



HAL
open science

Développement d'un nouveau biomarqueur morphométrique en 3D de la qualité nucléaire des spermatozoïdes : Impact de la congélation

Oriana Carcy, Sophie Desset, Tristan Dubos, Chloé Puceat, Maïssa Andrieux, Gilles Sireta, Bruno Pereira, Aline Probst, Christophe Tatout, Florence Brugnon, et al.

► To cite this version:

Oriana Carcy, Sophie Desset, Tristan Dubos, Chloé Puceat, Maïssa Andrieux, et al.. Développement d'un nouveau biomarqueur morphométrique en 3D de la qualité nucléaire des spermatozoïdes : Impact de la congélation. Graine de CECOS, Mar 2024, Rouen, France. hal-04931942

HAL Id: hal-04931942

<https://hal.science/hal-04931942v1>

Submitted on 6 Feb 2025

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

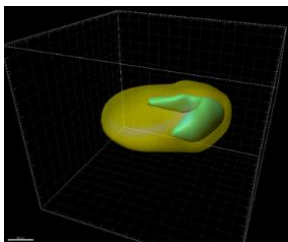
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Développement d'un nouveau biomarqueur morphométrique en 3D de la qualité nucléaire des spermatozoïdes : Impact de la congélation

Oriana Carcy, Sophie Desset, Tristan Dubos, Chloé Puceat, Maissa Andrieux, Gilles Sireta, Bruno Pereira, Aline Probst, Christophe Tatout, Florence Brugnion, Hanae Pons-Rejraji

Introduction : On estime que 30 à 60% des patients infertiles présenteraient une altération nucléaire, sans pour autant que ce paramètre ne soit analysé en diagnostic de première intention. D'autre part, la cryopréservation, technique indispensable de préservation de la fertilité, affecte fortement l'intégrité des noyaux des spermatozoïdes. Ainsi, le développement de marqueurs de la qualité nucléaire spermatique est un enjeu primordial, notamment dans le cadre de la congélation des spermatozoïdes, afin d'améliorer la prise en charge diagnostique et thérapeutique de l'infertilité masculine. **L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact de la congélation lente sur la morphométrie 3D des noyaux des spermatozoïdes humains.**

Matériel et méthodes : Les paramètres spermatiques standards (OMS, 2021), la taille des télomères (qPCR), la fragmentation de l'ADN (TUNEL), la décondensation de la chromatine (marquage Chromomycine A3), et les analyses morphométrique 3D ont été mesurés sur 10 reliquats d'éjaculats avant et après leur congélation/décongélation. La représentation en 3D des



noyaux a été réalisée à partir d'une série d'acquisition d'images grand champ selon l'axe z après marquages à l'Iodure de Propidium (mesure de vitalité), puis DAPI (Vectashield). L'analyse tridimensionnelle a été réalisée à l'aide du logiciel NucleuJ2.0 associé au plugin NODEJ et a permis de calculer le volume, l'élongation et l'aplatissement du noyau mais également le volume total et moyen, ainsi que le nombre de régions constituant la zone hypercondensée de l'ADN.

Résultats : Les analyses morphométriques ont permis de déterminer, à l'état frais, un volume median du noyau spermatique de $37,15 \mu\text{m}^3$ selon la population totale ($37,08 \mu\text{m}^3$ pour les spermatozoïdes vivants et $37,73 \mu\text{m}^3$ pour les morts). Après congélation, le volume median du noyau n'est pas modifié avec une valeur de $37,1 \mu\text{m}^3$ ($37,25 \mu\text{m}^3$ pour les spermatozoïdes vivants et $36,3 \mu\text{m}^3$ pour les morts). De la même manière, les mesures d'aplatissement et d'élongation du noyau ne sont pas modifiées post décongélation (2,48 u.a. vs 2,5 u.a. et 2,04 u.a. vs 2,04 u.a. respectivement) et sans différence significative entre spermatozoïdes vivants et morts. Toutefois, de fortes variations interindividuelles sont observables pour l'ensemble des paramètres, avec une tendance à la diminution du volume du noyau pour l'ensemble des patients, et de manière significative ($p < 0.001$) pour 5 d'entre eux.

D'autre part, une diminution significative du volume moyen et total de la zone hypercondensée de l'ADN est observée après congélation ($0,7 \mu\text{m}^3$ vs $0,39 \mu\text{m}^3$ et $0,94 \mu\text{m}^3$ vs $0,61 \mu\text{m}^3$ respectivement, $p < 0,0001$), avec un impact plus important sur les spermatozoïdes vivants ($0,76 \mu\text{m}^3$ vs $0,42 \mu\text{m}^3$ et $1 \mu\text{m}^3$ vs $0,68 \mu\text{m}^3$ respectivement, $p < 0,0001$) que sur les spermatozoïdes morts ($0,49 \mu\text{m}^3$ vs $0,37 \mu\text{m}^3$ et $0,72 \mu\text{m}^3$ vs $0,57 \mu\text{m}^3$, $p < 0,01$ et $< 0,05$ respectivement). La congélation induit également une altération de la vitalité et de la mobilité ($p < 0,01$) et une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes avec un ADN fragmenté ($p < 0,05$).

Conclusion : La congélation lente induit une altération significative du volume de la zone hypercondensée, qui au lieu de former une zone homogène, se divise en plusieurs parties, réduisant le volume total et moyen de celle-ci. Un effet plus important observé sur les spermatozoïdes vivants, tout en étant représentatifs de l'effet observé sur la population totale. Ainsi nos résultats démontrent l'intérêt de l'analyse de la structure 3D du noyau en tant que marqueur de la qualité nucléaire spermatique.