

كلية الطب والصيدلة وطب الأسنان
FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET DE MÉDECINE DENTAIRE



جامعة سيدي محمد بن عبد الله - فاس
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

**FACULTÉ DE MEDECINE, DE MEDECINE DENTAIRE, ET DE
PAHRMACIE**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de fin de spécialité

En

Histologie-Embryologie-Cyto-génétique

**PROFIL ÉPIGÉNÉTIQUE CHEZ L'HOMME
INFERTILE : REVUE DE LA LITTERATURE**

Pr. Mohammed SEKAL
Médecin - Professeur de la
Spécialité Médicale Biologique
Histo - Embryologie Cyto - Génétique
CHU Hassan II et Faculté de Médecine de Fès

Par

Docteur LAZRAQ Ahmed

Docteur LAZRAQ Ahmed

REMERCIEMENTS

Pr. HARMOUCH Taoufik, mon cher maître, vos directives, vos recommandations et votre personnalité suscitent mes profonds respect et estimation, je vous remercie pour votre disponibilité et votre soutien durant toute la formation.

Pr. SEKAL Mohammed, vous êtes pour moi un maître mais également un exemple et un modèle à suivre sur les plans professionnel, relationnel, et comportemental ; vous étiez toujours à mes côtés me prodiguer les bons conseils aux bons moments et aussi les connaissances nécessaires pendant tout le processus d'apprentissage.

Pr. HARDIZI HOUAYM, vos qualités humaines et professionnelles ont profondément marqué mon parcours et seront toujours une source d'admiration pour moi, je vous remercie pour tous ce que vous avez fait pour rendre toute la période que j'ai passée chez vous, une occasion d'apprentissage et d'assimilation de valeurs humaines nobles.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	2
SOMMAIRE	3
I. RÉSUMÉ	4
II. LISTES DES TABLEAUX, ANNEXES ET ABREVIATIONS	5
1. Liste des figures	5
2. Liste des annexes	5
3. Liste des abréviations	5
III. INTRODUCTION	7
IV. EPIGENETIQUE ET REPRODUCTION	7
1. Introduction à l'épigénétique	7
1.1. Historique et définition	7
1.2. Les principales marques épigénétiques	8
1.2.1. La méthylation de l'ADN	8
1.2.2. Modifications post-traductionnelles des histones	8
1.2.3. Les ARN non codants.....	10
1.2.3.1. Les ARN non codants courts.....	10
1.2.3.2. Les ARN non codants longs	11
1.3. Notion d'empreinte parentale.....	12
2. Epigénétique de la spermatogenèse	12
2.1. Profil de la méthylation	12
2.1.1. Reprogrammation épigénétique du spermatozoïde	12
2.1.2. Etat globale de méthylation du spermatozoïde	13
2.2. Transition histones protamines	13
2.2.1. Remplacement des histones canonique par leurs variantes.....	13
2.2.2. Modifications post-traductionnelles des histones	14
2.2.3. Cassure et réparation transitoires de l'ADN.....	15
2.2.4. Remplacement des histones par les protéines de transition	15
2.2.5. Protamination	15
2.3. ARN non codants	16
V. INFERTILITE MASCULINE	17
1. Aperçu sur la génétique de l'infertilité masculine	17
2. Aspect épigénétique de l'infertilité masculine	18
2.1. Anomalies épigénétiques au cours de la spermatogenèse.....	18
2.1.1. Anomalies de la méthylation.....	18
2.1.1.1. Les gènes non soumis à l'empreinte parentale	18
2.1.1.2. Les éléments transposables	18
2.1.1.3. Les gènes soumis à l'empreinte parentale	18
2.1.2. Anomalies des histones.....	19
2.1.2.1. Anomalies des variantes des histones	19
2.1.2.2. Anomalies des modifications des histones.....	19
2.1.2.3. Anomalies de la protamination	20
2.1.3. ARN non codants et infertilité masculine.....	20
2.1.3.1. Les ARN non codants long	20
2.1.3.2. Les ARN non codant courts	21
2.2. Facteurs impactant l'épigénétiques de la reproduction	22
2.2.1. Le stress oxydatif.....	22
2.2.1.1. Définition.....	22
2.2.1.2. Stress oxydatif et l'épigénétique	22
2.2.1.3. Sources des ROS.....	22
2.2.2. L'âge.....	23
2.2.3. Comorbidités.....	23
2.2.4. Facteurs environnementaux	24
VI. CONCLUSION	26
BIBLIOGRAPHIES	27

I. RÉSUMÉ

L'**infertilité masculine** est une pathologie fréquente, et le pouvoir de fertilité chez l'homme ne cesse de se détériorer pendant les dernières décennies. La spermatogenèse est un phénomène très compliqué et hautement régulé qui démarre dans l'adolescence, elle mène à un spermatozoïde qui est le gamète mâle, les facteurs environnementaux, anatomiques, hormonaux, génétiques, et épigénétique qui influencent la spermatogenèse sont multiples et sont en interaction permanente. Une défaillance de l'un de ces facteurs qui influencent la spermatogenèse, ou des processus de fécondation va avoir un impact sur la fertilité allant d'une subfertilité à la stérilité complète.

Malgré les progrès dans le domaine de la biologie de la reproduction, beaucoup de cas d'infertilité restent inexpliqués, et une bonne partie de ces infertilités inexpliquées pourraient trouver des explications dans l'épigénétique, du fait qu'elle correspond à des phénomènes dynamiques impactant l'expression ou la répression des gènes, tout en étant influencés par l'environnement, ces phénomènes sont réversibles et héréditaires, ça veut dire qu'on peut intervenir et agir, dans certaine mesure, sur ces phénomènes, et ça veut également dire que les altérations épigénétiques peuvent mener à des phénotypes infertiles même chez la descendance.

Les **phénomènes épigénétiques** font intervenir la méthylation de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones, et les ARN non codants, l'épigénétique concerne toutes les cellules de l'organisme, mais au cours de la spermatogenèse ces phénomènes présentent des particularités spécifiques à la ligné germinale, ces particularités portent sur tous les aspects épigénétiques, et leurs dérégulations sont en rapport avec une grande partie des étiologies de l'infertilité masculine.

Les **facteurs environnementaux** impactant l'épigénétique de la reproduction sont multiples, ils sont représentés par des facteurs intrinsèques non modifiables comme l'âge, et des facteurs environnementaux toxiques en rapport avec le mode de vie ; ce qui pourrait expliquer le déclin de la fertilité masculine dans les dernières décennies du fait du changement du mode de vie.

II. LISTES DES TABLEAUX, ANNEXES ET ABREVIATIONS

1. Liste des figures

- Figure 1 : Représentation schématique des modifications post-traductionnelles covalentes des histones et des interactions possibles entre ces modifications10
- Figure 2 : Schéma du cycle de la méthylation des cellules germinales chez la souris13
- Figure 3 : Les principales variantes d'histones pendant la spermatogenèse14
- Figure 4 : Structure des toroïdes et chronologie de remplacement des histones par les protamines15
- Figure 5 : Les causes génétiques affectants les paramètres spermatiques chez l'homme infertile17
- Figure 6 : Modèle proposé des aberrations épigénétiques et leur implication dans l'infertilité masculine21
- Figure 7 : Genèse du stress oxydatif et relation avec l'infertilité23

2. Liste des annexes

- Annexe 1 : Phénomènes épigénétiques pendant la spermatogenèse et les erreurs possibles34
- Annexe 2 : Anomalies du sperme associées à la méthylation aberrante des gènes non soumis à l'empreinte parentale35
- Annexe 3 : Anomalies du sperme associées à la méthylation aberrante des gènes non soumis à l'empreinte parentale36
- Annexe 4 : Résumé des études des rapports entre le niveau d'expression des miARN et l'infertilité masculine37

3. Liste des abréviations

5,10-méthylène-THF	5,10-méthylène-tetra-hydro-folate
5meC	5-méthyl-cytosine
ADN	Acide désoxyribonucléique
ANO	Azoospermie non obstructive
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	ARN messenger
AT	Asthénoteratospermie
CAMK4	Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase IV
CpG	Cytosine-phosphate-guanine
CtIP	C-Terminal-binding protein Interacting Protein
DNMT	DNA methyltransferase
FOXO3	Forkhead Box O3
GSE	Gènes soumis à l'empreinte parentale
HAT	Histone acetylase
HDAC	Histone deacetylase
ICR	Imprinting center region
KCNQ1	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 1
KDM	Lysine demethyltransferase
KMT	Lysine methyltransferases

Profil épigénétique chez l'homme infertile : revue de la littérature

LINE1	Long interspersed nuclear element 1
LIT1	Long QT Intronic Transcript 1
lncARN	long non coding ARN
MEST	Mesoderm-Specific Transcript
miARN	microARN
MMR	Mismatch repair
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate Reductase
OA	Oligoasthénospermie
OAT	Oligoasthénoteratospermie
P1	Protamine1
P2	Protamine2
PARG	Poly(ADP-ribose) Glycohydrolase
PARP	Poly(ADP-ribose) Polymerase
piARN	piwi-interacting ARN
RISC	RNA induced silencing complex
RNF8	Ring Finger Protein 8
RNP	Complexe ribonucléoprotéique
ROS	Reactive oxygen species
SAM	S-adénosyl-méthionine
siARN	small interfering ARN
snARN	small nuclear ARN
sncARN	small non coding ARN
snoARN	small nucleolar ARN
SNP	Single nucleotide polymorphisme
SNRPN	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N1
Tdp1	Tyrosyl-DNA-phosphodiesterases
TET	Ten Eleven Translocation
TNP1	Transition Nuclear Protein 1
TNP2	Transition Nuclear Protein 2
Top2β	Topoisomérase 2β
tsARN	tRNA-derived small ARN
TSSK6	Testis-Specific Serine Kinase 6

III. INTRODUCTION

L'infertilité est définie selon l'organisation mondiale de la santé par l'absence de la conception après 12 mois ou plus de rapports sexuels non protégés et réguliers [1], la prévalence de l'infertilité chez les couples en âge de procréation est entre 12.6% et 17.5% à travers le monde [2], le nombre de couples souffrant de problème d'infertilité est estimé de 48,5 à 72,4 millions [3] [4], alors qu'au Maroc un sondage a été mené par l'institut Averty, dans le cadre d'une enquête de la Société Marocaine de Médecine de Reproduction (SMMR), cette enquête a intéressé 1034 couple entre 25 et 45 ans dans 40 villes couvrant toutes les régions administratives du Maroc, elle a révélé que 15 à 17 % des couples entre 25 et 45 ans sont touchés par l'infertilité, soit 825000 couples. L'infertilité est d'origine masculine dans la moitié des cas de couples infertiles, et 7 % des hommes souffrent d'infertilité [5], ces chiffres montrent qu'il s'agit d'un vrai problème de la santé publique, surtout lorsqu'on ajoute le retentissement dévastateur psychologique et social à l'équation.

La spermatogenèse est un phénomène de différenciation et de maturation complexe et long, qui se déroule dans les testicules, et qui implique les cellules germinales et leur environnement, sous le contrôle de facteurs hormonaux et des régulateurs transcriptionnels et post-transcriptionnels et des phénomènes épigénétiques.

L'épigénétique désigne l'ensemble des phénomènes qui agissent sur l'expression et la régulation des gènes hors de la modification des séquences d'ADN, ces phénomènes ont la particularité d'être réversibles, et adaptatifs (à l'environnement) contrairement aux mutations des gènes qui affectent la séquence d'ADN et qui sont définitives. [6]

La défaillance dans le processus de la spermatogenèse, dans sa régulation, ainsi que dans le processus de la fécondation, aboutit -selon le type et le niveau de cette défaillance- à une infertilité masculine ce qui la rend une pathologie compliquée et qui implique des mécanismes génétiques, épigénétiques, hormonaux..., et ça rend son exploration difficile, cependant les tests conventionnels de l'exploration du sperme sont limités, ils reposent en général sur l'étude de la quantité et la qualité du sperme, et l'étude également de la morphologie et de la mobilité des spermatozoïdes mais ces tests ne peuvent pas toujours expliquer l'infertilité, d'où l'intérêt de nouveaux tests qui explorent le côté épigénétique de l'ADN du spermatozoïde. [7]

Ce travail a pour objectif l'étude des phénomènes épigénétiques au cours de la spermatogenèse, et leur implication dans l'infertilité masculine.

IV. EPIGÉNÉTIQUE ET REPRODUCTION

1. Introduction à l'épigénétique

1.1. Historique et définition

En 1956, Conrad Waddington, suite à la démonstration de l'hérédité d'un caractère acquis sous pression de l'environnement [8], l'épigénétique a été introduite comme étant la branche de la biologie étudiant les phénomènes de l'interaction entre les gènes et l'environnement, et qui agissent sur le développement et la différenciation cellulaires aboutissant à un phénotype ; elle correspond à des marques apposées sur le génome comme la méthylation et les modifications post-traductionnelles des histones et qui vont influencer l'expression des gènes sans pour autant altérer la séquence d'ADN, ces marques peuvent bien être transmises pendant les mitoses aux cellules de la descendance et même à travers les générations malgré la disparition du stimulus en cause [9], les altérations épigénétiques peuvent causer plusieurs désordres allant de la simple variation phénotypique, jusqu'aux maladies incluant l'infertilité et les anomalies d'empreintes parentales [10].

1.2. Les principales marques épigénétiques

1.2.1. La méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN est la marque épigénétique la plus étudiée [11], la méthylation de l'ADN est un processus de régulation épigénétique qui concerne les séquences contenant les dinucléotides cytosine-phosphate-guanine (CpG), et ça consiste à apposer un groupement méthyle (CH₃) sur le cinquième carbone d'une cytosine (5mC) ; ces sites dinucléotidiques sont regroupés dans des régions appelées îlots CpG, beaucoup de ces îlots CpG sont situés au niveau des promoteurs des gènes, la méthylation à ce niveau rend le gène inaccessible à la transcription [12].

L'ADN polymérase ne peut pas méthyler les cytosines, ce sont des enzymes appelées DNA methyltransferases (DNMT) qui utilisent toutes, la S-adénosyl-méthionine (SAM) comme substrat pour donner le groupement méthyle, deux catégories de DNMT sont décrites [13] :

- DNMT de la maintenance de la méthylation : DNMT1 ;
- DNMT de la méthylation de novo : DNMT3A, DNMT3B, DNMT3L.

Il existe des enzymes capables de déméthylation des 5mC, c'est notamment le groupe des enzymes Ten Eleven Translocation (TET) qui vont agir en oxydant la 5mC, rendant ainsi le processus de la méthylation réversible, et ceci sous le contrôle de plusieurs autres enzymes. [14]

1.2.2. Modifications post-traductionnelles des histones

L'état fonctionnel et structurel de la chromatine est le résultat de l'interaction entre ses composants, et notamment les histones qui sont sujettes de nombreuses modifications post-traductionnelles covalentes qui vont moduler l'interaction histone-histone et histone-ADN ; les extrémités N-terminale et C-terminale des histones se projettent en dehors du nucléosome et forment des queues [Figure 1], ces queues peuvent subir des modifications covalentes post-traductionnelles ; les combinaisons extrêmement complexes de l'ensemble des réactions subies par les histones sont appelées : code histone. [12]

- **L'acétylation** : c'est une modification qui va neutraliser la charge positive des histones, ce qui va réduire leur interaction avec l'ADN facilitant ainsi l'accessibilité des facteurs de transcription, le site

de l'acétylation est la région N-terminale des histones. Le degré de l'acétylation est déterminé par l'activité des enzymes appelées : histone acetylase (HAT), et histone deacetylase (HDAC). [15]

- **La méthylation** : intéresse la lysine dans la région N-terminale qui peut fixer jusqu'à trois groupements méthyl, et l'impact de cette méthylation va être le résultat du **degré de la méthylation** (mono, di, ou tri-méthylation), de **la position de la lysine** sur la queue de l'histone, **le type d'histone** méthylée et **sa position dans le génome**. La régulation repose sur l'interaction entre deux familles d'enzymes : les lysine méthyltransférases (KMT), et les lysine déméthyltrasferases (KDM). [16]
- **La phosphorylation** : intéresse les résidus sérine et tyrosine de la partie N-terminale des histones. La phosphorylation des histones participe à un grand nombre de processus cellulaires incluant l'expression des gènes, la régulation du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, et la division cellulaire ; sa régulation dépend des phosphatases et des kinases. La phosphorylation des histones modifie l'expression des gènes, soit en modifiant le site d'accueil des protéines régulatrices de l'expression, soit en interagissant avec d'autres modifications post-traductionnelles des histones. [17]
- **L'ubiquitylation** : elle a la particularité de viser un résidu de la lysine situé à la partie **C-terminale** des histones, plusieurs étapes sont nécessaires pour aboutir enfin à la fixation covalente d'une ou de plusieurs protéines d'ubiquitine sur une ou plusieurs lysines. La fonction la plus connue de l'ubiquitylation est la dégradation de la protéine ubiquitylée par le protéasome 26S, particulièrement en cas de poly-ubiquitylation ; mais dans le cas des histone la plupart des ubiquitylations sont des mono-ubiquitylations qui vont aboutir à un changement du niveau d'expression des gènes. A noter que l'ubiquitylation est un phénomène réversible à travers l'ubiquitine protéase, enzyme responsable de désubiquitylation. [18]

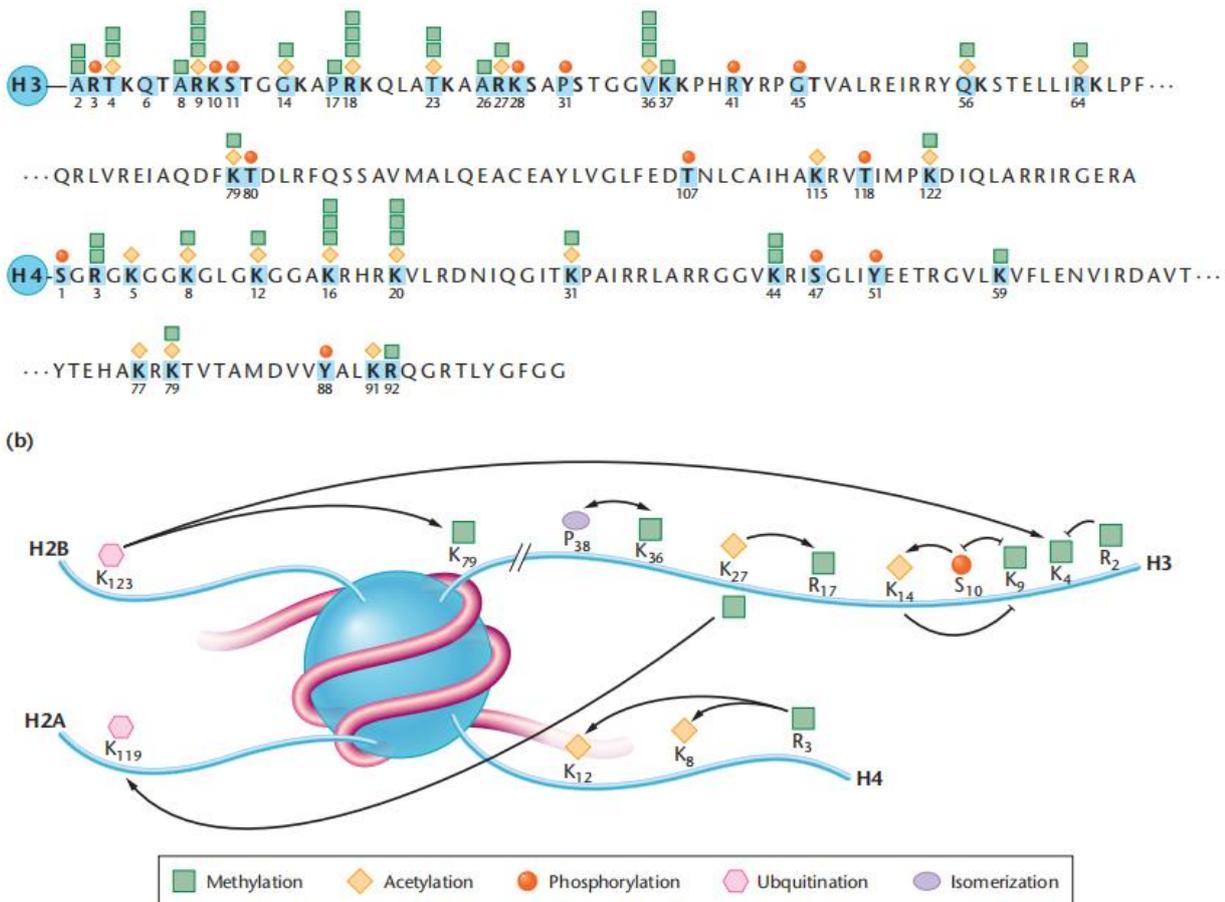


Figure 1 : Représentation schématique des modifications post-traductionnelles covalentes des histones et des interactions possibles entre ces modifications. [12]

(a) : les modifications possibles sur H3 et H4. Acides aminés (K : Lysine ; R : Arginine ; S : Serine ; T : thréonine ; Y : Tyrosine). Les chiffres indiquent la position de l'acide aminé par rapport à l'extrémité N-terminale. Les symboles représentent le groupement chimique ajouté durant la modification.

(b) : l'interaction entre les différentes modifications post-traductionnelles des histones

(→) action stimulante ; (←) action inhibitrice.

1.2.3. Les ARN non codants

Les ARN non codants **ncARN** représentent des types d'ARN transcrits et non traduits en protéines ; les ncARN impliqués dans les processus épigénétiques incluent deux groupes : les ARN non codants courts sncARN (moins de 31 nucléotides), et les ARN non codants longs lncARN (plus que 200 nucléotides). [19]

1.2.3.1. Les ARN non codants courts

a. Les microARN : miARN

Les microARN (21 à 24 nucléotides) jouent un rôle essentiel durant la différenciation et le développement, ils sont transcrits à partir des gènes miARN, ou bien à partir des introns des gènes codant pour une protéine [20] par l'ARN polymérase II ; le transcrit linéaire des miARN subit un repliement en épingle à cheveux -du fait de la complémentarité partielle de ses séquences nucléotidiques-, puis des modifications dans le noyau par le complexe Drosha/Pasha pour aboutir au pré-miARN, qui est exporté au cytoplasme et subit une transformation en duplex par Dicer (endonucléase de la famille RNase III), le miARN

mature va ensuite s'incorporer dans le complexe RISC (RNA induced silencing complex) pour la répression de l'ARNm cible à travers deux mécanismes : 1) soit en provoquant sa dégradation (si complémentarité entre l'ARNm et le miARN n'est pas parfaite), 2) ou bien en causant la suppression de la traduction (si complémentarité est parfaite). Récemment plusieurs recherches ont révélé l'implication des miARN dans plusieurs processus pathologiques incluant des cancers, des maladies cardio-vasculaire et neuropsychiatriques, et l'infertilité. [21]

b. Les ARN interférents de Piwi : piARN

Ils ont un rôle de protection du génome par inhibition des éléments mobiles et transposables au cours de la gamétogenèse et pendant les phases précoces du développement embryonnaire ; ces éléments transposables ont généralement des effets délétères sur le génome ; les piARN agissent en association avec des protéines appelées PIWI au sein du complexe RISC, et vont agir soit en effectuant un clivage des transcrits des éléments transposables au niveau cytoplasmique, soit par inhibition de leur production en provoquant des modifications chromatinienne au niveau des loci qui expriment ces éléments transposables. Généralement les piARN sont produits à partir de loci spécifiques, pourtant peu de choses sont connues concernant les origines de ces loci et comment sont-ils introduits dans le génome. [22] [23]

c. Les small interfering ARN : siARN

Il sont produits à partir des transcrits des transposons, des séquences répétitives comme celles du centromère, des gènes convergents (deux gènes adjacents avec orientation inverse), des duplexes impliquant les transcrits antisenses dérivés des pseudogènes ; ils sont exportés par la suite au cytoplasme et subissent un traitement par un complexe Dicer pour s'associer à un complexe RISC et le guider vers les ARNm cibles pour éventuelle dégradation ; les siARN sont également capables d'agir au niveau nucléaire en induisant d'autres phénomènes épigénétiques par le biais d'activation des DNMT et des KMT conduisant ainsi à des modifications chromatinienne. [24]

1.2.3.2. Les ARN non codants longs

Ils sont définis comme des transcrits d'ARN >200 nucléotides qui ne codent pas pour une protéine, bien qu'ils ne soient pas traduits en protéines, les lncARN partagent certains aspects biologiques avec l'ARNm : transcription par ADN polymérase II, polyadénylation, épissage, capping [25] [26].

62% des bases génomiques sont représentées de manière reproductible dans des molécules de lncARN, ou des exons GENECODE [27], ils sont classés en fonction de leur position par rapport aux gènes codants pour des protéines, on aura par exemple : **lincRNAs**: long intergenic noncoding RNAs, **elncRNAs**: enhancer-associated lncRNAs, **circRNAs**: circular lncRNAs, ... [28]. Les lncARN constituent ainsi une grande famille, retrouvés dans tous les compartiments cellulaires, et récemment il a été démontré leur présence même dans des exosomes au compartiment extracellulaire [29]; ils sont impliqués dans la croissance, le développement, la différenciation, et dans la régulation du cycle cellulaire [28].

1.3. Notion d'empreinte parentale

L'hérédité chez les mammifères est caractérisée par la présence de deux lots haploïdes, la majorité des gènes sont exprimés ou réprimés au niveau des deux allèles, par contre les gènes soumis à l'empreinte parentale (GSE) ont la particularité d'avoir une expression mono-allélique des gènes selon qu'ils soient hérités du père ou de la mère. [30]

Bien que plusieurs mécanismes épigénétiques soient impliqués dans la répression différentielle des GSE, la méthylation semble être le mécanisme le plus prédominant et au même temps le plus étudié dans ce phénomène [31] ; les GSE sont regroupés en cluster de gènes, la méthylation de ce cluster va être orchestrée par un centre d'empreinte (ICR : imprinting center region) qui peut être soit inclus dans le cluster ou bien appartenir à une région intergénique, et c'est le promoteur de ce centre d'empreinte qui va être sujet de **méthylation différentielle** du fait de sa richesse en îlots CpG [32].

2. Epigénétique de la spermatogenèse

Les phénomènes épigénétiques cités préalablement intéressent évidemment aussi bien les cellules somatiques que les cellules germinales, en fait au cours de la spermatogenèse la chromatine spermatique subit plusieurs phénomènes épigénétiques particuliers et spécifiques à la lignée germinale portant sur toutes les marques épigénétiques : le profil de la méthylation, les modifications intéressant les histones, et leur remplacement par des protéines spécifiques appelées protamines, et le profil des ncARN.

2.1. Profil de la méthylation

2.1.1. Reprogrammation épigénétique du spermatozoïde

Après la fécondation, il y a une phase de déméthylation (première vague) dans laquelle les motifs de méthylation de l'ADN gamétique sont effacés sur les deux génomes parentaux, à l'exception des ICR qui conservent la méthylation de l'ADN spécifique aux parents.

À partir de l'implantation, il y a une phase de méthylation de novo après laquelle le niveau global de méthylation de l'ADN reste relativement stable, sauf pour les cellules destinées à la lignée germinale, en effet, les cellules germinales primordiales subissent une deuxième vague de déméthylation, cette fois-ci la déméthylation intéresse également les ICR de la lignée germinale, permettant la suppression de la "mémoire" épigénétique parentale afin qu'elle puisse ensuite être rétablie ultérieurement d'une manière spécifique aux ovocytes ou aux spermatozoïdes au fur et à mesure que le développement des cellules germinales progresse. La méthylation des ICR germinaux est principalement établie par DNMT3A en combinaison avec DNMT3L [33]. La chronologie et l'acquisition de la méthylation de l'ADN chez les mâles et les femelles diffèrent considérablement. Les empreintes sont établies en période prénatale dans les prospermatogonies, tandis que dans les gamètes femelles l'établissement des empreintes se produit après la naissance dans l'ovocyte en croissance. {Figure 2}

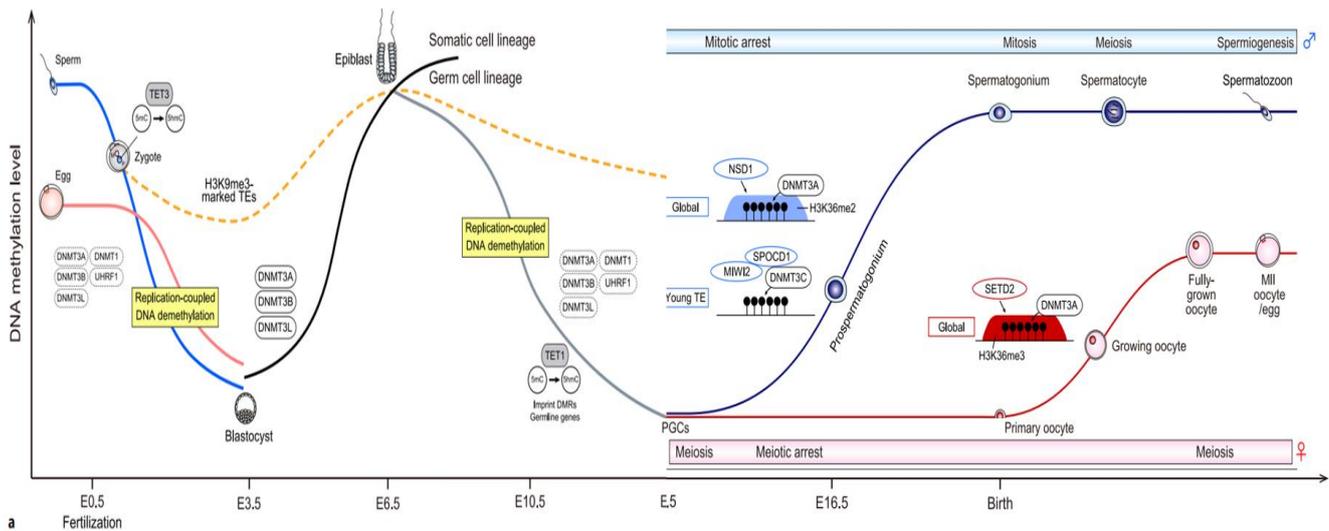


Figure 2 : Schéma du cycle de la méthylation des cellules germinales chez la souris. [34]

2.1.2. Etat globale de méthylation du spermatozoïde

L'analyse globale de la méthylation de l'ADN du spermatozoïde révélait un haut niveau de méthylation (80%), en comparaison à un ovocyte mature (55%) ou un embryon. Cependant, ce degré de méthylation n'est pas uniforme, il existe des régions fortement hypométhylées, correspondant à des promoteurs de gènes impliqués dans le développement précoce de l'embryon. Cependant les promoteurs des gènes impliqués dans la pluripotence (Oct4, Nanog) sont fortement méthylés. [35]

2.2. Transition histones protamines

La chromatine se présente dans les cellules somatiques sous forme d'une structure de perles sur un fil de chromatine dans les noyaux, alors que le génome des spermatozoïdes est emballé autour de petites protéines basiques riches en arginine appelées protamines, ce qui produit un ADN en structure toroïdale conduisant et une compaction chromatiniennne 10 fois supérieure à celle du noyau des cellules somatiques. Au cours de la spermatogénèse les histones canoniques sont tout d'abord remplacées par des histones spécifiques, qui à leurs tours cèdent la place en faveur de protéines dites de transition après avoir subi des modifications post-traductionnelles, la phase finale consiste à remplacer la plupart des protéines de transition par les protamines. [36]

2.2.1. Remplacement des histones canonique par leurs variantes

Durant la spermatogénèse, la plupart des histones canoniques sont remplacées par leurs variantes avec une chronologie bien déterminée [Figure 3]. Différentes variantes d'histone H1, H2A et H2B et H3 sont détectées dans des types spécifiques de cellules germinales, où elles sont exprimées spécifiquement dans les testicules. Cependant, jusqu'à présent, aucune variante d'H4 spécifique des testicules n'a été signalée. [37]

- **Les variantes de H1** : elles partagent certaines caractéristiques biochimiques, telles que la capacité à se lier aux nucléosomes et à l'ADN de liaison, à produire un arrêt de la digestion par des nucléases, et à faciliter la compaction de la chromatine de haut niveau. Les sous-types somatiques de variantes

de H1, sont détectés lors des différentes étapes de la spermatogenèse. Les variantes spécifiques au testicule apparaissent à partir du début de la division méiotique des cellules. [38]

- **Les variantes de H2A and H2B** : ces variantes ont montré une faible stabilité par rapport aux histones canoniques du noyau. Les variantes spécifiques au testicule des histones H2A et H2B ont également été étudiées dans les nucléosomes et ont provoqué l'instabilité du nucléosome lorsqu'elles étaient associées aux histones somatiques. [39]
- **Les variantes de H3** : il y a trois variantes de H3 chez les mammifères : H3.3, H3T et H3.5. La H3.3 est généralement liée à des régions transcriptionnellement actives, elle donne lieu à une configuration de la chromatine plus ouverte et facilite la transcription en perturbant la structure de la chromatine de haut niveau. H3T, également connue sous le nom de H3.4, a été initialement trouvée exclusivement dans le testicule des mammifères, On pense que H3T joue un rôle critique lors de la reconfiguration chromosomique méiotique dans les spermatocytes et dans le processus d'emballage de la chromatine dans les spermatozoa.[40]

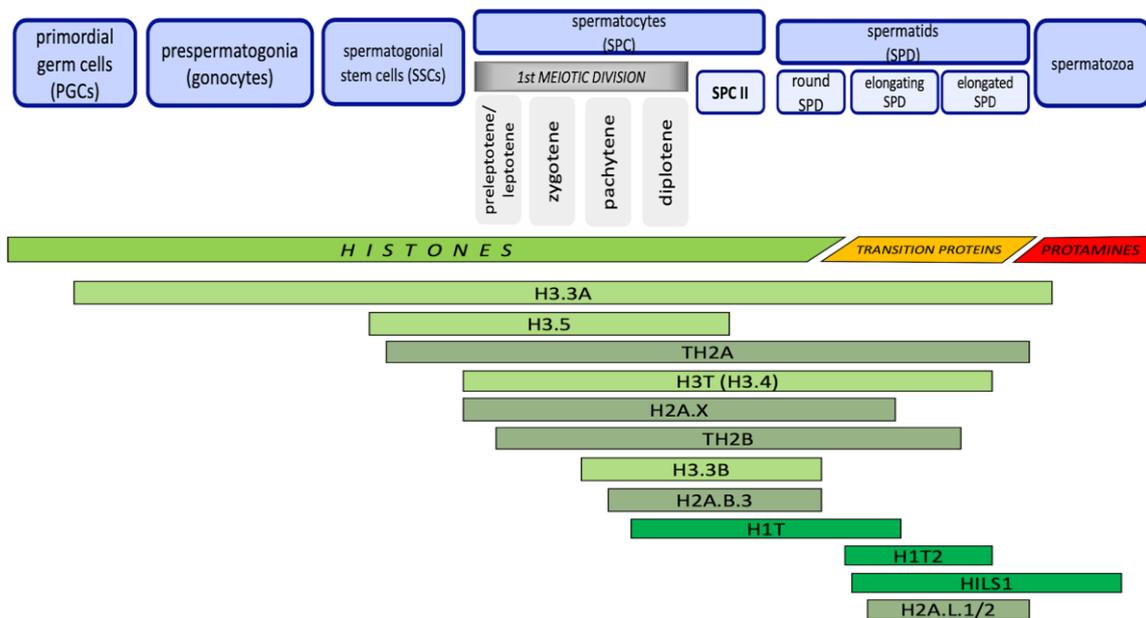


Figure 3 : Les principales variantes d'histones pendant la spermatogenèse. [41]

2.2.2. Modifications post-traductionnelles des histones

Des modifications qui ont lieu lors de la spermatogenèse et qui ont un impact différent sur la chromatine, ainsi il y a des modifications qui vont augmenter l'expression des gènes dans le tissu testiculaire (l'acétylation des H3 et H4, la méthylation de H3K4 et l'ubiquitination de H2B), des modifications qui vont conduire à la répression de l'expression des gènes (l'ubiquitinylation de H2A et la méthylation de H3K9 et de H3K27), alors que la méthylation de H3K4 et de H3K27 a été suggérée pour provoquer à la fois l'activation et l'inactivation de l'expression des gènes [42] ; l'hyperacétylation de l'histone H4 semble être le facteur le plus important impliqué dans le relâchement et l'ouverture de la chromatine pour induire les événements en aval du remplacement des histones. [37]

2.2.3. Cassure et réparation transitoires de l'ADN

Par la suite, la topoisomérase Top2 β se lie à l'ADN au niveau du site de relâchement et d'ouverture. L'activité de la Top2 β est activée par la polymérase poly (ADP-ribose) (PARP) et entraîne des cassures des brins d'ADN. La glycohydrolase poly (ADP-ribose) (PARG), Tdp1 et CtIP travaillent ensemble pour éliminer les complexes de clivage Top II de l'ADN et faciliter la réparation des dommages aux brins d'ADN. En même temps, les histones acétylées sont dissociées du nucléosome et se dégradent finalement. Ainsi, l'éviction réussie des histones centrales est accomplie. [43]

2.2.4. Remplacement des histones par les protéines de transition

Il existe deux types de protéines de transition : TNP1 et TNP2, il a été supposé qu'elles agissent comme intermédiaires en remplaçant les histones avant d'intégrer les protamines ; [44] des données récentes indiquent qu'elles agissent de manière concomitante et organisée avec les histones et les protamines, elles sont ainsi impliquées dans la régulation de la structure de la chromatine. [45] [36]

2.2.5. Protamination

Les protamines sont des protéines légères plus alcalines que les histones, ce qui leur permet de neutraliser drastiquement l'acidité de l'ADN et de générer un niveau de compactage très élevé : les toroïdes {Figure 4}. Deux types sont décrits : P1 et P2, la P1 forme des boucles de 11 pb, tandis que les boucles de la P2 sont formées de 15 pb ; l'agrégation des boucles forme les toroïdes de 50 kb. Les cystéines et les histidines libres ou les doigts de zinc peuvent établir des ponts disulfure inter et intra-protamines, augmentant ainsi la stabilité du complexe. A noter que les protamines peuvent elles aussi subir des modifications post-traductionnelles qui vont moduler leur interaction avec la chromatine. [46]

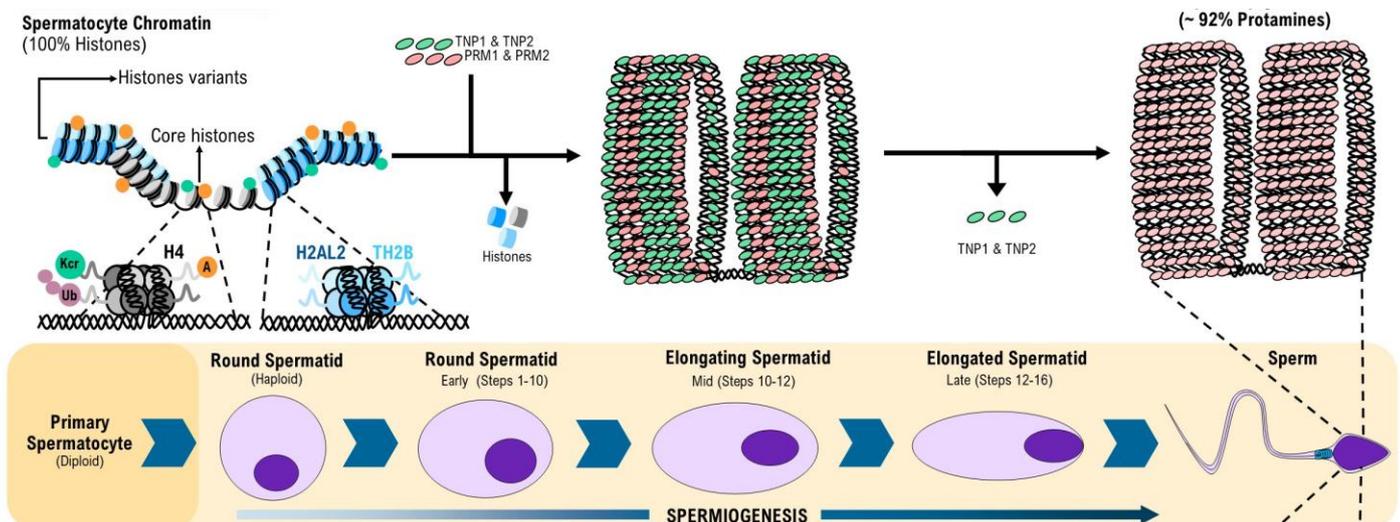


Figure 4 : Structure des toroïdes et chronologie de remplacement des histones par les protamines. [39]

PRM : protamines ; TNP : protéines de transition.

2.3. ARN non codants

Plusieurs types d'ARN codants et non codants ont été identifiés dans le sperme (3000 à 7000 transcrits), ils sont impliqués dans la maturation, la capacitation, la fertilisation, la fécondation et le développement embryonnaire.[47]

Origines : les spermatozoïdes testiculaires perdent plusieurs ARN suite à la déplétion de la majeure partie de leur cytoplasme. La plupart des ARN restants dans les spermatozoïdes testiculaires sont des ARN non codants (~80%). Dans l'épididyme, les spermatozoïdes acquièrent la mobilité, ils sont exposés au liquide épидидymaire et aux vésicules extracellulaires (épididymosomes), ils perdent la majeure partie de leur contenu en piARN et snoARN, et gagnent plusieurs tsARN, leur teneur en miARN est fortement modulée au cours de leur parcours à travers les différents segments de l'épididyme. Est-ce que le spermatozoïde est capable de générer des transcrits d'ARN ? il existe des preuves en faveur, telles que la présence de machinerie capable de synthétiser des ARN (ARN polymérase par exemple), ainsi que l'existence de régions accessibles aux facteurs de transcription dans le spermatozoïde [48] [49]; À l'inverse les spermatozoïdes humains matures ont été incapables d'incorporer de l'uridine triphosphate radiomarquée dans l'ARN in vitro [50] ; des investigations supplémentaires sont nécessaires pour trancher.

➤ **Types et rôles** : [51]

- **IncARN** : retrouvés uniquement au niveau de la tête du spermatozoïde. Dans les testicules, ils ont un rôle important dans la régulation de la spermatogenèse, en particulier les IncARN antisens ; dans le sperme ils pourraient avoir des rôles dans : l'hérédité transgénérationnelle, la régulation de l'expression génique, la modification des histones, et le développement embryonnaire précoce.
- **miARN** : rôle dans : la répression transcriptionnelle ; le remplacement précoce des histones embryonnaires ; l'embryogenèse précoce ; les modifications épigénétiques ; la maturation des spermatozoïdes. On peut les retrouver aussi bien dans la tête que dans la queue du spermatozoïde.
- **siARN** : rôle présumé dans le contrôle des événements post-transcriptionnels lors de la fécondation et du développement embryonnaire précoce.
- **piARN** : retrouvés uniquement dans la queue. Rôle dans la Protection contre les transposons ; reconnaissance et consolidation-confrontation du génome ; modifications épigénétiques. La consolidation est le processus dans lequel les ARN paternels avec des éléments répétitifs maternels complémentaires activent ou suppriment leurs partenaires, et une fois cette compatibilité assurée, l'information basée sur l'ARN peut être transférée à un état de chromatine.
- **tsARN** : une classe de sncARN, ils résultent du clivage de l'ARN de transfert (ARNt) ou du pré-ARNt par des endonucléases. Ils sont impliqués dans la modification épigénétique, l'hérédité transgénérationnelle, et le développement embryonnaire précoce.
- **Autres** : plusieurs types de sncARN avec des fonctions mal connues sont détectés dans le sperme : les ARN des éléments transposables, les ARN ribosomiaux, les snoARN et snARN (impliqué

dans l'épissage), les YARN qui s'incorporent dans le complexe ribonucléoprotéique (RNP), les snar qui sont des sncARN associés au facteur nucléaire NF90, les spR (nouvelle classe des ARN dérivée des piARN).

V. INFERTILITÉ MASCULINE

L'infertilité masculine est une pathologie assez fréquente et très complexe du fait de la diversité des étiologies impliquées ; une défaillance dans la spermatogenèse ou sa régulation, du stockage, et du transit des spermatozoïdes peut conduire à une infertilité ; grossièrement les causes peuvent être réparties en causes pré-testiculaires, testiculaires, et post-testiculaires ; ces causes vont mener à un sperme avec des paramètres anormaux : anomalies du liquide séminale (volume, pH...), ou anomalies des spermatozoïdes (l'oligozoospermie, térazozoospermie, l'asthénozoospermie...), ils peuvent aussi mener à un sperme normal avec un pouvoir fécondant diminué ou aboli du spermatozoïde ; et l'infertilité reste alors inexplicée dans 30% des cas, des études récentes ont montré l'implication de l'épigénétique dans beaucoup des infertilités idiopathiques. [52] [53]

1. Aperçu sur la génétique de l'infertilité masculine

La génétique contribue à l'infertilité en influençant une variété de processus physiologiques, y compris l'homéostasie hormonale, la spermatogenèse et la qualité du sperme [54]. Beaucoup d'anomalies du caryotype sont impliqués dans l'infertilité. Par ailleurs, de nombreux gènes autosomiques et sexuels jouent un rôle dans l'échec de la spermatogenèse et l'infertilité. Plus de 2 000 gènes sont associés à la spermatogenèse et à la spermiogenèse. Les mutations de ces gènes peuvent provoquer des aberrations de la spermatogenèse directement ou par des interactions gène-gène ou génotype-environnement [Figure 5]. [42]

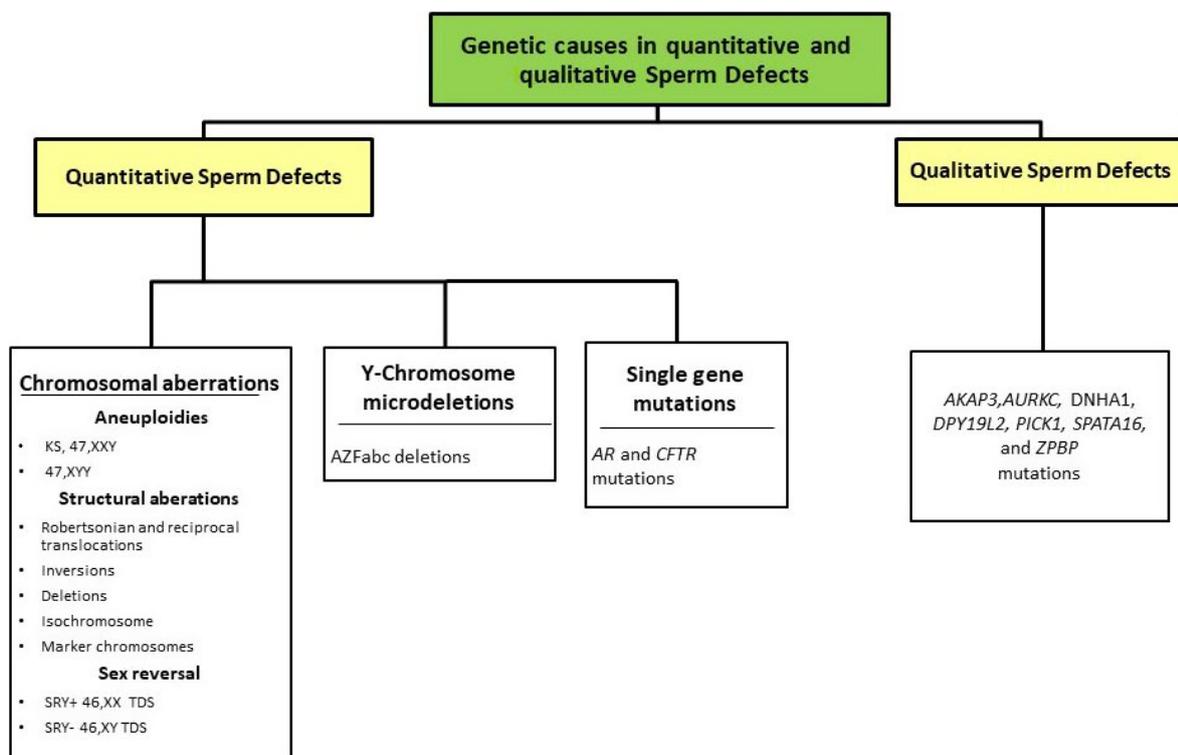


Figure 5 : Les causes génétiques affectants les paramètres spermatiques chez l'homme infertile.[42]

2. Aspect épigénétique de l'infertilité masculine

Les phénomènes épigénétiques pendant la spermatogenèse sont des phénomènes multiples, complexes, dynamiques et spécifiques, il peut y avoir à chaque étape de la spermatogenèse une perturbation ou dérégulation qui peut entraver la fertilité {Figure 6} et {Annexe 1}. Une grande partie des 30% des infertilités inexplicables peut bien trouver son origine dans ces anomalies épigénétiques.

2.1. Anomalies épigénétiques au cours de la spermatogenèse

2.1.1. Anomalies de la méthylation

Plusieurs études ont évalué les associations entre les anomalies de méthylation du génome des spermatozoïdes et des variations négatives des paramètres du sperme, ces anomalies concernent les gènes soumis et non soumis à l'empreinte parentale, et les éléments transposables. [56]

2.1.1.1. Les gènes non soumis à l'empreinte parentale

La méthylation aberrante de beaucoup de gènes a été en relation avec des anomalies du sperme {Annexe 2}. La méthylation du gène de l'enzyme MTHFR semble être la plus incriminée, la MTHFR est une enzyme essentielle au fonctionnement de la voie de méthylation ; elle transforme le 5,10-méthylène-THF en Le 5-méthyl-THF qui est le donneur du groupement méthyl lors de la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, cette méthionine va être adénylée en SAM par une enzyme appelée méthionine adényltransférase [57]. L'inactivation de la MTHFR entraîne l'arrêt de la spermatogenèse en raison de l'hypométhylation de l'ADN des spermatozoïdes, la méthylation incorrecte du gène MTHFR dans les cellules germinales des spermatozoïdes peut également entraîner une diminution de l'activité enzymatique de la MTHFR, conduisant à une méthylation aberrante de l'ADN des spermatozoïdes ; l'hyperméthylation du MTHFR a été observée dans des cas d'ANO et d'oligozoospermie et de tétrazoospermie ainsi que dans des infertilités idiopathiques [58] [59]. Les défauts génétiques des mécanismes de réparation des mésappariements (MMR) de l'ADN ont été liés à une altération de la spermatogenèse, la méthylation aberrante de la MutL alpha (MLH1) enzyme du MMR dans l'ADN de spermatozoïdes a été associée à l'OAT chez des patients infertiles [60].

2.1.1.2. Les éléments transposables

Peu d'études sont actuellement disponibles et rapportent souvent des données contradictoires concernant l'implication des TE dans l'infertilité, cependant, une diminution significative des niveaux globaux du 5meC, et de la méthylation du promoteur LINE1 des spermatozoïdes des hommes chez des couples avec des avortement répétitifs a été rapportée. [61]

2.1.1.3. Les gènes soumis à l'empreinte parentale

La perte de méthylation des gènes imprimés paternellement peut être due à un déficit en DNMT, alors que l'hyperméthylation des gènes imprimés par la mère peut résulter d'une méthylation de novo erronée ou d'un défaut d'effacement de l'empreinte maternelle dans les génomes des cellules germinales mâles [62].

Les gènes MEST et H19 sont les deux GSE les plus étudiés ; les perturbations de la méthylation du MEST ont été associées avec des perturbations du volume du sperme ainsi qu'avec des anomalies de la mobilité et de la concentration des spermatozoïdes, il ont également été retrouvés dans les spermatocytes primaires des patients azoospermes et chez des hommes des couples avec des avortement répétitifs [56] [61] ; Des altérations de méthylation du H19 sont rapportées chez des mâles infertiles avec oligozoospermie, asthenozoospermie, teratozoospermie, OA, AT, et OAT, elles sont aussi rapportées dans les arrêts de maturation en spermatocyte primaire ou spermatide, et chez des hommes avec infertilité idiopathique [63] [64].

L'aberration de méthylation de beaucoup d'autres gènes imprimés est incriminée dans l'infertilité masculines tels que : LIT1, SNRPN, PEG1, PEG3, PEG10, MEG3 {Annexe 3}, à noter que les aberrations de la méthylation sont associées avec beaucoup de cas d'infertilité masculine avec paramètres spermatiques normaux, et l'exploration approfondie de leur méthylation pourrait bien expliquer beaucoup de cas d'infertilité inexplicée. [56]

2.1.2. Anomalies des histones

2.1.2.1. Anomalies des variantes des histones [65]

La recherche dans ce domaine chez l'homme est compliquée et la plupart des données mentionnées ici ont été conclues à partir des études chez les animaux et surtout les souris.

- **Les variantes de H1** : H1T2 est une variante critique pour la spermatogenèse, les souris mutants homozygote de H1T2 sont infertiles ; H1LS1 une autre variante de H1 dont l'anomalie chez la drosophile conduit à une stérilité, cependant, des études approfondies chez les mammifères sont nécessaires pour confirmer son implication dans l'infertilité masculine.
- **Les variantes de H2A and H2B** : les souris mâles à double knockout TH2A/TH2B sont infertiles ; H2BFWT est une histone spécifique des testicules, les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) dans ce gène sont fortement associés à l'infertilité masculine.
- **Les variantes de H3** : chez les mammifères H3.3 pourrait être codée par deux gènes paralogues : H3f3a et H3f3b, et la perte de H3f3a ou H3f3b provoque l'infertilité masculine.

2.1.2.2. Anomalies des modifications des histones

- **L'acétylation** : plusieurs études ont examiné la relation entre l'hyperacétylation de la H4 et l'altération de la spermatogenèse, ils ont constaté une réduction significative du nombre de spermatogonies avec un déficit en spermatogenèse et arrêt au stade de la spermatide. [66]
- **La méthylation** : quelques études ont évalué la méthylation de H3K4Me, H3K4Me3, H3K9Me2, H3K79Me2, H3K36Me3 et l'acétylation de H3K4Ac et H4K5Ac dans des spermatozoïdes humains normaux et anormaux, Ils ont signalé la présence de modifications hétérogènes des histones et la présence de marques H3K4Me1, H3K9Me2, H3K4Me3, H3K79Me2 et H3K36Me3 dans des spermatozoïdes défailants. [53]

- **La phosphorylation** : la phosphorylation de l'histone H2AX au niveau du résidu Serine 139 joue un rôle important dans de nombreux processus biologiques, comme la recombinaison méiotique et l'inactivation des chromosomes sexuels mâles dans les cellules germinales ; TSSK6 a été identifiée comme responsable de la phosphorylation de la H2AX, chez la souris, la délétion ciblée de TSSK6 entraîne une stérilité masculine causée par l'altération de la morphologie et de la mobilité des spermatozoïdes. Nombreuses phosphorylations des histones centrales et variantes d'histones ont été identifiées dans les cellules germinales, leurs rôles physiologiques et implications dans l'infertilité doivent être étudiés davantage. [65]
- **L'ubiquitylation** : le spermatocyte et la spermatide sont enrichis en H2A et H2B ubiquitylées ; RNF8 est une ubiquitine E3 ligase indispensable à l'ubiquitylation, sa perturbation provoque d'importants défauts du développement à un stade avancé chez les spermatides, le fonctionnement de la RNF8 est modulé par la protéine PIWI et ses paralogues dont le dysfonctionnement provoque l'infertilité masculine en raison de l'altération de l'ubiquitylation des histones, et de la transition défectueuse histone-protamine. [67]

2.1.2.3. Anomalies de la protamination [68]

Il est connu qu'un rapport entre 0,8 et 1,2 de P1 sur P2 (rapport P1/P2) est indispensable à une spermatogenèse adéquate, un écart de ce rapport dans un sens ou dans l'autre affecte négativement la qualité du sperme et l'intégrité de l'ADN. Des études suggèrent que l'augmentation du rapport P1/P2 est causée surtout par une diminution des niveaux de P2, malgré le fait que la régulation défectueuse des niveaux de P1 soit également impliquée dans certains cas d'infertilité masculine ; de plus, les hommes ayant un rapport P1/P2 élevé étaient également plus susceptibles d'avoir des niveaux totaux de protamines plus faibles et des niveaux de protéines de transition plus élevés.

La protamination aberrante a été en rapport avec des anomalies de l'empreinte parentale chez des hommes infertiles avec hyperméthylation au niveau des loci imprimés KCNQ1, LIT1 et SNRPN, et hypométhylation du locus H19.

Les protamines subissent elles aussi des modifications post-traductionnelles, 11 modifications ont été rapportées y compris l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation, le résidu S55 de la protamine 2 a été signalé comme un substrat de phosphorylation par la CAMK4 une sérine/thréonine kinase multifonctionnelle qui a été spécifiquement détectée au stade avancé des spermatides, Chez les souris mâles K.O ciblé *CAMK4*, il y avait une altération profonde des spermatides allongées. [40]

2.1.3. ARN non codants et infertilité masculine

2.1.3.1. Les ARN non codants long

Les spermatozoïdes de souris diabétiques présentaient des profils d'expression altérés de lncARN et d'ARNm ; Les lncARN Rpl31-ps7, AB352974, Rpl35a-ps7, Rn4.5s et XLOC_01985 étaient associés à des phénotypes liés au diabète, ce qui fait de ces lncARN de potentiels biomarqueurs de l'infertilité masculine liée au diabète. L'expression du lncARN HOTAIR est diminuée chez des patients avec l'asthénozoospermie et

l'OA, elle est également associée à une faible mobilité et vitalité. Des preuves chez les souris suggèrent un rôle possible des lncARN dans l'hérédité intergénérationnelle. [51]

2.1.3.2. Les ARN non codant courts

- **Les miARN** : beaucoup de recherches ont établi un lien étroit entre l'expression altérée ou anormale des miARN dans le testicule et l'infertilité {Annexe 4}. Les profils des miARN (miR-122, miR-34b, miR-34c-5p, miR-1973, miR-16, etc.) sont différents dans le testicule de patients normozoospermes de celui des asthénozoospermes ou oligoasthénozoospermes. Les profils des miARN dans le plasma séminal eux aussi étaient différents entre les patients ayant une ANO et les témoins sains : les miR-141, le miR-7-1-3p, miR-429 fortement augmentés, alors que les miR-17-92 et miR-371,2,3 sont diminués. Dans le testicule des patients infertiles souffrant du syndrome de l'X fragile le miR-383 est diminué. [69]
- **Les piARN** : l'échec du processus de consolidation mené par les piARN peut entraîner : un échec de la fécondation, un développement embryonnaire anormal, ou affecter la fertilité de la progéniture. Au cours du développement embryonnaire précoce, lorsque le génome subit une déméthylation et une reméthylation étendues, les piARN agissent en protégeant l'intégrité génomique contre les élément répétitifs et transposables, la défaillance de ce mécanisme pourrait entraver le développement embryonnaire précoce. [51]
- **Les siARN** : les souris K.O DICER ont un ensemble modifié de siRNA et de miARN de spermatozoïdes, la micro-injection de leurs spermatozoïdes dans des ovocytes normaux a entravé le potentiel de développement. Ce phénotype subfertile est réversible en injectant des sncARN dérivés de spermatozoïdes normaux. Cependant, ce n'est pas possible d'attribuer cette réversibilité à l'effet des siRNA ou des miARN ou bien à l'effet des deux à la fois. [70]

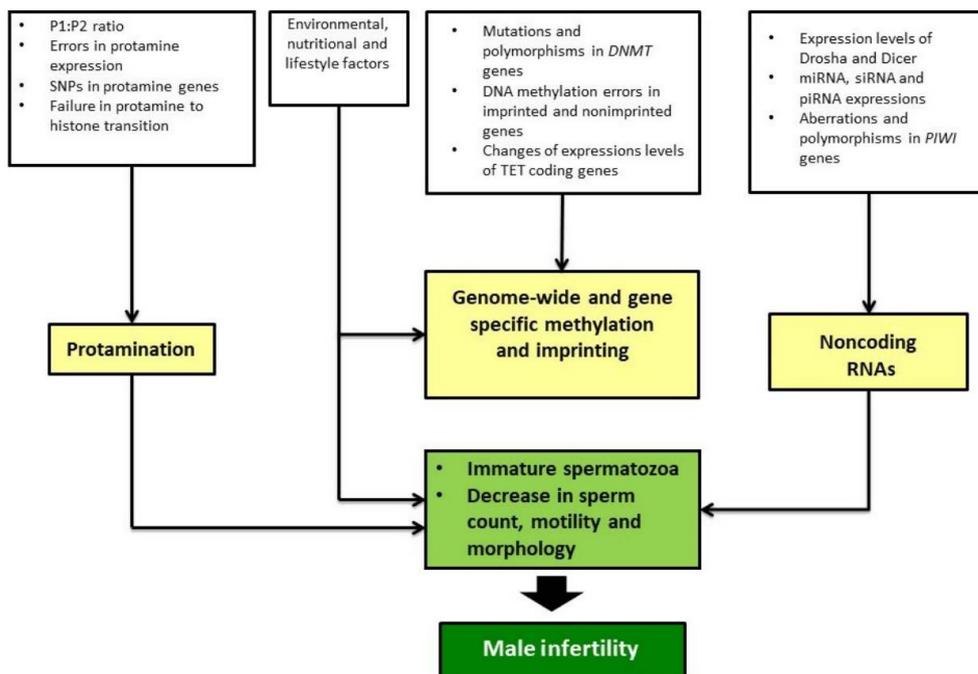


Figure 6 : Modèle proposé des aberrations épigénétiques et leur implication dans l'infertilité masculine. [42]

2.2. Facteurs impactant l'épigénétiques de la reproduction

2.2.1. Le stress oxydatif

2.2.1.1. Définition [71]

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre pathologique entre les espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species : ROS) et les antioxydants ; Les ROS sont des molécules dérivées de l'oxygène, hautement réactives avec un ou plusieurs électrons non liés, ils jouent un rôle important - à l'état normal - dans la capacitation, la réaction acrosomale et à la fusion spermatozoïde-ovocyte.

L'effet du stress oxydatif sur la fertilité est attribuable au fait qu'il peut endommager la membrane plasmique du spermatozoïde et peut entraîner des niveaux élevés de fragmentation de l'ADN, il est aussi associé à une augmentation de l'apoptose, il agit également en perturbant les phénomènes épigénétiques au cours de la spermatogenèse.

2.2.1.2. Stress oxydatif et l'épigénétique [72]

Le stress oxydatif provoque des modifications épigénétiques par altération de la méthylation des spermatozoïdes ; les produits de l'oxydation vont entraver la liaison de l'ADN à la DNMT3A entraînant une méthylation défectueuse.

Le 5HmC est un produit oxydatif de la cytosine, et ses niveaux incontrôlés ont la capacité de stimuler les processus de déméthylation aberrante de l'ADN.

La perte d'expression de la KMT2D enzyme connue comme une H3K3 monométhyltransférase, pourrait être responsable des dommages à l'ADN médiés par les ROS, puisque son absence va conduire au blocage de la liaison du FOXO3 qui est un facteur de transcription critique, impliqué dans la protection contre le stress oxydatif et qui contribue à l'augmentation de l'expression des enzymes antioxydantes.

L'exposition à des agents alkylants toxiques comme le cyclophosphamide, est capable d'alkyler les protamines présentes dans les spermatozoïdes, et provoque une altération de la condensation de la chromatine ce qui va augmenter la sensibilité des spermatozoïdes au stress oxydatif.

L'acétylation des histones est un autre mécanisme essentiel de régulation épigénétique qui peut également être altéré par le stress oxydatif dans la spermatogenèse.

Ces impacts épigénétiques des ROS vont contribuer aux modifications de la structure chromatinienne, ce qui va occasionner d'autres dommages de l'ADN spermatique.

2.2.1.3. Sources des ROS [73]

Le déséquilibre pathologique entre les ROS et les antioxydants peut être causé par : production excessive de ROS endogènes (exp : leucocytes et spermatozoïdes immatures) ou exogènes (exp : polluants, tabac, médicaments...), épuisement de l'approvisionnement en antioxydants (exp : malnutrition), inactivation ou diminution de la production d'enzymes antioxydantes, ou une combinaison de ce qui précède. {Figure 7}

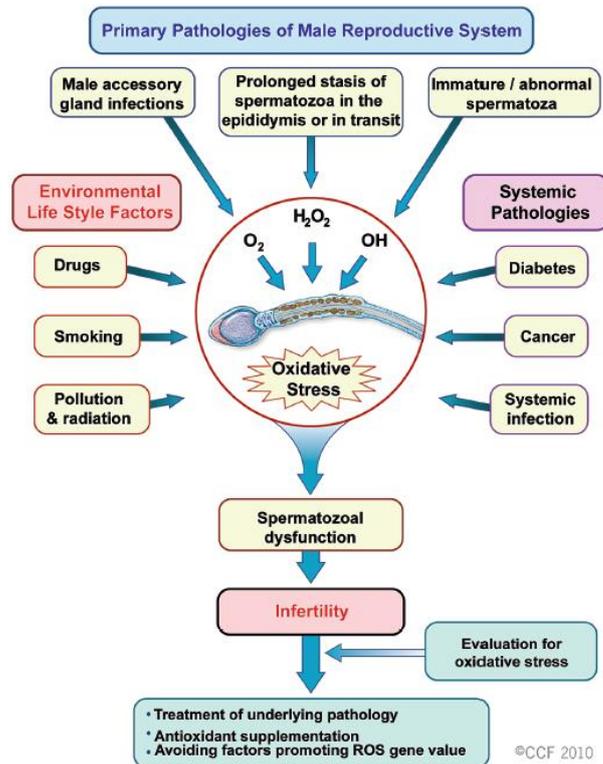


Figure 7 : Genèse du stress oxydatif et relation avec l'infertilité. [74]

2.2.2. L'âge [75]

Des preuves contemporaines confirment que les hommes âgés ont des paramètres de sperme moins bons, des résultats de reproduction plus faibles avec une grossesse non assistée, et un risque accru de problèmes de santé chez leur progéniture.

Des études récentes ont examiné la possibilité de changements liés à l'âge dans la génétique et l'épigénétique du sperme, elles ont rapporté une tendance générale à une augmentation significative de la fragmentation de l'ADN chez les hommes ≥ 50 ans, les ROS seraient incriminés du fait de leur augmentation dans le sperme des personnes âgées. D'autres études ont démontré qu'il y a une augmentation de la méthylation globale du sperme avec l'âge.

L'âge paternel affecte également l'expression de gènes importants pour l'autophagie et la croissance embryonnaire, et ceci à travers des mécanismes épigénétiques.

2.2.3. Comorbidités

- **Obésité** : il existe un lien indéniable entre l'obésité et l'infertilité masculine ; l'obésité affecte la spermatogenèse par les effets thermiques, l'hyperoestrogénisme, l'hypogonadisme hypogonadotrope, le diabète sucré, le dysfonctionnement sexuel et les perturbations épigénétiques du sperme. Il existe des preuves que des effets négatifs peuvent être transmis à la progéniture des personnes obèses par altérations surtout épigénétiques des cellules germinales. Les altérations épigénétiques affectent globalement le profil de méthylation et les sncARN (surtout les miARN). Il est important de noter que ces modifications semblent être généralement réversibles. [76]

- **Diabète** : le prédiabète paternel modifie le profil global de la méthylation dans les spermatozoïdes, une grande partie des gènes différentiellement méthylés chevauchent ceux des îlots pancréatiques, ce qui indique que le prédiabète paternel augmenterait la susceptibilité au diabète chez la progéniture par des altérations épigénétiques gamétiques. Il a été observé que certains gènes (tels que *Pik3ca* et *Pik3r1*) peuvent partiellement résister à la déméthylation globale après la fécondation et hériter en grande partie le profil de la méthylation du spermatozoïde, suggérant qu'il existe une transmission intergénérationnelle de la méthylation. Des lncARN particuliers étaient associés à des phénotypes liés au diabète, ce qui fait de ces lncARN de potentiels biomarqueurs de l'infertilité masculine liée au diabète.
- **Stress psychologique** : plusieurs études ont démontré que l'exposition au stress, et aux troubles du sommeil a un impact sur la concentration et la mobilité des spermatozoïdes ; il a été également démontré que l'exposition dans l'enfance au stress a été accompagnée de niveaux diminués de miARN miR34 et miR449 impliqués dans le développement cérébral et la spermatogenèse [77]. L'exposition au stress même en prénatal a été associée avec une oligospermie et anomalies de la mobilité des spermatozoïdes [78]. Le stress psychologique est aussi une source majeure des ROS [71].

2.2.4. Facteurs environnementaux et comportementaux

- **Habitudes toxiques** :
 - **Tabagisme** : Le tabac est un facteur causal documenté de l'hypofertilité, il agit directement sur la mobilité, la concentration, ainsi que sur la morphologie des spermatozoïdes. L'exposition au tabac même in-utero a les mêmes effets néfastes sur les paramètres spermatiques. Le mécanisme de la toxicité du tabagisme est compliqué parce que le tabac contient de nombreux types de composés chimiques, beaucoup de ces composés sont toxiques ont un effet oxydant ; des études ont évoqué des anomalies dans la transition histone-protamine, et des perturbations de l'expression de miARN, et la réduction de la phosphorylation des histones, comme mécanismes épigénétiques impactant la fertilité. [79]
 - **Alcool** : des études ont établi une corrélation directe entre la quantité d'alcool consommée et le degré de déméthylation au niveau de la DMR du gène H19, ce qui pourrait réduire l'activité de l'ADN méthyltransférase et augmenter le risque de transmission de gènes imprimés défectueux. De plus, chez le rat, l'exposition à l'Ethanol augmente l'acétylation de H3K9, ce qui entraîne une altération de l'organisation de la chromatine des spermatozoïdes et du développement embryonnaire. En cas d'exposition paternelle à l'alcool, la progéniture a montré des dysfonctionnements de la reproduction similaires à ceux signalés pour la consommation directe d'alcool, y compris des altérations de la qualité du sperme, plusieurs mécanismes sont proposés pour expliquer cette transmission transgénérationnelle, et l'épigénétique semble être une piste prometteuse. [80]

- **Sédentarité** : l'inactivité physique a été associée à une augmentation du stress oxydatif dans le corps. On a constaté une diminution de la concentration et du nombre de spermatozoïdes chez des hommes qui regardent la télévision pendant plus de 20 heures par semaine par rapport aux hommes qui regardent peu la télévision. Ceci indique un effet négatif d'un mode de vie physiquement inactif et son effet sur la fertilité masculine, peut-être en raison de la production de ROS et de la diminution des concentrations d'antioxydants.
De l'autre côté Il est bien connu que l'exercice physique est bénéfique à la santé, il maintient le corps en forme en assurant le bon fonctionnement du système immunitaire, il améliore également la protection antioxydante dans le corps. En fait, des individus jeunes sains et non entraînés, étaient soumis à 6 semaines d'entraînement en endurance, ils ont présenté 5 piARN et 27 fragments d'éléments répétitifs qui étaient exprimés différemment, une période de 3 mois sans exercice a ensuite inversé ces changements dans l'expression des piARN. [71]
- **Alimentation** : les preuves montrent l'importance de la nutrition et de son effet sur la fertilité masculine et son influence sur les paramètres spermatiques ; un régime typique de style « occidental » riche en viande rouge et transformée, en céréales raffinées et en boissons énergétiques est associé à des quantités élevées de stress oxydatif ; une étude a montré une association dose-réponse significative entre l'apport alimentaire en graisses saturées et la réduction de la concentration de spermatozoïdes et du nombre de spermatozoïdes. Une revue systématique exhaustive d'études observationnelles a conclu que la consommation d'une alimentation saine et équilibrée pourrait améliorer la qualité du sperme et les taux de fécondité chez les hommes ; de même une étude contrôlée chez les hommes a montré que le répertoire des sncRNA du sperme humain est rapidement et spécifiquement modulé par les changements alimentaires. [51] [81]
- **Médicaments** : Certains produits médicamenteux ont des impacts gonadotoxiques qui altèrent la spermatogenèse. Ces conséquences cessent avec l'arrêt du traitement. Parmi ces médicaments : Les Inhibiteurs calciques/propranolol ; la sulfasalazine/mercaptopurine ; la colchicine/allopurinol ; la cimétidine, la nitrofurantoin, la cyclosporine et la chimiothérapie des cancers. [82]
- **Pesticides** : le principe des pesticides et des herbicides est de présenter sélectivement une toxicité aux organismes qui entravent le rendement des cultures. Malheureusement, les humains et les autres espèces animales subissent également des effets toxiques de ces produits chimiques ; cet effet dépend de la dose, de la fréquence, du type d'exposition et des caractéristiques génotypiques des sujets exposés ; il existe de nombreux mécanismes hypothétiques de l'hypofertilité induite par les pesticides y compris épigénétiques, la compréhension des toxines environnementales utilisées en agriculture est loin d'être complète. [83]
- **Les métaux lourds** : les métaux lourds sont un large spectre de composés, ubiquitaires dans la nature, qui interfèrent avec de nombreux aspects de la santé générale et reproductive. Ils sont intensivement utilisés dans de nombreuses industries. Le plomb, le cadmium et le mercure sont trois

métaux préoccupants, ils ont un impact négatif sur la santé reproductive soit par un effet direct sur la glande cible soit par un effet indirect.

Le cadmium est présent dans des produits agricoles, et dans les colorants, les produits de la céramique, le plastique, et la cigarette. Sa toxicité reproductive est due à : des dommages structurels à la vascularisation, une inflammation, une cytotoxicité sur les cellules de Sertoli et de Leydig, un stress oxydatif, l'interférence avec certaines voies de signalisation cellulaire, et à l'altération de régulation épigénétique des gènes impliqués dans la régulation de la fonction reproductive. [84]

- **Les téléphones mobiles** : plusieurs études humaines soutiennent un lien entre l'utilisation du téléphone mobile et l'infertilité masculine. Une revue systématique et une méta-analyse des études entre 2000 et 2012 ont conclu que l'exposition au téléphone portable était associée à une réduction de la mobilité et de la viabilité des spermatozoïdes, sans changement dans la concentration des spermatozoïdes. [84]
- **L'hyperthermie** : la fonction testiculaire est fortement dépendante de la température scrotale plus froide que la température corporelle, et le manque de thermorégulation provoque une hyperthermie testiculaire. Les résultats de l'exposition des testicules à la chaleur vont d'une diminution du nombre de spermatozoïdes à l'azoospermie complète, l'hyperthermie peut également causer une diminution de la mobilité des spermatozoïdes ou une augmentation de la protamination de l'ADN [85]. Le stress thermique testiculaire répétitif conduit à l'apoptose des cellules de Leydig induite par un stress excessif sur leur réticulum endoplasmique. Cette perte de la fonction des cellules de Leydig réduit ensuite la production locale de testostérone nécessaire à une spermatogenèse normale [86].

VI. CONCLUSION

Les phénomènes impliqués dans l'épigénétique de la spermatogenèse sont multiples, dynamiques, spécifiques, et interconnectés entre eux et avec les autres facteurs qui régulent la spermatogenèse, ce qui explique leur complexité.

Malgré les progrès dans la biologie moléculaire, l'épigénétique est très loin d'être expliquée, et les travaux et études vers sa compréhension ne font qu'affirmer que c'est un domaine extrêmement complexe et que beaucoup du chemin reste à parcourir ; malgré ça, avec les connaissances actuelles, le domaine de l'épigénétique et particulièrement l'épigénétique de la reproduction, a pu expliquer pas mal d'infertilités qui étaient inexplicables, ce qui sous-entend que c'est un domaine de recherche par excellence, ces recherches peuvent avoir un impact bénéfique sur la clinique et les tests d'exploration de certaines infertilités, et également présenter des biomarqueurs intéressants de l'infertilité masculine.

La connaissance approfondie des facteurs régissant l'épigénétique de la reproduction peut bien mener à la découverte de nouveaux outils thérapeutiques précieux dans la prise en charge de l'infertilité masculine, puisqu'il s'agit de phénomènes réversibles.

BIBLIOGRAPHIES

- [1] World Health Organization. (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility#:~:text=Infertility%20is%20a%20disease%20of,on%20their%20families%20and%20communities.>). Publié le 03/04/2023. Consulté le 26/07/2023.
- [2] Cox CM, Thoma ME, Tchangalova N, Mburu G, Bornstein MJ, Johnson CL, Kiarie J. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open*. 2022 Nov 12;2022(4):hoac051.
- [3] Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., & Stevens, G. A. (2012). National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Medicine*, 9(12), e1001356.
- [4] Boivin, J.; Bunting, L.; Collins, J. A.; Nygren, K. G. (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction*, 22(6), 1506–1512.
- [5] Eberhard Nieschlag ,Hermann M. Behre , Susan Nieschlag. *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction*, 3rd edition. 1.5 Prevalence of infertility, Page 6-7.
- [6] <https://www.inserm.fr/dossier/epigenetique> ; dossier : Épigénétique [archive], sur [inserm.fr](http://www.inserm.fr) (consulté le 15 juillet 2023).
- [7] Guérin P, Matillon C, Bleau G, Lévy R, Ménézo Y. La fragmentation de l'ADN du spermatozoïde : impact en Assistance médicale à la procréation. *Gynécologie Obstétrique Fertil* . 33(9):665-8.
- [8] Noble, D. (2015). Conrad Waddington and the origin of epigenetics. *Journal of Experimental Biology*, 218(6), 816–818.
- [9] Maximilian Fitz-James, Giacomo Cavalli. Molecular mechanisms of transgenerational epigenetic inheritance. *Nature Reviews Genetics*, 2022, 23 (6), pp.325-341.
- [10] Inbar-Feigenberg, M., Choufani, S., Butcher, D. T., Roifman, M., & Weksberg, R. (2013). Basic concepts of epigenetics. *Fertility and Sterility*, 99(3), 607-615.
- [11] Maunakea AK, Chepelev I, Zhao K. Epigenome mapping in normal and disease States. *Circ Res*. 2010 Aug 6;107(3):327-39.
- [12] William S. Klug, Michael R. Cummings, Michael A. Palladino. *Concepts of genetics* 11th edition. 19.1 Molecular Alterations to the Genome Create an Epigenome ; p.434-439.
- [13] Horsthemke, B. (2010). Epigenetics. In: Speicher, M.R., Motulsky, A.G., Antonarakis, S.E. (eds) *Vogel and Motulsky's Human Genetics*. Springer, Berlin, Heidelberg.

- [14] Rasmussen KD, Helin K. Role of TET enzymes in DNA methylation, development, and cancer. *Genes Dev.* 2016 Apr 1;30(7):733-50.
- [15] Narita, T., Weinert, B. T., & Choudhary, C. (2018). Functions and mechanisms of non-histone protein acetylation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.*
- [16] Black JC, Van Rechem C, Whetstine JR. Histone lysine methylation dynamics: establishment, regulation, and biological impact. *Mol Cell.* 2012 Nov 30;48(4):491-507.
- [17] Fang, D., & Han, J. (Eds.). (2021). *Histone Mutations and Cancer. Advances in Experimental Medicine and Biology.*
- [18] Duncan Edward Wright, Chen-Yi Wang, Cheng-Fu Kao. Histone ubiquitylation and chromatin dynamics. *Front. Biosci. (Landmark Ed)* 2012, 17(3), 1051–1078.
- [19] Hombach, S., & Kretz, M. (2016). Non-coding RNAs: Classification, Biology and Functioning. *Non-Coding RNAs in Colorectal Cancer*, 3–17.
- [20] Yeo JH, Chong MM. Many routes to a micro RNA. *IUBMB Life.* 2011 Nov;63(11):972-8.
- [21] Lundstrom, K. (2011). Micro-RNA in Disease and Gene Therapy. *Current Drug Discovery Technologies*, 8(2), 76–86.
- [22] Yamanaka S, Siomi MC, Siomi H. piRNA clusters and open chromatin structure. *Mob DNA.* 2014 Aug 1;5:22.
- [23] Ozata DM, Gainetdinov I, Zoch A, O'Carroll D, Zamore PD. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions.
- [24] Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell.* 2009 Feb 20;136(4):642-55.
- [25] Beaulieu, Y.B., Kleinman C.L., Landry-Voyer A.M., Majewski J., and Bachand F.. 2012. Polyadenylation-dependent control of long noncoding RNA expression by the poly(A)-binding protein nuclear 1. *PLoS Genet.*
- [26] Deveson, I.W., Brunck M.E., Blackburn J., Tseng E., Hon T., Clark T.A., Clark M.B., Crawford J., Dinger M.E., Nielsen L.K., et al.. 2018. Universal Alternative Splicing of Noncoding Exons. *Cell Syst.*
- [27] Dunham I and ENCODE Project Consortium (2012) An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489, 57–74.
- [28] Allison B. Herman, Tsitsipatis, D. & Gorospe, M. (2022). Integrated LncRNA Function Upon Genomic and Epigenomic Regulation. *Mol Cell*, 82(12), 2252–2266.
- [29] Bridges MC, Daulagala AC, Kourtidis A. LNCcation: lncRNA localization and function. *J Cell Biol.* 2021 Feb 1;220(2):e202009045.

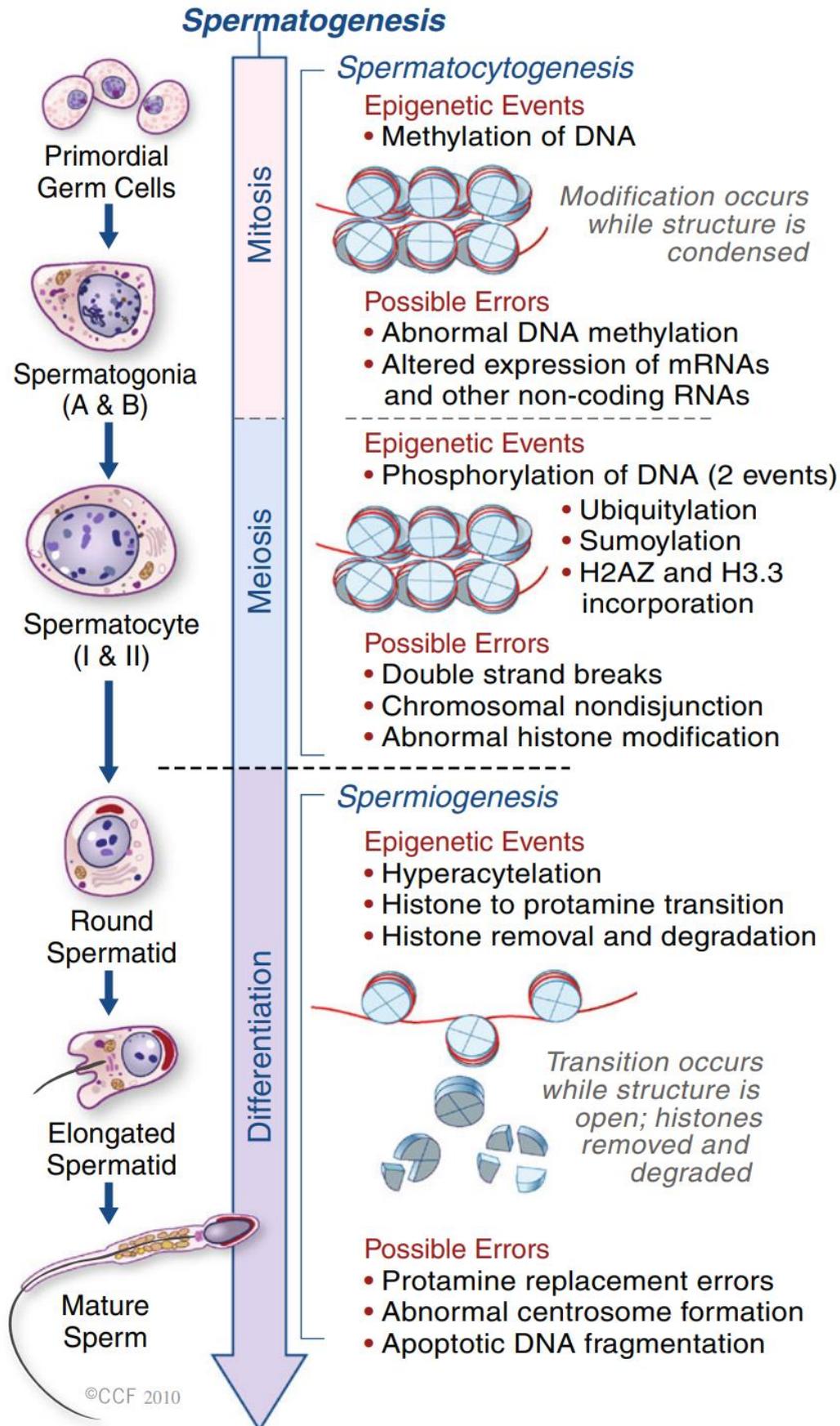
- [30] Plasschaert RN, Bartolomei MS. Genomic imprinting in development, growth, behavior and stem cells. *Development*. 2014 May;141(9):1805-13.
- [31] Thamban T, Agarwaal V, Khosla S. Role of genomic imprinting in mammalian development. *J Biosci*. 2020;45:20.
- [32] Tucci V, Isles AR, Kelsey G, Ferguson-Smith AC; Erice Imprinting Group. Genomic Imprinting and Physiological Processes in Mammals. *Cell*. 2019 Feb 21;176(5):952-965.
- [33] Kaneda M, Okano M, Hata K, Sado T, Tsujimoto N, Li E, Sasaki H. Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature*. 2004 Jun 24;429(6994):900-3.
- [34] Kenjiro Shirane, Matthew Lorincz; Epigenetic Mechanisms Governing Female and Male Germline Development in Mammals. *Sex Dev* 28 December 2022; 16 (5-6): 365–387.
- [35] Céline BRUNO. Etudes des mécanismes de transmission de dérégulations épigénétiques : Analyse de la transmission spermatique chez l'homme. THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE 2018. Chapitre II.2 Modifications épigénétiques au cours de la spermatogenèse ; p53-62.
- [36] Moritz L, Hammoud SS. The Art of Packaging the Sperm Genome: Molecular and Structural Basis of the Histone-To-Protamine Exchange. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jun 22;13:895502.
- [37] Hao SL, Ni FD, Yang WX. The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis. *Gene*. 2019 Jul 20;706:201-210.
- [38] Wolffe, A.P., Khochbin, S., Dimitrov, S., 1997. What do linker histone do in chromatin? *BioEssays* 19:249-255.
- [39] Torres-Flores U, Hernández-Hernández A. The Interplay Between Replacement and Retention of Histones in the Sperm Genome. *Front Genet*. 2020 Jul 16;11:780.
- [40] Bao J, Bedford MT. Epigenetic regulation of the histone-to-protamine transition during spermiogenesis. *Reproduction*. 2016 May;151(5):R55-70.
- [41] Odronec A, Olszewska M, Kurpisz M. Epigenetic markers in the embryonal germ cell development and spermatogenesis. *Basic Clin Androl*. 2023 Feb 23;33(1):6.
- [42] Gunes, S, Esteves, SC. Role of genetics and epigenetics in male infertility. *Andrologia*. 2021; 53:e13586.
- [43] Cavé T, Desmarais R, Lacombe-Burgoyne C, Boissonneault G. Genetic Instability and Chromatin Remodeling in Spermatids. *Genes (Basel)*. 2019 Jan 14;10(1):40.

- [44] Meistrich ML, Mohapatra B, Shirley CR, Zhao M. Roles of Transition Nuclear Proteins in Spermiogenesis. *Chromosoma* (2003) 111:483–88.
- [45] Rathke C, Baarends WM, Awe S, Renkawitz-Pohl R. Chromatin dynamics during spermiogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Mar;1839(3):155-68.
- [46] Andreu-Noguera J, López-Botella A, Sáez-Espinosa P, Gómez-Torres MJ. Epigenetics Role in Spermatozoa Function: Implications in Health and Evolution—An Overview. *Life*. 2023; 13(2):364.
- [47] Ostermeier GC, Dix DJ, Miller D, Khatri P, Krawetz SA. Spermatozoal RNA profiles of normal fertile men. *Lancet* 2002;360:772–777.
- [48] Hecht NB, Williams JL. Synthesis of RNA by separated heads and tails from bovine spermatozoa. *Biol Reprod* 1978;19:573–579.
- [49] Sandler E, Johnson GD, Mao S, Goodrich RJ, Diamond MP, Hauser R, Krawetz SA. Stability, delivery and functions of human sperm RNAs at fertilization. *Nucleic Acids Res* 2013;41:4104–4117.
- [50] Grunewald S, Paasch U, Glander HJ, Anderegg U. Mature human spermatozoa do not transcribe novel RNA. *Andrologia* 2005;37:69–71.
- [51] Joana Santiago and others, All you need to know about sperm RNAs, *Human Reproduction Update*, Volume 28, Issue 1, January-February 2022, Pages 67–91.
- [52] Cavallini G: Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Asian J Androl*. 2006;8(2):143–57.
- [53] Gunes S, Arslan MA, Hekim GNT, Asci R. The role of epigenetics in idiopathic male infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2016 May;33(5):553-569.
- [54] Katherine L. O'Flynn O'Brien, Alex C. Varghese, Ashok Agarwal. The genetic causes of male factor infertility: A review. *Fertility and Sterility*, Volume 93, Issue 1, 2010, Pages 1-12.
- [55] Dada R, Kumar M, Jesudasan R, Fernández JL, Gosálvez J, Agarwal A. Epigenetics and its role in male infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Mar;29(3):213-23.
- [56] Rotondo JC, Lanzillotti C, Mazziotta C, Tognon M, Martini F. Epigenetics of Male Infertility: The Role of DNA Methylation. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Jul 22;9:689624.
- [57] Raghubeer S, Matsha TE. Methylenetetrahydrofolate (MTHFR), the One-Carbon Cycle, and Cardiovascular Risks. *Nutrients*. 2021 Dec 20;13(12):4562.
- [58] Chen, Z. (2001). Mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase exhibit hyperhomocysteinemia and decreased methylation capacity, with neuropathology and aortic lipid deposition. *Hum. Mol. Genet.* 10, 433–443.

- [59] Rotondo, J. C., Bosi, S., Bazzan, E., Di Domenico, M., De Mattei, M., Selvatici, R., et al. (2012). Methylenetetrahydrofolate reductase gene promoter hypermethylation in semen samples of infertile couples correlates with recurrent spontaneous abortion. *Hum. Reprod.* 27, 3632–3638.
- [60] Gunes, S., Agarwal, A., Henkel, R., Mahmutoglu, A. M., Sharma, R., Esteves, S. C., et al. (2018a). Association between promoter methylation of MLH1 and MSH2 and reactive oxygen species in oligozoospermic men a pilot study.
- [61] Khambata, K., Raut, S., Deshpande, S., Mohan, S., Sonawane, S., Gaonkar, R., et al. (2021). DNA methylation defects in spermatozoa of male partners from couples experiencing recurrent pregnancy loss. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 36, 48–60.
- [62] Uysal, F., Akkoyunlu, G., and Ozturk, S. (2019). Decreased expression of DNA methyltransferases in the testes of patients with non-obstructive azoospermia leads to changes in global DNA methylation levels. *Reprod. Fertil. Dev.*
- [63] Kobayashi, H., Sato, A., Otsu, E., Hiura, H., Tomatsu, C., Utsunomiya, T., et al. (2007). Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Hum. Mol. Genet.* 16, 2542–2551.
- [64] Dong, H., Wang, Y., Zou, Z., Chen, L., Shen, C., Xu, S., et al. (2017). Abnormal methylation of imprinted genes and cigarette smoking: assessment of their association with the risk of male infertility.
- [65] Wang T, Gao H, Li W, Liu C. Essential Role of Histone Replacement and Modifications in Male Fertility. *Front Genet.* 2019 Oct 8;10:962.
- [66] Tahmasbpour Marzouni E, Ilkhani H, Beigi Harchegani A, Shafaghatian H, Layali I, Shahriary A. Epigenetic Modifications, A New Approach to Male Infertility Etiology: A Review. *Int J Fertil Steril.* 2022 Jan;16(1):1-9.
- [67] Gou LT, Kang JY, Dai P, Wang X, Li F, Zhao S, Zhang M, Hua MM, Lu Y, Zhu Y, Li Z, Chen H, Wu LG, Li D, Fu XD, Li J, Shi HJ, Liu MF. Ubiquitination-Deficient Mutations in Human Piwi Cause Male Infertility by Impairing Histone-to-Protamine Exchange during Spermiogenesis. *Cell.* 2017 Jun 1;169(6):1090-1104.e13.
- [68] Rajender S, Avery K, Agarwal A. Epigenetics, spermatogenesis and male infertility. *Mutat Res.* 2011 May-Jun;727(3):62-71.
- [69] Luo LF, Hou CC, Yang WX. Small non-coding RNAs and their associated proteins in spermatogenesis. *Gene.* 2016 Mar 10;578(2):141-57.

- [70] Yuan S, Schuster A, Tang C, Yu T, Ortogero N, Bao J, Zheng H, Yan W. Sperm-borne miRNAs and endo-siRNAs are important for fertilization and preimplantation embryonic development. *Development* 2016;143:635–647.
- [71] Evans EPP, Scholten JTM, Mzyk A, Reyes-San-Martin C, Llumbet AE, Hamoh T, Arts EGJM, Schirhagl R, Cantineau AEP. Male subfertility and oxidative stress. *Redox Biol.* 2021 Oct;46:102071.
- [72] Sharma P, Ghanghas P, Kaushal N, Kaur J, Kaur P. Epigenetics and oxidative stress: A twin-edged sword in spermatogenesis. *Andrologia.* 2019 Dec;51(11):e13432.
- [73] Takeshima T, Usui K, Mori K, Asai T, Yasuda K, Kuroda S, Yumura Y. Oxidative stress and male infertility. *Reprod Med Biol.* 2020 Oct 18;20(1):41-52.
- [74] Esteves SC, Agarwal A. Novel concepts in male infertility. *Int Braz J Urol.* 2011 Jan-Feb;37(1):5-15.
- [75] Mazur DJ, Lipshultz LI. Infertility in the Aging Male. *Curr Urol Rep.* 2018 May 17;19(7):54.
- [76] Craig JR, Jenkins TG, Carrell DT, Hotaling JM. Obesity, male infertility, and the sperm epigenome. *Fertil Steril.* 2017 Apr;107(4):848-859.
- [77] Dickson DA, Paulus JK, Mensah V, Lem J, Saavedra-Rodriguez L, Gentry A, Pagidas K, Feig LA. Reduced levels of miRNAs 449 and 34 in sperm of mice and men exposed to early life stress. *Transl Psychiatry.* 2018 May 23;8(1):101.
- [78] E V Bräuner and others, The association between in-utero exposure to stressful life events during pregnancy and male reproductive function in a cohort of 20-year-old offspring: The Raine Study, *Human Reproduction*, Volume 34, Issue 7, July 2019, Pages 1345–1355.
- [79] Dai JB, Wang ZX, Qiao ZD. The hazardous effects of tobacco smoking on male fertility. *Asian J Androl.* 2015 Nov-Dec;17(6):954-60.
- [80] Finelli R, Mottola F, Agarwal A. Impact of Alcohol Consumption on Male Fertility Potential: A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Dec 29;19(1):328.
- [81] Durairajanayagam D. Lifestyle causes of male infertility. *Arab J Urol.* 2018 Feb 13;16(1):10-20.
- [82] Vicki Denson (2006). *Diagnosis and Management of Infertility.* , 2(6), 380–386.
- [83] Mima M, Greenwald D, Ohlander S. Environmental Toxins and Male Fertility. *Curr Urol Rep.* 2018 May 17;19(7):50.
- [84] Jenardhanan, P., Panneerselvam, M., & Mathur, P. P. (2016). Effect of environmental contaminants on spermatogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 59, 126–140.
- [85] Andrea Garolla and others, Seminal and molecular evidence that sauna exposure affects human spermatogenesis, *Human Reproduction*, Volume 28, Issue 4, April 2013, Pages 877–885.

- [86] Kim JH, Park SJ, Kim TS, Kim JM, Lee DS. Testosterone production by a Leydig tumor cell line is suppressed by hyperthermia-induced endoplasmic reticulum stress in mice. *Life Sci.* 2016 Feb 1;146:184-91.



Annexe 1 : Phénomènes épigénétiques pendant la spermatogenèse et les erreurs possibles. [55]

Profil épigénétique chez l'homme infertile : revue de la littérature

Gene	Function	Associated sperm parameters	References
ALU YB8	Repetitive sequences	Normozoospermia	Urdinguio et al. (2015)
BCAN	Extracellular matrix formation	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
CPEB2	Tumor suppressor	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
CREM	Germline regulator	Not specified	Nanassy and Carrell (2011)
CRISPLD1	Cysteine-rich secretory proteins	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
D4Z4	Repetitive sequences	Normozoospermia	Urdinguio et al. (2015)
DAZL	Germline regulator and gametogenesis	Oligoasthenoteratozoospermia	Navarro-Costa et al. (2010)
DNMT1	DNA-methyltransferase	Non-obstructive azoospermia	Uysal et al. (2019)
DNMT3A	DNA-methyltransferase	Non-obstructive azoospermia	
DNMT3B	DNA-methyltransferase	Non-obstructive azoospermia	
EZH2	Histone methyltransferases	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
HDAC4	Histone deacetylases	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
HLA-C	Antigen-presenting MHC I	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
HLA-DQA1	Antigen-presenting MHC II	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
HLA-DRB6	Antigen-presenting MHC II	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
HRAS	GTPase	Oligoasthenoteratozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
HSPA1L	Molecular chaperone	Normozoospermia	Jenkins et al. (2016b)
HSPA1B	Molecular chaperone	Normozoospermia	
JMJD1C	Histone demethylases	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
KDM4C	Histone demethylases	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
LINE1	Repetitive sequences	Normozoospermia	Urdinguio et al. (2015)
		Oligoasthenoteratozoospermia	Boissonnas et al. (2010)
		Not specified	Khambata et al. (2021)
LPHN3	Member of GPCR	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
MLH1	DNA mismatch repair	Oligozoospermia	Gunes et al. (2018a)
		Oligoasthenoteratozoospermia	Hekim et al. (2021)
MT1A	Metallothionein	Oligoasthenoteratozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
MTHFR	Methylation regulator	Non-obstructive azoospermia	Khazamipour et al. (2009)
		Normo-/oligozoospermia	Wu et al. (2010)
		Oligoasthenozoospermia	Botezatu et al. (2014)
		Oligozoospermia	Rotondo et al. (2012)
		Normozoospermia	Karaca et al. (2017)
		Non-obstructive azoospermia	Kulac et al. (2021)
		Oligozoospermia	
NBL2	Repetitive sequences	Normozoospermia	Urdinguio et al. (2015)
NTF3	Neurotrophic factor	Oligoasthenoteratozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
P16	Tumor suppressor	Asthenozoospermia	Zhang et al. (2019)
PAX8	Transcription factor	Oligoasthenoteratozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
PIWL2	Endoribonuclease	Non-obstructive azoospermia/oligozoospermia	Heyn et al. (2012)
RHOXF1	Transcription factor	Oligo-/astheno-/teratozoospermia	Richardson et al. (2014)
RHOXF2	Transcription factor	Oligo-/astheno-/teratozoospermia	
rs2656927	SNP variants of UHRF1	Oligozoospermia	Zhu et al. (2019)
rs8103849	SNP variants of UHRF1	Oligozoospermia	
SAT2CHR1	Spermine N1-acetyltransferase	Oligoasthenoteratozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
SFN	Regulator of mitotic translation	Oligoasthenoteratozoospermia	
SOX30	Transcription factor	Non-obstructive azoospermia	Han et al. (2020)
SPATA4	Apoptosis regulator	Oligozoospermia	Sujit et al. (2020)
SPATA5	ATP-dependent chaperone	Oligozoospermia	
SPATA6	Myosin light chain binding	Oligozoospermia	
SPATA7	Microtubule cytoskeleton organization	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
SPATA16	Testis-specific protein	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
SPATA22	Meiosis-specific protein	Oligo-/oligoasthenozoospermia	
TDRD1	Repressor of transposable elements	Non-obstructive azoospermia/oligozoospermia	Heyn et al. (2012)
TET1	Dioxygenase	Oligoasthenozoospermia	Ni et al. (2016)
TET2	Dioxygenase	Oligoasthenozoospermia	
TET3	Dioxygenase	Oligoasthenozoospermia	
VDR	Transcription factor	Oligo-/astheno-/teratozoospermia	Vladoiu et al. (2017)
XRCC1	Enzyme binding	Oligoasthenoteratozoospermia	Metin Mahmutoglu et al. (2021)

Annexe 2 : Anomalies du sperme associées à la méthylation aberrante des gènes non soumis à l'empreinte parentale. [56]

Profil épigénétique chez l'homme infertile : revue de la littérature

Gene	Imprinted allele	Function	Associated sperm parameters	References
<i>CTNNA3</i>	Paternal	Alpha catenin	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
<i>DIRAS3</i>	Maternal	GTPase	Oligozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
<i>DLGAP2</i>	Maternal	Membrane-associated protein	Not specified	Schrott et al. (2020)
<i>GATA3</i>	Maternal	Transcriptional activator	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
<i>GNAS</i>	Maternal/Paternal	G-protein alpha subunit	Oligozoospermia	Tang et al. (2018)
<i>GTL2</i>	Paternal	Transcription regulator (lncRNA)	Oligoasthenozoospermia	Zhang et al. (2019)
<i>H19</i>	Paternal	Tumor suppressor (lncRNA)	Oligozoospermia	Kobayashi et al. (2007)
			Oligozoospermia	Tang et al. (2018)
			Oligozoospermia	Marques et al. (2008)
			Oligozoospermia	Li et al. (2016)
			Oligoasthenozoospermia	Dong et al. (2017)
			Oligoastheno-/asthenoteratozoospermia	Peng et al. (2018)
			Oligoasthenoteratozoospermia	Boissonnas et al. (2010)
			Oligozoospermia	Marques et al. (2004)
<i>IGF2</i>	Maternal	Growth factor	Not specified	Poplinski et al. (2010)
			Not specified	Ni et al. (2019)
<i>IGF2-H19</i>	Maternal/paternal		Oligo-/asteno-/terato-/oligoteratozoospermia	Rotondo et al. (2013)
			Oligozoospermia	Bruno et al. (2018)
			Asthenozoospermia	Lou et al. (2019)
<i>KCNQ1</i>	Maternal	Potassium channel	Not specified	Ni et al. (2019)
<i>LIT1</i>	Maternal	Transcription regulator (lncRNA)	Oligozoospermia	Hammoud et al. (2010)
			Oligozoospermia	Kobayashi et al. (2007)
<i>MAGI2</i>	Paternal	Membrane-associated protein	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
<i>MEG3</i>	Paternal	Transcription regulator (lncRNA)	Oligozoospermia	Bruno et al. (2018)
<i>MEST</i>	Maternal	Hydrolase	Oligozoospermia	Houshdaran et al. (2007)
			Oligozoospermia	Kläver et al. (2013)
			Oligozoospermia	Marques et al. (2008)
			Oligozoospermia	Marques et al. (2004)
			Oligozoospermia	Kobayashi et al. (2007)
			Oligozoospermia	Hammoud et al. (2010)
			Oligoasthenozoospermia	Zhang et al. (2019)
			Not specified	Poplinski et al. (2010)
			Not specified	Khambata et al. (2021)
<i>PEG3</i>	Maternal	Zinc finger	Oligozoospermia	Kobayashi et al. (2007)
			Not specified	Khambata et al. (2021)
<i>PEG10</i>	Maternal	Zinc finger	Not specified	Khambata et al. (2021)
<i>SNRPN</i>	Maternal	Small nuclear ribonucleoprotein	Oligozoospermia	Hammoud et al. (2010)
			Oligoasthenozoospermia	Botezatu et al. (2014)
			Oligoastheno-/asthenoteratozoospermia	Peng et al. (2018)
			Astheno-/teratozoospermia	Dong et al. (2017)
<i>SNURF</i>	Maternal	SNRPN upstream reading frame	Oligozoospermia	Bruno et al. (2018)
<i>TP73</i>	Paternal	Tumor protein	Oligo-/oligoasthenozoospermia	Sujit et al. (2018)
<i>ZAC</i>	Maternal	Zinc finger	Oligozoospermia	Kobayashi et al. (2007)
			Not specified	Khambata et al. (2021)
<i>ZCCHC13</i>	Maternal	Zinc finger	Non-obstructive azoospermia	Li et al. (2018)

Annexe 3 : Anomalies du sperme associées à la méthylation aberrante des gènes non soumis à l'empreinte parentale. [56]

Study group (sample size) and Type of analyzed samples	Brief results and miRNAs displaying the greatest fold changes
Patients with NOA (3) <i>Testicular tissues</i>	154 downregulated miRNAs such as miR-17-92 and miR-371/2/3 clusters, miR-1, miR-181a, miR-221, miR-9*, miR-145, miR-383, let-7f, let-7f-2*, let-7i*, miR-19a, miR-20b, miR-29c, miR-30a*, miR-30d*, miR-34b*, miR-449a, miR-652, miR-92a 17 up-regulated miRNAs: miR-129-5p, miR-193a-3p, miR-193a-5p, miR-554, miR-423-3p, miR-491-3p, miR-557, miR-210, miR-23a, miR-302a, miR-371-5p, miR-374a, miR-654-5p, miR-663, miR-638, miR-572, miR-744
Patients with azoospermia and oligozoospermia (490) <i>Genomic DNA</i>	A SNP in the 3'UTR of <i>HIW2</i> gene (rs508485T>C) exhibited a significantly increased oligozoospermia risk, whereas <i>HIW3</i> variant rs11703684C>T displayed a significantly reduced oligozoospermia risk.
Patients with azoospermia (266) or severe oligozoospermia (228) <i>Genomic DNA</i>	A SNP (rs6631A>T) in <i>CGA</i> encoding glycoprotein hormone α -subunit resulted in decreased binding affinity of miR-1302 and overexpression of CGA in vitro, and is associated with increased risk for idiopathic male infertility.
Patients with NOA (118), asthenozoospermia (137) and oligospermia (34) <i>Seminal plasma</i>	7 miRNAs (miR-34c-5p, miR-122, miR-146b-5p, miR-181a, miR-374b, miR-509-5p and miR-513a-5p) were found to be markedly decreased in azoospermia but increased in asthenozoospermia.
Patients with NOA (48) and oligozoospermia (48) <i>Seminal plasma</i>	Expression levels of miR-19b and let-7a in both seminal plasmas and testicular tissues (n = 5) were significantly increased in idiopathic infertile males with NOA. No significant differences were found between the fertile controls and infertile males with oligozoospermia.
Infertile normospermic, oligospermic and asthenospermic men (667) <i>Genomic DNA</i>	SNPs in the 3'UTR (rs10719T>C and rs642321C>T) and promoter (rs12323635T>C) regions of <i>Dicer1</i> were found to be significantly associated with oligozoospermia, and were proposed to result in global changes in miRNA processing through affecting <i>Dicer1</i> expression levels.
Patients with NOA (100) <i>Seminal plasma</i>	miR-141, miR-429 and miR-7-1-3p were significantly upregulated in NOA compared to fertile controls.
Patients with asthenozoospermia (9) and oligoasthenozoospermia (9) <i>Spermatozoa</i>	50 miRNAs upregulated (such as miR-30a, miR-363, miR-26a, miR-200a, miR-141, miR-429, miR-193b, miR-29a, miR-1274a, miR-24, miR-4286, miR-99a) and 27 miRNAs downregulated (such as miR-34b, miR-122, miR-1973) in asthenozoospermic males
Normozoospermic fertile men (10) <i>Spermatozoa</i>	42 miRNAs upregulated (such as miR-141, miR-193b, miR-26a, miR-200c, miR-29a, miR-429, miR-200a, miR-99a, miR-363) and 44 miRNAs downregulated (such as miR-34b*, miR-34b, miR-34c-5p, miR-15b, miR-122, miR-449a, miR-1973, miR-16, miR-19a) in oligoasthenozoospermic males.
Oligospermic infertile patients (43) <i>Spermatozoa</i>	221 miRNAs were found to be consistently present in all individuals. 48 miRNA pairs displayed a stable expression. miR-532-5p, miR-374b-5p and miR-564 were the best normalizing miRNA candidates, and were proposed to be used as fertility biomarkers.
Oligospermic infertile men (43) <i>Spermatozoa</i>	miR-100 and let-7b levels were significantly higher, and ER α (estrogen receptor α) expression was significantly decreased in oligospermic groups.
Azoospermic men (40): SCO (12), MA (12) and GCA (16) subgroups <i>Testicular tissues</i>	miR-21 and miR-22 levels were significantly higher, and ER β (estrogen receptor β) expression was significantly decreased in oligospermic males.
SCO down	197, 68, and 46 miRNAs were found to be differentially expressed in SCO, MA and GA groups, respectively.
SCO up	miR-34b*, miR-34c-5p, miR-449a, miR-574-5p, miR-15b, miR-125b, miR-125a-5p, miR-16, miR-204, miR-1260, miR-23a, miR-145, miR-1260b, miR-30b, miR-25, miR-1274a, miR-22, miR-34b, miR-19a, miR-574-3p, miR-92a
MA down	miR-3925, miR-135a*, miR-1471, miR-642b, miR-617, miR-3180-3p, miR-718, miR-3200-5p, miR-99b*, miR-3945, miR-3648, miR-575, miR-936, miR-3137, miR-548q, miR-4322, miR-1181, miR-125a-3p, miR-371-5p, miR-373*, miR-3197, miR-3656, miR-3194
MA up	miR-34c-5p, miR-34b*, miR-449a, miR-509-5p, miR-514, miR-34b, miR-517a, miR-506, miR-514b-5p, miR-129-3p
GCA down	miR-127-3p, miR-410, miR-199a-5p, miR-379
GCA up	miR-449a, miR-34b*, miR-34c-5p, miR-34b, miR-449b*
Patients with oligospermia / oligoasthenozoospermia (80) and NOA (40) <i>Spermatozoa and testicular tissues</i>	miR-135a*, miR-3137, miR-99b*, miR-3692*
Infertile men of various subgroups (30) <i>Genomic DNA</i>	miR-429 was significantly increased, whereas miR-34b*, miR-34b, miR-34c-5p and miR-122 were decreased in both tested groups compared to normal control subjects.
Azoospermic men with SCO (5) <i>Testicular tissues</i>	Two allele-specific methylation-sensitive SNPs in <i>PIW11</i> and <i>PIW12</i> , rs10773767 and rs6982089 respectively, were found to be associated with idiopathic male infertility.
Infertile men with high sperm DNA damage (94) <i>Seminal plasma</i>	miR-34c-5p, miR-126, miR-191, miR-10b, miR-202-5p, miR-103, miR-514, miR-204 expressions were markedly reduced in testicular tissues from SCO men compared to normal fertile men. miR-424 was found to be significantly downregulated in the study group compared to the control group.

SCO Sertoli cell only, NOA non-obstructive azoospermia, MA mixed atrophy, GCA germ cell arrest

Annexe 4 : Résumé des études des rapports entre le niveau d'expression des miARN et l'infertilité masculine.