

ESPOIR DE PATERNITÉ DANS LE SYNDROME DE KLINEFELTER

par Ingrid PLOTTON^(1, 2, 3, 4), Aurélie BROSSE⁽¹⁾, Groupe FERTIPRESERVE⁽⁵⁾
et Hervé LEJEUNE^(1, 3, 4) (Lyon)

Le syndrome de Klinefelter à caryotype 47,XXY homogène a longtemps été considéré comme le modèle de stérilité masculine totale et définitive. Dans cette mise au point nous discutons : 1) des possibilités de fertilité par TESE-ICSI (TESticular Sperm Extraction-IntraCytoplasmic Sperm Injection) ; 2) de la physiopathologie de l'altération de la spermatogenèse, de l'explication de la spermatogenèse focale et des risques d'aneuploïdie dans la descendance, et enfin 3) des arguments qui pourraient nous pousser à intervenir à l'adolescence plutôt qu'à l'âge adulte.

Dans les séries publiées ces dernières années l'extraction de spermatozoïdes à partir d'une biopsie testiculaire est positive dans environ 50 % des cas, avec des taux de grossesses habituels pour des micro-injections intra-ovocytaires. Les chances d'extraction de spermatozoïdes semblent être meilleures si le sujet est plus jeune. Pendant l'enfance les spermatogonies 47,XXY survivent mal. Quelques-unes semblent pouvoir éliminer leur chromosome X excédentaire au cours d'une mitose, créant de rares clones de spermatogonies 46,XY qui seront à l'origine d'îlots de spermatogenèse. Plusieurs arguments suggèrent que cette spermatogenèse résiduelle se dégrade progressivement. Ceci amène à se poser la question d'intervenir à l'adolescence plutôt qu'à l'âge adulte ? Des études contrôlées de cette prise en charge précoce méritent d'être entreprises.

Mots-clé : azoospermie, TESE-ICSI, spermatogenèse focale.

Le syndrome de Klinefelter a été décrit en 1942 par Klinefelter, Reifenstein et Albright comme l'association de petits testicules fermes avec des tubes séminifères hyalinisés, d'une gynécomastie, de gonadotrophines élevées et d'une azoospermie (1). En 1959, Jacobs reliait ce phénotype avec le caryotype 47,XXY (2). La prévalence du syndrome de Klinefelter dans la population générale est de l'ordre de 1/660 naissances de garçon (3). C'est la cause génétique la plus fréquente d'hypogonadisme et d'infertilité chez l'homme, 11 % des patients présentant une azoospermie ont un syndrome de Klinefelter (4). Le syndrome de Klinefelter a longtemps été considéré comme le modèle de stérilité masculine totale et définitive, tout au moins dans sa forme à caryotype 47,XXY homogène qui représente 85 % des cas.

La prise en charge des infertilités masculines a beaucoup progressé depuis le développement de la technique de micro-injection intra-ovocytaire de spermatozoïdes ou ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection) (5). Cette méthode permet d'obtenir des taux de grossesse de 25-30 % par tentative dès lors que quelques spermatozoïdes sont disponibles, soit dans l'éjaculat, soit extraits de l'épididyme ou d'une biopsie testiculaire. Ainsi la prise en charge des azoospermies par troubles de la spermatogenèse (6) est possible lorsqu'une spermatogenèse focale persiste dans quelques tubes séminifères, ce qui représente environ 50 % des cas d'azoospermie sécrétoire (7). Ainsi, depuis plus de 10 ans, les couples présentant une infertilité par azoospermie due à un trouble de la spermatogenèse, se voient

proposer une biopsie testiculaire pour tentative d'extraction de spermatozoïdes (TESE-ICSI pour *T*esticular *S*perm *E*xtraction-*I*ntra*C*yt*o*plasmic *S*perm *I*njection). Le taux de grossesse n'est que peu inférieur, dans les cas de trouble de la spermatogenèse, par rapport aux azoospermies obstructives : 27 % (91/335) *versus* 35 % (230/663) dans la méta-analyse rapportée par Nicopoullos et al. (8). L'application de la méthode de TESE-ICSI, comme pour les autres causes d'azoospermie sécrétoire, a permis de démontrer la possibilité de paternité biologique dans le syndrome de Klinefelter à caryotype homogène 47,XXY (9). Nous proposons dans cette revue de faire le point sur les résultats des mesures d'Assistance Médicale à la Procréation dans le syndrome de Klinefelter et de discuter en quoi cette possibilité de recueil de spermatozoïdes et de paternité peut avoir des conséquences pratiques dans la prise en charge du syndrome de Klinefelter.

ÉTAT ACTUEL DE LA PRISE EN CHARGE DU SYNDROME DE KLINEFELTER

CIRCONSTANCES DU DIAGNOSTIC

Le diagnostic repose sur le caryotype, celui-ci peut être prescrit devant une symptomatologie plus ou moins évocatrice, ou pour une autre raison et révéler « par hasard » un syndrome de Klinefelter.

Le diagnostic peut être fait en **anténatal** sur un caryotype réalisé pour âge maternel élevé, élévation des marqueurs sériques de trisomie 21 ou anomalies diverses de la surveillance échographique de la grossesse. Il n'y a pas, à cette période de la vie, de circonstance reconnue comme facteur de risque de syndrome de Klinefelter.

Le diagnostic peut être fait **pendant l'enfance**. Avant la puberté, les anomalies physiques sont soit peu spécifiques comme une cryptorchidie ou un micropenis, soit discrètes comme un volume testiculaire légèrement inférieur à la normale et une longueur excessive des membres inférieurs (4). Outre la symptomatologie gonadique, il existe une symptomatologie de troubles du langage et de l'apprentissage, voire de légère diminution des performances intellectuelles. Ces troubles apparaissent assez similaires à ce qui est observé chez des enfants à caryotype normal, présentant une dyslexie (10). Des études anciennes ayant décrit une augmentation de troubles psychiatriques, de retards mentaux ou de comportements criminels n'ont pas été confirmées par des études longitudinales de sujets sélectionnés lors de dépistages systématiques d'anomalies chromosomiques (4).

Ainsi le diagnostic n'a rien d'évident pendant l'enfance et les signes conduisant à la réalisation d'un caryotype sont assez peu spécifiques (11). De ce fait, moins de 10 % des patients atteints d'un syndrome de Klinefelter sont diagnostiqués avant la puberté dans l'étude de Bojesen et al. (12). Zeger et al. (13) n'ont pas mis en évidence de différence de phénotype entre les enfants dont le diagnostic a été fait en prénatal ou en post-natal.

Le diagnostic est plus classiquement fait à l'adolescence ou chez l'adulte jeune. Le début de la puberté survient à un âge normal avec, en début de puberté, une croissance testiculaire initialement normale et des concentrations de testostérone normales. A mi-puberté, la croissance testiculaire s'arrête. A l'âge de 15 ans, la testostérone plasmatique se situe à la limite inférieure de la normale des hommes adultes (14).

Pendant l'adolescence et à l'âge adulte, le syndrome de Klinefelter est caractérisé par de petits testicules fermes avec un tableau plus ou moins complet d'hypogonadisme. Dans la série de 189 patients âgés de 18 à 74 ans rapportée par Lanfranco et al. (4), le volume bi-testiculaire moyen (\pm SEM) est de $5,5 \pm 0,3$ ml (normes = 24-60 ml) et 63 % des

patients présentent un hypogonadisme (testostérone < 12 nmol/l). Des antécédents de cryptorchidie sont plus fréquents que dans la population des autres patients consultant pour infertilité (27 % *versus* 8 %). Lors de la période pubertaire apparaissent les autres signes caractéristiques du syndrome de Klinefelter : la grande taille avec macroskelie, la gynécomastie.

Pendant l'adolescence, un développement pubertaire lent, le développement d'une gynécomastie et la constatation à l'examen clinique d'une hypotrophie testiculaire sont les signes d'appels qui conduisent à la réalisation du caryotype et au diagnostic.

A l'âge adulte, les modes de révélation les plus fréquemment retrouvés sont la constatation d'une hypotrophie testiculaire, associée à une gynécomastie et/ou des signes d'hypogonadisme et l'infertilité de couple (voir ci-dessous).

Après l'âge de 25 ans, 70 % des patients présentent une diminution de la libido et des érections et seulement 1/5 des patients ont une barbe normale. Une ostéoporose et une diminution de la force musculaire surviennent comme conséquence du déficit androgénique (4).

On note toutefois que l'hypogonadisme n'est que partiel avec une symptomatologie modérée, reconnue lorsqu'elle est recherchée par les praticiens mais n'amenant qu'inconstamment le sujet à consulter. La symptomatologie n'est ainsi pas suffisamment évocatrice pour faire réaliser un caryotype dans tous les cas de syndrome de Klinefelter. Abramsky et Chapple (15) ont calculé que 10 % des cas sont identifiés en prénatal, 26 % dans l'enfance ou à l'âge adulte, laissant 64 % des cas non diagnostiqués au cours de leur vie.

PRISE EN CHARGE

Pendant l'enfance, lors de la prise en charge de la cryptorchidie, l'intérêt du tissu testiculaire comme site de spermatogenèse focale potentielle doit être connu du chirurgien pédiatrique. La prise en charge est orthophonique et psycho-scolaire en cas de troubles du langage et de difficultés d'apprentissage.

A la puberté, la mise en place précoce d'une androgénothérapie substitutive à la période pubertaire a été préconisée jusqu'ici (4). Le concept de traitement le plus précoce possible à la puberté provient du fait que l'évolution de l'hypogonadisme se fait vers une aggravation lente mais progressive et qu'il n'y avait, jusqu'ici, pas de raison de différer le début de l'androgénothérapie. Il a été suggéré que l'androgénothérapie précoce pourrait, en accélérant la soudure des cartilages de conjugaison, éviter la grande taille et la macroskelie. Il n'y a toutefois pas de preuve formelle dans la littérature à ce propos.

A l'âge adulte, l'androgénothérapie substitutive, permet de corriger les symptômes d'hypogonadisme avec amélioration de la libido, des érections, de l'humeur, de la force et de la masse musculaires, de la pilosité, de la densité osseuse et réduction de la fatigue et de l'irritabilité. La gynécomastie ne régresse qu'inconstamment avec le traitement hormonal et nécessite souvent une intervention chirurgicale.

INFERTILITÉ, PRISE EN CHARGE EN AIDE MÉDICALE A LA PROCRÉATION (AMP)

Le syndrome de Klinefelter est caractérisé par un trouble très sévère de la spermatogenèse avec FSH très élevée et inhibine B le plus souvent indosable, associé à un hypogonadisme partiel avec testostérone basse ou sub-normale et LH modérément élevée. Le

spermogramme fait état d'une azoospermie en règle générale et beaucoup plus rarement d'une oligospermie sévère. Le pourcentage d'oligospermie est de 8,4 % (11/131) des cas pour Lanfranco et al. (4); de 7,7 % (4/52) pour Kitamura et al. (16), et de 4,2 % (2/47) pour Aksglaede et al. (17) soit 7,4 % en moyenne. Seul deux cas de fertilité naturelle authentifiée ont été publiés (18, 19).

Jusqu'en 1996, on annonçait un pronostic de stérilité totale et définitive; par conséquent l'orientation de la prise en charge pour l'infertilité se faisait vers l'insémination artificielle avec sperme de donneur (IAD) ou l'adoption.

A partir de 1996, quelques équipes ont appliqué la technique d'ICSI dans les rares cas d'oligospermie ou plus généralement de TESE-ICSI en cas azoospermie pour des patients présentant un syndrome de Klinefelter homogène et ont ainsi démontré la possibilité de paternité biologique (9).

RÉSULTATS

Au delà des publications sous forme de « case reports » qui ne permettent pas de juger du taux de succès, le tableau 1 reprend 19 études publiées (20-38) incluant au moins 10 patients atteints d'un syndrome de Klinefelter à caryotype 47,XXY homogène. Il indique le taux de réussite de TESE (présence de spermatozoïdes) et le nombre de grossesses obtenues après ICSI. Ces études ont inclus au total 668 patients; des spermatozoïdes ont pu être extraits du testicule pour 331 patients, soit 49,6 % des cas. Le taux de réussite de TESE apparaît similaire pour le syndrome de Klinefelter homogène et pour les autres azoospermies non obstructives à caryotype normal (35, 38). Pour douze de ces séries, regroupant 387 patients dont 184 ont eu des spermatozoïdes à la TESE, 94 grossesses ont été obtenues. Ce qui correspond à des pourcentages élevés de grossesses rapportées au nombre de patients ayant des spermatozoïdes (49,7 %). Les taux de fausses couches apparaissent similaires aux autres TESE-ICSI (38). Parmi les enfants nés il y a autant de garçons que de filles (4, 38). Il n'est pas observé une fréquence élevée d'aneuploïdie gonosomique : sur l'ensemble de la littérature, on trouve un cas de fœtus 47,XXY au sein d'une grossesse triple, publié deux fois (22, 39); il a fait l'objet d'une réduction embryonnaire. On observe donc, dans le syndrome de Klinefelter à caryotype 47,XXY homogène, des pourcentages de succès satisfaisants pour les TESE-ICSI.

FACTEURS PRONOSTICS

L'âge du patient est le seul facteur pronostic de la présence de spermatozoïdes qui est assez régulièrement retrouvé dans les séries publiées (22, 23, 27, 28, 31, 32, 34, 36, 38). Les chances d'obtenir des spermatozoïdes à la biopsie sont meilleures si l'homme est plus jeune (tableau 2). Toutefois le chevauchement des valeurs est important, et à l'échelon individuel, l'âge n'apparaît pas d'une utilité notable pour pendre la décision de l'orientation ou non vers un programme de TESE-ICSI. Néanmoins le concept d'une dégradation progressive de la spermatogenèse focale dans le syndrome de Klinefelter semble bien devoir être retenu.

Les données cliniques ou biologiques n'apportent pas de critère pronostic sur l'isolement de spermatozoïdes à la biopsie. Une seule étude (23) a mis en évidence des volumes testiculaires significativement plus élevés et des concentrations de testostérone basale ou stimulée par l'hCG plus hautes dans les cas où l'extraction des spermatozoïdes a été positive. Les autres études n'ont pas trouvé de différence significative; la FSH est toujours très élevée et l'inhibine B est indosable, qu'il y ait ou non des spermatozoïdes à la biopsie.

Tableau 1. – Taux de réussite des TESE (TESE+ : présence de spermatozoïdes) et nombre de grossesses obtenues après ICSI.

Référence	Patients n	Patients TESE +		Grossesses n	Grossesses/TESE+ %
		n	%		
Tournaye et al. (20)	15	8	53,3 %	3	37,5 %
Levron et al. (21) (a)	20	8	40,0 %	4	50,0 %
Friedler et al. (22)	12	5	41,7 %	5	100,0 %
Madgar et al. (23) (a)	20	9	45,0 %	nd	nd
Yamamoto et al. (24)	24	12	50,0 %	4	33,3 %
Westlander et al. (25)	18	5	27,8 %	nd	nd
Seo et al. Urology (26) \$	25	4	16,0 %	2	50,0 %
Vernaev et al. (27)	50	24	48,0 %	nd	nd
Okada et al. (28) (b)	51	26	51,0 %	12	46,2 %
Okada et al. (29) (b)	10	6	60,0 %	4	66,7 %
Schiff et al. (30) (c) \$\$	42	29	69,0 %	18	62,1 %
Bakircioglu et al. (31) (d)	74	42	56,8 %	nd	nd
Kyono et al. (32)	17	6	35,3 %	5	83,3 %
Koga et al. (33)	26	13	50,0 %	4	30,8 %
Ramasamy et al. (34)	68	45	66,2 %	nd	nd
Yarali et al. (35)	39	22	56,4 %	7	31,8 %
Ferhi et al. (36)	27	8	29,6 %	nd	nd
Selice et al. (37)	24	9	37,5 %	nd	nd
Bakircioglu et al. (38) (d)	106	50	47,2 %	26	52,0 %
Total	668	331	49,6 %	94	49,7 %

(a), (b), (c), (d) : Certains patients peuvent être communs dans les publications ayant la même lettre entre parenthèses.

\$: 11 patients supplémentaires présentant un syndrome de Klinefelter ayant un caryotype en mosaïque ne sont pas considérés dans le tableau.

\$\$: Les résultats des 3 cas de syndrome de Klinefelter ayant un caryotype en mosaïque ne peuvent pas être individualisés.

Tableau 2. – Âge des patients pour lesquels des spermatozoïdes ont été obtenus (TESE+) ou non (TESE-).

Référence	TESE+			TESE-			Statistiques
	n	âge	sd	n	âge	sd	
Friedler et al. (22)	5	28	3,2	7	29,3	4,2	NS
Madgar et al. (23)	9	32,5	4,7	11	32	5,5	NS
Vernaev et al. (27)	24	29,5	nd	26	32,8	nd	p=nd ; AUC=0,67**
Okada et al. (28)	26	31	nd	25	38	nd	p<0,0001
Bakircioglu et al. (31)	42	31,6	4,3	32	35	5,1	p=0,002;AUC=0,7**
Kyono et al. (32)	6	30,2	3,9	11	37,6	4,4	p<0,05
Ramasamy et al. (34).	62	32	5,3	29	35	6,6	p=0,05
Ferhi et al. (36)	8	28,6	3,1	19	33,9	4,5	P=0,002
Bakircioglu et al. (38)	50	32,5	4,9	56	35,8	6,2	p=0,003
Total	232	31,4 *		216	35,0 *		

* moyenne pondérée de l'âge ; ** AUC : Surface sous la courbe ROC ; nd=non disponible ; NS : non significatif.

La technique de biopsie testiculaire pour TESE comporte des variantes. A côté des biopsies chirurgicales uniques (poids : 250 et 750 mg), la notion de spermatogenèse focale a fait proposer la technique de « biopsies multiples » (poids \approx 50 mg), réputée augmenter le taux de spermatozoïdes retrouvés et, à partir de 1998, Schlegel et coll. développent la technique de microdissection qui consiste à étudier des tubes séminifères sous microscope opératoire et permet la réalisation de microbiopsies orientées sur les zones de spermatogenèse focale dont l'aspect peut être reconnu (40). La comparaison des séries utilisant les biopsies classiques et des séries réalisées par microdissections semblent en faveur des microdissections, sans que des biais ne puissent toutefois être éliminés. Le promoteur de la microdissection atteint 72 % de TESE positives (30), mais 71 % (30/42) des patients avaient eu au préalable une biopsie exploratoire ; le pourcentage de cas avec spermatogenèse focale déjà constatée sur la biopsie diagnostique n'est pas précisé.

L'arrêt de l'**androgénothérapie** éventuelle, six mois avant la biopsie, est régulièrement proposé pour éviter un freinage gonadotrope qui pourrait être préjudiciable à la spermatogenèse focale. Les données publiées ne sont pas suffisantes pour savoir si le fait d'avoir eu une androgénothérapie antérieure, même suspendue depuis plus de six mois, peut être néfaste à la spermatogenèse focale, même si cela a été évoqué (30) sur le fait qu'un seul des 5 patients ayant reçu un traitement par testostérone exogène a eu une TESE positive (1/5 = 20 %) contre 69 % des patients (29/42) dans l'ensemble de l'étude. Le très faible effectif ne permet pas de conclure de manière absolue.

De même une optimisation de la testostérone intra-testiculaire par les inhibiteurs de l'aromatase, les anti-estrogènes ou la gonadotrophine chorionique (hCG) a été tentée (30). L'hétérogénéité des protocoles thérapeutiques ne permet pas non plus de conclure de manière formelle.

Comme pour l'ensemble des azoospermies (8), il ne semble pas y avoir de différence flagrante entre les **TESE synchrones** à la ponction ovocytaire, utilisant les spermatozoïdes « frais » et les **TESE asynchrones**, réalisées avant la ponction d'ovocytes et utilisant donc des spermatozoïdes congelés, que ce soit en comparant les équipes réalisant des TESE synchrones ou des TESE asynchrones, ou pour les publications comparant directement TESE synchrones ou asynchrones réalisées dans un même centre (22, 32). La congélation des spermatozoïdes paraît ainsi ne pas avoir un effet délétère majeur.

Il faut noter que les patients étudiés sont tous dans les tranches d'âge de la recherche de paternité, c'est-à-dire entre 25 et 50 ans. Ainsi ces études n'explorent pas ce qui se passe à la période post-pubertaire (voir plus loin).

PHYSIOPATHOLOGIE DE LA SPERMATOGÉNÈSE FOCALE DANS LE SYNDROME DE KLINEFELTER ET RISQUES POUR LA DESCENDANCE

Normalement pendant l'enfance les spermatogonies prolifèrent (41). Dans le syndrome de Klinefelter, les spermatogonies 47,XXY survivent mal pendant l'enfance et deviennent très rares à partir de la puberté (42). Néanmoins, les biopsies testiculaires mettent assez régulièrement en évidence des îlots de spermatogenèse focale. Sur le plan théorique, deux hypothèses s'affrontent pour expliquer la production de ces spermatozoïdes dans les cas de syndrome de Klinefelter homogène. Selon la première hypothèse, les spermatozoïdes proviennent de spermatogonies 47,XXY qui ont pu survivre et qui pourraient effectuer la méiose. L'hypothèse alternative est que des spermatogonies 47,XXY puisse perdre, au cours des mitoses, leur chromosome X excédentaire et constituer des clones de gonies 46,XY qui sont, elles, capables d'entrer en méiose et d'effectuer l'ensemble de la spermatogenèse, ce qui expliquerait les foyers de spermatogenèse focale.

Les conséquences sur la descendance sont vraisemblablement différentes dans ces deux hypothèses : si la ségrégation des chromosomes se fait parfaitement au hasard lors de la méiose et si la spermiogenèse s'accomplit complètement indépendamment du contenu en gonosomes, le pourcentage respectif des divers types de spermatozoïdes possibles à partir de gonies 47,XXY devrait être : 23,X (33,3 %), 23,Y (16,6 %) et 24,XY (33,3 %) et 24,XX (16,6 %), et si les spermatozoïdes ont le même potentiel dans le développement embryonnaire quelque soit leur contenu chromosomique on devrait avoir 50 % des enfants présentant une formule chromosomique anormale 47,XXY ou 47,XXX et deux fois plus de filles 46,XX que de garçon 46,XY. Selon la deuxième hypothèse, si seules les gonies 46,XY sont capables de réaliser la méiose, les spermatozoïdes doivent avoir une formule chromosomique normale, 23,X (50 %) et 23,Y (50 %), ce qui ne donnerait alors pas de risque particulier pour les enfants. La controverse entre ces deux hypothèses a été vive dans la littérature, alimentée par des résultats d'études de la formule gonosomique des spermatozoïdes intermédiaires entre les chiffres théoriques déduits de ces deux hypothèses. Certaines études (44-47) rapportent des pourcentages de spermatozoïdes présentant une aneuploïdie gonosomique de 13,3 à 30 % pouvant être compatibles avec l'hypothèse d'une méiose à partir de gonies 47,XXY.

Par contre, dans les foyers de spermatogenèse focale (24, 48-50), les spermatocytes sont tous de formule 46,XY et il existe des spermatogonies 46,XY, alors qu'en l'absence de spermatogenèse focale, seules des spermatogonies 47,XXY sont présentes. Il semblerait ainsi que de rares spermatogonies 47,XXY puisse perdre, au cours de mitoses, leur chromosome X excédentaire et constituer de rares clones de gonies 46,XY qui sont, elles, capables d'entrer en méiose et d'effectuer l'ensemble de la spermatogenèse, expliquant les foyers de spermatogenèse focale. Selon cette hypothèse on ne devrait pas avoir de risque particulier pour la descendance.

On note toutefois que le pourcentage d'aneuploïdie le plus souvent observé, entre 1 et 7 %, (24, 48, 49, 51-54) est légèrement mais significativement supérieur aux pourcentages observés dans la population d'hommes témoins fertiles 46,XY, qui est de l'ordre de 0,1 à 0,2 % (53, 54). Ceci est à rapprocher du fait que le pourcentage d'aneuploïdie des spermatozoïdes d'hommes présentant un trouble de la spermatogenèse mais un caryotype normal 46,XY est plus élevé que celui des hommes témoins fertiles (53, 54), comme si l'augmentation du taux d'aneuploïdie pouvait être le fait du trouble de la spermatogenèse, même sans anomalie de la constitution chromosomique somatique.

Une explication plausible à ce phénomène semble tenir au fait que la disparition des cellules germinales 47,XXY induit une altération fonctionnelle testiculaire, en particulier des cellules de Sertoli, comme le montre l'abaissement de l'inhibine B et de l'hormone antimüllérienne (AMH) et l'élévation de la FSH. Ces perturbations fonctionnelles des facteurs paracrines locaux créent un micro-environnement délétère, qualifié de « *compromised testicular environment* » (55), pour les cellules germinales restantes et induiraient une légère augmentation du taux d'erreur dans la ségrégation des chromosomes lors de la méiose des cellules germinales XY présentes.

Ainsi, le risque chromosomique pour les enfants nés de père présentant un syndrome de Klinefelter à caryotype 47,XXY homogène semble assez similaire à ce qui se passe pour l'ensemble des troubles de la spermatogenèse (56), avec un surcroît de risque modéré. Bonduelle et al. (57) trouvent 1,6 % d'anomalies chromosomique *de novo* pour les conceptus obtenus en ICSI par rapport à 0,5 % dans la population générale.

Ainsi, bien qu'il n'y ait pas d'argument formel permettant d'éliminer la possibilité de méioses à partir de spermatogonies 47,XXY, on a de solides arguments en faveur d'une spermatogenèse focale à partir de spermogonies 46,XY et en particulier une bonne concordance avec les cariotypes normaux des premiers enfants nés (4).

FAUT-IL INTERVENIR A L'ADOLESCENCE PLUTÔT QU'À L'ÂGE ADULTE ?

DÉGRADATION DE LA SPERMATOGENÈSE

Les études anatomopathologiques montrent que les spermatogonies qui sont présentes en quantité apparemment normale dans la première année de vie, diminuent pendant l'enfance jusqu'à presque disparaître à la puberté (58-60). Les marqueurs hormonaux de la fonction du tube séminifère apparaissent normaux jusqu'à mi-puberté où une dégradation survient, amenant en quelques mois les marqueurs hormonaux aux valeurs très altérées constatées chez l'adulte avec un effondrement de l'inhibine B et de l'AMH et une élévation de la FSH. Ces valeurs pathologiques s'observent déjà vers 14-15 ans pour la plupart des études (13, 42, 60).

Il semble donc que la stimulation gonadotrope, qui survient à l'âge habituel, arrive sur un testicule présentant déjà une déplétion en cellules germinales. La mise en place des régulations paracrines entre cellules germinales, cellules de Sertoli et cellules de Leydig, ainsi que les mécanismes hormonaux de rétrocontrôle de la fonction gonadotrope sont perturbés dès la mi-puberté. L'absence de contrôle paracrine harmonieux risque ainsi de perturber la spermatogenèse focale à partir des gonies 46,XY. Ceci expliquerait les constatations cliniques suivantes qui vont dans le sens d'une dégradation progressive de la spermatogenèse focale chez les sujets présentant un syndrome de Klinefelter à cariotype 47,XXY :

1) Nous avons vu chez les adultes ayant un désir de paternité que les chances d'isolement de spermatozoïdes semblent se dégrader avec l'âge.

2) Deux « case reports » publiés rapportent une dégradation progressive de la spermatogenèse. Pour ces deux patients présentant un syndrome de Klinefelter à cariotype 47,XXY homogène, âgés de 30 et 32 ans, le spermogramme est passé d'une oligospermie sévère (1 à 2 millions/ml) à une azoospermie en l'espace de 2 ou 3 ans (61, 62).

3) Dans la série de 189 patients porteurs d'un syndrome de Klinefelter étudiée par Lanfranco et al. (4), l'âge médian de l'ensemble des patients est de 28,6 ans (18,2-74,5) et on note que l'âge médian des 10 patients, qui présentaient un cariotype homogène 47,XXY et une oligospermie (< 0,1-7,6 millions/ml), est plus bas à 22,2 ans (18,6-34,8).

On peut ainsi légitimement se poser la question de l'intérêt de la recherche de spermatozoïdes de manière précoce.

On peut envisager de conduire une étude consistant à comparer le pourcentage de cas avec congélation de spermatozoïdes en vue d'AMP chez des sujets jeunes ou adultes présentant tous un syndrome de Klinefelter à cariotype homogène 47,XXY. Cette étude consiste à proposer aux sujets jeunes une prise en charge identique à celle qui leur sera proposée plus tard lors de la recherche de paternité à l'âge adulte, avec, en cas d'azoospermie, réalisation d'une TESE en vue d'ICSI asynchrone. Seule la durée de la cryoconservation sera différente entre les sujets adultes en cours de demande de paternité et les sujets plus jeunes en vue d'une paternité ultérieure.

La mise en place de cette étude nous a amenés à discuter plusieurs points concernant la prise en charge du syndrome de Klinefelter compte tenu des possibilités actuelles de fertilité ouvertes par la TESE-ICSI.

DIFFICULTÉS DE LA PRISE EN CHARGE À L'ADOLESCENCE ?

La fertilité est une préoccupation ressentie comme lointaine pour ces jeunes patients. Les pédiatres ne sont pas habitués à la pratique de la médecine de la reproduction. Les médecins de la reproduction ne sont pas habitués à prendre en charge des sujets aussi jeunes. On dispose de relativement peu de données concernant la mise en place de la spermatogenèse et l'évolution des spermogrammes à l'adolescence. L'adolescence est une période délicate pour ce type d'étude en raison de la difficulté qu'ont les médecins/chercheurs en particulier à faire réaliser des spermogrammes à des adolescents, la masturbation entrant dans le champ de la sexualité, sujet mettant mal à l'aise les médecins/chercheurs, les adolescents et leur famille.

Néanmoins, on peut noter, que l'âge moyen (\pm SD) de la première masturbation est de $12,27 \pm 1,67$ ans dans un groupe de garçons opérés d'une hernie inguinale, groupe témoin dans une étude sur la prise en charge de l'hypospade (63). Selon la récente enquête sur la sexualité en France, 90,6 % des jeunes hommes ont pratiqué la masturbation au moins une fois dans leur vie quand ils sont interrogés à l'âge de 18-19 ans (64). Dans une étude réalisée en Pologne entre 1967 et 1980 chez des garçons âgés de 12 ans 8 mois à 19 ans 11 mois (65, 66), les éjaculations lors des tentatives de spermogramme débutent à 13 ans, on trouve des spermatozoïdes chez tous les adolescents témoins à partir de l'âge 15 ans, la qualité du sperme s'améliore progressivement pour devenir complètement normale à 17 ans.

La réalisation de spermogrammes pour raison médicale est une pratique commune chez les adolescents qui doivent avoir un traitement potentiellement stérilisant pour une pathologie maligne. Bien que l'indication soit différente, cette situation se rapproche de celle d'une exploration précoce de la fertilité dans le syndrome de Klinefelter et les données obtenues dans cette indication sont utiles à considérer. Les adolescents les plus jeunes pour qui une cryoconservation de spermatozoïdes a pu être réalisée avaient 12 ans (67). Des cryoconservations de spermatozoïdes sont possibles avant 15 ans alors même que la testostéronémie n'a pas encore atteint les valeurs adultes (68).

Compte tenu de ces données, il nous est apparu raisonnable (c'est-à-dire acceptable pour la plupart des sujets et de leur famille) de mettre comme limite inférieure de la prise en charge des sujets jeunes à 15 ans et cela en appréciant la « maturité psychosexuelle » des sujets.

DÉSIR DE PATERNITÉ, OUVERTURE VERS L'ÂGE ADULTE

L'implication personnelle du patient dans le projet parental ultérieur peut poser question quand on s'adresse à des sujets jeunes (à partir de 15 ans). Une des craintes est que le désir des parents du sujet vienne se substituer à celui de l'adolescent. Et cela d'autant plus que l'information délivrée par les médecins lors du suivi pendant l'enfance ou lors du diagnostic à l'adolescence comporte en général un pronostic de fertilité annoncé au moins comme « incertain », voire d'emblée comme défavorable. L'attitude des parents n'est pas simple. Ils ne savent pas bien comment annoncer ce pronostic au jeune patient ni à quel âge le faire. De plus, il s'ajoute souvent une culpabilité des parents d'avoir transmis la pathologie et la stérilité qui va venir interrompre la lignée familiale. L'attitude des parents est, dans

certains cas, de vouloir à tout prix compenser ce qu'ils se sentent coupables d'avoir induit. Et on peut redouter qu'ils engagent leur fils dans des soins que lui-même ne souhaiterait peut-être pas, ou tout au moins pas si jeune.

A *contrario*, le caractère angoissant de la stérilité fait que, dans d'autres cas, le sujet de l'infertilité ultérieure n'est pas abordé avec le jeune patient. On se demande si le déni du problème est une bonne solution et ne risque pas de maintenir le sujet dans un état infantile. Il nous semble, pour avoir évoqué des problèmes de fertilité ultérieure avec des adolescents, que c'est l'occasion pour eux de s'approprier cette problématique typiquement adulte. Ceci peut les aider à dépasser le stade infantile dans lequel le statut de « malade » les maintient parfois.

Afin de ménager ces deux risques, pression excessive de la famille pour réaliser des soins et dissimulation de l'infertilité à venir, une information de l'état actuel des possibilités de prise en charge de l'infertilité peut être apportée.

« CONTRE-INDICATION » À LA PATERNITÉ

Comme indiqué plus haut, des difficultés d'apprentissage portant surtout sur le langage, de type dyslexie, semblent faire partie du syndrome de Klinefelter. Leur prise en charge orthophonique est recommandée. On signale, en outre, des difficultés d'apprentissage des troubles de la communication, un déficit intellectuel et des troubles du comportement, voire une pathologie psychiatrique. L'intensité de ces troubles est variable et le lien de cause à effet avec l'anomalie chromosomique n'est pas évident. La remise en cause d'une possibilité de paternité pour des problèmes psychiatriques ou déficitaires devra être considérée avant le recueil de spermatozoïdes, mais cela paraît représenter un nombre limité de cas.

MISE EN PLACE DE L'ANDROGÉNOTHÉRAPIE

Compte tenu de l'hypogonadisme, l'attitude « classique » recommandée est la mise en place d'une androgénothérapie substitutive dès la puberté ou dès que le diagnostic est établi, s'il n'a pas été fait avant la puberté. L'effet freinateur du traitement androgénique sur la sécrétion des gonadotrophines LH et FSH et finalement sur la spermatogenèse, documenté chez l'homme normal (69), n'était jusqu'ici pas considéré comme un problème dans le syndrome de Klinefelter compte tenu du pronostic de stérilité totale et définitive. Dans le contexte d'une prise en charge en assistance médicale à la procréation, l'androgénothérapie, surtout si elle comporte un surdosage au moins momentané, apparaît potentiellement délétère pour le recueil de spermatozoïdes. Ainsi, l'arrêt de l'androgénothérapie six mois avant la biopsie testiculaire est recommandée dans les programmes de TESE-ICSI (30, 38). Bien que l'effet freinateur des androgènes soit réversible chez l'homme normal, cette réversibilité n'est peut-être pas similaire en cas de syndrome de Klinefelter. Comme nous l'avons souligné, la question d'un possible effet délétère d'une androgénothérapie préalable sur les possibilités de reprise ultérieure de la spermatogénèse focale après arrêt de l'androgénothérapie n'a pas été étudiée de manière suffisamment approfondie pour conclure (30). On peut néanmoins se demander s'il est toujours recommandé de mettre en place précocement une androgénothérapie substitutive avant d'avoir tenté d'obtenir des spermatozoïdes en vue d'AMP.

A *contrario*, cet éventuel effet délétère sur la fertilité est à mettre en balance avec les risques de repousser le début de l'androgénothérapie après le recueil d'éventuels spermatozoïdes.

Pour répondre à cette interrogation, les données objectives portant sur la fréquence, l'intensité et la chronologie du développement de l'hypogonadisme sont utiles à considérer.

Certes, dans le syndrome de Klinefelter, un hypogonadisme est fréquent chez l'adulte. Il n'est toutefois pas constant, touchant 63 % des cas de la série de Lanfranco et al. (4), et est en général partiel. Beaucoup de patients n'ont pas de symptômes signalés spontanément et le traitement substitutif par la testostérone est souvent instauré sur les données du caryotype, des concentrations de testostérone situées à la limite inférieure de la normale et éventuellement des symptômes mis en évidence lors de l'interrogatoire orienté. Dans ces cas, le but du traitement est alors surtout d'éviter la survenue de symptômes et séquelles à long terme d'un hypogonadisme modéré mais prolongé (ostéoporose, composition corporelle défavorable sur le plan métabolique...).

En ce qui concerne la période pubertaire, le suivi longitudinal d'une cohorte d'adolescents porteurs d'un syndrome de Klinefelter (70) révèle que les signes cliniques ou biologiques de carence androgénique ne sont pas apparus en début et en milieu de puberté. Ce n'est qu'en fin de puberté que se dévoile un état d'insuffisance androgénique compensée, c'est-à-dire une élévation de LH en regard d'une testostérone plasmatique restant dans les zones normales. Les marqueurs de l'effet des androgènes comme la SHBG, le PSA ou l'âge osseux ne sont pas altérés et les auteurs concluent qu'il n'y a pas d'argument montrant la nécessité d'un traitement androgénique au début de la puberté. Ainsi, les recommandations pour mettre en place une androgénothérapie dès la puberté, que l'on trouve dans la littérature antérieure, semblent être plus préventives de la survenue ultérieure de manifestations d'hypogonadisme.

La proposition de recueil précoce de spermatozoïdes pourrait permettre d'assurer une prise en charge ménageant à la fois le potentiel de fertilité et l'androgénothérapie préventive de séquelles à long terme de l'hypogonadisme. On éviterait de mettre en place un traitement androgénique chez le sujet jeune, à une période où l'hypogonadisme n'est pas encore intense, de manière à recueillir les spermatozoïdes avant l'instauration du traitement androgénique. La mise en place du traitement androgénique aura lieu après le recueil et la cryopréservation des spermatozoïdes. L'éventuelle diminution de la testostérone, comme celle constatée après les biopsies pour TESE-ICSI conduites chez l'adulte (71, 72), sera elle aussi compensée par l'androgénothérapie.

CONCLUSION

Les données actuelles de la prise en charge par TESE-ICSI dans le syndrome de Klinefelter à caryotype 47,XXY homogène indiquent que les chances de succès ne sont pas très différentes de ce qui se passe pour les azoospermies par trouble de la spermatogenèse sans anomalie chromosomique. Le fait que les spermatozoïdes soient issus d'îlots de spermatogenèse focale semblant provenir de gonies ayant éliminé l'un des chromosomes Y est plutôt rassurant. La dégradation de la spermatogenèse focale avec l'âge amène à se poser la question de l'avantage éventuel d'une prise en charge précoce de la fertilité, en réalisant dès l'adolescence, avant la mise en place d'une androgénothérapie, une recherche de spermatozoïdes, d'abord dans le sperme, et en cas d'azoospermie, dans le testicule par une biopsie testiculaire, une cryoconservation des spermatozoïdes pour réalisation d'une ICSI lors du désir de paternité ultérieur. Ceci revient en fait à proposer au sujet jeune, une prise en charge similaire à ce qui lui sera proposé plus tard lorsqu'il souhaitera avoir des enfants. L'androgénothérapie substitutive, dont le rôle délétère sur la spermatogenèse ne peut pas être exclu, pourra alors être mise en place sans crainte, une fois les spermatozoïdes cryoconservés.

Toutefois, l'établissement de recommandations quant à l'âge de la prise en charge de l'infertilité nécessite encore des études cliniques complémentaires de manière à établir clairement si l'âge est effectivement un facteur important d'efficacité dans la procédure d'isolement de spermatozoïdes, si l'androgénothérapie préalable est effectivement un facteur délétère pour le recueil des spermatozoïdes et à s'assurer qu'une telle procédure conduite chez l'adolescent ne risque pas d'avoir des conséquences psychologiques néfastes.

**(1) Service de Médecine de la Reproduction,
Hôpital Femme Mère Enfant**

**(2) Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares,
Centre de Biologie et de Pathologie Est,
Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est,
59 boulevard Pinel, 69677 Bron cedex France**

(3) Université Claude Bernard Lyon 1

(4) INSERM U 846

(5) Groupe FERTIPRESERVE : Medhi Benchaib, Aude Brac de la Perrière, Aurélie Brosse, Pierre Chatelain, Béatrice Cuzin, André De Souza, Claire-Lise Gay, Sandrine Giscard d'Estaing, Daniela Gorduza, Jean-François Guérin, Hervé Lejeune, Jacqueline Lornage, Yves Morel, Pierre Mouriquand, Marc Nicolino, Ingrid Plotton, Michel Pugeat, Jean-Yves Tamet

**Service de Médecine de la Reproduction,
Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon,
59 bd Pinel, 69677 Bron cedex (MB, AB, ADS, SGE, JFG, HL, JL)**

**Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares,
Centre de Biologie et de Pathologie Est,
Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon,
59 bd Pinel, 69677 Bron cedex (YM, IP)**

**Service d'Urologie et de Transplantation,
Hôpital Edouard Herriot, CHU de Lyon,
5 place d'Arsonval, 69437 Lyon cedex 03 (BC)**

**Centre de référence des anomalies du développement sexuel,
Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon,
59 bd Pinel, 69677 Bron cedex (PC, CLG, DG, PM, MN, JYT)**

**Fédération d'Endocrinologie, Aile A1,
Groupement Hospitalier Est, CHU de Lyon,
59 bd Pinel, 69677 Bron cedex (ABP, MP)**

Adresse pour la correspondance : Professeur Hervé LEJEUNE, Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital Femme Mère Enfant, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron cedex.

Tél : 04 72 12 94 10 - **Fax** : 04 72 12 94 14 - **E-mail** : herve.lejeune@chu-lyon.fr

CHANCE OF PATERNITY IN KLINEFELTER'S SYNDROME

by **Ingrid PLOTTON, Aurélie BROSE, Groupe FERTIPRESERVE**
and **Hervé LEJEUNE** (Lyon, France)

Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon, 59 boulevard Pinel,
69677 Bron cedex, France

ABSTRACT

Until few years ago, Klinefelter syndrome with a homogenous 47,XXY karyotype was considered a model of absolute male sterility. In this review, we will discuss: 1) the potential fertility following Testicular Sperm Extraction-IntraCytoplasmic Sperm Injection (TESE-

- ICSI), 2) the physiopathology of spermatogenic failure and, the origin of focal spermatogenesis and risk of aneuploidy in potential offspring, 3) the advantage of searching for and cryopreserving spermatozoa in adolescent instead of adult patients. In previous published series, TESE was successful in almost 50 % of patients and pregnancy rate following ICSI was not obviously different from other causes of spermatogenic failure. The rate of positive sperm extraction seemed to be better for younger patients. During childhood, the survival rate of 47,XXY spermatogonia is low. However, a few spermatogonia are able to eliminate one of the X chromosome, giving rise to rare clones of 46,XY gonias which are the origin of rare foci of complete spermatogenesis after puberty. Several arguments suggest that this focal spermatogenesis decreases with age. This suggests there would be a benefit to patients if TESE were performed in adolescence and spermatozoa were cryopreserved. Controlled studies should be done to determine the best age for TESE-ICSI in 47,XXY homogenous Klinefelter syndrome patients.

Key words : azoospermia, TESE-ICSI, focal spermatogenesis.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Klinefelter H.F., E.C. Reifenstein, F. Albright :** Syndrome characterized by gynecomastia aspermatogenesis without a-Leydigism and increased excretion of follicle stimulating hormone. *J Clin Endocrinol* 1942, **2** : 615-627. – 2. **Jacobs P.A., J.A. Strong :** A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959, **183** : 302-303. – 3. **Bojesen A., C.H. Gravholt :** Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 2007, **4** : 192-204. – 4. **Lanfranco F., A. Kamischke, M. Zitzmann et al. :** Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004, **364** : 273-83. – 5. **Palermo G., H. Joris, P. Devroey, et al. :** Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992, **340** : 17-18. – 6. **Devroey P, J. Liu, Z. Nagy et al. :** Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995, **10** : 1457-1460. – 7. **Ramasamy K., J. Hayden, Z. Lim et al. :** Successful pregnancies involving men with chronic myeloid leukaemia on imatinib therapy. *Br J Haematol* 2007, **137** : 374-375. – 8. **Nicopoulos J.D., C. Gilling-Smith, P.A. Almeida et al. :** Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men : a meta-analysis. *Fertil Steril* 2004, **82** : 691-701. – 9. **Tournaye H., C. Staessen, I. Liebaers et al. :** Testicular sperm recovery in nine 47,XXY Klinefelter patients. *Hum Reprod* 1996, **11** : 1644-1649. – 10. **Geschwind D.H., K.B. Boone, B.L. Miller et al. :** Neuro-behavioral phenotype of Klinefelter syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2000, **6** : 107-116. – 11. **Ratcliffe S. :** Long-term outcome in children of sex chromosome abnormalities. *Arch Dis Child* 1999, **80** : 192-195. – 12. **Bojesen A., S. Juul, C.H. Gravholt :** Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome : a national registry study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, **88** : 622-626. – 13. **Zeger M.P., A.R. Zinn, N. Lahlou et al. :** Effect of ascertainment and genetic features on the phenotype of Klinefelter syndrome. *J Pediatr* 2008, **152** : 716-722. – 14. **Salbenblatt J.A., B.G. Bender, M.H. Puck et al. :** Pituitary-gonadal function in Klinefelter syndrome before and during puberty. *Pediatr Res* 1985, **19** : 82-86. – 15. **Abramsky L., J. Chapple :** 47, XXY (Klinefelter syndrome) and 47, XYY : estimated rates of and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counselling. *Prenat Diagn* 1997, **17** : 363-368. – 16. **Kitamura M., K. Matsumiya, M. Koga et al. :** Ejaculated spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Int J Urol* 2000, **7** : 88-92, discussion 93-94. – 17. **Aksglæde L., N. Jorgensen, N.E. Skakkebaek et al. :** Low semen volume in 47 adolescents and adults with 47,XXY Klinefelter or 46,XX male syndrome. *Int J Androl* 2008, **32** : 376-384. – 18. **Laron Z., Z. Dickerman, R. Zamir et al. :** Paternity in Klinefelter's syndrome--a case report. *Arch Androl* 1982, **8** : 149-151. – 19. **Terzoli G., F. Lalatta, A. Lobbiani et al. :** Fertility in a 47,XXY patient : assessment of biological paternity by deoxyribonucleic acid fingerprinting. *Fertil Steril* 1992, **58** : 821-822. – 20. **Tournaye H., M. Camus, M. Vandervorst et al. :** Surgical sperm retrieval for intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl* 1997, **20** (Suppl 3) : 69-73. – 21. **Levron J., A. Aviram-Goldring, I. Madgar et al. :** Sperm chromosome analysis and outcome of IVF in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril* 2000, **74** : 925-929. – 22. **Friedler S., A. Razieli, D. Strassburger et al. :** Outcome of ICSI using fresh and cryopreserved-thawed testicular spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2001, **16** : 2616-2620. – 23. **Madgar I., J. Dor, R. Weissenberg et al. :** Prognostic value of the clinical and laboratory evaluation in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome who are receiving assisted reproductive therapy. *Fertil Steril* 2002, **77** : 1167-1169. – 24. **Yamamoto Y., N. Sofikitis, Y. Mio et al. :** Morphometric and cytogenetic characteristics of testicular germ cells and Sertoli cell secretory function in men with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2002, **17** : 886-896. – 25. **Westlander G., E. Ekerhovd, C. Bergh :** Low levels of serum inhibin B do not exclude successful sperm recovery in men with nonmosaic Klinefelter syndrome. *Fertil Steril* 2003, **79** (Suppl 3) : 1680-1682. – 26. **Seo J.T., W.J. Ko :** Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non-obstructive azoospermia patients. *Int J Androl* 2001, **24** : 306-310. – 27. **Vernaev V., C. Staessen,**

G. Verheyen G et al. : Can biological or clinical parameters predict testicular sperm recovery in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients? *Hum Reprod* 2004, **19** : 1135-1139. – **28. Okada H., K. Goda, Y. Yamamoto et al.** : Age as a limiting factor for successful sperm retrieval in patients with nonmosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril* 2005, **84** : 1662-1664. – **29. Okada H., K. Goda, S. Muto et al.** : Four pregnancies in nonmosaic Klinefelter's syndrome using cryopreserved-thawed testicular spermatozoa. *Fertil Steril* 2005, **84** : 1508. – **30. Schiff J.D., G.D. Palermo, L.L. Veeck et al.** : Success of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, **90** : 6263-6267. – **31. Bakircioglu E.M., H.F. Erden, T. Kaplancan et al.** : Aging may adversely affect testicular sperm recovery in patients with Klinefelter syndrome. *Urology* 2006, **68** : 1082-1086. – **32. Kyono K., H. Uto, Y. Nakajo et al.** : Seven pregnancies and deliveries from non-mosaic Klinefelter syndrome patients using fresh and frozen testicular sperm. *J Assist Reprod Genet* 2007, **24** : 47-51. – **33. Koga M., A. Tsujimura, M. Takeyama et al.** : Clinical comparison of successful and failed microdissection testicular sperm extraction in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome. *Urology* 2007, **70** : 341-345. – **34. Ramasamy R., J.A. Ricci, G.D. Palermo et al.** : Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome. *J Urol* 2009, **182** : 1108-1113. – **35. Yarali H., M. Polat, G. Bozdag et al.** : TESE-ICSI in patients with non-mosaic Klinefelter syndrome : a comparative study. *Reprod Biomed Online* 2009, **18** : 756-760. – **36. Ferhi K., R. Avakian, J.F. Griveau et al.** : Age as only predictive factor for successful sperm recovery in patients with Klinefelter's syndrome. *Andrologia* 2009, **41** : 84-87. – **37. Selice R., A. Di Mambro, A. Garolla et al.** : Spermatogenesis in Klinefelter syndrome. *J Endocrinol Invest* 2010, **33** : 789-793. – **38. Bakircioglu M.E., U. Ulug, H.F. Erden et al.** : Klinefelter syndrome : does it confer a bad prognosis in treatment of nonobstructive azoospermia? *Fertil Steril* 2011, **95** : 1696-1699. – **39. Ron-El R., D. Strassburger, S. Gelman-Kohan et al.** : A 47,XXY fetus conceived after ICSI of spermatozoa from a patient with non-mosaic Klinefelter's syndrome : case report. *Hum Reprod* 2000, **15** : 1804-1806. – **40. Schlegel P.N.** : Testicular sperm extraction : microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* 1999, **14** : 131-135. – **41. Paniagua R., M. Nistal** : Morphological and histometric study of human spermatogonia from birth to the onset of puberty. *J Anat* 1984, **139** : 535-552. – **42. Akglaede L., A.M. Wikstrom, E. Rajpert-De Meyts et al.** : Natural history of seminiferous tubule degeneration in Klinefelter syndrome. *Hum Reprod Update* 2006, **12** : 39-48. – **43. Gonsalves J., P.J. Turek, P.N. Schlegel et al.** : Recombination in men with Klinefelter syndrome. *Reproduction* 2005, **130** : 223-229. – **44. Foresta C., C. Galeazzi, A. Bettella et al.** : High incidence of sperm sex chromosomes aneuploidies in two patients with Klinefelter's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998, **83** : 203-205. – **45. Gonzalez-Merino E., C. Hans, M. Abramowicz et al.** : Aneuploidy study in sperm and preimplantation embryos from nonmosaic 47,XXY men. *Fertil Steril* 2007, **88** : 600-606. – **46. Estop A.M., S. Munne, K.M. Cieply, K.K. Vandermark et al.** : Meiotic products of a Klinefelter 47,XXY male as determined by sperm fluorescence in-situ hybridization analysis. *Hum Reprod* 1998, **13** : 124-127. – **47. Foresta C., C. Galeazzi, A. Bettella et al.** : Analysis of meiosis in intratesticular germ cells from subjects affected by classic Klinefelter's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, **84** : 3807-3810. – **48. Blanco J., J. Egozcue, F. Vidal** : Meiotic behaviour of the sex chromosomes in three patients with sex chromosome anomalies (47,XXY, mosaic 46,XY/47,XXY and 47,XXY) assessed by fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod* 2001, **16** : 887-892. – **49. Bergere M., R. Wainer, V. Nataf et al.** : Biopsied testis cells of four 47,XXY patients : fluorescence in-situ hybridization and ICSI results. *Hum Reprod* 2002, **17** : 32-37. – **50. Sciarano R.B., C.V. Luna Hisano, M.I. Rahn et al.** : Focal spermatogenesis originates in euploid germ cells in classical Klinefelter patients. *Hum Reprod* 2009, **24** : 2353-2360. – **51. Guttenbach M., H.W. Michelmann, B. Hinney et al.** : Segregation of sex chromosomes into sperm nuclei in a man with 47,XXY Klinefelter's karyotype : a FISH analysis. *Hum Genet* 1997, **99** : 474-477. – **52. Levron J., A. Aviram-Goldring, I. Madgar et al.** : Sperm chromosome analysis and outcome of IVF in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril* 2000, **74** : 925-929. – **53. Giltay J.C., R.J. van Golde, P.M. Kastrop** : Analysis of spermatozoa from seven ICSI males with constitutional sex chromosomal abnormalities by fluorescent in situ hybridization. *J Assist Reprod Genet* 2000, **17** : 151-155. – **54. Rives N., G. Joly, A. Machy et al.** : Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males : comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Mol Hum Reprod* 2000, **6** : 107-112. – **55. Mroz K., T.J. Hassold, P.A. Hunt** : Meiotic aneuploidy in the XXY mouse : evidence that a compromised testicular environment increases the incidence of meiotic errors. *Hum Reprod* 1998, **14** : 1151-1156. – **56. Hall H., P. Hunt, T. Hassold** : Meiosis and sex chromosome aneuploidy : how meiotic errors cause aneuploidy, how aneuploidy causes meiotic errors. *Curr Opin Genet Dev* 2006, **16** : 323-329. – **57. Bonduelle M., I. Liebaers, V. Deketelaere et al.** : Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod* 2002, **17** : 671-694. – **58. Mikamo K., M. Aguericif, P. Hazeghi et al.** : Chromatin-positive Klinefelter's syndrome. A quantitative analysis of spermatogonial deficiency at 3, 4, and 12 months of age. *Fertil Steril* 1968, **19** : 731-739. – **59. Muller J., N.E. Skakkebaek, S.G. Ratcliffe** : Quantified testicular histology in boys with sex chromosome abnormalities. *Int J Androl* 1995, **18** : 57-62. – **60. Wikstrom A.M., T. Raivio, F. Hadziselimovic et al.** : Klinefelter syndrome in adolescence : onset of puberty is associated with accelerated germ cell depletion. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **89** : 2263-2270. – **61. Lin Y.M., W.J. Huang, J.S.**

Lin et al. : Progressive depletion of germ cells in a man with nonmosaic Klinefelter's syndrome : optimal time for sperm recovery. *Urology* 2004, **63** : 380-381. – **62. Ichioka K., N. Utsunomiya, N. Kohei et al.** : Adult onset of declining spermatogenesis in a man with nonmosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril* 2006, **85** : 1511. – **63. V.B. Schonbucher, M.A. Landolt, R. Gobet et al.** : Psychosexual development of children and adolescents with hypospadias. *J Sex Med* 2008, **5** : 1365-1373. – **64. Bozon M.** : Les biographies affectives et sexuelles. Premier rapport sexuel, première relation : des passages attendus, pp 117-147. In : Bajos N., M. Bozon. Enquête sur la sexualité en France. *Editions La Découverte*, Paris, 2008. – **65. Janczewski Z., L. Bablok** : Semen characteristics in pubertal boys. I. Semen quality after first ejaculation. *Arch Androl* 1985, **15** : 199-205. – **66. Janczewski Z., L. Bablok** : Semen characteristics in pubertal boys. IV. Semen quality and hormone profile. *Arch Androl* 1985, **15** : 219-23. – **67. Bahadur G.** : Cryobiology ethics of human reproduction. *Semin Reprod Med* 2002, **20** : 75-83. – **68. van Casteren N.J., G.R. Dohle, J.C. Romijn et al.** : Semen cryopreservation in pubertal boys before gonadotoxic treatment and the role of endocrinologic evaluation in predicting sperm yield. *Fertil Steril* 2008, **90** : 1119-1125. – **69. Matsumoto A.M.** : Hormonal therapy of male hypogonadism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994, **23** : 857-875. – **70. Wikstrom A.M., L. Dunkel, S. Wickman et al.** : Are adolescent boys with Klinefelter syndrome androgen deficient? A longitudinal study of Finnish 47,XXY boys. *Pediatr Res* 2006, **59** : 854-859. – **71. Okada H., T. Shirakawa, T. Ishikawa et al.** : Serum testosterone levels in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2004, **82** : 237-238. – **72. Takada S., A. Tsujimura, T. Ueda et al.** : Androgen decline in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *Urology* 2008, **72** : 114-118.