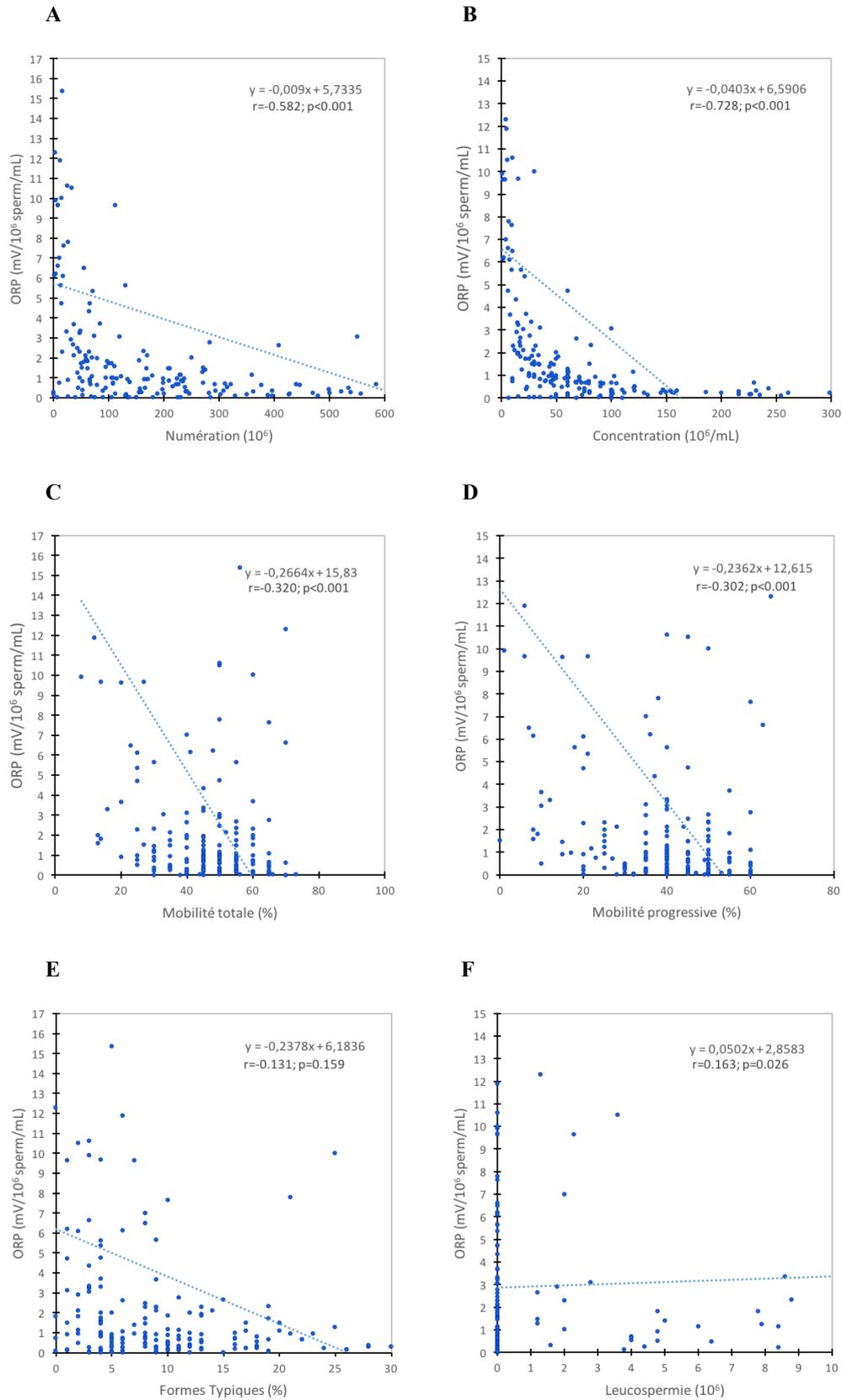


Figure 6 : Corrélation entre le potentiel d'oxydo-réduction spermaticque (ORP) (mV/10⁶ sperm/mL), les paramètres spermaticques et la leucospermie de patients pris en charge en AMP. (A : Numération ; B : Concentration ; C : Mobilité totale ; D : Mobilité progressive ; E : Formes Typiques ; F : Leucospermie).

L'anomalie la plus fréquemment rencontrée en cas de stress oxydant était une oligospermie ($p < 0.05$). C'est également l'anomalie avec la moyenne d'ORP la plus élevée (moyenne d'ORP = $15.63 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/mL}$ vs $8.57 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/mL}$ pour l'asthénospermie et $8.06 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/mL}$ pour la tératospermie, $p < 0.05$).

Tableau 2 : Paramètres spermatiques et moyenne d'ORP chez les patients avec ORP normal et ORP augmenté

Variable	ORP normal	ORP augmenté	p-value
Volume (mL)	3.7±2	3.1±1.7	0.087
Numération ($10^6 \text{ sperm}/\text{éjaculat}$)	309±285	98±165	<0.001*
Concentration (10^6 sperm/mL)	88±63	32±40	<0.001*
Mobilité totale (%)	54±9	36±15	<0.001*
Mobilité progressive (%)	46±8	26±15	<0.001*
Morphologie (% formes typiques)	10±6	6±7	<0.001*
ORP ($\text{mV}/10^6 \text{ sperm/mL}$)	0.74±0.92	7.35±17.23	0.004*

Les résultats sont présentés en moyenne±déviatoin standard

* : résultat significatif

4.3 Stress oxydant et taux de fécondation

Au total, après exclusion des patients pris en charge en IIU, 158 tentatives ont bénéficié d'une ponction en FIV ou en ICSI.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence sur les taux de fécondation en FIV et ICSI entre nos deux groupes ($57 \pm 26\%$ dans le groupe stress oxydant versus $69 \pm 26\%$ dans le groupe avec ORP normal, $p > 0.05$). En prenant exclusivement en compte les tentatives de FIV classique ($n=51$), aucune différence n'a été mise en évidence entre nos deux groupes ($44 \pm 25\%$ pour le groupe stress oxydant versus $49 \pm 25\%$ pour le groupe avec ORP normal, $p > 0.05$). Il en a été de même pour les tentatives d'ICSI ($n=107$) avec un taux de fécondation de $60 \pm 24\%$ pour le groupe stress oxydant versus $68 \pm 23\%$ pour le groupe avec ORP normal ($p > 0.05$). Aucune corrélation négative significative n'a été retrouvée entre les taux de fécondation et le niveau d'ORP ($r = -0.054$; $p > 0.05$).

Après analyse multivariée utilisant l'âge des patientes, le nombre d'ovocytes ponctionnés, la morphologie et la mobilité des spermatozoïdes comme variables, seul le pourcentage de

formes typiques a montré une association négative avec le taux de fécondation ($B=-0.288$; $p<0.05$).

Tableau 3 : Taux de fécondation en fonction de l'ORP et de la technique d'AMP

Variable	ORP normal	ORP augmenté	p-value
Taux de fécondation FIV+ICSI (n=158) (%)	59±26	57±25	0.678
Taux de fécondation en FIV (n=51) (%)	49±25	44±25	0.587
Taux de fécondation en ICSI (n=107) (%)	68±23	60±24	0.096

Les résultats sont présentés en moyenne±déviatoin standard

4.4 Stress oxydant et qualité embryonnaire

Au total, 770 embryons issus de nos tentatives de FIV+ICSI ont été analysés à J2 et 681 embryons analysés à J3. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre nos deux groupes au niveau de la cinétique de clivage ou du taux de fragmentation.

707 embryons ont été poussés en culture prolongée jusqu'à J5. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre nos groupes sur le taux de blastulation.

Tableau 4 : Caractéristiques des embryons à J2 et J3 et taux de blastulation selon l'ORP du sperme inséminé

Variable	ORP normal	ORP augmenté	p-value
J2			
Taux de blastomères =4 (%)	41±31	46±31	0.394
Taux de blastomères >4 (%)	30±32	28±30	0.667
Taux de blastomères <4 (%)	28±29	26±27	0.640
Taux de fragmentation ≥ 30% (%)	24±33	18±26	0.280
J3			
Taux de blastomères =8 (%)	24±28	24±29	0.961
Taux de blastomères >8 (%)	27±34	30±33	0.664
Taux de blastomères <8 (%)	48±37	46±38	0.725
Taux de fragmentation ≥ 30% (%)	28±35	24±29	0.536
Taux de blastulation (%)	49±32	46±37	0.623

Les résultats sont présentés en moyenne±déviatoin standard

4.5 Stress oxydant et issue de tentatives

45 transferts d'embryons frais ont été réalisés pour notre groupe avec ORP normal contre 37 pour notre groupe avec ORP augmenté. Les femmes des couples ayant bénéficié d'un transfert frais étaient significativement plus âgées dans le groupe ORP normal par rapport aux

femmes du groupe ORP augmenté. Aucune différence significative n'a été retrouvée sur le nombre de patients ayant eu des transferts frais ou congelés entre nos deux groupes ni sur les taux d'implantation, de grossesse biochimique et de fausse couche précoce.

Tableau 5 : Issues des tentatives de FIV et d'ICSI selon le niveau d'ORP spermatique

Variable	ORP normal	ORP augmenté	p-value
Nb de patients avec ET	45	37	0.631
Nb d'embryons par TEF	1.4±0.5	1.3±0.5	0.519
Nb de patients avec EC	37	34	0.873
Age homme (années)	37±5	36±5	0.602
Age femme (années)	35±4	33±5	0.022*
Grossesse biochimique n(%)	18(40)	12(32)	0.500
Taux d'implantation (%)	30	22	0.425
Grossesse clinique n(%)	16(36)	10(27)	0.478
Fausse couche précoce n(%)	3(7)	2(5)	NS

Les résultats sont présentés en moyenne±déviati on standard

ET : Embryon Transféré ; TEF : Transfert d'Embryon Frais ; EC : Embryon Congelé ; NS : Non Significatif ; * : résultat significatif

5. Discussion

5.1 Dans la littérature

Le stress oxydant, caractérisé par la présence excessive de ROS dans le sperme ou par un déficit en antioxydants, est un acteur majeur de la pathogenèse de l'infertilité masculine. De nombreuses études ont cherché à évaluer l'état oxydatif de l'environnement spermatique et ont observé des taux élevés de radicaux libres dans le sperme et le liquide séminal des hommes infertiles par rapport à des populations de donneurs ayant déjà procréés [7][16]. Les radicaux libres peuvent attaquer tous les constituants du spermatozoïde : protéines, acides nucléiques, lipides, et sont donc susceptibles d'altérer la plupart des paramètres et des fonctions spermatiques. Le stress oxydant apparaît donc comme un marqueur diagnostique mais aussi pronostic attractif dans le bilan de l'homme infertile.

Historiquement, de nombreux tests ont été mis au point pour déterminer le statut oxydatif d'un milieu [15]. Il en existe deux grandes catégories, les uns permettant une mesure directe du stress oxydant, et les autres une mesure indirecte. Parmi les tests directs, on peut notamment citer le dosage des ROS par chimiluminescence et le test de réduction du cytochrome C. Les tests indirects ciblent des biomarqueurs spécifiques secondaires à l'action des ROS sur l'organisme comme le malondialdéhyde (MDA), produit de la peroxydation lipidique quantifiable par fluorimétrie, ou la recherche de fragmentation de l'ADN par technique TUNEL.

La plupart de ces tests comprennent néanmoins un temps technique non négligeable, sont parfois coûteux, et nécessitent du personnel formé spécifiquement pour le rendu des résultats. Leur utilisation en routine dans un laboratoire de spermologie semble difficile.

Pour notre étude, nous avons choisi d'utiliser le système MyoxSYS et la mesure du potentiel d'oxydo-réduction pour évaluer de manière directe le statut oxydatif de nos échantillons de sperme. La mesure de l'ORP dans le sperme comme marqueur d'infertilité masculine est une donnée récente en biologie de la reproduction [7]. L'ORP, contrairement aux autres méthodes de mesure du stress oxydant, permet l'analyse globale de toutes les espèces oxydantes et anti-oxydantes d'un échantillon biologique. C'est une technique peu coûteuse, ne nécessitant que peu de quantité d'échantillon, et très rapide (<5 minutes d'analyse). D'après une étude d'Agarwal et Bui en 2017 [17], cette méthode semble être reproductible et avoir une faible

variabilité inter-opérateur. Le cut-off que nous avons choisi d'utiliser montrait enfin une sensibilité de 63,3%, une spécificité de 87,8% et une valeur prédictive positive de 97,6% pour la détection des spermatozoïdes anormaux [18].

Dans notre étude, nous avons mesuré l'ORP dans le sperme frais des patients pris en charge en assistance médicale à la procréation. Notre groupe avec ORP augmenté présentait une prévalence de varicocèle plus importante ainsi qu'une tendance au surpoids (IMC>25) par rapport à notre groupe avec ORP normal. Ces deux états ont été décrits comme facteurs entraînant la surproduction de ROS par le spermatozoïde [12]. Nous n'avons cependant pas observé de différence significative dans l'âge et la consommation de tabac de nos patients.

Dans un premier temps, et comme dans de nombreuses publications, nous avons observé une corrélation significative entre un état de stress oxydant et des paramètres spermatiques altérés [7][19][20]. Bien qu'une corrélation négative ait été mise en évidence entre les taux d'ORP et la concentration, la numération et la mobilité totale et progressive des spermatozoïdes de nos hommes infertiles, aucune corrélation n'a été mise en évidence au niveau de la morphologie. Cette absence de relation entre le stress oxydant et les formes atypiques est en contradiction avec plusieurs données de la littérature ainsi que la physiopathologie même de la production des ROS, censés être produits en excès par les spermatozoïdes immatures avec restes cytoplasmiques et anomalies de la pièce intermédiaire [19][20][21]. Ce résultat pourrait être expliqué par la grande variabilité inter-opérateur de l'interprétation du spermocytogramme, notre étude ayant de plus été menée dans deux centres différents.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'impact que pouvait avoir un état de stress oxydant spermatique sur les taux de fécondation en FIV et en ICSI.

Des cibles privilégiées des ROS dans le spermatozoïde sont ses lipides membranaires.

La perte d'intégrité de la membrane plasmique aurait pour conséquence une diminution de la capacité du gamète mâle à fusionner avec son homologue féminin et donc une diminution des taux de fécondation en FIV classique. Une étude de Zorn et al en 2003 [19] a montré des taux de fécondation significativement plus faibles dans une population de patients avec stress oxydant spermatique pris en charge en FIV classique alors qu'aucune différence significative n'a été mise en évidence dans la population prise en charge en ICSI. Leur conclusion étant que l'ICSI permettait d'outrepasser les mécanismes physiologiques rendus défaillants par l'oxydation de la membrane du spermatozoïde et empêchant sa fusion avec la zone pellucide.

Dans notre étude, nous n'avons pas observé de lien significatif entre des taux élevés de stress oxydant et des taux de fécondation diminués que ce soit en FIV, en ICSI, ou sur les deux techniques cumulées et ce malgré avoir pris en compte les autres paramètres pouvant influencer la fécondation comme l'âge maternel, le nombre de cumulus ponctionnés, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes. Dans l'étude de Zorn et al la mesure du stress oxydant avait été effectuée lors du bilan diagnostique des hommes plusieurs mois avant leur tentative, via dosage des ROS par chimiluminescence et sur sperme préparé, contrairement à notre étude où les mesures ont été faites le jour de la tentative, sur sperme frais, et avec mesure de l'ORP. On peut s'interroger sur la fiabilité de cette utilisation rétrospective des taux de ROS, leur production et élimination pouvant être influencées par de nombreux facteurs environnementaux et états pathologiques. Des études complémentaires standardisées utilisant l'ORP comme biomarqueur sont donc nécessaires.

Enfin, nous nous sommes intéressés à l'impact du stress oxydant sur la qualité embryonnaire et les issues de tentatives d'AMP.

L'autre cible privilégiée des ROS est l'ADN spermatique. Les dégâts occasionnés par l'attaque des ROS sur les acides nucléiques peuvent avoir de multiples conséquences : mutations, délétions, cassures simple ou double brin, réarrangements chromosomiques [22]. Des études ont ainsi montré une corrélation entre un état de stress oxydant et un indice de fragmentation élevé de l'ADN spermatique chez des populations d'hommes fertiles et infertiles [23][24]. Des taux élevés de fragmentation de l'ADN sont corrélés à un développement embryonnaire altéré, de faibles taux de blastulation, une moins bonne capacité pour l'embryon à s'implanter, et un risque accru de fausse couche précoce après transfert [23].

Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence de lien entre un état de stress oxydant spermatique et une cinétique de clivage altérée, des taux de fragmentation augmentés ou une moins bonne capacité de développement des embryons au stade blastocyste que ce soit en FIV ou en ICSI. Néanmoins, aucun critère qualitatif n'a été pris en compte sur l'évaluation des blastocystes selon les critères de Gardner (classification A, B ou C du bouton embryonnaire et du trophoblaste), et nous nous sommes contentés de la présence d'un embryon au stade B1 pour juger la qualité embryonnaire à J5.

Aucune différence significative n'a été relevée sur les taux d'implantation, de grossesse biochimique, de grossesse clinique et de fausse couche.

Cependant, aucune étude de la fragmentation de l'ADN n'a été réalisée sur nos échantillons de sperme. Nous n'avons donc pas idée du niveau d'altération de l'ADN spermatique de nos échantillons. Sachant qu'un Indice de Fragmentation (DFI) > 30% est utilisé dans plusieurs travaux comme seuil prédictif d'échec de grossesse évolutive en AMP [12][23], il est possible que le noyau des spermatozoïdes de notre groupe avec ORP augmenté ne soit pas altéré à un niveau aussi avancé.

Un autre facteur ayant pu influencer sur l'absence de significativité de nos issues de tentative est l'âge plus élevé des femmes des couples ayant eu un transfert d'embryon frais dans notre groupe avec ORP normal. Ce paramètre peut en effet avoir eu un impact péjoratif sur les taux d'implantation et de grossesse clinique de notre groupe témoin.

5.2 Limites de l'étude

Notre étude présente plusieurs limites. L'un des biais les plus importants est l'absence de prise en considération des rangs des tentatives de FIV et d'ICSI et des étiologies d'infertilité de nos couples. Bien qu'aucune différence significative n'ait été relevée entre nos groupes sur les taux d'AMH maternel ni sur le nombre de CCO ponctionnés, nous n'avons pas pris en considération d'autres facteurs pouvant influencer les taux de fécondation et la qualité embryonnaire comme les doses cumulées de FSH administrées. L'âge des conjointes était également significativement plus élevé dans le groupe ORP normal.

Nous avons également choisi d'analyser l'ORP uniquement sur sperme frais avant préparation, et aucune mesure des niveaux d'ORP sur culot après préparation ni dans nos milieux de culture n'a été réalisée. Les étapes de préparation avec centrifugation du sperme peuvent entraîner une augmentation de production des ROS [25], il nous a donc semblé plus logique d'utiliser le sperme frais éjaculé pour mieux évaluer le statut basal d'ORP des conjoints. Il aurait été intéressant de comparer les niveaux de stress oxydant retrouvés dans les milieux de fécondation après FIV et ICSI, ainsi que de suivre le niveau d'ORP des milieux de culture embryonnaire pour voir si le stress oxydant spermatique avait un impact sur le futur environnement de l'embryon.

On peut aussi se questionner sur le choix du seuil d'ORP dans notre étude pour différencier nos échantillons normaux et pathologiques. Ce seuil de 1,38 mV/10⁶ sperm/mL possède une très bonne valeur prédictive positive pour la détection de paramètres spermatiques altérés, mais reste peut être trop faible pour prédire l'issue d'une tentative en AMP. Agarwal et Bui

[17] a récemment publié une étude en 2017 comparant plusieurs seuils d'ORP pour la détection plus sensible d'anomalies spermatiques spécifiques. La recherche d'un seuil d'ORP prédictif de faibles taux de fécondation et d'une moindre qualité embryonnaire est donc à envisager.

Cette nécessité de standardisation des matériels et méthodes est renforcée par le fait que le peu d'études ayant jusqu'ici cherché à montrer un lien entre un état de stress oxydant et les issues de tentative d'AMP n'utilisaient pas l'ORP comme test de référence, mais d'autres mesures comme le dosage des ROS ou de certaines enzymes anti-oxydantes. Compte tenu de ces différences, il est difficile de pouvoir comparer les résultats de notre étude avec les articles de la littérature.

Le manque de significativité de notre étude concernant les taux de fécondation et la qualité embryonnaire peut également s'expliquer par son manque de puissance. En effet, même si 197 patients ont été inclus au départ, seuls 51 patients ont été suivis en FIV classique et 107 en ICSI. Nous avons déterminé que 200 patients pris en charge en FIV classique auraient été nécessaires pour montrer une réelle différence sur les taux de fécondation entre notre groupe ORP normal et ORP augmenté. Le nombre de tentatives étudiées pour les taux de blastulation était également limité par le fait que l'ensemble de nos cohortes embryonnaires n'étaient pas systématiquement poussées en culture prolongée jusqu'au stade blastocyste selon les pratiques des centres. Certains transferts frais ou congélations précoces réalisés à J2/J3 ont donc pu biaiser les résultats. En effet, les embryons utilisés, de bonne qualité et potentiellement plus aptes à arriver au stade blastocyste, n'ont pas été inclus dans le calcul final des taux de blastulation. Enfin, et ce en partie dû au grand nombre de tentatives n'ayant pas abouties à un transfert d'embryon frais pour cause d'échec de fécondation, d'échec de culture, de risque d'hyperstimulation ou d'endomètre et de taux de progestérone inadéquats, seules 30 grossesses biochimiques ont été observées. Bien que la tendance des grossesses obtenues et évolutives soit en faveur du groupe avec ORP normal, les effectifs restaient trop faibles pour juger d'une significativité. Le recrutement d'un plus grand nombre de patients semble donc nécessaire.

Notre étude a également été menée dans deux centres différents. La mesure du stress oxydant a été effectuée par le même opérateur dans des conditions identiques de préparation. L'analyse des paramètres spermatiques a été faite selon les recommandations de l'OMS par des techniciens différents, et des biais peuvent avoir été engendrés sur l'interprétation de la

morphologie par la grande variabilité inter et intra-opérateur du spermocytogramme. Les milieux de préparation du sperme, de fécondation et de culture étaient également différents selon les centres et ont pu influencer les résultats. Nous n'avons néanmoins pas observé de différence dans nos résultats que ce soit sur les corrélations du niveau d'ORP avec les paramètres spermatiques ou sur l'impact de l'ORP sur les taux de fécondation et les issues de tentative en prenant séparément en compte les échantillons d'Amiens et de Nantes.

5.3 Perspectives

Plusieurs alternatives thérapeutiques existent afin de contrôler le niveau de stress oxydant. L'impact d'un traitement oral sur l'amélioration de la qualité du sperme reste très débattu. Idéalement, la prise de ce type de traitement devrait ramener les niveaux d'antioxydants séminaux à des taux suffisants pour éliminer les ROS accumulés, et ainsi freiner ou stopper les dégâts engendrés par leur présence sur la spermatogénèse. Des résultats variables sont néanmoins observés dans la littérature et aucun consensus avec molécules, doses et durée standardisées n'existe, rendant difficile la comparaison des études entre elles. Plusieurs molécules sont utilisées, seules ou en association, notamment des complexes vitaminiques A, B, C, E, la coenzyme Q10, la L-Carnitine ou encore des associations d'oligoéléments.

Les résultats de ce type de traitement sur l'amélioration de la capacité antioxydante du liquide séminal et la diminution des taux de ROS semblent favorables à leur utilisation.

De nombreux protocoles testés ont montré une amélioration des paramètres spermatiques après traitement, notamment au niveau de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes [26][27] ainsi qu'une franche diminution du taux de fragmentation de l'ADN [12]. D'autres protocoles, bien qu'améliorant les niveaux d'antioxydants et de stress oxydatif du sperme, n'ont eu aucune influence sur les paramètres spermatiques [28].

Les mêmes résultats existent concernant l'amélioration des taux de fécondation et de naissance vivante. Globalement, l'utilisation des antioxydants semble bénéfique et quelques méta-analyses ont montré une amélioration des taux de grossesse, spontanée ou après AMP, suite à la prise d'antioxydants. Les études comparées sont néanmoins très hétérogènes, ciblant des populations différentes et utilisant des méthodologies différentes [29].

A noter que bien que la prescription de ce type de traitement semble sans danger, la supplémentation doit se faire avec prudence pour éviter tout état de stress réducteur, aussi délétère pour l'organisme que le stress oxydant.

Les traitements ciblant l'origine de la surproduction des ROS comme la microchirurgie en cas de varicocèle ou une antibiothérapie en cas d'infection semblent eux avoir fait leurs preuves [17]. Une correction des habitudes de vie avec un arrêt du tabac et une perte de poids est également recommandée.

Enfin, certaines études proposent de limiter les effets d'un éventuel stress oxydant spermatique sur les tentatives d'AMP en diminuant la fréquence et la durée des centrifugations lors de la préparation du sperme et en utilisant des milieux supplémentés en antioxydants [25].

Aucun traitement spécifique de l'infertilité induite par le stress oxydant n'est donc à ce jour établi, néanmoins, l'identification précoce de cet état délétère pour le spermatozoïde permettrait d'agir sur certains facteurs modifiables entraînant la surproduction de ROS et ainsi prévenir les dégâts occasionnés par leur présence sur la membrane et l'ADN spermatique.

6. Conclusion

Notre étude a montré un lien significatif entre un état de stress oxydant et des paramètres spermatiques altérés avec une forte corrélation négative entre un ORP augmenté et la numération totale, la concentration et la mobilité progressive des spermatozoïdes. Aucune corrélation significative n'a été observée pour la morphologie. Aucun impact de cet état de stress n'a néanmoins été mis en évidence en FIV et en ICSI sur la qualité embryonnaire et les issues de tentative.

L'intégration de la mesure du potentiel d'oxydo-réduction dans le bilan spermatique de première intention permettrait de cibler, traiter, et suivre une population d'hommes dont l'infertilité est induite par un état de stress oxydant afin d'améliorer leurs paramètres et fonctions spermatiques et donc leur prise en charge en AMP. Lorsque l'origine de la surproduction des ROS peut être identifiée, l'arrêt du tabac, une perte de poids et un traitement antibiotique ou une microchirurgie en cas de varicocèle sont recommandés. Des études complémentaires standardisées sont néanmoins nécessaires pour évaluer l'impact d'un traitement antioxydant oral dans cette population sur les issues de tentative en AMP.

BIBLIOGRAPHIE

1. Rolland M, Le Moal J, Wagner V, Royère D, De Mouzon J. Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26 609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Hum Reprod* 2013;**28**:462–470.
2. Nazni P. Association of western diet & lifestyle with decreased fertility. *Indian J Med Res* 2014;**140**:S78–S81.
3. Rivera-Montes AM, Rivera-Gallegos A, Rodríguez-Villasana E, Juárez-Bengoa A, Díaz-Pérez M de los A, Hernández-Valencia M. [Estimate of the variability in the evaluation of semen analysis]. *Ginecol Obstet Mex* 2013;**81**:639–644.
4. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Human Reproduction Update* 2008;**14**:243–258.
5. Walczak–Jedrzejowska R, Wolski JK, Slowikowska–Hilczer J. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol* 2013;**66**:60–67.
6. Agarwal A, Makker K, Sharma R. REVIEW ARTICLE: Clinical Relevance of Oxidative Stress in Male Factor Infertility: An Update. *American Journal of Reproductive Immunology* 2008;**59**:211.
7. Agarwal A, Sharma R, Roychoudhury S, Du Plessis S, Sabanegh E. MiOXSYS: a novel method of measuring oxidation reduction potential in semen and seminal plasma. *Fertility and Sterility* 2016;**106**:566-573.e10.
8. Tomar, G., Joshi, T., Varghes, A., Sasidharan, S., and Kural, M.R. (2017a). Relationship of antioxidant system and reactive oxygen species with clinical semen parameters in infertile men. *J Family Med Prim Care* 6, 574–577.
9. Doshi, S.B., Sharma, R.K., and Agarwal, A. (2015). Oxidative Stress in Unexplained Male Infertility. In *Unexplained Infertility*, (Springer, New York, NY), pp. 81–89.

10. Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences* 2011;**27**:405–412.
11. Li X, Fang P, Mai J, Choi ET, Wang H, Yang X. Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers. *J Hematol Oncol* 2013;**6**:19.
12. Wright C, Milne S, Leeson H. Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility. *Reproductive BioMedicine Online* 2014;**28**:684–703.
13. O'Flaherty C. The Enzymatic Antioxidant System of Human Spermatozoa. *Advances in Andrology* [Internet] 2014;Available from: <https://www.hindawi.com/journals/aandrol/2014/626374/>.
14. Sikka SC. Andrology Lab Corner*: Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Andrology and Assisted Reproductive Technology. *Journal of Andrology* 2004;**25**:5–18.
15. Agarwal A, Majzoub A. Laboratory tests for oxidative stress. *Indian J Urol* 2017;**33**:199–206.
16. Desai N, Sharma R, Makker K, Sabanegh E, Agarwal A. Physiologic and pathologic levels of reactive oxygen species in neat semen of infertile men. *Fertility and Sterility* 2009;**92**:1626–1631.
17. Agarwal A, Bui AD. Oxidation-reduction potential as a new marker for oxidative stress: Correlation to male infertility. *Investigative and Clinical Urology* 2017;**58**:385.
18. Arafa M, Agarwal A, Said SA, Majzoub A, Sharma R, Bjugstad KB, AlRumaihi K, Elbardisi H. Semen quality and infertility status can be identified through measures of oxidation–reduction potential. *Andrologia* 2018;**50**:e12881.
19. Zorn B, Vidmar G, Meden-Vrtovec H. Seminal reactive oxygen species as predictors of fertilization, embryo quality and pregnancy rates after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *International Journal of Andrology* 2003;**26**:279–285.

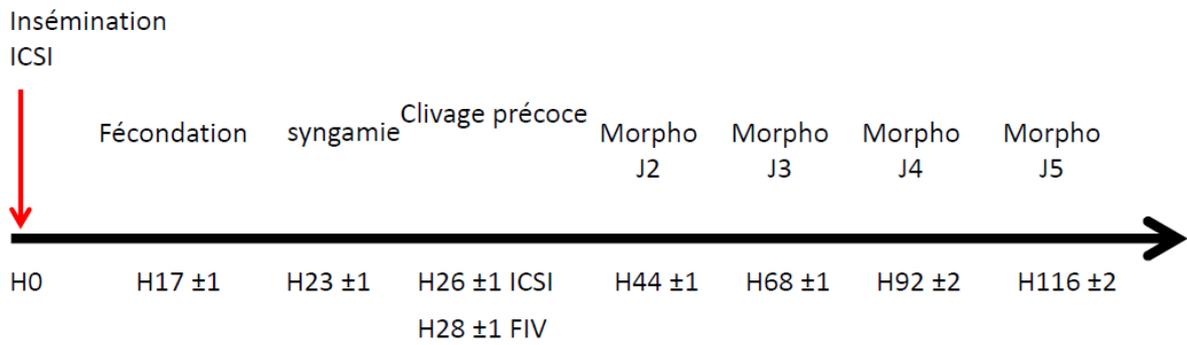
20. Ben Ali H, Atig F, Mehri S, Saad A, Ajina M. Analyse du statut oxydatif spermatique chez des patients infertiles. *Basic Clin Androl* 2012;**22**:233–240.
21. Agarwal A, Roychoudhury S, Sharma R, Gupta S, Majzoub A, Sabanegh E. Diagnostic application of oxidation-reduction potential assay for measurement of oxidative stress: clinical utility in male factor infertility. *Reproductive BioMedicine Online* 2017;**34**:48–57.
22. Aitken RJ, Baker MA, Sawyer D. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease. *Reproductive BioMedicine Online* 2003;**7**:65–70.
23. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, Nelson DR, Thomas AJ. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertility and Sterility* 2003;**79**:1597–1605.
24. M Arafa, H Elbardisi, A Majzoub, S Alsaid, H Alnawasra, K Khalafalla, K Alrumaihi, A Agarwal. Correlation of Sperm DNA fragmentation and Seminal oxidation reduction potential in infertile men. 2017
25. Agarwal A, Said TM, Bedaiwy MA, Banerjee J, Alvarez JG. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertility and Sterility* 2006;**86**:503–512.
26. Haghghian HK, Haidari F, Mohammadi-asl J, Dadfar M. Randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial examining the effects of alpha-lipoic acid supplement on the spermatogram and seminal oxidative stress in infertile men. *Fertility and Sterility* 2015;**104**:318–324.
27. Gvozdjaková A, Kucharská J, Dubravicky J, Mojto V, Singh RB. Coenzyme Q10, α -Tocopherol, and Oxidative Stress Could Be Important Metabolic Biomarkers of Male Infertility. *Dis Markers* [Internet] 2015;**2015**..
28. Nadjarzadeh A, Sadeghi MR, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, Akhondi MA, Yavari P, Shidfar F. Coenzyme Q10 improves seminal oxidative defense but does not affect on semen parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: A randomized double-blind, placebo controlled trial. *J Endocrinol Invest* 2011;**34**:e224–e228.

29. Majzoub A, Agarwal A. Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility: Benefits on semen parameters, advanced sperm function, assisted reproduction and live-birth rate. *Arab Journal of Urology* 2018;**16**:113–124.

ANNEXES

<u>Annexe 1</u> : Evaluation morphologique des embryons selon le Consensus d'Istanbul	44
<u>Annexe 2</u> : Classification de Gardner	45

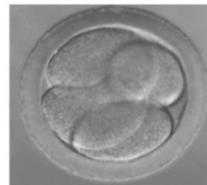
ANNEXE 1



J1 : 16-18h
2PN : zygote



J1 : 25-27h
1^{er} clivage
2 cellules ou blastomères



J2
4 cellules



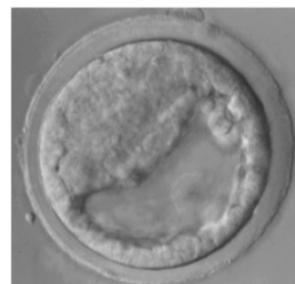
J3
8 cellules



16 cellules
Morula



COMPACTION
Morula compacte



CAVITATION
Morula cavitée

ANNEXE 2

B1 : Blastocyste précoce (blastocèle < 50% du volume)

B2 : Blastocyste (blastocèle > ou = 50% du volume)

B3 : Blastocyste complet (le blastocèle occupe toute la surface du volume)

B4 : Blastocyste expansé (augmentation de la surface du blastocèle et amincissement de la zone pellucide)

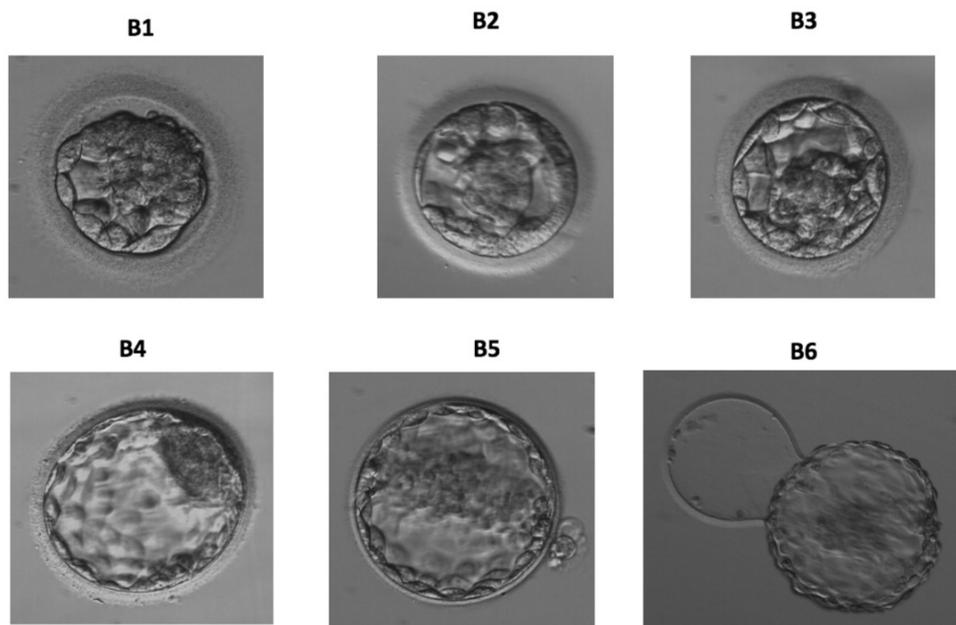
B5 : Blastocyste en éclosion (hernie du trophoctoderme à travers la zone pellucide)

B6 : Blastocyste éclos

Pour les grades B3 à B6, appréciation de la masse cellulaire interne (bouton embryonnaire) et du trophoctoderme :

Grade	MCI	Trophoctoderme
A	Nombreuses cellules compactes	Epithelium structuré, festonné, nombreuses cellules
B	Cellules lâches	Epithelium intermédiaire
C	Peu de cellules	Epithelium lâche ou lisse, peu de cellules

Expansion du blastocyste puis Eclosion (sortie de la ZP)



IMPACT OF OXIDATIVE STRESS ON SPERM PARAMETERS, FERTILIZATION RATES AND EMBRYO QUALITY IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES PROCEDURES

Key-Words: oxidative stress, oxidation-reduction potential, semen, assisted reproductive techniques, male infertility

ABSTRACT

Oxidative stress is a major factor of male infertility. Its assessment using oxidation-reduction potential (ORP) could become a new valuable diagnostic and prognostic tool in sperm quality evaluation of infertile men. In this study, we aimed to investigate the influence of high semen ORP levels on sperm parameters, fertilization rates and embryo quality following ART procedures. 197 infertile men undergoing an IUI, IVF or ICSI treatment procedure were included. 2 groups were formed regarding their semen ORP level : normal or high. Sperm parameters, fertilization rates and embryo quality were assessed during ART procedures. ORP was negatively correlated with total sperm count, concentration, total and progressive motility. No correlation was found regarding morphology. No significant impact of high ORP was found regarding fertilization rates and embryo quality. No statistical difference was described on clinical pregnancy and miscarriage rates. Assessment of ORP in routine male evaluation could help in the detection, treatment, and follow up of men with oxidative stress induced infertility. More studies using ORP as an oxidative stress marker are needed to investigate the impact of antioxidant therapy on ART outcomes.

IMPACT DU STRESS OXYDANT SUR LES PARAMETRES DU SPERME, LES TAUX DE FECONDATION ET LA QUALITE EMBRYONNAIRE EN ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION

Mots-Clés : stress oxydant, potentiel d'oxydo-réduction, sperme, assistance médicale à la procréation, infertilité masculine

RESUME

Le stress oxydant est un facteur étiologique majeur de l'infertilité masculine. Son évaluation via la mesure du potentiel d'oxydo-réduction (ORP) constituerait un nouvel outil diagnostique et pronostique pour l'évaluation de la qualité du sperme des hommes infertiles. Notre étude avait pour but d'évaluer l'impact d'un ORP augmenté sur les paramètres spermatiques, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire en AMP. 197 hommes infertiles pris en charge en IIU, FIV ou ICSI ont été inclus. 2 groupes ont été constitués en fonction du niveau d'ORP mesuré dans leur sperme : normal ou augmenté. Les paramètres spermatiques, les taux de fécondation et la qualité embryonnaire ont été évalués durant les tentatives. L'ORP était négativement corrélé à la numération, à la concentration, à la mobilité totale et à la mobilité progressive des spermatozoïdes. Aucune corrélation n'a été retrouvée pour la morphologie. Aucun impact significatif de l'ORP n'a été mis en évidence sur les taux de fécondation et la qualité embryonnaire. Aucune différence significative n'a été observée dans les taux de grossesse et de fausse couche. L'intégration de la mesure de l'ORP dans le bilan spermatique de première intention permettrait de cibler, traiter, et suivre une population d'hommes dont l'infertilité est induite par un état de stress oxydant afin d'améliorer leurs paramètres et leur prise en charge en AMP. Des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer l'impact d'un traitement antioxydant sur les issues de tentatives d'AMP.

