

III. Facteurs influençant la qualité et la quantité de la semence

III.1. Tératozoospermie ou tératospermie

III.1.1 Définition [37, 75, 76]

Un animal tératozoospermique produit un éjaculat contenant moins de 40 % de spermatozoïdes normaux. Au contraire, le sperme d'un mâle normospermique contient plus de 40 % de spermatozoïdes normaux, la semence est de très bonne qualité pour plus de 60 % de formes normales.

III.1.2 Étiologie [37, 75, 76]

La fréquence des chats tératospermiques est très élevée, puisqu'on trouve plus de 29 % de mâles touchés dans cette population [75]. Cependant, il semblerait que l'espèce féline soit touchée dans son ensemble [37].

L'étiologie de cette affection est encore inconnue dans cette espèce. Des études ont été menées chez certains grands félins sauvages comme le guépard [75] et dans une population isolée de lions [74]. On a pu établir un lien avec la consanguinité et la diminution de la diversité génétique qui en résulte. Une concentration diminuée en testostérone circulante a également été corrélée à l'incidence de la tératospermie.

On note cependant une taille accrue des testicules chez les mâles tératospermiques (30 % plus large) et un volume des tubes séminifères plus élevé de 40 % environ ($p < 0,05$) [50].

Les gènes exprimés par le testicule ont été étudiés. Pukazhenti *et al.* [61] nous donnent déjà quelques indications : 71 gènes sont surexprimés (2 gènes de réparation de l'ADN et de recombinaison) et 97 sont sous-exprimés par rapport aux chats normospermiques (6 gènes de réparation de l'ADN et de recombinaison, 5 gènes de transcriptions, 5 gènes d'apoptose et 4 gènes du cycle cellulaire).

D'autres études plus précises concernant ces gènes « candidats » sont nécessaires, afin de mettre en lumière leur rôle dans le caractère tératospermique de la semence.

III.1.3 Caractéristiques de la semence de félins tératozoospermiques et anomalies morphologiques les plus fréquentes

Howard *et al.* [37] et Jayaprakash [40] ont comparé deux populations de chats, l'une tératospermique et l'autre normospermique. Les caractéristiques des éjaculats sont répertoriées dans le tableau 5 et les formes anormales mises en évidence sur la photo 12 (autre étude de Zambelli).

D'autres formes anormales sont présentées en figure 13 chez le lynx roux.

Tableau 5 : Caractéristiques séminales, volume testiculaire, et incidence des spermatozoïdes de morphologie normale et anormale chez les chats normospermiques et tératospermiques [37].

(moyenne+/-écart type, p<0,05)

	Ejaculats normospermiques (n=18)	Ejaculats tératospermiques (n=18)
Volume (µL)	124,1 ±9,5	97,4 ±9,5
Concentration en spermatozoïdes (.10 ⁶ /ml)	167,6 ±43,6	361,3 ±43,6
Mobilité (%)	84,4 ±5,9	73,3 ±5,9
Mobilité progressive	4,2 ±0,3	3,7 ±0,3
Index de mobilité	84,4 ±5,2	73,6 ±5,2
Spermatozoïdes mobiles/éjaculat (.10 ⁶)	17,0 ±3,8	24,6 ±3,8
Volume testiculaire (cm ³)	4,3 ±0,6	3,8 ±0,6
Spermatozoïdes normaux (%)	71,6 ±6,4	33,8 ±6,4
Spermatozoïdes anormaux (%)		
Macrocéphale	0,1 ±0,03	0,2 ±0,03
Microcéphale	0,1 ±0,03	0,2 ±0,03
Bicéphale	0,2 ±0,2	2,1 ±0,2
Tricéphale	0,0	0,8 ±0,5
Aplasia mitochondriale	0,0	0,4 ±0,1
Flagelle enroulé	2,1 ±1,6	5,3 ±1,6
Pièce intermédiaire liée avec gouttelettes	9,3 ±3,5	24,1 ±3,5
Pièce intermédiaire liée sans gouttelette	1,0 ±1,3	2,3 ±1,3
Flagelle lié avec gouttelettes	0,9 ±6,2	5,4 ±6,2
Flagelle lié sans gouttelettes	5,8 ±7,0	8,2 ±7,0
Gouttelettes cytoplasmiques proximales	2,2 ±1,5	5,1 ±1,5
Gouttelettes cytoplasmiques distales	6,7 ±2,0	12,1 ±2,0

Figure 12 : Quelques formes de spermatozoïdes retrouvés dans les éjaculats de chat normospermique (A) ou tératospermique (B) [78].

(Coloration au vert FCF et rose Bengale ; grossissement de 1000). Acrosome normal (C) ; acrosome lésé (D) ; acrosome enflée (E) ; absence d'acrosome (F) ; spermatozoïde normal (G) ; gouttelette cytoplasmique avec (H) ou sans (I et J) pièce intermédiaire ; gouttelette cytoplasmique proximale (I) ou distale (H et J) ; flagelle double (K) ; flagelle enroulé (L) ; macrocéphalie avec aplasie mitochondriale partielle (M) ; microcéphalie avec aplasie mitochondriale totale (N) ; flagelle en anneau (O) ; tête piriforme (P)

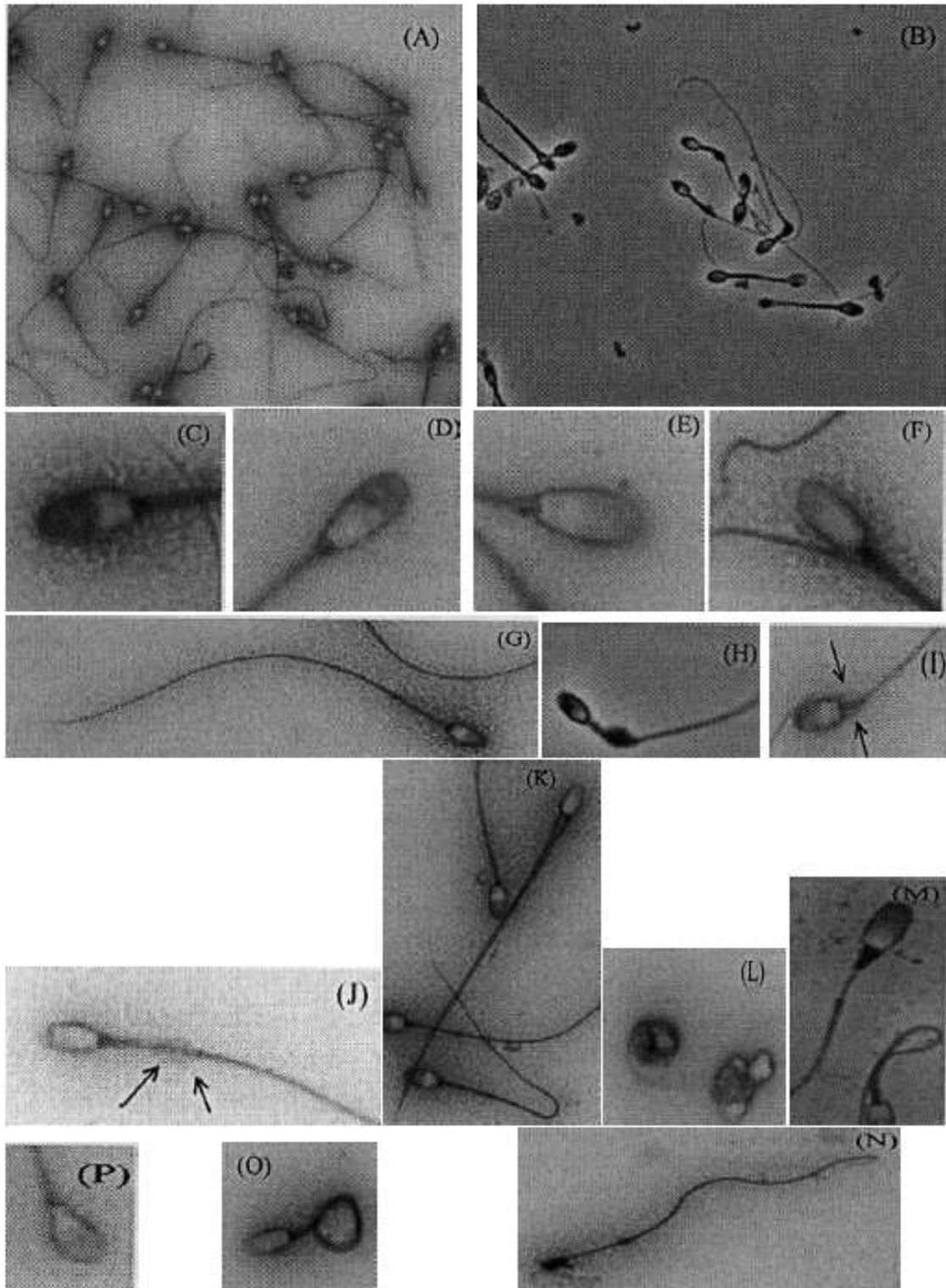
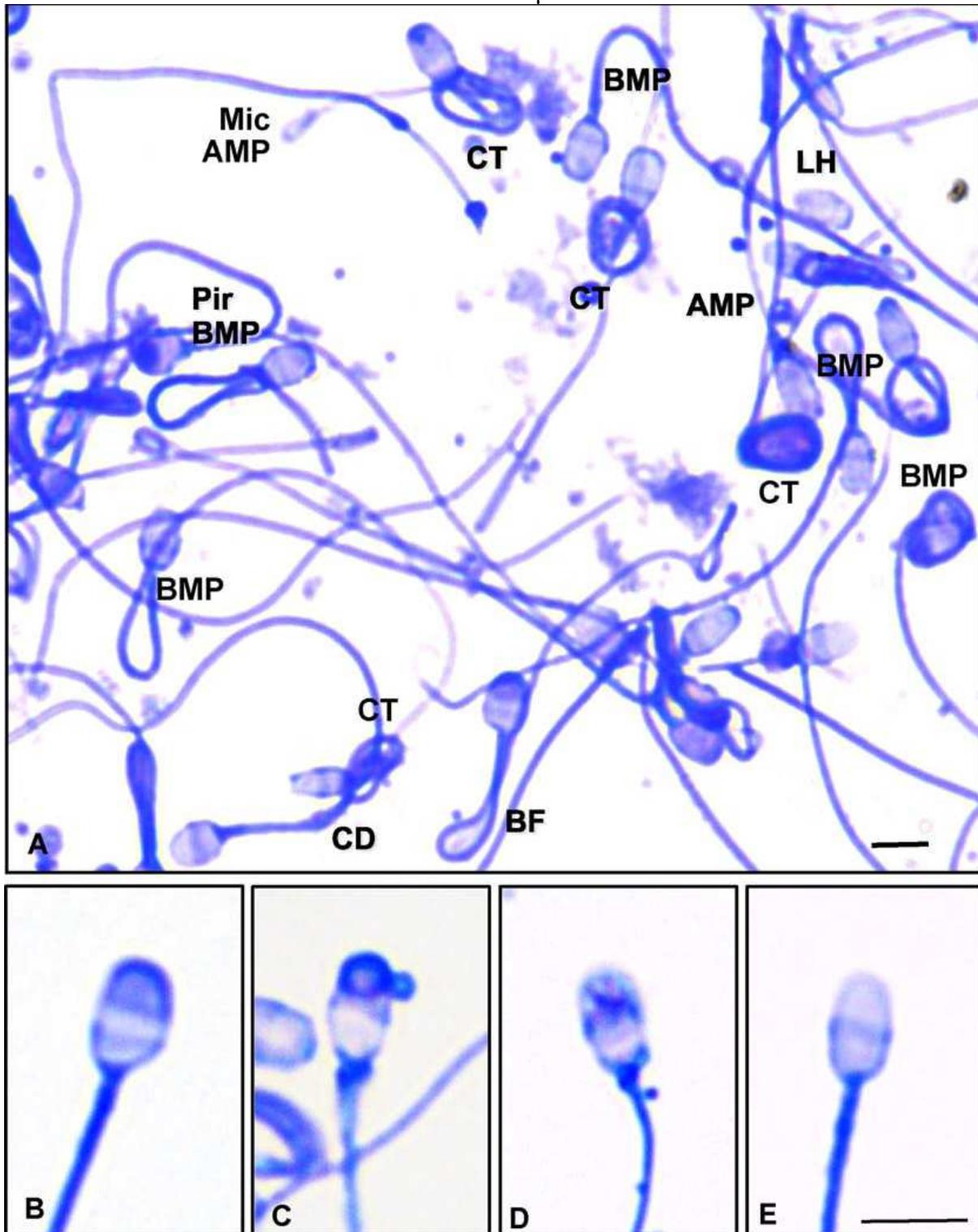


Figure 13 : Spermatozoïdes de lynx roux colorés au Bleu de Coomassie observés à l'objectif x 1000 [25].

Morphologies : N : normale ; Mic. : microcéphalie ; Pir. Tête piriforme ; AMP : pièce intermédiaire anormale ; BMP : courbure de la pièce intermédiaire ; BF : courbure du flagelle ; LH : acéphale ; B : acrosome intact ; C : acrosome anormal ; D : acrosome endommagé ; E : acrosome manquant. Échelle de 5µm.



Vingt-deux des 28 espèces de félins sauvages dont le sperme a été étudié se sont avérées tératospermiques[60], comme le présentent le tableau 6 [45] et la figure 14 [46]. La plupart du temps, la tératospermie s'accompagne d'oligospermie ou d'aspermie.

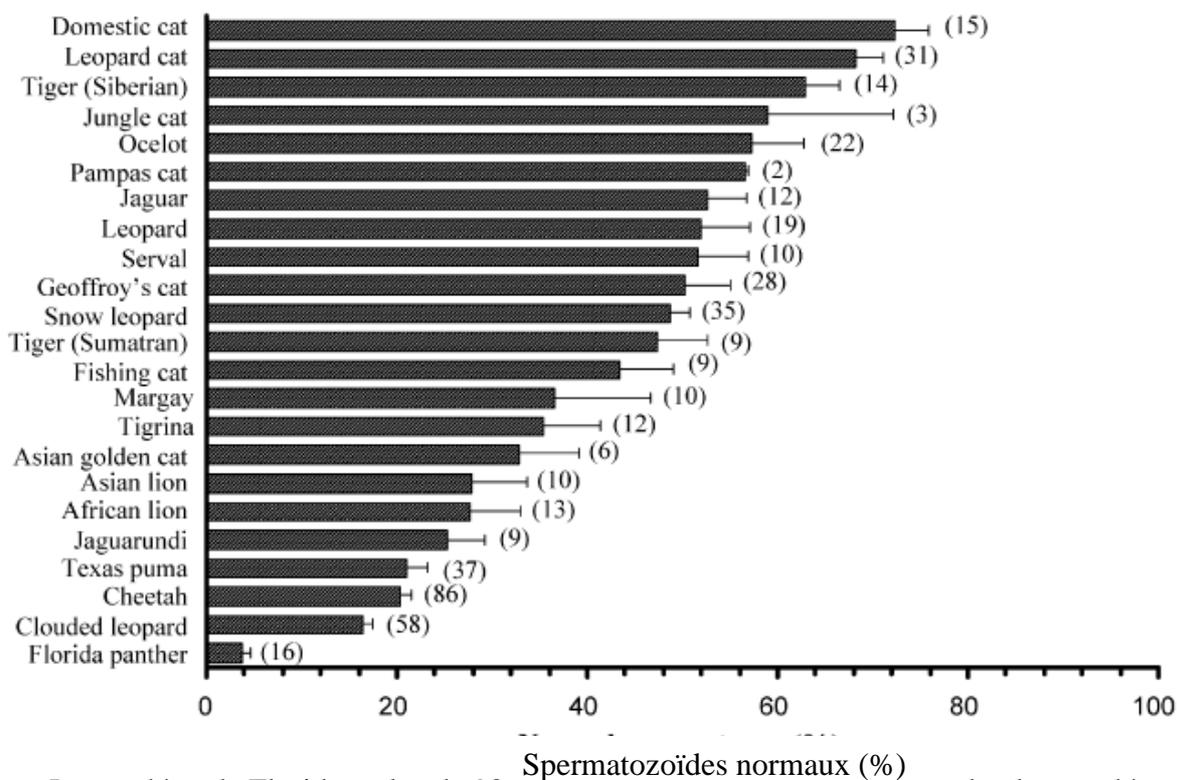
Tableau 6 : Caractéristiques du sperme de six félins[45].

Volume en mL.

Ejaculat	Chat (<i>Felix catus</i>) normosp. n=45	Léopard (<i>Prionailus bengalensis</i>) n=43	Tigre (<i>panthera tigris</i>) n=62	Chat (<i>Felix catus</i>) tératosp. n=31	Guépard (<i>Acinonyx jubatus</i>) n=60	Léopard tacheté (<i>Néofélis nebulosa</i>) n=147	Panthère de Floride (<i>Felis concolor coryi</i>) n=39
Volume	0,23 ±0,06	0,29 ±0,1	6,46 ±0,4	0,20 ±0,09	1,5 ±0,1	0,95 ±0,1	1,6 ±0,2
Concentration (.10 ⁶ /ml)	198,0 ±19,3	55,6 ±7,7	38,8 ±6,7	215,0 ±10,6	29,3 ±5,6	37,6 ±3,3	9,3 ±1,9
Mobilité (%)	86,2 ±1,7	68,4 ±2,9	70,8 ±3,1	80,2 ±1,4	67,0 ±2,0	66,1 ±1,4	50,3 ±4,0
Mobilité progressive	4,2 ±0,3	3,6 ±0,1	3,5 ±0,6	3,7 ±0,2	3,6 ±0,1	3,4 ±0,1	2,7 ±0,2
Spermatozoïdes normaux (%)	76,2 ±3,1	68,8 ±4,6	62,1 ±1,8	24,6 ±1,6	21,3 ±2,0	15,9 ±3,1	8,6 ±1,1
Spermatozoïdes anormaux (%)	23,8 ±1,3	31,2 ±4,1	37,9 ±2,1	75,4 ±2,4	78,7 ±1,3	84,1 ±1,3	91,4 ±1,1
Acrosome anormal	3,5 ±0,4	4,3 ±0,8	6,2 ±0,1	2,6 ±0,1	15,4 ±2,1	36,7 ±2,3	36,5 ±2,2

Figure 14 : Pourcentage de spermatozoïdes normaux [46].

Le nombre entre parenthèse indique le nombre de mâles évalués.



La panthère de Floride a plus de 90 % de formes anormales et les panthères nébuleuses ont plus de 70 % de formes anormales (figure 14).

Le guépard produit une très grande proportion de spermatozoïdes anormaux par éjaculat : 65 à 76 % d'après Wildt *et al.* [74-77] Le taux sérique de testostérone chez les guépards anesthésiés est généralement compris entre 0,3 et 0,5 ng/ml, ce qui correspond aux valeurs mesurées chez le chat tératospermique [37].

On retrouve la même corrélation entre tératospermie et faible testostéronémie chez le lion. Deux populations de lions ont été étudiées en Tanzanie en 1987 [74]. Une d'elles présente une grande variabilité génétique et ne produit que 25 % de spermatozoïdes pléiomorphiques avec un taux de testostérone circulante de 1,2 à 1,8 ng/ml. L'autre est géographiquement isolée, issue d'un nombre restreint d'individus (15) et sa variabilité génétique est réduite (forte homozygotie): elle produit environ 50 % de formes anormales par éjaculat et sa concentration sérique en testostérone circulante est de 0,4 à 0,7 ng/ml, significativement plus faible.

Brown *et al.* [10] se sont penchés sur l'étude de la fonction gonado-hypophysaire des lions tanzanien (population du cratère du Ngorongoro vs population du Serengeti). Ils ont mis en évidence une plus faible motilité et des formes anormales importantes principalement chez les jeunes adultes de la plaine du Serengeti, associés à une faible activité hormonale. Au contraire, les lions du cratère du Ngorongoro, quelque soit l'âge présentaient des semences de mauvaise qualité, sans relation directe avec la sécrétion hormonale. L'âge influe donc significativement sur la qualité de la semence.

L'incidence du type d'anomalie retrouvée semble être étroitement liée à l'espèce étudiée [37]. Le guépard, le léopard et le puma produisent le plus fréquemment des spermatozoïdes avec un flagelle enroulé ou une pièce intermédiaire liée, alors que les lions semblent plus touchés par les gouttelettes cytoplasmiques et les flagelles liés [74-76].

La co-incubation de spermatozoïdes de chats normospermiques, de léopards ou de tigres avec des ovules con-spécifiques a donné lieu à une fécondation dans plus de 60 % des cas. Le tigre et le léopard sont connus pour produire peu d'anomalies morphologiques. Au contraire, peu de fécondation ont eu lieu avec le sperme de chats tératospermiques (50,3 %), de guépard (26,2 %), de puma (33,5 %) et de léopard tacheté (0 %). Les trois espèces de félins sauvages citées appartiennent à des espèces connues pour être tératospermiques. On peut donc dire que la fertilisation *in vitro* connaît des résultats moindres en présence de gamètes anormaux en grand nombre [52].

Par ailleurs la capacitation est plus longue dans ces espèces, comme chez le chat tératospermique [45] : le léopard, le léopard tacheté et le guépard produisent une semence qui nécessite 3 heures pour être capacitée, alors qu'il suffit de 2 heures au chat normospermique. Les spermatozoïdes de tigre n'ont même pas atteint le stade post-capacitation dans les conditions de l'expérience. L'expérience de Byers *et al.* [11] a cependant permis la capacitation des spermatozoïdes de tigre de Sibérie en 2 heures d'incubation à 37 °C dans du plasma séminal ou un milieu capacitant.

Une autre étude [2] a montré une origine différente des anomalies constatées sur les spermatozoïdes selon la position au niveau de l'épididyme félin. Celui-ci a été « découpé » en six segments (figures 15) : la maturation commence dans le deuxième et troisième segment, la motilité débute dans le quatrième segment et c'est aussi à cet endroit que la gouttelette cytoplasmique passe d'une position proximale à distale, et durant tout le transit épидидymaire, le pourcentage de spermatozoïdes immatures malformés décroît, contrairement aux anomalies de flagelles qui augmentent au plus proche de l'abouchement épидидymal.

Figure 15 : Schématisation et topographie des localisations des segments épидидymaires chez le chat [2].

V.d. : canal déférent ; D.e. : canal efférent.

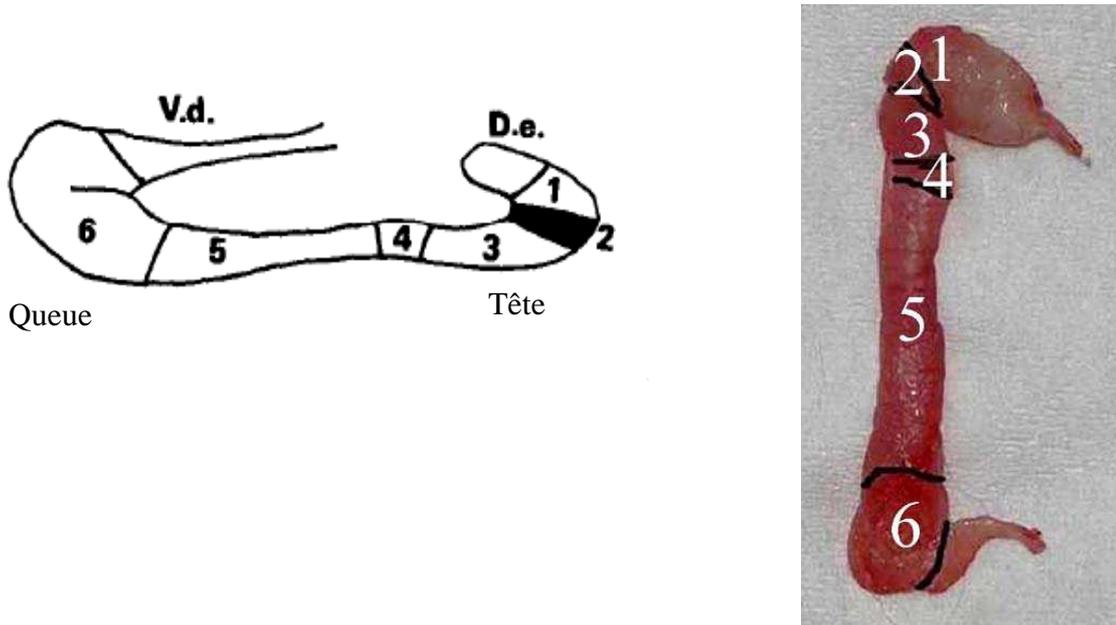
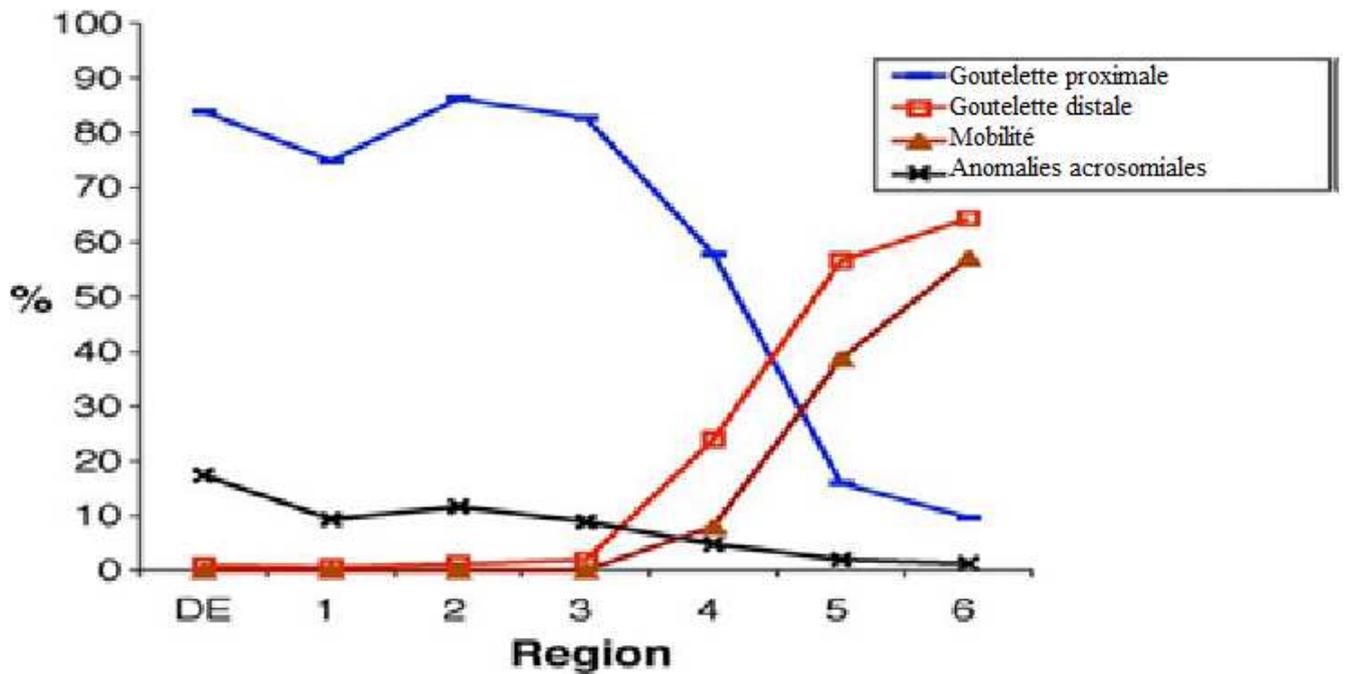


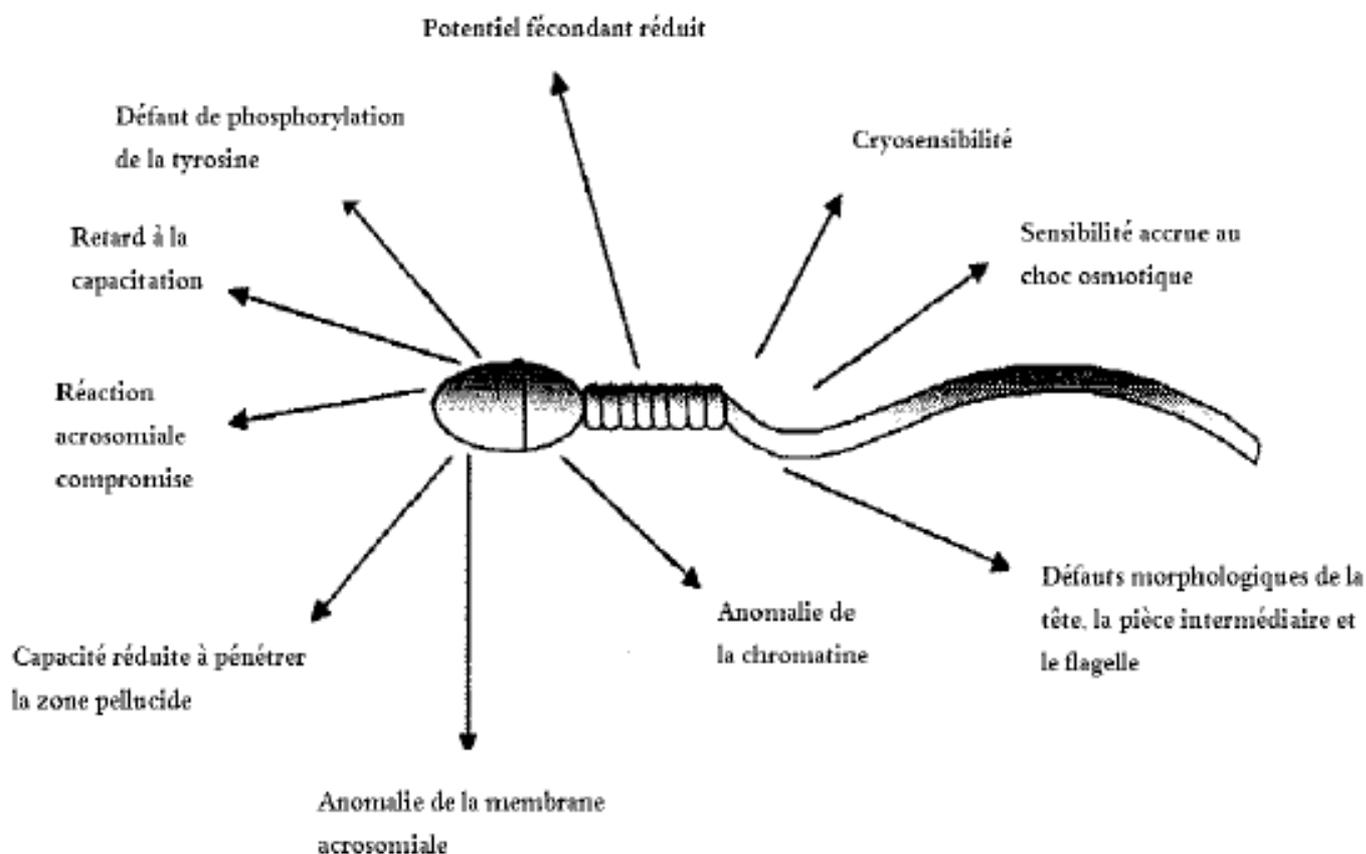
Figure 16 : Variation de maturation du sperme de chat [2].

Conformation et anomalies des spermatozoïdes dans le canal déférent et les six régions épидидymaires. DE : canal déférent.



La figure 17 récapitule les défauts structuraux et fonctionnels observés dans la semence féline.

Figure 17 : Représentation schématique des conséquences fonctionnelles liées aux anomalies structurelles observées chez les spermatozoïdes de félins tératospermiques [75].



III.1.4 Comment s'affranchir de la tératospermie ?

Howard *et al.* [37] ont montré que la technique de « swim-up » permettait d'améliorer la qualité de la semence de chats tératospermiques. Ceci nous concerne tout spécialement car il s'avère nécessaire d'obtenir une semence de qualité avant d'envisager de mettre en place le processus de congélation qui altérera inévitablement une partie des spermatozoïdes comme nous le verrons plus loin.

Le procédé de « swim-up », détaillé en annexe 8, permet de réduire le pourcentage de formes anormales, excepté pour ce qui est de l'anomalie de liaison du flagelle dont le pourcentage double au contraire. Chez les chats tératospermiques, on obtient 1,5 fois plus de spermatozoïdes normaux après le « swim-up ». La mobilité (pourcentage de spermatozoïdes mobiles et index de mobilité ou SMI) est améliorée quelle que soit la population considérée.

Une autre étude d'Howard *et al.* [38] montre des résultats similaires concernant l'effet bénéfique du « swim-up » avec un pourcentage de formes normales augmenté (28,6 % avant contre 66,5 % après), approchant la valeur normospermique des éjaculats témoins (71,8 %).

Nous avons vu que la concentration en spermatozoïdes était plus élevée chez les chats tératospermiques, mais que le nombre de spermatozoïdes normaux par éjaculat était le même que

chez les normospermiques. Il semblerait cependant que l'on ne récupère qu'une moindre proportion de ces spermatozoïdes normaux chez les tératospermiques après « swim-up » (annexe 8) : 4,9 % contre 11,1 % chez les normospermiques.

La dilution améliore les qualités du sperme tératospermique. Cependant, elle n'a pas d'influence sur le sperme des félins normospermiques.

Maintenant que le problème majeur de la tératospermie des félins a été évoqué, nous allons décrire les autres facteurs influençant la qualité de la semence féline.

III.2. Facteurs environnementaux

III.2.1 Éclairage

Comme chez la femelle, le mâle est très sensible à la photopériode, dont dépend son activité sexuelle et sa libido. Il faut donc essayer d'augmenter l'éclairage artificiel des félins dont la fertilité reste discutable [73].

La période sèche est plus propice à la production d'une semence de bonne qualité chez le jaguar [49], étude explicitée en annexe 9.

III.2.2 Stress

Tout stress peut affecter la libido. Notons que le transport est un facteur de stress important et qu'il peut affecter de façon considérable la libido. Ceci peut poser problème lors de saillie organisée à distance pour les félinés sauvages.

La captivité joue un rôle non négligeable dans le stress des animaux. Aucune étude ne porte sur ce sujet de façon spécifique, mais la difficulté rencontrée par plusieurs parcs zoologiques à obtenir une reproduction satisfaisante de leurs félins en est la preuve.

Le comportement d'évitement des guépards face à leurs prédateurs, que sont le lion et la hyène tachetée (*Crocuta crocuta*), a des conséquences en ce qui concerne la reproduction. Ceci a été confirmé par cette étude [21] mettant en évidence le fait que la reproduction des guépards est plus active dans des zones de faibles densités de leurs prédateurs.

III.2.3 Alimentation

La malnutrition est également un facteur de stress, mais plus insidieuses sont les carences. Seules les carences graves ou les déséquilibres majeurs durables produisent des effets nets. Parce que la fonction de reproduction est prioritaire, elle est l'une des premières à être affectée par les déficits nutritionnels [51].

D'un point de vue qualitatif, les aliments indispensables sont les acides gras essentiels, les vitamines liposolubles, la vitamine B12 (elle intervient dans le catabolisme des stéroïdes), l'acide pantolénique (cofacteur de la synthèse des stéroïdes), l'iode (qui intervient dans le métabolisme thyroïdien) et le phosphore (élément clé des transports d'énergie à l'échelle cellulaire).

De plus, le félin est sujet à des troubles du métabolisme de la vitamine A. L'hypervitaminose A provoque une dégénérescence testiculaire qui s'accompagne d'un arrêt de la spermatogénèse. Au contraire, du fait de leur impossibilité à métaboliser le β carotène, les félidés sont très sujets aux hypovitaminoses A dont les conséquences sur la fonction de reproduction restent à démontrer. On note cependant que cette affection se traduit par l'apparition de lésions ankylosantes de la colonne vertébrale. La raideur qui en résulte peut rendre le coït impossible et/ou douloureux.

III.3. Interaction avec les molécules anesthésiques

Comme toute molécule chimique, il n'est pas insensé de penser que les agents anesthésiques peuvent interférer avec la qualité de la semence prélevée, positivement et/ou négativement.

Certains auteurs préconisent une prémédication : xylazine ROMPUN® à 1mg/kg par voie intramusculaire ; ou thiopental sodique (2,5 %) [6] et atropine (au rapport ¼) par voie intraveineuse lente jusqu'à suppression du réflexe d'agitation des moustaches [42] ; ou encore acépromazine [73].

On utilise préférentiellement le protocole anesthésique suivant : kétamine IMALGENE 1000® administrée seule à 25- 33mg/kg en IM ou kétamine à 5 mg/kg associée à la médétomidine DOMITOR® à 80 μ g/kg en SC ou encore médétomidine seule à 100-150 μ g/kg SC. Ce dernier protocole semble accroître la concentration en spermatozoïdes [78].

Les anesthésies répétées ne semblent pas altérer la qualité de l'éjaculat [54].

De plus, selon Dooley *et al.* [20], la kétamine ne contribue pas au flux rétrograde de spermatozoïdes dans la vessie durant l'électroéjaculation comme cela avait pu être suspecté.

Le prélèvement par éjaculation pharmacologiquement induite a également été étudié chez le chat par Zambelli *et al.* [79, 80]. L'isoflurane a aussi été testé et engendre une meilleure mobilité de la semence chez le chat domestique [41].

Un protocole anesthésique kétamine/propofol sur des lions a été aussi évalué [22], en comparaison à deux autres protocoles déjà utilisés. Le premier groupe de lions fut induits à la xylazine (1 mg/kg) puis à la kétamine (10 mg/kg) en intramusculaire, une antagonisation étant alors possible avec de la yohimbine à 0,1 mg/kg en intraveineuse ; le deuxième groupe, induit par une injection de kétamine (10 mg/kg) en intramusculaire puis un relais kétamine (2 mg/kg) /diazepam (0,2 mg/kg) en intraveineuse ; et enfin le troisième groupe, anesthésié par une injection intramusculaire de kétamine (10 mg/kg) puis relais veineux au propofol (1 mg/kg en bolus une fois puis à la demande, de 0,5 en 0,5 mg/kg). Une fréquence cardiaque plus faible et un tonus de la mâchoire moins prononcé furent observés dans le groupe un par rapport au groupe deux. Aucun effet secondaire n'a été observé suite à l'injection de propofol, qui peut donc être considéré comme approprié et sans dangers en tant qu'anesthésique de maintenance chez le lion.

Une autre étude sur le propofol vient corroborer la précédente, et ce chez les félinés en général [13].

III.4. Contamination urinaire [18, 20, 53, 54]

L'éjaculation rétrograde est le phénomène de reflux total ou partiel de la semence mâle lors de l'éjaculation, allant de la partie postérieure de l'urètre à la vessie. C'est un processus connu et mis en évidence chez l'homme, moins connu chez l'animal, mais décrit chez le chien [27].

Ainsi, comme l'étude de la neuro-physiologie de l'appareil génital mâle des félins nous l'a montré, la stimulation électrique des sondes rectales entraîne-t-elle la contraction des muscles lisses des voies spermatiques efférentes, et par la même, la contraction des muscles lisses vésicaux et urétraux. Les spermatozoïdes ayant reflué dans l'urètre et la vessie sont réexpulsés en présence d'urine. Ce milieu de pH acide n'est évidemment pas optimal pour la survie des spermatozoïdes, nous l'avons vu dans les paragraphes précédents.

Il est donc indispensable de pallier à ce problème de contamination urinaire.

Pour les prélèvements par électroéjaculation, on remarque qu'une contamination urinaire se produit le plus souvent à partir de 8V [28,76], et on observe fréquemment une contamination urinaire de l'éjaculat pour une tension supérieure à 6 V [65].

De plus l'importance du flux rétrograde varie d'un individu à l'autre. Nous avons vu précédemment que ce phénomène était présent physiologiquement chez certains chats. Il existe également une forte proportion de chats oligozoospermiques, mêmes s'ils sont matures sexuellement, ce qui est visible d'après la taille des organes génitaux externes et le développement des spicules sur le pénis. L'oligozoospermie peut être due au chat lui-même ou au flux rétrograde vésical plus ou moins abondant [78].

Pour éviter la contamination urinaire, certains auteurs proposent de vidanger préalablement la vessie et de la laver avec du chlorure de sodium à 0,9 %. On peut la remplir ensuite avec du milieu de dilution afin de tamponner l'urine en prévention (Hill Debrandt, Institut zoologique de Berlin, données non publiées, communication personnelle).

L'objectif de l'étude de Beaufays *et al.* est de mettre en évidence un avantage potentiel de l'utilisation de la phénylpropanolamine sur ce phénomène d'éjaculation rétrograde : une dose de 4 à 8 mg/kg de cette molécule administrée cinq jours avant l'électroéjaculation, *per os*, de façon journalière, diminue significativement la pression dans l'urètre distal et donc fait baisser considérablement le reflux [8]. D'un point de vue pratique, l'administration *per os* de la phénylpropanolamine avant la récolte de semence par électroéjaculation est quasi voire même totalement impossible pour des espèces sauvages.

Un autre paramètre à considérer lors de prélèvements de semence féline est le type de molécule d'anesthésie utilisé, permettant une moindre contamination urinaire. Par exemple, il faut éviter l'acépromazine en prémédication car elle prolonge fortement l'anesthésie et peut entraîner une contamination urinaire de l'éjaculat [65].

Ainsi, l'étude du contexte bibliographique actuel nous a permis de mettre en lumière les différents aspects d'ores et déjà maîtrisés en matière de reproduction féline assistée.

On dispose de données anatomiques précises, mais certains points de physiologie restent en suspens. En effet, l'âge de la puberté chez les félidés sauvages est mal défini et certaines questions quant à la régulation neurochimique de l'érection-éjaculation restent à explorer. En outre, le déterminisme nerveux et multifactoriel de l'érection-éjaculation, ainsi que les particularités anatomiques liées à l'espèce (pénis interne) rendent le prélèvement de sperme difficile.

Il existe cependant plusieurs techniques ayant fait leurs preuves. La méthode de prélèvements de semence féline de choix est l'électro-éjaculation.

La rétrospective des données bibliographiques concernant l'électroéjaculation chez les félidés ayant été faite, nous pouvons détailler le protocole expérimentale se basant sur cette théorie mis en place en collaboration avec le CRESAM dans le but d'améliorer la reproduction médicalement assistée des grands félins.

[MCours.com](https://www.mcourses.com)