



Journée des Techniciens et Biologistes BLEFCO 27 Mars 2026

Nouveaux marqueurs de la qualité des spermatozoïdes

Pr Nicolas GATIMEL – CHU de Toulouse

Department of Reproductive Medicine, CHU Toulouse, France

DEFE (Embryo Development, Fertility, Environment), UMR1203, INSERM Université Toulouse et Montpellier, France

Nouveaux marqueurs de la qualité des spermatozoïdes



Le spermatozoïde une cellule unique



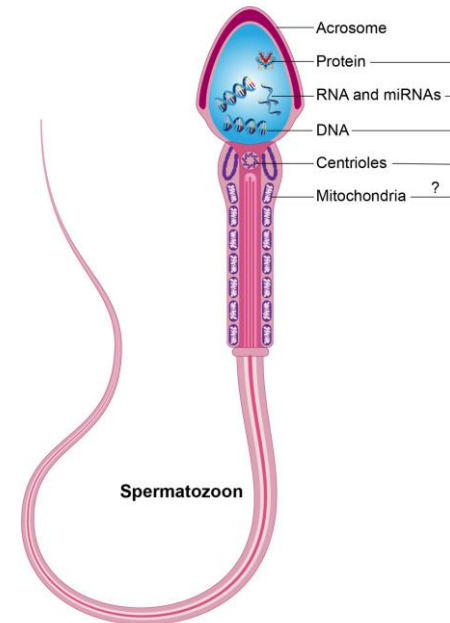
Biomarqueurs en recherche expérimentale



Biomarqueurs à intérêt clinique avancé



Conclusion et perspectives



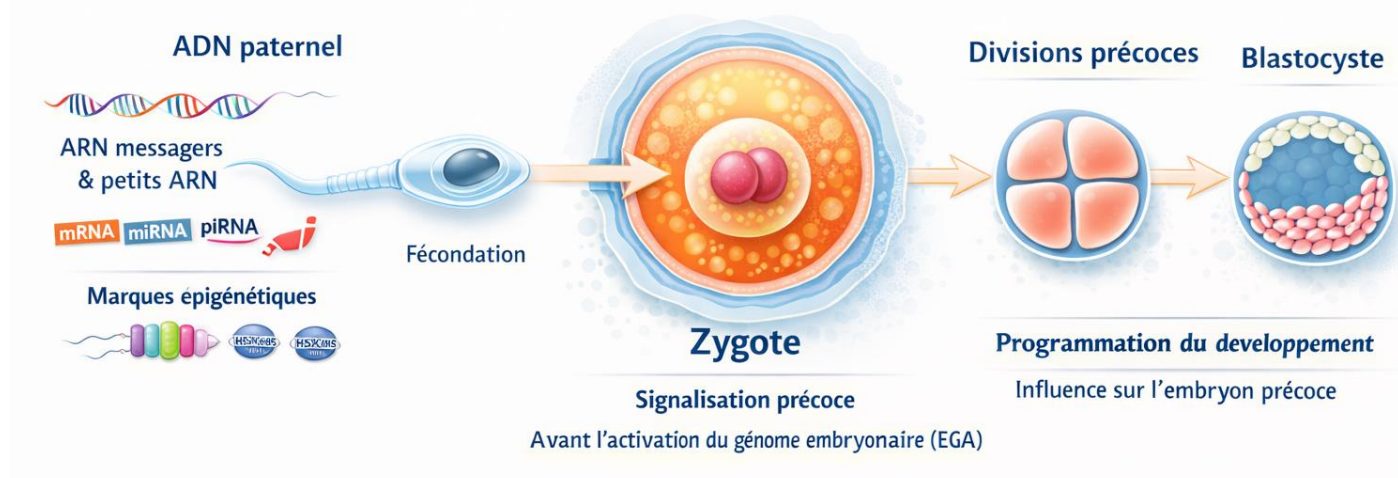
Le spermatozoïde : une cellule unique au destin unique



<https://design.cells/video/7058730933964344581>

Le spermatozoïde : une cellule unique au destin unique

Des propriétés structurales pour assurer des fonctions spécifiques :
mobilité ++ – transport et protection du matériel génétique – fécondation – développement embryonnaire



Le spermatozoïde n'est pas un simple vecteur d'ADN paternel, mais un vecteur d'information épigénétique et transcriptomique qui préconfigure le développement embryonnaire précoce.

*Ostermeier Nature 2004
Hammoud Nature 2009*

Organisation des biomarqueurs selon la physiologie du spz



Structure cellulaire

Morphologie spermatique

- spermocytogramme OMS
- anomalies morphologiques monomorphes : globozoospermie, MMAF, synd des spz macrocéphales, spz sans tête
- évaluation **structurelle**



Fonction capacitation – réaction acrosomique

Test de capacitation

Test de RA (spontanée et induite)

Test CatSper

- canal Ca^{2+} du flagelle
- hyperactivation spermatique
- compétence **fonctionnelle**



Activation ovocytaire

PLC ζ

- oscillations calciques ovocytaires
- activation de l'ovocyte
- compétence **fécondante**

Géome spermatique

Fragmentation de l'ADN

- TUNEL
- SCSA
- COMET
- intégrité **génétique**



Organisation de la chromatine

Condensation ADN

- protamines
- anomalies empaquetage ADN
- stabilité **chromatinienne**



Régulation épigénétique

Méthylation de l'ADN

- gènes imprimés
- H19 / MEST / SNRPN
- régulation **épigénétique**



Information post-transcriptionnelle

ARN non codants spermatiques

- miRNA
- piRNA
- tRNA fragments
- régulation **développement embryonnaire**

➡ Motilité et pénétration, activation ovocytaire, qualité génome, information embryonnaire, régulation épigénétique..

Agarwal et al., fragmentation ADN

Young et al., CatSper JCI 2024

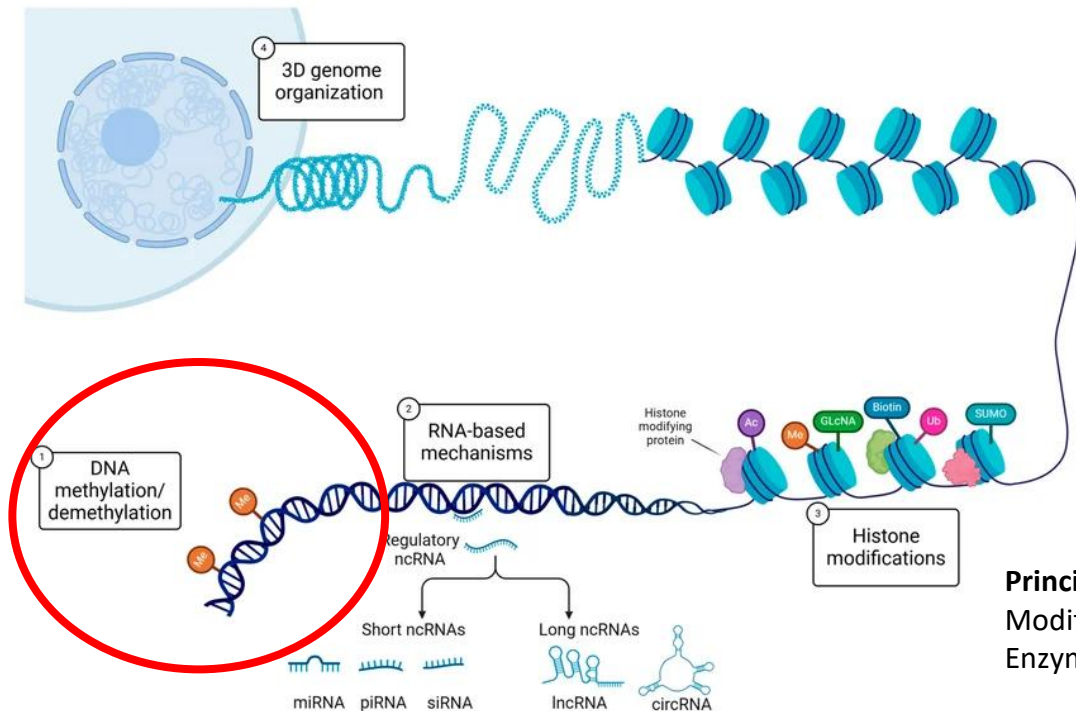
Joshi et al., small RNA spermatiques

Åsenius et al., épigénétique spermatique

Nouveaux biomarqueurs de la qualité spermatique En recherche expérimentale

Analyse de la méthylation de l'ADN spermatique

Les modifications épigénétiques du noyau spermatozoïde



Méthylation de l'ADN du spz

Importance dans le spermatozoïde

Rôle majeur dans :

- spermatogenèse
- empreinte parentale
- développement embryonnaire

Gènes fréquemment étudiés :

H19 / IGF2 / MEST / SNRPN

Principe biologique

Modification épigénétique : cytosine CpG → 5-méthylcytosine

Enzyme : **DNA méthyltransférase**

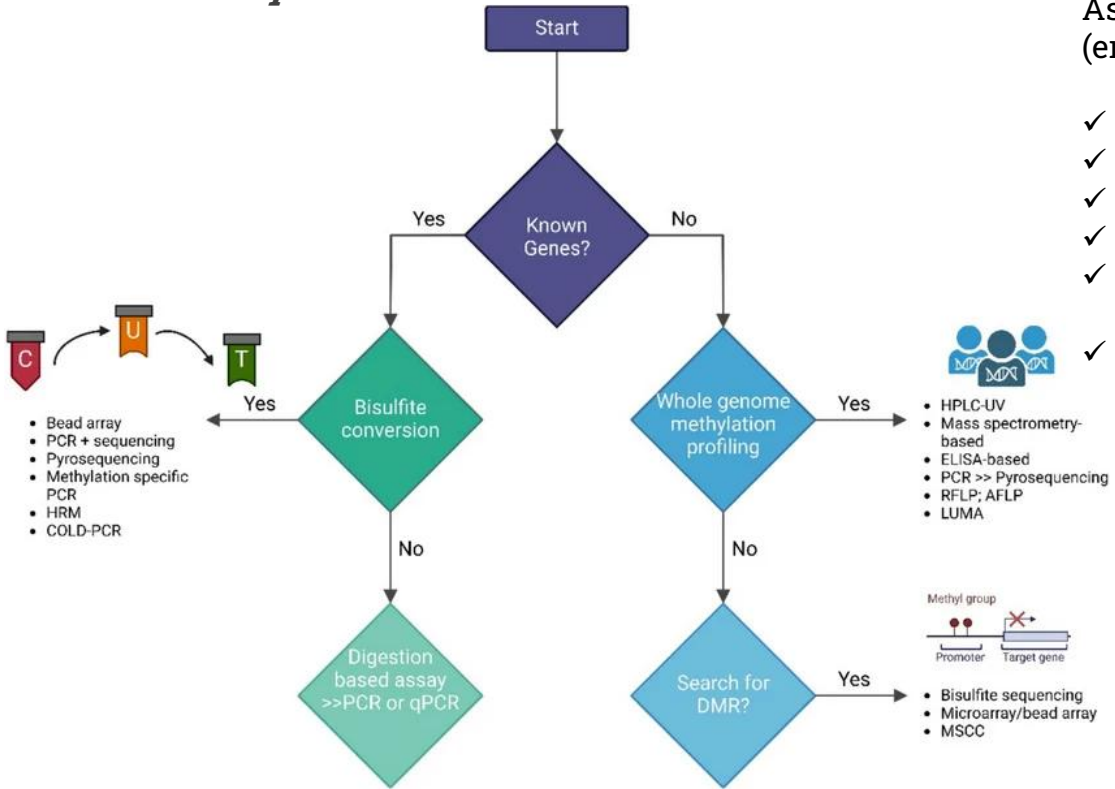
Conséquence : modulation expression génique

Asenius et al., Hum Reprod Update, 2020

Leanza et al., Biomedicines, 2024

Analyse de la méthylation de l'ADN spermatique

Techniques



Association significative anomalies de méthylation (en particulier de gènes à empreinte parentale) :

- ✓ Infertilités
- ✓ Oligozoospermies
- ✓ Tabac
- ✓ Age paternel avancé
- ✓ Polluants environnementaux

- ✓ Pas de lien encore démontré avec les issues de grossesses ou santé à la descendance

Leanza et al., Biomedicines, 2024

Analyse des microARN spermatiques

Petits ARN non codants ~22 nucléotides
Régulation de l'expression des gènes

miRNA : micro RNA

piRNA : PIWI-interacting RNA

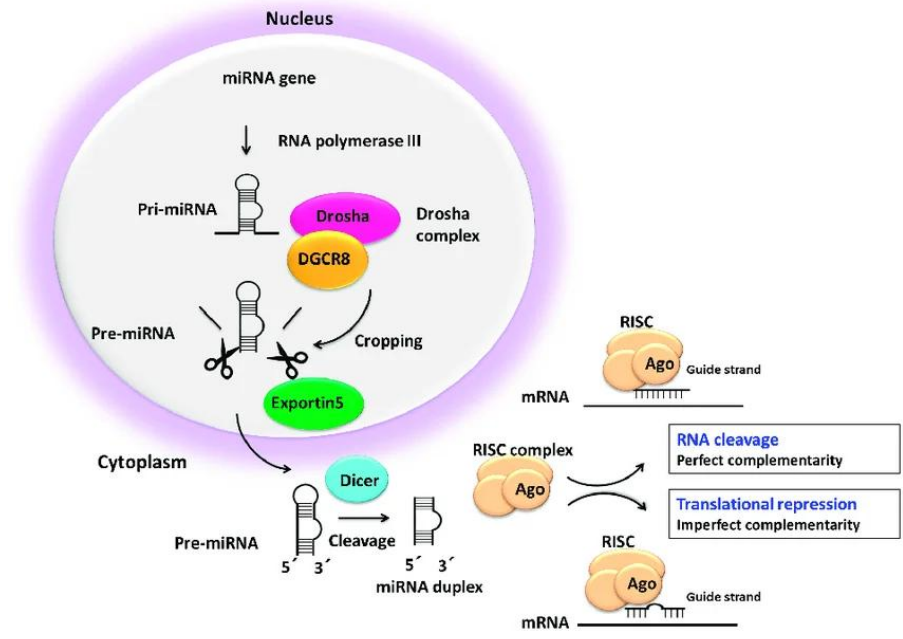
siRNA : small interfering RNA

ts-RNA : transfer RNA-derived small RNA

+ de 20000 ARN non codants dans le spz

Lecture :

profil expression microARN
→ biomarqueurs infertilité ?



Techniques analytiques

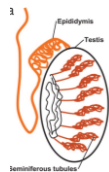
- 1 extraction ARN spermatozoïdes
- 2 reverse transcription
- 3 quantification

Techniques

- RT-qPCR
- microarrays
- RNA-seq

Analyse des microARN spermatiques

Origine : testiculaires, epididymaire, plasma séminal ou dans spz isolés



Testiculaires : miRNA régulation pool SPGonies ++

miR-663a

miR-322

miR-100

Dans le spermatozoïde, rôle dans :

- Spermatogenèse ?
- maturation spermatique
- développement embryonnaire :
Ex miR-191 spz affecte dev embryonnaire

Et en thérapeutique ?

Signature différente chez les infertiles :

Association entre profil expression miRNA et asthénozoospermies

Joshi et al., Small RNAs in sperm, 2023

Journée des Techniciens et Biologistes BLEFCO 2026

Analyse de la longueur des télomères

Télomères

Séquences répétées : **TTAGGG**

Localisation :
extrémités chromosomes

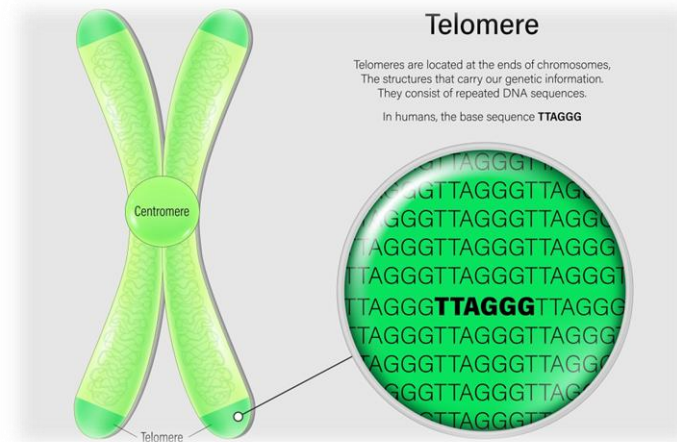
Fonctions :

- protection génome
- stabilité chromosomique
- prévention fusion chromosomes

Interprétation

télomères courts :
stress oxydant ? vieillissement germinale ?

Fernández de la Puente et al., Andrology, 2023



Méthodes analytiques

qPCR télomères

mesure ratio : **T/S** telomere copy number / single gene copy number

Analyse de la longueur des télomères

Chez l'homme

Longueur télomères spermatiques associée à :

- **Fertilité : métaanalyse infertile vs fertile** Diff Moyenne -1.43 [-1.66 to -1.21], p-value <0.001
- **Numération spermatique oligozoo vs normozoo** Diff Moyenne -0.97 [-1.32 , -0.61], p-value <0.001

Fernández de la Puente et al., Andrology, 2023

Cancer du testicule

Signal Telomérique altéré avant et après chimiothérapie :

Nbre élevé de TLM / augmentation de la prévalence des TLM très courts

Berby et al. Andrology 2025

Analyse de la PLC- ζ

Physiologie

Après fusion gamétique : origine cytosol du spz, déclenchement de l'activation ovocytaire

Oscillations Ca^{2+}

→ reprise cycle cellulaire

→ formation pronoyaux

Importance clinique

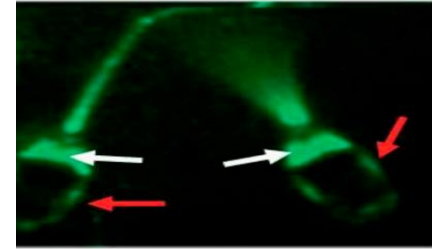
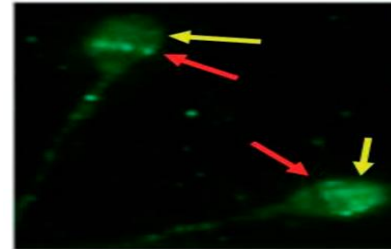
déficit PLC ζ :

• échec de fécondation

• échec activation ovocytaire après ICSI

Plusieurs localisations spermatiques de PLC ζ :

- Acrosomale (A)
- Postacrosomale (PA)
- Equatoriale (EQ)



Saunders Nature 2002

Grasa et al. Hum Reprod 2008

Kashir Hum Reprod Update 2014

Analyse de la PLC- ζ

- **Absence d'association** entre altération des paramètres spermatiques et l'expression de PLC ζ
Ferrer-Vaquer A et al J Assist Reprod Genet 2016
- Un **déficit en PLC ζ** : diminution voire des échecs de fécondation ovocytaire en ICSI
Lee HC et al J Assist Reprod Genet 2014; Chithiwala ZH et al J Assist Reprod Genet 2015
- Plusieurs cas de patients ayant des **paramètres spermatiques normaux** et des **échecs de fécondation en ICSI**, chez lesquels l'expression de **PLC ζ était diminuée** (et dont ces échecs pouvaient être « annulés » par activation ovocytaire artificielle) ont été rapportés
Lee HC et al J Assist Reprod Genet 2014; Chithiwala ZH et al J Assist Reprod Genet 2015

⇒ **Intérêt physiopathologique démontré mais ne se mesure pas en routine**

Analyse de la PLC- ζ

AOA: Activation ovocytaire Assistée

- **Calcium ionophore**
 - Restaurer des taux élevés de fécondations et de grossesses chez les patients atteints de globozoospermie
 - Questions sur problèmes de sécurité sanitaire et d'épigénétique ?
 - ABM: considérant que la littérature n'apportait pas de preuve suffisante quant à son efficacité, a refusé d'autoriser l'activation ovocytaire à l'aide du calcium ionophore (décision de 15 juillet 2015, art L.2141-1 du CSP)
 - Usage a reconsidéré avec l'expérience des pays étranger ++
- **Micro-injection de PLC ζ humaine recombinante**
 - Difficulté pour produire de façon reproductible cette protéine purifiée avec suffisamment d'activité

Taylor SL et al Reprod Biomed Online 2010

Nomikos M et al Fertil Steril 2013

Yoon SY et al Hum Reprod 2012

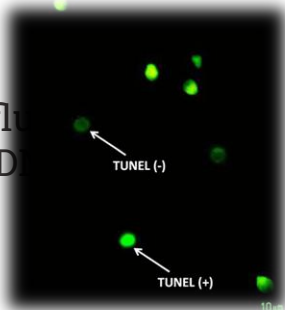
**Biomarqueurs de la qualité spermatique
à intérêt clinique avancé
Quelle indications validées ?**

Tests de fragmentation ADN

Principales méthodes :

TUNEL

marquage fluorescent
cassures ADN



COMET assay

migration ADN cassé
forme : **comète**

SCSA

dénaturation ADN
acridine orange
cytométrie flux

SCD

Test du halo après
dénaturation

Sanyal et al., sperm function tests 2024
Agarwal et al. 2024

Augmentation significative des niveaux de fragmentation de l'ADN spermatique :

- Varicocèle
- Certaines maladies chroniques
- Infections des glandes annexes IGAM
- Age paternel avancé
- Modes de vie, obésité, facteurs professionnels et environnementaux, exposition aux radiations ionisantes et non ionisantes et à la chaleur...

Esteves, 2019 ; Roque & Esteves, 2018

Tests de fragmentation ADN – Recommandations cliniques



Position : prudente

- pas d'utilisation en routine
- non recommandé en dépistage systématique
- pas d'indication pour choisir la technique d'AMP
- ✓ utilisation possible :
- cas sélectionnés
- recherche / situations complexes mais **niveau de preuve insuffisant**

Guideline ESHRE
Unexplained Infertility

- pas d'indication en routine
- pas intégré dans l'algorithme standard

Guideline ESHRE
Fausses couches à répétition

- pas de recommandation pour utilisation systématique
- peut être envisagé dans contexte de recherche ou cas sélectionnés

Received: 25 June 2020 | Revised: 6 September 2020 | Accepted: 13 September 2020

DOI: 10.1111/and.13874

INVITED REVIEW

ANDROLOGIA WILEY

Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations

Sandro C. Esteves^{1,2,3}  | Armand Zini⁴  | Robert Matthew Coward^{5,6}  |
Donald P. Evenson^{7,8}  | Jaime Gosálvez⁹  | Sheena E. M. Lewis^{10,11}  |
Rakesh Sharma¹²  | Peter Humaidan^{3,13} 

Dans les infertilités inexplicables et dans les FCR :

- Aide à identifier la contribution de la qualité du noyau
- Doit conduire à une exploration uro / andro poussée
- Conseils / modes de vies - expositions

Preuves insuffisantes pour recommandation systématique

Raisons : manque de standardisation analytique / variabilité inter-laboratoire / valeur prédictive limitée

Analyse des déficits CATSPER

Fonction du canal CATSPER

Canal calcique spécifique spermatozoïde

Localisation

Conséquence

entrée Ca^{2+}

→ défaut **hyperactivation flagellaire**, défaut de capacitation, défaut de **RA**

Conséquence clinique

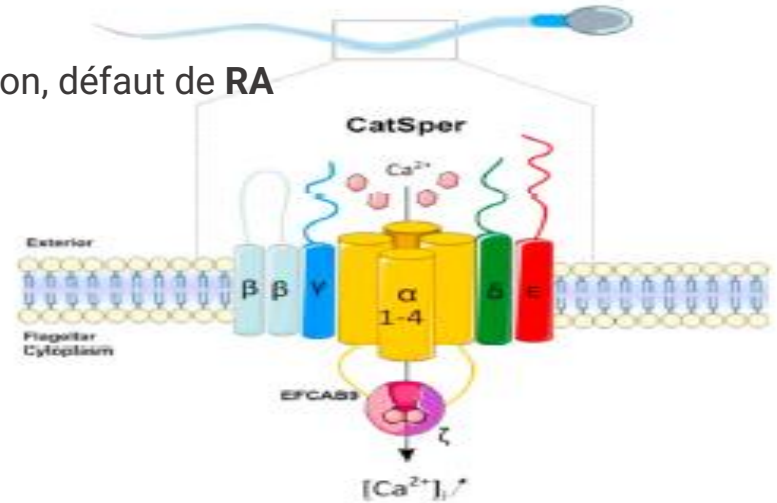
échec fécondation :

- naturel
- FIV

Indication d'ICSI d'emblée nécessaire

Activation

- progestérone
- prostaglandines



Analyse des déficits CATSPER

Infertilité masculine liée à CATSPER

Infertilité non syndromique NSM1



- Variant pathogène de CATSPER 1
- Hypovolémie
- OATS

Syndrome surdité-infertilité DIS



- Délétion contiguë bi allélique sur 15q15.3 soit CATSPER 2 + STRC
- Volume , numération normales , parfois asthénozoospermie

Guignard et Gatimel FS 2023

CatSper test

truion



Pipette.



Incubate.



Analyze.

Déficits rares, mais intérêt du test :

- Infertilité inexplicée associée à une surdité / hypoacousie
- Echec inexplicé de fécondation en FIVc



Young et al. J Clin Invest. 2024

Morphologie spermatique

Quelle place pour le spermocytogramme conventionnel en 2026 ?

Andrology

WILEY



OPINION **OPEN ACCESS**

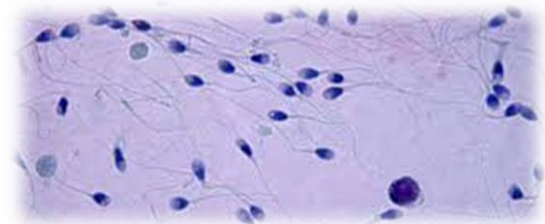
Recommendations for Human Sperm Morphology Assessment in 2025: An Expert Review From the French BLEFCO Group

Nicolas Gatimel^{1,2,3} | Anne-Laure Barbotin^{3,4,5} | Lionel Mery^{3,6} | Damien Beauvillard^{3,7} | Marion Bendayan^{3,8,9} |
Angèle Boursier^{3,4,5} | Thomas Boueilh^{3,10} | Bruno Pereira^{3,11} | Jérémy Chammas^{3,12} | Jean-Claude Jacquet^{3,10} |
Rachel Levy^{3,13,14} | Jérôme Pfeffer^{3,15} | Hanae Pons-Rejraji^{3,16,17} | Pierre Sanguinet^{3,18} | Florence Brugnon^{3,16,17}

Spermocytogramme :

Nouvelles recommandations de bonnes pratiques

- Sens de **simplification** du spermocytogramme à la lumière des publications analysées.
- Tous les articles ont été analysés en binôme avec un **fort degré d'accord entre les opérateurs**.
- Le **niveau de preuve** global des études analysés est **faible**
- **Accent fort donné à la détection des anomalies monomorphes**
globozoospermie, synd des spz macrocéphales, anomalies flagellaires multiples MMAF, synd des spz décapités
- **L'analyse détaillée des anomalies n'est pas obligatoire si point précédent mis en place**
- **Abandon des indices de malformations multiples : IAM, TZI, SDI**
- **Indication du test avant AMP pour le choix de la technique non retenue**



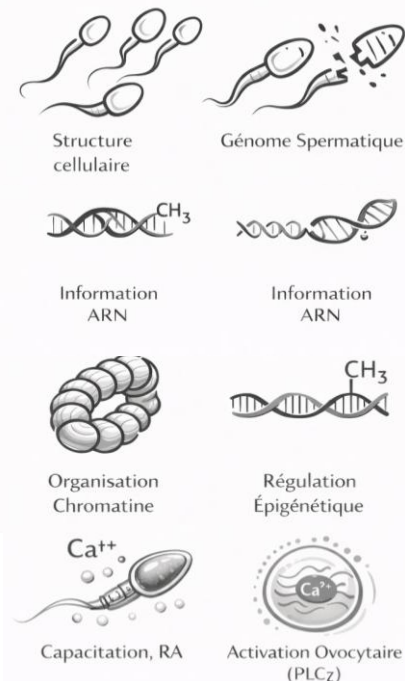
Nouveaux marqueurs de la qualité des spermatozoïdes

Conclusion

Le spermogramme, examen de 1ère intention ne suffit pas pour explorer certaines anomalies structurales et fonctionnelles du spermatozoïde pouvant expliquer certaines infertilités « inexplicées » ou échecs en AMP d'origine masculine

Emergence de nouveaux biomarqueurs d'intérêt physiopathologique démontré permettant de nouvelles avancées en recherche expérimentale

Mais l'utilisation en routine ne doit se faire qu'après preuve de la leur validité et utilité clinique en se basant sur les recommandations de bonnes pratiques :
Ex : spermocytogramme - tests de fragmentation de l'ADN



MERCI POUR VOTRE ATTENTION !

QCM. A propos de ces biomarqueurs spermatiques, quelles sont les réponses exactes ?

- A. Les déficits en phospholipase C zeta peuvent être responsables d'échec de fécondation en ICSI.
- B. Les analyses de la méthylation de l'ADN spermatique sont réalisables en routine.
- C. Dans les infertilités inexplicées, les recommandations européennes de l'ESHRE sont de réaliser systématiquement un test de fragmentation de l'ADN spermatique.
- D. Les résultats du spermocytogramme font partie des éléments de choix de la technique d'AMP (IIU, FIVc ou FIV-ICSI).
- E. Les déficits en canaux calciques Catsper peuvent se retrouver chez des patients ayant des spermogrammes normaux et doivent être pris en charge d'emblée en ICSI.

