

2020-2021

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en D.E.S DE BIOLOGIE MEDICALE.

L'ETUDE METABOLOMIQUE DU SPERME ET INFERTILITE MASCULINE

UNE REVUE DE LA LITTERATURE

SERRI Orianne

Né le 22/10/1990 à Reims (51)

Sous la direction de Mme le Professeur des Universités et Praticien
Hospitalier Pascale MAY-PANLOUP

Membres du jury

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Monsieur le Professeur des Universités et Praticien Hospitalier Reynier Pascal | Président |
| Madame le Professeur des Universités et Praticien Hospitalier May-Panloup Pascale | Directeur |
| Madame le Docteur Carrouget Julie | Membre |
| Madame le Docteur et Ingénieur de recherche Bocca Cinzia | Membre |

Soutenue publiquement le :
29 Avril 2021

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée Mme SERRI Orianne
déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **25/03/2021**

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr
Frédéric Lagarce

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

| | | |
|-----------------------------|---------------------------------------------------|-----------|
| ABRAHAM Pierre | Physiologie | Médecine |
| ANNWEILER Cédric | Gériatrie et biologie du vieillessement | Médecine |
| ASFAR Pierre | Réanimation | Médecine |
| AUBE Christophe | Radiologie et imagerie médicale | Médecine |
| AUGUSTO Jean-François | Néphrologie | Médecine |
| AZZOUZI Abdel Rahmène | Urologie | Médecine |
| BAUFRETON Christophe | Chirurgie thoracique et cardiovasculaire | Médecine |
| BENOIT Jean-Pierre | Pharmacotechnie | Pharmacie |
| BEYDON Laurent | Anesthésiologie-réanimation | Médecine |
| BIGOT Pierre | Urologie | Médecine |
| BONNEAU Dominique | Génétique | Médecine |
| BOUCHARA Jean-Philippe | Parasitologie et mycologie | Médecine |
| BOUVARD Béatrice | Rhumatologie | Médecine |
| BOURSIER Jérôme | Gastroentérologie ; hépatologie | Médecine |
| BRIET Marie | Pharmacologie | Médecine |
| CAILLIEZ Eric | Médecine générale | Médecine |
| CALES Paul | Gastroentérologie ; hépatologie | Médecine |
| CAMPONE Mario | Cancérologie ; radiothérapie | Médecine |
| CAROLI-BOSC François-xavier | Gastroentérologie ; hépatologie | Médecine |
| CHAPPARD Daniel | Cytologie, embryologie et cytogénétique | Médecine |
| CONNAN Laurent | Médecine générale | Médecine |
| COUTANT Régis | Pédiatrie | Médecine |
| CUSTAUD Marc-Antoine | Physiologie | Médecine |
| DE CASABIANCA Catherine | Médecine Générale | Médecine |
| DESCAMPS Philippe | Gynécologie-obstétrique | Médecine |
| D'ESCATHA Alexis | Médecine et santé au Travail | Médecine |
| DINOMAS Mickaël | Médecine physique et de réadaptation | Médecine |
| DIQUET Bertrand | Pharmacologie | Médecine |
| DUBEE Vincent | Maladies Infectieuses et Tropicales | Médecine |
| DUCANCELLE Alexandra | Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière | Médecine |
| DUVAL Olivier | Chimie thérapeutique | Pharmacie |

| | | |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------|
| DUVERGER Philippe | Pédopsychiatrie | Médecine |
| EVEILLARD Mathieu | Bactériologie-virologie | Pharmacie |
| FAURE Sébastien | Pharmacologie physiologie | Pharmacie |
| FOURNIER Henri-Dominique | Anatomie | Médecine |
| FURBER Alain | Cardiologie | Médecine |
| GAGNADOUX Frédéric | Pneumologie | Médecine |
| GARNIER François | Médecine générale | Médecine |
| GASCOIN Géraldine | Pédiatrie | Médecine |
| GOHIER Bénédicte | Psychiatrie d'adultes | Médecine |
| GUARDIOLA Philippe | Hématologie ; transfusion | Médecine |
| GUILET David | Chimie analytique | Pharmacie |
| HAMY Antoine | Chirurgie générale | Médecine |
| HENNI Samir | Chirurgie Vasculaire, médecine vasculaire | Médecine |
| HUNAUT-BERGER Mathilde | Hématologie ; transfusion | Médecine |
| IFRAH Norbert | Hématologie ; transfusion | Médecine |
| JEANNIN Pascale | Immunologie | Médecine |
| KEMPF Marie | Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière | Médecine |
| LACCOURREYE Laurent | Oto-rhino-laryngologie | Médecine |
| LAGARCE Frédéric | Biopharmacie | Pharmacie |
| LARCHER Gérald | Biochimie et biologie moléculaires | Pharmacie |
| LASOCKI Sigismond | Anesthésiologie-réanimation | Médecine |
| LEGENDRE Guillaume | Gynécologie-obstétrique | Médecine |
| LEGRAND Erick | Rhumatologie | Médecine |
| LERMITE Emilie | Chirurgie générale | Médecine |
| LEROLLE Nicolas | Médecine Intensive-Réanimation | Médecine |
| LUNEL-FABIANI Françoise | Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière | Médecine |
| MARCHAIS Véronique | Bactériologie-virologie | Pharmacie |
| MARTIN Ludovic | Dermato-vénéréologie | Médecine |
| MAY-PANLOUP Pascale | Biologie et médecine du développement et De la reproduction | Médecine |
| MENEI Philippe | Neurochirurgie | Médecine |
| MERCAT Alain | Réanimation | Médecine |
| MERCIER Philippe | Anatomie | Médecine |
| PAPON Nicolas | Parasitologie et mycologie médicale | Pharmacie |
| PASSIRANI Catherine | Chimie générale | Pharmacie |
| PELLIER Isabelle | Pédiatrie | Médecine |
| PETIT Audrey | Médecine et Santé au Travail | Médecine |
| PICQUET Jean | Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire | Médecine |
| PODEVIN Guillaume | Chirurgie infantile | Médecine |

| | | |
|------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------|
| PROCACCIO Vincent | Génétique | Médecine |
| PRUNIER Delphine | Biochimie et Biologie Moléculaire | Médecine |
| PRUNIER Fabrice | Cardiologie | Médecine |
| REYNIER Pascal | Biochimie et biologie moléculaire | Médecine |
| RICHARD Isabelle | Médecine physique et de réadaptation | Médecine |
| RICHOMME Pascal | Pharmacognosie | Pharmacie |
| RODIEN Patrice | Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques | Médecine |
| ROQUELAURE Yves | Médecine et santé au travail | Médecine |
| ROUGE-MAILLART Clotilde | Médecine légale et droit de la santé | Médecine |
| ROUSSEAU Audrey | Anatomie et cytologie pathologiques | Médecine |
| ROUSSEAU Pascal | Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique | Médecine |
| ROUSSELET Marie-Christine | Anatomie et cytologie pathologiques | Médecine |
| ROY Pierre-Marie | Thérapeutique | Médecine |
| SAULNIER Patrick | Biophysique et biostatistique | Pharmacie |
| SERAPHIN Denis | Chimie organique | Pharmacie |
| TRZEPIZUR Wojciech | Pneumologie | Médecine |
| UGO Valérie | Hématologie ; transfusion | Médecine |
| URBAN Thierry | Pneumologie | Médecine |
| VAN BOGAERT Patrick | Pédiatrie | Médecine |
| VENIER-JULIENNE Marie-Claire | Pharmacotechnie | Pharmacie |
| VERNY Christophe | Neurologie | Médecine |
| WILLOTEAUX Serge | Radiologie et imagerie médicale | Médecine |

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

| | | |
|--------------------|-------------------------------|-----------|
| ANGOULVANT Cécile | Médecine Générale | Médecine |
| BAGLIN Isabelle | Chimie thérapeutique | Pharmacie |
| BASTIAT Guillaume | Biophysique et biostatistique | Pharmacie |
| BEAUVILLAIN Céline | Immunologie | Médecine |
| BELIZNA Cristina | Médecine interne | Médecine |
| BELLANGER William | Médecine générale | Médecine |
| BELONCLE François | Réanimation | Médecine |
| BENOIT Jacqueline | Pharmacologie | Pharmacie |
| BIERE Loïc | Cardiologie | Médecine |
| BLANCHET Odile | Hématologie ; transfusion | Médecine |
| BOISARD Séverine | Chimie analytique | Pharmacie |
| CAPITAIN Olivier | Cancérologie ; radiothérapie | Médecine |
| CASSEREAU Julien | Neurologie | Médecine |

| | | |
|----------------------------|-------------------------------------------|-----------|
| CHAO DE LA BARCA | Juan-Manuel | Médecine |
| CHEVALIER Sylvie | Biologie cellulaire | Médecine |
| CLERE Nicolas | Pharmacologie / physiologie | Pharmacie |
| COLIN Estelle | Génétique | Médecine |
| DERBRE Séverine | Pharmacognosie | Pharmacie |
| DESHAYES Caroline | Bactériologie virologie | Pharmacie |
| FERRE Marc | Biologie moléculaire | Médecine |
| FORTRAT Jacques-Olivier | Physiologie | Médecine |
| HAMEL Jean-François | Biostatistiques, informatique médicale | Médicale |
| HELESBEUX Jean-Jacques | Chimie organique | Pharmacie |
| HINDRE François | Biophysique | Médecine |
| KHIATI Salim | Biochimie et biologie moléculaire | Médecine |
| JOUSSET-THULLIER Nathalie | Médecine légale et droit de la santé | Médecine |
| JUDALET-ILLAND Ghislaine | Médecine Générale | Médecine |
| KUN-DARBOIS Daniel | Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie | Médecine |
| LACOEUILLE Franck | Biophysique et médecine nucléaire | Médecine |
| LEBDAI Souhil | Urologie | Médecine |
| LANDREAU Anne | Botanique/ Mycologie | Pharmacie |
| LEBDAI Souhil | Urologie | Médecine |
| LEGEAY Samuel | Pharmacocinétique | Pharmacie |
| LE RAY-RICHOMME Anne-Marie | Pharmacognosie | Pharmacie |
| LEPELTIER Elise | Chimie générale | Pharmacie |
| LETOURNEL Franck | Biologie cellulaire | Médecine |
| LIBOUBAN Hélène | Histologie | Médecine |
| LUQUE PAZ Damien | Hématologie; Transfusion | Médecine |
| MABILLEAU Guillaume | Histologie, embryologie et cytogénétique | Médecine |
| MALLET Sabine | Chimie Analytique | Pharmacie |
| MAROT Agnès | Parasitologie et mycologie médicale | Pharmacie |
| MESLIER Nicole | Physiologie | Médecine |
| MOUILLIE Jean-Marc | Philosophie | Médecine |
| NAIL BILLAUD Sandrine | Immunologie | Pharmacie |
| PAILHORIES Hélène | Bactériologie-virologie | Médecine |
| PAPON Xavier | Anatomie | Médecine |
| PASCO-PAPON Anne | Radiologie et imagerie médicale | Médecine |
| PECH Brigitte | Pharmacotechnie | Pharmacie |
| PENCHAUD Anne-Laurence | Sociologie | Médecine |
| PIHET Marc | Parasitologie et mycologie | Médecine |
| PY Thibaut | Médecine Générale | Médecine |
| RAMOND-ROQUIN Aline | Médecine Générale | Médecine |
| RINEAU Emmanuel | Anesthésiologie réanimation | Médecine |
| RIOU Jérémie | Biostatistiques | Pharmacie |
| ROGER Emilie | Pharmacotechnie | Pharmacie |
| SAVARY Camille | Pharmacologie-Toxicologie | Pharmacie |

| | | |
|--------------------------------|--------------------------------------------------|-----------|
| SCHMITT Françoise | Chirurgie infantile | Médecine |
| SCHINKOWITZ Andréas | Pharmacognosie | Pharmacie |
| SPIESSER-ROBELET Laurence | Pharmacie Clinique et Education Thérapeutique | Pharmacie |
| TANGUY-SCHMIDT Aline | Hématologie ; transfusion | Médecine |
| TESSIER-CAZENEUVE Christine | Médecine Générale | Médecine |
| VENARA Aurélien | Chirurgie générale | Médecine |
| VIAULT Guillaume | Chimie organique | Pharmacie |

PROFESSEURS EMERITES

| | | |
|---------------------|-------------------------------------|----------|
| Philippe MERCIER | Neurochirurgie | Médecine |
| Dominique CHABASSE | Parasitologie et Médecine Tropicale | Médecine |
| Jean-François SUBRA | Néphrologie | Médecine |

AUTRES ENSEIGNANTS

| | | |
|-----------------------|------------------|-----------|
| AUTRET Erwan | Anglais | Médecine |
| BARBEROUSSE Michel | Informatique | Médecine |
| BRUNOIS-DEBU Isabelle | Anglais | Pharmacie |
| CHIKH Yamina | Économie-Gestion | Médecine |
| FISBACH Martine | Anglais | Médecine |
| O'SULLIVAN Kayleigh | Anglais | Médecine |

Mise à jour au 09/12/2019

A mon jury de thèse,

A monsieur le professeur Pascal Reynier

Professeur des universités et praticien hospitalier, Laboratoire de biochimie, CHU d'Angers.

Merci de me faire l'honneur d'accepter de présider ce jury et de juger ce travail.
Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A madame le professeur Pascale May Panloup

Professeur des universités et praticien hospitalier, laboratoire de biologie de la reproduction, CHU d'Angers.

Je tiens tout d'abord à vous témoigner toute ma reconnaissance pour votre disponibilité et pour tout le temps que vous avez passé sur ce travail et ses nombreuses corrections. Je vous remercie également de m'avoir accueillie dans votre laboratoire, pour votre patience et votre grande implication dans notre formation.
Soyez assurée de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A madame le docteur Julie Carrouget

Praticien attaché, service d'urologie, CHU d'Angers.

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci pour ta gentillesse et ta disponibilité.
Sois assurée de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A madame le docteur Bocca Cinzia

Ingénieur de Recherche, PhD, laboratoire Mitovasc Angers.

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger ce travail.
Je vous témoigne mon profond respect et ma reconnaissance.

REMERCIEMENTS

Au service de PMA d'Angers

A Lisa, merci pour ta grande gentillesse, pour t'être toujours rendue disponible pour répondre à mes questions ainsi que pour tes conseils précieux et avisés.

A Véronique, merci pour tout le temps que tu as consacré à ma formation. Ce fut un plaisir d'apprendre à tes côtés durant ces semestres.

A notre super équipe de techniciennes/technicien, **Stéphanie, Damien, Myriam, Erika et Cynthia**.

Merci pour votre accueil dans le service et pour votre implication dans ma formation. Merci pour votre gentillesse, votre bienveillance et votre bonne humeur. C'est promis je n'oublierai plus ma pause déjeuner, cela dit j'espère qu'ils ne feront pas trop de croque-monsieur à Cholet...

A nos secrétaires **Marie, Valérie** (et aussi **Marie-Odile**) qui sont sans nul doute les meilleures que l'on puisse trouver.

Merci à l'équipe des gynécologues **Pierre-Emmanuel, Cécile, Pauline** ainsi qu'aux internes **Sarah et Kevin**.

Au service de PMA de Nantes

Merci à toute l'équipe pour l'accueil que vous m'avez fait dans votre service, pour le temps que vous avez consacré à ma formation ce fut un grand plaisir et un semestre très enrichissant.

A ma famille et mes amis

A mon papa, tu as toujours su au long de ces années m'écouter, me guider et me motiver. Merci d'avoir toujours été là dans les bons et les mauvais moments, d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir soutenue dans mes choix. C'est aussi grâce à toi que j'en suis là aujourd'hui.

A ma maman, merci pour avoir toujours été à nos côtés, pour l'amour que tu nous as donné, pour tous les voyages que tu nous as fait faire et qui nous ont permis de grandir, de nous construire et de trouver notre place dans la vie.

A mes grands-parents, vous êtes sûrement le couple le plus solide que je connaisse et les fondations de notre famille. Je vous suis infiniment reconnaissante pour votre gentillesse et votre dévouement tout au long de ces années. Merci à toi grand-père pour ces longues heures passées à m'attendre dans le froid pendant que je montais à cheval. Je vois ce que ça fait maintenant ☺

A mes frères, **Adrien** et **Thibault**, vous avez été les meilleurs compagnons de bêtises tout au long de notre enfance. Adrien je repense à toutes nos soirées de révisions/disney durant nos études et Thibault tu es le meilleur tonton saucisson que les enfants pouvaient espérer. Que nos moments partagés aient été bons ou moins bons, vous avez toujours été là. Merci à vous deux. Adrien j'ai hâte de voir tes remerciements pour moi maintenant ;).

A **Marco**, voilà bientôt 13 ans que tu es à mes côtés, même si toutes ces années n'ont pas toujours été faciles je n'aurai pu imaginer quelqu'un de mieux pour partager ma vie. Tu as toujours su me remonter le moral dans les moments difficiles, m'accompagner et me soutenir malgré mes sautes d'humeurs et mon sale caractère. Merci pour ton amour, pour tes blagues (pourries) qui me font toujours rire, pour les 3 enfants merveilleux que nous avons, pour tous les moments que nous avons partagés et ceux qui restent à venir.

A **Lucie**, **Théodore** et **Hugo**, mes trois petits anges qui éclairez mon quotidien par votre sourire et vos bêtises, ma vie ne serait pas la même sans vous.

REMERCIEMENTS

A **Tonton Alain, Tonton Bruno**, et mes cousins / cousines (**Caroline, Sébastien, Virgile, Emilie, David**) et leurs petites familles.

Sans oublier **Tata Sylvie** et **Tata Claude**.

A **Lucas** et **Romane**, nous avons parcouru un sacré bout de chemin depuis vos 4 ans. Je ne peux que vous féliciter pour les jeunes gens merveilleux que vous êtes devenus.

A **Nana** et **Domi**, Merci de m'avoir accueilli si gentiment dans votre famille, et pour votre soutien toutes ces années. Dommage qu'on ne puisse pas se voir plus souvent !

A **Emilie**, mon amie de toujours, de nombreuses années ont passées depuis notre rencontre à l'internat, je me revoie encore perchée sur ce tabouret ...

Merci d'avoir toujours été à mes côtés tout au long de ces années, pour tous les bons moments passés à la ferme et toutes nos soirées.

Ainsi qu'à mon filleul Arthur qui devient un magnifique petit garçon et à ses deux frères Jules et Ulysse qui ne sont pas mal non plus ☺. J'ai hâte de vous revoir !

A **Thomas, Anne** et **Anne-Cécile**, pour le merveilleux semestre de bacterio-viro que nous avons passé ensemble. Thomas je me souviens de toutes les soirées passées à trier nos nombreux tubes de sérologies et à se battre avec le DS2. Anne merci de nous avoir éclairée de ton humour et Anne Cécile je crois que ça n'aurait pas été pareil sans tes pâtés de soja et ta couronne... Ce semestre restera sûrement l'un des meilleurs.

A **Chloé** et **Martin**, mes deux supers co-internes de Nantes, avec qui j'ai passé de formidables moments et qui m'ont permis d'oublier toutes ces longues heures passées dans le train.

A **Léa**, ma co-interne de PMA, avec qui tout au long de ces semestres ce fut toujours un plaisir de travailler... et de discuter.

A tous mes autres **co-internes de biologie**.

Liste des abréviations

| | |
|--------|--------------------------------------------------------|
| OBSEFF | Observatoire Epidémiologique de la Fertilité en France |
| AFU | Association Française d'Urologie |
| CFTR | Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé |
| OAT | OligoAsthénoTératospermie |
| AMP | Aide médicalisée à la Procréation |
| TMS | Test de Migration-Survie |
| ZP | Zone Pellucide |
| PM | Poids Moléculaire |
| Da | Dalton |
| MS | Spectrométrie de masse |
| API | Ionisation à pression atmosphérique |
| ESI | Electron Spray Ionisation |
| TOF | Time Of Flight |
| MRM | Multiple Reaction Monitoring |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography |
| GC | Gaz Chromatography |
| LC | Liquid Chromatography |
| pg | picogramme |
| RMN | Résonance Magnétique Nucléaire |
| ng | nanogramme |
| nm | nanomètre |
| IR | Infra-Rouge |
| NIR | Near Infra-Red |
| NADH | Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit |
| FADH | Flavine Adénine Dinucléotide réduit |
| LS | Liquide Séminal |
| GPC | Glycerophosphocholine |
| GPE | Glycerophosphoéтанolamine |
| BT | Biopsie Testiculaire |
| ROS | Reactive Oxygen Specie |
| AG | Acide Gras |
| aa | Acides aminés |
| NMDA | N-Méthyl-D-Aspartate |
| IMC | Indice de Masse Corporel |
| DHA | Acide DecosaHexanoïque |
| PGB2 | ProstaGlandine B2 |

Plan

INTRODUCTION

- 1. Etat des lieux de l'infertilité masculine**
- 2. Exploration de l'infertilité masculine**
 - 2.1. Examen central : Le spermogramme
 - 2.2. Examens complémentaires
 - 2.3. Développement de l'exploration de l'infertilité masculine
- 3. La Métabolomique**
 - 3.1. Définitions
 - 3.2. Les différentes techniques d'étude métabolomique
 - 3.2.1. La Spectrométrie de Masse (MS)
 - 3.2.2. La Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)
 - 3.2.3. La Spectroscopie Infra-rouge et Raman Spectroscopie
 - 3.3. Applications de la métabolomique

LA METABOLOMIQUE DU SPERME

- 1. La Métabolomique et l'infertilité masculine**
- 2. La Métabolomique du Spermatozoïde**
- 3. La Métabolomique du Liquide Séminal**
 - 3.1. Métabolomique du LS et altération de la qualité spermatique
 - 3.1.1. L'azoospermie
 - 3.1.2. Altération des paramètres spermatiques
 - 3.2. Métabolomique du LS et infertilité inexpliquée
 - 3.3. Métabolomique du LS et pathologies spécifiques

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES FIGURES

TABLE DES MATIERES

ANNEXES

INTRODUCTION

1. Etat des lieux de l'infertilité masculine

L'infertilité touche à ce jour en France 15 à 25 % des couples en âge de procréer (données Obseff 2019).

L'infertilité est définie comme l'incapacité d'un couple à concevoir après 12 mois de rapports sexuels non protégés et réguliers.

Une cause masculine est retrouvée dans 50% des cas, dans 30% des cas elle est isolée et dans 20% des cas elle est associée à une cause féminine (1).

Les causes d'infertilité masculine sont multiples, elles peuvent être d'origine excrétoire ou d'origine sécrétoire.

Dans l'infertilité d'origine excrétoire les principales étiologies retrouvées sont (selon l'AFU – l'Association Française d'Urologie) l'obstruction ou la sténose de l'épididyme ou des canaux déférents, soit d'origine infectieuse (gonocoque, chlamydiae) soit d'origine iatrogène (antécédent de chirurgie inguinale ou scrotale). On retrouve également l'agénésie bilatérale des canaux déférents due à une mutation du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator).

L'origine sécrétoire est de loin la cause la plus fréquente d'infertilité masculine (elle est notamment responsable de 60% des azoospermies). Elle est caractérisée par une insuffisance testiculaire qui peut avoir différentes causes : endocrinienne (insuffisance hypothalamo-hypophysaire), toxique (traitements gonadotoxiques, tabac, cannabis, perturbateurs endocriniens, ...), génétique (7%) (syndrome de Klinefelter, délétion AZF du chromosome Y, ...) ou due à une dysgénésie gonadique (cryptorchidie (+2,6% par an en France)). Elle est idiopathique dans 40% des cas.

L'infertilité masculine est en progression, comme l'ont montré plusieurs études. On peut citer Rolland M et al. qui dans leur étude rétrospective menée entre 1989 et 2005, en France, sur une population d'environ 26 609 hommes mettent en évidence une décroissance de la mobilité spermatique d'environ 32% (2).

Ce phénomène est également observé ailleurs dans le monde. Ainsi, une revue de 2017, montre un déclin de la concentration en spermatozoïdes d'environ 1,4 à 1,6 % par an en fonction des zones géographiques (3).

L'exposition croissante aux différents toxiques environnementaux comme les pesticides ou les perturbateurs endocriniens pourraient être en cause (4).

2. Exploration de l'infertilité masculine

L'exploration de l'infertilité masculine repose principalement sur l'étude du sperme.

Le sperme est composé du liquide séminal et des spermatozoïdes mais contient aussi d'autres cellules (leucocytes, cellules germinales immatures, cellules de l'épithélium séminal...).

Les spermatozoïdes sont des cellules hautement différenciées qui mesurent environ 60 μM (OMS 2010) et comprennent trois parties : la tête, le col et le flagelle. Ils sont produits dans les testicules au sein des tubes séminifères supportés par les cellules de Sertoli. Ce processus est appelé spermatogenèse (Figure 1), dure environ 74 jours et est dépendant des hormones hypophysaires et testiculaires (androgènes et FSH). La spermatogenèse comprend une phase de multiplication (mitose), puis une phase de croissance et de maturation incluant la méiose, et enfin une étape de différenciation appelée spermiogenèse. Ce processus permet de passer d'une cellule souche diploïde au gamète haploïde (le spermatozoïde).

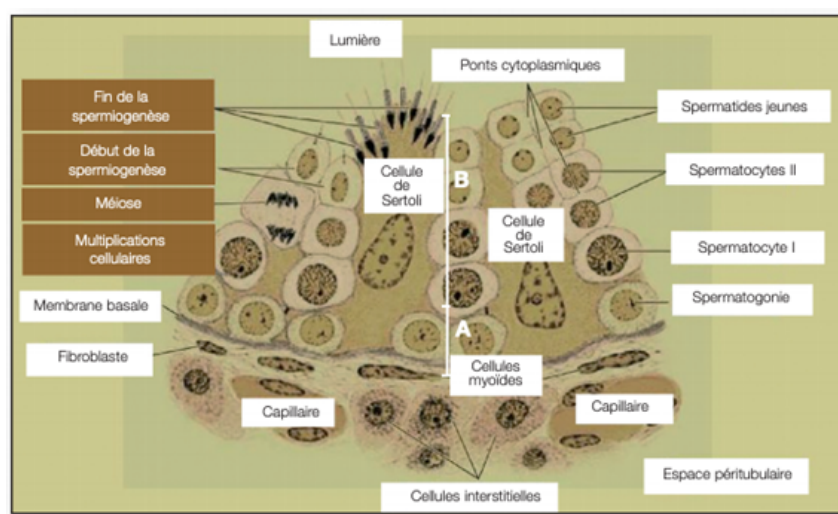


Figure 1. Schéma simplifié d'une portion transversale de tube séminifère montrant les différentes étapes de la spermatogenèse.
Compartiment basal (A) ; Compartiment adluminal (B)

(Cahier Bioforma-versant masculin-2009)

A la fin de la spermatogenèse, les spermatozoïdes sont libérés dans la lumière des tubes séminifères (spermiation) puis rejoignent, via les cônes efférents, l'épididyme où ils terminent leur maturation.

Le sperme est constitué au moment de l'éjaculation par le mélange des spermatozoïdes et des produits de sécrétion des glandes annexes. Le liquide séminal est composé des sécrétions des vésicules séminales (70%), puis de celles de la prostate et de la glande de Cowper (respectivement 15 et 10%) et enfin, dans une moindre mesure, de celles de l'épididyme (5%). Le LS possède plusieurs rôles importants pour le spermatozoïde, comme

- la décapacitation et la protection du pouvoir fécondant
- la protection contre des agents agressifs : bactéries, radicaux libres, acidité vaginale
- la coagulation de l'éjaculat et constitution d'un dépôt de spermatozoïdes
- la mise à disposition de nutriments pour les spermatozoïdes.

2.1. Examen central : Le spermogramme

L'étude du sperme repose essentiellement sur le spermogramme, qui est à ce jour l'examen principal du bilan d'infertilité masculine.

Ce dernier va permettre d'étudier à la fois des paramètres macroscopiques comme le volume, le pH ou la viscosité du sperme. Il va aussi s'intéresser aux spermatozoïdes qui le composent en définissant notamment leur concentration/numération, leur mobilité, leur vitalité et leur morphologie.

Des normes ont été définies par l'OMS (dernière révision en 2010) pour faciliter et homogénéiser l'interprétation de ces différents critères en se basant sur l'analyse de 428 à 1941 éjaculats (en fonction des paramètres étudiés) d'hommes fertiles en bonne santé (Figure 2). La norme étant définie au 5ème percentile avec un intervalle de confiance à 95%. Ces normes ne cessent d'évoluer.

Table II Distribution of values, lower reference limits and their 95% CI for semen parameters from fertile men whose partners had a time-to-pregnancy of 12 months or less

| | N | Centiles | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------------|------|----------|-----------|-----|-----------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|
| | | 2.5 | (95% CI) | 5 | (95% CI) | 10 | 25 | 50 | 75 | 90 | 95 | 97.5 |
| Semen volume (ml) | 1941 | 1.2 | (1.0–1.3) | 1.5 | (1.4–1.7) | 2 | 2.7 | 3.7 | 4.8 | 6 | 6.8 | 7.6 |
| Sperm concentration (10 ⁶ /ml) | 1859 | 9 | (8–11) | 15 | (12–16) | 22 | 41 | 73 | 116 | 169 | 213 | 259 |
| Total number (10 ⁶ /Ejaculate) | 1859 | 23 | (18–29) | 39 | (33–46) | 69 | 142 | 255 | 422 | 647 | 802 | 928 |
| Total motility (PR + NP, %)* | 1781 | 34 | (33–37) | 40 | (38–42) | 45 | 53 | 61 | 69 | 75 | 78 | 81 |
| Progressive motility (PR, %)* | 1780 | 28 | (25–29) | 32 | (31–34) | 39 | 47 | 55 | 62 | 69 | 72 | 75 |
| Normal forms (%) | 1851 | 3 | (2.0–3.0) | 4 | (3.0–4.0) | 5.5 | 9 | 15 | 24.5 | 36 | 44 | 48 |
| Vitality (%) | 428 | 53 | (48–56) | 58 | (55–63) | 64 | 72 | 79 | 84 | 88 | 91 | 92 |

*PR, progressive motility (WHO, 1999 grades a + b); NP, non-progressive motility (WHO, 1999 grade c).
The values are from unweighted raw data. For a two-sided distribution the 2.5th and 97.5th centiles provide the reference limits; for a one-sided distribution the fifth centile provides the lower reference limit.

Figure 2. Tableau de distribution des valeurs des paramètres spermatiques.

(Cooper, 2010)

D'autre part ces différents paramètres sont dépendants de nombreux facteurs tel que le délai d'abstinence, le fonctionnement des glandes annexes et les facteurs extérieurs comme une infection, ou de la fièvre (Figure 3).

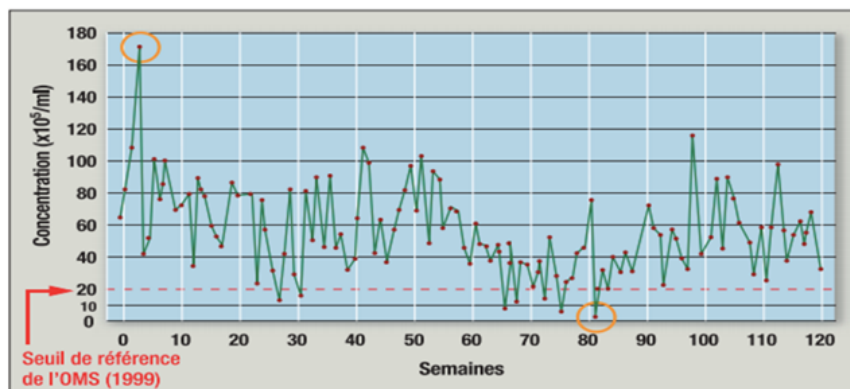


Figure 3. Variations intra-individuelles de la concentration des spermatozoïdes avec des intervalles quasi constants entre les prélèvements

(Cahier Bioforma-versant masculin-2009)

Le diagnostic d'infertilité masculine s'appuie sur la discordance entre les résultats du spermogramme d'un patient et les normes établies par l'OMS. Ces résultats permettront aussi, ultérieurement, de définir le type de prise en charge en AMP adaptée au patient.

Les anomalies constatées au spermogramme peuvent concerner les différents paramètres du sperme et permettent de définir les oligospermies (anomalie de nombre), les asthénospermies (anomalies de la mobilité) et les tératospermies (anomalies morphologiques). Ces anomalies

sont le plus souvent associées et on parle alors d'OAT. Elles sont retrouvées dans 90% des infertilités masculines. Les 10% restant correspondent à une absence de spermatozoïdes au sein de l'éjaculat, on parle alors d'azoospermie.

Malgré son importance en pratique clinique le spermogramme reste un test descriptif et non fonctionnel. Les différents paramètres observés ne permettent pas de déterminer le potentiel fécondant des spermatozoïdes. Certaines études montrent que le nombre de spermatozoïdes mobiles total dans l'éjaculat, pourrait donner un meilleur reflet des chances de grossesse en AMP (5). De plus, environ 25 % des infertilités restent inexplicables, parmi lesquelles une cause masculine pourrait être impliquée dans 15% des cas (6).

2.2. Examens complémentaires

Certains examens complémentaires peuvent être proposés pour mieux caractériser l'infertilité d'un patient.

- Le test de migration-survie (TMS) permet, par gradient de densité et lavage ou par migration ascendante, de sélectionner et capaciter les spermatozoïdes. Le nombre de spermatozoïdes progressifs après préparation est classiquement utilisé pour orienter la prise en charge en AMP.

La biochimie séminale vise à localiser l'origine des anomalies spermatiques via des marqueurs biochimiques spécifiques de certaines zones du tractus génital. En routine 6 marqueurs sont fréquemment dosés, avec des valeurs de références déterminées par l'OMS (Figure 4).

| | Fructose | Citrate | Zinc | Phosphatase acide | α 1,4 Glucosidase neutre | L-Carnitine |
|-----------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|
| Origine | vésicules séminales | prostate | prostate | prostate | épididyme | épididyme (principalement) |
| Méthode de dosage usuelle | enzymatique 340 nm | | colorimétrique 560 nm | cinétique enzymatique 405 nm | | enzymatique 340 nm ou colorimétrique 405 nm |
| Valeurs de référence par éjaculat | $\geq 20\mu\text{mol}$ | $\geq 60\mu\text{mol}$ | $\geq 3\mu\text{mol}$ | $\geq 1234\text{UI}$ | $\leq 59\text{mU}$ | $\geq 654\text{ nmol}$ ou $\geq 390\text{ nmol}$ |

Figure 4. Marqueurs biochimiques usuels du plasma séminal.

(Cahier Bioforma-versant masculin-2009)

Il y a quatre indications principales à la réalisation d'une biochimie séminale :

- Un volume d'éjaculat diminué
 - Une azoospermie
 - Une nécrozoospermie (diminution très importante de la vitalité)
 - Une inflammation/infection des voies génitales, avec ou sans leucospermie
-
- Dans le cas d'altérations majeures des paramètres spermatiques le bilan peut être complété d'une échographie de l'appareil urogénital, d'un bilan hormonal et d'examens génétiques.
 - D'autres techniques permettant d'évaluer la structure et les fonctions des spermatozoïdes existent comme, la microscopie optique à transmission, l'étude de la fixation des spermatozoïdes à la ZP, l'étude de la réaction acrosomique ou encore des tests évaluant la qualité nucléaire des spermatozoïdes.

2.3. Développement de l'exploration de l'infertilité masculine

Ces vingt dernières années les études se sont tournées vers les techniques « -omiques » afin d'essayer de mieux appréhender les mécanismes de l'infertilité masculine.

Tout d'abord la transcriptomique qui est l'étude de l'ensemble des ARN messagers produits lors de la transcription d'un génome. Plusieurs études ont été réalisées afin de mettre en évidence des gènes dont l'expression dans les spermatozoïdes serait liée à l'obtention d'une grossesse en AMP (7), ou plus particulièrement en insémination avec donneurs (8).

Ensuite, la protéomique qui est l'étude de l'ensemble des protéines constituant un système biologique. De nombreuses études ont cherché des biomarqueurs protéiques dans les spermatozoïdes, le liquide séminal ou encore le tissu testiculaire susceptibles de signer l'étiologie d'une infertilité. Il s'agissait notamment de discriminer une varicocèle bilatérale et unilatérale (1), de préciser l'origine d'une infertilité inexplicée (9) ; de trouver un marqueur des cancers testiculaires (10) ou encore de différencier une azoospermie obstructive d'une azoospermie non obstructive (11).

Et plus récemment: la métabolomique.

3. La Métabolomique

3.1. Définitions

La métabolomique apparaît au début des années 2000. Elle est basée sur l'étude du métabolome d'un système biologique. Le métabolome est décrit pour la première fois par Stephen G. Oliver et al. en 1998 (12), et les termes de métabolome et métabolomique ont été employés pour la première fois par Oliver Fienh en 2002 (13).

Le métabolome correspond à l'ensemble des métabolites qui composent un système biologique (tissus, organes, fluides, ...).

Les métabolites sont de très petites molécules ($PM < 1500$ Da), produits intermédiaires ou terminaux du métabolisme. Chez l'homme on dénombre environ 40 000 métabolites (14).

Parmi tous ces métabolites on retrouve des acides aminés, des sucres, des alcools, des amines, des lipides, des hormones, des vitamines, ...

Le métabolome représente l'empreinte chimique spécifique d'un processus biologique. Il est variable dans le temps, selon le type de situation (physiologique ou pathologique), et est sensible à l'environnement (Figure 5).

Il représente ainsi l'ultime réponse d'un organisme à une altération génétique, une pathologie, une exposition à un toxique ou toute cause environnementale.

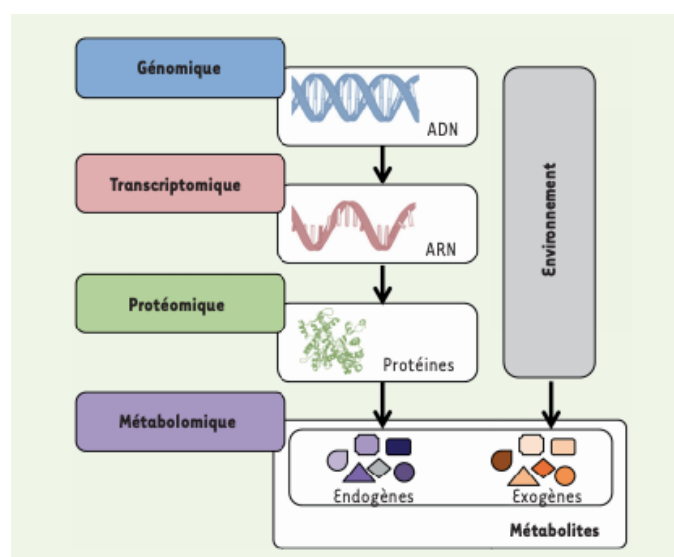


Figure 5. La métabolomique est le reflet des différents processus de l'organisme et de l'influence de l'environnement sur ce dernier.

(Dormoy 2013)

Il existe une telle diversité de matrices qui possèdent chacune leur propre spécificité en termes de composition protéique et métabolique, qu'il est impossible d'établir un protocole standardisé utilisable pour chaque étude métabolomique. Il est possible cependant de décrire une ossature commune (Figure 6) (15). En premier lieu il faut définir le design expérimental, puis collecter et préparer les échantillons. La préparation doit permettre une purification de l'échantillon tout en limitant la perte de métabolites lors de cette étape. Ensuite, il faut réaliser l'analyse des échantillons avec la technique la plus adaptée à la matrice choisie, puis analyser les données obtenues en identifiant les métabolites retrouvés grâce à des bases de données (HMDB, KEGG, Humancyc, ...). Suit l'analyse statistique de ces données puis l'interprétation biologique avec formulation d'hypothèses sur les possibles voies métaboliques impliquées dans le processus étudié. Cette approche allie ainsi plusieurs disciplines comme la chimie analytique, les statistiques et la biologie.

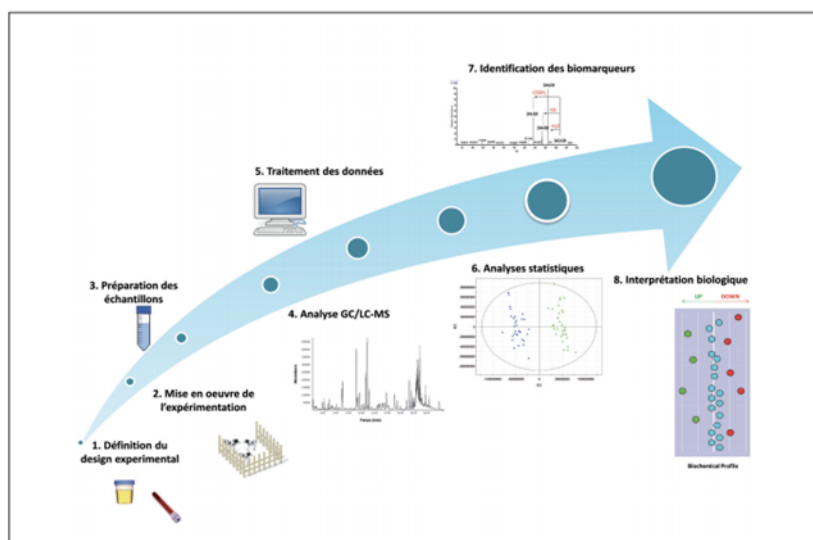


Figure 6. Workflow des principales étapes d'une étude métabolomique par MS.

(Royer,2017)

3.2. Les différentes techniques d'étude métabolomique

Il existe quatre différents types d'approche en métabolomique. Le premier est l'analyse ciblée de métabolites, dans laquelle on va chercher à quantifier un ou plusieurs métabolites particuliers. Le second est le profilage métabolique, il permet l'analyse d'un groupe ou d'une famille de métabolites. Le troisième consiste en une approche non ciblée qui va permettre

l'analyse exhaustive des métabolites présents dans un échantillon sans nécessité de quantification ou d'identification. Le quatrième est l'approche par empreinte métabolomique qui va permettre de comparer quantitativement et qualitativement plusieurs métabolomes. Pour ce faire différentes techniques d'analyse des échantillons existent et leur choix va dépendre du type d'échantillon et du type d'étude souhaité.

3.2.1. La Spectrométrie de Masse (MS)

C'est la technique la plus couramment employée, elle est basée sur la détection d'ions par leur masse (Figure 7).

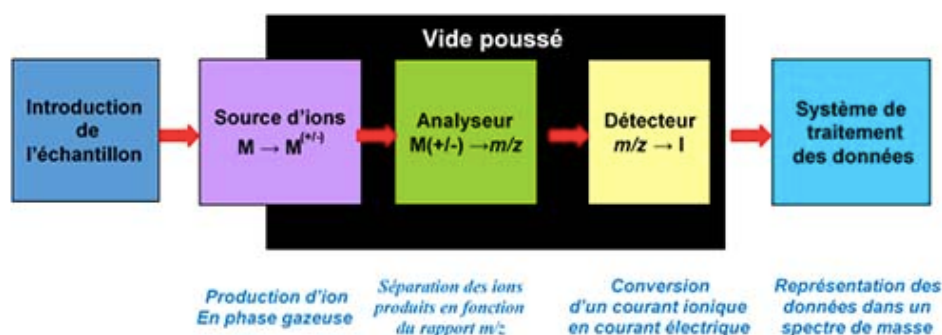


Figure 7. Composants d'un spectromètre de masse.

(ISTeP-UMR 7193)

Tout d'abord avant d'être analysées les molécules d'intérêt doivent être ionisées. Il existe différentes techniques d'ionisation, la plus fréquente étant l'ionisation à pression atmosphérique (API) qui offre elle-même différentes méthodes dont la plus utilisée est l'électrospray (ESI) qui est une méthode d'ionisation en phase liquide (Figure 8).

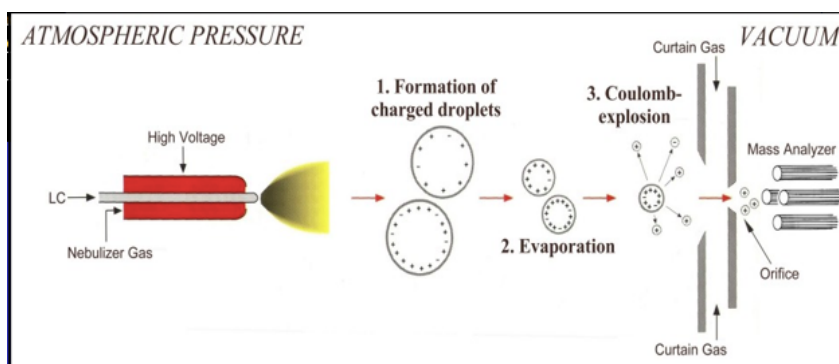


Figure 8. ESI, processus d'ionisation en phase liquide.

(Cheignon 2016)

Dans cette technique les molécules sont dissoutes dans une solution qui est introduite dans un fin capillaire porté à un potentiel élevé (3 à 5 kV). Sous l'action conjuguée du champ électrique et d'un courant gazeux coaxial (le gaz de nébulisation) la solution est transformée en un nuage de fines gouttelettes chargées. Sous l'effet d'un second gaz (gaz de séchage) les gouttelettes vont perdre leur solvant et ce phénomène va avoir pour effet de les déstabiliser jusqu'à ce qu'elles explosent en émettant des nanogouttelettes chargées, ce processus est appelé fission de Coulomb. Par processus de fission consécutifs les ions contenus dans les gouttelettes sont transformés en ions en phase gazeuse. Le phénomène s'arrête lorsque l'on obtient plus qu'une molécule présentant une ou plusieurs charges. Les molécules ainsi obtenues sont guidées par des potentiels électriques émis par deux cônes successifs, ils arrivent alors dans la zone de l'analyseur, maintenue sous vide, ou ils vont être séparés en fonction de leur rapport masse/charge.

Cette technique a pour avantages de ne pas être sensible au débit mais à la charge et d'avoir une gamme de masse et de polarité importante.

Il existe différents types d'analyseurs comme le quadrapôle (simple ou triple), le temps de vol (TOF), la trappe d'ion, ...

Tous ces types d'analyseurs vont être dédiés à des applications différentes. Les techniques faisant appel au TOF seront plutôt dédiées à l'analyse de haute précision de masse. La technologie trappe d'ion s'applique plus particulièrement à l'analyse qualitative et celle en quadrapôle sera plutôt dédiée à l'analyse quantitative. Pour des analyseurs requérant à la fois des données qualitatives et quantitatives il est possible de combiner plusieurs technologies comme le quadrapôle et la trappe d'ion.

Les triples quadrapôles (Figure 9) vont quant à eux apporter de la sélectivité dans l'analyse. En effet ils permettent de fragmenter les ions lors de leur passage permettant alors l'obtention d'ions « fils » à partir d'ions « parents », c'est ce que l'on appelle le tandem masse (MS/MS) car il y a deux étapes de sélection par la masse. Cette technique permet également différents modes d'acquisitions.

Celui ayant la meilleure sensibilité et la meilleure spécificité est la réaction sélective (MRM), où Q1 et Q3 sont calés sur une seule masse.

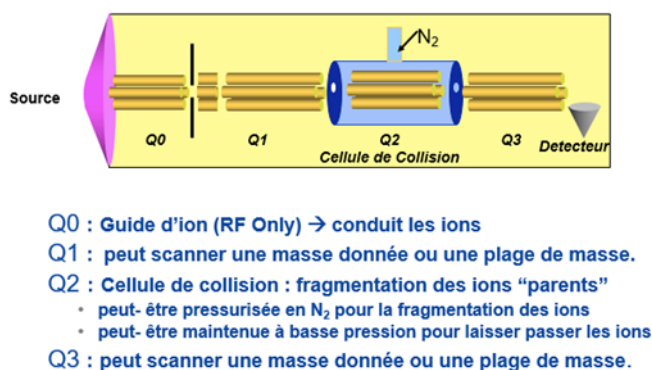


Figure 9. Schéma d'un triple quadropôle MS.

Cette technique peut être utilisée en infusion directe, c'est à dire que l'échantillon est passé directement à la source d'ions. C'est une approche à haut débit qui va permettre de traiter l'échantillon dans un temps court et de préserver au maximum les métabolites, le principal inconvénient de cette technique va être le risque de saturer l'analyseur avec un très grand nombre d'ions. Pour permettre de séparer au préalable les métabolites on peut la coupler avec une méthode de chromatographie (HPLC ou GC). Cette méthode va permettre de s'affranchir des difficultés liées aux autres modes de détections, toute molécule peut être analysée en LC-MS.

La spectrométrie de masse est à la fois sensible (de l'ordre du pg) et spécifique (16), le fait de pouvoir être associée à une méthode de séparation lui permet d'améliorer la sélection des métabolites, en pouvant par exemple éliminer certains métabolites afin de mieux étudier un groupe ou une famille de métabolites, ou encore de permettre l'analyse des différences subtiles dans des mélanges métabolomiques complexes tels que les biofluides (17). L'existence de bases de données spectrales est également un avantage pour l'identification des métabolites. Cependant le matériel nécessaire est couteux et l'échantillon est intégralement consommé.

3.2.2. La Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

C'est la seconde technique utilisée couramment en métabolomique, elle repose sur le principe de magnétisme nucléaire.

La résonance magnétique s'observe chez certains noyaux atomiques dont le spin n'est pas nul (c'est à dire que le nombre de protons et de neutrons n'est pas pair). Ce qui est le cas dans un certain nombre d'atomes retrouvés de manière abondante dans le milieu naturel comme par exemple l'hydrogène (^1H).

Cette caractéristique va leur permettre de subir des transitions énergétiques lorsqu'ils vont être placés dans un champs magnétique statique et que l'on va les soumettre à un rayonnement électromagnétique émis sous forme d'impulsions et ayant une fréquence précise correspondant à la fréquence de précession du noyau (définie par l'équation de Larmor).

Pour comprendre, le phénomène de résonance va dépendre de deux vecteurs, le vecteur d'aimantation microscopique qui est caractérisé par l'alignement du moment magnétique du proton sur son axe de rotation. Le vecteur d'aimantation macroscopique qui provient de la réorganisation des vecteurs d'aimantation microscopique de manière parallèle et antiparallèle, lors de l'application d'un champ magnétique extérieur.

Puis on va venir appliquer les impulsions électromagnétiques à la fréquence spécifique déplaçant alors les protons dans un état d'excitation, suivi ensuite d'un temps relaxation, puis d'un retour à l'équilibre en restituant l'énergie acquise sous la forme d'un signal décroissant, qui va être captée par une bobine. C'est cette variation qui va être à l'origine du signal RMN.

La RMN peut mesurer simultanément plusieurs molécules et fournir des informations structurales détaillées, l'échantillon n'est pas consommé. Elle peut également être utilisée sur des solides ou des organes vivants.

Cependant elle est moins sensible que la MS (de l'ordre du ng) (16)

3.2.3. La Spectroscopie Infra-rouge et Raman Spectroscopie

Ces deux méthodes sont basées sur l'interaction des ondes électromagnétiques avec les électrons de liaisons interatomiques des molécules.

L'énergie du rayonnement infra-rouge est suffisante pour induire des changements dans l'énergie vibrationnelle des molécules sans provoquer de transitions électroniques.

Il existe différents domaines dans l'infra-rouge, un des domaines utilisé en métabolomique est celui du proche infra-rouge (800 à 2500 nm), la NIR (16) .

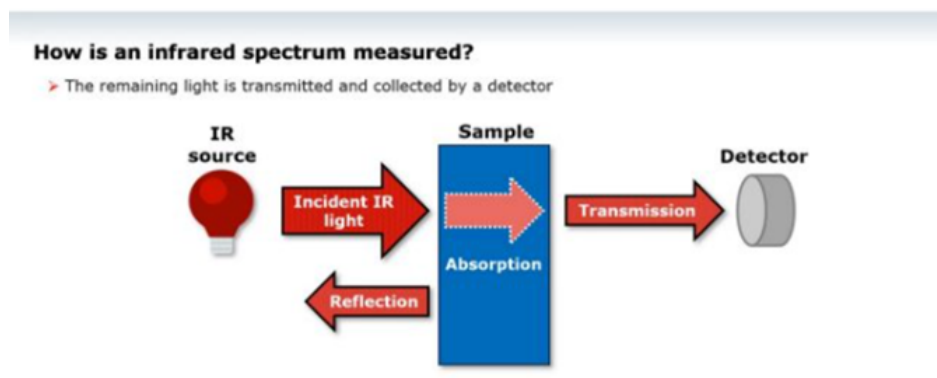


Figure 10. Schéma de la configuration basique pour mesurer les spectres IR par transmission ou réflexion.

(Bruker)

Cette technique repose sur l'absorption de la lumière IR par les molécules en la convertissant en vibration moléculaire, cette absorption est spécifique des liaisons présentes dans la molécule (Figure 10).

Le détecteur mesure son facteur de transmission et son absorbance.

Elle peut être couplée à une méthode de transformée de Fourier afin d'en augmenter la précision.

La spectroscopie Raman repose quant à elle sur la diffusion inélastique, c'est à dire que l'énergie du rayonnement diffusé est différente de celle du rayonnement incident, le plus souvent un rayonnement laser monochromatique (Figure 11).

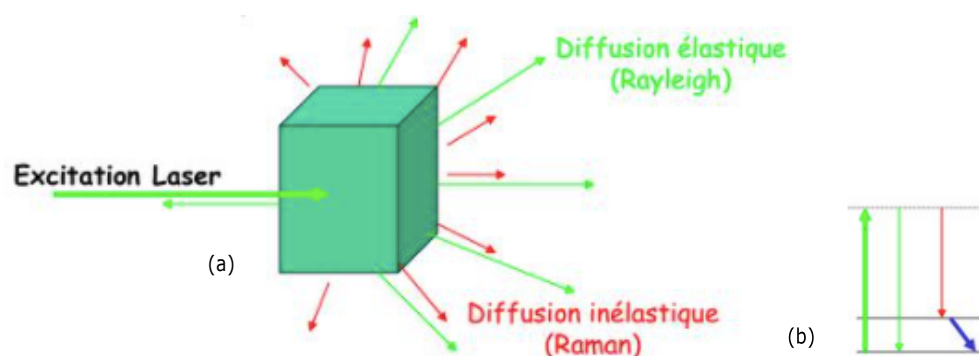


Figure 11. Schéma représentant la diffusion Raman (a) et les variations d'énergies, en rouge, responsables de ce phénomène (b).

(Champagnon, LPCML-UFR Lyon I)

Ces techniques sont des avancées intéressantes. Elles sont plus sensibles que la RMN mais cependant moins que la MS (18) et permettent d'apporter des informations sur un plan structurel essentiellement. Elles ne consomment pas l'échantillon, et sont peu coûteuses et plus rapides car elles ne nécessitent pas de préparation de l'échantillon et peuvent analyser plusieurs biomarqueurs à la fois (16).

3.3. Applications de la métabolomique

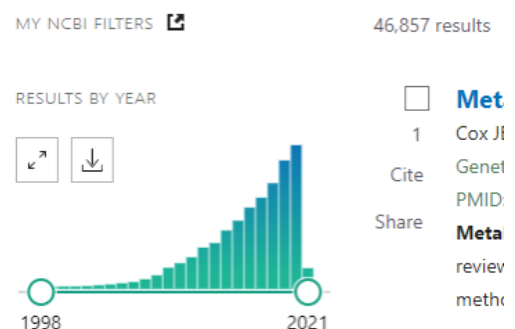
Depuis son apparition l'intérêt que suscite la métabolomique ne cesse de croître. On dénombre à ce jour sur la base de données PubMed

plus de 40 000 publications,

tous domaines confondus.

La métabolomique permet une étude à haut débit,

à haute densité et avec un workflow complexe.



Ce qui lui permet d'être exploitable dans de nombreux domaines (Figure 12).

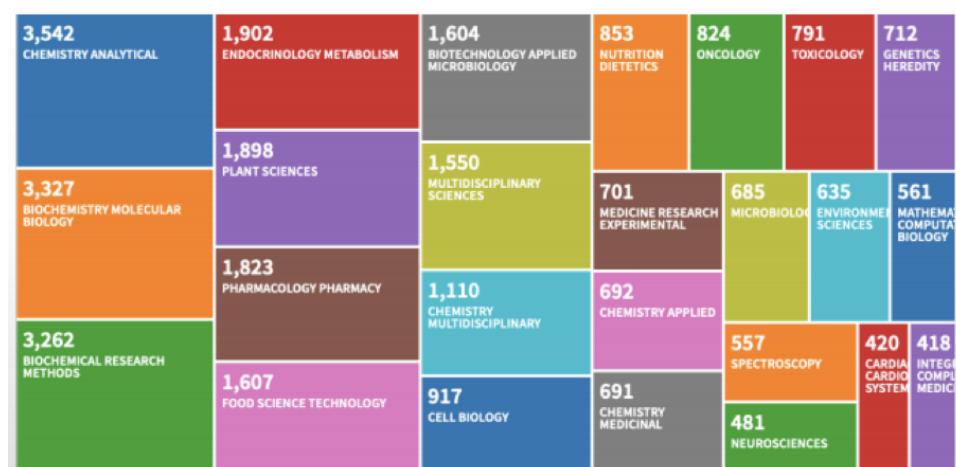


Figure 12. Différents domaines d'application de la métabolomique ayant le plus publiés entre 2001 et 2019.

(Rolin 2019, INRA)

Dans le domaine médical l'approche métabolomique a deux objectifs principaux, d'une part de découvrir des biomarqueurs permettant de caractériser certaines pathologies, et d'autre part de cartographier les différentes voies métaboliques afin de mieux comprendre les différents processus physiologiques et pathologiques. Elle est notamment utilisée en cancérologie dans la recherche de biomarqueurs (19), en nutrition (20) ou encore dans le domaine de la toxicologie (21).

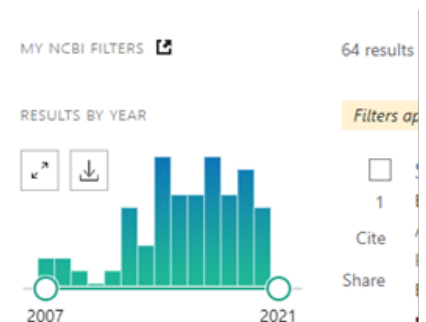
Les matrices les plus couramment utilisées sont le sang (plasma ou sérum) et l'urine.

Plus récemment la métabolomique a été appliquée au sperme.

LA METABOLOMIQUE DU SPERME

1. La Métabolomique et l'infertilité masculine

L'utilisation de la métabolomique dans l'exploration de l'infertilité masculine n'a suscité que récemment l'intérêt de la communauté scientifique. On dénombre à ce jour une soixantaine de publications sur la base de données Medline via le moteur de recherche Pubmed s'intéressant à l'infertilité masculine, toutes matrices confondues, avec des premières publications à partir de 2007. Parmi celles-ci, environ la moitié utilise une composante du sperme comme matrice, avec une grande diversité dans les objectifs des études et les techniques utilisées. Le liquide séminal est de loin la matrice la plus utilisée par rapport aux spermatozoïdes en raison de difficultés inhérentes à la spécificité de ces cellules. Leur lyse est compliquée (22) et la présence du plasma séminal, des autres cellules du sperme et des réactifs nécessaires pour la séparation des spermatozoïdes peuvent interférer avec l'analyse métabolomique (23). Une étude réalisée par Reynolds et al. en 2017 (24) a analysé par RMN les différentes couches d'un gradient de densité afin de déterminer le meilleur protocole permettant de séparer les spermatozoïdes du liquide séminal tout en limitant les interférences dans la technique d'analyse. Après différents protocoles de séparation des spermatozoïdes du liquide séminal par lavage ou par gradient, l'utilisation d'un gradient 2 couches de Percoll suivi



de deux lavages dans du PBS s'est avéré le protocole le plus efficace pour obtenir à la fois une concentration suffisante en spermatozoïdes pour l'analyse RMN et avoir un minimum de contamination par le liquide séminal ou les réactifs utilisés.

2. La Métabolomique du Spermatozoïde

Tableau I : Liste des études métabolomiques concernant le spermatozoïde

| Auteurs | Population | Technique | Métabolites discriminants |
|-------------------|---------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Paiva et al. 2015 | Patients AMP (15) Ns (8) As (7) | RMN (9) GC-MS (6) | Non ciblée Lactate Acetyl-carnitine Acides aminés et apparentés |
| Zhao et al. 2018 | Ns (30) As (30) | GC-MS | Non ciblée ↓ Acide Lactique ↓ 3-phosphoglycerate ↓ Tryptophane ↓ Acide Glutamique ↓ Leucine ↓ Cystéine |
| Fu et al. 2019 | Donneurs (10) | MS | Ciblée ↓ Glycolyse Activité HK2 diminuée |
| Engel et al. 2019 | Donneurs (20) | LC/FIA - MS | Ciblée Glutamine Acylcarnitines (C0, C2 et C3) Sphingomyéline (SM16:0) Phosphocholine (PC 38:6 et 28:1) |

Ns : Normospermie ; As : Asthénospermie

A notre connaissance, quatre études métabolomiques portent sur les spermatozoïdes (Tableau I). Les métabolites décrits dans ces études sont liés à différentes voies métaboliques mais essentiellement à celle de l'énergétique cellulaire.

Les spermatozoïdes sont des cellules spécialisées, dont les rôles principaux vont être de se déplacer jusqu'à l'ovocyte, de réaliser leur réaction acrosomique puis les différentes étapes du processus de fécondation. Pour cela, ces cellules ont des besoins conséquents en énergie.

En 2015 Paiva et al., ont été les premiers à établir une cartographie métabolique des spermatozoïdes humains (25). Parmi les métabolites retrouvés on note le lactate et l'acétyl-carnitine qui illustrent la part importante de la glycolyse mais aussi de l'oxydation des acides gras dans l'énergétique spermatique.

- Il a été montré que le spermatozoïde, pour produire de l'ATP, utilise différents substrats et principalement 2 voies métaboliques : d'une part celle de la glycolyse et d'autre part celle de la phosphorylation oxydative (26) (Figure 13).

La voie de la glycolyse consiste en la transformation du fructose en pyruvate. Ce dernier peut ensuite être métabolisé en lactate, par le lactate déshydrogénase (LDH X isoforme spécifique du spermatozoïde).

Le pyruvate peut aussi être transformé en l'acétyl CoA utilisé dans le cycle de Krebs mitochondrial.

L'acétyl CoA peut par ailleurs provenir de la B-oxydation des acides gras. La B-oxydation consiste en plusieurs étapes, notamment en une conversion en acylcarnitine (obtenu à partir de la carnitine libre), puis en acétylcarnitine. L'implication du métabolisme des lipides pour fournir de l'énergie nécessaire aux différentes fonctions du spermatozoïde avait déjà été suggérée dans de précédentes études (27). Le fait de retrouver de manière récurrente la carnitine et l'acétyl-carnitine dans plusieurs études métabolomiques (22,25,28) sur le spermatozoïde conforte cette hypothèse.

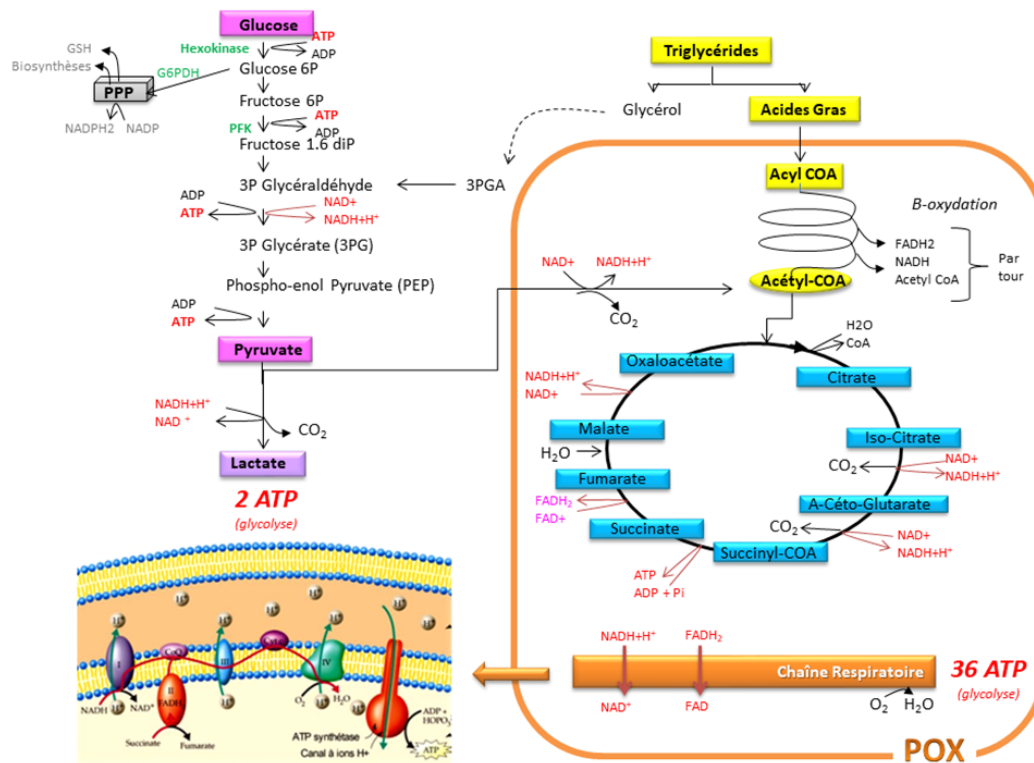


Figure 13. Schéma des voies métaboliques énergétiques : la glycolyse et la phosphorylation oxydative (POX).

La phosphorylation oxydative repose sur le transfert des électrons, issus des coenzymes réduits (NADH₂ et FADH₂) obtenus au cours du cycle de Krebs ou de la Beta-oxydation des acides gras, le long de la chaîne respiratoire mitochondriale (Figure 13). Ce transfert d'électrons implique 4 complexes multi enzymatiques (Figure 14) enchâssés dans la membrane mitochondriale interne. Il est couplé à la translocation de protons depuis la matrice mitochondriale jusqu'à l'espace inter membranaire qui est à l'origine de la création d'un gradient électrochimique $\Delta\Psi$. Ce dernier est mis à profit par le complexe V (ATP synthase) qui couple le retour des protons vers la matrice à la synthèse d'ATP :

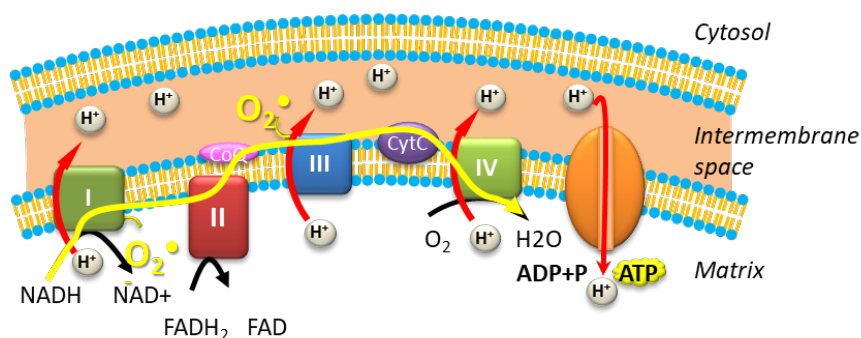


Figure 14. Schéma de la chaîne respiratoire mitochondriale

Glycolyse et phosphorylation oxydative seraient toutes deux utilisées par le spermatozoïde, pour ses différentes fonctions, suivant les substrats présents dans son environnement (lui permettant une certaine plasticité métabolique), mais aussi de manière variable selon l'espèce considérée. Certains auteurs pensent que la glycolyse serait principalement utilisée au niveau du flagelle et plutôt impliquée dans la mobilité spermatique (26). A contrario, les mécanismes de phosphorylation oxydative seraient principalement actifs au niveau de la pièce intermédiaire, lieu où l'on retrouve les mitochondries du spermatozoïde mature, et serviraient aux mécanismes de capacitation, différenciation et maturation (26). Mais ces hypothèses font l'objet de nombreuses controverses.

De manière intéressante, les études de métabolomiques existantes ont mis en évidence une altération de la voie glycolytique dans les spermatozoïdes présentant une altération de leur mobilité. Ainsi, Fu et al., sur 10 échantillons analysés avant congélation puis après décongélation (processus connu pour altérer la mobilité spermatique (29)), ont montré une modification des métabolites du cycle de Krebs, du métabolisme du pyruvate et une diminution de la glycolyse. De plus, dans cette étude, l'analyse immunologique réalisée en parallèle par western blot et ciblée sur les trois principales enzymes intervenant dans la glycolyse (Hexokinase (HK), 6-Phosphofructokinase et la Pyruvate-kinase), retrouvait une sous-expression de l'enzyme HK (28).

De la même manière, Zhao et al. en 2018 ont montré une altération du métabolisme énergétique chez les patients souffrant d'une asthénospermie idiopathique. Il s'agissait notamment d'une altération de la voie de la glycolyse avec une diminution du lactate et du 3-phosphoglycerate (30).

- Au-delà de l'énergétique, les études de métabolomique du spermatozoïde ont soulignées aussi l'importance d'autres métabolites dans le fonctionnement spermatique. Ainsi, Pavia et al. en 2015 ont identifiés différentes catégories de métabolites dans les spermatozoïdes: celle des acides aminés, peptides et analogues (avec 18 métabolites identifiés), celle des lipides (avec 12 métabolites identifiés) et celle des nucléosides, nucléotides et analogues. Certains de ces métabolites semblent directement reliés au fonctionnement spermatique avec une expression altérée dans certaines infertilités masculines. Ainsi, Zhao et al (2018) ont montré une

diminution des concentrations en acides aminés essentiels notamment en Tryptophane, Thréonine et Leucine chez les patients présentant une altération de la mobilité spermatique.

Engel et al. en 2019 (utilisant une technique ciblée) ont rapporté une première corrélation entre certains métabolites retrouvés dans les spermatozoïdes, et les paramètres spermatiques. Ils ont montré une corrélation positive entre la mobilité spermatique et les classes des lipides, des acides aminés et des acylcarnitines ainsi qu'une corrélation négative entre le délai d'abstinence et la classe des acides aminés, de même entre la concentration des spermatozoïdes et la classe des acylcarnitines (22).

Parmi les acides aminés, un semble exister de manière abondante dans le spermatozoïde, il s'agit de la glutamine retrouvée dans trois des 4 études considérées (22,25,30). La glutamine est un acide aminé non essentiel, qui est le plus abondant des acides aminés libres de l'organisme. C'est aussi un précurseur important pour la synthèse des peptides et des protéines, comme pour la synthèse des acides nucléiques et des nucléotides via la purine et la pyrimidine, elle fournit également une source de carbone pour le cycle de Krebs dans certaines cellules. Le métabolisme de la glutamine est lié avec celui d'autres acides aminés comme l'arginine, la phenylalanine, la serine et la tyrosine (22), ces deux derniers sont de potentiels sites de phosphorylation pour les protéines pourrait être impliqués dans les mécanismes de transduction nécessaires à la mobilité des spermatozoïdes (31).

3. La Métabolomique du Liquide Séminal

Tableau II : Liste des études métabolomiques concernant le liquide séminal

| Thème investigué | Auteurs | Population | Technique | | Métabolites d'intérêts et principales conclusions | |
|------------------------------------|----------------------|---------------------------------------------------|-----------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Azoospermie | Hammamah et al. 1993 | Ns (18) AO (14) ANO (21) OAT (7) | RMN | Ciblée | Ratios GPC/Lactate et Citrate/Lactate significativement différent entre Ns et ANO ou AO. ↓ Ratio GPC/GPE chez AO par rapport aux ANO. | ↓ GPC ↓ Citrate ↓ Lactate |
| | Lynch et al. 1994 | Ns (13) ACAS (3) AO (3) | RMN | Non ciblée | Ratios Citrate/Choline et Spermine/Choline différents entre les AO et le reste des patients. | Citrate GPC. Myo-inositol Choline Spermine |
| | Hammamah et al. 1998 | ANO (58) AO (17) | RMN | Ciblée | Ratios Choline/Citrate, Choline/Lactate et GPC/Choline différents entre les AO et les ANO. | GPC Choline Lactate Citrate |
| | Gilany et al. 2017 | Témoins (10) ANO (20) : BT+ (11) BT (9) | GC-MS | Non ciblée | 36 métabolites discriminants. Principalement retrouvés dans le groupe BT-. | Acide Tartarique 2,2,4,4,6,6-hexaméthyl 1,3,5-trithiane Darwinol 4,5-diméthoxy-1,2-benzenedicarboxylic |
| | Gilany et al. 2018 | Témoins (15) ANO (20) : BT+ (10) BT (10) | Raman | Non ciblée | Déséquilibre de la balance oxydative chez les patients BT-. | ROS |
| Asthénospermie | Zhang et al. 2015 | Ns (30) As (30) | RMN | Non ciblée | 19 métabolites discriminants. 16 augmentés. 3 diminués. | ↑ Choline ↓ LDL/VLDL ↑ Cholestérol ↑ Créatinine ↑ Taurine ↓ Phénylalanine ↑ Cystéine |
| | Tang et al. 2017 | Ns (30) As (30) | GC-MS | Non Ciblée | 25 métabolites discriminants 17 types d'acides gras. | ↑ Ac. Oléique ↑ Ac. Palmitique |
| | Chen et al. 2019 | Ns (73) As (87) | MS | Non ciblée | 19 métabolites discriminants. Voies métaboliques des acides aminés et du métabolisme énergétique impactées. | ↓ Spermine ↓ Pyruvate ↓ Succinate ↓ Malate ↓ Citrate ↓ Tryptophane |
| Oligospermie, Teratospermie et OAT | Gupta et al. 2011 | Témoins (60) IMI (65) Os (60) | RMN | Ciblée | 10 métabolites mesurés. 5 discriminants entre les patients fertiles et infertiles. Détermination des patients Ns avec une précision de 92,9% par rapport aux patients Os. | ↓ Alanine ↓ GPC ↓ Citrate ↑ Tyrosine ↑ Phénylalanine |
| | Mumcu et al. 2019 | Ns (28) OAT (31) | RMN | Non ciblée | 11 métabolites discriminants. | ↓ Citrate ↓ Choline ↓ Valine ↓ Acide α-Cetoglutarique ↓ Glutamine ↓ Spermine ↓ Putrescine ↑ Tyrosine |
| | Xu et al. 2019 | Ns (35) Infertiles (140) | RMN | Non ciblée | 17 métabolites corrélés aux paramètres spermatiques. 14 voies métaboliques impliquées. | ↓ Ac. Arachidonique ↑ Histidine ↓ Biotine |

| | | | | | | |
|-----------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Murgia et al. 2020 | Ns (29) Os (18) | RMN | Non Ciblée | 4 métabolites altérés chez Os, également corrélés à la mobilité des spermatozoïdes. | ↑ Fructose ↓ Myo inositol ↓ Aspartate ↑ Choline |
| | Boguenet et al. 2020 | Ns (20) OAT (20) | LC-MS | Ciblée | 37 métabolites discriminants. Voies impliquées : Les lipides. Les acides aminés. Le métabolisme énergétique. | ↓ L-carnitine ↓ PC (C38:6, C40:4, C42:5, C40:6) ↓ Glutamate ↓ Tryptophane ↓ Spermine |
| | Mehrpavar et al. 2020 | Témoins (15) Ts (14) | RMN | Non ciblée | 18 métabolites discriminants : 15 augmentés 3 abaissés | ↑ Glutamine ↑ Choline ↓ Glutamate ↑ Lactate ↓ Cholestérol ↓ Taurine |
| Infertilité Masculine inexpliquée | Gupta et al. 2013 | Os (60) As (60) IMI (60) Témoins (50) | RMN | Ciblée | 13 métabolites étudiés : Lactate, Glutamine, Glutamate, Alanine, GPC, Histidine, Citrate, Lysine, Choline, Glycine, Tyrosine, Phénylalanine et Uridine. | ↓ Lactate ↓ Glutamate ↓ Alanine ↓ GPC ↓ Histidine ↑ Phénylalanine |
| | Jayaraman et al. 2014 | Ns (6) IMI (17) Os (20) As (20) Ts (20) Az (20) | RMN | Non ciblée | 6 métabolites discriminants entre IMI et les autres groupes. | ↓ Lysine ↓ Fructose ↓ Valine ↓ Tyrosine ↓ Citrate ↓ Proline |
| | Qiao et al. 2017 | Témoins (130) IMI (130) | GC-MS | Non ciblée | 44 métabolites discriminants. Principalement liés au métabolisme des acides aminés. Différenciation des IMI avec une spécificité de 92% | ↓ Tryptophane ↓ Phénylalanine ↓ Glycine ↓ Thréonine ↓ Sérine ↓ Isoleucine ↓ Proline ↓ Valine ↓ Ac 4-hydroxyphénylacétique |
| | Jafarzedeh et al. 2015 | Témoins (15) IMI (19) | Raman | Non- ciblée | Perturbation du métabolisme oxydatif chez les patients IMI. | ↑ groupe -CH ↓ groupe -SH |
| Autre | Engel et al. 2019 | Donneurs (20) | LC/FIA- MS | Ciblée | 177 métabolites détectés dans le LS. Principalement liés à la concentration et à la morphologie. | Carnosine Acylcarnitine Créatinine |
| | Guo et al. 2017 | IMC normal (107) Obèses (21) | MaldiTOF -MS | Non- ciblée | 16 métabolites discriminants. 2 augmentés chez les patients obèses. 5 voies métaboliques impliquées. | ↑ Spermidine ↑ Spermine |
| | Roberts et al. 2017 | Ca p (151) | RMN | Ciblée | 3 métabolites du LS discriminants pour les ca p (risques bas et intermédiaires). | Choline Leucine Valine |
| | Bonechi et al. 2015 | Vr(10) Lcs(9) Témoins (38) Vr traitée(10) Vr + Lcs (5) Vr traitée + Lcs (5) | RMN | Non ciblée | 7 métabolites discriminants entre les patients ayant une Lcs seule et ceux ayant une Lcs associée à un Vr traitée ou non. | GPC Choline Phénylalanine Citrate Lactate Histidine Uridine |
| | Huang et al. 2019 | Chinois (98) | LC-MS | Non ciblée | 5 métabolites d'intérêt. Voies métaboliques de la β -oxydation et du métabolisme oxydatif perturbées après exposition à l'arsenic et aux composés perfluorés. | DHA Eicosatetraenoate Carnitines PGB2 Tocotrienol |

Ns : Normospermie ; As : Asthénospermie ; Az : Azoospermie ; AO : Azoospermie obstructive ; ANO : Azoospermie non obstructive ; Os : Oligospermie ; Ts : Teratospermie ; IMI : Infertilité masculine inexpliquée ; OAT : Oligoasthénoteratospermie ; Lcs : Leucospermie ; Vr : Varicocèle.

Le liquide séminal (LS) est composé des sécrétions des différentes glandes du tractus génital et comprend de nombreux composés organiques et inorganiques (32). Les anomalies du LS pourraient témoigner de dysfonctions dans les processus concourant à la formation de spermatozoïdes compétents et/ou être responsables d'une altération de la qualité spermatique.

3.1. Métabolomique du LS et altération de la qualité spermatique

3.1.1. L'azoospermie

C'est la première anomalie spermatique abordée par l'étude des métabolites du LS (Tableau II).

- Dans un premier temps, pour voir s'il était possible de différencier une azoospermie obstructive d'une azoospermie sécrétoire, des études se sont intéressées, de manière ciblée, à certains métabolites comme le GPC (GlyceroPhosphoCholine). Le GPC est un phosphodiester décrit par des études ultérieures (33) comme étant majoritairement produit par les cellules de l'épididyme et étant présent de manière importante dans le plasma séminal chez l'homme (34). Il est hydrolysé en choline dans le sperme par le biais de la phosphatase acide prostatique (34) et participe à la formation de la membrane spermatique, ainsi qu'au transport et au métabolisme du cholestérol (35). Hamamah et al. ont été les premiers, en 1993, à avoir mis en évidence une signature différente entre une azoospermie obstructive et une azoospermie sécrétoire, avec notamment une différence significative du ratio GPE (GlyceroPhosphoétanolamine)/GPC entre ces deux groupes de patients. En 1994 Lynch et al. ont réalisé une cartographie des métabolites du LS avec une centaine de métabolites retrouvés au total. En parallèle ils ont étudié le contenu métabolique des sécrétions prostatiques et celles des vésicules séminales, mettant en évidence 3 métabolites prédominants au niveau des sécrétions prostatique : citrate, spermine et myo-inositol, et 3 au niveau des vésicules séminales : peptides, lactate, GPC (34). Ils ont montré également une différence des rapports citrate/choline et spermine/choline entre le groupe de patients normaux et le groupe de patients ayant une azoospermie obstructive. Quatre ans plus tard, Hamamah et al. (36) ont objectivé une différence du rapport GPC/choline entre le groupe d'azoospermie obstructive et celui des azoospermies sécrétoires. Le citrate et le GPC sont devenus par la suite des

marqueurs de la biochimie séminale. Le citrate comme un marqueur de la prostate et le GPC peut être utilisé comme marqueur de l'épididyme cependant il a été montré que l' α -glucosidase neutre est un marqueur plus spécifique et sensible (37).

- Le deuxième objectif de l'étude des métabolites du LS est, en cas d'azoospermie sécrétoire, de mettre en évidence une éventuelle spermatogenèse résiduelle, afin de cibler au mieux les indications des biopsies testiculaires (BT).

En 2017 tout d'abord Gilany et al. ont mis en évidence 36 métabolites discriminants retrouvés principalement chez les hommes atteints d'azoospermie sécrétoire (38). Malheureusement sur la base de données du métabolome humain seulement 5 ont pu être identifiés. Ces métabolites ont été principalement retrouvés dans le groupe de patients chez qui la biopsie testiculaire n'avait pas permis d'obtenir de spermatozoïde, et sont principalement d'origine alimentaire et environnementale. Il s'agit notamment de l'acide tartrique qui est une toxine retrouvée dans les plantes et le vin, du 2,2,4,4,6,6-hexaméthyl-1,3,5-trithiane qui est un additif alimentaire, du darwinol que l'on retrouve dans le thé et les épices, et enfin de l'acide 4,5-diméthoxy-1,2-benzènedicarboxylique qui est un dérivé des phtalates. Ces derniers sont connus pour être des perturbateurs endocriniens et de précédentes études ont déjà démontré un impact sur la qualité spermatique de ces molécules (39).

En 2018 une étude similaire a été réalisée par la même équipe, cette fois par raman spectrométrie, couplée à une analyse par chimioluminescence mesurant les ROS (Reactive Oxygen Species). Celle-ci a montré que les patients BT positive (BT+) et les patients BT négative (BT-) pouvaient être classés en deux groupes différents (Figure 15).

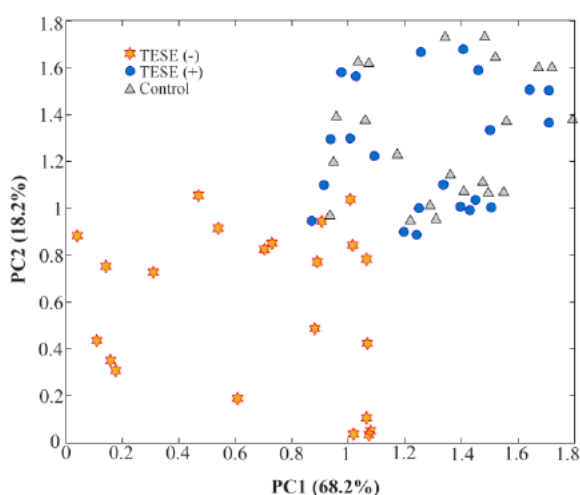


Figure 15. Résultats de l'analyse en composante principale des trois groupes BT+ (●), BT- (★) et Témoins (Δ).

(Gilany, 2018)

Les différents métabolites séparant les 2 groupes n'ont pas été détaillés mais, selon les auteurs, il en ressort que la voie des polyols pourrait être une base d'étude pour la recherche d'un éventuel biomarqueur de l'azoospermie non obstructive (40).

Dans le spermatozoïde la voie des polyols est médiée par deux enzymes l'aldose réductase (qui permet la réduction du glucose en sorbitol) et la sorbitol déshydrogénase (qui permet l'oxydation du sorbitol en fructose). Ces deux enzymes ont pu être mises en évidence dans les épидидymosomes chez l'homme (41), mais leur implication dans la maturation des spermatozoïdes reste à définir. Cette voie pourrait être impliquée dans la mobilité des spermatozoïdes ou encore par le biais du sorbitol réguler le volume de ces derniers (42).

On retrouve également un déséquilibre de la balance oxydative dans le groupe BT-.

3.1.2. Altération des paramètres spermatiques

D'autres études se sont intéressées aux perturbations métaboliques du liquide séminal en cas d'altération d'un ou plusieurs paramètres spermatiques. Parmi les 7 études concernées (Tableau II) ressortent principalement des altérations au niveau de 3 voies métaboliques.

- La première voie métabolique impactée est celle du métabolisme énergétique. Nous avons vu, dans la partie concernant les spermatozoïdes, l'importance du métabolisme des carbonhydrates et des lipides dans le fonctionnement spermatique. Dans le LS, il a été retrouvé une diminution de certains métabolites intermédiaires du cycle de Krebs chez les patients présentant asthénospermie ou une OAT. Il s'agit notamment du citrate (43-45), de l' α -cetoglutarate (45), du succinate et du malate (43). Il a aussi été mis en évidence une altération des voies de la glycolyse objectivée par des modifications des concentrations en pyruvate et en lactate. Une diminution des concentrations en pyruvate est constatée dans les cas d'asthénospermie isolée (43,45), associée à une augmentation des concentrations en lactate, qui pourrait traduire une métabolisation excessive du pyruvate vers la voie de la glycolyse anaérobie au détriment du cycle de Krebs. Chez l'OAT il a en revanche été montrée une diminution des concentrations en lactate (44,46) pouvant refléter une diminution de la glycolyse.

Une altération de la voie de la beta oxydation des acides gras a également été décrite, principalement dans les OAT, avec un taux abaissé de carnitine et d'acylcarnitines (47). Ces métabolites ont pu être corrélés à la numération des spermatozoïdes (22), ainsi que les propionylcarnitines (48). Il est important de remarquer que les acylcarnitines jouent également un rôle dans la protection des spermatozoïdes contre les dommages oxydatifs (22).

- La seconde grande voie métabolique impactée est celle des lipides. Ils ont plusieurs rôles importants pour le spermatozoïde.

-Premièrement ce sont les principaux constituants de la membrane spermatique.

Cette dernière est composée d'un mélange de phospholipides, de stérol, et de glycolipides. Les phospholipides sont prédominants, vient ensuite le cholestérol et enfin les glycolipides. On note une asymétrie membranaire dans la composition en phospholipides avec une prédominance de phosphatidylcholine au niveau de la partie externe de la membrane et de phosphatidylsérine et phosphatidyléanolamine au niveau de la partie interne.

Liés à ces phospholipides on retrouve des acides gras (AG) saturés tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique et de manière plus importante des acides gras polyinsaturés dont les principaux sont l'acide arachidonique et l'acide docosahexaénoïque (DHA).

La composition de la membrane spermatique va subir de nombreux changements au cours de la maturation épидидymaire, au contact du liquide séminal et au cours du processus de capacitation dans le tractus génital féminin.

Au cours de la maturation épидидymaire on note une augmentation du rapport cholestérol/phospholipides. La membrane spermatique gagne ainsi en rigidité et stabilité.

Après l'éjaculation, au contact du liquide séminal la membrane va échanger avec des vésicules lipidiques provenant des sécrétions des glandes annexes (vésiculosomes, prostasomes,...) entraînant la formation de radeaux lipidiques qui auront un rôle important dans les processus de signalisation cellulaire.

Durant le processus de capacitation, dans le tractus génital féminin, une partie du cholestérol membranaire spermatique va être éliminée. Ceci entraîne une déstabilisation de la membrane qui permettra une entrée importante de calcium dans le spermatozoïde indispensable à la réaction acrosomique.

En ce qui concerne la fusion membranaire entre le spermatozoïde et l'ovocyte, on peut noter une implication des lipides avec la relocalisation de certaines protéines dans des zones riches en radeaux lipidiques (49) ou encore avec l'activation de certains complexes protéiques par le biais de l'acide arachidonique par exemple.

Il existe donc tout au long du parcours du spermatozoïde des échanges, entre sa membrane plasmique et les lipides des milieux environnants (dont le LS), qui sont susceptibles de conditionner le fonctionnement et le pouvoir fécondant de cette cellule.

-Deuxièmement, les lipides interviennent dans des voies métaboliques importantes telles que les voies énergétiques (beta-oxydation) ou la synthèse hormonale (hormones stéroïdes). Les lipides du LS peuvent donc servir à la fois de ressource énergétique pour le spermatozoïde mais aussi être le reflet de certains processus essentiels à la spermatogenèse comme la stéroïdogénèse.

Des anomalies dans la composition lipidique du LS ont été mises en évidence en cas d'altération des paramètres spermatiques. En fonction des études et de leur caractère ciblé ou non, différentes classes de lipides ont été impliquées.

Une diminution des apolipoprotéines LDL et VLDL ainsi qu'une augmentation des stérols, et notamment des oxystérols, ont été mises en évidence chez les patients présentant une asthénospermie (35). Le cholestérol est retrouvé diminué en cas de tératospermie (50).

Concernant les AG du LS, une étude ciblée réalisée en 2017 par Tang et al., a montré une augmentation des taux d'acide oléique et palmitique chez les patients asthénospermiques (51).

En outre, une étude sur l'acide arachidonique et ses métabolites a permis d'objectiver une altération de son métabolisme chez ces patients, possiblement lié à une activation importante de l'activité P38 MAPKinase via les voies du cytochrome P450 et de la lipoxigénase (52). De la même manière le taux d'acides gras polyinsaturés est diminué chez l'OAT (47).

D'autres classes de lipides ont été montrées comme liées à diverses anomalies spermatiques. Une augmentation de la choline et de ces dérivés a été associée à l'asthénospermie et la tératospermie (35,50), mais aussi à l'oligospermie (53). Paradoxalement chez l'OAT une diminution de ces métabolites a été montrée par d'autres études (45,47). Certaines phosphatidylcholines et sphingomyélines ont aussi été corrélées à la morphologie et à la

numération des spermatozoïdes (22). Enfin, les lysosphingomyélines ont été associées à la mobilité des spermatozoïdes (48).

- La troisième voie concernée est celle des acides aminés. On dénombre, chez l'homme, une vingtaine d'acides aminés de bases, les quatre les plus abondants sont le glutamate, la glutamine, l'aspartate et l'alanine. Parmi tous les acides aminés neuf sont dit essentiels (phénylalanine, thréonine, valine, leucine, isoleucine, histidine, tryptophane, lysine, méthionine), c'est-à-dire que leur synthèse n'est pas possible ou insuffisante au sein de l'organisme, par ce fait leur apport est uniquement alimentaire. Ils sont métabolisés par trois voies principales que sont la glycolyse, le cycle des pentoses phosphates et le cycle de Krebs (Figure 16).

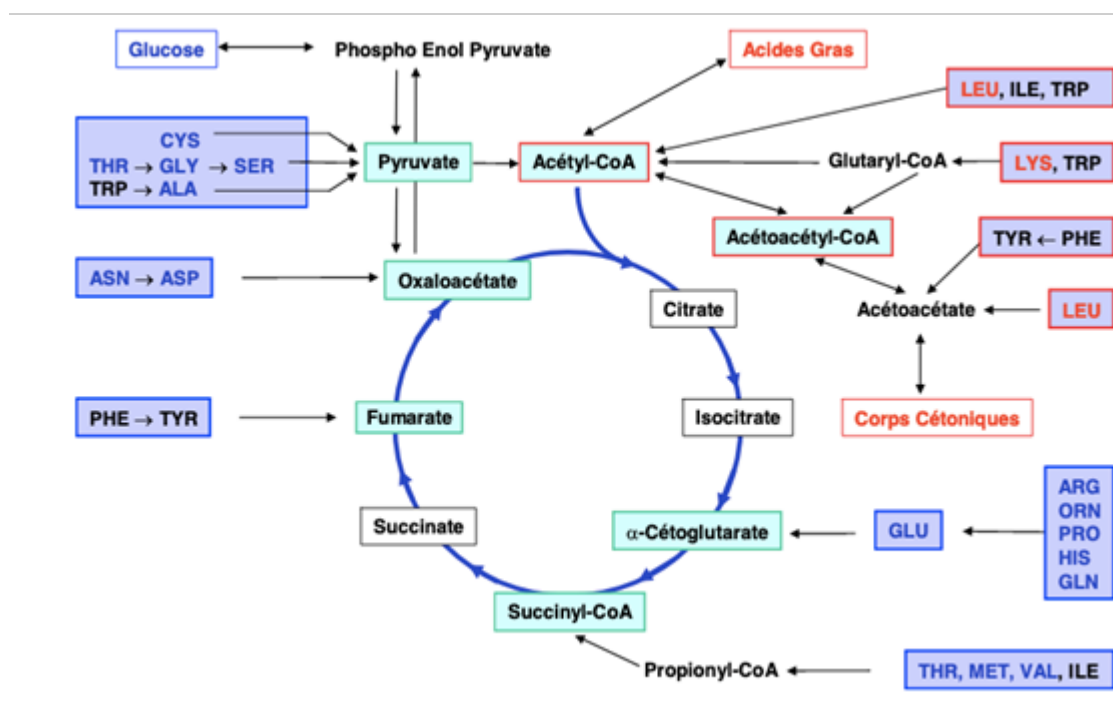


Figure 16. Vue d'ensemble du métabolisme des acides aminés. Les acides aminés glucoformateurs (en rouge), ceux cétoformateurs (en bleu) et ceux à la fois gluco- et cétoformateurs (en noir).

(Le Treut 2006)

Les acides aminés (aa) jouent différents rôles dans l'organisme. Ils servent à la formation des protéines. Ils ont un rôle de chélateurs de produits toxiques et d'anti-oxydants. Enfin, ils participent à la signalisation cellulaire et à la production d'énergie.

Les spermatozoïdes et le LS ont été montré comme contenant la plupart des aa protéinogènes et certains des aa non protéinogènes ainsi que certaines des amines biogènes. La répartition de ces composés est différente entre les 2 compartiments et leur quantité totale supérieure dans le LS. Certains de ces composés du LS ont pu être reliés à la qualité spermatique. En particulier la plupart des aa protéinogènes et la carnosine étaient corrélés à la numération des spermatozoïdes (22).

- Au niveau du liquide séminal la voie de la glutamine/glutamate semble impactée chez les patients présentant une altération de la concentration ou de la morphologie des spermatozoïdes. En effet on a retrouvé une baisse des concentrations en glutamate (47,50) ainsi qu'une modification des concentrations en glutamine (45,46,50). La glutamine est obtenue à partir du glutamate grâce à une enzyme la glutaminase et une dysrégulation de l'activité de cette dernière pourrait être impliquée (35).

- On a retrouvé également chez les hommes présentant une asthénospermie ou une OAT une altération de certains acides aminés essentiels comme le tryptophane (43,47), la phénylalanine (35) ou encore la valine (45). Cette observation soulève la question d'une implication du régime alimentaire dans la qualité spermatique. Cette même question se pose devant des concentrations élevées en cystéines dans le LS de patients asthénospermiques. En effet, un régime riche en acides aminés soufrés conduit à une augmentation de la concentration en cystéine (35).

- Il a en outre été montré une modification de plusieurs acides aminés ou de leurs dérivés possédant des propriétés anti-oxydantes, quel que soit l'altération de la qualité spermatique.

Dans l'organisme les réactions métaboliques utilisant l'oxygène vont aboutir à la formation de ROS. Dans le liquide séminal les ROS sont produits de manière endogène principalement par les leucocytes et les cellules germinales immatures. Ils peuvent également être d'origine exogène en lien avec une exposition au tabac, à l'alcool ou encore à certains polluants environnementaux comme les phtalates. A concentration physiologique les ROS jouent un rôle important dans le processus de maturation épидidymaire des spermatozoïdes, leur capacitation

et la réaction acrosomique. En concentration supra-physiologique ils peuvent devenir toxiques pour la cellule et entraîner une atteinte membranaire par peroxydation des lipides ou des dommages de l'ADN (54). Pour leur permettre de rester en concentration physiologique, il existe des systèmes antioxydants de nature enzymatique (les glutathion peroxydases (GTX) étant les plus représentées dans l'organisme) ou non enzymatiques tels que des vitamines (C, E ...), des protéines (albumine), ou encore certains acides aminés (arginine, taurine, ...).

Dans diverses études sur le LS on a retrouvé une altération du tryptophane (43,47) qui agit en piégeant les radicaux libres (55), de la spermine (43,45,47) qui pourrait neutraliser l'action des radicaux libres (soit en entraînant une modification de la conformation de l'ADN soit en bloquant les interactions entre les ROS et l'ADN (56)), de la taurine qui est connue pour piéger les radicaux libres (50). La taurine est dérivée de la cystéine qui est un précurseur des GTX.

-Enfin il a été mis en évidence une altération de certains acides aminés impliqués dans la synthèse de neurotransmetteurs, comme la phénylalanine (35) qui est métabolisée en tyrosine puis en dopamine ou encore le tryptophane (43,47) qui est à l'origine de la sérotonine. Il a été montré que chez les mammifères, les spermatozoïdes expriment un nombre important de récepteurs à la sérotonine, et que cette dernière est associée à une augmentation de la mobilité par le biais de la phosphorylation de la tyrosine (57). D'autres acides aminés, retrouvés diminués en cas d'anomalie d'un des paramètres spermatiques, agissent sur le récepteur NMDA (N-méthyl-D-Aspartate) qui est un récepteur ionotrope impliqué habituellement dans la plasticité synaptique et qui joue un rôle dans la réaction acrosomale du spermatozoïde (58). Ce récepteur est normalement activé par le glutamate et la glycine mais aussi par d'autres acides aminés, retrouvés diminués dans différentes études, comme l'aspartate diminué en cas d'oligospermie ou d'OAT (45,47,53). L'aspartate est en outre un dérivé de la lysine elle-même diminuée chez l'OAT (45,47).

-Concernant les amines biogènes,

Le taux de créatinine du LS a été inversement corrélé à la mobilité spermatique (22,35). Ceci pourrait être en relation avec l'élévation de l'activité de la créatine kinase chez les patients hypofertiles (59).

Le produit de dégradation de l'Arginine est la putrescine qui est ensuite transformée en spermidine et spermine. Cette dernière serait essentielle au processus de décapacitation spermatique préalable nécessaire aux phénomènes de capacitation et de réaction acrosomique (60). Elle a été corrélée à la mobilité spermatique (22,48)

3.2. Métabolomique du LS et infertilité inexplicée

La dernière grande cause d'infertilité explorée en métabolomique est l'infertilité masculine inexplicée. Plusieurs équipes se sont penchées sur le sujet (Tableau II), faisant ressortir principalement une altération du métabolisme des acides aminés avec une diminution notamment de la glycine, de la sérine, de la thréonine, de la proline et de la valine, de la lysine (61), du tryptophane, de la phénylalanine (44) et de l'isoleucine. On retrouve également une diminution des concentrations en acide 4-hydroxyphenylacétique, ce métabolite est obtenu à partir de la tyrosine par les bactéries entériques et peut également être apporté par l'alimentation (huile d'olive), c'est un composé phénolique ce qui lui confère des propriétés anti-oxydantes (55). Tout ceci peut traduire un déséquilibre de la balance oxydative, ainsi qu'une incidence du régime alimentaire dans l'infertilité masculine inexplicée.

3.3. Métabolomique du LS et pathologies spécifiques

Certaines études de métabolomiques du LS se sont intéressées à des pathologies spécifiques, susceptibles d'entraîner une infertilité, dans le but de déterminer des biomarqueurs et/ou de mieux appréhender la physiopathologie et l'impact de ces pathologies sur la fertilité (Tableau II).

Certaines études se sont penchées sur l'influence de l'obésité sur la fertilité masculine. Guo et al., après avoir montré grâce à une méta analyse l'influence de l'IMC sur la l'altération des paramètres spermatiques (62), ont réalisé une étude métabolomique sur le LS de 128 patients. Ils ont mis en évidence une augmentation des taux de spermine et spermidine chez les patients obèses avec des paramètres spermatiques altérés par rapport au groupe de patient normospermiques ayant un IMC normal.

En 2019, Huang et al. ont étudié le liquide séminal de 98 patients présentant une altération des paramètres spermatiques associée à l'exposition à trois toxiques environnementaux : l'arsenic, les phtalates et les composés perfluorés. Ils ont ainsi pu retrouver un certain nombre de métabolites possiblement impliqués dans la physiopathologie de ce processus (63). Il en ressort 5 métabolites d'intérêts : l'eicosatetraenoate, les carnitines et l'acide décosahexaénoïque (DHA) qui semblent corrélés à l'impact de l'arsenic sur la concentration des spermatozoïdes et qui, associés au Prostaglandine B2 (PGB2) et au tocotrienol, sont corrélés à l'impact des composés perfluorés sur la concentration des spermatozoïdes.

En 2015, Bonechi et al. ont réalisé une étude visant à distinguer une leucospermie isolée, d'une leucospermie associée à une varicocèle (32). Ils ont ainsi pu mettre en évidence 7 métabolites discriminants qui sont le GPC, la choline, la phénylalanine, le citrate, le lactate, l'histidine et l'uridine.

Enfin, une étude a été réalisée en 2017 par Roberts et al. sur le plasma séminal de 151 hommes suspects ou ayant été diagnostiqués pour un cancer de la prostate (64), dans le but de mettre en évidence des biomarqueurs spécifiques du cancer localisé de la prostate. Cette étude a pu montrer 3 métabolites: la choline, la leucine et la valine significativement associés au cancer de la prostate. Cependant la quantification de ces métabolites n'améliorait pas de manière significative la prédiction du cancer par rapport au dosage sérique des PSA.

CONCLUSION

La métabolomique du sperme est un outil prometteur dans le diagnostic de l'infertilité masculine. Il s'agit d'une technique non invasive, moins coûteuses que d'autres en cours de développement (comme certaines analyses génétiques). Cet outil permettrait d'aller au-delà de ce qu'il est aujourd'hui possible de faire par la simple réalisation du spermogramme qui est l'examen central du bilan de l'homme infertile.

D'une part, il permettrait de déterminer des signatures susceptibles de caractériser certaines infertilités considérées jusqu'ici comme inexpliquées. Ceci est illustré par l'étude de Qiao et al. qui, de cette manière, ont pu différencier avec une spécificité de 92%, un groupe présentant une infertilité idiopathique d'un groupe de témoins fertiles.

D'autre part, il permettrait d'affiner le pronostic des patients présentant des altérations spermatiques quant à leur capacité d'obtenir une grossesse, spontanée ou après AMP.

Enfin, il pourrait servir à mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent l'infertilité et à évaluer l'impact des facteurs exogènes pouvant les influencer. Ainsi, l'étude du tissu testiculaire a permis, en confrontant l'histologie à la métabolomique, de noter une diminution significative de la phosphocholine chez des patients azoospermiques non obstructifs (65), ou encore d'observer des spectres d'intensités différentes, en raman spectrométrie, entre les azoospermies obstructives et non obstructives (66).

Des 27 études que nous avons analysées, il ressort une altération de grandes voies métaboliques comme celle de la production d'énergie, du métabolisme des lipides, des acides aminés ou encore celle du métabolisme oxydatif.

Cependant l'hétérogénéité des techniques d'analyse, les potentiels facteurs confondants (comme l'âge, la nationalité, l'exposition à différents facteurs environnementaux), le nombre important de métabolites n'ayant pas pu être identifiés par les bases de données actuelles, la diversité des étiologies investiguées et bien souvent les petits effectifs de patients, ne permettent pas à ce jour d'identifier un panel de biomarqueurs cohérent pour un type d'infertilité donné.

D'autres études sur des cohortes de plus grande importance, répétées sur des populations différentes, seront nécessaires. En outre, la matrice considérée (sperme) est susceptible de subir des modifications au cours du temps et il serait intéressant d'envisager une étude analysant la composition métabolique du LS chez les mêmes patients au cours du temps.

La meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'infertilité et l'établissement d'un panel de biomarqueurs métabolomiques de l'infertilité masculine permettrait une prise en charge plus personnalisée des patients et le développement de traitements spécifiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Agarwal A, Sharma R, Durairajanayagam D, Cui Z, Ayaz A, Gupta S, et al. Differential Proteomic Profiling of Spermatozoal Proteins of Infertile Men With Unilateral or Bilateral Varicocele. *Urology*. mars 2015;85(3):580-8.
2. 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*. févr 2013;28(2):462-70.
3. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I, et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. *Hum Reprod Update*. 1 nov 2017;23(6):646-59.
4. Mima M, Greenwald D, Ohlander S. Environmental Toxins and Male Fertility. *Curr Urol Rep*. juill 2018;19(7):50.
5. Hamilton JAM, Cissen M, Brandes M, Smeenk MJ, de Bruin JP, Kremer JAM, et al. Total motile sperm count: a better indicator for the severity of male factor infertility than the WHO sperm classification system. *Hum Reprod*. 1 mai 2015;30(5):1110-21.
6. Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained Male infertility: diagnosis and Management. *Int Braz J Urol*. oct 2012;38(5):576-94.
7. Garrido N, García-Herrero S, Meseguer M. Assessment of sperm using mRNA microarray technology. *Fertil Steril*. mars 2013;99(4):1008-22.
8. Bonache S, Mata A, Ramos MD, Bassas L, Larriba S. Sperm gene expression profile is related to pregnancy rate after insemination and is predictive of low fecundity in normozoospermic men. *Hum Reprod*. juin 2012;27(6):1556-67.
9. Selvam, Agarwal, Pushparaj, Baskaran, Bendou. Sperm Proteome Analysis and Identification of Fertility-Associated Biomarkers in Unexplained Male Infertility. *Genes*. 11 juill 2019;10(7):522.
10. Liu M, Hu Z, Qi L, Wang J, Zhou T, Guo Y, et al. Scanning of novel cancer/testis proteins by human testis proteomic analysis. *PROTEOMICS*. avr 2013;13(7):1200-10.
11. Drabovich AP, Dimitromanolakis A, Saraon P, Soosaipillai A, Batruch I, Mullen B, et al. Differential diagnosis of azoospermia with proteomic biomarkers ECM1 and TEX101 quantified in seminal plasma. *Sci Transl Med*. 2013;5(212):212ra160.
12. Oliver S. Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends Biotechnol*. 1 sept 1998;16(9):373-8.
13. Fiehn O. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol*. janv 2002;48(1-2):155-71.
14. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, et al. HMDB 3.0—The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic Acids Res*. 17 nov 2012;41(D1):D801-7.
15. Royer A-L, Escourrou A, Guitton Y, Dervilly-Pinel G, Antignac J-P, Bizec BL. L'approche métabolomique par spectrométrie de masse : évidences, incertitudes et points critiques. 2017;8.
16. Deepinder F, Chowdary HT, Agarwal A. Role of metabolomic analysis of biomarkers in the management of male infertility. *Expert Rev Mol Diagn*. juill 2007;7(4):351-8.

17. Pasikanti KK, Ho PC, Chan ECY. Gas chromatography/mass spectrometry in metabolic profiling of biological fluids. *J Chromatogr B*. 2008;10.
18. Courant F, Antignac J-P, Monteau F, Le Bizec B. Metabolomics as a Potential New Approach for Investigating Human Reproductive Disorders. *J Proteome Res*. 7 juin 2013;12(6):2914-20.
19. Ganti S, Weiss RH. Urine metabolomics for kidney cancer detection and biomarker discovery. *Urol Oncol Semin Orig Invest*. sept 2011;29(5):551-7.
20. Gibney MJ, Walsh M, Brennan L, Roche HM, German B, van Ommen B. Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges. *Nutrients*. 2017;9(1):1-7.
21. Steuer AE, Brockbals L, Kraemer T. Metabolomic Strategies in Biomarker Research—New Approach for Indirect Identification of Drug Consumption and Sample Manipulation in Clinical and Forensic Toxicology? *Front Chem*. 10 mai 2019;7:319.
22. Engel KM, Baumann S, Rolle-Kampczyk U, Schiller J, von Bergen M, Grunewald S. Metabolomic profiling reveals correlations between spermogram parameters and the metabolites present in human spermatozoa and seminal plasma. *Amendola R, éditeur. PLOS ONE*. 20 févr 2019;14(2):e0211679.
23. Panner Selvam MK, Finelli R, Agarwal A, Henkel R. Proteomics and metabolomics — Current and future perspectives in clinical andrology. *Andrologia* [Internet]. mars 2021 [cité 17 mars 2021];53(2). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.13711>
24. Reynolds S, Calvert SJ, Paley MN, Pacey AA. ¹H Magnetic Resonance Spectroscopy of live human sperm. *MHR Basic Sci Reprod Med*. 1 juill 2017;23(7):441-51.
25. Paiva C, Amaral A, Rodriguez M, Canyellas N, Correig X, Ballesca JL, et al. Identification of endogenous metabolites in human sperm cells using proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Andrology*. mai 2015;3(3):496-505.
26. du Plessis S, Agarwal A, Mohanty G, van der Linde M. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: what fuel do spermatozoa use? *Asian J Androl*. 2015;17(2):230.
27. Amaral A, Castillo J, Estanyol JM, Ballesca JL. Human Sperm Tail Proteome Suggests New Endogenous Metabolic Pathways. *PLoS ONE*. 2013;8(1):1-13.
28. Fu L, Liu Y, An Q, Zhang J, Tong Y, Zhou F, et al. Glycolysis metabolic changes in sperm cryopreservation based on a targeted metabolomic strategy. *PLoS ONE*. 2017;12(1):1-17.
29. Raad G, Lteif L, Lahoud R, Azoury J, Azoury J, Tanios J, et al. Cryopreservation media differentially affect sperm motility, morphology and DNA integrity. *Andrology*. nov 2018;6(6):836-45.
30. Zhao K, Zhang J, Xu Z, Xu Y, Xu A, Chen W, et al. Metabolomic Profiling of Human Spermatozoa in Idiopathic Asthenozoospermia Patients Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *BioMed Res Int*. 2018;2018:1-8.
31. Dudiki T, Kadunganattil S, Ferrara JK, Kline DW, Vijayaraghavan S. Changes in Carboxy Methylation and Tyrosine Phosphorylation of Protein Phosphatase PP2A Are Associated with Epididymal Sperm Maturation and Motility. *Janssens V, éditeur. PLOS ONE*. 16 nov 2015;10(11):e0141961.
32. Bonechi C. Discrimination of human semen specimens by NMR data, sperm parameters, and statistical analysis. *Syst Biol Reprod Med*. 2010;36(1):1-8.
33. Arrata WSM, Burt T, Corder S. The Role of Phosphate Esters in Male Fertility. Presented at the Thirty-Fourth Annual Meeting of The American Fertility Society, March 29 to April 1, 1978, New Orleans, La. *Fertil Steril*. sept 1978;30(3):329-33.

34. Lynch MJ, Masters J, Pryor JP, Lindon JC, Spraul M, Foxall PJD, et al. Ultra high field NMR spectroscopic studies on human seminal fluid, seminal vesicle and prostatic secretions. *J Pharm Biomed Anal.* janv 1994;12(1):5-19.
35. Zhang X, Diao R, Zhu X, Li Z, Cai Z. Metabolic characterization of asthenozoospermia using nontargeted seminal plasma metabolomics. *Clin Chim Acta.* oct 2015;450:254-61.
36. Hamamah S, Seguin F, Bujan L, Barthelemy C, Mieusset R, Lansac J. Quantification by magnetic resonance spectroscopy of metabolites in seminal plasma able to differentiate different forms of azoospermia. *Hum Reprod.* 1 janv 1998;13(1):132-5.
37. Cooper TG, Weidner W, Nieschlag E. The influence of inflammation of the human male genital tract on secretion of the seminal markers α -glucosidase, glycerophosphocholine, carnitine, fructose and citric acid. *Int J Androl.* oct 1990;13(5):329-36.
38. Gilany K, Mani-Varnosfaderani A, Minai-Tehrani A, Mirzajani F, Ghassempour A, Sadeghi MR, et al. Untargeted metabolomic profiling of seminal plasma in nonobstructive azoospermia men: A noninvasive detection of spermatogenesis. *Biomed Chromatogr.* août 2017;31(8):e3931.
39. Sharma A, Mollier J, Brocklesby RWK, Caves C, Jayasena CN, Minhas S. Endocrine-disrupting chemicals and male reproductive health. *Reprod Med Biol.* juill 2020;19(3):243-53.
40. Gilany K, Jafarzadeh N, Mani-Varnosfaderani A, Minai-Tehrani A, Reza M, Darbandi M, et al. Metabolic Fingerprinting of Seminal Plasma from Non-obstructive Azoospermia Patients: Positive Versus Negative Sperm Retrieval. 2018;19(2):6.
41. Frenette G. Polyol Pathway in Human Epididymis and Semen. *J Androl.* 1 mars 2006;27(2):233-9.
42. Sullivan R, Frenette G, Girouard J. Epididymosomes are involved in the acquisition of new sperm proteins during epididymal transit. *Asian J Androl.* juill 2007;9(4):483-91.
43. Chen L, Wen C, Deng M, Ping-Li, Zhang Z, Zhou Z, et al. Metabolic and transcriptional changes in seminal plasma of asthenozoospermia patients. *Biomed Chromatogr [Internet].* mars 2020 [cité 17 mars 2021];34(3). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bmc.4769>
44. Gupta A, Mahdi AA, Ahmad MK, Shukla KK, Jaiswer SP, Shankhwar SN. 1H NMR spectroscopic studies on human seminal plasma: A probative discriminant function analysis classification model. *J Pharm Biomed Anal.* janv 2011;54(1):106-13.
45. Mumcu A, Karaer A, Dogan B, Tuncay G. Metabolomics analysis of seminal plasma in patients with idiopathic Oligoasthenoteratozoospermia using high-resolution NMR spectroscopy. *Andrology.* mars 2020;8(2):450-6.
46. Gupta A, Mahdi AA, Shukla KK, Ahmad MK, Bansal N, Sankhwar P, et al. Efficacy of Withania somnifera on seminal plasma metabolites of infertile males: A proton NMR study at 800MHz. *J Ethnopharmacol.* août 2013;149(1):208-14.
47. Boguenet M, Bocca C, Bouet P, Serri O, Chupin S, Tessier L, et al. Metabolomic signature of the seminal plasma in men with severe oligoasthenospermia. *Andrology.* nov 2020;8(6):1859-66.
48. Xu Y, Lu H, Wang Y, Zhang Z, Wu Q. Comprehensive metabolic profiles of seminal plasma with different forms of male infertility and their correlation with sperm parameters. *J Pharm Biomed Anal.* janv 2020;177:112888.
49. Tsai P-S, Tsai P-S, De Vries KJ, Tsai P-S, De Vries KJ, De Boer-Brouwer M, et al. Syntaxin and VAMP association with lipid rafts depends on cholesterol depletion in capacitating sperm cells. *Mol Membr Biol.* janv 2007;24(4):313-24.

50. Mehrparvar B, Chashmnam S, Nobakht F, Amini M, Javidi A, Minai-Tehrani A, et al. Metabolic profiling of seminal plasma from teratozoospermia patients. *J Pharm Biomed Anal.* janv 2020;178:112903.
51. Tang B, Shang X, Qi H, Li J, Ma B, An G, et al. Metabonomic analysis of fatty acids in seminal plasma between healthy and asthenozoospermic men based on gas chromatography mass spectrometry. *Andrologia.* nov 2017;49(9):e12744.
52. Yu L, Yang X, Ma B, Ying H, Shang X, He B, et al. Abnormal arachidonic acid metabolic network may reduce sperm motility via P38 MAPK. *Open Biol.* avr 2019;9(4):180091.
53. Murgia F, Corda V, Serrenti M, Usai V, Santoru ML, Hurt KJ, et al. Seminal Fluid Metabolomic Markers of Oligozoospermic Infertility in Humans. *Metabolites.* 11 févr 2020;10(2):64.
54. Barati E, Nikzad H, Karimian M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. *Cell Mol Life Sci.* janv 2020;77(1):93-113.
55. Qiao S, Wu W, Chen M, Tang Q, Xia Y, Jia W, et al. Seminal plasma metabolomics approach for the diagnosis of unexplained male infertility. *Drevet JR, éditeur. PLOS ONE.* 10 août 2017;12(8):e0181115.
56. Rider JE, Hacker A, Mackintosh CA, Pegg AE, Woster PM, Casero RA. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids.* août 2007;33(2):231-40.
57. Jiménez-Trejo F, Tapia-Rodríguez M, Cerbón M, Kuhn DM, Manjarrez-Gutiérrez G, Mendoza-Rodríguez CA, et al. Evidence of 5-HT components in human sperm: implications for protein tyrosine phosphorylation and the physiology of motility. *REPRODUCTION.* déc 2012;144(6):677-85.
58. Hu JH, Yang N, Ma YH, Jiang J, Zhang JF, Fei J, et al. Identification of Glutamate Receptors and Transporters in Mouse and Human Sperm. *J Androl.* 2 janv 2004;25(1):140-6.
59. Hallak J, Sharma RK, Pasqualotto FF, Ranganathan P, Thomas AJ, Agarwal A. CREATINE KINASE AS AN INDICATOR OF SPERM QUALITY AND MATURITY IN MEN WITH OLIGOSPERMIA. 2001;6.
60. Rubinstein S, Breitbart H. Role of spermine in mammalian sperm capacitation and acrosome reaction. *Biochem J.* 15 août 1991;278(1):25-8.
61. Jayaraman V, Ghosh S, Sengupta A, Srivastava S, Sonawat HM, Narayan PK. Identification of biochemical differences between different forms of male infertility by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. *J Assist Reprod Genet.* sept 2014;31(9):1195-204.
62. Guo D, Wu W, Tang Q, Qiao S, Chen Y, Teng M, et al. The impact of BMI on sperm parameters and the metabolite changes of seminal plasma concomitantly. :16.
63. Huang Q, Liu L, Wu Y, Wang X, Luo L, Nan B, et al. Seminal plasma metabolites mediate the associations of multiple environmental pollutants with semen quality in Chinese men. *Environ Int.* nov 2019;132:105066.
64. Roberts MJ, Richards RS, Chow CWK, Buck M, Yaxley J, Lavin MF, et al. Seminal plasma enables selection and monitoring of active surveillance candidates using nuclear magnetic resonance-based metabolomics: A preliminary investigation. *Prostate Int.* déc 2017;5(4):149-57.
65. Aaronson DS, Iman R, Walsh TJ, Kurhanewicz J, Turek PJ. A novel application of 1H magnetic resonance spectroscopy: non-invasive identification of spermatogenesis in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 1 avr 2010;25(4):847-52.
66. Liu Y, Zhu Y, Di L, Osterberg EC, Liu F, He L, et al. Raman spectroscopy as an ex vivo noninvasive approach to distinguish complete and incomplete spermatogenesis within human seminiferous tubules. *Fertil Steril.* juill 2014;102(1):54-60.e2.

LISTE DES FIGURES

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1: Schéma simplifié d'une portion transversale de tube séminifère montrant les différentes étapes de la spermatogenèse. | 2 |
| Figure 2 : Tableau de distribution des valeurs des paramètres spermatiques..... | 4 |
| Figure 3 : Variations intra-individuelles de la concentration des spermatozoïdes avec des intervalles quasi constants entre les prélèvements | 4 |
| Figure 4: Marqueurs biochimiques usuels du plasma séminal. | 5 |
| Figure 5: La métabolomique est le reflet des différents processus de l'organisme et de l'influence de l'environnement sur ce dernier.. | 7 |
| Figure 6: Workflow des principales étapes d'une étude métabolomique par MS..... | 8 |
| Figure 7: Composants d'un spectromètre de masse... .. | 9 |
| Figure 8: ESI, processus d'ionisation en phase liquide..... | 9 |
| Figure 9: Schéma d'un triple quadrupôle MS..... | 11 |
| Figure 10: Schéma de la configuration basique pour mesurer les spectres IR par transmission ou réflexion... .. | 13 |
| Figure 11: Schéma représentant la diffusion Raman et les variations d'énergie responsables de ce phénomène... .. | 13 |
| Figure 12: Différents domaines d'application de la métabolomique ayant le plus publiés entre 2001 et 2009.. | 14 |
| Figure 13: Schéma des voies métaboliques énergétiques : la glycolyse et la phosphorylation oxydative... .. | 18 |
| Figure 14: Schéma de la chaîne respiratoire mitochondriale..... | 18 |
| Figure 15: Résultats de l'analyse en composante principale des trois groupes BT+, BT- et Témoins | 24 |
| Figure 16: Vue d'ensemble du métabolisme des acides aminés... .. | 28 |

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.....16

Tableau II.....21

TABLE DES MATIERES

| | |
|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| INTRODUCTION..... | 1 |
| 1. Etat des lieux de l'infertilité masculine | 1 |
| 2. Exploration de l'infertilité masculine..... | 2 |
| 2.1. Examen central : Le spermogramme..... | 3 |
| 2.2. Examens complémentaires | 5 |
| 2.3. Développement de l'exploration de l'infertilité masculine | 6 |
| 3. La Métabolomique..... | 7 |
| 3.1. Définitions..... | 7 |
| 3.2. Les différentes techniques d'étude métabolomique..... | 8 |
| 3.2.1. La Spectrométrie de Masse (MS) | 9 |
| 3.2.2. La Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) | 11 |
| 3.2.3. La Spectroscopie Infra-rouge et Raman Spectroscopie..... | 12 |
| 3.3. Applications de la métabolomique..... | 14 |
| LA METABOLOMIQUE DU SPERME | 15 |
| 1. La Métabolomique et l'infertilité masculine..... | 15 |
| 2. La Métabolomique du Spermatozoïde..... | 16 |
| 3. La Métabolomique du Liquide Séminal | 21 |
| 3.1. Métabolomique du LS et altération de la qualité spermatique | 23 |
| 3.1.1. L'azoospermie..... | 23 |
| 3.1.2. Altération des paramètres spermatiques..... | 25 |
| 3.2. Métabolomique du LS et infertilité inexplicée..... | 31 |
| 3.3. Métabolomique du LS et pathologies spécifiques..... | 31 |
| CONCLUSION..... | 32 |
| BIBLIOGRAPHIE | 34 |
| LISTE DES FIGURES..... | 38 |
| TABLE DES MATIERES..... | 40 |
| ANNEXES | I |

ANNEXES

L'étude métabolomique du sperme et infertilité masculine : une revue de la littérature

RÉSUMÉ

L'infertilité touche en France 15 à 25 % des couples, et dans 50 % des cas une cause masculine est retrouvée. Les causes d'infertilité masculine sont multiples et plusieurs études ont montré dernièrement qu'elle était en augmentation croissante ces 10 dernières années. Peut-être notamment mis en cause l'exposition de plus en plus importante aux toxiques environnementaux et aux perturbateurs endocriniens.

Les causes de l'infertilité masculine sont multiples, elles peuvent être excrétoires ou sécrétoires. L'étiologie sécrétoire est de loin la plus fréquente.

A ce jour le bilan de l'infertilité masculine repose essentiellement sur l'étude du sperme qui consiste essentiellement en la réalisation du spermogramme. Ce dernier permet l'examen microscopique et macroscopique du sperme. Il permet de déterminer un certain nombre de paramètres quantitatifs et qualitatifs nécessaires pour la prise en charge en AMP de ces patients. Malgré son importance en pratique clinique cet examen reste un test descriptif et non fonctionnel.

Depuis le début des années 2000 on note un développement important des études utilisant les techniques « -omiques », notamment la métabolomique, qui représente l'étude du métabolome, c'est à dire des métabolites présents dans un système biologique. Les métabolites sont de très petites molécules (<1500 Da) issus du métabolisme. Ils ont des très nombreuses fonctions au sein de l'organisme et reflètent non seulement l'influence des facteurs génétiques mais également celle des facteurs environnementaux. Cette technique est non invasive et permet, d'une part d'analyser de manière exhaustive les différents métabolites constituant une matrice (approche holistique), et d'autre part d'identifier de potentiels biomarqueurs.

A ce jour une trentaine d'article (PubMed) traitant de l'infertilité masculine ont comme matrice le sperme, avec une majorité d'articles sur le liquide séminal, et plus rarement les spermatozoïdes. Il existe une diversité importante de méthodes, de techniques d'analyses et de pathologies analysées. Cette revue a pour but de faire le point sur les connaissances actuelles et de permettre ainsi d'envisager des études complémentaires orientées en fonction des données déjà établies.

Semen metabolomics and male infertility: a review of the literature

ABSTRACT

Infertility affects 15 to 25% of couples in France, and in 50% of cases a male factor is found. Male infertility causes are multiple and several studies have recently shown that it's been increasing over the last decades. One of the main reasons for this is the increasing exposure to environmental toxins and endocrine disruptors. There are multiple causes of male infertility, which may be excretory or secretory. The secretory etiology is by far the most frequent.

To this day, the assessment of male infertility is based essentially on the study of sperm, which consists essentially in the realization of a spermogram. The latter allows the microscopic and macroscopic examination of the sperm. It allows the determination of a certain number of quantitative and qualitative parameters necessary to manage these patients in ART. Despite its importance in clinical practice, this examination remains a descriptive and non-functional test.

Since the beginning of the 2000s, there has been a significant development of studies using "-omics" technologies, particularly metabolomics, which represents the study of the metabolome, i.e. the metabolites present in a biological system. Metabolites are very small molecules (<1500 Dalton) resulting from metabolism. They have many functions within the organism and reflect not only the influence of genetic factors but environmental factors also. This technique is non-invasive and allows, on the one hand, to analyze in an exhaustive way the different metabolites constituting a matrix (holistic approach), and on the other hand to identify potential biomarkers.

To this day, we find about thirty articles (PubMed) dealing with male infertility and having the sperm as a matrix, with a majority of articles on seminal fluid, and more rarely on spermatozoa. There is a significant diversity of methods, analytical techniques and pathologies analyzed.

The aim of this review is to provide an update on the current knowledge and to allow for further studies based on the data already established.