

AOR "Assistance médicale à la procréation, embryologie et génétique humaines"

Résumés et résultats

2006 - 2023

Cliquer sur les titres pour accéder au détail des projets

Nom et institution	Titre	Année AOR
BAILLY Marc - SALF CHI de Poissy	Etude prospective multicentrique sur la pratique des prélèvements testiculaires et épidimaires: du diagnostic à l'enfant né.	2006
BEAUQUIER-MACCOTTA Bérengère - Necker- APHP	Etude Prospective de l'évolution psychologique périnatale des couples bénéficiant d'un accueil d'embryon et de leurs enfants.	2006
BOYER Pierre - Biologie de la Reproduction - APHM	Suivi des Enfants de l'AMP. Mise en place d'actions d'amélioration de l'Enregistrement et de la fiabilité des informations.	2006
DURANTHON Véronique - INRA1198 - Jouy en Josas	Culture in vitro de l'embryon: mise en œuvre d'un modèle animal d'analyse des effets précoces sur les réseaux de gènes exprimés, et des conséquences sur le développement foetal et post-natal.	2006
FAUQUE Patricia - Histologie - Embryologie - Cohin	Conséquences épigénétiques de la stimulation, de la fécondation in vitro et de la culture sur la qualité du conceptus chez la souris.	2006
GRANET Philippe - IMM - Paris	Le don d'ovocytes dans la construction du lien mère/ enfant.	2006
HEARD Edith - CNRS UMR 218 - Curie	Etude de l'impact épigénétique de la super ovulation et de la culture in vitro des embryons chez la souris en utilisant le modèle de l'inactivation du chromosome X.	2006
KALAMPALIKIS Nikos - JE 2408 - LYON	Enjeux éthiques et identitaires engagés dans l'acte de procréation avec don de sperme.	2006
KHOSHNOOD Babak - INSERM U149 - VILLEJUIF	Assistance médicale à la procréation et risque d'anomalies congénitales: étude en population.	2006
LEFEVRE Annick - UMR INSERM 418 - Lyon	Les nouvelles technologies de l'AMP et la qualité des ovocytes: aspect épigénétique, analyse de la méthylation de l'ADN et du profil des histones.	2006
PARINAUD Jean - Biologie de la reproduction - CHU Toulouse	Les échecs en fécondation in vitro: Prise en charge et conséquences pour les couples.	2006
POULY Jean-Luc - Association FIVNAT - Bicêtre	Impact des ICSI avec sperme testiculaire sur la qualité des enfants conçus.	2006

Nom et institution	Titre	Année AOR
SELVA Jacqueline - CHI Poissy	La sélection des spermatozoïdes à fort grossissement permet elle une diminution de la fréquence des aneuploïdies par FISH?.	2006
WOLF Jean Philippe - Biologie de la reproduction - Bondy	Augmentation des taux de fécondation en FIV par l'utilisation d'un peptide reproduisant le site de liaison de la fertiline.	2006
BUJAN Louis - EA 3694 - CECOS - Toulouse	Centre de Ressources Biologiques des Gamètes et Cellules Germinales pour la Recherche en Reproduction Humaine GERMETHEQUE	2007
FEUILLET-LE MINTIER Brigitte - IODE - Rennes	Droit, éthique et religion: quelles normes pour l'AMP	2007
FLIS TREVE Muriel - Antoine Béclère - APHP	Quelle décision prendre face à ses embryons congelés? Enjeux psychologiques et éthiques des couples détenteurs	2007
LORNAGE Jacqueline - Médecine de la reproduction - HCL	Préservation du capital oocytaire, survie d'une greffe, vitrication d'ovaires entiers	2007
MANDELBAUM Jacqueline - Cytogénétique - Tenon - APHP	Quel devenir pour les embryons congelés issus d'AMP? Etude des motivations des couples.	2007
MAY-PANLOUP Pascale - INSERM U694 - CHU Angers	Etude du déterminisme mitochondrial dans l'insuffisance ovarienne	2007
OLIVENNES François - Association AMP vigilance - Villennes sur Seine	Etude de devenir des grossesses évolutives et des enfants issus d' ICSI ayant utilisé des spermatozoïdes testiculaires ou épididymaires	2007
POIROT Catherine - Biologie de la reproduction - La Pitié - APHP	Autogreffe de cortex ovarien chez la femme : organisation de la prise en charge, faisabilité, évaluation des pratiques	2007
THONNEAU Patrick - EA 3694 - CECOS - Toulouse	Analyse des parcours thérapeutiques d'une cohorte d'hommes consultant pour infécondité	2007
BERTHIAU Denis - Cochin - APHP	Enquête d'éthique clinique sur des cas d'assistance médicale à procréation (AMP) "dérangeants" au plan éthique	2008
LE BOUC Yves - Trousseau - APHP	Evaluation du risque de pathologies liées à l'empreinte parentale après Assistance Médicale à Procréation (APM)	2008
LEFEVRE Annick - INSERM	La maturation in vitro des ovocytes frais ou cryopréservés : aspect épigénétique, analyse de la méthylation de l'ADN et du profil d'acétylation des histones	2008
PLOTTON Ingrid - HCL	Préservation de la fertilité à l'adolescence dans les troubles de la spermatogenèse : étude prospective	2008

Nom et institution	Titre	Année AOR
SAUVAT Frédérique - INSERM	Greffe d'ovaire non pubère chez la brebis : étude de l'induction de la puberté, fertilité et risque épigénétique dans la descendance	2008
SCHUBERT Benoît - Pitié - APHP	Vitrification des ovocytes : étape pré-clinique en vue d'une utilisation dans le cadre de la préservation de la fertilité	2008
VIVILLE Stéphane - IGBMC	génétique de l'infertilité masculine	2008
CEDRIN-DURNERIN Isabelle - SAIC	Impact de l'alimentation et du statut nutritionnel sur les troubles de l'ovulation : étude prospective multicentrique	2009
COURBIERE Blandine - Université de la Méditerranée	Impact cytotoxique et génotoxique des cryoprotecteurs utilisés pour la vitrification des ovocytes humains	2009
DURANTHON Véronique - INRA	Perturbations épigénétiques induites par la culture in vitro de l'embryon : dérégulation des séquences rétrovirales	2009
FOIX – L'HELIAS Laurence - Saint-Louis - APHP	Poursuite du suivi des enfants conçus par fécondation in vitro avec le diagnostic préimplantatoire (DPI)	2009
HEDON Bernard - CHU Montpellier	Endométriose I/II traitée et fertilité	2009
KHOSHNOOD Babak - Inserm, ADR Paris 6	Assistance médicale à la procréation et risque de cardiopathies congénitales : étude en population	2009
LEDEE Nathalie - ADR Villejuif	Validation finale du G-CSF Folliculaire comme biomarqueur non invasif du potentiel d'implantation embryonnaire	2009
MOREAU Caroline - ADR PARIS XI	Attitudes et représentations en matière d'assistance médicale à la procréation et de génétique de la reproduction en France	2009
PELLESTOR Franck - INSERM ADR 8 Montpellier	Etude des facteurs moléculaires de non-disjonction ovocytaire, et nouvelles approches pour la réduction de l'aneuploidie	2009
SALLE Bruno - INSERM ADR LYON	Préservation de la fertilité : évaluation de 2 protocoles congélation lente et vitrification d'ovaires humains entiers	2009
BASHAMBOO Anu - Institut Pasteur	NR5A1 et l'infertilité	2010
BAUDOT Anne - Inserm U698 - Bichat	Nouveaux systèmes pour la cryopréservation d'ovocytes par congélation ou par vitrification	2010

Nom et institution	Titre	Année AOR
BOURC'HIS Déborah - Institut Curie	Reprogrammation chromatinienne de l'embryon vue par les techniques de micro-ChIP dans le modèle murin	2010
DE LAROUZIERE Vanina - CECOS - Tenon	Intérêt de la stratégie de transfert au stade zygotique, en fécondation in vitro (FIV/ICSI), pour les couples présentant une fragmentation précoce massive et récurrente de leurs embryons	2010
DI CLEMENTE-RENAULD-BESSE Nathalie - INSERM U782	Amélioration de la valeur prédictive de l'hormone anti-Müllérienne (AMH) en AMP	2010
GAUTHIER Tristan - Gynécologie - CHU Limoges	Allogreffe utérine chez la brebis	2010
GUERIN Jean-François - Reproduction - HCL	Génotypage de patientes infertiles pour un nouveau facteur de survie maternel. Etude cas-témoins multicentrique	2010
KALAMPALIKIS Nikos - GREPS-EA 4163 - Lyon	Le don et son récit. Paradoxes bioéthiques et enjeux psychosociaux du don de sperme	2010
MOREL Frédéric - INSERM U613 - CHU BREST	Ségrégation méiotique et fragmentation de l'ADN dans les spermatozoïdes de porteurs d'anomalie chromosomique constitutionnelle et ICSI	2010
PINEAU Charles - INSERM U625	Identification de marqueurs protéiques de la lignée germinale testiculaire dans le plasma séminal humain par une approche Omique combinatoire	2010
ROUX Christophe - AMP - CHU Besançon	Recherche de maladie résiduelle au niveau du tissu ovarien autoconservé en cas de pathologie néoplasique	2010
ROZEE GOMEZ Virginie - INED-INSERM-Paris Sud XI	AMP sans frontière : de Paris à Bruxelles, Barcelone et Thessalonique	2010
BARRAUD-LANGE Virginie - Cochin - APHP	Traitement par thérapie cellulaire des infertilités masculines : caractérisation des cellules souches germinales humaines	2011
DE MAZANCOURT Philippe - UVSQ	Facteur XIII, localisation tissulaire et origine cellulaire ; implications pour la prise en charge des fausses couches à répétition	2011
DURIF-VAREMBONT Jean-Pierre - CRPCC	Insémination avec sperme de donneur (IAD). Approche psycho-clinique des liens croisés entre 4 protagonistes : couple donneur et couple receveur	2011
FANCHIN Renato - INSERM Paris 11	Développement de la folliculogenèse in vitro comme alternative thérapeutique pour la préservation de la fertilité féminine	2011
LE LANNOU Dominique - CECOS - CHU Rennes	Apport de la congélation embryonnaire dans un programme de FIV avec ou sans culture prolongée	2011

Nom et institution	Titre	Année AOR
NOURI Nadjat - CECOS - CHU Toulouse	Étude de la dynamique familiale et du processus de filiation chez des couples parentaux après assistance médicale à la procréation : Étude clinique comparative	2011
RAVEL Cécilia - Institut Pasteur	Qualité du gamète mâle chez les hommes infertiles pris en charge en AMP : retentissement des folates sur l'épigénome	2011
TORRE Antoine - CHI Poissy	Syndrome d'hyperstimulation ovarienne et activation endothéliale : caractère prédictif du dosage de microparticules endothéliales	2011
BENCHAIB Mehdi - INSERM U846	Le ratio Histone/Protamine spermatique : épigénétique, facteur pronostique et diagnostique en Assistance Médicale à la Procréation	2012
CHALAS Céline - Cochin - APHP	Cryopreservation du sperme des adultes blessés médullaires : intérêt et modalités. Etude prospective multicentrique	2012
DOS SANTOS Esther - USVQ	Leptine et interface fœto-maternelle : Implication dans les échecs d'implantation et les fausses couches à répétition	2012
DUPONT Joëlle - INRA	Adipocytokines et qualité des gamètes	2012
DURANTHON véronique - INRA	Effet de la culture in vitro sur l'hydroxyméthylation de l'ADN embryonnaire : Comparaison de deux milieux utilisés en AMP	2012
FAUQUE Patricia - CHU Dijon	Contrôle des transposons et reproduction : évaluation des risques en assistance médicale à la procréation chez la souris	2012
LEANDRI Roger - CECOS - CHU Toulouse	Détection de la présence de bisphénol A dans les milieux de culture d'embryons humains	2012

Année: 2006

Etude prospective multicentrique sur la pratique des prélèvements testiculaires et épidimaires: du diagnostic à l'enfant né.

BAILLY Marc - Pour la SALF

Service AMP - CHI Poissy

[Retour tableau](#)

Résumé

Cette étude prospective multicentrique et multidisciplinaire concerne l'évaluation de la pratique des prélèvements chirurgicaux de spermatozoïdes dans un but reproductif sur une durée de deux ans (une troisième année pour le recueil des issues d'AMP). Cette pratique de prélèvements de gamètes est soumise à un agrément spécifique. Les études réalisées jusqu'alors ne sont que parcellaires, non individualisées et n'évaluent souvent que la pratique d'un seul centre. Grâce à l'ICSI et la microcongélation, nous sommes amenés à traiter de plus en plus de patients azoospermiques non obstructifs dont l'étiopathogénie est le plus souvent non expliquée. Pour informer le plus précisément ces patients (potentiellement plus à risque pour l'issue de la technique et pour la descendance), une réflexion sur les éléments permettant d'évaluer les possibilités de retrouver et d'utiliser ces gamètes dans un but de procréation et le suivi des différentes étapes de la conservation des spermatozoïdes, de la fécondation, du déroulement de la grossesse, de son issue et du développement ultérieur de ces enfants nous a paru une enquête spécifique naturelle. Douze centres métropolitains publics participent à cette étude sur un fichier informatique anonymisé commun mis à disposition par la SALF (Société d'Andrologie de Langue Française) promotrice de cette étude. La base de données a été déclarée à la CNIL et les patients signent un consentement éclairé dans chaque centre. Cette enquête est prévue sur 2 ans d'inclusions et une année supplémentaire pour colliger les issues de grossesse. Environ 1000 à 1400 prélèvements sont attendus sur 2 ans. Le logiciel de saisie utilisé est Médifirst, accessible par code sur internet via le site de la SALF. Le suivi des dossiers, la validation des items, avec des procédures de cohérence sera assuré par deux responsables par région, chaque région (centre ouest, sud et nord) représentant un effectif prévisionnel de ponction équivalent. Une aide à la saisie par un attaché de recherche (vacations) par centre est nécessaire à la bonne saisie compte tenu de l'aspect multidisciplinaire (plusieurs services, plusieurs localisation géographiques) et de la saisie en plusieurs temps du même dossier (ponction, bilan, tentatives, issue). Des réunions téléphoniques régulières sur l'évolution de la saisie et des difficultés pratiques sont prévues. Une réunion « physique » commune est prévue chaque année, avec rapport de l'avancement de l'étude au CA de la SALF et aux « sponsors ». L'exploitation biostatistique et épidémiologique sera menée par nos collègues de l'Inserm de Toulouse. Les résultats devraient permettre : l'évaluation des méthodes utilisées tant pour le diagnostic, le pronostic que pour la thérapeutique (congélation, ICSI), les issues de cette pratique (enfants, FCS, malformations mais aussi l'étude des échecs), ainsi que l'appréciation de l'éventuel effet délétère du geste (suites post opératoires, hypogonadisme, psychologique). Tous ces éléments nous ont paru très importants pour dégager un certain nombre de conclusions pouvant aboutir à un référentiel pour l'Agence de la biomédecine, ainsi qu'une aide à l'élaboration des recommandations de bonnes pratiques sur ce sujet.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Etude Prospective de l'évolution psychologique périnatale des couples bénéficiant d'un accueil d'embryon et de leurs enfants.

BEAUQUIER-MACCOTTA Bérengère - Service de Pédiopsychiatrie Hôpital Necker Enfants Malades PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

Cette recherche évalue le processus de parentalisation au sein de couples concevant un enfant par don d'embryon. Nous savons que la stérilité entraîne une blessure narcissique qui va se réaménager lors d'une grossesse survenue par Aide Médicale à la Procréation. De plus, les couples qui vont concevoir grâce à un accueil d'embryon n'auront aucune filiation génétique avec cet embryon. Ils devront cheminer avec l'idée que cet embryon a été conçu par un autre couple qui n'a actuellement plus de projet d'enfant. Cette pratique d'AMP se doit d'être évaluée quant à l'adaptation psychique qu'elle va solliciter pour ces couples. Nous avons choisi d'étudier les représentations de parents durant la grossesse et le post-partum. Les représentations parentales les concernant eux-mêmes comme parents, le fœtus et leurs propres parents sont un reflet du remaniement psychique de la période de grossesse ; nous évaluerons aussi un retentissement anxieux ou dépressif. Tous ces éléments peuvent en effet avoir une influence sur la qualité de la relation précoce parents-bébés. De plus, nous recueillerons les intentions parentales sur l'information qu'ils envisagent de délivrer à leur enfant et les modalités de la narration de cette partie de leur histoire. Nous rencontrerons donc 15 couples receveurs d'embryons, 15 couples receveurs de dons d'ovocytes et 15 couples ayant conçu de manière naturelle. T1 : A 8 mois de grossesse nous effectuerons la passation d'un entretien semiestructuré des représentations parentales (IRMAG), un questionnaire concernant les représentations liées au fœtus (Prenatal attachment interview), des évaluations de l'anxiété de la dépressivité (STAI – EDPS). T2 : 6 semaines de post-partum (recueil d'information, EPDS, STAI) T3 : 3 mois post-partum : entretien semi-structuré, recueil d'information, EPDS, STAI, séquence de jeu libre vidéo enregistrée (Jeu triadique de Lausanne).

Résultats

Canneaux, Marion, Catherine Chabert, Bernard Golse, Jean-Philippe Wolf, et Bérengère Beauquier-Maccotta. 2013. « Comment devient-on mère grâce à un don d'ovocytes?? » La psychiatrie de l'enfant 56 (1): 67.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Suivi des Enfants de l'AMP. Mise en place d'actions d'amélioration de l'Enregistrement et de la fiabilité des informations.

BOYER Pierre - Service de Biologie de la Reproduction Hôpital Saint Joseph
13008 MARSEILLE

[Retour tableau](#)

Résumé

Le suivi à long terme des enfants issus de l'AMP est une préoccupation majeure des acteurs de ces techniques en raison des complications obstétricales observées lors des grossesses obtenues et des alertes concernant la santé des enfants. Ces alertes ont jusqu'à présent porté aussi bien sur des risques génétiques ou épigénétiques que malformatifs, s'appuyant sur des travaux expérimentaux chez l'animal et des cas rapportés ou des séries d'enfants nés. Notre activité d'AMP a débuté en novembre 1994 et nous avons entrepris depuis septembre 2003 de recueillir les données sur l'état de santé des enfants nés depuis le début de l'activité jusqu'à l'âge atteint au moment de l'évaluation. La première étape de ce suivi est encourageante puisque plus de 70 % des familles d'enfants de plus de 5 ans ont répondu dès la première sollicitation. Les données proviennent du carnet de santé de l'enfant et de comptes-rendus médicaux et sont complétés par des informations apportées par un questionnaire rempli par les parents ou au cours d'un interrogatoire de consultation. L'écueil principal de notre démarche est l'absence d'actualisation des coordonnées administratives des couples au fil du temps, ce qui génère des perdus de vue. Nous souhaitons mettre en œuvre d'avantage de moyens de communication entre le réseau de praticiens qui prend en charge les couples dès le départ de la démarche d'AMP, les familles concernées et notre unité clinico-biologique hospitalière pour accroître la participation des familles et par conséquent la quantité des informations recueillies. Nous avons prévu la mise en place de moyens ponctuels pour compléter rétrospectivement les données manquantes des dossiers les plus anciens et la mise en place de moyens pérennes et prospectifs pour la collecte des données. Le bénéfice attendu est individuel puisque de ce fait chaque famille a la possibilité de trouver une écoute spécifique par rapport aux interrogations qui peuvent naître à distance de l'évènement. Nous gardons ainsi dans la structure un dossier médical de chaque enfant avec les éléments biologiques et hormonaux de la tentative, ainsi que des éléments concernant la grossesse. Ce bénéfice attendu participe à la vigilance en termes de santé publique, les données sont enregistrées anonymement garantissant ainsi la confidentialité et le secret médical. L'état d'avancement de notre pratique impose à ce stade du projet de préparer un plan statistique de l'exploitation des données sur la première série d'enfants nés entre 1995 et 2001. Cette démarche approuvée et encouragée par l'établissement adhère aux valeurs de la Fondation Saint Joseph, enrichit l'expérience des praticiens et les éclaire dans l'intérêt du respect des recommandations officielles et scientifiques de la pratiques des actes d'AMP.

Résultats

Boyer, M., L. Meddeb, V. Pauly, et P. Boyer. 2011. « Suivi des enfants de l'AMP: Expérience d'un centre français ». In *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain*, 665-76. Springer Paris.

Meddeb, L., M. Boyer, V. Pauly, P. Tourame, B. Rossin, B. Pfister, et P. Boyer. 2011. « [Procedure used to follow-up a cohort of IVF children. Interests and limits of tools performed to longitudinal follow up for a monocentric cohort] ». *Revue D'épidémiologie Et De Santé Publique* 59 (2): 97-105.

Meddeb, Line, Marie-Josée Gervoise Boyer, Pierre Tourame, S Gentile, Roland Sambuc, et Pierre Boyer. 2006. « Étude de l'indice de masse corporelle (IMC) d'enfants nés après fécondation in vitro (FIV) entre 0 et 6 ans ». *Références en Gynécologie obstétrique*, n° 13: 1-1.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Culture in vitro de l'embryon: mise en œuvre d'un modèle animal d'analyse des effets précoces sur les réseaux de gènes exprimés, et des conséquences sur le développement fœtal et post-natal.

DURANTHON Véronique - UMR INRA/ ENVA 1198 JOUY en JOSAS

[Retour tableau](#)

Résumé

Ce projet vise à caractériser à l'aide d'un réseau de gènes dédiés (puce ADNc) l'effet de milieux de culture séquentiels utilisés en AMP, sur le transcriptome de l'embryon de lapin, modèle pertinent de l'embryon humain. Cette approche moléculaire globale, qui sera mise en œuvre à deux stades clefs du développement précoce, la mise en route du génome et les premières différenciations seront aussi utilisées pour l'amélioration des milieux par addition de composés spécifiques. Les effets tardifs éventuels de la culture in vitro de l'embryon sur sa croissance fœtale et son développement post-natal seront évalués.

Résultats attendus : Alors qu'un nombre croissant d'études épidémiologiques font état de possibles effets tardifs des procédures liées à la culture in vitro de l'embryon humain, les mécanismes responsables de ces effets restent peu connus, et l'effet propre des procédures liées à l'AMP demeure difficile à apprécier. L'analyse globale proposée ici permettra d'identifier les gènes dont l'expression est modifiée par une phase de développement in vitro, de révéler les premières fonctions susceptibles d'être affectées et d'isoler la part due à la culture seule. Le suivi précis du développement fœtal et postnatal permettra d'apprécier les conséquences phénotypiques éventuelles de ces perturbations avec une attention particulière portée aux signes d'apparition de diabète et d'obésité.

Méthodologies : Les embryons de lapin fécondés in vivo seront cultivés jusqu'au stade blastocyste dans des milieux (ISM1/ISM2 Medicult et G3series Vitrolife) utilisés en AMP. Leur transcriptome sera analysé à l'aide d'un réseau de 2000 gènes dédiés à la période préimplantatoire du lapin, réseau disponible au laboratoire et pour lequel les procédures de criblage par des matériels rares (une quinzaine d'embryons) viennent d'être maîtrisées (amplification par PCR et par transcription in vitro d'ARN antisens). Des embryons développés in vivo serviront de témoin. Les résultats seront analysés par analyse de variance. Les développements fœtaux individuels seront suivis par échographie à partir du neuvième jour de gestation et comparés à ceux d'embryons témoins. Une partie des animaux seront élevés après leur naissance pendant 15 mois, afin de suivre leur croissance. L'adiposité (mesurée par la méthode TOBEC) mais aussi la tolérance au glucose, les concentrations plasmatiques de glucose, insuline, triglycérides, cholestérol total, LDL et VLDL seront enregistrées. A l'autopsie, le poids relatif des organes et le poids du tissu adipeux seront également mesurés.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Conséquences épigénétiques de la stimulation, de la fécondation in vitro et de la culture sur la qualité du conceptus chez la souris.

FAUQUE Patricia - Service d'Histologie-Embryologie et Biologie de la Reproduction - GH Cochin-St Vincent de Paul - PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

De nombreuses études sont consacrées aux répercussions des techniques de Fécondation in vitro sur la santé des enfants ainsi conçus. Récemment, la notion de risque épigénétique est apparue avec des perturbations du développement liées à des modifications des gènes soumis à empreinte. En effet, quelques publications rapportent une relation entre AMP et pathologies reliées à l'empreinte parentale chez l'homme, en particulier le syndrome Beckwith-Wiedemann, de Prader Willi-Angelman et de Silver-Russel. L'empreinte parentale est définie comme l'expression allèle spécifique d'un gène gouverné par un mécanisme épigénétique tel que la méthylation de l'ADN. Cette marque épigénétique apposée dans les gamètes doit être maintenue au cours de la fécondation et du développement préimplantatoire de l'embryon. Toute perturbation intervenant pendant cette période peut avoir des conséquences sur le développement fœto-placentaire. Notre objectif est donc de déterminer dans le modèle murin, quel est l'impact de la stimulation multifolliculaire, de la fécondation in vitro, et de la culture embryonnaire sur le développement jusqu'au stade de blastocyste et sur l'empreinte génomique. L'originalité de notre étude est de développer des techniques permettant une analyse sur des blastocystes isolés, et d'apprécier ainsi la variabilité inter-blastocystes pour tous les paramètres analysés. Les critères d'évaluation de la qualité embryonnaire seront basés sur la cinétique du clivage embryonnaire, une analyse morphométrique des blastocystes et une quantification par immunofluorescence des cellules de la masse cellulaire interne et du trophoctoderme. Ces paramètres seront associés à une étude épigénétique. Dans un premier temps une évaluation de la méthylation globale de l'ADN sera réalisée en immunocytochimie avec des anticorps anti-5 Methyl Cytosine. Dans un second temps, le maintien de l'empreinte parentale, sera abordée par l'étude d'un gène candidat, le gène H19 (profils de méthylation de régions différenciellement méthylées après traitement au bisulfite de sodium et analyse expressionnelle). Nous envisageons aussi une analyse globale de l'expression de l'ensemble des gènes soumis à l'empreinte parentale (environ 60 gènes) en PCR quantitative à partir d'ADNc d'un seul blastocyste après amplification enzymatique linéaire. Enfin, afin de mieux cerner le rôle du gène H19, nous suivrons le développement d'embryons préimplantatoires porteurs de l'inactivation du gène H19 de l'allèle maternel du chromosome 7 après une fécondation in vitro versus une fécondation in vivo. Les résultats de cette étude nous permettront de préciser quelles sont les étapes cruciales de l'AMP qui peuvent entraîner de potentielles perturbations de l'empreinte parentale dans les embryons au stade pré-implantatoire. Nous pourrons aussi évaluer l'amplitude de ces modifications (ciblées sur un gène/sur plusieurs gènes soumis à l'empreinte/globales). L'analyse de l'expression de l'ensemble des gènes soumis à l'empreinte parentale déterminera les gènes corégulés et impliqué dans le développement de l'embryon au stade pré-implantatoire. Le développement de l'ensemble de ces techniques fournira des outils précieux dans l'évaluation des modifications apportées aux pratiques d'AMP en clinique humaine (tests de nouveaux milieux de culture, fécondation après sélection ou maturation des gamètes...)

Résultats

Fauque, P., M. A. Ripoche, J. Tost, L. Journot, A. Gabory, F. Busato, A. Le Digarcher, et al. 2010. « Modulation of Imprinted Gene Network in Placenta Results in Normal Development of in Vitro Manipulated Mouse Embryos ». *Human Molecular Genetics* 19 (9): 1779-90.

Fauque, Patricia, Pierre Jouannet, Corinne Lesaffre, Marie-Anne Ripoche, Luisa Dandolo, Daniel Vaiman, et Hélène Jammes. 2007. « Assisted Reproductive Technology Affects Developmental Kinetics, H19 Imprinting Control Region Methylation and H19 Gene Expression in Individual Mouse Embryos ». *BMC Developmental Biology* 7 (1): 116.

Fauque, Patricia, Françoise Mondon, Franck Letourneur, Marie-Anne Ripoche, Laurent Journot, Sandrine Barbaux, Luisa Dandolo, et al. 2010. « In Vitro Fertilization and Embryo Culture Strongly Impact the Placental Transcriptome in the Mouse Model ». Édité par Jay M. Baltz. *PLoS ONE* 5 (2): e9218.

Okamoto, Ikuhiro, Catherine Patrat, Dominique Thépot, Nathalie Peynot, Patricia Fauque, Nathalie Daniel, Patricia Diabangouaya, et al. 2011. « Eutherian Mammals Use Diverse Strategies to Initiate X-Chromosome Inactivation during Development ». *Nature* 472 (7343): 370-74.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Le don d'ovocytes dans la construction du lien mère/ enfant.

GRANET Philippe - Institut Mutualiste Montsouris - Service d'AMP - PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

Le changement technologique le plus important dans les stérilités féminines est le don d'ovocytes qui permet pour la première fois à des femmes privées de fonction ovarienne, ou ayant une anomalie génétique, de porter un enfant dans leur corps. C'est un changement de destinée biologique qui, par la grossesse, permet une réparation de la stérilité. Les procréations médicalement assistées vont écrire un nouveau chapitre du roman familial et de l'Œdipe. La filiation logique ordinaire est interpellée par dissociation du génétique et du porter et accoucher. La qualité de cette recherche repose sur la collaboration de divers professionnels tels que des cliniciens, des biologistes et des psychologues répartis sur trois centres hospitaliers. Elle s'inscrit également dans un laboratoire de recherche en psychopathologie clinique de l'université Paris X Nanterre, le LASI. L'originalité du projet se situe dans sa volonté d'améliorer la prise en charge et les soins des patientes, mais aussi de comprendre, d'analyser et d'évaluer sur un versant psychodynamique ce qui se joue autour du don, tant du côté de la donneuse que de la receveuse, en prenant en compte l'influence du recours à l'AMP dans la construction du lien mère/enfant, et ceci, grâce à un groupe contrôle. Afin d'atteindre nos objectifs, nous allons mettre en place une méthodologie issue de la psychopathologie psychanalytique comprenant des entretiens cliniques, la passation de tests projectifs (Rorschach, TAT et la patte noire), ainsi que l'élaboration d'un questionnaire évaluant la qualité des soins dans le service. La réalisation de ce projet d'une durée de 5 ans va nous permettre de mieux appréhender la prise en charge du don d'ovocytes dans les services d'AMP et éclairer un versant du lien originaire mère/enfant.

Résultats

Cochini, A., H. Letur-Könirsch, P. Granet, R. Wainer, et D. Cupa. 2011. « Le vécu des patientes et les représentations maternelles au fil des étapes d'un don d'ovocytes ». *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 39 (9): 533-37.

Poster



LASI EA 4430

L'expérience d'une assistance médicale à la procréation : « à corps et désaccords » Étude psychopathologique des femmes infertiles en parcours de fécondation in vitro ou de don d'ovocytes

Titre original : L'élaboration du lien mère-enfant dans le cadre du don d'ovocytes

Alexandra Cochini : Docteur en Psychopathologie, Laboratoire de Psychopathologie Psychanalytique des Atteintes Somatiques et Identitaires EA 4430, Université Paris Ouest Nanterre la Défense, alexandracochini@yahoo.fr ; Héléne Letur-Könirsch : Responsable de l'activité de don d'ovocytes, Endocrinologue et Gynécologue Médicale, Centre de Fertilité Institut Mutualiste Montsouris Paris - Unité de BOR-AMP- AHP Pitié Salpêtrière. Philippe Granet : Biologiste de la reproduction, Centre de Fertilité Institut Mutualiste Montsouris Paris. Robert Wainer : Responsable du service d'AMP, Centre Hospitalier Intercommunal Poissy-Saint Germain en Laye. Dominique Cups : Professeur de Psychopathologie, Membre de la Société Psychanalytique de Paris, Laboratoire de Psychopathologie Psychanalytique des Atteintes Somatiques et Identitaires, Université Paris Ouest Nanterre la Défense.

Introduction

Les progrès de la science avançant à grand pas, il est rapidement apparu nécessaire aux équipes médicales d'évaluer l'impact psychologique que cet essor amène. Cette étude s'inscrit dans ce projet, elle a pour objectif d'avancer dans la compréhension du fonctionnement psychique de la femme infertile et de l'impact psychologique du recours à une FIV ou à un don d'ovocytes. Cette recherche est une réflexion théorico-clinique sur l'état psychologique des femmes infertiles en parcours de FIV et de don d'ovocytes. Elle vise à étudier le vécu et les représentations maternelles de ces femmes au fil des étapes de leur parcours en AMP. L'hypothèse générale de cette étude soutient l'idée qu'il existe des particularités dans le fonctionnement psychique des femmes infertiles, ces particularités diffèrent selon qu'elles ont recours à une FIV ou à un don d'ovocytes. De plus, selon la technique d'AMP employée, ces patientes sont en proie à une série de fantasmes et de représentations maternelles spécifiques.

Population et méthode

Le premier groupe d'étude était constitué de femmes primipares ayant recours à une FIV pour stérilité féminine exclusivement (femmes FIV). Le deuxième groupe d'étude était constitué de femmes primipares infertiles entrant dans le programme de don d'ovocytes (femmes DO). Cette recherche s'est déroulée dans deux services d'AMP de la région parisienne : au Centre Hospitalier Inter Communal de Poissy et à l'Institut Mutualiste Montsouris ; elle a bénéficié du soutien financier de l'Agence de la Biomédecine.

Le planning, identique pour les deux groupes, était construit en trois étapes. Premièrement, à l'ouverture d'un dossier, il était proposé à la patiente de participer à un entretien semi-directif et de passer deux tests projectifs (Rorschach et TAT). Deuxièmement, un mois après le transfert d'embryon, il leur était demandé de remplir un questionnaire. Troisièmement, au 7^{ème} mois de grossesse, il était demandé à la patiente de remplir un second questionnaire et de participer à un entretien semi-directif et à la passation d'un test projectif (« Bande de cris et pleurs » de Lester).

Résultats

La population générale de cette recherche se composait de 69 femmes : 40 femmes FIV et 29 femmes DO.

Au premier temps de l'étude (T1), la population se composait de 48 femmes : 29 femmes FIV et 19 femmes DO. Au deuxième temps (T2), elle était constituée de 46 femmes : 31 femmes FIV et 15 femmes DO. Au troisième temps (T3), nous avons rencontré 8 femmes au 7^{ème} mois de grossesse, toutes enceintes à la suite d'une FIV et 11 femmes FIV et 9 femmes DO, 7 mois après l'échec de la tentative. Faute de grossesse, aucune femme DO n'a été rencontrée au 7^{ème} mois de grossesse, c'est pourquoi le troisième temps de l'étude n'est pas exploitable, les résultats se centreront sur les deux premières étapes.

L'analyse de l'entretien (T1) a permis de dégager les résultats suivants :

- l'angoisse de castration est prédominante et l'atteinte narcissique plus importante chez la femme DO ;
- la technique de FIV paraît psychologiquement plus acceptable puisqu'elle ne modifie pas la filiation ;
- les femmes FIV évoquent la question du deuil d'une conception naturelle et les femmes DO évoquent le deuil de leurs ovocytes tout en insistant sur l'avantage de pouvoir vivre l'expérience d'une grossesse ;
- la plupart des femmes FIV et DO ont l'intention de dire à leur enfant comment il a été conçu ;
- pour la majorité des femmes DO l'anonymat du don est une situation qui les arrange. Elles accepteraient que le don soit non anonyme uniquement s'il s'agissait d'un don direct fait par leur donneuse relationnelle en sachant que 13 des 19 femmes DO avaient une donneuse relationnelle (famille, amie ou collègue) ;
- 16 des 19 femmes DO n'envisageaient pas pour l'instant de se tourner vers une prise en charge à l'étranger, 3 ont déjà eu recours à l'étranger.

L'analyse des Rorschach (T1) fait ressortir les résultats suivants identiques pour les deux groupes :

- La manifestation d'une lutte antidépressive dissimulée derrière une image de soi conventionnelle (banalité) ;
- L'expression d'une angoisse de castration où le sexe féminin est perçu comme castré, en lien avec l'absence de maternité (règles, fausse couche) ;
- L'inscription dans un registre œdipien ;
- Une problématique d'ordre pré œdipienne, la femme infertile se vit sous l'emprise et l'influence d'une représentation maternelle angoissante et persécutrice ;
- Une tentative de maîtriser le conflit intra psychique par un gel des mouvements pulsionnels.

L'analyse du TAT (T1) a mis en évidence la présence, pour les deux groupes, d'une angoisse de séparation, d'une lutte antidépressive, d'un évitement du conflit intra psychique, de la présence d'une figure maternelle surmoïque, d'une non accession de la jeune fille à la position de mère, du désir de se dégager de l'emprise maternelle et d'une haine des femmes enceintes.

L'analyse du questionnaire (T2) a montré que lors du transfert d'embryons la joie prédomine chez l'ensemble des patientes. Les autres émotions ressenties sont

Discussion

Les résultats montrent que les femmes en parcours de FIV ou de don d'ovocytes souffrent d'une blessure psychique qui est à mettre en lien avec le vécu d'une castration réelle de leur féminité dans sa valence maternelle châtée. Les femmes infertiles se trouvent sous l'emprise de l'objet primaire et leur fonctionnement mental se caractérise par une pensée opératoire défensive. De plus, le recours à une FIV ou à un don d'ovocytes suscite des aménagements psychiques, notamment en termes de représentations maternelles, qui apparaissent spécifiques au type d'AMP. Enfin, l'AMP amène les couples à érotiser les interventions médicales conduisant notamment à un remaniement des théories sexuelles infantiles et à une reconstruction des fantasmes originaires.

Conclusion

Cette recherche a démontré qu'il existe aussi bien des particularités que des similitudes dans le fonctionnement psychique des femmes infertiles. Les particularités diffèrent selon le recours à une FIV ou à un don d'ovocytes. Ainsi, les femmes FIV et DO ne sont donc pas, sur le plan psychopathologique, diamétralement opposées, ces deux groupes se caractérisent par un ensemble « d'accords et de désaccords ».

Année: 2006

Etude de l'impact épigénétique de la super ovulation et de la culture in vitro des embryons chez la souris en utilisant le modèle de l'inactivation du chromosome X.

HEARD Edith - CNRS UMR 218 "Dynamique nucléaire et plasticité du génome" - Institut Curie - PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

L'inactivation du chromosome X, aboutissant au silence transcriptionnel de l'un des deux chromosomes X dans le sexe féminin, est utilisé chez les mammifères comme mécanisme de compensation de dose de façon à assurer un même niveau de transcrits chez les mâles et les femelles. Ce processus est dû à l'existence du transcrit Xist qui englobe le chromosome X et à l'acquisition successive de marques d'hétérochromatine. L'inactivation du chromosome X représente un modèle puissant pour l'étude des modifications épigénétiques dans la régulation de l'expression des gènes au cours du développement. Chez la souris, il est soumis à deux types de régulation, une liée à empreinte prenant place au cours du développement pré-implantatoire précoce durant lequel le chromosome X paternel est systématiquement inactivé, et une aléatoire au cours de laquelle l'un ou l'autre des deux chromosomes X est inactivé. L'inactivation du chromosome X, du fait de sa régulation épigénétique, constitue un excellent modèle d'étude des anomalies éventuelles de la mise en place du programme d'expression génique qui pourraient survenir au cours du développement d'embryons obtenus par FIV. Une augmentation d'anomalies épigénétiques au décours de la Fécondation In Vitro (FIV) a été rapportée chez les mammifères dont l'homme, faisant discuter l'innocuité de ce mode de fécondation. L'objectif principal de ce projet est d'étudier l'effet potentiel de la superovulation et la culture in vitro des gamètes et des embryons sur la mise en place de l'inactivation du chromosome X au cours du développement pré-implantatoire chez la souris. Les embryons seront obtenus dans plusieurs conditions (fécondation et culture in vivo avec ou sans super ovulation ; fécondation in vivo et culture in vitro à partir du stade de zygotes ; fécondation in vitro conventionnelle et culture in vitro ; fécondation in vitro conventionnelle et développement embryonnaire in vivo à partir du stade de zygotes). Les cinétiques d'expression du gène Xist et de différents gènes situés sur le chromosome X seront étudiées par RNA-FISH. Les modifications des histones à type d'hypoacétylation ou d'hyperméthylation, et du recrutement des protéines du groupe polycomb sur le chromosome X paternel seront analysées par immunofluorescence. Ces techniques, seules ou combinées, seront réalisées sur embryon unique à tous les stades du développement pré-implantatoire (2, 4, 8 cellules, morula et blastocyste) et comparées à celles observées chez les embryons conçus in vivo sans super ovulation (groupe contrôle). En autorisant une analyse directe sur un seul embryon, elles permettront de s'affranchir de la variabilité inter embryonnaire et du mosaïsme cellulaire et d'évaluer précisément les stades éventuellement critiques de la FIV, en ciblant sur la fécondation et l'activation du génome embryonnaire. L'ensemble des résultats obtenus nous permettra de mieux appréhender les éventuelles anomalies épigénétiques observées en FIV humaine.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Enjeux éthiques et identitaires engagés dans l'acte de procréation avec don de sperme.

KALAMPALIKIS Nikos - JE 2408 - Université LYON 2 - BRON

[Retour tableau](#)

Résumé

Explorer les informations, représentation, valeurs et normes qui, orientent chez les hommes et les femmes les prises de positions relatives à la question sensible de l'anonymat du donneur lors du recours l'assistance médicale à la procréation avec don de sperme (AMP-D).

Le questionnaire, l'entretien individuel et l'entretien collectif (focus groups) sont les trois techniques préconisées pour traiter, pour la première, le statut de l'anonymat du donneur (n=2000 couples lors de la 1ère demande), pour les deux autres, le vécu du donneur (n=50 donneurs) et les représentations de la parentalité (n=50 sujets de typologie familiale variable). Ces méthodes permettront d'établir les niveaux d'information, de dégager les systèmes de représentations et pratiques mis en jeu dans les positions adoptées vis-à-vis de l'AMP-D, mais aussi de mettre en évidence les aspects conflictuels des attitudes mobilisées et les argumentaires qui régissent ou justifient les prises de position. Résultats : Il est attendu des résultats de cette recherche qu'ils servent, principalement, de base permettant d'inventorier les raisons qui plaident pour ou contre l'abandon de l'anonymat du donneur et de dresser des profils d'attitudes dont on étudiera la distribution, au sein d'un large échantillon, selon des variables socio-démographiques. Grâce à la collaboration de recherche établie avec la Fédération Française des CECOS, nous avons la possibilité d'avoir accès à un échantillon représentatif de la population française. Sans préjuger des motifs, bioéthiques et légaux, qui peuvent orienter les politiques de santé dans le sens d'un encouragement ou d'une imposition de l'accès aux informations concernant l'identité(s) de(s) donneur(s), dans le cadre de cette technique spécifique de procréation, il est loisible de penser que nos résultats pourront également être utilisés pour l'établissement de programmes d'information et d'argumentaires destinés à mettre en évidence les enjeux sociétaux de ces politiques.

Résultats

Kalampalikis, N., V. Haas, N. Fieulaine, M. Doumergue, G. Deschamps, et H. Chiron. 2010. « Enjeux psychosociaux du don de sperme: le point de vue des couples ». *Basic and Clinical Andrology* 20 (1): 37.

Kalampalikis, Nikos, Marjolaine Doumergue, Valérie Haas, et Nicolas Fieulaine. 2012. « Enjeux bioéthiques et psychosociaux du don de sperme. Une recherche nationale ». *Carnets du GRePS* 4 (janvier): 20-25.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Assistance médicale à la procréation et risque d'anomalies congénitales: étude en population.

KHOSHNOOD Babak - INSERM U149 - VILLEJUIF

[Retour tableau](#)

Résumé

L'objectif principal de ce projet est d'estimer le risque de différentes anomalies congénitales associé à différentes méthodes d'AMP dans la population parisienne.

Méthodes : La principale source de données provient du registre des malformations congénitales de Paris. La population d'étude comprendra les femmes qui résident dans Paris et la Petite Couronne et accouchent ou ont une interruption de grossesse dans les maternités parisiennes (environ 38.000 naissances annuelles). Actuellement toutes les anomalies congénitales sont incluses pour la période 1987-2007. La variable principale à expliquer est le risque de certaines anomalies spécifiques notamment les anomalies de fermeture du tube neural (anencéphalie, spina bifida), les cardiopathies congénitales (incluant des sous-groupes et des cardiopathies majeures spécifiques isolées), les anomalies gastro-intestinales (analyse séparée pour l'atrésie de l'œsophage) et les anomalies génito-urinaires (en particulier hypospadias et agénésie rénale). Les traitements de l'infertilité (la variable prédictive principale) sont considérés en quatre catégories : aucune, inducteurs seuls, FIV, et ICSI. Les variables considérées comme facteurs de confusion potentiels ou d'interaction incluront l'âge maternel, la profession et l'origine géographique de la mère. Une étude cas-témoin est menée pour évaluer le risque d'anomalies congénitales en relation avec l'AMP. Nous utilisons un groupe de témoins malformés qui incluent des malformations hétérogènes qui ne sont pas a priori associées avec l'AMP (selon les données disponibles dans la littérature).

Résultats attendus : Vu le peu de données sur le risque d'anomalies congénitales spécifiques en relation avec l'exposition à l'AMP en France, notre étude peut fournir des informations sur le risque associé à l'AMP qu'il serait difficile (et même impossible) d'obtenir dans une étude de type cohorte, étant donné les moyens nécessaires pour étudier de tels devenir rares. Ces résultats seront donc complémentaires à ceux des études de cohorte en cours en France.

Résultats

Tararbit, K., L. Houyel, D. Bonnet, C. De Vigan, N. Lelong, F. Goffinet, et B. Khoshnood. 2011. « Risk of Congenital Heart Defects Associated with Assisted Reproductive Technologies: A Population-Based Evaluation ». *European Heart Journal* 32 (4): 500-508.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Les nouvelles technologies de l'AMP et la qualité des ovocytes: aspect épigénétique, analyse de la méthylation de l'ADN et du profil des histones.

LEFEVRE Annick - UMR INSERM 418/ Inra 1245/ UCBL 21 - Hôpital Debrousse- LYON

[Retour tableau](#)

Résumé

Les nouvelles technologies de l'AMP et la qualité des gamètes : évaluation de l'épigénome Les technologies les plus récentes de l'AMP, maturation in vitro des ovocytes (MIV) et greffe orthotopique de tissu ovarien cryopréservé, mettent en jeu la genèse même des gamètes, et soulèvent la question de la qualité des ovocytes obtenus. Or, des informations récentes suggèrent que des pathologies liées à des anomalies de l'empreinte parentale sont plus fréquentes chez les enfants nés via l'AMP comparés à la population générale. L'ovogenèse est le siège d'importantes modifications épigénétiques qui permettent à l'ovocyte d'acquérir sa capacité fécondante et développementale, ainsi qu'une « information maternelle » transmissible au zygote. Que ce soit la culture in vitro dans le cas de la MIV, ou l'emploi de cryoprotecteurs dans le cas de la cryopréservation de l'ovaire, ces deux technologies modifient l'environnement de l'ovocyte pendant une période de sa formation où son épigénome est reprogrammé. Il nous a donc paru essentiel, afin d'apprécier le degré de sécurité offert par ces nouvelles technologies, d'évaluer leur impact au niveau de l'épigénome ovocytaire, dans deux modèles, A – la MIV chez la femme, B – la greffe d'ovaire cryopréservé chez la brebis. Nous évaluerons – la méthylation différentielle des gènes soumis à empreinte parentale, par la technique de mutagenèse de l'ADN par le bisulfite de sodium – le code histone par immunofluorescence avec des anticorps dirigés contre les différentes lysines des histones H3 et H4 acétylées et de l'histone H3 méthylée, dans les ovocytes prélevées à différents stades de leur différenciation.

A – la MIV permet à des ovocytes immatures prélevés au stade vésicule germinative (VG) au cours de cycles naturels d'atteindre le stade Métaphase II (MII) afin d'être fécondables. Elle est une alternative intéressante lorsqu'une hyperstimulation n'est pas possible. L'analyse comparative de l'épigénome d'ovocytes bloquées aux stades VG et MI après MIV, ou issus de cycles stimulés, mais immatures le jour du recueil (donc non fécondables) et prélevés après culture aux stades VG, MI ou MII nous permettra d'évaluer l'impact de la culture et/ou de la stimulation hormonale sur l'épigénome.

B - L'ovaire est très sensible aux traitements cytotoxiques, et la cryopréservation du tissu ovarien est une alternative prometteuse pour préserver la fertilité de patientes devant subir un traitement anticancéreux. Notre équipe, après avoir obtenu les premières naissances chez un grand mammifère après congélation et autogreffe de tissu ovarien chez la brebis (2002), s'attache maintenant à : 1 - développer un protocole de vitrification de l'ovaire entier, afin d'améliorer les conditions de préservation du tissu ovarien, 2 - développer une technique de transplantation ovarienne orthotopique, pour permettre une meilleure reprise du transplant et garantir une reprise de la fonction ovarienne avec obtention de grossesses. L'épigénome sera analysé de façon comparative sur des ovocytes issus de follicules primordiaux, primaires, secondaires et antraux prélevés sur des brebis à l'abattoir, ou ayant eu une greffe de tissu ovarien cryopréservé, après reprise de l'ovogenèse dans le greffon. Ceci nous permettra d'évaluer l'impact de différents procédés de cryopréservation et du protocole de transplantation sur la qualité des ovocytes générés. Notre but est dans les deux cas de définir un protocole fiable avant de banaliser leur usage en clinique.

Résultats

Khoureiry, R, S Ibala-Rhomdane, L Mery, T Blachere, J-F Guerin, J Lornage, et A Lefevre. 2008. « Dynamic CpG Methylation of the KCNQ1OT1 Gene during Maturation of Human Oocytes ». Journal of Medical Genetics 45 (9): 583-88.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Les échecs en fécondation in vitro: Prise en charge et conséquences pour les couples.

PARINAUD Jean - Laboratoire de Biologie de la reproduction - Hôpital Paule de Viguier -TOULOUSE

[Retour tableau](#)

Résumé

Cette recherche a pour objectif d'étudier le devenir des couples confrontés à l'échec de FIV et de dégager des éléments permettant d'améliorer leur prise en charge. Pour ce faire, nous avons décidé d'entreprendre une étude auprès de trente femmes devant bénéficier d'une dernière tentative de FIV et de revoir 6 mois après celles qui auront été confrontées à un échec. Cette étude, menée selon une approche socio-anthropologique, s'attachera à retracer les parcours d'infertilité de ces femmes et à comprendre les impacts de la FIV sur leur couple. Il s'agira notamment d'étudier le contexte et les modalités d'arrêt du traitement, de la prise en charge et de l'accompagnement des couples tout au long de leur parcours. Un travail d'observation et d'entretiens menés auprès des personnels médicaux du service d'aide médicale à la procréation (AMP) du CHU de Toulouse viendra compléter l'enquête réalisée auprès des femmes. L'étude s'attachera à décrire toutes les étapes de la prise en charge de l'infertilité et particulièrement le vécu et la gestion des situations d'échec par les femmes et par l'équipe médicale. La question de l'échec sera appréhendée à différents niveaux :

- D'un point de vue global, en analysant le retentissement de la décision d'arrêt définitif du traitement qui vient d'être prise et laisse les femmes à nouveau face à leur infertilité (et l'équipe médicale souvent fort démunie face à la détresse de ses patientes).

- D'un point de vue plus diachronique, en retraçant avec chaque femme, la succession d'échecs auxquels elle a été confrontée et la manière dont elle les a vécus ainsi que les moments où elle s'est trouvée en situation de décider de poursuivre ou non le traitement.

Une attention particulière sera portée à l'information et au soutien, apportés au couple aux différentes étapes du traitement, ainsi qu'aux modalités de cours au soutien psychologique proposé dans le service ou à l'extérieur. Cette approche s'appuie sur une démarche qualitative de type socioanthropologique basée sur la réalisation d'entretiens approfondis et l'observation de situations.

a) Enquête auprès de 30 femmes lors d'une dernière tentative : trente femmes en cours de traitement seront recrutées au sein du service d'AMP de l'hôpital Paule de Viguier à Toulouse. Le premier entretien se déroulera avant la réalisation d'une dernière tentative. Un second entretien sera programmé 6 mois après la tentative.

b) Enquête auprès de l'équipe médicale : il s'agit de rencontrer tous les personnels hospitaliers qui sont en contact avec les couples pendant le traitement : gynécologues, biologistes, sages-femmes, secrétaire médicale, ainsi que des gynécologues de ville et les psychologues présents dans le service. L'ensemble représente environ 15 personnes.

Résultats attendus : i) Obtenir des éléments de connaissances sur les conceptions et les stratégies des couples face à l'infertilité et à ses traitements ; ii) Comprendre les pratiques de personnels de santé face à la prise en charge des patients infertiles et leur gestion de l'échec des traitements. Comprendre les processus de décision médicale dans leur complexité. ; iii) dépasser les expériences singulières pour dégager des pistes théoriques et pratiques qui permettront d'améliorer la prise en charge des couples infertiles

Résultats

Ferreira, Magali, Emeline Teillet Sanchez, Nicolas Gatimel, Carole Fajau, Florence Lesourd, Louis Bujan, Roger Mieuxset, Jean Parinaud, et Roger Leandri. 2016. « Parenthood and separation in couples 6 years after their first infertility consultation ». European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 198 (mars): 7-11.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Impact des ICSI avec sperme testiculaire sur la qualité des enfants conçus.

POULY Jean-Luc - Association FIVNAT - Hôpital Bicêtre - Le KREMLIN-BICETRE

[Retour tableau](#)

Résumé

Cette étude vise à étudier l'état des enfants nés après fécondation in vitro avec micro-injection et utilisations de sperme testiculaire. Le risque malformatif pour les enfants à naître après cette méthode est controversé. Une étude préalable de FIVNAT relevait un doublement du risque d'anomalies chromosomiques majeures par rapport aux ICSI avec sperme éjaculé. Les études publiées, portant sur de petites séries, ont des résultats contradictoires. Pour apporter une réponse claire, il est nécessaire de disposer d'un grand nombre de cas grâce à une étude multicentrique. Le registre FIVNAT qui couvre une part importante des centres français d'AMP peut le permettre. L'étude proposée est une étude de cohorte rétrospective exposé / non exposé. Le groupe exposé comprendra des grossesses obtenues à partir de spermatozoïdes testiculaires, que le transfert embryonnaire ait été fait lors du cycle de ponction ou avec des embryons congelés (TEC), que les spermatozoïdes aient été utilisés lors du cycle où ils ont été prélevés ou après avoir été congelés. Trois groupes témoins seront constitués : ICSI avec sperme épидидymaire, ICSI avec sperme éjaculé, FIV classique. L'inclusion concernera toutes les grossesses obtenues réalisées avec le sperme du conjoint dans les centres français participant à Fivnat (80%) sur les 5 dernières années analysables et sur l'année en cours. Elle inclura les grossesses obtenues quelle que soit leur terminaison. Les variables expliquées principales seront le taux d'anomalies congénitales total, et en séparant les malformations, les anomalies génétiques (anomalies chromosomiques et maladies génétiques). Les malformations incluront celles des avortements spontanés (FCS) et des interruptions médicales de grossesse (IMG). L'étude analysera aussi les taux de FCS et d'IMG, les principales pathologies de la grossesse et l'état de l'enfant à la naissance : terme, prématurité, poids, hypotrophie, mortalité prénatale. Le nombre de sujets nécessaires pour mettre en évidence un doublement du taux de malformations (de 3% à 6%) est de 400 exposés et de 10 000 témoins, soit l'activité de Fivnat en 5 ans. L'étude sera réalisée à partir des questionnaires Fivnat (information sur les couples, les cycles de ponction, de TEC et sur les grossesses) et d'un questionnaire complémentaire sur l'azoospermie. Les données seront codées et vérifiées par des techniciens d'enquête, mises sur support informatique et analysées avec le logiciel SAS. L'analyse comparera le groupe exposé avec les 3 groupes témoins et prendra en compte les principaux facteurs de confusion (âge, infertilité, qualité du sperme, etc.). Elle utilisera des méthodes univariées et multivariées (régression logistique, analyse de variance – covariance) adaptées à la nature des variables analysées. L'enquête Fivnat est autorisée par le CNIL. Elle est réalisée en collaboration entre les professionnels de l'AMP (association Fivnat) et l'équipe de reproduction humaine de l'unité INSERM U569.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

La sélection des spermatozoïdes à fort grossissement permet elle une diminution de la fréquence des aneuploïdies par FISH?

SELVA Jacqueline - Laboratoire d'histologie, embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale - CHI Poissy Saint Germain

[Retour tableau](#)

Résumé

Notre objectif est de montrer si la sélection des spermatozoïdes, à très fort grossissement, par la méthode proposée par Bartoov (Bartoov, Berkovitz et al. 2003), s'accompagne ou non d'une diminution des taux d'aneuploïdies spermatiques parmi les spermatozoïdes sélectionnés. Une diminution du taux d'aneuploïdies spermatiques pourrait expliquer l'augmentation du taux de succès de l'ICSI après une telle sélection morphologique des spermatozoïdes dans certaines situations d'échec d'ICSI classique. Notre étude sera ciblée sur une population d'hommes à fort taux d'aneuploïdies spermatiques :

Groupe 1 : échec d'implantation (plus de 10 embryons transférés sans grossesse) avec des taux d'aneuploïdie spermatique (avec les sondes des chromosomes X, Y et 18) supérieurs à 5% sur sperme entier. Groupe 2 : patients porteurs de translocations équilibrées.

Nous allons donc sélectionner dans un premier lieu les spermatozoïdes à l'aide d'un grossissement X200 (classiquement utilisé en ICSI) puis à l'aide d'un grossissement X10000. Dans un second temps nous allons analyser par FISH des spermatozoïdes avant sélection et sélectionnés par l'une ou l'autre méthode. Un minimum de 100 spermatozoïdes seront analysés après sélection. Nous utiliserons les sondes spécifiques de la translocation pour les patients porteurs de translocation et les sondes des chromosomes X, Y, 13, 18 et 21 pour les 2 groupes de patients.

Résultats

Chelli, Mohamed Hassen, Fatma Ferfour, Florence Boitrelle, Martine Albert, Denise Molina-Gomes, Jacqueline Selva, et François Vialard. 2013. « High-magnification sperm selection does not decrease the aneuploidy rate in patients who are heterozygous for reciprocal translocations ». Journal of Assisted Reproduction and Genetics 30 (4): 525-30.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Augmentation des taux de fécondation en FIV par l'utilisation d'un peptide reproduisant le site de liaison de la fertiline.

WOLF Jean Philippe - Laboratoire de biologie de la reproduction - Hôpital Verdier AP-HP - BONDY

[Retour tableau](#)

Résumé

La fécondation de l'ovocyte résulte de sa fusion avec un spermatozoïde. Des complexes moléculaires sont impliqués dans la réalisation de toutes ces étapes. En AMP, des échecs de fécondation surviennent dans 10% des tentatives et le recours aux techniques de microinjection (ICSI) sont très fréquents. Elles court-circuitent toutefois les étapes de l'interaction normale entre les gamètes, ce qui est susceptible d'entraîner des altérations du métabolisme embryonnaire et de l'empreinte génomique. La recherche fondamentale sur les mécanismes moléculaires de l'interaction gamétique a abouti à la découverte d'un système de reconnaissance et d'adhésion de type ligand-récepteur entre les gamètes. Des molécules de la famille des intégrines, $\alpha 6\beta 1$ et $\alpha v\beta 3$ ont été découvertes sur l'ovocyte et le spermatozoïde et leurs ligands putatifs, la fertiline β et le tripeptide RGD ont également été mis en évidence à leur surface (Ziyyat et al., soumis à JCS). Le site de fixation du domaine disintégrine de la fertiline β a été synthétisé sous une forme cyclique reproduisant sa conformation spatiale naturelle (Brevet Université Paris 13 / CNRS ; (Ziyyat et al., 2005)). La supplémentation des milieux de culture avec ce peptide au cours d'études chez la souris et sur des ovocytes humains, non fécondés au cours de FIV, ont montré respectivement une augmentation des taux et des index de fécondation. Toutefois, le mécanisme moléculaire de cette stimulation n'est pas connu. Nous proposons de faire une étude en deux parties, d'analyses expérimentales et de recherche cliniques.

Première partie expérimentale : La présence de l'intégrine $6\beta 1$ sur les membranes de 2 gamètes suggère que l'effet du peptide peut être aussi bien ovocytaire que spermatique. Nous analyserons donc son effet sur les paramètres fonctionnels de deux gamètes. Cette partie de l'étude sera menée chez la souris et dans l'espèce humaine. Chez la souris, nous testerons aussi la molécule en FIV, seule ou en association avec le peptide RGD qui, lui, est un inhibiteur de la fusion gamétique. Nous évaluerons surtout la qualité des embryons et des progénitures obtenues après transfert embryonnaires chez la souris pseudogestante. Les souris issues du groupe traité seront comparées à celles issues du groupe témoin jusqu'à la 3ème génération.

Deuxième partie de recherche clinique : En l'absence d'anomalie pendant la première partie, elle consistera en une étude prospective randomisée sur l'utilisation de ce peptide en FIV humaine. Elle sera menée en deux temps. Dans une première étape, les ovocytes de chaque cohorte ovocytaire seront répartis en deux groupes dont l'un sera inséminé en présence du peptide FEEc $100\mu M$, alors que l'autre servira de groupe témoin. Les taux de fécondation ainsi que la qualité embryonnaire seront analysés. Une évaluation des taux de grossesse, de fausse couche spontanée et d'enfants nés sera faite dans chacun des groupes de transfert homogène. Si cette seconde étape donne des résultats satisfaisants, une nouvelle analyse sera entreprise avec randomisation des cohortes entières dans chaque groupe traité et témoin. L'équivalence des données démographiques (âge, parité, ...) et des indications d'AMP sera respectée dans chaque groupe. Ces études feront partie des études dites « loi Huriet » et leurs protocoles sont soumis à un CCPPRB. Une autorisation d'utilisation du produit est en cours auprès de l'AFSSAPS.

Résultats

Barraud-Lange, Virginie, Nathalie Naud-Barriant, Béatrice Ducot, Stéphane Chambris, Morgane Bomsel, Jean-Philippe Wolf, et Ahmed Ziyat. 2009. « Cyclic QDE peptide increases fertilization rates and provides healthy pups in mouse ». Fertility and Sterility, Reproductive Biology, 91 (5, Supplement): 2110-15.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Centre de Ressources Biologiques des Gamètes et Cellules Germinales pour la Recherche en Reproduction Humaine GERMETHEQUE

BUJAN Louis - Equipe d'accueil 3694 UPS

CECOS Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Bien que la stérilité représente un problème de santé publique, les causes des altérations de la spermatogenèse et les conséquences de celles-ci sur le génome du gamète mâle sont peu documentées. Des causes génétiques, environnementales, infectieuses ont pu être mises en évidence mais de nombreuses questions restent posées. Par ailleurs les effets de certains traitements sur le génome du gamète mâle ainsi que les conséquences sur le développement embryonnaire méritent d'être explorés chez l'homme. C'est dans ce contexte que le Centre de Ressources Biologiques CRB est mis en place au sein de cinq CECOS (Centre d'Etudes et Conservation des Œufs et du Sperme humain). Ce CRB s'appuie actuellement sur 7 projets de recherche subventionnés par des programmes nationaux ou régionaux dans les domaines suivants :

1) effets de certains traitements (chimiothérapies et ou radiothérapies, antirétroviraux) et irradiation (I131) sur le génome du spermatozoïde, 2) recherche des causes génétiques de l'altération de la spermatogenèse, 3) étude de l'aneuploïdie du spermatozoïde chez l'homme présentant une oligospermie sévère ou porteur de translocation chromosomique, 4) étude de la méiose et des gènes impliqués, 5) étude de la chromatine du gamète mâle et expression des gènes. L'objectif de ce CRB est de réaliser une collection du gamète mâle, de cellules ou tissu germinaux et d'ADN. La mise en place du CRB basé sur le savoir faire des CECOS en termes de congélation, stockage, traçabilité, permettra un recueil, un conditionnement, un stockage optimal des échantillons qui seront enregistrés dans une base accessible sur le net. La collection sera ouverte aux équipes scientifiques œuvrant dans les thématiques abordées ci-dessus. A long terme, les perspectives sont : 1) d'accueillir davantage de centres permettant un recrutement plus large, 2) d'ouvrir la collection au gamète féminin, l'ovaire cédé pour la recherche en accord avec la législation, 3) de permettre des projets de recherche de qualité sur la gamétogenèse et également à partir des tissus germinaux sur les cellules souches. Ce CRB en réseau dont l'origine se base sur le savoir faire des CECOS n'a pas d'équivalent en France et à notre connaissance au niveau international ce qui probablement permettra une optimisation de sa valorisation. Il est évident que ce CRB sera également ouvert à toutes les équipes d'AMP qui d'une part pourront alimenter la collection et d'autre part valoriser par la recherche bioclinique la collection et donc faire progresser la prise en charge des patients

Résultats

Walschaerts, M., L. Bujan, F. Isus, J. Parinaud, R. Mieuxset, et P. Thonneau. 2012. « Cumulative Parenthood Rates in 1735 Couples: Impact of Male Factor Infertility ». Human Reproduction 27 (4): 1184-90.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Droit, éthique et religion: quelles normes pour l'AMP

FEUILLET-LE MINTIER Brigitte - Institut de l'Ouest : Droit et Europe (IODE)

Université Rennes 1

[Retour tableau](#)

Résumé

Problématique : Quelles normes régissent l'assistance médicale à la procréation (AMP) ? Cette question que nous proposons d'étudier est au cœur de la réflexion sur les enjeux de l'assistance médicale à la procréation. En effet, l'AMP permet à un couple infertile d'avoir un enfant et, de ce fait, touche à la vie intime du couple. Cette pratique est liée à la procréation et à la filiation dans la mesure où l'enfant issu de cette aide médicale pourra avoir une parenté juridique en décalage avec la réalité de sa filiation biologique. Il nous a donc semblé intéressant de voir quelles normes régissent cette AMP pratiquée dans de nombreux pays? Si le Droit est aujourd'hui au cœur du dispositif, d'autres normes interfèrent. Le caractère intime de cette pratique conduit à conférer un rôle à l'éthique et à la religion. Le lien indéniable entre l'assistance médicale à la procréation et la vie personnelle et familiale du couple démontre en quoi cette pratique médicale est un champ d'observation privilégié pour étudier les normes qui dictent les comportements aux couples (normes juridiques, éthiques et religieuses) et pour cerner l'importance de ces normes complémentaires ou concurrentes ?

Objectifs : L'étude proposée s'effectuera à deux niveaux. En premier lieu, elle aura pour objectif de mesurer l'impact des normes religieuses et éthiques sur l'élaboration de la norme juridique. La procréation médicalement assistée étant aujourd'hui admise dans de nombreux pays, ce projet envisage de mener une réflexion théorique dans plusieurs états représentatifs des grandes religions (France, Italie, Grèce, Suède, Tunisie, Israël) et d'avoir une approche pragmatique de ce sujet sur la France. En effet, si la France est un Etat laïc et, à ce titre, ne laisse a priori que peu de place à la religion et si l'éthique n'est pas en principe normative, un examen approfondi des travaux préparatoires des lois relatives à l'assistance médicale à la procréation devrait nous démontrer la portée réelle de ces constats. Le travail consistera à étudier la place donnée aux communautés religieuses ou aux instances productrices d'éthique dans l'élaboration de la loi, mais aussi à essayer de détecter l'influence que peuvent avoir les opinions religieuses ou l'éthique personnelle des parlementaires sur les choix législatifs...En second lieu, l'étude portera sur l'influence des normes religieuses et éthiques sur la pratique individuelle. Lorsque le couple recourt à l'assistance médicale à la procréation, qu'est ce qui dicte réellement son comportement ou les choix qui lui sont proposés ? Certes, en vertu du principe de laïcité retenu par le droit français, la norme juridique prévaut sur toute autre norme. Pour autant, il n'en demeure pas moins que le droit est confronté à ce corps de règles informelles (éthiques, religieuses) qui est amené à jouer un rôle en pratique. Une étude de terrain sera réalisée en Tunisie et en France.

Méthodologie et résultats : Cette étude impose l'accomplissement de trois missions : les enquêtes de terrain, les prises de contact avec les spécialistes de ces questions dans les pays visés par le projet, la préparation du colloque et sa publication

- A ce titre, deux types d'enquête seront menés.

La première enquête concerne l'étude des influences de la religion et l'éthique sur l'élaboration de la loi. Elle implique un dépouillement des travaux préparatoires des lois de bioéthique (29 juillet 1994 et 6 août 2004) sur les questions liées à l'assistance médicale à la procréation. Ce travail devrait permettre de voir le rôle officiel joué par les instances religieuses (ex: représentants des mouvements religieux....) et les instances productrices de normes (ex : Comité National Consultatif d'Ethique). De plus, afin d'essayer de

percevoir l'influence indirecte que ces normes peuvent jouer, l'étude consistera à dépouiller les travaux préparatoires de ces lois pour repérer les parlementaires qui se sont particulièrement investis sur des sujets sensibles (accès à ces pratiques limité aux seuls couples et difficulté de l'homoparentalité, maternité de substitution, diagnostic préimplantatoire, sort des embryons congelés, utilisation des cellules souches embryonnaires...). En effet, compte tenu du domaine d'intervention de ces problématiques (famille, couple, filiation) les opinions exprimées sur ces sujets tiennent souvent aux convictions individuelles. En conséquence, une audition de ces personnes sur les raisons et les implications de leurs opinions sera ensuite effectuée de telle manière qu'elle permette une approche identique des parlementaires. Ce travail ne sera réalisé qu'en France.

La seconde enquête sera relative aux couples ayant recours à une aide médicale à la procréation. Elle prendra la forme de questionnaires qui vont être construits en collaboration avec le milieu médical, et plus particulièrement avec deux services d'aide médicale à la procréation : celui du Professeur Frydman (Paris) et celui du Docteur Colleu (Clinique de la Sagesse à Rennes), avant d'être adressés à l'ensemble des Centres d'aide médicale à la procréation en France. Ce questionnaire sera ensuite adapté à la pratique réalisée en Tunisie afin d'être adressé à des centres de PMA dans ce pays. - Déroulement

L'élaboration des divers questionnaires, leur tirage, leur envoi, le recensement et l'exploitation de l'ensemble des résultats se réalisera du 1^{er} janvier 2007 au 31 décembre 2008.

La première année sera consacrée, pour la première enquête, au dépouillement des travaux préparatoires des lois bioéthiques, et pour la seconde enquête, à l'élaboration des questionnaires, à leur frappe, leur envoi à tous les centres d'assistance médicale à la procréation, à l'établissement de contacts avec des chercheurs étrangers spécialistes de ces questions. Une seconde année sera nécessaire à l'audition des parlementaires, à la réception des questionnaires envoyés aux centres d'aide médicale à la procréation et à l'exploitation de l'ensemble de ces données. Les travaux scientifiques issus de cette recherche menée sur 24 mois donneront lieu, fin 2008, à l'organisation d'un colloque international traitant du sujet : Droit, Ethique et Religion, le rôle de ces normes à travers l'assistance médicale à la procréation. L'objectif est de rapprocher les propos théoriques, d'une approche pragmatique de ces questions grâce à l'important travail de terrain réalisé. Les actes de cette manifestation consacrée à l'interaction entre, d'une part, la religion, l'éthique, et d'autre part, le droit de la biomédecine et le droit de la famille, vu sous le prisme de la procréation médicalement assistée, seront publiés.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Quelle décision prendre face à ses embryons congelés? Enjeux psychologiques et éthiques des couples détenteurs

FLIS TREVE Muriel - Service de Gynécologie Obstétrique - Hôpital Antoine Bécclère -Clamart

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Mise en lumière des problèmes psychiques et éthiques des couples détenteurs d'embryons congelés face à leurs choix : recherche, don, expérimentation ou conservation, autorisés par la loi de bioéthique.

Résultats attendus : En fonction des réponses et des vœux des couples, déterminer de nouveaux critères éthiques prenant en compte les considérations psychologiques afin de tenter de mettre un terme à un trop grand stockage d'embryons congelés. Ceci en aidant les couples à prendre une décision les concernant.

Méthodologie : Sur la base d'un questionnaire élaboré par l'équipe de recherche, les couples possédant des embryons congelés depuis trois ans seront interviewés par une psychologue formée à la PMA, soit à l'hôpital, soit à domicile soit exceptionnellement par téléphone. Nous comparerons les couples avec enfants, et sans enfant. Nous souhaiterions atteindre au minimum une population de cent couples. Nous interrogerons ces même couples un an plus tard avec à l'appui une échelle de dépression, une échelle de stress et une échelle de qualité de vie.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Préservation du capital ovocytaire, survie d'une greffe, vitrification d'ovaires entiers

LORNAGE Jacqueline - Service de Médecine de la Reproduction -Hôpital Herriot -Lyon

[Retour tableau](#)

Résumé

L'ovaire est très sensible aux traitements cytotoxiques comme la chimio- ou radiothérapie. La cryoconservation du tissu ovarien est une alternative prometteuse pour préserver la fertilité de ces patientes présentant une défaillance ovarienne prématurée. Notre équipe a obtenu les premières naissances chez un grand mammifère après congélation et autogreffe de tissu ovarien chez la brebis en utilisant une technique lente de congélation (2002). Nous nous proposons maintenant 1- de développer un protocole de vitrification de l'ovaire entier, afin d'améliorer les conditions de transplantation ovarienne. 2- de développer une technique de transplantation d'ovaire entier par anastomose vasculaire dans le but de restaurer une fertilité spontanée. 3- d'évaluer la qualité des ovocytes obtenus en appréciant l'acquisition de l'empreinte parentale par mesure du niveau de méthylation de différents gènes soumis à empreinte, à différentes étapes de la folliculogénèse après reprise de celle-ci dans le greffon. L'application à l'homme repose à l'évidence sur une démarche qualité élaborée d'abord dans un modèle animal.

Dans une première partie des travaux deux nouvelles solutions de vitrification : VM3 et M22 ayant des propriétés cryogéniques intéressantes seront utilisées. Ces solutions contiennent des molécules « ice blockers » appelées Supercool X-1000 et Supercool Z-1000, qui diminuent les vitesses de refroidissement et de réchauffement, elles sont moins toxiques sur le rein que les solutions précédentes VS4 et VS41A selon Fahy et al. Les paramètres thermiques des solutions de vitrification et du tissu ovarien imprégné par ces solutions seront étudiées par calorimétrie différentielle en utilisant un calorimètre différentiel DSC7 de Perkin-Elmer Parallèlement nous étudierons la toxicité de ces solutions sur l'ovaire de brebis perfusé. Puis une fois les paramètres chimiques déterminés et la toxicité évaluée, les ovaires entiers avec leur pédicule vasculaire seront vitrifiés puis dévitrifiés afin d'apprécier la qualité du tissu par test de viabilité des follicules par coloration au bleu trypan, étude morphologique, étude de la fragmentation d'ADN par technique TUNEL et par dosages de la lactate déshydrogénase.

Dans une seconde partie de nos travaux, nous réaliserons la greffe orthotopique de l'ovaire entier avec son pédicule vasculaire et nous suivrons la reprise de la fonction ovarienne dans le greffon et l'obtention de gestations, chez la brebis. Les chirurgies seront pratiquées à l'institut Bourgelat au sein de l'école vétérinaire. Nous évaluerons l'impact de ces techniques de vitrification (qualité des ovocytes et des nouveau-nés) sur l'épigénome ovocytaire. Nous avons développé une collaboration avec un groupe de travail pour mettre en commun nos compétences sur les techniques de greffes et l'étude de l'épigénome.

Résultats

Courbiere, Blandine, Ludovic Caquant, Claire Mazoyer, Michel Franck, Jacqueline Lornage, et Bruno Salle. 2009. « Difficulties Improving Ovarian Functional Recovery by Microvascular Transplantation and Whole Ovary Vitrification ». *Fertility and Sterility* 91 (6): 2697-2706.

Torre, A., F. Ben Brahim, T. Popowski, R. Boudjenah, B. Salle, et J. Lornage. 2013. « Factors Related to Unstained Areas in Whole Ewe Ovaries Perfused with a Metabolic Marker ». *Human Reproduction* 28 (2): 423-29.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Quel devenir pour les embryons congelés issus d'AMP? Etude des motivations des couples.

MANDELBAUM Jacqueline - Service d'Histologie, biologie et cytogénétique - CECOS - Hôpital Tenon

[Retour tableau](#)

Résumé

L'existence d'embryons congelés est peut-être transitoire si les progrès de la fécondation in vitro permettent d'éviter la constitution d'embryons en surnombre. Il n'en demeure pas moins qu'une situation très inédite au regard de l'histoire de la reproduction humaine est ainsi apparue, dont la complexité des enjeux devient saisissante dès lors que ces embryons congelés ne sont plus intégrés dans le projet parental du couple qui en est à l'origine.

En fait, les embryons cryoconservés surnuméraires d'AMP sont majoritairement utilisés par les couples dont ils sont issus pour un transfert intra-conjugal. Lorsqu'il n'y a plus de projet parental, le couple peut alors choisir le devenir de ces embryons dans le cadre législatif français actuel qui comprend la destruction, le don à la recherche ou l'accueil d'embryons. L'accueil d'embryons se développe depuis peu en France et grossesses et naissances ont déjà été rapportées.

Objectif principal : décrire et analyser les motivations à l'origine du choix des couples et en particulier des couples donneurs dans le cadre de cette nouvelle AMP qu'est l'accueil d'embryons. Objectifs secondaires : évaluer les risques psychiques ultérieurs éventuels entraînés par ces choix pour les couples. Elargir l'investigation aux aspects juridiques et anthropologiques soulevés par l'existence des embryons congelés et leur devenir hors projet parental. Critères d'inclusion dans l'étude : couples pris en charge en AMP, n'ayant plus de projet parental et disposant encore d'embryons surnuméraires congelés.

Population étudiée : quatre cents personnes seront interrogées sur leur représentation de l'embryon.

Population principale : 180 couples infertiles pris en charge en AMP (360 personnes).

Population annexe : Deux représentants de chacune des différentes disciplines professionnelles dans chacun des centres seront également interrogés (40 personnes). Source de recrutement : deux centres d'AMP hospitalo-universitaires (GHU-Est) et un centre privé de l'Est parisien. Résultats attendus : cette étude devrait permettre de définir pour les couples, à tous les stades de la procédure d'AMP, les modes de présentation optimale du devenir des embryons congelés et de gérer au mieux le don à la recherche et l'accueil d'embryon. A l'issue de ce travail, une brochure d'information aux couples sera éditée.

Résultats

Bruno, C., C. Dudkiewicz-Sibony, I. Berthaut, E. Weil, L. Brunet, C. Fortier, J. Pfeffer, et al. 2016. « Survey of 243 ART Patients Having Made a Final Disposition Decision about Their Surplus Cryopreserved Embryos: The Crucial Role of Symbolic Embryo Representation ». Human Reproduction

Poster

Appel d'Offres

« AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique »

Étude des motivations des couples en fin de projet parental sur le devenir de leurs embryons congelés

Bruno C¹, Sibony C¹, Weil E¹, Berthaut I¹, Fortier C¹, Brunet L¹, Antoine JM², Mathieu E², de Larouzière V¹, Pfeffer J³, Ravel C¹ et Mandelbaum J¹

¹Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction / CECOS, Hôpital Tenon (APHP), 4 rue de la Chine, 75020 PARIS, APHP/Paris 6 UPMC.
²Service de Gynéco-Obstétrique et Médecine de la Reproduction, Hôpital Tenon. ³Clinique de la Dhuis, 93 170 Bagnolef

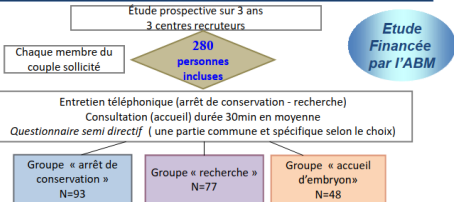
Introduction

L'existence d'embryons congelés a créé une situation très inédite au regard de l'histoire de la reproduction humaine. **Lorsqu'il n'y a plus de projet parental, le couple peut choisir le devenir de ces embryons dans le cadre législatif français actuel qui comprend la destruction, le don à la recherche ou l'accueil d'embryons.**

Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est d'évaluer les motifs qui président au choix du devenir des embryons congelés issus d'AMP. **Des entretiens réalisés avec des couples n'ayant plus de projet parental et ayant fait un choix définitif concernant le devenir de leurs embryons congelés constituent l'originalité de ce travail.**

Méthodologie



Représentation de l'embryon

représentation de l'embryon	arrêt de conservation	recherche	accueil
chose	1 (1.1%)	1 (1.3%)	2 (2%)
personne potentielle	21 (23%)	6 (8%)	18 (38%)
vie	21 (23%)	16 (21%)	17 (35%)
amas de cellules	9 (10%)	26 (34%)	10 (21%)
projet	11 (12%)	24 (31%)	2 (4%)
enfant	39 (42%)	8 (10%)	7 (15%)
sait pas/nc	8 (9%)	3 (4%)	2 (5%)

a : différence significative entre le groupe « arrêt de conservation » et le groupe « recherche »
 b : différence significative entre le groupe « arrêt de conservation » et le groupe « accueil d'embryon »
 c : différence significative entre le groupe « recherche » et le groupe « accueil d'embryon »

La représentation de l'embryon semble influencer le choix du devenir L'EMBRYON N'EST PAS UNE CHOSE

Évaluation de la démarche

Tentative	Arrêt de conservation	Recherche	Accueil
Vécu de la démarche plus difficile pour les personnes ayant opté pour l'arrêt de conservation, liée à une surreprésentation de l'embryon-enfant	45% (a,b)	34%	10%

Pour la majorité la décision se fait à deux et au sein du couple

Pour les 2/3 des personnes interrogées, cette décision a été facile ce qui est rassurant sur le système français

Groupe « arrêt de conservation »

Q1: « Comment passe-t-on d'un projet parental à la décision d'arrêter la conservation? »

	arrêt de conservation	
	femme	homme
Q1 : détachement progressif	6 (11.5%)	3 (7.3%)
événementiel	28 (54%)	20 (49%)
projet accompli	25 (48%)	20 (49%)
Q2 : abandon du projet parental	32 (61.5%)	28 (68%)
refus de don	36 (69%)	29 (71%)

Q2: « Que représente pour vous l'arrêt de conservation? »

Parce que le projet parental est réalisé ou contrecarré par les aléas de la vie (divorce, âge...) et que l'on refuse le don: c'est donc un CHOIX NEGATIF

Groupe « recherche »

Q5: Conception du don à la recherche pour le couple

	recherche	
	femme	homme
Q5 : participer aux progrès	38 (95%)	33 (89%)
souhaite pas donner à l'accueil	14 (35%)	13 (35%)
les embryons appartenant à la médecine	0 (0%)	0 (0%)
geste de remerciement	1 (3%)	3 (8%)
Q7 : droit regard	3 (7.5%)	3 (8%)
onl confiance	11 (27%)	8 (22%)
Q8 : personnes contre dédommagement	39 (97%)	35 (95%)

Q7: La position par rapport à la recherche

92% Motivés par solidarité Seuls 26% ont confiance dans la recherche
 Manque d'informations ou de valorisation de la recherche sur l'embryon en France?

Groupe « accueil d'embryon »

Q12: Est-ce qu'il faut dire aux enfants issus de ce mode de procréation leur mode de conception?

	accueil	
	femme	homme
Q9 : pour la gratuité du don	24 (100%)	24 (100%)
Q10 : pour l'anonymat	22 (92%)	24 (100%)
Q11 : contre obtenir des données des couples receveurs	23 (96%)	22 (92%)
Q12 : pour la connaissance du mode de conception	20 (83%)	19 (79%)
Q13 : quand ? - depuis toujours+ dès l'enfance	19 (79%)	17 (71%)

Q13: Quand doit-on le dire aux enfants?

En accord avec les principes encadrant la pratique de l'accueil d'embryon
 68% représentent l'accueil d'embryon comme un geste de solidarité

Témoignages:
 « j'ai vu la détresse des femmes en FIV »
 « je vais pouvoir donner une progéniture à une autre femme »

« don de don »

Tentative	Arrêt de conservation	Recherche	Accueil
Avec tiers-donneur	2%	10%	42%

Témoignages
 « poursuivre ce que le donneur a entamé »
 « c'est la finalité de ce qu'on a fait: on a reçu, on va donner »
 « donner une chance dont on a bénéficié »

Illustre « Le contre don »

Conclusion

La représentation de l'embryon est manifestement un facteur important du choix et du vécu de la prise de décision. Les projections parentales sur les embryons congelés ont tendance à engager les couples à l'arrêt de conservation alors qu'une représentation plus matérielle oriente plus volontiers vers le don à la recherche. Les notions d'altruisme, de solidarité envers les couples stériles, de « don de don » sont des facteurs qui vont favoriser l'option accueil d'embryon.
 Il est rassurant de constater que pour la majorité des couples interrogés (66%) la décision n'a finalement pas été vécue comme difficile et qu'ils ont trouvé, dans le cadre législatif français, une solution acceptable au devenir de leurs embryons cryoconservés, hors projet parental.
 Il faut donner des « informations » en amont au moment de la congélation embryonnaire et lors des relances annuelles (livrets explicatifs mis depuis à disposition par l'ABM, propositions d'entretiens spécifiques d'aide à la décision).

Journées de l'Agence
 30-31 mai 2013

Année: 2007

Etude du déterminisme mitochondrial dans l'insuffisance ovarienne

MAY-PANLOUP Pascale - INSERM U 694 - CHU Angers

[Retour tableau](#)

Résumé

La qualité ovocytaire est un élément fondamental du développement embryonnaire précoce. Parmi les facteurs cytoplasmiques liés à cette qualité ovocytaire la mitochondrie, fortement impliquée dans le métabolisme énergétique et dans de nombreuses autres fonctions cellulaires, semble occuper une place centrale. En effet le transfert de cytoplasme d'un ovocyte sain à un ovocyte déficient permet de reconstituer le potentiel évolutif de ce dernier et plus précisément, le transfert de mitochondries est capable de restaurer la capacité respiratoire et de diminuer l'apoptose ovocytaire. Nous avons lors de nos travaux précédents, relié la masse mitochondriale (estimée par le nombre de copies d'ADN mitochondrial) à la fécondabilité ovocytaire puis à l'insuffisance ovarienne. Néanmoins nous n'avons pas pu préciser la nature de ce lien, à savoir déterminer si l'anomalie mitochondriale constituait le trouble princeps ou n'était que le reflet d'un trouble plus large de l'ovogenèse. A ce titre, il nous semble important de voir si le déterminisme mitochondrial est susceptible d'être à l'origine d'une fonctionnalité mitochondriale particulière ayant des répercussions sur la qualité gamétique et donc sur la fertilité. Deux axes de recherche s'offrent à nous pour tenter de répondre à cette question. Nous allons dans un premier temps sélectionner une population de patientes présentant des troubles de la fertilité à type d'insuffisance ovarienne. Le recrutement se ferait au cours des protocoles de prise en charge en assistance médicale à la procréation au sein de notre centre sur des critères clinicobiologiques établis lors du bilan de base Parallèlement, durant la même période, les patientes sans trouble avéré de la fonction de reproduction serviraient de groupe témoin. Nous estimons le nombre total de patientes pouvant entrer dans notre étude à environ 200. La première partie de notre travail consistera à déterminer les haplogroupes mitochondriaux potentiellement plus fréquents chez les patientes présentant un trouble de la fertilité. Ce travail a déjà été mené chez l'homme et a permis de mettre en évidence une surreprésentation de l'haplogroupe T chez les hommes présentant des troubles de la qualité spermatique. Par ailleurs nous avons participé à une étude mettant en évidence, chez le bovin, un lien entre haplogroupe mitochondrial et capacité à obtenir des embryons évolutifs in vitro. La seconde partie de notre travail consistera à nous intéresser à la polymérase gamma (POLG1) qui est l'enzyme qui réplique spécifiquement l'ADNmt. Le taux d'ADNmt étant significativement plus bas dans les ovocytes des patientes insuffisantes ovariennes, il semble logique de voir si ce taux faible d'ADNmt est le reflet d'une expression moindre de cette protéine ou d'une efficacité variable de cette enzyme due à des polymorphismes. Cette question paraît particulièrement justifiée dans la mesure où il a été montré que des mutations au locus de ce gène entraînaient des altérations de la fertilité masculine. Par ailleurs, et toujours dans ce cadre, dans certaines pathologies mitochondriales associées à des mutations de la POLG1, on retrouve des cas d'insuffisances ovariennes précoces associées aux symptômes neurologiques. Ce travail pourrait permettre de comprendre certains des mécanismes en jeu dans l'infertilité et donc contribuer à améliorer l'efficacité de la prise en charge de patients en AMP.

Résultats

May-Panloup, P., V. Desquiret, C. Morinière, V. Ferré-L'Hôtellier, S. Lemerle, L. Boucret, S. Lehais, et al. 2014. « Mitochondrial Macro-Haplogroup JT May Play a Protective Role in Ovarian Ageing ». *Mitochondrion* 18 (septembre): 1-6.

May-Panloup, P., V. Ferre-L'Hotellier, C. Moriniere, C. Marcaillou, S. Lemerle, M.-C. Malinge, A. Coutolleau, et al. 2012. « Molecular Characterization of Corona Radiata Cells from Patients with

Diminished Ovarian Reserve Using Microarray and Microfluidic-Based Gene Expression Profiling ». Human Reproduction 27 (3): 829-43.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Etude de devenir des grossesses évolutives et des enfants issus d' ICSI ayant utilisé des spermatozoïdes testiculaires ou épидидymaires

OLIVENNES François - Association AMP vigilance - Villennes sur Seine

[Retour tableau](#)

Résumé

L'ICSI est une technique qui a révolutionné la prise en charge de l'infertilité masculine. Aujourd'hui l'ICSI représente plus de 55% des tentatives de fécondation in vitro en France. Au sein de ces tentatives d'ICSI, un certain nombre utilise des spermatozoïdes d'origine testiculaire ou épидидymaire. Il n'existe que très peu de données sur le devenir des grossesses et des enfants issus de cette catégorie d'ICSI. Il semble cependant important de distinguer les indications d'ICSI en fonction de la sévérité de l'atteinte spermatique et tout particulièrement lorsqu'il ne s'agit pas de spermatozoïdes éjaculés. Ce projet se propose d'étudier le devenir des grossesses évolutives et des enfants issus de FIV avec ICSI ayant utilisé des spermatozoïdes d'origine testiculaire et épидидymaire. Nous nous proposons d'utiliser le fichier de suivi des enfants initié par l'association AMP vigilance. Ce projet, initié en 1998, regroupe aujourd'hui 29 centres d'AMP français et est engagé dans le suivi d'enfants conçus par FIV et par ICSI. A ce jour 23 925 grossesses évolutives ou enfants ont été inclus dans le suivi. Au sein de cette cohorte, 11170 grossesses évolutives ou enfants suivis sont issus d'ICSI. Nous nous proposons donc de réaliser l'étude des grossesses issues de sperme testiculaires ou épидидymaires frais ou congelé. L'origine des spermatozoïdes utilisés pour l'ICSI est obligatoirement renseignée par le centre depuis 2002. Depuis 2002, 8625 grossesses ou enfants issus d'ICSI ont été inclus dans le suivi au sein desquels on retrouve 163 ICSI avec sperme testiculaire frais (1.9%), 38 avec sperme épидидymaire frais (0.4%), 66 avec sperme épидидymaire congelé (0,8%) et 100 avec sperme testiculaire congelé (1,2%). Soit un total de 263 grossesses ou enfants issus de sperme testiculaire frais ou congelé et 104 issus de sperme épидидymaire frais ou congelé. Nous souhaitons: 1) vérifier avec les centres qu'il n'y a pas eu d'erreur sur l'origine des spermatozoïdes utilisé pour l'ICSI. Retrouver, pour les grossesses incluses dans le projet entre 1998 et 2002, l'origine des spermatozoïdes utilisés pour l'ICSI. 2) D'analyser le devenir obstétrical de ces grossesses (complications, hypotrophie, prématurité, données périnatales) et de comparer ces données aux grossesses issus d'ICSI utilisant des spermatozoïdes éjaculés. 3) d'étudier le développement psychomoteur des enfants nés et âgés de 2 à 5 ans à l'aide d'auto-questionnaires validés et de comparer ces données aux grossesses et enfants issus d'ICSI utilisant des spermatozoïdes éjaculés.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Autogreffe de cortex ovarien chez la femme : organisation de la prise en charge, faisabilité, évaluation des pratiques

POIROT Catherine - UF de Biologie de la Reproduction - Pitié-Salpêtrière -PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

La cryoconservation d'ovaire est une technique permettant de préserver la fertilité des patientes devant subir des traitements stérilisants. Les premières cryoconservations d'ovaire ont été faites, il y a une dizaine d'années. Il existe deux principaux modes d'utilisation du cortex ovarien congelé : L'autogreffe et la croissance de follicules ovariens in vitro. Alors qu'aucun résultat significatif n'a été obtenu après croissance de follicules ovariens in vitro, depuis 2000, une douzaine de publications rapportent des greffes de cortex ovarien dont 4 ont mené à des grossesses et à la naissance de 2 enfants bien portant. Depuis 1998, dans l'unité de Biologie de la Reproduction du groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, 241 femmes ont bénéficié d'une cryoconservation de cortex ovarien avant traitement. Parmi elles, actuellement, 144 pourraient demander l'utilisation de leur cortex ovarien. Nous estimons que 10 à 25 patientes seraient réellement dans ce cas. Nous voudrions pouvoir leur proposer une autogreffe de tissu ovarien. L'objectif principal de notre projet est de restaurer la fertilité de ces patientes par une autogreffe de cortex ovarien. Les objectifs secondaires sont d'évaluer l'efficacité et l'innocuité de cette procédure, d'estimer le nombre de fragments ovariens nécessaires pour restaurer une fertilité en fonction du nombre de follicules présents dans les fragments. En cas de FIV, la qualité des ovocytes et des embryons, provenant de la greffe est aussi évaluée. Toutes les patientes incluses dans ce programme auront eu une cryoconservation de cortex ovarien dans le centre et seront en désir d'enfants. S'il n'y a pas de contre indication à la greffe et si la patiente est en insuffisance ovarienne, après la signature d'un consentement éclairé, une greffe soit en orthotopique soit en hétérotopique sera effectuée. Il sera établi un suivi clinique, hormonal et radiologique. Des FIV ou des ICSI seront faites en cas de greffe hétérotopique. Résultats attendus : Cette étude devrait permettre de restaurer la fertilité des patientes rendues stériles par le traitement qui les a guéris. Nous espérons montrer l'efficacité et de l'innocuité de la greffe de cortex ovarien.

Résultats

Dolmans, Marie-Madeleine, Michael von Wolff, Catherine Poirot, Cesar Diaz-Garcia, Luciana Cacciottola, Nicolas Boissel, Jana Liebenthron, Antonio Pellicer, Jacques Donnez, et Claus Yding Andersen. 2021. « Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading European centers ». *Fertility and Sterility* 115 (5): 1102-15. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.03.008>.

Fortin, Anne, Henri Azaïs, Catherine Uzan, Gilles Lefebvre, Geoffroy Canlorbe, et Catherine Poirot. 2019. « Laparoscopic ovarian tissue harvesting and orthotopic ovarian cortex grafting for fertility preservation: less is more ». *Fertility and Sterility* 111 (2): 408-10. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.022>.

Poirot, C., A. Fortin, J. M. Lacorte, J. P. Akakpo, C. Genestie, J. P. Vernant, P. Brice, et al. 2019. « Impact of Cancer Chemotherapy before Ovarian Cortex Cryopreservation on Ovarian Tissue Transplantation ». *Human Reproduction* 34 (6): 1083-94. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez047>.

Poirot, Catherine, Anne Fortin, Nathalie Dhédin, Pauline Brice, Gérard Socié, Jean-Marc Lacorte, Jean-Paul Akakpo, et al. 2019. « Post-transplant outcome of ovarian tissue cryopreserved after chemotherapy

in « hematologic malignancies ».
<https://doi.org/10.3324/haematol.2018.211094>.

Haematologica 104 (8): e360-63.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Analyse des parcours thérapeutiques d'une cohorte d'hommes consultant pour infécondité

THONNEAU Patrick - Equipe d'accueil 3694 UPS - CECOS Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : La capacité pour un couple à avoir un enfant est une préoccupation majeure des individus et un élément important de la santé des populations. En France, un couple sur sept consultera au cours de sa vie reproductive pour des difficultés à concevoir avec une responsabilité partagée entre l'homme et la femme. En matière de traitement de l'infécondité, les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) se sont considérablement améliorées au cours des dernières années. Toutefois, la prise en charge des hommes inféconds ne se résume pas aux techniques d'AMP et, à ce jour, très peu d'études ont analysé les différents parcours thérapeutiques des hommes consultant pour infécondité. Objectif : Etudier, à partir d'une cohorte historique d'hommes ayant consulté pour infécondité au CHU de Toulouse entre 1995 et 2003, les différents parcours thérapeutiques en matière d'infécondité masculine. L'objectif secondaire consistera à évaluer les facteurs prédictifs masculins de survenue de grossesse selon les différents itinéraires thérapeutiques et à proposer des modèles mathématiques prédictifs des issues de grossesse chez des hommes consultant pour infécondité masculine. Méthodologie : La population d'étude sera constituée par la cohorte historique des 5 000 hommes (couples) ayant consulté pour infécondité masculine, entre 1995 et 2003, dans le Centre de Stérilité masculine du CHU de Toulouse. Seront inclus les hommes ayant une infécondité primaire et n'ayant pas déjà eu recours à une prise en charge de leur infécondité. Cette base de données hospitalières sera complétée par l'envoi d'un questionnaire (incluant des aspects qualitatifs) à l'ensemble des hommes ayant consulté pour infécondité masculine, entre 1995 et 2003. L'ensemble des données (base hospitalière + questionnaires) seront analysés par une équipe pluridisciplinaire associant épidémiologiste, bio-mathématicien et médecins cliniciens impliqués en fertilité. Résultats attendus - Perspectives et valorisation : Ce projet permettra de mieux connaître les différents parcours thérapeutiques des hommes admis en consultation pour une infécondité. En pratique, nous devrions être en mesure d'identifier, en fonction des pathologies présentées par ces hommes, les différentes options de traitement, le temps écoulé et, bien sûr, les résultats en termes de succès de grossesse. L'intérêt de ce type d'étude (cohorte) est le grand nombre d'hommes (environ 5 000) inclus dans le projet (qui autorise des analyses spécifiques aux pathologies/traitements), un réel suivi sur plusieurs années, et la prise en compte du vécu de l'homme/couple y compris les abandons avec, sur cet aspect, un questionnaire qualitatif sur les raisons de l'abandon. Ce projet de recherche épidémioclinique s'intègre dans une dynamique de complémentarité de plusieurs services hospitaliers en liaison avec une équipe de recherche (contrat d'interface Inserm – CHU de Toulouse) et permettra la valorisation de plusieurs équipes toulousaines impliquées de longue date en fertilité humaine et reconnues pour leurs travaux scientifiques. Sur un plan de santé publique, ce projet permettra de situer la prise en charge de l'infécondité masculine dans une globalité de soins, prenant en compte non seulement les pathologies et leurs traitements mais aussi le temps écoulé et les changements d'attitude au cours des diverses prises en charge (recours à l'IAD, adoption, abandon).

Résultats

Walschaerts, Marie, Louis Bujan, Jean Parinaud, Roger Mieusset, et Patrick Thonneau. 2013. « Treatment discontinuation in couples consulting for male infertility after failing to conceive ». *Fertility and Sterility* 99 (5): 1319-23.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

Enquête d'éthique clinique sur des cas d'assistance médicale à procréation (AMP) "dérangeants" au plan éthique

BERTHIAU Denis - GH Cochin - Saint Vincent de Paul

[Retour tableau](#)

Résumé

Le Centre d'éthique clinique (Cec) est une structure d'aide et d'accompagnement à la disposition de ceux, patients comme soignants, qui sont confrontés à une prise de décision médicale « éthiquement » difficile. Dans ce contexte, il a été saisi à plusieurs reprises à propos de demandes d'accès à l'assistance médicale à la procréation (AMP) posant problème au plan éthique aux équipes sollicitées. C'est pourquoi il s'associe aujourd'hui à des équipes médicales d'une part et des associations de patients d'autre part, particulièrement concernées, afin de mener une étude plus approfondie sur le sujet. L'objectif est de bien comprendre comment les couples demandeurs fondent au plan éthique leur demande d'accès à l'AMP quand celle-ci apparaît à première vue « dérangement » et quels sont les arguments qui sous-tendent les décisions médicales prises par les équipes soignantes en réponse à ces demandes ? Il ne s'agit ni de prendre part aux décisions, ni de porter un jugement au plan éthique sur les argumentations des uns ou des autres, mais plutôt de mettre en lumière la dimension éthique de ces argumentations. L'étude consistera en une enquête qualitative prospective, c'est-à-dire en une série d'entretiens menés par un binôme médecin – non médecin selon la méthode d'éthique clinique auprès d'un échantillon de couples demandeurs d'AMP (45 au moins au total) et auprès des équipes qui les reçoivent, alors qu'ils sont dans l'un des trois cas suivants, choisis pour être illustratifs de situations qui peuvent être considérées à première vue comme éthiquement « dérangement » :

1. L'un des membres du couple est âgé (homme âgé de plus de 55 ans et/ou femme âgée de plus de 45 ans)
2. L'un des membres du couple est atteint d'une maladie grave et invalidante (suffisamment pour engager sa qualité de vie ou son pronostic vital à plus ou moins court terme : cancer, SIDA, mucoviscidose, etc.) ou il est porteur d'une maladie génétique grave et transmissible
3. Il y a une demande d'accès à une technique interdite en France, en l'occurrence la gestation pour autrui.

Parallèlement une étude quantitative (non concernée par la demande de subvention) sera menée auprès des 19 centres agréés pour pratiquer l'AMP en France afin de tenter de préciser la proportion que représentent ces situations « dérangement » par rapport à l'ensemble des demandes faites d'accès à l'AMP. Le résultat recherché est de produire une connaissance jamais élaborée sur les fondements éthiques contenus dans une demande d'AMP éthiquement « dérangement ». En miroir, il s'agit de produire cette même connaissance à propos de l'argumentaire éthique propre que développe l'équipe sollicitée qui va accéder ou non à la demande. Il est aussi de tenter de saisir des tendances qui seraient révélatrices de valeurs en changement au plan éthique et mériteraient des investigations plus approfondies. Ce premier matériau d'enquête devrait ainsi pouvoir contribuer à alimenter utilement le débat public autour de ces questions.

Résultats

Fournier, Véronique, Denis Berthiau, Julie d’Haussy, et Philippe Bataille. 2012. « Access to Assisted Reproductive Technologies in France: The Emergence of the Patients’ Voice ». *Medicine, Health Care and Philosophy* 16 (1): 55-68.

Poster



Quand la demande d'enfant dérange l'éthique: une étude d'éthique clinique.

Denis Berthiau⁽¹⁾⁽²⁾, Véronique Fournier⁽¹⁾, Philippe Bataille⁽³⁾, Julie d'Haussy⁽¹⁾

⁽¹⁾ Centre d'éthique clinique, Hôpital Cochin, Paris, France,

⁽²⁾ Faculté de Droit, Université Paris Descartes

⁽³⁾ CADIS, EHESS, Paris

www.ethique-clinique.com

Objectifs

1- Identifier les arguments des demandeurs et ceux des équipes médicales lorsque la demande d'AMP dérange l'équipe au plan éthique

2 - Faire une lecture critique pluri-disciplinaire de ce qui s'exprime alors sur le terrain à ce sujet (médecine, philosophie, droit, sociologie)

Méthode

Enquête qualitative prospective: mai 2007 - janvier 2009

Entretiens semi directifs en *one-to-one* avec les couples demandeurs d'une part et les soignants d'autre part.

Population étudiée: demandes d'AMP posant problème au plan éthique soit du fait de l'âge, soit du fait de la maladie, soit du fait de la technique sollicitée (Gestation pour autrui) :

N = 48 couples et 4 femmes seules

23 pour âge élevé: 15 hommes (âge moyen : 66 ans), 8 femmes (âge moyen : 46 ans)

15 pour maladie grave: mucoviscidose (6), cancer (6), divers (3)

14 pour GPA: Rokitanski (5), impossibilité utérine ancienne de porter un enfant (3); hystérectomie pour éclampsie (5); homosexualité (1)

Méthode d'analyse : thématization séquentielle, "grounded theory"

Résultats: Les demandeurs:

Résultats très cohérents entre les 3 groupes de l'étude.

Expriment une **grande colère** sur l'intrusion dans leur vie privée de la société via la médecine

Réclament le respect de leur autonomie reproductive.

Contestent les 3 arguments fondateurs de la loi:

L'intérêt de l'enfant: Se considèrent ses meilleurs garants

Le non droit à l'enfant : disent que l'argument est contraire à la finalité même de l'AMP.

Le respect d'un certain ordre social: se sentent représentatifs de ce qui fait "norme" aujourd'hui sur le plan social. Pour eux, la famille "idéale" implicitement souhaitée par la loi n'est plus la norme au plan social.

Promeuvent d'autres valeurs qui devraient servir selon eux à repenser les limites de l'accès à l'AMP: égalité d'accès pour tous, non commercialisation de l'AMP, sécurité sanitaire.

Résultats: les soignants

Se distinguent en 2 groupes selon leur interprétation de la loi et de leur rôle en tant que soignants:

Groupe 1: la loi leur a confié le rôle de garant de l'accueil d'un enfant dans une "bonne" famille. Ils sont soucieux d'honorer la responsabilité qui leur a été confiée, y compris aux dépens du demandeur.

Groupe 2: ils se considèrent davantage au service des couples que de la société: tant que la loi n'interdit pas, ils vont jusqu'au bout de ce qu'ils peuvent faire pour répondre à la demande.

Discussion

Le tryptique éthique ayant porté les options législatives en matière d'AMP (intérêt de l'enfant, non droit à l'enfant, respect d'un certain ordre social et familial) **reste-t-il légitime ?**

Subjectivité : L'infini des jugements subjectifs et personnels sur ces questions ne doit-il pas inviter à la **tolérance plutôt qu'à l'interdit?**

Rôle de la médecine : Au coeur des tensions entre intérêt individuel et intérêt collectif, **quelle est sa mission première?**

Autonomie reproductive : jusqu'où l'Etat doit-il/peut-il restreindre l'autonomie reproductive des citoyens ? Au nom de quels arguments éthiques ?

Conclusions

Conclusions de la lecture critique et pluridisciplinaire:

Le désir d'enfant apparaît élémentaire et vital. Ni interrogeable ni contestable, il fait partie de la sphère privée.

Les citoyens devraient avoir le droit à toute l'aide et la **solidarité** possibles de la société.

La priorité de la médecine: être une médecine du sujet et non de la société.

Appuyer les politiques publiques sur **les valeurs-socles** qui émergent (refus de l'exploitation des vulnérables, pas de commercialisation, refus des inégalités d'accès, respect des règles de sécurité et de qualité sanitaires)

Intérêt de ce type de recherche de terrain :

Mieux comprendre ce qu'ont à dire les demandeurs versus les équipes soignantes sur ce sujet des limites en matière d'AMP

Observer les valeurs-socles de la société et leur évolution en regard des cadres normatifs existants

Potentiellement utiles pour **revisiter les lois** existantes et/ou remettre en cause leur intérêt

Bibliographie:

Quand la demande d'enfant dérange l'éthique, Ed. Centre d'éthique clinique, Juillet 2011

Access to assisted reproductive technologies in France: the emergence of the patients' voice, Véronique Fournier et al, Med Health Care and Philos, (2013) 16:55-68

Année: 2008

Evaluation du risque de pathologies liées à l'empreinte parentale après Assistance Médicale à Procréation (AMP)

LE BOUC Yves - Hôpital Armand TROUSSEAU -AP-HP

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs et résultats attendus : L'empreinte parentale concerne différentes régions autosomiques et joue un rôle majeur dans le développement et la croissance du fœtus. Deux étapes sont importantes pour sa mise en place : la gamétogénèse (apposition) et la période suivant la fécondation (maintenance). Sur le plan moléculaire, les marques d'empreinte parentale sont des modifications épigénétiques du génome, parmi lesquelles la méthylation différentielle des deux allèles parentaux est un élément clé. Des pathologies bien caractérisées comme les syndromes de Wiedemann-Beckwith (SWB), de Willi-Prader ou d'Angelman (SA) sont en rapport avec des anomalies génétiques ou épigénétiques de régions soumises à empreinte parentale (régions 11p15 et 15q11). Récemment, l'AMP a été incriminée dans des pathologies en rapport avec des anomalies épigénétiques de régions soumises à empreinte parentale chez l'animal (Large Offspring syndrome) et chez l'homme (SWB et SA), notamment par notre équipe. Dans ces trois modèles, l'anomalie mise en évidence est un défaut de méthylation d'un locus maternel normalement méthylé entraînant une dérégulation de l'expression des gènes situés à proximité. Les procédures d'AMP pourraient donc empêcher l'apposition ou le maintien des marques d'empreintes maternelles. L'objectif principal de ce projet est de déterminer si l'AMP comporte un risque accru d'anomalie épigénétique dans les régions soumises à empreinte. Si la réponse à cette première question est positive (résultat attendu), l'objectif est de pouvoir préciser si certaines procédures d'AMP sont spécifiquement associées à ce risque et donc de les supprimer ou de les modifier. Ce projet permettra aussi de constituer une banque d'ADN, ARN et de tissu (placenta) pour analyse ultérieure d'autres modifications épigénétiques non seulement au niveau des loci soumis à empreinte mais au niveau d'autres régions génomiques soumises à une régulation épigénétique. Ce projet est déjà soutenu en partie par un PHRC national (P040440) et a reçu l'avis favorable du CPP de Cochin. Les crédits supplémentaires permettront d'une part d'augmenter le nombre de régions génomiques analysées, le type de modifications épigénétiques (acétylation, méthylation des histones...), le nombre de sites impliqués dans le recrutement et le temps de techniciens de recherche clinique (TEC) pour assurer la qualité du recueil des données.

Résultats

Le Bouc, Y., S. Rossignol, S. Azzi, V. Steunou, I. Netchine, et C. Gicquel. 2010. « Epigenetics, genomic imprinting and assisted reproductive technology ». Annales d'Endocrinologie, 53es Journées internationales d'Endocrinologie clinique Henri-Pierre Klotz, 20 & 21 mai 2010, Paris, 71 (3): 237-38.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

La maturation in vitro des ovocytes frais ou cryopréservés : aspect épigénétique, analyse de la méthylation de l'ADN et du profil d'acétylation des histones

LEFEVRE Annick - INSERM

[Retour tableau](#)

Résumé

Pour augmenter le nombre d'ovocytes mûrs, les protocoles standards de Fécondation In Vitro (FIV) font appel à une stimulation ovarienne par des doses élevées de gonadotrophines avec le risque pour certaines patientes (1 à 3%) de développer un syndrome sévère d'hyperstimulation ovarienne. Par ailleurs certaines femmes ne répondent pas aux protocoles de stimulation. Dans ces cas, le développement d'un procédé fiable de maturation in vitro d'ovocytes prélevés immatures est une alternative très attractive aux traitements actuels mis en œuvre dans les centres d'AMP. Par ailleurs, depuis les avancées considérables dans le traitement des cancers, en particulier chez l'enfant, et l'amélioration de la survie des patients, la prise en compte des effets secondaires à long terme devient une nécessité. Or, les effets sur la fertilité sont connus, même pour les enfants. La restauration d'un potentiel de vie procréative devient alors une question à laquelle il faut tenter d'apporter des solutions. La vitrification d'ovocytes immatures, susceptibles après décongélation d'être mûris in vitro (MIV) puis fécondés par ICSI (intracytoplasmic Sperm Injection) constitue une alternative prometteuse à la greffe d'ovaire cryopréservé, particulièrement dans le cas où une récurrence est à craindre. Or, des informations récentes suggèrent que des pathologies liées à des anomalies de l'empreinte parentale sont plus fréquentes chez les enfants nés via l'AMP comparés à la population générale. L'ovogenèse est le siège d'importantes modifications épigénétiques qui permettent à l'ovocyte d'acquies sa capacité fécondante et développementale, ainsi qu'une « information maternelle » transmissible au zygote. Que ce soit la culture in vitro dans le cas de la MIV, ou l'emploi de cryoprotecteurs dans le cas de la cryopréservation, l'environnement de l'ovocyte est modifié pendant une période où son épigénome est reprogrammé. Le but de ce projet est, afin d'apprécier le degré de sécurité offert par ces nouvelles technologies, d'évaluer leur impact au niveau de l'épigénome ovocytaire dans le modèle ovin dans un premier puis chez la femme. Nous proposons de :

- développer un modèle de maturation in vitro de l'ovocyte ovin
- développer un procédé de vitrification pour cryoconserver les ovocytes ovins au stade VG
- évaluer l'impact de différents facteurs, stimulation hormonale, culture in vitro, cryoprotecteurs, sur l'épigénome des ovocytes après MIV en analysant 1- la méthylation différentielle de gènes soumis à empreinte parentale (Igf2r, KCNQ1OT1, H19, Peg1/Mest), par la technique de mutagenèse de l'ADN par le bisulfite de sodium 2- le profil global d'acétylation des histones par immunofluorescence, dans les ovocytes prélevés à différents stade de leur différenciation.
- déterminer les conditions d'application à l'ovocyte humain des procédés évalués chez l'ovine.

Résultats

Al-Khtib, Mohamed, Astrid Perret, Rita Khoueiry, Samira Ibalá-Romdhane, Thierry Blachère, Cécile Greze, Jacqueline Lornage, et Annick Lefèvre. 2011. « Vitrification at the Germinal Vesicle Stage Does Not Affect the Methylation Profile of H19 and KCNQ1OT1 Imprinting Centers in Human Oocytes Subsequently Matured in Vitro ». *Fertility and Sterility* 95 (6): 1955-60.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

Préservation de la fertilité à l'adolescence dans les troubles de la spermatogenèse : étude prospective

PLOTTON Ingrid - CHU LYON

[Retour tableau](#)

Résumé

L'objectif est de développer des mesures d'épargne de la fertilité dans les dysgénésies testiculaires diagnostiquées en pédiatrie et aboutissant à une stérilité par trouble de spermatogenèse à l'âge adulte. Certaines observations suggèrent que la spermatogenèse se mettrait en place, au moins partiellement, à la puberté, puis régresserait avant l'âge adulte. Ceci laisse l'espoir de pouvoir disposer de quelques spermatozoïdes si on les recherche au bon moment, entre la mise en place de la spermatogenèse et sa régression. Ces spermatozoïdes pourront être cryoconservés en vue d'une microinjection intraovocytaire lorsque le patient aura un désir de paternité. On ne sait actuellement reconnaître ni les cas ni le moment du développement pour lesquels des spermatozoïdes seront disponibles. Notre projet consiste à recruter des adolescents (15-18 ans) suivis en pédiatrie pour une dysgénésie testiculaire, soit dans le cadre du syndrome de Klinefelter (47XXY) situation fréquente et homogène soit dans d'autres dysgénésies testiculaires repérées en raison d'antécédents de cryptorchidie bilatérale ou d'ambiguïté sexuelle ou encore d'anomalie gonosomique au caryotype. Après estimation de leur maturité pour la réalisation de spermogrammes par la psychologue du CECOS de Lyon, 3 spermogrammes espacés sur la période de la mise en place de la spermatogenèse (18 mois) seront réalisés avec cryoconservation des spermatozoïdes si possible. En cas d'azoospermie, le patient sera inclus dans une étude comparant le pourcentage de cas où la biopsie testiculaire permet d'isoler des spermatozoïdes, chez les adolescents versus chez les adultes, présentant la même pathologie constitutionnelle induisant un trouble de la spermatogenèse, mais pris en charge en médecine de la reproduction pour infertilité. En cas de présence de spermatozoïdes, ceux-ci seront cryoconservés. Notre protocole permettra :

- 1) la comparaison du pourcentage de biopsie permettant la cryoconservation de spermatozoïdes entre les 2 groupes de patients azoospermiques par dysgénésie testiculaire, « adolescents » versus « adultes ». Les comparaisons seront stratifiées sur les sous-groupes « Klinefelter » et « Autres dysgénésies testiculaires »,
- 2) la recherche de facteurs pronostiques de la présence de spermatozoïdes dans la biopsie testiculaire, les marqueurs des fonctions testiculaires (volume et situation des testicules, FSH, Inhibine B, AMH, LH, Testostérone, Testostérone biodisponible, SHBG, Estradiol) seront comparés chez les sujets azoospermiques ayant des biopsies « avec » versus « sans » spermatozoïdes testiculaires, dans les groupes « adolescents » et « adultes »
- 3) la recherche de facteurs pronostics de la possibilité de réalisation de spermogrammes et des résultats des spermogrammes lors de la phase de préinclusion chez les adolescents
- 4) la recherche de marqueurs précoces prédictifs de la présence ou non de spermatozoïdes dans le sperme ou dans les biopsies testiculaires dans les données rétrospectives des dossiers du suivi pédiatrique.
- 5) L'étude du transcriptome des cellules de Sertoli des biopsies des azoospermies pour comprendre la physiopathologie des troubles de la spermatogenèse et envisager des mesures thérapeutiques s'appuyant sur la correction des dysfonctions sertoliennes.

Résultats

Plotton, I., A. Brosse, et H. Lejeune. 2010. « [Is it useful to modify the care of Klinefelter's syndrome to improve the chances of paternity?] ». Annales D'endocrinologie 71 (6): 494-504.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

Greffe d'ovaire non pubère chez la brebis : étude de l'induction de la puberté, fertilité et risque épigénétique dans la descendance

SAUVAT Frédérique - INSERM

[Retour tableau](#)

Résumé

Le but de ce projet est l'étude des possibilités de restauration de la fonction ovarienne après cryoconservation de cortex ovariens prélevés avant la puberté (définissant la notion de cortex immature), chez la brebis. En particulier, cette étude porte sur la possibilité d'instauration d'une puberté spontanée après greffe chez l'animal non-pubère, la restauration d'une activité hormonale cyclique et la possibilité de restauration de la fertilité. Le deuxième volet de ce projet est l'évaluation d'anomalies épigénétiques dans la descendance, liées à une anomalie de la mise en place de l'empreinte parentale au cours de cette technique (manipulation des ovaires, cryoconservation et réimplantation...). Chez la brebis adulte, les techniques de cryoconservation ainsi que les possibilités de gestation ont déjà été rapportées. A l'inverse, aucune publication ne fait état du devenir de cortex ovarien cryoconservé avant la puberté. Cette étude chez la brebis est réalisée parallèlement à une étude similaire dans un modèle murin. Ce projet a débuté en 2006 et a permis la mise au point du modèle chirurgical (prélèvement puis réimplantation orthotopique non vascularisée, chez des animaux non pubères), une évaluation préliminaire de l'initiation d'une fonction endocrine (déclenchement d'une puberté spontanée quand la réimplantation a lieu chez un animal non pubère) ou reprise d'une activité hormonale cyclique quand la réimplantation a lieu chez un animal pubère, ainsi que l'obtention de gestation au cours de la première saison sexuelle. Les résultats attendus pour la poursuite de ce projet porte, chez ces 12 brebis déjà opérées :

- Analyse de la fonction endocrine par des dosages sérique mensuels de progestérone et oestradiol comme reflet de la fonction ovarienne et des dosages de FSH comme reflet de la réserve ovarienne. Le but de ces dosages est double : confirmer les résultats préliminaires sur les possibilités d'instauration d'une puberté spontanée et de restauration d'une activité cyclique mais également évaluer la durée de vie des greffons.
- Etude des possibilités de fertilité à long terme et en fonction des groupes d'étude.
- Etude des greffons après épuisement (défini par un taux de FSH élevé et arrêt des gestations) en immunohistochimie ainsi qu'une étude de la néovascularisation (en comparant les brebis ayant eu ou non des gestations)
- Etude épigénétique de Mest/Peg1 et Igf2R sur l'ADN génomique des descendants et celui des ovocytes recueillis au niveau des greffons. Le but est d'évaluer les risques d'anomalies sur des gènes soumis à empreinte liés à la manipulation du cortex ovarien comme cela a été montré chez l'homme après des techniques d'assistance médicale à la procréation (surincidence de syndrome de Wiedemann- Beckwith). Ce projet a pour but la validation de la cryoconservation de cortex ovarien avant la puberté et surtout les modalités de la réimplantation ainsi que les risques pour la descendance.

Résultats

Sauvat, F., J. Bouilly, C. Capito, A. Lefevre, T. Blachere, N. Borenstein, S. Sarnacki, L. Dandolo, et N. Binart. 2013. « Ovarian Function Is Restored after Grafting of Cryopreserved Immature Ovary in Ewes ». The FASEB Journal 27 (4): 1511-18.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

Vitrification des ovocytes : étape pré-clinique en vue d'une utilisation dans le cadre de la préservation de la fertilité

SCHUBERT Benoît - AP-HP GH Pitié-Salpêtrière

[Retour tableau](#)

Résumé

La vitrification ovocytaire est une technique d'assistance médicale à la procréation récente qui peut constituer une nouvelle option parmi les techniques de préservation de la fertilité de la femme avant un traitement stérilisant. Les données actuelles de la littérature tendent à montrer de meilleurs taux de succès qu'avec la technique de référence : la congélation lente. Actuellement, 43 enfants sont nés après fécondation in vitro d'ovocytes vitrifiés. Le but de notre étude est d'évaluer la vitrification d'ovocytes matures et immatures avec 2 systèmes de vitrification ovocytaire aseptique disponibles. Nous utiliserons le modèle souris pour cette étape pré-clinique. Les ovocytes frais ou décongelés feront l'objet d'une analyse morphologique (analyse microscopique, coloration vitale, coloration du fuseau méiotique et des chromosomes) et d'une analyse fonctionnelle (fécondation in vitro). Nous pourrons ainsi évaluer le comportement des ovocytes matures et immatures avec 2 systèmes de vitrification aseptique en comparant leurs résultats entre eux et avec ceux de la congélation lente. Ainsi ces résultats nous permettront de guider notre attitude thérapeutique pour offrir à nos patientes une technique efficace qui réponde aux règles de sécurité sanitaire les plus exigeantes.

Projet annulé.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

génétique de l'infertilité masculine

VIVILLE Stéphane - IGBMC

[Retour tableau](#)

Résumé

Actuellement, environ 12% des couples sont confrontés à une infertilité. Dans la moitié des cas, la cause est masculine. Il peut s'agir d'une anomalie quantitative ou qualitative du sperme comme une anomalie morphologique des spermatozoïdes (térazoospermie), ou encore la combinaison de plusieurs anomalies. La globozoospermie est une térazoospermie rare mais sévère caractérisée par une absence d'acrosome spermatique dont la tête apparaît globuleuse. Cette anomalie peut être observée de façon homogène sur tous les spermatozoïdes ou seulement sur une proportion variable (20 à 90%) d'entre eux. La globozoospermie résulte d'un trouble de la spermatogenèse. L'étiologie en est toujours mal connue même si une contribution génétique est avancée à partir de la publication de plusieurs cas report familiaux ainsi qu'à partir de 3 modèles murins impliquant les gènes *Csnk2A2*, *Hrb* et *GOPC7-9*. Récemment, l'exploration par puces à ADN d'une famille consanguine comprenant 3 frères globozoospermiques et 3 frères fertiles nous a permis la mise en évidence d'une mutation homozygote dans le gène *SPATA16*. *SPATA16* n'est exprimé que dans le testicule et la mutation mène à une infertilité isolée en dehors de tout syndrome.

Dans cette continuité, nous envisageons des études ultérieures à partir d'autres familles afin d'isoler d'autres acteurs de la formation de l'acrosome. Ceci permettra dans un premier temps d'affiner la dissection des mécanismes impliqués dans la formation d'un organite cellulaire aussi spécialisé que l'acrosome. Dans un deuxième temps, la grande spécificité d'expression tissulaire comme de fonction de *SPATA 16* ou de ses partenaires impliqués dans la formation de l'acrosome pourrait en faire d'excellentes cibles pour des contraceptifs chimiques masculins.

Résultats

1 *biochimica et biophysica acta* 2012, 1 *human molecular genetics* 2012, 1 *the am j of hum genet* El Inati, Elias, Jean Muller, et Stéphane Viville. 2012. « Autosomal Mutations and Human Spermatogenic Failure ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1822 (12): 1873-79.

El Inati, Elias, Paul Kuentz, Claire Redin, Sara Jaber, Frauke Vanden Meerschaut, Joelle Makarian, Isabelle Koscinski, et al. 2012. « Globozoospermia Is Mainly Due to *DPY19L2* Deletion via Non-Allelic Homologous Recombination Involving Two Recombination Hotspots ». *Human Molecular Genetics* 21 (16): 3695-3702.

Koscinski, Isabelle, Elias El Inati, Camille Fossard, Claire Redin, Jean Muller, Juan Velez de la Calle, Françoise Schmitt, et al. 2011. « *DPY19L2* Deletion as a Major Cause of Globozoospermia ». *The American Journal of Human Genetics* 88 (3): 344-50.

DPY19L2 gène majeur de la globozoospermie



E ElInati¹, P Kuentz², C Redin¹, S Jaber³, F Vanden Meerschaut⁴, I Koscinski^{1,5}, M Nasr-Esfahani⁶, A Demiroglu⁷, T Gurgan⁷, N Louanjli⁸, N Iqbal⁹, M Bisharah⁹, F Carré Pigeon¹⁰, H Gourabi¹¹, D De Briel¹², F Brignon¹³, S A Giltin¹⁴, JM Grillo¹⁵, P De Sutter³, J Muller¹, Stéphane Viville¹



Introduction

Globozoospermia or round headed spermatozoa is a rare and severe teratozoospermia consisting of spermatozoa lacking an acrosome (figure 1).

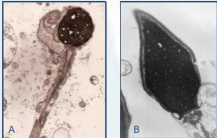


Figure 1. Electron microscopy A/ acrosomeless spermatozoa. B/ normal spermatozoa

Studying a consanguineous family, we identified *DPY19L2* (figure 2) as responsible of globozoospermia. We identified four unrelated patients deleted for *DPY19L2*. The deletion of 200 Kb is due to a non allelic homologous recombination (NAHR) between the two LCR regions sharing 96.5 % of identity and flanking *DPY19L2*.

We present here the analysis of a larger cohort of globozoospermic patients which allowed us first, to refine the frequency rate of the deletion in our cohort, and second to enlarge the mutation spectrum.

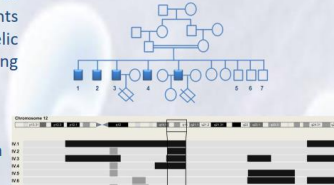


Figure 2. Pedigree and Linkage Analysis of the Jordanian Family (Koscinski et al AJHG 2011)

Results

CNV Frequency of Individuals at the *DPY19L2* Locus and Expected Prevalence of Homozygotes (Koscinski et al, AJHG 2011)

	Pinto et al.	De Smith et al.	Conrad et al.	Itsara et al.	Shaikh et al.	Total Frequency	Expected Homozygote Deletion Frequency
Gain	2	1	4	22	35	64	1/76
Loss (Hzt)	0	3	0	5	14	22	1/222
Population	506	50	450	1854	2026	4886	

We screened a larger cohort of 54 patients and we found in total :

- ✓ 25 patients homozygous deleted for *DPY19L2*
- ✓ 7 patients heterozygous composite for the deletion and a point mutation

Globo5	p.R290H/del
Globo9	p.Q345X/del
Globo35	p.T493R/del
Globo40	p.Lys680X/del
Globo42,43	p.S395LfsX7/del
Globo46	Ex5-6del/del



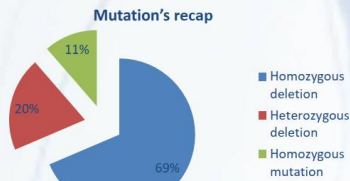
Figure 3. PCR amplifications A/ PCR results of DPY19L2 exon 10 B/ PCRs of DPY19L2 Breakpoints

- ✓ 4 patients homozygous for a point mutation

Globo55	Ex5-7del
Globo13	Ex5-6del
Globo26	p.R298C
Globo19	c.1131+1G>A



Figure 4. PCR showing mutation effect of Globo13 and 19 A/ Minigene constructs used to test the splicing of exon 11 B/ PCR results of DPY19L2 exon 5 and 6



Conclusion

66.6% of the patients are mutated for *DPY19L2*

DPY19L2 is the major gene involved in globozoospermia

The deletion is due to the architectural features of the locus rather than a founder effect

This is a major finding with a view toward the development of an efficient molecular diagnosis strategy for globozoospermia

Clinical studies concerning ICSI attempt and their correlation with *DPY19L2* and *SPATA16* mutations are on going

So far, 9 breakpoints have been identified that cluster in 2 regions in the LCRs defining two hot spots of recombination.

Breakpoint zone	Origin	Sperm concentration, million/ml.	
Globozoospermia type I	BP1	Jordan	52
	BP1	France	71
	BP1	Iran	ND
	BP2	Turkey	ND
	BP2	France	ND
	BP2	Algeria	90
	BP2	Iran	ND
	BP1/BP2	France	78
	BP3	Turkey	10,25
BP4	Saoudi Arabia	71,5	
BP4	Belgium	13	
BP5	Turkey	56	
BP5	Morocco	94	
BP5	Belgium	38	
BP5	Belgium	61,9	
BP6	France	0,25	
BP6	Belgium	180	
BP7	Iran	ND	
BP8	Morocco	178	
BP8	Morocco	64	
BP9	Turkey	ND	

Hot spot 1 : Alu seq
Hot spot 2 : THE1B

We find the PRDM9 13mer recognition motif in hot spot 2 which coincides with a previously identified recombination hotspot of chromosome 12 (figure 5).

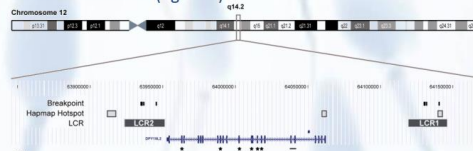
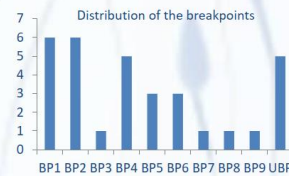


Figure 5. Distribution of the BPs The *DPY19L2* locus is represented together with the two LCR, the hapmap recombination hotspots, the nine different BPs and the identified mutations (missense are marked with a star and larger deletions are represented using a black horizontal line).



Année: 2009

Impact de l'alimentation et du statut nutritionnel sur les troubles de l'ovulation : étude prospective multicentrique

CEDRIN-DURNERIN Isabelle - SAIC

[Retour tableau](#)

Résumé

De nombreux facteurs environnementaux dont la nutrition et le style de vie sont susceptibles d'agir sur la fertilité. Le rôle du poids et des apports énergétiques sur la fonction ovulatoire est bien établi et des données récentes suggèrent également un rôle indépendant de la composition alimentaire sur le risque d'infertilité par troubles de l'ovulation. Ce risque semble en effet lié aux apports en hydrates de carbone, acides gras, protéines, vitamines et minéraux. Cependant le niveau de preuve des études réalisées à ce jour reste insuffisant et dans ces études, les troubles de l'ovulation sont le plus souvent mal définis alors que l'impact des facteurs nutritionnels pourrait différer selon leur type. Les troubles de l'ovulation les plus fréquemment rencontrés sont ceux liés à des anomalies du pool des follicules en croissance soit en nombre excessif (syndrome des ovaires polykystiques ou SOPK), soit au contraire en nombre insuffisant (insuffisance ovarienne débutante ou IOD). Ces anomalies de la réserve ovarienne sont évaluées en échographie par la mesure du compte des follicules antraux (CFA). Dans les pays industrialisés, la prévalence de ces troubles est croissante du fait de la conjonction d'une véritable épidémie d'obésité et d'un désir plus tardif de maternité. Il n'existe à ce jour aucune étude comparant les consommations alimentaires et le statut biologique nutritionnel de femmes en âge de procréer en fonction du statut ovulatoire et de la réserve ovarienne. Il n'est donc pas possible de préconiser une composition alimentaire optimale en cas de désir de grossesse. Nous évaluerons dans cette étude prospective multicentrique, les comportements alimentaires et l'apport en nutriments spécifiques de 3 groupes homogènes de 100 femmes infertiles, constitués de 2 groupes de femmes présentant un trouble de l'ovulation en rapport avec un SOPK (CFA>24) ou une IOD (CFA<10) et d'un groupe contrôle de femmes normo-ovulatoires (10 < CFA < 20). Le statut nutritionnel sera évalué par des mesures anthropométriques, une enquête alimentaire, un questionnaire d'hygiène de vie (activité physique, alcool, tabac, café ...) et un bilan sanguin. Celui-ci comportera des marqueurs biologiques et hormonaux de l'état nutritionnel, des marqueurs du stress oxydatif, des dosages de micro-nutriments notamment les acides gras insaturés, dont les acides oméga 3 et les folates ainsi que l'analyse du polymorphisme de l'enzyme clé du cycle des folates, la méthylène-tétrahydro-folate réductase (MTHFR). La mise en évidence de différences clinicobiologiques dans le statut nutritionnel entre les femmes normo-ovulatoires et les femmes présentant des troubles de l'ovulation permettra d'établir des recommandations adaptées selon le type de troubles afin de prévenir leur apparition ou permettre leur régression. D'autre part, ces résultats pourraient permettre de formuler les bases d'un futur essai d'intervention pour une prise en charge nutritionnelle associée aux traitements inducteurs de l'ovulation. Au même titre qu'une alimentation adaptée est capable de prévenir les maladies cardio-vasculaires et certains cancers, l'alimentation pourrait constituer un élément essentiel, mais largement négligé dans la prévention et la prise en charge de l'infertilité d'origine ovulatoire.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

Impact cytotoxique et génotoxique des cryoprotecteurs utilisés pour la vitrification des ovocytes humains

COURBIERE Blandine - Université de la Méditerranée

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Si elle pouvait être réalisée en routine, la cryoconservation des ovocytes humains matures pourrait avoir de nombreuses applications en médecine de la reproduction : alternative à la congélation des embryons dans les procédures de fécondation in vitro, préservation de la fertilité avant la mise en route d'un traitement anticancéreux gonadotoxique, création de « banques » d'ovocytes pour les patientes souffrant d'insuffisance ovarienne précoce. Les premières naissances humaines après cryoconservation d'ovocytes ont été rapportées en 1986 après congélation lente et en 1999 après vitrification. Cependant, les ovocytes matures sont un des types cellulaires les plus difficiles à congeler, du fait de leur sensibilité particulière aux cristaux de glace. La vitrification est une technique de cryoconservation actuellement en plein essor en médecine de la reproduction. La vitrification consiste à transformer un liquide en un état vitreux ou amorphe, grâce à l'utilisation de cryoprotecteurs à haute concentration et à des vitesses de refroidissement élevées. La vitrification permet de conserver un échantillon biologique sans qu'il y ait eu formation de cristaux de glace. Nous avons pour projet d'étudier les risques cytotoxiques et génotoxiques des cryoprotecteurs (diméthylsulfoxyde et éthylène glycol) utilisés à haute concentration dans le cadre de différents protocoles de vitrification actuellement décrits pour la vitrification des ovocytes humains.

Résultats attendus : Etude des concentrations cytotoxiques et des concentrations génotoxiques des cryoprotecteurs, c'est à dire recherche des effets mutagènes éventuels ou non au niveau de l'ADN ovocytaire. Etude génotoxique de protocoles de vitrification utilisés en médecine humaine. La vitrification des ovocytes matures est une technique innovante, qui mérite cependant de prouver son innocuité à long terme sur la descendance.

Méthodologie :

Notre modèle d'évaluation des risques mutagènes utilise une lignée cellulaire CHO (Cellules d'ovaires d'Hamster Chinois), dont le modèle a été validé sur le plan international pour les études de génotoxicité (OCDE guidelines). Les résultats de génotoxicité sur notre modèle d'étude, les cellules CHO, sont théoriquement extrapolables à l'ovocyte humain, car l'espèce joue peu sur les phénomènes mutagènes.

- Etude de la cytotoxicité des cryoprotecteurs (diméthylsulfoxyde et éthylène Glycol) par des réactions colorimétriques (test de cytotoxicité au WST-1) sur des lignées cellulaires CHO. - Etude de la génotoxicité des cryoprotecteurs:

- Test des comètes pour rechercher des lésions primaires de l'ADN
- Test des micronoyaux pour rechercher des dommages chromosomiques

Etude de la cytotoxicité et de la génotoxicité de différentes solutions cryoprotectrices et de différents protocoles de vitrification décrits pour la vitrification des ovocytes humains et comparaison avec la méthode classique de congélation lente sur cellules CHO.

Résultats

Aye, M., C. Di Giorgio, M. De Mo, A. Botta, J. Perrin, et B. Courbiere. 2010. « Assessment of the genotoxicity of three cryoprotectants used for human oocyte vitrification: Dimethyl sulfoxide, ethylene

glycol and propylene glycol ». *Food and Chemical Toxicology* 48 (7): 1905-12.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.032>.

Berthelot-Ricou, A., J. Perrin, T. Orsière, M. Aye, A. Roustan, A. Botta, et B. Courbiere. 2013. « Risque génotoxique et ovocytes : principes de toxicologie génétique et applications ». *Gynécologie Obstétrique & Fertilité, Dix-huitièmes Journées nationales de la Fédération française d'étude de la reproduction (Rouen)*, 41 (9): 544-47.

Berthelot-Ricou, Anais, Jeanne Perrin, Carole Di Giorgio, Michel De Meo, Alain Botta, et Blandine Courbiere. 2011. « Comet Assay on Mouse Oocytes: An Improved Technique to Evaluate Genotoxic Risk on Female Germ Cells ». *Fertility and Sterility* 95 (4): 1452-57.

Berthelot-Ricou, Anais, Jeanne Perrin, Carole di Giorgio, Michel de Meo, Alain Botta, et Blandine Courbiere. 2011. « Assessment of 1,2-Propanediol (PrOH) Genotoxicity on Mouse Oocytes by Comet Assay ». *Fertility and Sterility* 96 (4): 1002-7.

Poster

Etude du risque génotoxique des protocoles de vitrification ovocytaire par test des comètes sur ovocytes de souris.



Anaïs BERTHELOT-RICOU^{1,2}, Jeanne PERRIN^{1,3}, Audrey ROUSTAN¹, Carole DI GIORGIO⁴, Michel DE MEO⁴, Alain BOTTA¹, Blandine COURBIERE^{1,5*}.

¹ Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie (IMBE), UMR CNRS7263/IRD237, Equipe Biogénotoxicologie, Santé Humaine et Environnement, FR CNRS 3098 ECCOREV, Faculté de Médecine de l'Université d'Aix-Marseille, Marseille.
² Pôle de Gynécologie-Obstétrique, CHU de la Réunion, Site CHFG, route de Bellepierre, 97400 Saint Denis, Île de la Réunion.
³ CECOS - Laboratoire de Biologie de la Reproduction, AP-HM La Conception, 147 Bd Baïlle, 13005 Marseille.
⁴ Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement (CEREGE), UMR CNRS 7330, Europôle Méditerranéen de l'Arbois, Aix-en-Provence.
⁵ Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie (IMBE), Laboratoire de Mutagenèse et Toxicologie Environnementales, IMBE, Faculté de Pharmacie de l'Université d'Aix-Marseille, Marseille.
^{*} Pôle de Gynécologie-Obstétrique et Reproduction, AP-HM La Conception, 147 Bd Baïlle, 13005 Marseille.
^{*} blandise.courbiere@imbe.fr / blandise.courbiere@ap-hm.fr



Introduction

La vitrification des ovocytes est devenue en une dizaine d'année une technique de routine en biologie de la reproduction, avec naissance de plusieurs centaines d'enfants dans le monde. La vitrification est un processus physique qui permet - grâce à l'utilisation de cryoprotecteurs à haute concentration - de piéger les solutions aqueuses dans un état solide dit amorphe ou « vitreux »; évitant ainsi toute formation de cristaux de glace pouvant être délétères pour les cellules. Dans un travail préliminaire, notre équipe avait étudié la génotoxicité de trois cryoprotecteurs sur une lignée cellulaire CHO, et nous avons observé des lésions de l'ADN induites par le 1,2 propanediol (PrOH) [1]. Des lésions de l'ADN avaient ensuite été observées chez des ovocytes de souris après exposition au PrOH à haute concentration [2, 3]. **L'objectif de ce travail a été d'étudier, grâce au test des comètes sur ovocytes de souris, les risques génotoxiques de trois protocoles de vitrification:**

Matériels et méthodes

1. Exposition des ovocytes aux protocoles de vitrification

Les ovocytes ont été obtenus après superovulation chez des souris CD1. Des groupes de 40 ovocytes ont été exposés à trois kits de vitrification commercialisés selon les recommandations des fabricants :
 - **Protocole 1 (P1)** : diméthylsulfoxyde (DMSO) + éthylène glycol (EG),
 - **Protocole 2 (P2)** : DMSO + EG
 - **Protocole 3 (P3)** : PrOH + EG
 les 3 protocoles de vitrification ont été appliqués à 3 reprises sur 3 groupes de 40 ovocytes
 Les ovocytes ont tous été vitrifiés en système fermé Cryotip® (Irvine Scientific® Unit 31, Wicklow, Ireland)

2. Test des comètes sur ovocytes de souris

Ce test a été réalisé sur des groupes de 40 ovocytes de souris [2] à 3 reprises
 (1) **Immédiatement** après exposition des ovocytes aux **solutions de vitrification**
 (2) **Après Vitrification**, réchauffement, réhydratation, rinçage et **incubation de 3 heures à 37 °C**.
 - Les **contrôles négatifs** (Cont Neg) étaient, pour les comètes avant vitrification, un groupe de 40 ovocytes maintenus à T° ambiante dans du milieu M2, pour les comètes après réchauffement un groupe de 40 ovocytes maintenus à 37 °C dans du milieu M16;
 Pour le **contrôle positif** (Cont Pos) 40 ovocytes ont été exposé juste avant la réalisation du test, durant 5min à 4 °C dans l'obscurité, à du **Peroxyde d'Hydrogène (H₂O₂)**

→ Le test des comètes a pour but de détecter et quantifier les lésions primaires de l'ADN d'une cellule individualisée.
 L'ADN lésé apparaît sous la forme de comètes dont la partie distale est proportionnelle au nombre de cassures de brin. L'interprétation de ce test est quantitative grâce au logiciel Komet 6.0. L'Olive Tail Moment (OTM) est défini comme le produit du pourcentage d'ADN réparti dans la queue de la comète par la distance entre les barycentres de la tête et de la queue de la comète.

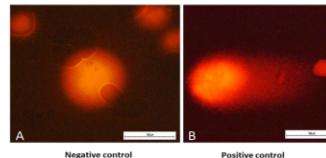


Figure 1
Aspect de l'ADN ovocytaire après test des comètes et coloration à l'Iodure de Propidium. A : Témoin négatif; B : après exposition à un agent génotoxique: H₂O₂ à 250µM, 5 minutes à 4 °C.

Résultats

Figure 2: Génotoxicité des protocoles de vitrification Immédiatement après exposition aux solutions de vitrification

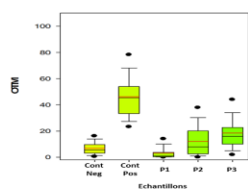
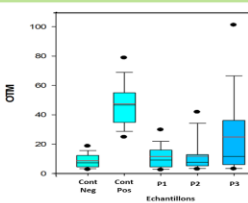


Figure 3: Génotoxicité des protocoles de vitrification après vitrification, réchauffement et réhydratation



1. Test de comètes avant vitrification

L'exposition aux solutions d'équilibration et vitrification des protocoles 1 et 2 contenant de l'EG et du DMSO, n'a pas induit de lésions significatives de l'ADN par au témoin négatif. la solution 3 composée de PrOH et EG a induit des lésions primaires d'ADN de façon statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

Groupe	n	Médiane OTM	25%	75%	T	U ^a	valeur p ^b
Première partie: Test des comètes après exposition des ovocytes de souris aux solutions de vitrification							
Cont Neg	54	5.515	3.043	9.697			
P1*	74	0.910	0.270	3.688	4622.500	858.500	<0.001
P2*	57	7.760	2.540	20.065	2720.500	1235.500	0.074
P3*	91	15.870	9.950	22.710	2364.500	879.500	<0.001

Groupe	n	Médiane OTM	25%	75%	T	U ^a	valeur p ^b
Deuxième partie: Test des comètes après vitrification, réchauffement, et réhydratation des ovocytes de souris							
Cont Neg	74	5.425	2.550	10.455			
P1**	65	7.230	2.510	14.240	4827.000	2128.000	0.243
P2**	29	5.740	3.135	10.980	1605.000	976.000	0.479
P3**	49	9.810	4.060	34.780	3627.000	1224.000	0.002

Test de Normalité de Shapiro-Wilk significatif p<0.050
 Cont Neg: témoin négatif, ovocytes à T° ambiante dans du milieu M2
 *: exposition des ovocytes aux solutions d'équilibration et vitrification des protocoles 1,2,3
 **: vitrification, réchauffement, réhydratation et incubation des ovocytes à 37°C pendant 3h
^a: Test de Mann-Whitney, U Statistique
^b: significativité statistique pour p<0.05

Après vitrification des ovocytes de souris avec les protocoles 1 et 2, nous n'avons pas observé de lésions statistiquement significatives de l'ADN par rapport au groupe témoin négatif, tandis que la vitrification avec le protocole 3 a induit des lésions significatives de l'ADN par rapport au groupe témoin négatif.

2. Test de comètes après vitrification, réchauffement, réhydratation

Tableau 1:
Analyse statistique du test des comètes avant et après vitrification.

Conclusion

Nos résultats montrent sur modèle souris l'absence d'effet génotoxique des protocoles de vitrification utilisant du DMSO et de l'EG. En revanche, nous avons observé un effet génotoxique du PrOH sur ovocytes de souris qu'il soit employé seul [3] ou en association avec de l'EG, que ce soit avant et après vitrification. L'extrapolation à l'ovocyte humain se doit d'être prudente car l'ADN de l'ovocyte de souris n'est pas parfaitement identique à celui de la femme, mais pourrait nous conduire à préférer l'utilisation de protocoles de vitrification sans PrOH.

Références

- [1] Age M, Di Giorgio C, De Meo M, Botta A, Perrin J, Courbiere B. Assessment of the genotoxicity of three cryoprotectants commonly used for human oocyte vitrification: dimethyl sulfoxide, ethylene glycol and propylene glycol. Food Chem Toxicol, 2010; 48: 1905-12.
 [2] Berthelot-Ricou A, Perrin J, Di Giorgio C, De Meo M, Botta A, Courbiere B. Comet assay on mouse oocytes: an improved technique to evaluate genotoxic risk on female germ cells. Fertil Steril, 2011; 95:1452-7.
 [3] Berthelot-Ricou A, Perrin J, Di Giorgio C, De Meo M, Botta A, Courbiere B. Assessment of 1,2-propanediol genotoxicity on mouse oocytes by comet assay. Fertil Steril, 2011; 96:1002-7.

Année: 2009

Perturbations épigénétiques induites par la culture in vitro de l'embryon : dérégulation des séquences rétrovirales

DURANTHON Véronique - INRA

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : le précédent projet soutenu par l'Agence de la biomédecine (GENINVITRO) met en évidence une surexpression de certaines séquences de type rétroviral, induite par la culture in vitro de l'embryon préimplantatoire de mammifères. Ces séquences sont habituellement exprimées lors de l'activation transcriptionnelle du génome embryonnaire (EGA) et nos données montrent que leur expression est étroitement associée à l'état toti/pluripotent des cellules de l'embryon. L'objectif de ce projet est d'analyser l'hypothèse selon laquelle, au cours de l'EGA, l'expression de ces séquences rétrovirales est affectée par l'état de méthylation de leurs séquences LTR régulatrices qui serait lui-même altéré par la culture in vitro de l'embryon. La persistance de ces dérégulations (surexpression, hypométhylation des LTR) sera testée au cours du développement fœtal et son éventuelle transmission aux embryons issus d'individus développés in vitro analysée. Enfin, le lien fonctionnel entre la sous expression du gène MAT2A, (impliqué dans la synthèse de S adenosyl methionine (SAM), principal donneur de groupements methyl dans la cellule), également observée dans l'embryon cultivé in vitro et la dérégulation de l'expression des séquences rétrovirales sera recherché. Résultats attendus : Ce projet apportera une contribution importante à l'analyse de l'innocuité de la culture in vitro de l'embryon de mammifères. Alors que la question du risque épigénétique lié aux procédures d'AMP est le plus souvent posée par rapport aux gènes soumis à empreinte parentale, ce projet propose d'analyser les conséquences de la culture in vitro sur la régulation des séquences rétrovirales qui pourraient à moyen terme constituer un nouveau « sensor » pour évaluer ce risque. Méthodologie : L'embryon de lapin, choisi pour ses similitudes avec l'embryon humain, cultivé in vitro ou développé in vivo, sera utilisé comme modèle. Deux types de séquences rétrovirales surexprimées in vitro seront analysés, leur expression sera quantifiée par qRT-PCR; la méthylation de leurs LTR sera analysée par traitement au bisulfite puis clonage séquençage et/ ou pyroséquençage. Des embryons cultivés in vitro seront transférés dans des femelles receveuses pour l'analyse des fœtus et la transmission à la descendance. Le lien fonctionnel entre sous-expression de MAT2A et dérégulation des séquences rétrovirales sera analysé par ARN interférence. Enfin, les conséquences plus générales de la sous-expression MAT2A seront analysées par analyse du transcriptome embryonnaire sur le réseau dédié et quantification de la méthylation globale du génome par immunofluorescence indirecte (anticorps anti 5 methyl cytosine).

Résultats

Reis e Silva, Adriana R., Céline Bruno, Renaud Fleurot, Nathalie Daniel, Catherine Archilla, Nathalie Peynot, Carolina M. Lucci, Nathalie Beaujean, et Veronique Duranthon. 2012. « Alteration of DNA demethylation dynamics by in vitro culture conditions in rabbit pre-implantation embryos ». *Epigenetics* 7 (5): 440–446.

Reis Silva, Adriana R., Pierre Adenot, Nathalie Daniel, Catherine Archilla, Nathalie Peynot, Carolina M. Lucci, Nathalie Beaujean, et Véronique Duranthon. 2011. « Dynamics of DNA Methylation Levels in Maternal and Paternal Rabbit Genomes after Fertilization ». *Epigenetics: Official Journal of the DNA Methylation Society* 6 (8): 987-93.

Dynamics of DNA Methylation levels in Rabbit Preimplantation Embryos Developed *in Vivo* or *in Vitro*

Silva A.R.R.^{1,2}, Bruno C.^{1,3}, Fleuret R.^{1,3}, Daniel N.^{1,3}, Adenot P.^{1,3}, Archilla C.^{1,3}, Peynot N.^{1,3}, Lucci, C.M.², Beaujean, N.^{1,3}, Duranthon V.^{1,3}

1- INRA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy en Josas, France.
2- Faculty of Veterinary Medicine, University of Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brazil.
3- ENVA, F-94704 Maisons Alfort, France.

Introduction

DNA methylation alterations have been attributed to *in vitro* culture and may alter normal embryo development. We chose to analyse DNA methylation reprogramming in the rabbit which among species with a delayed transcriptional activation of the embryonic genome allows easy comparisons between *in vivo*-developed (IVD) and *in vitro*-cultured (ITD) embryos. In this species, the variations of DNA methylation had not been previously quantified during preimplantation development even in IVD embryos.

Materials and methods

IVD and ITD embryos were recovered at the 2, 4, 8 and 16 cell, morula and blastocyst stages. ITD embryos were cultured in B2 medium with or without 2.5% FCS (B2S or B2) at 38.5 ° C in 5 % CO₂ in air. Blastocysts were hemi-sectioned with a scalpel in order to avoid biases due to reduced penetration of labeled molecules into the blastocoel. Immunostaining for 5-methyl cytosine and DNA labelling by EthD2 were then performed. The embryos were observed on a microscope with structured illumination and analysed by fluorescence quantification. Quantitative analyses of DNA methylation levels and total DNA contents were estimated by quantifying fluorescence signals as follows: 1) the area of each nucleus was outlined manually and the mean fluorescence intensity was measured for both 5-mC and EthD-2 images, 2) the mean fluorescence intensities were divided by the acquisition times of the corresponding signal and 3) these corrected mean fluorescence intensities were multiplied by the nuclei areas to obtain the total fluorescence intensities for both 5-mC and EthD2. Finally, DNA methylation levels (5-mC total fluorescence intensities) were divided by total DNA contents (EthD2 total fluorescence intensities) to calculate normalized methylated DNA quantities.

Results

Dynamics of DNA methylation reprogramming in IVD and ITC rabbit embryos

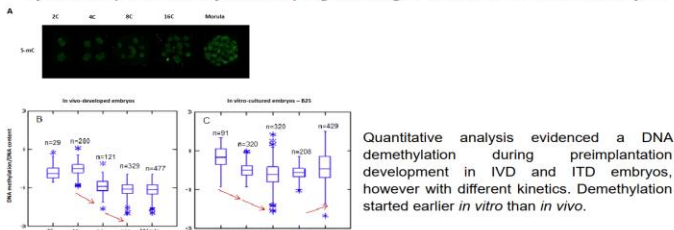
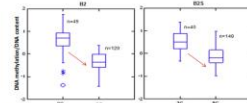


Figure 1 - (A) Representative images of 5-mC immunostaining during preimplantation development of *in vivo*-developed rabbit embryos. (B-C) Normalized DNA methylation levels (5-mC/EthD-2) in the nuclei of (B) *in vivo*-developed or (C) *in vitro*-cultured (B2S) rabbit embryos. On these box plots, values between the inner and outer fences are plotted with asterisk. n= number of blastomeres analyzed at each stage. The arrows indicate a significant difference (p<0.05) between two consecutive development stages.

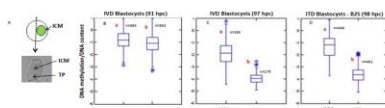
Variations in DNA demethylation kinetics with culture media composition



Embryo culture conditions and especially the presence of serum affects the extent of DNA demethylation during cleavages.

Figure 2 - Normalized DNA methylation levels (5-mC/EthD-2) in rabbit embryos cultured in B2 or B2S media. n= number of blastomeres analyzed. On these box plots, values between the inner and outer fences are plotted with asterisk. The arrows indicate a significant difference (p<0.05) between two consecutive development stages. The letters indicate a significant difference (p<0.05) between treatments.

DNA methylation in rabbit blastocysts



The ICM was more methylated than the trophectoderm.

Figure 3 - (A) Representative example of *in vivo*-developed blastocyst after hemi-section. (B-D) Normalized DNA methylation levels (5-mC/EthD-2) in blastocysts either *in vivo*-developed (IVD) (B) or *in vitro*-cultured (ITD) in B2S (D). n= number of blastomeres analyzed. On these box plots, values between the inner and outer fences are plotted with asterisk. The letters indicates a significant difference (p<0.05) between inner cell mass (ICM) and trophectoderm (TP) cells of blastocysts within each development time for each condition of development (IVD at 91 hpc, IVD at 97 hpc or ITD at 98 hpc).

Discussion and Perspectives

- This study provided the first quantitative analysis of DNA methylation dynamics during both *in vivo* and *in vitro* preimplantation development in the rabbit.
- The quantitative data evidenced a gradual demethylation in IVD or ITD embryos during successive cell cleavages, as reported in cattle, mice, sheep and pigs.
- The rabbit blastocysts behave in the same way as cattle, mice, pigs, sheep and human with their ICM cells more methylated than their trophectoderm cells. Despite a morphological delay in *in vitro* cultured blastocysts, the difference in DNA methylation between ICM and trophectoderm appeared at the same time post-fertilization in IVD and ITD embryos, which may reflect another difference in the dynamics of DNA methylation during blastocyst formation.
- The data establish an effect of embryo environment on DNA methylation reprogramming over preimplantation development in non rodent species.
- Taken together, the results showed differential effects of different culture conditions stressed the need for further researches to optimize culture media and conditions especially in the perspective of the development of Assisted Reproductive Technologies.

Année: 2009

Poursuite du suivi des enfants conçus par fécondation in vitro avec le diagnostic préimplantatoire (DPI)

FOIX – L'HELIAS Laurence - hôpital Saint-Louis

[Retour tableau](#)

Résumé

Le diagnostic pré-implantatoire (DPI) permet de diagnostiquer des pathologies génétiques au stade embryonnaire et peut donc être considéré comme une forme de diagnostic prénatal très précoce. L'avantage de cette technique est d'éviter un diagnostic prénatal et son corollaire qu'est, le cas échéant, l'interruption médicale de grossesse (IMG) lorsque le fœtus est atteint. Depuis les premières grossesses obtenues après DPI, il y a près de 15 ans au Royaume-Uni, cette technique s'est répandue et a évolué. En France, le DPI est autorisé dans trois centres : l'hôpital Antoine Béchère-Necker (Clamart), le Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical-C.M.C.O. (Strasbourg) et l'hôpital Arnaud de Villeneuve (Montpellier). Face à l'évolution de l'ensemble de ces techniques et aux manipulations de plus en plus importantes des gamètes qu'elles impliquent, les équipes médicales sont confrontées à de nombreux problèmes d'évaluation des pratiques et surtout d'analyse des éventuels retentissements possibles sur la santé des enfants. Un suivi clinique systématique des enfants nés après DPI a déjà été mis en place depuis 2001 et concerne aujourd'hui plus d'une centaine d'enfants conçus par DPI et ICSI et plus d'une cinquantaine d'enfants conçus par ICSI sans DPI. Cette étude a été financée dans le cadre du PHRC 2005 AOM 05040.

Les premiers résultats du suivi de cette cohorte ont fait l'objet d'une présentation orale lors du 8^{ème} congrès « International Symposium on Preimplantation Genetic Diagnosis » à Barcelone en avril 2008. L'objectif de cette enquête est de suivre la santé et le développement d'enfants nés après DPI dans les 3 centres qui utilisent cette technique de façon à avoir une cohorte nationale. Il s'agit d'une étude multicentrique de cohorte de type exposés / non exposés réalisée par une équipe multidisciplinaire (biologistes, obstétriciens, pédiatres et épidémiologistes). Le suivi est prévu jusqu'à l'âge de 8 ans avec un examen clinique ou un questionnaire à 1, 2, 5 et 8 ans. Une évaluation du développement de l'enfant par une psychologue est également prévue à 5 ans en utilisant le test de WPPSI-III (Echelles de WECHSLER). Des enfants conçus par ICSI (Intra Cystoplasmic Sperm Injection) seront également suivis comme témoins.

Les caractéristiques maternelles et néonatales seront recueillies à partir de questionnaires et des dossiers médicaux. Après la naissance, des questionnaires (à 2 ans et 5 ans) ainsi que le test de WPPSI-III réalisé par une psychologue à 5 ans, enfin des examens cliniques (à 1 an et 8 ans) permettront d'évaluer le développement somatique et psychomoteur de l'enfant ainsi que ses caractéristiques psychologiques et comportementales. Les données médicales seront enregistrées séparément des données nominatives auxquelles elles ne seront reliées que par un numéro d'anonymat. L'objet de cette demande est de permettre la poursuite de cette cohorte (poursuite du suivi des enfants déjà inclus et poursuite des inclusions pour les DPI à venir) dont les résultats sont importants pour l'évaluation des activités novatrices en AMP.

Résultats

Foix-L'Hélias, Laurence, Michael Grynberg, Béatrice Ducot, Nelly Frydman, Violaine Kerbrat, Jean Bouyer, et Philippe Labrune. 2014. « Growth Development of French Children Born after In Vitro Maturation ». Édité par Pascale Chavatte-Palmer. PLoS ONE 9 (2): e89713.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

Endométriose I/II traitée et fertilité

HEDON Bernard - CHU Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Justifications:

Au sein d'un couple infertile, l'endométriose légère et modérée, une fois traitée chirurgicalement, offre deux options thérapeutiques : la fertilité spontanée ou le recours à l'AMP avec IUI.

La question est posée dans la dernière publication de J.-L. Pouly [Pouly J.-L. Stérilité par endométriose. EMC, Gynécologie, 150-A-70, 2007] sur le sujet. Il cite : « Les IUI donnent des résultats non négligeables dans cette indication, particulièrement si elles suivent de près le traitement chirurgical. Faut-il commencer immédiatement après celui-ci ou peut-on raisonnablement attendre 6 à 9 mois ? Ce sont les deux options. Aucune étude ne permet de répondre à cette interrogation. »

Les prises en charge déjà existantes et leurs limites :

Plusieurs attitudes thérapeutiques dans le traitement de l'infertilité par endométriose de stade I/II :

- traitement chirurgical coelioscopique seul puis attente de 6 à 12 mois en fertilité spontanée avant de débiter la prise en charge en AMP. Les résultats de la fertilité spontanée paraissent encore insuffisants.
- traitement chirurgical coelioscopique et IAC d'emblée. Le bénéfice de la prise en charge directement après la chirurgie n'a jamais été évalué.
- IAC d'emblée sans traitement chirurgical préalable dans le cadre d'une infertilité inexplicée. Le diagnostic d'endométriose n'est alors pas fait. Le traitement chirurgical est nécessaire pour le diagnostic

mais aussi le traitement initial de la maladie. Dans notre équipe, nous procédons toujours à une coelioscopie diagnostique et thérapeutique.

Objectifs :

Evaluer si les inséminations intra-utérines directement après traitement chirurgical de l'endométriose stade I/II apportent un avantage en termes de taux de grossesse et de délai d'obtention de la grossesse.

Matériel et méthodes :

Critères d'inclusion :

- âge : 18-36 ans inclus
 - infertilité primaire ou secondaire inexplicquée
 - coelioscopie diagnostique montrant une endométriose stade I/II
 - consentement éclairé signé
 - couples répondant à toutes les conditions de réglementation de l'AMP
- Critères d'exclusion :
- âge < 18 ans et > 36 ans
 - antécédent de traitement de l'endométriose
 - antécédent de prise en charge en AMP
 - endométriose stade III/IV
 - toute cause d'infertilité autre que l'endométriose
- Randomisation :

Enveloppes de randomisation numérotées et tirées par ordre de numérotation, faites selon des tables de permutation aléatoires de quatre éléments. 2 bras randomisés :

- 1 bras: fertilité spontanée pendant 6 mois
- 1 bras: « prise en charge en AMP » en post-opératoire immédiat, avec 3 à 4 IUI dans les 6 mois.

Toutes les patientes bénéficieront d'un traitement chirurgical des lésions d'endométriose le plus total. L'inclusion dans l'étude se fait après cette chirurgie.

Les patientes appartenant au bras « prise en charge en AMP » seront revues 15 jours après le traitement chirurgical pour débiter un traitement par IUI couplé à une stimulation de l'ovulation selon les protocoles dans le service de médecine de la reproduction.

Tableau récapitulatif de suivi :

	Visite 1: inclusion	Visite 2: à 1 mois 1/2	Visite 3: à 8 mois
Consentement éclairé	X		
Randomisation		X	
Interrogatoire	X	X	X
Examen clinique	X		

Critères de jugement :

1. Critère principal

Obtention d'une grossesse intra-utérine objectivée à l'échographie pelvienne précoce (6-7 SA)

2. Critères secondaires

- Délai d'obtention de la grossesse
- Evaluation de la douleur
- Evolution de la grossesse
- Taux de grossesses biochimiques (dosage de BétaHCG qualitatifs > 1).

- Taux de grossesses ayant conduit à la naissance d'un enfant viable.

Nombre de sujets nécessaires :

68 patientes par groupe et 10% de pertues de vue, soit 150 personnes au total

Lieux de recherche et investigateurs :

L'étude se déroulera dans le service de gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction du CHRU Arnaud de Villeneuve à MONTPELLIER.

Les investigateurs ont tous les compétences requises pour inclure et traiter les patientes dans les meilleures conditions possibles.

Résultats

Dechanet, C., S. Rihaoui, L. Reyftmann, B. Hedon, S. Hamamah, et H. Dechaud. 2011. « [Endometriosis and fertility: Results after surgery and Assisted Reproductive Technology (ART)]. » Gynecologie, obstetrique & fertilité 39 (1): 3–7.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

Assistance médicale à la procréation et risque de cardiopathies congénitales : étude en population

KHOSHNOOD Babak - Inserm, ADR Paris 6

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectif principal : Estimer le risque de cardiopathies congénitales associé à différentes méthodes d'AMP pour l'ensemble des cardiopathies congénitales, ainsi que pour des sous-groupes de malformations cardiaques et certaines cardiopathies spécifiques majeures isolées (ex. : transposition des gros vaisseaux, hypoplasie du cœur gauche, tétralogie de Fallot).

Méthodes : Deux sources de données seront utilisées pour ce projet : 1) le registre des malformations congénitales de Paris et 2) l'étude EPICARD (Etude sur le devenir des enfants porteurs de cardiopathies congénitales). Une étude cas-témoin en population sera réalisée pour évaluer le risque de cardiopathies congénitales en relation avec l'AMP. Les cas incluront l'ensemble des cardiopathies congénitales (incluant les sous-groupes des malformations et les malformations spécifiques majeures isolées) dans la base de données du Registre et celle de l'étude EPICARD. La définition des sousgroupes de cardiopathies congénitales se réalisera en consultation avec des cardiopédiatres impliqués dans l'étude EPICARD. Au total, environ 5000 cas de cardiopathies congénitales seront inclus. Le choix des témoins est un point clef de notre étude dans laquelle nous utiliserons d'autres témoins malformés de la base de données du Registre (cf. Méthodes dans la description du projet pour les critères de sélection des témoins). La variable prédictive principale, l'AMP, sera étudiée en quatre catégories : aucune, inducteurs seuls, FIV, et ICSI. Les variables considérées comme facteurs de confusion potentiels ou d'interaction incluent l'âge maternel, la parité et les facteurs socioéconomiques.

Résultats attendus : Vu le peu de données sur le risque de cardiopathies congénitales en relation avec l'exposition à l'AMP, notre étude peut fournir des informations sur le risque associé à l'AMP qu'il serait difficile (et même impossible) à obtenir dans une étude de type cohorte, étant donné les moyens nécessaires pour étudier de tels devenir rares, surtout en ce qui concerne les sous-groupes de cardiopathies congénitales ou bien les malformations spécifiques majeures isolées.

Résultats

Tararbit, K., L. Houyel, D. Bonnet, C. De Vigan, N. Lelong, F. Goffinet, et B. Khoshnood. 2011. « Risk of Congenital Heart Defects Associated with Assisted Reproductive Technologies: A Population-Based Evaluation ». *European Heart Journal* 32 (4): 500-508.

Tararbit, K., N. Lelong, A.-C. Thieulin, L. Houyel, D. Bonnet, F. Goffinet, B. Khoshnood, et on Behalf of the EPICARD Study Group. 2013. « The Risk for Four Specific Congenital Heart Defects Associated with Assisted Reproductive Techniques: A Population-Based Evaluation ». *Human Reproduction* 28 (2): 367-74.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

Validation finale du G-CSF Folliculaire comme biomarqueur non invasif du potentiel d'implantation embryonnaire

LEDEE Nathalie - ADR Villejuif

[Retour tableau](#)

Résumé

Seuls 5% des ovocytes ponctionnés et 15 à 20% des embryons transférés aboutissent à la naissance d'un enfant en fécondation in vitro. La qualité ovocytaire principalement affectée par l'âge est le principal facteur limitant en reproduction humaine. Nous n'avons pourtant à l'heure actuelle aucun outil diagnostique (morphologique ou génétique) attestant de la qualité d'un ovocyte en termes de potentiel implantatoire. Basé sur les résultats de 3 études successives, le Granulocyte-colony Stimulating Factor (G-CSF) apparaît comme un biomarqueur immunologique du potentiel d'implantation. L'objectif de cette recherche est de savoir si la documentation du GCSF folliculaire permet effectivement d'augmenter les taux de grossesse évolutive dans une population de bon pronostic chez qui l'on souhaite limiter les risques de grossesses multiples tout en assurant une chance de succès maximale. Il est donc nécessaire (1) de valider la sensibilité et la spécificité d'un prototype ELISA pour une utilisation en routine et (2) de confirmer que le G-CSF folliculaire est un biomarqueur non invasif du potentiel d'implantation de l'ovocyte correspondant selon un mode prospectif, multicentrique, randomisé en double aveugle.

La première étape consiste à tester le prototype de dosage du G-CSF dans les centres ayant participé aux recherches préliminaires et dont le profil immunologique est déjà documenté par Luminex. En effet, le coût et la complexité de la technologie Luminex limitent son utilisation en routine. Une SME MITHRA (partenaire 3) développe un prototype adapté à l'usage en routine que le réseau clinique (partenaire 2) testera. Les résultats attendus sont de reproduire la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positives et négatives du G – CSF, évaluées par Luminex.

La seconde étape est le protocole prospectif, multicentrique randomisé évaluant l'utilité du dosage en routine de la concentration du G-CSF folliculaire pour le choix du seul embryon à transférer pour le Single Embryo Transfer, après consentement éclairé. Pour harmoniser la méthodologie dans le réseau clinique, tous possèdent la même infrastructure informatique pour le recueil de leurs données cliniques et biologiques. Une formation validant les techniques d'utilisation du prototype Elisa sera effectuée sur chaque site. Les données anonymes sont transférées sur un serveur sécurisé pour leur interprétation à la fin de la période d'inclusion.

Résultats

Ledee, N., V. Gridelet, S. Ravet, C. Jouan, O. Gaspard, F. Wenders, F. Thonon, et al. 2013. « Impact of Follicular G-CSF Quantification on Subsequent Embryo Transfer Decisions: A Proof of Concept Study ». *Human Reproduction* 28 (2): 406-13.

Lédée, Nathalie, Carine Munaut, Valérie Sérazin, Sophie Perrier d'Hauterive, Letizia Lombardelli, Federica Logiodice, Robert Wainer, et al. 2010. « Performance Evaluation of Microbead and ELISA Assays for Follicular G-CSF: A Non-Invasive Biomarker of Oocyte Developmental Competence for Embryo Implantation ». *Journal of Reproductive Immunology* 86 (2): 126-32.

Le G-CSF Folliculaire est-il un biomarqueur prospectif non invasif du potentiel d'implantation embryonnaire ?

Nathalie Lédée MD, PhD

Equipe INSERM UMRS 782: « Implantation et Dialogue Cytokinique Mère-Conceptus », Hopital Antoine Béclère clamart



Introduction

La qualité ovocytaire reste un facteur majeur limitant le succès des traitements de procréation médicalement assistée (PMA). Seuls 5% des ovocytes collectés en PMA et 20 à 25% des embryons transférés conduisent à une naissance. L'analyse de la morphologie ovocytaire est faiblement discriminante et permet principalement une sélection négative. L'observation morphologique séquentielle des embryons, bien qu'efficace, reste peu discriminative du potentiel d'implantation. Parvenir à documenter la qualité et la compétence des ovocytes dont ils sont issus est donc requise pour améliorer le choix des embryons à transférer est donc un enjeu majeur. Dans le cadre de recherche sur les mécanismes de l'implantation embryonnaire, nous avons découvert que la mesure du Granulocyte-Colony Stimulating Factor dans des fluides folliculaires individualisés (FF G-CSF) permettait de documenter la compétence ovocytaire aussi bien en cycles naturels et stimulés. Les concentrations du FF G-CSF évalué en microbilles (Luminex Map Technology, Bio-Rad) présisent significativement le potentiel d'implantation de l'embryon correspondant et ceci indépendamment de la morphologie embryonnaire. L'objectif de cette nouvelle étude est d'évaluer l'impact potentiel du dosage individuel du G-CSF sur la politique de transfert d'embryons- à savoir si cette information modifierait le choix de l'embryologiste de transférer en frais, congeler ou détruire les embryons correspondants.

Matériels et méthodes- résultats

Au CPMA de l'Université de Liège, entre mai 2008 et mai 2010, les traitements réalisés pour ICSI chez 78 patientes ont permis d'analyser 523 FF individuels d'ovocytes ayant donné 116 embryons transférés frais, 278 embryons congelés dont 80 seront secondairement transférés, et 131 embryons détruits et donc non transférés. Nous confirmons que le FF G-CSF est prédictif de la survenue d'une implantation: l'aire sous la courbe ROC évaluant le pouvoir discriminant du FF G-CSF à prédire une grossesse évolutive, après analyse multivariée atteint 0.77 ([0.69-0.83]- $p < 0.001$) alors qu'elle atteint seulement 0.66 ([0.58-0.73] $p = 0.01$) pour l'observation morphologique des embryons. Afin d'évaluer l'impact combiné du FF G-CSF et du score morphologique de l'embryon, nous avons catégorisé le FF G-CSF en 3 classes : 1 si > 30 pg/ml (la plus haute valeur prédictive positive pour l'implantation), 2 si < 30 pg/ml et $> 18,4$ pg/ml, et 3 si $< 18,4$ pg/ml (la plus grande valeur prédictive négative pour l'implantation) et ABC pour la morphologie.

Les embryons issus d'ovocytes de classe 1 pour le FF G-CSF ont un taux d'implantation de 36% alors qu'il décroît à 16% pour les classes II et 6% pour les classes III. De manière cohérente, les embryons de classe I pour le G-CSF et de qualité morphologique optimale atteignent des taux d'implantation de 54% ($p < 0.001$) alors qu'un embryon de même morphologie mais Classe III pour le G-CSF restera à 6% de taux d'implantation (fig.1). La moitié des grossesses gemellaires sont survenues grâce au transfert de 2 embryons A pour la morphologie- Classe I pour le G-CSF. Ces grossesses gemellaires auraient donc pu être prévenue.

Un choix non optimal a été réalisé chez 24% (24/78) des patientes aboutissant à une diminution des taux de grossesses de 38% à 12% ($p = 0.02$) entre les patientes avec choix optimal versus non optimal si l'on tient compte du FF G-CSF.

L'hypothèse est que l'on observerait une augmentation relative de 35% de taux de grossesse par un choix éclairé par la connaissance du FF G-CSF en ce qui concerne l'embryon à transférer.

Pour les embryons congelés, seuls 35% des embryons congelés viennent d'un follicule de Classe I et 15% de classe III. Les taux d'implantation observés pour les embryons congelés au décours de leur décongélation étaient de 35 % pour les Classe I, 9 % pour les Classe II et 3 % pour les Classes III (Fig.2).

En ce qui concerne les embryons détruits, 10% d'entre-eux étaient de Classe I pour le G-CSF malgré une morphologie mauvaise.

Pour 5 patientes (6%), l'embryon au plus haut potentiel a été détruit et ne

l'aurait sans pas été.

Fig 1: Répartition des embryons en fonction de leur concentration de G-CSF et leurs taux implantatoires correspondants

FF G-CSF (pg/ml) category	Nbre D'embryons	Taux d'implantation rate (12 SA)	FF G-CSF (A-B-C) Et type d' Embryon (A-B-C)	Nbre D'embryons	Taux d'implantation rate (12 SA)
I > 30 pg/ml	59	36.4%**	IA	27	53.7%**
			IB	14	28.5 %
			IC	18	16.6 %
II 18-30 pg/ml	105	16.8 %	IIA	36	19.4 %
			IIIB	28	16 %
			IIIC	41	14%
III <18 pg/ml	31	6%	IIIA	15	6%
			IIIB	6	8%
			IIIC	10	5%

** $p < 0.001$ entre les categories I versus II and III

Fig.2: Taux d'implantation des embryons congelés- décongelés et transférés en fonction de leur concentration de G-CSF folliculaire

FF G-CSF des embryons congelés- décongelés et transférés	Nombre d'échantillons Analysés	Taux d'implantation (12 SA)
Categorie I > 30 pg/ml	21	35.7 % ***
Categorie II 18-30 pg/ml	45	8.6%
Categorie III < 18 pg/ml	14	3%

$P < 0.0001$ between Category I versus Category II and III

Conclusion

La mesure du FF G-CSF pourrait, en améliorant la connaissance de la potentialité des embryons générés

(1) augmenter de 35% les taux d'implantation au premier transfert d'embryon frais en PMA,

(2) permettre un meilleur contrôle des grossesses multiples dont les impacts sur la morbidité maternelle et fœtale sont démontrés

(3) réduire le nombre d'embryons cryopréservés à ceux conservant une potentialité tout en sauvegardant certains embryons destinés à la destruction selon leur simple morphologie.

L'utilisation clinique d'un tel biomarqueur pourrait réduire le temps nécessaire à l'obtention d'une grossesse, et permettre dès lors l'économie à la fois d'énergie, et de

coûts, engendrés par des cycles inutiles.

Année: 2009

Attitudes et représentations en matière d'assistance médicale à la procréation et de génétique de la reproduction en France

MOREAU Caroline - ADR PARIS XI

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : L'émergence de la génétique de la reproduction, conduit à l'extension des champs d'application de l'AMP, jusqu'alors essentiellement réservées aux couples infertiles, à de nouvelles indications dont il reste à définir les contours. Ces évolutions, et la distance croissante entre les modalités dites « naturelles » de la reproduction humaine et les processus rendus possibles par l'innovation scientifiques, génèrent de nouvelles questions, éthiques, sociales et légales. Le recueil de données scientifiques sur ces enjeux, tant auprès des professionnels de santé que des usagers paraît plus que jamais essentiel pour enrichir le débat public.

Objectifs : Dans le contexte de la révision de la loi sur la bioéthique en 2009, l'objectif de cette étude est d'explorer les attitudes de la population concernant l'utilisation, les effets secondaires et la régulation de l'accès aux techniques de procréation médicalement assistées en France ainsi qu'à la pratique de tests diagnostics sur l'embryon ou le fœtus. L'étude sera conduite par une équipe de recherche pluridisciplinaire associant épidémiologistes, démographes et sociologues.

Méthodologie : L'étude est un volet spécifique d'un dispositif de recherche plus large, le projet FECOND, dont l'objectif général est d'explorer différents enjeux en santé sexuelle et reproductive du point de vue des acteurs impliqués (les professionnels de santé, les femmes et les hommes). L'originalité de cette démarche est d'intégrer pour la première fois, l'étude des représentations et attitudes de la population générale en matière d'AMP et génétique de la reproduction, à un cadre d'analyse pluri-thématique large. Ceci permettra à la fois de confronter ces attitudes à d'autres normes en matière de procréation (âge à la parentalité, nombre idéal d'enfant, attitudes vis-à-vis de l'IVG), et de les mettre en perspective avec les expériences reproductives des individus (tel que le recours aux traitements de l'infertilité) ainsi qu'avec leurs antécédents pathologiques graves ou chroniques.

Cette étude est un module spécifique de l'enquête FECOND réalisé en population générale. Il s'agit d'une enquête socio-épidémiologique quantitative auprès d'un échantillon aléatoire représentatif de la population générale vivant en France métropolitaine. Cette enquête sera conduite par téléphone auprès de 5000 femmes et 3000 hommes âgés de 15 à 49 ans. Le volet spécifique dédié aux représentations et attitudes en matière d'AMP et génétique de la reproduction consiste en une série de 12 questions.

Retombées attendues : Cette étude a vocation à constituer une première enquête nationale de référence sur le sujet, de manière à suivre ultérieurement l'évolution de ces représentations et pratiques dans le temps. Les données contribueront à éclairer et alimenter le dialogue entre la population, les acteurs politiques et les professionnels de santé autour des questions de santé publique liées à la reproduction humaine.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

Etude des facteurs moléculaires de non-disjonction ovocytaire, et nouvelles approches pour la réduction de l'aneuploidie

PELLESTOR Franck - INSERM ADR 8 Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Les erreurs de ségrégation (non-disjonctions) dans les ovocytes humains sont à l'origine de 90% des aneuploïdies, et il a été mis en évidence un lien direct entre l'âge maternel et la survenue de ces anomalies. Les recherches menées sur divers organismes ont permis d'identifier les protéines impliquées dans le contrôle de la ségrégation chromosomique au cours de la méiose, dont certaines pourraient devenir déficientes avec le vieillissement. Ainsi, l'aneuploïdie est prévenue par un système de contrôle de l'assemblage du fuseau de division, le système SAC (Spindle Assembly Checkpoint). De concert avec ce système, diverses protéines dont CENP-E et l'Aurora kinase B (Aurkb) contrôlent l'alignement des chromosomes sur le fuseau. De plus, d'autres protéines (Rec8, Sughoshin) s'associent aux chromosomes pour prévenir la séparation prématurée des chromatides sœurs durant la méiose. Chez l'homme, l'identité et le fonctionnement de ces facteurs moléculaires restent mal connus. Ce projet a pour but d'étudier 3 facteurs de ces mécanismes de contrôle de la ségrégation chromosomique dans l'ovocyte humain, en utilisant des techniques sophistiquées d'imagerie cellulaire, d'analyse chromosomique et génique, et de blocage de l'expression génique. Les 3 points étudiés seront : le fonctionnement du système SAC dans la méiose féminine et sa sensibilité à l'âge; le rôle des protéines CENP-E et Aurkb dans l'alignement des chromosomes; et le rôle des cohésines Rec8 et Sughoshin dans la prévention des séparations prématurées des chromatides et l'effet de l'âge maternel sur leurs fonctionnements.

Ce projet fournira une approche directe du déroulement de la méiose, et ainsi contribuera à une meilleure connaissance de la genèse des aneuploïdies et de sa relation avec l'âge. De plus, ce travail peut ouvrir la voie à de nouvelles approches pour la prévention des non-disjonctions et l'amélioration des protocoles d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP).

Résultats

Pellestor, F., T. Anahory, G. Lefort, J. Puechberty, T. Liehr, B. Hedon, et P. Sarda. 2011. « Complex Chromosomal Rearrangements: Origin and Meiotic Behavior ». *Human Reproduction Update* 17 (4): 476-94.

Pellestor, Franck, Jacques Puechberty, Anja Weise, Geneviève Lefort, Tal Anahory, Thomas Liehr, et Pierre Sarda. 2011. « Meiotic Segregation of Complex Reciprocal Translocations: Direct Analysis of the Spermatozoa of a t(5;13;14) Carrier ». *Fertility and Sterility* 95 (7): 2433.e17-2433.e22.

Poster

Etude des facteurs moléculaires de non-disjonction ovocytaire et effet de l'âge maternel

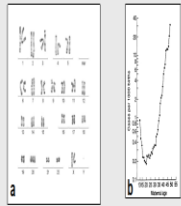
Franck Pellestor

Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, 34295 Montpellier, France
@: f-pellestor@chu-montpellier.fr

Objectifs

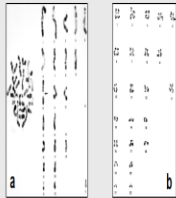
Dans l'espèce humaine, les anomalies chromosomiques constituent l'essentiel des anomalies observées à la naissance, ainsi que la principale cause de mortalité embryonnaire. Ces anomalies peuvent être transmises par le spermatozoïde ou l'ovocyte lors de la fécondation. Pour la plupart, ce sont des erreurs de transmission des chromosomes, appelées *non-disjonctions*, qui apparaissent préférentiellement lors de la formation des ovocytes humains. Il existe un lien direct entre l'âge maternel et la survenue de ces anomalies.

Aujourd'hui, des recherches menées sur divers organismes (bactéries, champignons, souris) ont permis d'identifier des protéines impliquées dans la régulation de la ségrégation chromosomique qui pourrait devenir déficiente avec le vieillissement maternel. Chez l'homme, l'identité et la fonction de ces facteurs moléculaires restent mal connues. Notre projet a pour but d'étudier ces mécanismes de contrôle de la ségrégation chromosomique dans l'ovocyte humain, en utilisant des techniques sophistiquées d'imagerie cellulaire et d'analyse de l'expression des gènes.

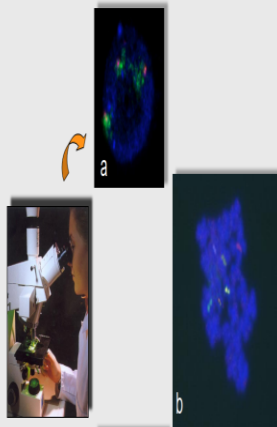


Caryotype d'une trisomie 21 (a) et diagramme de corrélation entre l'âge maternel et la fréquence des anomalies chromosomiques à l'issue (b)

L'étude de la formation et de l'étiologie de ces anomalies constitue une importante thématique de recherche. Nous avons été l'une des premières équipes à visualiser les chromosomes d'ovocytes et de spermatozoïdes humains, à identifier leurs anomalies chromosomiques et à analyser leur transmission.



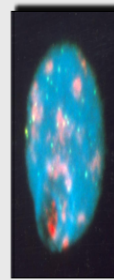
Caryotypes de spermatozoïde (a) et d'ovocyte humains (b)



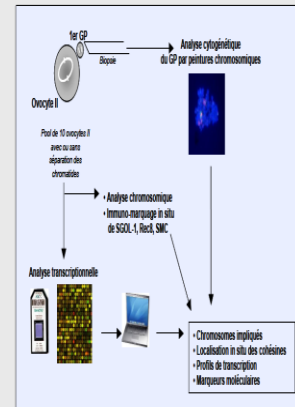
Images de microscopie à fluorescence réalisées sur des noyaux (a, c) et des chromosomes (b) d'ovocytes humains, et permettant de visualiser sous forme de spots lumineux, certains chromosomes, et des anomalies de nombre, comme la présence de 3 copies du même chromosome (a)

Approches expérimentales

Une première approche vise à localiser dans les noyaux d'ovocytes humains isolés, les chromosomes et les principales protéines participant à la mise en place des chromosomes sur le fuseau de division et à la ségrégation de ces chromosomes. Le choix s'est porté sur les chromosomes les plus fréquemment impliqués dans les trisomies (chromosomes 13, 16, 21), et pour lesquels l'effet de l'âge maternel sur la survenue des trisomies est clairement identifié. Les protéines détectées sont des molécules qui assurent la positionnement des chromosomes sur le fuseau de division (CENP-E, Aurkb) et le contrôle de leur ségrégation (Mad2, BubR1).



Co-marquage des chromosomes (en rouge) et de protéines nucléaires de régulation (en vert)



La deuxième partie du projet combine l'analyse chromosomique des ovocytes isolés avec l'analyse globale de l'expression des gènes de ces cellules, afin de réaliser une étude génétique approfondie (chromosomique + génique) des mécanismes de contrôle de la ségrégation chromosomique, en fonction de l'âge maternel.

Cette étude fournit une approche directe du déroulement de la méiose, et contribue à une meilleure connaissance de la genèse des aneuploïdies et de sa relation avec l'âge maternel. De plus, ce travail peut ouvrir la voie à de nouvelles thérapies pour le traitement de l'infertilité.

Année: 2009

Préservation de la fertilité : évaluation de 2 protocoles congélation lente et vitrification d'ovaires humains entiers

SALLE Bruno - INSERM ADR LYON

[Retour tableau](#)

Résumé

L'objectif de cette recherche est de transposer nos acquis en cryobiologie ovarienne chez l'animal à l'espèce humaine. Des ovaires de femmes jeunes seront prélevés au cours de coéloscopies avec leurs pédicules lombo-ovariens sur une longueur de 10 cm, ces jeunes femmes doivent être opérées pour une chirurgie de transsexualisme et leurs ovaires sont considérés comme des déchets opératoires.

Méthodologie : Pour chaque femme deux ovaires seront prélevés. Un sera immédiatement fixé pour les analyses histologiques ultérieures. L'autre sera soit congelé à l'aide d'un protocole de congélation lente, soit vitrifié grâce à la solution de vitrification de Fahy (VM3). Les ovaires seront immédiatement lavés avec une solution de sérum physiologique et de l'héparine. Puis perfusés à travers l'artère avec la solution de cryoprotecteurs (DMSO 2M et BM1, plus 10 % de sérum de veau fœtal). Pour la vitrification la solution est une solution croissante du cryoprotecteur (VM3, solution vendue par Fahy et qui contient des molécules appelées super ice cooling molecules). Les perfusions au cours des deux protocoles sont réalisées grâce une pompe péristaltique (Watson Marlow) à la vitesse de 0,35 ml/mn durant 10 mn. Puis l'ovaire dans le protocole lent est congelé grâce à un protocole de congélation lente (Seeding semi automatique à - 7°C). Dans le protocole de vitrification l'ovaire sera immédiatement plongé dans l'azote liquide. Un mois après la congélation les ovaires seront réchauffés et décongelés puis fixés pour les analyses histologiques, des tests de viabilité de bleu trypan, dosage de la LDH et recherche de la fragmentation de l'ADN des follicules primordiaux par la méthode Tunel. Nous évaluerons la fonctionnalité des follicules par un système de culture tissulaire du cortex ovarien et l'immunomarquage de l'AMH et du GDF9 dans les follicules.

Résultats attendus : L'objectif final de ce travail est de transposer les résultats obtenus chez l'animal à l'espèce humaine. Nous voulons évaluer la toxicité des cryoprotecteurs et des protocoles de cryopréservation en termes de survie des follicules primordiaux. La conservation de l'organe entier et de son pédicule vasculaire permettra, dans le cadre de protocole de préservation de la fonction ovarienne, de stocker un maximum de follicules primordiaux. Elle permettra aussi lors des transplantations futures de restaurer immédiatement la vascularisation évitant la période d'ischémie au cours de laquelle nous savons qu'a lieu le maximum de perte folliculaire.

Résultats

Torre, A., F. Ben Brahim, T. Popowski, R. Boudjenah, B. Salle, et J. Lornage. 2013. « Factors Related to Unstained Areas in Whole Ewe Ovaries Perfused with a Metabolic Marker ». Human Reproduction 28 (2): 423-29.

Torre, A., M. Momier, C. Mazoyer, J. Selva, B. Salle, et J. Lornage. 2012. « Validation of a New Metabolic Marker to Assess the Vascular Viability of Vitrified Whole Sheep Ovaries ». Human Reproduction 27 (6): 1811-21.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

NR5A1 et l'infertilité

BASHAMBOO Anu - Institut Pasteur

[Retour tableau](#)

Résumé

NR5A1 (également appelé SF-1), membre de la superfamille des récepteurs nucléaires, est un régulateur de la transcription des gènes clés impliqués dans l'axe hypothalamo-hypophyso-stéroïdogène. Nous avons identifié plusieurs mutations dans le gène NR5A1 associées à certains phénotypes d'infertilité humaine : insuffisance ovarienne primaire et infertilité masculine. Ces mutations sont peut-être la cause génétique la plus importante de ces phénotypes. Cette proposition vise à comprendre le mécanisme par lequel ces mutations sont associées à ces phénotypes. Pour y parvenir, nous allons analyser les propriétés biochimiques et fonctionnelles des protéines mutées en analysant leur capacité à subir des modifications post-traductionnelles, ainsi que leur capacité à se lier à des éléments connus de régulation, en synergie avec les cofacteurs de transactivation de gènes cibles. La capacité de chacune des protéines mutées qui vont directement interagir physiquement avec des cofacteurs spécifiques, notamment l'ARN non codant SRA, sera étudiée. Ces données seront utilisées pour déterminer le mécanisme par lequel des mutations de NR5A1 entraînent une défaillance des ovaires et de la spermatogenèse et permettront d'identifier les autres facteurs génétiques responsables d'infertilité.

Résultats

Bashamboo, Anu, Bruno Ferraz-de-Souza, Diana Lourenço, Lin Lin, Neil J. Sebire, Debbie Montjean, Joelle Bignon-Topalovic, et al. 2010. « Human Male Infertility Associated with Mutations in NR5A1 Encoding Steroidogenic Factor 1 ». The American Journal of Human Genetics 87 (4): 505-12.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Nouveaux systèmes pour la cryopréservation d'ovocytes par congélation ou par vitrification

BAUDOT Anne - Inserm U698

Hôpital Xavier Bichat

[Retour tableau](#)

Résumé

Les avancées réalisées au niveau des traitements anticancéreux entraînent aujourd'hui un nombre de plus en plus croissant de jeunes femmes guéries souhaitant avoir un enfant. Or les traitements de chimiothérapie et de radiothérapie sont à l'origine d'une perte importante de fertilité, voire de stérilité précoce. En réponse à ce problème, la cryoconservation de systèmes biologiques semble une solution pleine de promesse puisqu'elle peut être en particulier envisagée pour les ovocytes, soit par la méthode de congélation lente (refroidissement lent en présence d'une faible quantité d'agent cryoprotecteur, avec formation de glace extracellulaire), soit par la méthode de vitrification (refroidissement rapide en présence d'une quantité élevée d'agent cryoprotecteur, sans aucune formation de glace). Cependant, malgré de récents progrès, ces deux techniques appliquées aux ovocytes ne donnent pas encore satisfaction. La cryopréservation des ovocytes matures est en effet délicate du fait du volume cytoplasmique important de cette cellule germinale qui contient une teneur en eau beaucoup plus élevée que les autres cellules, posant des problèmes au moment de la congélation. De plus, le noyau est bloqué en métaphase méiotique II, ce qui rend le fuseau mitotique très fragile et particulièrement sensible à la température et au stress osmotique. A la suite d'une congélation lente, moins de 2% des ovocytes décongelés donnent jusqu'à présent lieu à la naissance d'un enfant. En ce qui concerne la vitrification des ovocytes, elle n'est actuellement pas envisagée dans la plupart des pays (dont la France) à cause de la cytotoxicité des solutions cryoprotectrices nécessaires pour vitrifier.

Le projet que nous souhaitons développer propose, en se basant sur les compétences précédemment développées en chimie, conservation de cellules, tissus et cryobiologie, d'utiliser des techniques innovantes pour résoudre les problèmes liés aux procédures de refroidissement et de réchauffement en synthétisant de nouveaux polymères biocompatibles ou cryogels utilisables aux températures cryogéniques). Ce projet vise 1) à mettre au point, avec les cryogels, des conditions de congélation de gamètes femelles viables et fonctionnels en utilisant des techniques de congélation permettant de s'affranchir ou de réduire la quantité des cryoprotecteurs cytotoxiques, source de dérives possibles au niveau du patrimoine génétique ; 2) à étudier les protocoles de réchauffement adapter à utiliser pour obtenir des gamètes fonctionnels ; 3) à mettre au point les techniques de vitrification de ces gamètes en l'absence, ou avec une diminution très importantes en concentration, des cryoprotecteurs.

Résultats

Bruyère, P., A. Baudot, C. Guyader-Joly, P. Guérin, G. Louis, et S. Buff. 2012. « Improved Cryopreservation of in Vitro-Produced Bovine Embryos Using a Chemically Defined Freezing Medium ». *Theriogenology* 78 (6): 1294-1302.

Poster



Development of a polysaccharide hydrogel to cryopreserve endothelial cells and aortic tissue

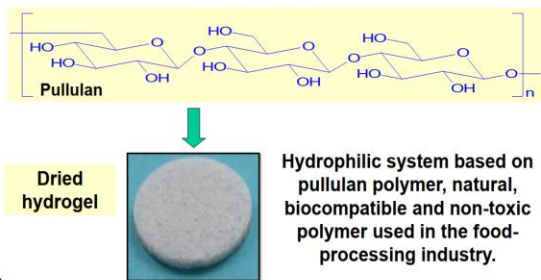
Hatte Louis^{#,§*}, Abed Aïcha^{#,§*}, Baudot Anne[§], Louis Gérard[§], Aoudia Souad[§], Assoul Nabila^{#,§}, Letourneur Didier[#], Meddahi-Pellé Anne^{#,§}.

Inserm, U1148, LVTS, Université Paris 7, Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Hôpital Bichat, Paris, § Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, § Université Paris 5, Sorbonne Paris Cité

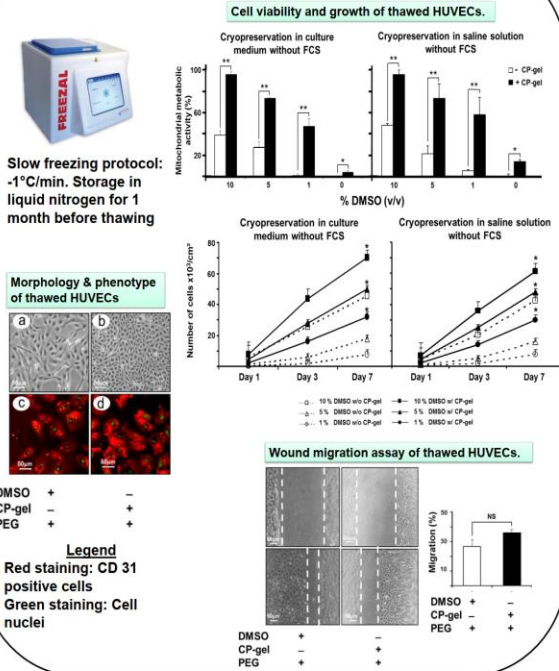
Isolated cells and tissues are routinely cryopreserved and stored in biobanks for cell or clinical therapy. Cryopreserved vessels have been considered as potential alternatives to prosthetic materials when autogenous veins are unavailable and/or inappropriate in vascular surgery. However, tissue fractures and reduction of endothelial function are observed after thawing. Because of their function, endothelial cell preservation is a crucial point to consider in the mid and long-term viability of arterial grafts. Recently, our laboratory developed and patented a biocompatible polysaccharide-based hydrogel (CP-gel) as a new medical device for cell or tissue preservation.

This study evaluated the ability of CP-gel to improve the preservation of endothelial cells and aortic vessels after cryopreservation by using slow freezing protocol and compared the results with the clinical gold standard protocol (10%DMSO).

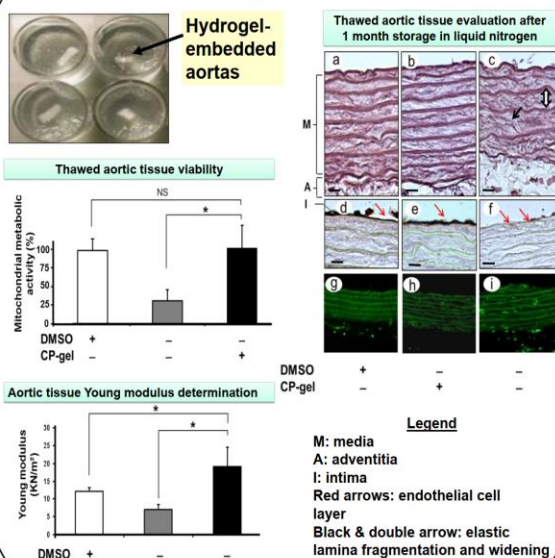
Hydrogel synthesis



Endothelial cell cryopreservation



Aorta cryopreservation



Conclusion

Cell viability and functionality were preserved in CP-gel after slow freezing procedure. Aortic tissue cryopreserved in CP-gel exhibited an endothelial cell layer and an improvement of mechanical vessel properties compared to the control group after thawing. CP-gel could be used to improve cells or tissue cryopreservation in biobanking.

Authors thank the Agency of Biomedicine for its financial support.

* These authors contributed equally to this work.

Année: 2010

Reprogrammation chromatinienne de l'embryon vue par les techniques de micro-ChIP dans le modèle murin

BOURC'HIS Déborah - Equipe « Décisions épigénétiques et reproduction chez les mammifères », Institut Curie

[Retour tableau](#)

Résumé

Les évènements de différenciation inhérents au développement sont initiés par des facteurs de transcription ayant une spécificité de séquence, et sont maintenus par des modifications épigénétiques, comme la méthylation de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des histones. Le développement précoce des mammifères se caractérise par un remaniement drastique des profils épigénétiques hérités des gamètes. Cette reprogrammation est essentielle à l'acquisition d'un état de pluripotence à l'origine de la capacité de l'embryon à former une pléthore d'identités cellulaires. Elle est aussi impliquée dans la première décision de lignage de l'embryon, qui consiste à maintenir un état embryonnaire pluripotent ou à former le trophoctoderme à l'origine des tissus extraembryonnaires. Malgré l'importance de ce phénomène, la cinétique développementale, les cibles et les effets transcriptionnels de ces remaniements épigénétiques sont mal connus. Les études de profils de méthylation de l'ADN ont révélé une déméthylation massive des éléments transposables (TE) et de gènes de pluripotence de la fécondation à l'implantation, puis une reméthylation des TE dans la phase suivante. En revanche, les données quant aux modifications d'histones sont plus parcellaires et les quelques études cytologiques menées sur des embryons préimplantatoires ne donnent qu'une information nucléaire globale. La plupart des effets corrélatifs entre profils chromatinien, statut transcriptionnel et pluripotence ont été étudiés in vitro sur des cellules ES. La difficulté d'étudier la conformation chromatinienne de séquences particulières sur une quantité réduite de matériel a limité jusqu'à présent l'analyse des embryons très précoces.

Nous proposons de développer au laboratoire une méthode d'immunoprécipitation de chromatine spécialement adaptée à un nombre limité de cellules (micro-ChIP), dans le but de comprendre la spécificité, la cinétique et la fonction des remaniements des profils d'histones des embryons préimplantatoires. Cette technique sera validée dans le modèle murin, par l'étude des éléments transposables qui subissent une relaxation épigénétique dans les cellules pluripotentes. Nous utiliserons les TE comme marqueurs de la reprogrammation de l'embryon, en corrélation avec leur taux d'expression. Leur statut hautement répété devrait améliorer le seuil de détection de la micro-ChIP. L'étude de ces séquences a de plus un intérêt immédiat en pathologie puisque ces éléments mobiles peuvent perturber l'architecture et la transcription des gènes. Ce projet fournira des données originales et importantes sur les liens entre profils épigénétiques, pluripotence et protection du génome. Il représente de plus un préalable indispensable à l'étude d'embryons humains pour lesquels les relations entre épigénétique et potentiel développemental sont quasiment inconnus.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Intérêt de la stratégie de transfert au stade zygotique, en fécondation in vitro (FIV/ICSI), pour les couples présentant une fragmentation précoce massive et récurrente de leurs embryons

DE LAROUZIERE Vanina - Histologie, Biologie de la Reproduction, CECOS

hôpital Tenon

[Retour tableau](#)

Résumé

La qualité des embryons obtenus en FIV (Fécondation In Vitro) est évaluée essentiellement sur des critères morphologiques et cinétiques, avant le transfert in utero qui se fait habituellement au deuxième (J2) ou troisième jour (J3) du développement embryonnaire. Les embryons de qualité satisfaisante qui n'ont pas été transférés, pour éviter le risque de grossesse multiple, sont congelés pour un transfert ultérieur. Parmi ces critères morpho-cinétiques, la fragmentation de l'embryon est un marqueur incontournable de qualité, inversement corrélée à son devenir. Or, 3% des couples présentent de façon imprévisible et récurrente une fragmentation précoce de la majorité de leurs embryons, aboutissant à une absence de transfert ou un échec d'implantation. Il a été montré dans certains modèles animaux que les facteurs régulateurs de mort cellulaire et de réponse au stress d'origine maternelle jouent un rôle crucial dans le développement embryonnaire précoce.

Nous avons alors fait l'hypothèse que les embryons de ces couples subissent de façon excessive les effets délétères des conditions de culture in vitro et, de ce fait, sont incapables de se développer normalement dans les conditions classiques de l'AMP. Nous proposons d'appliquer à ces couples une stratégie de transfert précoce à J1 au stade zygotique (ovocyte fécondé au stade des deux pronuclei ou 2PN) afin de soustraire leurs zygotes à l'effet potentiellement délétère de l'environnement in vitro. Les zygotes non transférés seront cultivés jusqu'à J2 pour valider le phénotype de fragmentation. Ceux qui échapperaient à cette fragmentation et évolueraient en embryons clivés de qualité satisfaisante seront congelés à J2.

Une étude préliminaire prospective non contrôlée, a été menée sur 53 couples présentant en moyenne 2.8 échecs de FIV/ICSI, associés à 50% de zygotes ou d'embryons massivement fragmentés et moins de 3% d'embryons de qualité optimale (« top embryos »). Quatorze grossesses cliniques ont résulté du premier transfert au stade zygotique, dont 10 évolutives avec naissance de 11 enfants en bonne santé, soit des taux de grossesse et d'accouchement respectivement de 26.4 % et 18.9 % par transfert. Ainsi, alors que chez ces couples, aucune grossesse n'avait été obtenue au cours de 147 tentatives précédentes aboutissant à 121 transferts au stade d'embryon clivé (Jour 2 ou 3 du développement embryonnaire), près de 20% des mêmes couples ont obtenu 1 enfant en 1 tentative de transfert zygotique.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Amélioration de la valeur prédictive de l'hormone anti-Müllérienne (AMH) en AMP

DI CLEMENTE-RENAULD-BESSE Nathalie - INSERM U782 PARIS XI

[Retour tableau](#)

Résumé

L'hormone anti-Müllérienne (AMH) Müllerian inhibiting substance est un membre de la famille du transforming growth factor beta (TGF- β) dont le rôle de plus connu est d'induire la régression des canaux de Müller, les ébauche des trompes et de l'utérus, chez le fœtus mâle. Chez la femelle où l'AMH est exprimée par les follicules en croissance, elle intervient dans le contrôle du recrutement des follicules primordiaux et leur maturation. Ces dernières années, son dosage s'est beaucoup développé en gynécologie. L'AMH sérique est un bon marqueur des tumeurs des cellules de la granulosa et de l'efficacité de leur traitement. Elle est surtout devenue un outil très précieux en Médecine de la Reproduction pour évaluer la réserve folliculaire d'une femme et la capacité de ses ovaires à être stimulés. L'objectif de ce projet est d'améliorer la valeur prédictive de l'AMH en AMP. Plus précisément, nous étudierons 1/ si la mesure de l'activité biologique de l'AMH ne serait pas plus pertinente, question qui n'a jamais été soulevée jusqu'à présent, 2/ comment l'AMH pourrait être un marqueur de la qualité embryonnaire et 3/ quel serait le rôle de l'AMH dans le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), qui est une des principales cause d'infertilité chez les femmes en âge de procréer. En effet, l'AMH doit être clivée pour être active mais on ne connaît pas la proportion d'AMH clivée dans le sérum et le liquide folliculaire. Nous prévoyons donc de la déterminer par des expériences d'immunoprécipitation suivies d'une analyse par western-blotting. Puis nous étudierons l'activité biologique de l'AMH dans ces fluides à l'aide d'un test sur plaque que nous venons de mettre au point au laboratoire. Nous chercherons également à confirmer que l'AMH est marqueur de la qualité embryonnaire dans les cycles semi-naturels, mais aussi dans les cycles stimulés. Nous étudierons pour cela le lien entre l'activité biologique de l'AMH folliculaire, la production d'AMH par les cellules de la granulosa et le taux de grossesses. Enfin nous poursuivrons l'exploration du rôle de l'AMH dans le SOPK, en mettant en culture des cellules de la granulosa obtenues après ponction et en étudiant leur réponse à différents stimuli.

Résultats

Pierre, Alice, Anthony Estienne, Chrystèle Racine, Jean-Yves Picard, Renato Fanchin, Belén Lahoz, José Luis Alabart, et al. 2016. « The Bone Morphogenetic Protein 15 Up-Regulates the Anti-Müllerian Hormone Receptor Expression in Granulosa Cells ». The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 (6): 2602-11.

Appel d'Offres « AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique »

Amélioration de la valeur prédictive de l'hormone anti-Müllérienne (AMH) en AMP

Nathalie Di Clemente^{1,2,3}

¹INSERM, U782, 32 rue des Carnets, Clamart F-92140, France

²Univ Paris-Sud, UMR-S0782, Clamart F-92140, France

³AP-HP, Service de Biochimie Hormonologie Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart F-92140, France

Objectifs

L'AMH est exprimée chez la femelle par les cellules de la granulosa (CGs) des follicules en croissance. Elle inhibe le recrutement des follicules primordiaux et leur maturation.

Ces dernières années, son dosage s'est beaucoup développé en gynécologie car il est un outil très précieux en Médecine de la Reproduction pour évaluer la réserve folliculaire d'une femme et la capacité de ses ovaires à être stimulés.

Ce projet de recherche a eu pour objectifs d'étudier:

1. si la mesure de l'activité biologique de l'AMH ne serait pas plus pertinente que le dosage de l'AMH.
2. le rôle de l'AMH dans le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), la principale cause d'infertilité chez les femmes en âge de procréer, qui est caractérisée par des taux d'AMH sériques et folliculaires élevés et par un grand nombre de follicules immatures.

Méthodologie

1) Mesure des formes biologiquement actives de l'AMH dans le liquide folliculaire et le serum, et comparaison avec les différentes formes d'AMH présentes dans ces fluides biologiques:

Mesure des formes biologiquement actives de l'AMH par le test que nous avons mis au point (di Clemente et al., 2010) et dont nous avons récemment amélioré la sensibilité.

Ce dosage consiste à fixer un anticorps anti-AMH sur une plaque ELISA, d'y ajouter l'AMH, puis une protéine de fusion constituée de la partie extracellulaire du récepteur spécifique de l'AMH humain (AMHR-II) couplée à la partie Fc des immunoglobulines (AMHR-II-Fc) et un anticorps contre les IgG humaines couplé à l'HRP. Par comparaison avec la quantité totale d'AMH, nous avons déterminé le % d'AMH bioactive dans différents liquides folliculaires (399, 400, 208, 3) et sera (mâle et femelle). Puis nous avons comparé ce résultat aux différentes formes d'AMH détectées dans les mêmes échantillons par immunoprécipitation et western-blotting.

2) Rôle de l'AMH dans le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)

Après avoir montré que l'AMH et l'AMHR-II étaient surexprimés par les CGs des femmes SOPK (Catteau-Jonard et al., 2008), nous avons voulu en comprendre la raison.

Pour cela, nous avons étudié si la régulation de l'AMH et de l'AMHR-II par les gonadotropines était différente dans des cultures de CGs obtenues après ponction de femmes normo-ovulantes et de femmes SOPK normo-ovulantes ou dysovulantes.

Nous avons testé l'effet d'un traitement de 48 h par la FSH ou la LH sur la synthèse et les ARNm de l'AMH et de l'AMHR-II par RT-qPCR.

Résultats

1) Mesure des formes biologiquement actives de l'AMH:

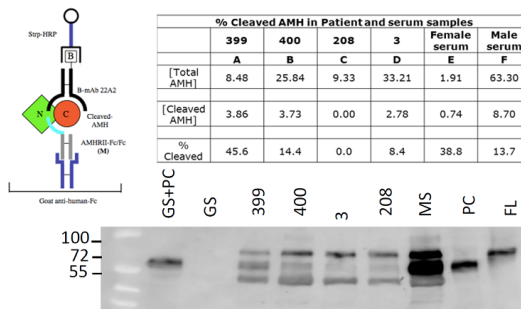


Figure 1: Pourcentage de formes actives de l'AMH présentes dans le liquide folliculaire (femmes 399, 400, 3, 208) ou le serum déterminée avec le dosage, et comparaison avec la proportion des différentes formes d'AMH détectée par immunoprécipitation et western-blotting. S : serum, G : goat, F : serum féminin, M : serum masculin, PC : AMH clivée, FL : AMH non clivée.

Nous trouvons une bonne corrélation entre le % de formes bioactives de l'AMH et celui de la forme clivée de l'AMH(PC).

2) Rôle de l'AMH dans le syndrome des ovaires polykystiques

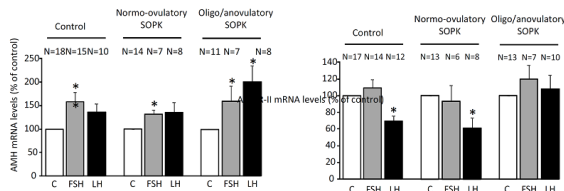


Figure 2: Effet de la FSH et de la LH sur l'expression des ARNm de l'AMH et de l'AMHR-II par des CGs de femmes contrôles, SOPK normo-ovulantes et SOPK dysovulantes.

Nous avons mis en évidence un effet stimulateur de la FSH sur l'expression de l'AMH dans les 3 groupes de femmes mais un effet stimulateur de la LH uniquement sur les CGs de femmes SOPK dysovulantes. Concernant l'expression de l'AMHR-II, nous avons montré qu'elle était inhibée dans les CGs des femmes contrôles et SOPK normo-ovulantes par la LH, alors que cette hormone n'a pas d'effet sur les CGs des femmes SOPK dysovulantes. Ce travail a été publié dans Human Reproduction en 2013 (Pierre et al., 2013).

Conclusion

Nous avons amélioré la sensibilité de notre dosage des formes biologiquement actives de l'AMH et montré que ce qui est mesuré correspond bien à de l'AMH clivée. Nous pouvons donc envisager à présent de comparer le % de formes biologiquement actives de l'AMH dans le liquide folliculaire de différents groupes de femmes. Nous avons montré que des hormones souvent dérégulées dans le SOPK comme la LH concourent à une surexpression du système AMH, ce qui pourrait expliquer le nombre accru de follicules immatures chez les femmes SOPK.

Année: 2010

Allogreffe utérine chez la brebis

GAUTHIER Tristan - Service de Gynécologie-Obstétrique Hopital Mère Enfant

CHU LIMOGES

[Retour tableau](#)

Résumé

Actuellement, les patientes ayant une absence d'utérus acquise ou congénitale ou des synéchies utérines complètes et désireuses d'un enfant ont comme seules solutions l'adoption ou la grossesse de substitution. Cette dernière, autorisée dans certains pays, est interdite en France. La greffe d'utérus pourrait être une alternative intéressante chez les patientes ayant une infertilité utérine et souhaitant mener une grossesse. Les allogreffes utérines pratiquées sur le porc, la brebis et le singe sont peu nombreuses dans la littérature. A ce jour aucune grossesse après allogreffe utérine n'a été décrite excepté chez les souris syngéniques.

Objectifs : Après avoir étudié la greffe ovarienne chez la brebis et la femme, nous désirons montrer la faisabilité chez la brebis d'une allogreffe utérine orthotopique associée à une immunosuppression optimale avec épargne en corticoïdes. L'objectif à terme est l'obtention de grossesse sur utérus greffé.

Résultats attendus : Nous prévoyons la réalisation de 10 transplantations utérines orthotopiques. Nous espérons un taux survie du greffon supérieur à 90 % avec le protocole immunosuppresseur. A 6 mois minimum du geste, les brebis seront inséminées. Nous espérons ainsi obtenir les premières grossesses après allogreffe utérines orthotopiques.

Méthodologie : Un prélèvement utérin avec les annexes et un large patch vasculaire sera réalisé chez la brebis donneuse sous anesthésie générale suivi d'euthanasie. La greffe orthotopique avec macroanastomoses vasculaires sera réalisée chez la brebis receveuse dans les suites immédiates du prélèvement de façon à réduire le temps d'ischémie froide. 10 greffes seront réalisées impliquant 10 brebis donneuses euthanasiées et 10 brebis receveuses.

Chaque greffe sera suivie d'un protocole d'immunosuppression comportant une induction par anticorps monoclonal anti-IL2, une association cyclosporine et mycophénolate mofetil et une corticothérapie brève sur 7 jours. Une artériographie sera réalisée à 8 semaines de chaque greffe afin contrôler la vascularisation utérine. A 3 mois de la greffe, une laparotomie exploratrice permettra l'analyse macroscopique du greffon. Une analyse histologique y sera systématiquement associée. A 6 mois de la transplantation et après stabilité du greffon, une substitution du mycophénolate, tératogène, par de l'azathioprine sera effectuée avant d'envisager une insémination de l'utérus greffé.

Résultats

Gauthier, T., F. Bertin, L. Fourcade, A. Maubon, F. Saint Marcoux, P. Piver, P. Marquet, et al. 2011. « Uterine Allotransplantation in Ewes Using an Aortocava Patch ». Human Reproduction 26 (11): 3028-36.

Gauthier, Tristan, Pierre Marquet, Dorra Kanoun, Antoine Maubon, Pascal Piver, Claude Couquet, et Yves Aubard. 2014. « Pelvic Magnetic Resonance Imaging in the Ewe: A Model for Experimental Gynecologic Research: Pelvic MRI in the Ewe ». Journal of Obstetrics and Gynaecology Research 40 (1): 133-38.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Génotypage de patientes infertiles pour un nouveau facteur de survie maternel. Etude cas-témoins multicentrique

GUERIN Jean-François - Service de médecine de la reproduction ; Hopital femme-mère-enfant

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Des signes d'apoptose, une forme de suicide cellulaire programmé, ont été décrits dans les ovocytes et l'embryon préimplantatoire à la fois in vitro et in vivo. En dépit de leur rôle crucial, les processus de mort cellulaire restent mal caractérisés dans ces tissus, notamment au niveau de leur contrôle génétique. Les régulateurs d'apoptose appartenant à la famille Bcl-2 occupent une place centrale dans les voies de décision de vie ou de mort cellulaire. Parmi ses membres, le facteur de survie Bcl2l10 est spécifiquement exprimé dans les ovocytes et l'embryon précoce humain. Le but du projet est d'étudier la variabilité génétique le long du gène Bcl2l10 chez des femmes fertiles et infertiles

Résultats attendus

Nous déterminerons si certaines variations alléliques détectées sur Bcl2l10 sont corrélées à l'infertilité féminine. Les effets possibles des variations observées sur l'expression du gène Bcl2l10 ou sur la fonction de son produit seront prédits, ouvrant la voie à des études fonctionnelles.

Méthodologie

Etude multicentrique de type cas – témoins portant sur des populations de femmes fertiles et infertiles. Séquençage moléculaire et analyse des séquences. Construction et test fonctionnel d'une protéine mutante recombinante.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Le don et son récit. Paradoxes bioéthiques et enjeux psychosociaux du don de sperme

KALAMPALIKIS Nikos - Groupe de Recherche en Psychologie Sociale (GRePS – EA 4163)

Institut de Psychologie – Université Lyon 2

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Ce projet s'intéresse à une technique de procréation spécifique, l'insémination avec donneur de sperme (IAD). Il se focalise sur un sujet d'une importance capitale, le devenir du récit de conception proposé aux enfants nés par don de sperme. Ce type de recherches, rarissimes à ce jour en France, pourrait contribuer de manière solide à mettre en évidence le vécu et les paradoxes de ces enjeux bioéthiques. Il compte approfondir les acquis d'outils validés (questionnaire national, guides d'entretiens, analyse législative), de partenariats établis (Fédération française des Cecos), de connaissance fine des populations sensibles impliquées (donneurs, couples), pour investiguer de manière ciblée de nouvelles pistes de recherche. Les partenariats nationaux et européens envisagés donneront une nécessaire dimension internationale à l'étude.

Méthodologies

Nous opterons pour la construction d'un échantillon de couples demandeurs de don basé sur trois variables : (i) le genre du membre du couple, (ii) le fait d'être dans une démarche initiale de demande de don ou de la renouveler, (iii) l'âge de l'enfant (temporalité de la première démarche). Le questionnaire, l'entretien individuel et l'entretien collectif (focus group) sont les trois techniques préconisées dans un esprit de triangulation méthodologique.

Résultats

1. une connaissance plus approfondie des systèmes de représentations et pratiques mis en jeu dans les positions adoptées vis-à-vis de l'IAD par une population directement impliquée et peu étudiée en France.
2. une compréhension des écarts observés dans la littérature scientifique internationale entre les possibilités offertes par les cadres législatifs, les intentions parentales et le devenir effectif du récit de conception proposé.
3. une toute première étude des préconisations des Etats généraux de bioéthique en matière de dons de gamètes.

Résultats

Doumergue, M., et N. Kalampalikis. 2020. « La fabrique parlementaire du discours bioéthique : analyse d'une arène de discussions ». *Pratiques Psychologiques* 26 (4): 279-94. <https://doi.org/10.1016/j.prps.2020.03.003>.

Haas, Valérie, et Nikos Kalampalikis. 2010. « Triangulation méthodologique à partir de l'énigme du don de sperme. », 59-73.

Kalampalikis, N., M. Doumergue, et S. Zadeh. 2018. « Sperm donor regulation and disclosure intentions: Results from a nationwide multi-centre study in France ». *Reproductive Biomedicine & Society Online* 5 (avril): 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.rbms.2018.02.001>.

Kalampalikis, N., V. Haas, N. Fieulaine, M. Doumergue, G. Deschamps, et H. Chiron. 2010. « Enjeux psychosociaux du don de sperme: le point de vue des couples ». *Andrologie* 20 (1): 37-44. <https://doi.org/10.1007/s12610-010-0066-3>.

Kalampalikis, Nikos, Marjolaine Doumergue, Valérie Haas, et Nicolas Fieulaine. 2012. « Enjeux bioéthiques et psychosociaux du don de sperme. Une recherche nationale ». *Carnets du GRePS*, n° 4: 20-25.

Kalampalikis, Nikos, Valérie Haas, Nicolas Fieulaine, Marjolaine Doumergue, et Gaëlle Deschamps. 2013. « Giving or giving back: New psychosocial insights from sperm donors in France ». *Psychology, Health & Medicine* 18 (1): 1-9. <https://doi.org/10.1080/13548506.2012.668195>.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Ségrégation méiotique et fragmentation de l'ADN dans les spermatozoïdes de porteurs d'anomalie chromosomique constitutionnelle et ICSI

MOREL Frédéric - INSERM U613 - CHU BREST

[Retour tableau](#)

Résumé

chromosomique de structure le pourcentage de spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés et celui avec un ADN fragmenté dans l'éjaculat total et dans les spermatozoïdes sélectionnés en vue d'une ICSI, de rechercher l'incidence de ces fréquences de spermatozoïdes déséquilibrés et fragmentés sur les résultats de l'ICSI, et de déterminer si les gamètes chromosomiquement déséquilibrés ont un ADN plus fragmenté que ceux dont l'équipement chromosomique est normal ou équilibré. Dans cette étude nous allons inclure environ 60 patients porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle. L'équipement chromosomique des spermatozoïdes est évalué par FISH et la fragmentation de l'ADN par la technique TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP Nick End Labeling assay). L'ICSI est réalisée selon les protocoles classiques. Les embryons sont classés d'après la classification de Puissant associée à la classification du Blefco. Les évaluations de l'équipement chromosomique et de l'ADN fragmenté réalisées sur éjaculat total et sur spermatozoïdes sélectionnés en vue d'une ICSI, chez un même patient permettront de voir s'il existe des variations de la fréquence des spermatozoïdes déséquilibrés et / ou fragmentés, notion jusqu'à présent jamais abordée dans la littérature. S'il existe de telles variations, la stratégie de préparation des spermatozoïdes permettant d'obtenir les pourcentages de spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés et fragmentés les moins élevés sera utilisée au laboratoire pour effectuer les ICSI. L'étude multi-variée effectuée afin de corréliser les résultats issus de la FISH et du TUNEL aux résultats après tentatives d'ICSI permettra peut-être de déterminer la fréquence de spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés ou fragmentés à partir de laquelle les chances de succès d'ICSI sont minimales ou nulles, notion jusqu'à présent très peu étudiée et très controversée.

Enfin, concernant l'éventuelle relation entre le taux de fragmentation de l'ADN spermatique et l'équipement chromosomique des gamètes, chez deux patients porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle, nous avons montré, pour la première fois, que les spermatozoïdes avec un ADN fragmenté sont majoritairement ceux dont l'équipement est déséquilibré. De plus, il apparaît lié au type de déséquilibre, dépendant du mode de ségrégation. Les résultats préliminaires que nous avons obtenus sont très prometteurs et permettront peut-être de contribuer à la compréhension des origines de la fragmentation.

Résultats

Perrin, Aurore, Ming Huong Nguyen, Bruno Delobel, Nadia Guéganic, Audrey Basinko, Marie-Josée Le Bris, Nathalie Douet-Guilbert, Marc De Braekeleer, et Frédéric Morel. 2012. « Characterization and Meiotic Segregation of a Supernumerary Marker Chromosome in Sperm of Infertile Males: Case Report and Literature Review ». *European Journal of Medical Genetics* 55 (12): 743-46.

SEGREGATION MEIOTIQUE ET FRAGMENTATION DE L'ADN SPERMATIQUE CHEZ DES HOMMES PORTEURS D'ANOMALIE CHROMOSOMIQUE CONSTITUTIONNELLE

INSERM U1078, laboratoire d'histologie, embryologie et cytogénétique,
 Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Bretagne Occidentale, Brest.
 Service de cytogénétique, cytologie et biologie de la reproduction, hôpital Morvan, CHRU Brest, Brest.



INTRODUCTION

L'infertilité affecte environ 15% des couples, dans 50% des cas, l'origine est masculine. De nombreuses études ont montré une élévation du taux de fragmentation de l'ADN spermatique chez les patients infertiles porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle. Ces travaux ayant été réalisés sur éjaculat total, nous ne savons pas si les gamètes fragmentés sont majoritairement ceux dont l'équipement chromosomique est déséquilibré. Le but de ce travail est de déterminer si les gamètes chromosomiquement déséquilibrés ont un ADN plus fragmenté que ceux dont l'équipement chromosomique est normal.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons étudié 10 patients infertiles dont 7 porteurs d'une translocation réciproque équilibrée et 3 porteurs d'une translocation robertsonienne dont le caryotype est précisé dans le tableau 1.

La fragmentation de l'ADN spermatique est étudiée par la technique TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP Nick-End Labeling assay). Après élimination de la rhodamine, la technique de FISH (Fluorescent *In Situ* Hybridization) est réalisée sur les mêmes spermatozoïdes pour déterminer l'équipement chromosomique de chaque gamète.

RESULTATS

Le taux de fragmentation de l'ADN spermatique et le taux de gamètes déséquilibrés sont relevés dans le tableau 1.

La fragmentation de l'ADN spermatique est plus élevée dans les spermatozoïdes qui sont chromosomiquement déséquilibrés en comparaison avec ceux dont l'équipement chromosomique est normal pour les 10 patients (Tableau 2).

La répartition des gamètes fragmentés se fait selon certains modes de ségrégation méiotique et non équitablement entre eux (Figures 1 et 2).

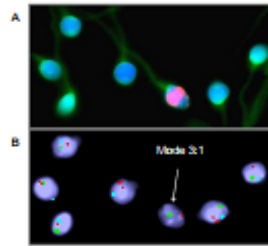


Figure 1 : Le spermatozoid fragmenté (en rouge) dans la photo A, a un Equipement chromosomique en balance dans la photo B est déséquilibré.

DISCUSSION

Notre étude est la première permettant d'observer la fragmentation de l'ADN et l'équipement chromosomique sur un même gamète et de lier ainsi ces deux paramètres (Figure 1).

Le taux de fragmentation de l'ADN spermatique chez les 10 patients porteurs d'une anomalie chromosomique est plus élevé que la norme.

L'apoptose abortive est un des mécanismes responsables de la fragmentation de l'ADN spermatique. Les gamètes chromosomiquement déséquilibrés sont étiquetés comme devant être détruits par apoptose pendant la spermiogenèse. Mais ce processus ne mène pas jusqu'à la mort cellulaire pour un certain nombre d'entre eux. Ainsi, cela pourrait expliquer l'existence de spermatozoïdes vivants et féconds dans l'éjaculat avec un ADN fragmenté et un équipement chromosomique déséquilibré.

De plus, la répartition des gamètes fragmentés ne semble pas se faire au hasard mais selon les modes de ségrégation méiotique aboutissant à la formation d'équipements chromosomiques déséquilibrés.

En conclusion, cette étude permet de mieux comprendre le mécanisme de la fragmentation de l'ADN spermatique et montre l'intérêt d'étudier la ségrégation méiotique et la fragmentation de l'ADN chez des hommes infertiles porteurs d'anomalie chromosomique constitutionnelle.

Patients	Caryotype	Fragmentation (%)	Taux de gamètes déséquilibrés (%)
P1	46,XY,t(9;11)(p11;p11)	3,2	88
P2	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	4,7	89,8
P3	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	6,7	80,1
P4	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	6,3	81,6
P5	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	10,6	88,6
P6	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	31,7	89,8
P7	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	6,8	83,8
P8	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	6,3	30,1
P9	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	6,4	26,8
P10	46,XY,t(1;10)(p11;p11)	10,6	27,2

Tableau 1 : Le caryotype, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique et le taux de gamètes déséquilibrés.

Patients	Equipement chromosomique	ADN spermatique		Valeur p
		F (%)	MF (%)	
P1	Normal	5	88	0,0001
	Déséquilibré	4,8	84,6	
P2	Normal	2,8	85,1	0,0001
	Déséquilibré	6,2	82,8	
P3	Normal	5,6	86,4	0,0001
	Déséquilibré	10,8	87,8	
P4	Normal	6,3	86,7	0,001
	Déséquilibré	7,6	82,4	
P5	Normal	3,2	86,7	0,0001
	Déséquilibré	26,4	79,6	
P6	Normal	10,7	85,8	0,0001
	Déséquilibré	22,8	87	
P7	Normal	6,6	86,2	0,0001
	Déséquilibré	10,2	87,8	
P8	Normal	6,7	82,8	0,0001
	Déséquilibré	10,2	87,8	
P9	Normal	6,8	86,7	0,0001
	Déséquilibré	10,6	86,8	
P10	Normal	6,3	85,8	0,0001
	Déséquilibré	26,6	79,2	

Tableau 2 : Répartition des gamètes fragmentés par rapport à l'équipement chromosomique chez les 10 patients.

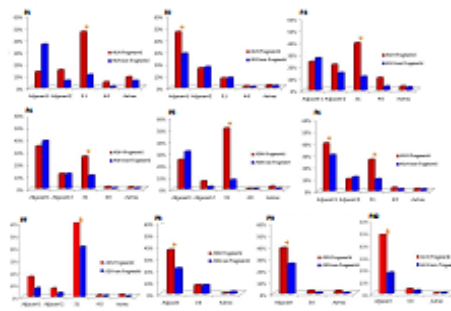


Figure 2 : Répartition des gamètes fragmentés au sein fragmentés, selon le mode de ségrégation méiotique chez les 10 patients. L'étude démontre une différence significative dans la répartition des gamètes fragmentés selon le mode de ségrégation méiotique.

Ce travail a été financé par



Année: 2010

Identification de marqueurs protéiques de la lignée germinale testiculaire dans le plasma séminal humain par une approche Omique combinatoire

PINEAU Charles - Unité Inserm 625

[Retour tableau](#)

Résumé

L'ICSI (intracytoplasmic sperm injection) est proposée aux couples infertiles souhaitant procréer dans les cas d'azoospermie non obstructive (NOA) chez le partenaire masculin. Ses chances de succès dépendent avant tout de la possibilité de récupérer des spermatozoïdes à partir de fragments de biopsies testiculaires. Malheureusement, il n'existe à ce jour aucune méthode permettant de prédire avec un fort degré de confiance la présence de cellules germinales post-méiotiques dans les testicules avant intervention chirurgicale, ce qui explique le taux extrêmement important de biopsies négatives.

Objectifs : Notre étude a pour objectif de vérifier si des biomarqueurs protéiques spécifiques des cellules germinales post-méiotiques peuvent être détectés dans le plasma séminal humain. Ces biomarqueurs pourraient être utilisés avec pertinence pour proposer une biopsie testiculaire seulement aux patients chez lesquels il y a de très hautes probabilités d'obtenir des spermatozoïdes après l'intervention chirurgicale.

Résultats attendus : Cette étude devrait permettre : 1) d'améliorer notre connaissance sur le protéome du plasma séminal humain chez l'homme fertile sain et chez les patients présentant des étiologies distinctes d'azoospermie; et 2) l'identification de biomarqueurs protéiques dont la présence dans le plasma séminal sera utilisée comme un indicateur prédictif fort de la probabilité de récupérer des spermatozoïdes vivant à partir de fragments de biopsies testiculaires.

Méthodologie : 500mg de protéines issues d'un pool de plasma séminal non-liquéfié provenant de donneurs sains seront pré-fractionnés sur deux chimiothèques de ligands hexapeptidiques (Proteominer™). En conditions de surcharge, les protéines fortement exprimées seront théoriquement diluées tandis que les protéines à faible nombre de copies seront concentrées. Les protéines adsorbées seront éluées sous 4 conditions différentes, produisant 8 sous-protéomes complémentaires. Chaque fraction sera digérée à la trypsine et injectée dans un spectromètre de masse LTQ-ORBITRAP™ XL en vue de l'identification de protéines à l'aide d'un algorithme innovant de « liste d'exclusion dynamique ». La liste de protéines identifiées sera comparée, fusionnée et complétée avec différents jeux de données déjà publiés de protéines du plasma séminal humain, conduisant à une liste de protéines uniques non-redondantes.

Une analyse de profilage tissulaire utilisant des données d'expression Affymetrix sera utilisée pour cribler l'ensemble de données protéiques et identifier des biomarqueurs fonctionnels potentiellement spécifiques pour chacun des organes participant dans la composition de protéique du plasma séminal (testicule, épидидyme, vésicules séminales et prostate). Dans le présent projet, la priorité sera donnée aux protéines spécifiques de la présence dans le testicule de cellules germinales méiotiques et post-méiotiques. La spécificité de ces biomarqueurs germinaux sera validée sur des plasmas séminaux normaux et pathologiques (NOA, agénésie bilatérale des canaux déférents, syndrome Sertoli-cell only, post-vasectomie) par des techniques de biochimie conventionnelles (e.g. Western blot). Une étude Pilote a démontré que l'approche « Omique combinatoire » est un outil puissant pour identifier des marqueurs biologiques pertinents à partir de fluides biologiques complexes sans avoir besoin de recourir aux lourdes et coûteuses approches de protéomique différentielle.

Résultats

Com, Emmanuelle, Nathalie Melaine, Frédéric Chalmel, et Charles Pineau. 2014. « Proteomics and integrative genomics for unraveling the mysteries of spermatogenesis: The strategies of a team ». Journal of Proteomics, Special Issue: « 20 years of Proteomics » in memory of Vitaliano Pallini, 107 (juillet): 128-43.

Freour, T., E. Com, P. Barriere, O. Bouchot, M. Jean, D. Masson, et C. Pineau. 2013. « Comparative Proteomic Analysis Coupled with Conventional Protein Assay as a Strategy to Identify Predictors of Successful Testicular Sperm Extraction in Patients with Non-obstructive Azoospermia ». Andrology 1 (3): 414-20.

Rolland, A. D., R. Lavigne, C. Dauly, P. Calvel, C. Kervarrec, T. Freour, B. Evrard, N. Rioux-Leclercq, J. Auger, et C. Pineau. 2013. « Identification of Genital Tract Markers in the Human Seminal Plasma Using an Integrative Genomics Approach ». Human Reproduction 28 (1): 199-209.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Recherche de maladie résiduelle au niveau du tissu ovarien autoconservé en cas de pathologie néoplasique

ROUX Christophe - Service de génétique histologie biologie du dvpt et de la repro - centre d'AMP, CHU Saint Jacques

[Retour tableau](#)

Résumé

L'autoconservation de tissu ovarien est proposée à des fillettes ou des femmes âgées de moins de 35 ans, devant subir un traitement gonadotoxique stérilisant, dans le but de préserver leur fertilité. Actuellement et en l'absence d'autres techniques (maturation in vitro, greffe de follicules ovarien isolés...), l'autogreffe de ce tissu autoconservé est la seule technique permettant de restaurer la fertilité. L'autogreffe est possible si l'indication de la cryoconservation d'ovaire est une pathologie non néoplasique ou une pathologie maligne à faible risque de localisation métastatique ovarienne. Dans les autres cas de pathologies néoplasiques, le tissu ne peut pour l'instant pas être réutilisé du fait de l'absence de technique codifiée pour évaluer la maladie résiduelle.

L'objectif principal de ce projet sera de développer et de valider des outils pour s'assurer de l'absence de cellules néoplasiques résiduelles au niveau du tissu ovarien autoconservé en cas de pathologie néoplasique. Les hémopathies malignes seront les premières pathologies étudiées car l'UMR645 dispose d'outils sensibles (cytométrie « multi-couleur », biologie moléculaire) et d'un savoir-faire pour détecter cette maladie résiduelle au niveau sanguin, médullaire ou ganglionnaire.

La mise à disposition de techniques et d'outils attestant de l'absence de maladie résiduelle dans les tissus ovariens ajoutera une dimension sécuritaire carcinologique aux dimensions microbiologique et fonctionnelle des contrôles pré-greffes mis en œuvre en prévision de la réutilisation du tissu cryoconservé par technique d'autogreffe.

Les objectifs méthodologiques seront les suivants : (i) codifier les techniques de préparation du tissu ovarien (dissociation mécanique, enzymatique,..) pour l'obtention de préparations tissulaires et/ou des populations cellulaires analysables (ii) développer et/ou adapter des techniques de détection des cellules néoplasiques, en déterminant leur sensibilité et leur spécificité. Les techniques mises en œuvre feront appel à l'identification de marqueurs de malignité par cytométrie en flux ou encore à l'amplification de transcrits anormaux par PCR sur les extraits tissulaires ou sur cellules isolées.

Une modélisation préalable consistera à ajouter différentes dilutions de cellules leucémiques « étrangères » (lignées cellulaires commercialisées) parfaitement caractérisables.

Un modèle de xénogreffes de tissu ovarien humain chez la souris immunodéficiente pourra parallèlement être mis au point pour tenter d'obtenir une phase d'amplification de la maladie résiduelle in vivo et accroître la sensibilité de la technique pendant la phase de mise au point.

La mise au point des techniques de qualification fera appel à du matériel humain - fragments de corticale ovarienne obtenus au cours de résection percoelioscopique chez des patientes présentant un syndrome des ovaires polykystiques (matériel de référence du tissu ovarien sain), - matériel provenant d'autopsies scientifiques documentées, - matériel d'autoconservation de tissu ovarien provenant de patientes chez lesquelles une autoconservation a été effectuée et qui sont décédées, ces patientes ayant préalablement donné leur accord pour de telles études lors du recueil de leur consentement avant l'autoconservation du tissu ovarien.

Résultats

Amiot, C., F. Angelot-Delette, T. Zver, M. Alvergnas-Vieille, P. Saas, F. Garnache-Ottou, et C. Roux. 2013. « Minimal Residual Disease Detection of Leukemic Cells in Ovarian Cortex by Eight-Color Flow Cytometry ». *Human Reproduction* 28 (8): 2157-67.

Appel d'Offres « AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique »

RECHERCHE DE LA MALADIE RESIDUELLE AU NIVEAU DU TISSU OVARIEN AUTOCONSERVE EN CAS DE PATHOLOGIE NEOPLASIQUE

Objectifs

La cryoconservation de cortex ovarien est la principale technique utilisée pour préserver la fertilité chez les fillettes et les jeunes femmes atteintes de pathologie néoplasique et devant bénéficier d'un traitement hautement gonadotoxique. Actuellement, en l'absence d'autres techniques (maturation in vitro, injection de follicules ovariens isolés...), la réutilisation de ce tissu se fait par technique d'autogreffe. Il est donc nécessaire d'évaluer la présence de maladie résiduelle (MRD) dans le tissu avant autogreffe. Ce travail a pour but d'évaluer la présence de cellules leucémiques dans le cortex ovarien par cytométrie en flux 8 couleurs et PCR quantitative.

Méthodologie

Obtention d'une suspension de cellules de corticale ovarienne isolées par action mécanique et enzymatique à partir de :

- tissu ovarien de référence : fragments de corticale ovarienne provenant de résections percoelioscopiques en cas de SOPK
- fragments de cortex ovarien autoconservé provenant de patientes leucémiques

Recherche de marqueurs cytologiques par cytométrie en flux 8 couleurs

3 anticorps fixes : syto 13, 7-AAD et CD45

5 anticorps choisis en fonction de l'immunophénotype des cellules leucémiques (ex: CD3, CD7, CD10, CD13, CD19, CD38, CD58, CD123, CD304...)

Recherche de marqueurs tumoraux moléculaires par Q-PCR (quand disponibles)

- Gènes cibles : BCR-ABL, NPM1 variant A...
- Gène de référence : ABL

Xéno greffes

(souris CD-1 nude) d'un fragment de corticale ovarienne pour tenter d'amplifier la MRD.

contacts

Centre d'Investigation Clinique en BioThérapies (CIC-1431)

Unité Mixte de Recherche (UMR1098) : EFS/INSERM/UFC

Centre d'Assistance Médicale à la Procréation

Service de Biologie et Médecine de la Reproduction,
Cryobiologie

CHRU J. Minjoz, 3 Bd Fleming 25000 Besançon

Tél. secrétariat : +33 (0)3 81 21 86 98

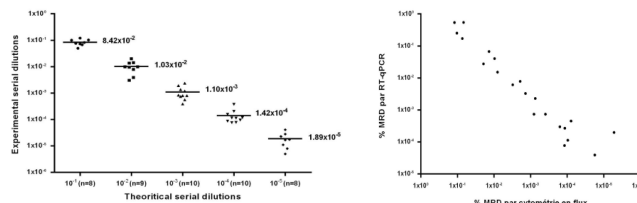
christophe.roux@univ-fcomte.fr

clotilde.amiot@univ-fcomte.fr

Résultats

Nombre de cellules nucléées vivantes (syto13 +, 7-AAD -) obtenues $1,82.10^6 \pm 1,49.10^6$ pour 100mg de cortex ovarien (n=32). Absence de cellules ovariennes avec un immunophénotype de cellules leucémiques.

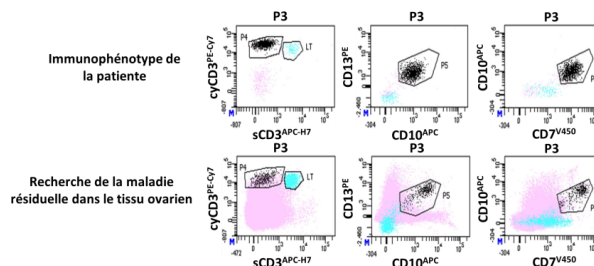
Spécificité et sensibilité de la technique par dilution de cellules leucémiques dans une suspension de cellules ovariennes de tissu de référence



Sensibilité atteinte < 10⁻⁴
(n=10)

r=0,8840, p<0,0001
(n=21)

Exemple de recherche de la maladie résiduelle au niveau de fragments de cortex ovarien de patiente leucémique



365 événements détectés correspondant à des cellules leucémiques vivantes / 1 360 814 événements nucléés vivants détectés → Soit un niveau de MRD = 2,7.10⁻⁴

Conclusion

La recherche de la MRD par cytométrie en flux 8 couleurs permet de détecter la présence de cellules leucémiques vivantes au niveau du cortex ovarien cryoconservé en fonction de leur immunophénotype. Elle peut être proposée en cas d'absence de marqueurs moléculaires identifiables.

Ainsi la maîtrise du risque carcinologique permettra d'élargir les indications d'autoconservation de tissu ovarien chez les femmes jeunes et de favoriser la réutilisation, par autogreffe, des fragments cryoconservés.

Année: 2010

AMP sans frontière : de Paris à Bruxelles, Barcelone et Thessalonique

ROZEE GOMEZ Virginie - Unité mixte INED-INSERM-Paris Sud XI

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : A la veille de la révision de la loi de bioéthique française, le recours à l'AMP et ses contournements sont plus que jamais publics et suscitent de nombreux débats et controverses. La France n'autorise pas certaines pratiques et réserve l'AMP aux couples hétérosexuels. Par ailleurs, le recours à certaines pratiques reste très limité par les contraintes d'accès. Dans ce contexte légal et médical, des hommes, des femmes et des couples français partent à l'étranger pour recourir à une AMP. Des pays tels que la Belgique, l'Espagne ou la Grèce, ont une législation plus libérale en termes d'accès à l'AMP et proposent des services certes coûteux mais plus rapides. L'espace européen offre donc un autre recours médical pour les individus et couples français infertiles et/ou exclus de la prise en charge en France.

Objectifs : Ce projet s'inscrit dans le cadre des recherches sur le recours au système de soins dans le domaine de l'AMP. En se plaçant dans un contexte européen, ce projet vise à comprendre les motivations et le parcours des Français qui partent à l'étranger pour recourir à une AMP. Cette analyse, qui s'inscrit dans le cadre des discussions actuelles autour des lois de bioéthique, mettra en regard les réflexions académiques menées dans le cadre des possibles évolutions des lois de bioéthique et les attentes des Français à cet égard.

Méthodologies : Cette recherche s'appuie sur une équipe pluridisciplinaire qui mettra en œuvre des méthodes d'étude relevant de l'épidémiologie, de la sociologie et de la psychosociologie. Une approche à trois niveaux sera développée : (1) une analyse au niveau institutionnel, (2) une approche au niveau social, (3) une approche au niveau individuel. L'étude sera menée de manière transversale dans quatre centres médicaux en France, Belgique, Espagne et Grèce. L'approche individuelle portera sur l'ensemble des Français recourant à l'AMP dans ces centres qu'il s'agisse de couples (de même sexe ou non) ou d'individus, femmes ou hommes, célibataires. Elle s'appuiera sur une approche quantitative (400 auto-questionnaires) et une approche qualitative (60 entretiens semi-directifs).

Résultats attendus : A l'heure du débat sur les lois de bioéthique françaises, le recours à l'AMP des Français à l'étranger reste très peu étudié. A partir d'une triple approche (institutionnelle / sociologique / individuelle), cette étude permettra d'appréhender le recours à l'AMP et sa prise en charge dans quatre pays européens. Elle permettra de mettre en regard les motivations individuelles, ainsi que la réflexion politique et sociale autour de l'AMP. Cette recherche permettra de mieux comprendre les enjeux sociaux et politiques du recours à l'AMP et d'éclairer le débat politique actuel

Résultats

Löwy, Ilana, Virginie Rozée Gomez, et Laurence Tain. 2014. « Nouvelles techniques reproductives, nouvelle production du genre ». <http://www.cairn.info/revue-cahiers-du-genre-2014-1-page-5.htm>.

Rozée, Virginie. 2011. « L'AMP sans frontière ». *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, n° 23-24: 270–273.

———. 2012a. « L'assistance médicale à la procréation au-delà de nos frontières : état des lieux et des pratiques ». *La lettre du gynécologue*, n° 371 (avril): <http://www.edimark.fr/publications/LGY/la-lettre-du-gynecologue/parution:1946#>.

———. 2012b. « L'anonymat du don de gamètes et le modèle social de la famille en France ». *Gynécologie&Obstétrique Pratique* 1 (250): 18-19.

———. 2012c. « Les transformations de la maternité en France à travers le recours au don d'ovocyte en Grèce », décembre, 51-57.


———. 2013. « Elles font des bébés toutes seules ». *Terrain. Revue d'ethnologie de l'Europe*, n° 61 (septembre): 134-49.

Rozée, Virginie, et Elise De La Rochebrochard. 2010. « L'accès à l'assistance médicale à la procréation en France: reflet de la norme sociale procréative? » *Santé, Société et Solidarité* 9 (2): 109–114.

Rozée, Virginie, et Elise de La Rochebrochard. 2013. « Cross-Border Reproductive Care among French Patients: Experiences in Greece, Spain and Belgium ». *Human Reproduction* 28 (11): 3103-10.

Tain, Laurence, et Virginie Rozée. 2010. « Le recours aux techniques procréatives : des disparités nationales aux circuits transnationaux », 297-314.

Poster




Inserm

Centre national de la recherche scientifique et médicale

AMP sans frontière.

De Paris à Bruxelles, Barcelone et Thessalonique

Virginie Rozée Gomez (virginie.rozee@ined.fr) & Elise de La Rochebrochard (roche@ined.fr)



ined

Contexte

La diversité des encadrements politiques et des pratiques médicales en matière d'AMP, dans le monde, y compris en Europe, entraîne des recours transnationaux de l'AMP, y compris par les Français. Mais si ces recours font l'objet de nombreux débats et controverses, peu d'études rendent compte de sa réalité. => L'objectif de l'étude était d'identifier et de comprendre quels sont les Français qui partent, où vont-ils, comment s'organisent-ils et surtout quelles sont les raisons qui justifient selon eux un tel recours.

Matériel & Méthodes

Une étude préliminaire, menée auprès de chercheurs, praticiens, responsables et membres d'associations, a permis de sélectionner 3 pays européens, apparus comme des destinations privilégiées par les Français (Belgique, Espagne, Grèce), et dans chacun d'entre eux 1 ou 2 centres médicaux qui ont accepté de participer à l'enquête. Un 4^{ème} pays a par la suite été ajouté dans l'étude (Danemark). Par l'intermédiaire de ces centres, des questionnaires ont été mis à disposition des patients français et des entretiens semi-directifs ont été réalisés.

Le recueil des données, qui s'est adapté aux conditions et difficultés de terrain, a été exhaustif en Grèce; aléatoire en Belgique et au Danemark; rétrospectif et exhaustif en Espagne. => Ont été ainsi recueillies 140 questionnaires et réalisées 131 entretiens.

Les caractéristiques et trajectoires des répondants questionnaires et entretiens sont semblables, tout comme celles des non-répondants en Espagne. L'étude a été financée par l'Agence de Biomédecine et l'Institut de recherche en santé publique (iReSP).

Principaux résultats

Caractéristiques sociodémographiques et trajectoires des répondants

Tableau 2. Caractéristiques et trajectoires des répondants

	Quant		Ent	
	n	%	n	%
Couple homme-femme	100	71	104	79
Couple de même sexe	21	15	8	6
Femme seule	19	14	19	15
Age des femmes au 1er rendez-vous dans le centre < 43 ans	106	76	85	65
Femmes Artisans, commerçants, chefs d'entreprise, cadres	55	40	50	45
Femmes exerçant une profession intermédiaire, employées, ouvrières	63	46	60	55
Partenaires Artisans, commerçants, chefs d'entreprise, cadres	68	58	49	55
Partenaires exerçant une profession intermédiaire, employés, ouvriers	50	42	40	45
Aucun enfant	59	71	96	74
Durée du projet d'enfant de 4 ans au moins	74	58	88	64
Réalisation d'une (ou plusieurs) AMP en France	74	53	82	63
Possibilité de prise en charge légale et remboursée en France	68	49	65	50

Les répondants aux questionnaires et entretiens sont principalement : **des couples homme-femme, des femmes de moins de 43 ans** (lors du 1er rendez-vous dans le centre médical étranger), sans enfant. La majorité de l'échantillon appartient à la **classe moyenne-supérieure de la société française** (tableau 2) mais l'échantillon contient également des ouvriers, employés et professions intermédiaires. En excluant les femmes recourant à la vitrification oocytaire, les répondants tentent d'avoir un enfant majoritairement **depuis plus de 4 ans**. Les femmes avaient alors 35 ans (âge médian), âge tardif en terme de fertilité mais cohérent avec les évolutions de la société française. 20% des répondants ont commencé des démarches pour adopter et la majorité a **réalisé une ou plusieurs AMP en France** avant de partir à l'étranger (tableau 2). La moitié des répondants réunissaient les critères sociodémographiques pour bénéficier d'une prise en charge légale et remboursée par l'assurance maladie en France (PLRF). Parmi ceux ne réunissant pas ces critères (non-PLRF), 25% (questionnaires) et 42% (entretiens) ont bénéficié d'une AMP en France avant de partir à l'étranger.

Principales raisons du recours transnational

Tableau 3. Techniques requises à l'étranger

	Quant		Ent	
	n	%	n	%
Don de sperme	34	24	20	15
Don d'ovocytes	87	62	87	66
Double don	5	4	8	6
Accueil d'embryons	1	1	1	1
Réalisation in vitro (FIV)	6	4	5	4
Vitrification oocytaire	5	4	6	5
Gestation pour autrui	2	1	4	3
TOTAL	140	100	131	100

Note: Parmi les FIV, figurent les Diagnostics préimplantatoires

Les principales techniques sollicitées à l'étranger sont le don d'ovocytes et le don de sperme (tableau 3). La destination est déterminée par la **situation matrimoniale et l'orientation sexuelle, la technique sollicitée et l'âge des femmes (> 43 ans)**. Les PLRF vont davantage en Grèce et en Espagne et requièrent surtout un don d'ovocytes. Pour une même technique, le choix du pays et du centre peut être également lié à la **classe sociale**: pour un don d'ovocytes, les femmes ayant une profession moins favorisée vont davantage en Grèce qu'en Espagne. En considérant uniquement les répondants questionnaires PPLR, la raison la plus fréquemment citée pour justifier le recours à l'étranger est : **les démarches sont trop longues en France et considérées comme plus rapides à l'étranger** (à noter que 20% des PLRF ont coché qu'ils traversaient les frontières pour des raisons légales). Dans les centres médicaux étrangers, les répondants ont déclaré avoir leur premier transfert d'embryons trois mois en moyenne après leur premier rendez-vous.

Choix du pays, du centre et organisation du recours

Concernant les sources d'information les plus fréquemment cochées : une association (77% des répondants recrutés en Grèce) ; des praticiens français (par 79% des répondants recrutés en Espagne) ; Internet (par 64% des répondants). Le choix du centre médical se fait différemment selon le centre de recrutement : proximité géographique pour les répondants recrutés en Belgique ; le coût pour les répondants recrutés en Grèce ; la recommandation du praticien pour les répondants recrutés en Espagne ; la qualité des soins et la réputation du centre pour 69% de l'ensemble des répondants. Selon les entretiens, d'autres critères sont également décisifs : les origines culturelles et géographiques des répondants, le phénotype majoritaire du pays, etc. 86% étaient médicalement suivis en France ; 84% des femmes avaient, au moment de l'étude, un traitement hormonal ; 92% d'entre elles obtenaient ce traitement en pharmacie en France, qu'elles soient PPLR ou non PPLR. D'après les entretiens, les répondants s'organisent en prenant des congés, parfois des congés sans solde, parfois des arrêts maladie. Pour payer, la plupart a fait des économies (69%) ; d'autres ont déclaré dans le cadre de l'entretien avoir fait un emprunt à la banque, à un proche ou avoir vendu ses biens (commerces, maisons). 58% des répondants ont déclaré ne pas avoir rencontré de difficultés ; quand ils en ont néanmoins rencontrées, elles sont liées au centre de recrutement : prix en Espagne et l'attente en Belgique. 38% de l'ensemble de l'échantillon ont fait une demande de remboursement auprès de l'assurance maladie française (57% des PPLR).

Discussion & conclusion

L'étude n'est pas représentative de l'ensemble des Français qui partent à l'étranger pour bénéficier d'une AMP. Elle n'en donne pas moins de premiers éléments et pistes de réflexions pour de futures recherches. L'étude montre que les recours transnationaux de l'AMP sont des **recours divers et complexes** y compris pour une population provenant d'un même contexte socioculturel, politique et gouvernemental. Par ailleurs, ces recours ne sont pas le privilège des classes aisées, ne concernent pas uniquement des femmes « âgées », ni les couples de même sexe. Ils dépendent des réseaux sociaux mobilisés (associations, médecins, Internet). **Les raisons légales du recours à l'AMP à l'étranger ne sont pas suffisantes pour expliquer ce phénomène** puisque la moitié des répondants réunissaient les conditions sociodémographiques requises en France, sollicitaient une technique légale en France et avaient eu recours à une AMP en France avant de partir à l'étranger. Une importante raison de partir est la longueur des démarches en France (plusieurs années) pour obtenir un don d'ovocytes. L'étude souligne également le manque d'information concernant l'AMP en France puisque certains répondants considéraient ne pas pouvoir bénéficier d'une AMP en France du fait de l'âge de la femme (alors qu'elles avaient moins de 43 ans) ou de la technique requise (alors qu'il s'agissait du don d'ovocyte). Enfin, les résultats de cette étude interrogent plus largement sur 4 axes : (1) l'information à diffuser et vulgariser concernant le don d'ovocytes ; (2) les solutions à apporter aux femmes qui ont un long parcours d'AMP puis qui doivent partir à l'étranger pour concrétiser leur projet ; (3) les solutions en amont, telles que l'adoption ou la vitrification oocytaire ; (4) l'émergence des nouvelles configurations familiales parentales qui viennent redéfinir les modèles sociaux dominants de la famille et de la parentalité.

Pour en savoir plus...

Rozée V. et La Rochebrochard (de) E., 2013, "Cross-border reproductive care among French patients eligible for ART funding in France", 29^e rencontre annuelle de l'ESHRE, Section Poster, Londres, Royaume-Uni, 7-10 juillet.

Rozée V., 2012, « Les transformations de la maternité en France à travers le recours au don d'ovocyte en Grèce », in Kribblehler Y. et al. (dir.), *La maternité à l'épreuve du genre. Métamorphoses et permanences de la maternité dans l'aire méditerranéenne*, Presses de l'EHESP de Rennes : 51-57.

— 2012, « L'homomaternité issue de l'assistance médicale à la procréation en France : état des lieux d'un recours transnational », *Raison Publique* (en ligne).

— 2012, « L'assistance médicale à la procréation au-delà de nos frontières : état des lieux et des pratiques », *La Lettre du gynécologue*, 371 : 8-11.

— 2012, "Cross-border fertility care: why do patients travel from France to Spain?", 28^e rencontre annuelle de l'ESHRE, Section Poster, Istanbul, Turquie, 1-4 juillet.

— 2012, "Cross-border fertility care: Tell me who you are and I will tell you where to go", Conférence Européenne de Population, Section poster, EAPS, Stockholm, Suède, 13-16 juin.

— 2011, « L'AMP sans frontière », *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 23&24 : 270-273.

— 2011, « Cross-border oocyte donation in Europe : from Paris to Athens », 27^e rencontre annuelle de l'ESHRE, Stockholm, Suède, 3-6 juillet.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Traitement par thérapie cellulaire des infertilités masculines : caractérisation des cellules souches germinales humaines

BARRAUD-LANGE Virginie - Groupe hospitalier Cochin Saint Vincent de Paul

[Retour tableau](#)

Résumé

L'amélioration de l'efficacité des traitements anticancéreux est associée à leur forte toxicité gonadique responsable souvent de stérilités ultérieures. Chez l'homme pubère l'autoconservation, préalable au traitement, de spermatozoïdes en vue d'AMP est possible. Chez le garçon prépubère, la seule possibilité est la cryoconservation de fragments de pulpe testiculaire en vue du développement de techniques de thérapie cellulaire permettant la recolonisation du testicule par des cellules souches germinales (CSG). Mais cette dernière technique peut aussi être proposée à l'homme adulte pour lui restaurer sa fertilité « naturelle ».

En effet, l'état actuel des connaissances acquises chez l'animal permet d'envisager l'utilisation des CSG par transplantation autologue pour restaurer la spermatogenèse. Cela justifie qu'une telle recherche soit développée chez l'humain. Le CECOS Cochin va conserver de telles biopsies testiculaires d'enfants impubères (PHRC 2008 Projet n°APN 13-14) et a pu s'entourer des collaborations nécessaires, au CEA et à l'université Paris Descartes, à la réalisation d'un projet de recherche de caractérisation des CSG humaines pour lesquelles très peu de données sont disponibles, et qui est indispensable à une future application en thérapie cellulaire.

Nous travaillerons, à partir de fragments de biopsies testiculaires adultes conformément à la loi de bioéthique de 2004. Nous identifierons les marqueurs cellulaires permettant de purifier par cytométrie en flux les cellules souches germinales humaines sur des critères antigéniques ou fonctionnelles. Nous développerons un système de culture de ces cellules afin de les amplifier dans des conditions qui leur permettront de conserver leur potentiel de régénération d'une spermatogenèse dans l'optique d'une auto greffe ultérieure. Les méthodes de congélation des cellules souches germinales seront établies afin de permettre leur conservation à long terme nécessaire à leur utilisation en thérapie cellulaire. Afin de s'assurer de l'innocuité du système de culture, la stabilité du caryotype des clones de CSG obtenus in vitro sera étudiée par CGH Array et la stabilité épigénétique des gènes soumis à empreinte par l'analyse du profil de méthylation selon la technique de PCR méthylation-dépendante par oligonucléotides dégénérés. A l'heure actuelle le seul test fonctionnel de régénération tissulaire, après transplantation dans le testicule de souris immunodéficientes, pour l'étude des CSG humaines, consiste en leur migration le long de la membrane basale des tubes séminifères (mais il n'y a pas de reprise de la spermatogenèse). Nous chercherons donc à développer un modèle de souris immunodéficientes « humanisées », pour l'étude du potentiel de colonisation des CSG humaines après transplantation. Notre étude amorcée à partir de CSG fonctionnelles prélevées chez l'adulte pourra être étendue à l'analyse des cellules souches spermatogoniales prélevées chez l'enfant prépubère, précurseurs des CSG chez l'adulte.

Résultats

Firlej, Virginie, Virginie Barraud-Lange, et Pierre Fouchet. 2012. « Stem Cell Therapy for Male Infertility Takes a Step Forward ». *Cell Stem Cell* 11 (5): 585-86.

Gille, Anne-Sophie, Clémentine Lapoujade, Jean-Philippe Wolf, Pierre Fouchet, et Virginie Barraud-Lange. 2019. « Contribution of Single-Cell Transcriptomics to the Characterization of Human

Spermatogonial Stem Cells: Toward an Application in Male Fertility Regenerative Medicine? »
International Journal of Molecular Sciences 20 (22).

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Facteur XIII, localisation tissulaire et origine cellulaire ; implications pour la prise en charge des fausses couches à répétition

DE MAZANCOURT Philippe - UVSQ

[Retour tableau](#)

Résumé

Le facteur XIII de la coagulation a des fonctions tissulaires. A l'interface fœto-maternelle il permet l'ancrage embryonnaire en catalysant la liaison de molécules de fibrine et de protéines d'adhésion (fibrine, fibronectine, intégrines, vitronectine et collagène). Les souris KO pour le facteur XIII (ou son substrat le fibrinogène/fibrine) font des avortements. Les déficits en facteur XIII sont caractérisés par des fausses couches à répétition chez les femmes porteuses du déficit. Il existe du facteur XIII dans le placenta, mais il est majoritairement d'origine fœtale et le déficit fœtal en facteur XIII est a priori sans grande incidence sur le déroulement de la grossesse. Nous souhaitons clarifier l'origine (tissulaire et/ou circulante) du facteur XIII maternel responsable de l'ancrage et de l'invasion correcte des trophoblastes. Notre approche immuno-histochimique complétée par de la dissection laser, de la biologie moléculaire et de la protéomique a pour but de répondre à des questions fondamentales de physiopathologie, et peut débiter sur une modification du bilan de prise en charge des femmes sujettes aux fausses couches à répétition.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Insémination avec sperme de donneur (IAD). Approche psycho-clinique des liens croisés entre 4 protagonistes : couple donneur et couple receveur

DURIF-VAREMBONT Jean-Pierre - CRPCC

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Ce projet s'inscrit dans une perspective de recherche clinique sur le vécu psychique (motivations, angoisses et fantasmes) des hommes et des femmes des couples concernés à titre de donneurs ou de receveurs dans l'insémination avec donneur de sperme (IAD). Il propose d'approfondir la connaissance des processus psychologiques sous un angle qui a été très peu abordé dans les recherches jusqu'à présent :

- 1) Les représentations et liens croisés entre les quatre personnages impliqués, en particulier en ce qui concerne la conception pour chacun de la parentalité (paternité, maternité) et du don
- 2) Le rôle fondamental et jusqu'à présent plutôt méconnu de la femme (compagne ou épouse) dans les deux catégories de couple, et donc du rapport Homme/Femme.

Résultats attendus

- Une connaissance plus approfondie des processus psychiques complexes qui président aux positions et au lien imaginaire des quatre figures impliquées dans l'IAD
- Une meilleure compréhension des motivations et des freins en jeu dans l'acte de don, ce qui permettrait notamment d'améliorer le recrutement des donneurs.
- Une meilleure prise en compte des enjeux de la parentalité et du couple, qui permettrait d'élaborer des dispositifs spécifiques d'accompagnement. Ces dispositifs existent peu actuellement et pourraient être proposés aussi bien en préalable que dans l'après-coup aux donneurs et aux receveurs (facilitation de la démarche, accès à la parentalité et rapport aux enfants)

Méthodologie

L'abord et la compréhension des phénomènes psychiques complexes en jeu dans l'IAD nécessitent le recours à une méthode de recherche qualitative. Nous prévoyons donc de mener un entretien individuel semi-directif avec chacun des partenaires des couples donneurs vs couples receveurs selon le flux annuel observé au CECOS de Lyon, soit 10 à 15 donneurs.

Les couples demandeurs étant dix fois plus nombreux, nous constituerons un échantillon de taille équivalente et suffisamment diversifiée pour les receveurs.

Insémination avec sperme de donneur (IAD), approche psycho-clinique Les liens croisés entre quatre protagonistes (couple donneur, couple receveur)

Jean-Pierre Durif-Varembont, Patricia Mercader, Monique Dalud-Vincent, Jean-François Guérin
Zohra Perret, André de Souza, Nathalie Dumet

1. Introduction

Depuis les années 1970, la France a organisé l'IAD selon trois principes: une solidarité de couple à couple, la gratuité, l'anonymat. Mais le débat est régulièrement réouvert, en particulier sur l'anonymat. Notre ambition est de comprendre de façon clinique les processus psychologiques qui sous-tendent les opinions en présence :



- Le lien ambivalent entre les quatre personnages;
- La place peu étudiée des deux femmes dans le processus;
- La dynamique asymétrique dans chacun des couples.

2. Méthodologie

- 24 couples receveurs, 5 couples donneurs
- 58 entretiens semi-directifs
- Trois niveaux d'analyse
 - Lexicométrique (logiciel Alceste)
 - Thématique (énoncés)
 - Clinique (énonciation)

3. Résultats

Un travail psychique nécessaire pour que chacun construise sa place.

Pour les quatre protagonistes, il faut construire une identification minimale différenciant les places de chacun, au prix d'un blanc provisoire de représentations. Pour les donneurs comme pour les receveurs, hommes et femmes, il faut se détacher d'une paternité imaginaire pour faire à « l'autre homme » sa juste place.

Pour les receveurs, supposer des motivations altruistes et bienveillantes au couple donneur contribue à la déssexualisation du don et permet de l'accepter.

Représentations croisées

- Les femmes de donneurs ont assez peu de représentations des couples receveurs.
- Les hommes donneurs s'identifient à l'homme receveur, mais *a minima*.
- Les femmes des couples receveurs imaginent assez facilement les motivations des couples donneurs, moins facilement leurs personnes.
 - Les hommes des couples receveurs sont dans un blanc de pensée provisoire sur le donneur.



Rôle des femmes dans l'IAD

- Les femmes de donneurs, un accord résigné sous garantie d'anonymat.
- Les femmes receveurs, un angoissant chemin pour accepter la pénible médicalisation de leur corps et soutenir leur conjoint dans la construction de sa paternité.

Dire ou ne pas dire

- Les couples donneurs se confient à quelques amis proches.
- Les couples receveurs recherchent le soutien de leur famille.

4. Conclusions

Une parenté déjà plurielle, une construction symbolique

Malgré les angoisses et les fantasmes que suscite la situation, les receveurs savent et assument que l'enfant ne naît pas d'un sperme, mais d'un désir, le leur et celui du couple donneur (ce dont leur discours sur la gratuité témoigne). Tous distinguent clairement « parent » et « géniteur », mais pour les donneurs, être géniteur est assimilé à être « rien ». Donneurs et receveurs sont attachés moins à l'anonymat qu'à sa fonction de protection de leur couple et du lien de filiation.

Ils sont ouverts à la possibilité de conserver pour les enfants des données non identifiantes sur le donneur. Ils souhaitent dire la vérité sur leur recours à l'IAD, mais sont embarrassés pour choisir le moment et la façon de dire.



Références bibliographiques

- Brunet, L. & Kunstmann, J.M. (2013). Gamete donation in France : the future of the anonymity doctrine. *Medicine, Health Care and Philosophy*, 16, 68-81.
- Delaisi de Parseval, G., Depadiat-Sebag, V. (2010). Accès à la parenté. *Assistance médicale à la procréation et à l'adoption. Pour une vision progressiste de la loi bioéthique.*

- Paris, Terra Nova.
- Jouannet, P., Meussel, P. et al. (2010). *Donner et après... La procréation par don de spermatozoïdes avec ou sans anonymat ?* Paris, Springer-Verlag France
 - Thiéry, I., Leroyer, A. -M. (2014). *Filiation, origines, parentalité. Le droit face aux nouvelles valeurs de responsabilité générationnelle. Rapport du groupe de travail Filiation, origines, parentalité.* Ministère des affaires sociales et de la santé. Ministère délégué chargé de la famille

Avec la collaboration de

Audrey Broqueville, Charlotte Garnier

Contact:
jean-pierre.durif@univ-lyon2.fr



Année: 2011

Développement de la folliculogenèse in vitro comme alternative thérapeutique pour la préservation de la fertilité féminine

FANCHIN Renato - INSERM Paris 11

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Notre projet vise à développer la folliculogenèse in vitro chez la femme à partir de follicules primordiaux. Sur le plan clinique, une des retombées importantes de ce développement sera la préservation de la fertilité féminine, en particulier face aux traitements anti-cancéreux gonadotoxiques. Notre centre d'AMP à l'Hôpital Bécclère à Clamart est une plateforme active pour la préservation de la fertilité. Néanmoins, les techniques actuellement disponibles doivent progresser afin de répondre à l'ensemble des situations cliniques, en leur garantissant de bons taux de succès. La folliculogenèse in vitro à partir de fragments de cortex ovariens prélevés chirurgicalement avant traitement gonadotoxique pourrait constituer une alternative permettant de palier aux inconvénients des techniques actuelles.

Méthodologie : Des résultats encourageants ont été obtenus ces dernières années aussi bien chez la souris que dans l'espèce humaine. Cependant, l'objectif final de la technique reste l'obtention d'un ovocyte mature. Nous proposons une stratégie en deux étapes: 1. culture du cortex ovarien pour faire croître les follicules du stade primordial au stade préantral et 2. culture de follicules isolés du stade préantral au stade petit antral. Par la suite, les ovocytes seront maturés in vitro pendant 24h mais ne feront pas l'objet de fécondation, cette dernière technique étant déjà utilisée en routine dans notre centre d'AMP. La mise au point de la technique sera faite à partir d'ovaires de femmes transsexuelles suivies à l'Hôpital Foch et de femmes opérées pour des pathologies gynécologiques à l'Hôpital Bécclère.

Par ailleurs, nous comptons améliorer l'efficacité et l'innocuité de la technique de folliculogenèse in vitro chez la femme. Actuellement, les équipes internationales qui s'y intéressent utilisent un inhibiteur de PTEN, qui est un gène suppresseur de tumeur, pour stimuler la croissance folliculaire. Bien que l'inhibition de PTEN semble être une voie prometteuse, l'innocuité d'un tel procédé sur l'embryon futur n'est pas garantie. Il nous semble nécessaire d'identifier d'autres facteurs capables de stimuler la croissance folliculaire in vitro. L'hormone anti-Müllérienne (AMH), connue pour inhiber le recrutement des follicules primordiaux, semble être un candidat de choix. Nous souhaitons ainsi en parallèle identifier par criblage à haut débit des antagonistes de l'AMH via la plateforme CIBLOT (Chatenay Malabry) qui possède deux chimiothèques de 6500 et 1500 composés.

Résultats attendus: Obtention d'un ovocyte humain en stade métaphase II à partir de follicules primordiaux. Ce développement pourra offrir de nouvelles perspectives cliniques dans le cadre de la préservation de la fertilité ou bien des infertilités du couple. En outre, la maîtrise de la folliculogenèse in vitro féminine permettra des progrès cognitifs considérables en particulier sur les facteurs impliqués dans sa stimulation et son inhibition.

Résultats

Pierre, Alice, Anthony Estienne, Chrystèle Racine, Jean-Yves Picard, Renato Fanchin, Belén Lahoz, José Luis Alabart, et al. 2016. « The Bone Morphogenetic Protein 15 Up-Regulates the Anti-Müllerian Hormone Receptor Expression in Granulosa Cells ». The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 (6): 2602-11.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Apport de la congélation embryonnaire dans un programme de FIV avec ou sans culture prolongée

LE LANNOU Dominique - CECOS - CHU Rennes

[Retour tableau](#)

Résumé

Si le transfert mono-embryonnaire des embryons frais ou congelés à J2-J3 permet d'obtenir des taux cumulés de grossesses par ponction élevés en diminuant le risque de grossesse multiple, c'est au prix de nombreux transferts d'embryons congelés.

Le transfert au stade de blastocyste, en améliorant la sélection des embryons potentiellement évolutifs, permet d'augmenter le taux d'implantation, et de diminuer ainsi le nombre de transferts. Les résultats de la congélation lente de blastocyste étant malheureusement modestes, les taux de grossesse cumulés observés après transferts frais ou congelés de blastocystes restent inférieurs à ceux obtenus après transfert à J2-J3. Les techniques de vitrification utilisées dans de nombreux pays semblent cependant avoir amélioré de manière spectaculaire les taux d'implantation des blastocystes congelés. L'objectif de cette étude est donc de comparer les taux de grossesse cumulés obtenus après transfert à J2-J3 versus blastocyste.

Il s'agit d'une étude clinique prospective randomisée réalisée chez des patientes de moins de 38 ans lors du premier cycle de FIV-ICSI et, chez lesquelles au moins 5 embryons de bonne qualité (type I ou II) ont été obtenus à J2-J3. Deux groupes seront définis par tirage au sort : soit transfert et congélation lente des embryons au stade J2-J3, soit transfert et vitrification au stade blastocyste J5-J6. Tous les transferts seront mono-embryonnaires. Les résultats seront appréciés en terme de taux d'implantation frais et congelé, de taux de développement en blastocyste, de taux de survie à la décongélation, mais surtout en terme de taux cumulés (transfert d'embryons frais + congelés) de grossesse par ponction, notre objectif étant essentiellement de diminuer le nombre de transferts frais et congelé sans diminuer les taux cumulés de grossesse.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Étude de la dynamique familiale et du processus de filiation chez des couples parentaux après assistance médicale à la procréation : Étude clinique comparative

NOURI Nadjjet - Université Paul Sabatier

[Retour tableau](#)

Résumé

Les techniques de procréations médicalement assistées (AMP) qui ont été développées ces dernières années permettent à des couples infertiles, voire stériles, de procréer avec ou sans leurs gamètes. Ces couples deviennent parents en maintenant la filiation reconnue légalement comme étant charnelle, sans pouvoir cependant se représenter les effets subjectifs qui en découlent. Face à la multitude des discours suscités par ces techniques, il est opportun de s'intéresser au mode de réponse formulée par les parents, et en particulier à l'investissement paternel de l'enfant issu d'une telle intervention sur la réalité de la procréation par ces méthodes.

Dans ce contexte, l'étude clinique proposée dans cette recherche se base sur une analyse du discours des couples parentaux rencontrés lors d'un entretien semi-structuré en présence de leur enfant âgé de 6 à 9 ans, puis lors d'entretiens individuels avec chacun des membres de la famille (père, mère, enfant(s)). La population étudiée de couples présentant une infertilité d'origine masculine, comptera deux groupes : - un groupe de 30 couples ayant eu des enfants par AMP intraconjugale et un autre groupe formé de 30 couples ayant eu des enfants par AMP avec don de sperme.

Nous faisons l'hypothèse que ces techniques d'assistance à la procréation marquent l'identité parentale et nous pensons notamment retrouver dans notre échantillon des différences entre les couples ayant eu recours à une AMP avec ou sans don de sperme. Les résultats attendus de cette recherche vont permettre d'une part de repérer les indicateurs cliniques pouvant être pertinents pour les équipes de médecine de la reproduction dans la prise en charge proposée aux couples, et d'autre part d'analyser le mode du fonctionnement paternel, la filiation, et ses conséquences sur le destin de l'enfant.

Année: 2011

Qualité du gamète mâle chez les hommes infertiles pris en charge en AMP : retentissement des folates sur l'épigénome

RAVEL Cécilia - Institut Pasteur

[Retour tableau](#)

Résumé

OBJECTIFS :

- Objectif principal

Evaluer l'impact du traitement par folates sur la méthylation de l'ADN spermatique de patients infertiles avant prise en charge en Assistance Médicale à la Procréation.

- Objectifs secondaires

Evaluer l'efficacité du traitement par acide folique comparée à celle de son placebo chez des hommes infertiles sur le résultat de la prise en charge habituelle en FIV ± ICSI (taux de grossesse). Evaluer le retentissement des anomalies de méthylation de l'ADN des spermatozoïdes et leur correction éventuelle après traitement sur les résultats de la prise en charge habituelle en FIV ± ICSI (taux de grossesse).

RESULTATS ATTENDUS :

- corrélations indiquant des gènes ou des groupes de gènes (voies de signalisation, réseaux) qui présentent des altérations de méthylation chez l'homme en situation pathologique.
- déterminer si les profils de méthylation modifiés sont constants chez les patients eux-mêmes avec ou sans traitement par acide folique.

METHODOLOGIE :

Dans le cadre du PHRC (AOM 10052) FOLFIV, l'impact des folates dans la prise en charge de l'infertilité masculine va être analysé par une grande étude multicentrique contrôlée randomisée en double insu comparant deux groupes parallèles de 390 patients dans chaque bras: Acide folique 15 mg/j versus placebo, par voie orale pendant 3 mois au minimum (durée d'un cycle de spermatogenèse).

Cette étude permettra d'évaluer l'efficacité du traitement par l'acide folique sur les paramètres spermatiques et sur la qualité nucléaire des gamètes et d'évaluer également l'impact du génotype MTHFR des patients sur les taux de grossesse et les paramètres masculins en fonction du traitement pris (acide folique ou placebo). Le recrutement des 780 patients va débuter dans les semaines à venir avec une durée d'étude prévue de trois ans.

La présente demande concerne donc le financement des analyses de biologie moléculaire (génotypage, analyses de méthylation de l'ADN spermatique) des sujets de cette importante cohorte.

Il s'agit de la première étude de grande envergure sur le sujet.

Résultats

Yefimova, Marina G, Antoine Buschiazzi, Agnes Burel, Marie-Therese Lavault, Celine Pimentel, Guilhem Jouve, Sylvie Jaillard, Bernard Jegou, Nicolas Bourmeyster, et Celia Ravel. 2019. « Autophagy is increased in cryptorchid testis resulting in abnormal spermatozoa ». Asian Journal of Andrology 21 (6): 570-76.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Syndrome d'hyperstimulation ovarienne et activation endothéliale : caractère prédictif du dosage de microparticules endothéliales

TORRE Antoine - CHI Poissy Saint Germain

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction : Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne (HSO) est une complication peu prévisible et purement iatrogène des cycles de stimulation ovarienne, d'autant plus fréquente que la réponse à la stimulation est forte. Sa physiopathologie reste mal connue. Sa forme grave touche 0.2 à 1% des cycles de stimulation ovarienne, découle de troubles de perméabilité vasculaire et d'une tendance à l'hypercoagulabilité, requiert parfois des soins intensifs et peut être mortelle.

Associant classiquement dysfonction endothéliale et hypercoagulabilité, le phénomène d'activation endothéliale pourrait être le dénominateur commun conduisant au syndrome d'hyperstimulation ovarienne, voire en constituer le terrain ou en prédire la gravité, comme cela a déjà été montré dans de nombreuses pathologies (accident vasculaire cérébrale, infarctus, lupus...). L'activation endothéliale n'a pourtant pas été explorée en cas d'HSO.

Objectifs : Evaluer le dosage sérique de microparticules endothéliales (marqueur original d'activation endothéliale) comme prédictif de la survenue du syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Etudier l'hypercoagulabilité et l'altération de la perméabilité endothéliale associées à la mise en évidence de ce marqueur.

Méthodologie : Etude cas-témoins appariée :

- Evaluant rétrospectivement l'évolution de

o marqueurs d'activation endothéliale (microparticules endothéliales, E-sélectine)

o marqueurs procoagulants (microparticules plaquettaires, érythrocytaire, leucocytaire, facteur Von Willbrand, facteur thrombine anti thrombine, fragment 1+2 de la prothrombine) o marqueur de la disjonction endothéliale (CD 146 soluble)

- tout au long de cycles de stimulation ovarienne, - en comparant trois groupes de patientes

o le groupe « cas » ayant finalement développé un syndrome d'hyperstimulation ovarienne o le groupe « témoins à haut risque » n'ayant pas développé d'HSO malgré une réponse à la stimulation ovarienne équivalente à celle des cas o le groupe « témoins à bas risque » n'ayant développé ni forte réponse à la stimulation ni HSO.

Résultats attendus :

- mise en évidence du phénomène d'activation endothéliale comme prédicteur de survenue d'HSO

- meilleure compréhension de la physiopathologie de l'HSO, notamment des relations entre hypercoagulabilité et troubles de la perméabilité vasculaire

Aspects originaux et perspectives : Recherche originale du phénomène d'activation endothélial au cours de cycles de stimulation ovarienne, compliqués ou non de syndrome d'hyperstimulation ovarienne.

La meilleure compréhension du mécanisme physiopathologique de l'HSO apportée par cette étude, comme la mise en évidence d'un éventuel caractère prédictif du dosage des microparticules, permettra l'émergence de prise en charge novatrice, préventives ou thérapeutiques, pour une pathologie qui pour l'instant reste imprévisible, redoutée et peu accessibles aux traitements conventionnels.

Année: 2012

Le ratio Histone/Protamine spermatique : épigénétique, facteur pronostique et diagnostique en Assistance Médicale à la Procréation

BENCHAIB Mehdi - U846 INSERM

[Retour tableau](#)

Résumé

1-Contexte

Actuellement 2,5% des enfants sont conçus par l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Dans au moins 50% des cas d'infertilité, une cause masculine est en jeu. L'évaluation de la fertilité masculine reste essentiellement basée sur le spermogramme, et sur la fragmentation de l'ADN spermatique. Ces explorations ne permettent pas d'élucider tous les cas d'infertilité masculine. La fonction nucléaire a été abordée par notre équipe sous l'angle épigénétique, en étudiant la méthylation de l'ADN. Celle-ci n'en constitue pas le seul support. Cependant, les éléments à quantifier pour explorer les différentes modifications épigénétiques sont trop nombreux pour être mis en œuvre dans le cadre de l'AMP. L'idéal serait de disposer d'un marqueur pronostic global de la qualité spermatique nucléaire qui puisse être utilisé systématiquement en AMP.

2-Objectifs

Le but de notre projet est de développer un nouveau facteur pronostic de la qualité spermatique, en vue d'améliorer la prise en charge des hommes, et le taux de réussite en AMP. Un certain nombre de travaux suggèrent que le ratio Histone/Protamine est un candidat pertinent. Nous avons initié le développement d'un test d'analyse de ce ratio, chez les patients entamant une procédure d'AMP. Le taux Histone/Protamine apportera des informations complémentaires au taux de fragmentation de l'ADN spermatique (DFI) utilisé dans notre centre. Cette étude se déroulera en plusieurs étapes qui correspondent à nos principaux objectifs :

1. La définition d'un protocole d'extraction de l'ADN spermatique et de quantification du ratio Histone/Protamine parfaitement reproductible.
2. La définition de valeurs de références à partir d'une population d'hommes fertiles (donneurs de sperme).
3. La quantification de l'impact du ratio Histone/Protamine sur l'obtention d'embryons, la qualité de ces embryons, leur évolutivité et l'obtention de grossesse.
4. La validation de la pertinence du test sur un échantillon large (295 couples).

3-Résultats attendus

- La mise en place d'une procédure de prescription de cet examen (examen de première ou de deuxième intention) pour améliorer la prise en charge des patients. - La quantification de l'apport du ratio Histone/Protamine par rapport au DFI et la construction d'un facteur synthétique à partir de ces deux facteurs. La création d'un facteur synthétique intégrant ces mesures permettra de cumuler le pouvoir pronostic de ceux-ci et entraînera une augmentation significative de la sensibilité et de la spécificité.

4-Méthodologie

Les couples seront recrutés au cours d'une consultation par un des médecins impliqués dans l'étude. Le recrutement du groupe des hommes donneur de sperme (population de référence à fertilité prouvée) sera constitué lors d'un entretien au CECOS, afin d'établir des valeurs de référence pour le ratio Histone/Protamine en relation avec la fertilité. La chromatine spermatique sera séparée en deux fractions : une fraction HDNA correspondant à l'ADN fixé aux histones et une fraction PDNA correspondant à l'ADN fixé aux protamines. La quantification sera réalisée en densitométrie optique. Le ratio Histone/Protamine correspond un ratio global, et n'est pas obtenu à partir d'un type particulier d'histone ou de protamine. Le

ratio sera calculé à partir de ces mesures en tenant compte des facteurs de dilution (volumes de reprise chaque fraction). L'analyse statistique réalisée mettra en œuvre les tests nécessaires (monovariés et multivariés) afin de rechercher l'existence d'une liaison entre le ratio Histone/Protamine et l'obtention de grossesse en tenant compte des principaux facteurs de confusions.

Résultats

Fournier, C., E. Labrune, J. Lornage, G. Soignon, S. Giscard d'Estaing, J.-F. Guérin, et M. Benchaib. 2018. « The Impact of Histones Linked to Sperm Chromatin on Embryo Development and ART Outcome ». *Andrology* 6 (3): 436-45.

Le ratio Histone/Protamine spermatique : épigénétique, facteur pronostique et diagnostique en Assistance Médicale à la Procréation.

FOURNIER C², SOIGNON G^{1,2,3}, GISCARD D'ESTAING S^{2,3}, LORNAGE J^{2,3}, BENCHAIB M^{1,2,3}

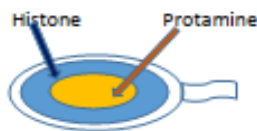
¹. Université Claude Bernard, Faculté de Médecine Lyon Est, Lyon, France.

². Inserm U846, 18 avenue Doyen Lépine 69675 Bron cedex, France.

³. Hospice Civil de Lyon, HFME, Biologie de la Reproduction, 59 Boulevard Pinel 69500 Bron, France.

Email: mehdi.benchab@chu-lyon.fr

Introduction : Actuellement 2% des enfants sont conçus par l'Aide Médicale à la Procréation (AMP). Parmi les causes d'infertilité, dans environ 50% des cas, une cause d'origine masculine est incriminée. Dans le but d'orienter le patient vers la technique d'AMP la mieux adaptée, de nombreux examens sont réalisés. Cependant ces derniers n'examinent pas toutes les facettes des spermatozoïdes et il est nécessaire de mettre en place d'autres tests permettant d'apprécier leur pouvoir fécondant. Le taux d'histone restant au sein du noyau spermatique serait un indicateur de la maturité nucléaire spermatique (Figure 1). Le but de ce travail est de valider l'intérêt de la mesure du ratio d'Histone résiduel dans le cadre de l'AMP.



$HRI = \frac{\text{Histone}}{\text{Histone} + \text{Protamine}}$

Figure 1: Localisation des histones et des protamines dans la tête d'un spermatozoïde.

Matériels & méthodes : Une étude prospective a été réalisée à l'HFME (Bron, France). 291 tentatives de Fécondation *in vitro* (FIV-c ou ICSI) réalisées entre le mois d'Octobre 2013 et le mois de Juillet 2015 ont été incluses. Les paramètres d'exclusions ont été : l'utilisation d'un sperme cryoconservé, un nombre total de spermatozoïdes inférieur à 40 millions. L'Index du Ratio Histone (HRI), a été calculé à partir du protocole décrit par Wykes (2003). La fragmentation de l'ADN (DFI) a été quantifiée par la technique TUNEL.

Résultats : 42 FIV-c et 249 ICSI ont été réalisées. L'âge moyen des femmes était de 33,7 ans, 3850 ovocytes ont été ponctionnés, ce qui a permis l'obtention de 2199 embryons : 307 embryons en FIV-c et 1892 embryons en ICSI. Un total de 511 embryons ont été transférés et 334 ont été congelés. Le taux de HRI moyen était de 18,9% et le DFI moyen de 9,9%

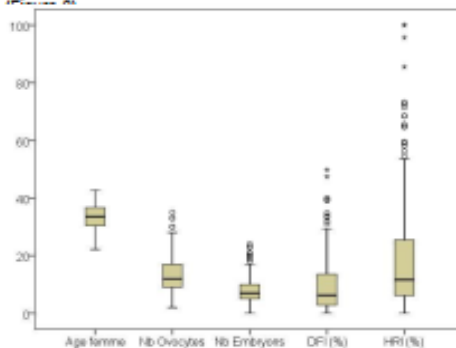
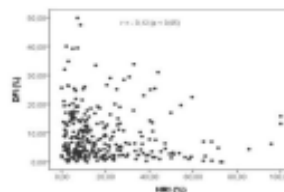
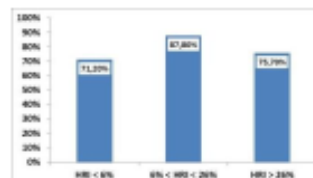


Figure 2: Diagramme de Tuckey des principales variables.



Il existe une corrélation négative significative entre le HRI et le DFI ($r = -0,12$, $p < 0,05$) (Figure 3).

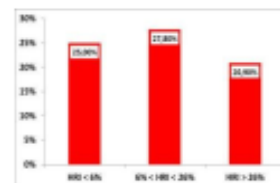
Figure 3: Diagramme de dispersion entre le HRI et le DFI.



Il existe une liaison significative entre le HRI et l'obtention de blastocyste ($p < 0,01$) (Figure 4)

Figure 4: Taux d'obtention de blastocystes en fonction du HRI.

Le taux de grossesse est optimum lorsque le HRI est compris entre 6% et 26% (taux de grossesse = 27,8%). Il est plus bas lorsque le HRI est inférieur à 6% ou supérieur à 26% (taux de grossesse = 20,6%).



Conclusion : Le HRI est un reflet de la protamination spermatique. Le HRI moyen retrouvé dans cette étude est dans l'intervalle des valeurs décrites dans la littérature. Ce résultat confirme la validité des résultats obtenus avec le protocole de mesure que nous utilisons. Le HRI semble être un facteur de maturité nucléaire spermatique pertinent. Ce facteur est faiblement corrélé avec le DFI, il apporte donc une information complémentaire. Le HRI semble donc un facteur spermatique ayant un rôle dans le développement embryonnaire et dans l'obtention de grossesse. Toutefois, il est nécessaire d'augmenter l'effectif des cycles afin d'augmenter la puissance de l'analyse statistique. Un nouveau facteur pour apprécier la qualité du noyau spermatique est donc à notre disposition. Dans un second temps il sera nécessaire de mettre en évidence les pathologies à l'origine des altérations du HRI et de trouver des traitements adaptés, ceci permettra d'améliorer le taux de réussite en AMP.

Wykes SM, Krawetz SA. The structural organization of sperm chromatin J Biol Chem. 2003, 278: 29471-29477
Cette étude bénéficie d'une bourse de l'Agence de Biomédecine (France), grant R12109CC / RPD12001CCA.

Année: 2012

Cryopreservation du sperme des adultes blessés médullaires : intérêt et modalités. Etude prospective multicentrique

CHALAS Céline - GH Cochin Saint Vincent de Paul

[Retour tableau](#)

Résumé

Les hommes traumatisés du rachis, para ou tétraplégiques, présentent le plus souvent une infertilité due, entre autre, à une altération de la qualité du sperme en particulier de la mobilité et de la vitalité. Plusieurs mécanismes sont proposés: diminution de la fréquence des éjaculations, infections urinaires et séminales récidivantes, existence d'un syndrome inflammatoire (SI) et d'un stress oxydatif (SO). Or il n'existe pas en France d'étude du sperme de ces hommes qui permettrait d'identifier des facteurs aggravants de sa qualité et des moyens de les prévenir.

Objectif : Etudier l'évolution des paramètres du sperme pendant 2 ans en tenant compte du mode mictionnel, des infections uro-génitales, du SI et du SO. L'évaluation de ces événements et de leurs répercussions permettra d'identifier un ou des facteurs de risque de dégradation du sperme et de définir une stratégie de prise en charge à long terme pour éviter le recours à l'AMP lourde soit en cryopréservant le sperme et/ou en prévenant les facteurs de risque. Critère d'évaluation principal : Etude de l'évolution du pourcentage de spermatozoïdes vivants (vitalité) sur 4 éjaculats pendant deux ans.

Résultats attendus: En l'absence de l'étude, la plupart de ces jeunes hommes ont recours à une AMP lourde (allant jusqu'à la biopsie testiculaire). La conservation de sperme se fait donc à la demande du patient soit parce que celui-ci exprime la crainte d'une dégradation du sperme soit lors d'un recours programmé à la fécondation in vitro où la congélation préalable de sperme est de règle afin d'éviter d'éventuels échecs de recueils le jour de la tentative. Par ailleurs, Il n'y a pas de politique de sauvegarde de la fertilité de ces hommes puisqu'ils ne sont vus qu'une fois en Biologie de la Reproduction lors du rendez-vous pour le prélèvement de sperme.

Le bénéfice attendu de l'étude est de pouvoir répondre à la question de la cryoconservation du sperme dans cette population et dans quel contexte : pour tous ou pour un sous-groupe où des facteurs de risques de dégradations du sperme auront pu être identifiés. La variation de la vitalité dans le temps sera le critère de jugement. Par ailleurs une meilleure connaissance des mécanismes de dégradation en cause pourrait permettre de définir des stratégies afin de limiter voir de supprimer ces facteurs de risque afin de favoriser la fertilité naturelle de ces patients.

Méthodologie : Analyse du sperme de 100 patients blessés médullaires recrutés sur 6 centres en France et sur 4 éjaculats pendant 2 ans. L'éjaculation sera obtenue spontanément ou par stimulation vibratoire pénienne. Seuls les hommes ayant une éjaculation antérograde stricte seront inclus dans l'étude.

Les examens du spermogramme, du syndrome inflammatoire, de la bactériologie et de la biochimie séminale seront réalisés par chacun des centres. Les examens concernant l'étude du stress oxydatif, mesure de la fragmentation de l'ADN, des dérivés oxydés des bases puriques (8OHdG) et des protéines carbonylées dans le sperme seront centralisés sur Cochin.

Résultats

Chalas, Celine, Lea Jilet, Jean-Philippe Wolf, Veronique Drouineaud, Hendy Abdoul, Catherine Patrat, Pierre Denys, et Francois Giuliano. 2022. « Prospective Analysis over Time of Semen Parameters in Spinal Cord-Injured Patients: Results of a Pilot Study ». *Andrology* 10 (1): 120-27.

[Retour tableau](#)

Année: 2012

Leptine et interface fœto-maternelle : Implication dans les échecs d'implantation et les fausses couches à répétition

DOS SANTOS Esther - Université de Versailles St Quentin en Yvelines

[Retour tableau](#)

Résumé

La fréquence des hypofertilités ne cesse d'augmenter, conduisant à l'accroissement des demandes d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP). L'implantation embryonnaire reste l'étape limitante majeure en AMP. Pendant la fenêtre implantatoire, un dialogue paracrine complexe s'établit entre la mère et l'embryon. Parmi ces signaux figure la leptine, cytokine qui semble jouer un rôle important à la fois dans le développement du placenta et dans la réceptivité endométriale. Les souris KO pour la leptine sont effectivement stériles et leur infertilité est corrigée par l'injection de leptine. Par ailleurs, nous avons très récemment montré au laboratoire que l'expression de la leptine est fortement diminuée dans les endomètres de femmes en échec d'implantation comparée à celle des femmes fertiles (Dos Santos et al., 2012). Cependant, à ce jour, les mécanismes moléculaires impliqués restent inconnus.

Résultats

Serazin, Valérie, Fabien Duval, Robert Wainer, Célia Ravel, François Vialard, Denise Molina-Gomes, Marie-Noëlle Dieudonne, et Esther Dos Santos. 2018. « Are Leptin and Adiponectin Involved in Recurrent Pregnancy Loss? » Journal of Obstetrics and Gynaecology Research 44 (6): 1015-22.

[Retour tableau](#)

Année: 2012

Adipocytokines et qualité des gamètes

DUPONT Joëlle - INRA

[Retour tableau](#)

Résumé

L'infertilité représente un réel problème mondial de santé et plus particulièrement dans les pays développés. En France, 1 couple sur 6 est infertile et 1 couple sur 10 a recours à des traitements inducteurs de l'ovulation ou des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP). Le surpoids et l'obésité constituent un facteur non négligeable de baisse de la fertilité naturelle et de diminution de l'efficacité des traitements de l'infertilité. Chez la femme il est associé à des défauts de maturation et de fécondation de l'ovocyte. La qualité de l'ovocyte est dépendante entre autre des facteurs locaux produits par les cellules somatiques (cellules du cumulus et cellules de la granulosa) du follicule. Les mécanismes par lesquels le surpoids ou l'obésité affectent la qualité des gamètes femelles restent largement méconnus. Le tissu adipeux est maintenant reconnu comme un véritable tissu endocrine capable de sécréter des hormones appelées adipocytokines telles que l'adiponectine, la résistine, la visfatine, l'omentine et la chemerine. Nos travaux ainsi que ceux de nos collaborateurs ont montré que certaines de ces hormones sont capables d'affecter les fonctions métaboliques mais aussi les fonctions reproductrices dans différentes espèces. Par exemple, nos travaux préliminaires montrent que chez la femme, la chemerine et son récepteur sont exprimés par les cellules de la granulosa humaine, le cumulus et l'ovocyte suggérant que les adipocytokines pourraient affecter la qualité ovocytaire.

Les objectifs de notre projet sont : 1.-établir le profil expressionnel des adipocytokines et leur récepteur si connu (protéine et/ou ARNm, localisation par immunohistochimie à l'aide de coupe histologique d'ovaires humains commerciale et/ou RT-PCR) au niveau des cellules ovariennes fraîches (cellules de la granulosa et du cumulus humains) collectées après consentement de couples en protocoles de FIV/ICSI) 2.-d'étudier les effets in vitro des adipocytokines sur la viabilité, la prolifération et la stéroïdogénèse des cellules primaires de la granulosa et du cumulus. 3.d'analyser les relations entre la concentration des adipocytokines (sérique, et intrafolliculaire); le statut des cellules ovariennes ponctionnées et analysées in vitro (stéroïdogénèse, pourcentage d'atrésie...) avec le taux de réussite de la FIV (nombre d'ovocytes matures, et réussite de l'implantation) chez des patientes obèses/ non obèse/ patientes obèse avec syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) et patientes non obèse avec SOPK.

Résultats

Bongrani, Alice, Namya Mellouk, Christelle Rame, Marion Cornuau, Fabrice Guérif, Pascal Froment, et Joëlle Dupont. 2019. « Ovarian Expression of Adipokines in Polycystic Ovary Syndrome: A Role for Chemerin, Omentin, and Apelin in Follicular Growth Arrest and Ovulatory Dysfunction? » International Journal of Molecular Sciences 20 (15).

Cloix, Lucie, Maxime Reverchon, Marion Cornuau, Pascal Froment, Christelle Ramé, Caroline Costa, Gisèle Froment, et al. 2014. « Expression and Regulation of INTELECTIN1 in Human Granulosa-Lutein Cells: Role in IGF-1-Induced Steroidogenesis Through NAMPT ». Biology of Reproduction 91 (2): 50.

Reverchon, Maxime, Marion Cornuau, Lucie Cloix, Christelle Ramé, Fabrice Guerif, Dominique Royère, et Joëlle Dupont. 2013. « Visfatin Is Expressed in Human Granulosa Cells: Regulation by Metformin

through AMPK/SIRT1 Pathways and Its Role in Steroidogenesis ». *Molecular Human Reproduction* 19 (5): 313-26.

Reverchon, Maxime, Marion Cornuau, Christelle Ramé, Fabrice Guerif, Dominique Royère, et Joëlle Dupont. 2013. « Resistin decreases insulin-like growth factor I–induced steroid production and insulin-like growth factor I receptor signaling in human granulosa cells ». *Fertility and Sterility* 100 (1): 247-255.e3.

Appel d'offres

Expression et rôle de l'omentine dans les cellules de la granulosa humaine

Lucie CLOIX ^a, Maxime REVERCHON ^b, Marion CORNUAU ^c, Christelle RAME ^b, Fabrice GUERIF ^c, Dominique ROYÈRE ^c, Joëlle DUPONT ^b



^a CHRU de Tours Unité d'Endocrinologie Nutrition Diabète, 37044 Tours, France et Université François Rabelais,

^b UMR 7247INRA-CNRS-Université de Tours-Haras Nationaux, 37380 Nouzilly, France

^c Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHRU de Tours, Tours, France



Objectifs

L'omentine est une adipocytokine dont le rôle dans la fonction de reproduction n'est pas connue chez les mammifères.

Nous avons recherché la présence, analysé la régulation de l'expression et étudié le rôle de l'omentine dans les cellules de la granulosa (CG) humaine et dans une lignée cellulaire dérivée de cellules de la granulosa humaine (KGN).

Méthodologie

Cellules CG humaines: obtenues chez des patientes en cours de procréation médicalement assistée suivies dans le service de Médecine de la Reproduction au CHU de Tours.

Cellules KGN: provenant de l'équipe japonaise des Drs Nomura et Nawata.

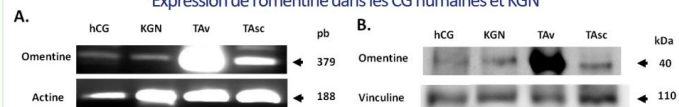
L'ARN messenger (ARNm) et la protéine de l'omentine: détectés par RT-PCR, western-blot et immunohistochimie.

Sécrétions de progestérone: mesurées dans le milieu de culture par radio-immunoassay.

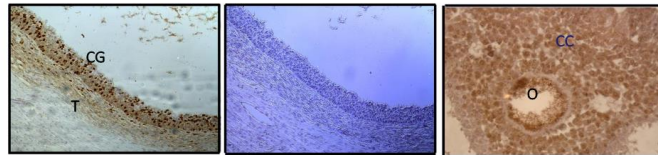
Statistiques: tests ANOVA factoriel, complétés par des tests de Fisher lorsque le test ANOVA était significatif.

Résultats

Expression de l'omentine dans les CG humaines et KGN

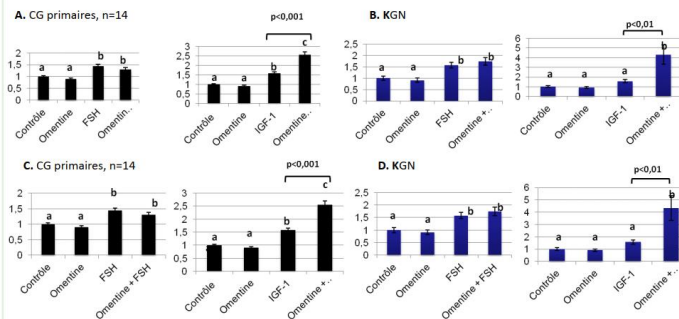


Témoins positifs : TAV : Tissu Adipeux Viscéral; TASC : Tissu Adipeux Sous Cutané



L'ARN messenger (A) et la protéine (B) de l'omentine sont exprimés dans les hCG et les KGN. Par immunohistochimie (C), l'omentine est localisée dans les CG, dans les cellules du cumulus (CC) et de la thèque (T) ainsi que dans les ovocytes (O) de follicules ovariens humains.

Effets de l'omentine sur les sécrétions, basales et induites par l'IGF1 ou la FSH, de progestérone (Pg) par les hCG et les KGN



Les données sont exprimées en concentration de Pg ou d'E2 (ng/ml)/concentration protéine/puits. Pour chaque culture, chaque traitement (omentine en présence ou absence d'IGF1 (10⁻⁸ M), ou FSH (10⁻⁸ M)) a été réalisé en quadruplet. Les lettres indiquent des différences significatives (p<0,05)

Conclusion

Pour la première fois, nous avons montré que l'omentine est présente au niveau messenger et protéique dans les CG, les cellules du cumulus, de la thèque ainsi que dans les ovocyte de follicules ovariens humains.

De plus, l'omentine agit à des concentrations physiologiques in vitro sur ces cellules en modulant leur stéroïdogénèse.

Année: 2012

Effet de la culture in vitro sur l'hydroxyméthylation de l'ADN embryonnaire : Comparaison de deux milieux utilisés en AMP

DURANTHON véronique - INRA

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Nous proposons dans cette étude de nous intéresser à l'effet de deux conditions de culture (milieu séquentiel ou milieu unique) couramment utilisées en AMP en France, sur l'évolution d'une nouvelle marque épigénétique, l'hydroxyméthylation de l'ADN. En effet, la mise en place des marques épigénétiques peut être affectée par l'environnement. Or ces marques jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'expression des gènes, laquelle est cruciale pour les étapes de différenciation cellulaires, nécessaires à un développement correct. De plus, des altérations des marques épigénétiques, entraînant la dérégulation de gènes clés, peuvent conduire à des pathologies graves chez l'adulte. L'hydroxyméthylation de l'ADN, redécouverte depuis peu, est d'un intérêt tout particulier de par son rôle dans le maintien de la pluripotence. Notre étude portera sur l'embryon de lapin, qui apparaît comme un modèle bien plus pertinent que la souris pour l'étude de l'embryon humain.

Résultats attendus : Dans un premier temps, nous comparerons la cinétique d'évolution de l'hydroxyméthylation de l'ADN dans l'embryon préimplantatoire de lapin issu de fécondation in vivo soit après un développement in vivo, soit après culture en milieu séquentiel (G1+, G2+) ou en milieu unique (Global). Nous nous intéresserons ensuite à l'expression et à la localisation subcellulaire des enzymes responsables de la méthylation et de l'hydroxyméthylation de l'ADN (DNMT : DNA méthyltransférases et protéines TET : Ten Eleven Translocation respectivement) dans l'embryon préimplantatoire. Enfin, nous analyserons l'effet à long terme des deux conditions de culture in vitro sur la répartition de l'hydroxyméthylation dans les tissus fœtaux et sa quantification chez le lapereau nouveau-né, plus particulièrement au niveau du cerveau, tissu somatique présentant un fort niveau d'hydroxyméthylation.

Méthodologie : Les embryons de lapin fécondés in vivo seront cultivés jusqu'aux stades d'intérêt dans des milieux (G1+/G2+ et Global total) utilisés en AMP. Les cinétiques de l'hydroxyméthylation seront obtenues pour les différentes conditions de développement par immunomarquage et quantification du signal fluorescent, ce qui permettra de les comparer. L'expression des enzymes sera analysée au niveau des transcrits par qRT-PCR et au niveau des protéines par Western blot. Leur localisation subcellulaire sera déterminée par immunofluorescence. Aux stades plus tardifs, des coupes de fœtus seront réalisées et nous analyserons la distribution de l'hydroxyméthylation dans les tissus fœtaux par immunomarquages. Enfin, l'hydroxyméthylation dans les cerveaux de lapereaux nouveau-nés sera quantifiée par ELISA.

Résultats

Canon, E., L. Jouneau, T. Blachère, N. Peynot, N. Daniel, L. Boulanger, L. Maulny, et al. 2018. « Progressive Methylation of POU5F1 Regulatory Regions during Blastocyst Development ». *Reproduction* (Cambridge, England) 156 (2): 145-61.

Salvaing, J., N. Peynot, M. N. Bedhane, S. Veniel, E. Pellier, C. Boulesteix, N. Beaujean, N. Daniel, et V. Duranthon. 2016. « Assessment of 'One-Step' versus 'Sequential' Embryo Culture Conditions through Embryonic Genome Methylation and Hydroxymethylation Changes ». *Human Reproduction* 31 (11): 2471-83.

Poster



Effet de la culture *in vitro* sur l'hydroxyméthylation de l'ADN embryonnaire : Comparaison de deux milieux utilisés en AMP

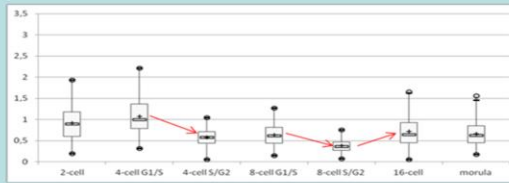
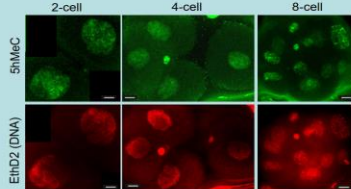
Salvaing J., Peynot N., Maulny L., Bedhane M.N., Veniel S., Daniel N., Ruffini S., Adenot P., Beaujean N., Duranthon V. INRA, UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction, Jouy-en-Josas, France; ENVA, Maisons Alfort, France

Objectifs: Nous nous sommes intéressés dans cette étude à l'effet de deux conditions de culture (milieu séquentiel G1+/G2+ ou milieu unique Global) couramment utilisées en AMP en France, sur l'évolution d'une nouvelle marque épigénétique, l'hydroxyméthylation de l'ADN. En effet, la mise en place des marques épigénétiques peut être affectée par l'environnement. Or ces marques jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'expression des gènes, laquelle est cruciale pour les étapes de différenciation cellulaires, nécessaires à un développement correct. De plus, des altérations des marques épigénétiques, entraînant la dérégulation de gènes clés, peuvent conduire à des pathologies graves chez l'adulte. L'hydroxyméthylation de l'ADN, redécouverte depuis peu, est d'un intérêt tout particulier de par son rôle dans le maintien de la pluripotence. Notre étude a porté sur l'embryon de lapin, qui apparaît comme un modèle bien plus pertinent que la souris pour l'étude de l'embryon humain.

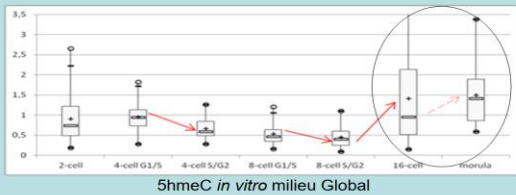
Méthodologie: A partir d'embryons de lapin fécondés *in vivo* et collectés aux différents stades après développement *in vivo* ou culture *in vitro*, nous avons pu établir les cinétiques d'hydroxyméthylation dans les différentes conditions de développement par immunomarquage et quantification du signal fluorescent. Nous avons également analysé l'expression des transcrits des différentes enzymes responsables de la méthylation et de l'hydroxyméthylation de l'ADN par qRT-PCR et présentons les premiers résultats de l'étude de l'expression et de la localisation des protéines correspondantes par immunofluorescence.

Résultats: La comparaison des cinétiques de l'hydroxyméthylation de l'ADN nous a permis de mettre en évidence des différences entre les embryons collectés *in vivo* et ceux cultivés *in vitro* mais également entre les deux conditions de culture *in vitro*. L'analyse par qRT-PCR de l'expression des gènes *Dnmt1*, *Dnmt3a*, *Dnmt3b*, *TET1*, *TET2* et *TET3* suggère quelques différences, qui sont en cours de confirmation, entre les différentes conditions.

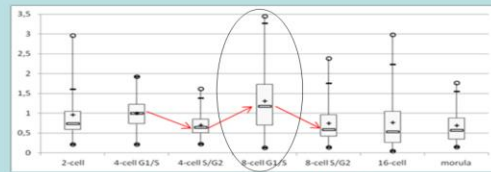
LA CULTURE *IN VITRO* DE L'EMBRYON AFFECTE LA CINÉTIQUE D'HYDROXYMÉTHYLATION DE SON GÉNOME



5mC *in vivo*



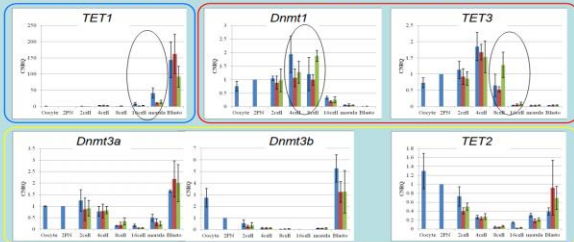
5mC *in vitro* milieu Global



5mC *in vitro* milieu G1+/G2+

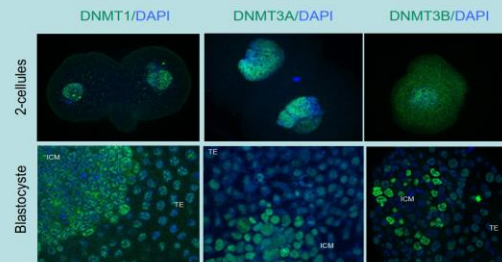
Quantification de l'hydroxyméthylation de l'ADN au cours du développement préimplantatoire. Les flèches rouges indiquent des différences significatives entre deux stades consécutifs. Les cercles noirs entourent les stades auxquels on observe une différence entre les différentes conditions.

LA CULTURE *IN VITRO* DE L'EMBRYON AFFECTE PEU L'EXPRESSION DES ENZYMES IMPLIQUÉES DANS LA MÉTHYLATION ET LA DÉMÉTHYLATION DE L'ADN



Quantification des ARN au cours du développement préimplantatoire par qRT-PCR. On note 3 profils : gène embryonnaire (entouré en bleu), gènes maternels (entourés en rouge) et gènes mixtes (entourés en jaune). Les cercles noirs entourent les stades auxquels on observe une tendance à la différence entre les différentes conditions

■ *In vivo* ■ *In vitro* Global ■ *In vitro* G1+/G2+



Détection des protéines DNMT1, DNMT3A et DNMT3B par immunofluorescence : exemple des stades 2-cellules et blastocyste

Perspectives: Les différences observées en qRT-PCR pour les gènes *Dnmt1*, *TET1* et *TET3* sont en cours de confirmation. L'analyse de l'expression et de la localisation des protéines DNMT et TET par Western blot et immunofluorescence est en cours de complétion. Nous sommes en train d'étudier les effets à plus long terme (sur fœtus en période péri-natale), de la culture *in vitro* des embryons sur l'hydroxyméthylation de l'ADN. Enfin, puisque les cinétiques d'hydroxyméthylation varient au cours de la période de clivage en fonction des conditions de développement, nous envisageons d'analyser au niveau génique les différences de méthylation qui pourraient en résulter en fin de période préimplantatoire, dans la masse cellulaire interne du blastocyste.

Année: 2012

Contrôle des transposons et reproduction : évaluation des risques en assistance médicale à la procréation chez la souris

FAUQUE Patricia - CHU Dijon

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

De nombreuses études ont été menées afin d'évaluer l'impact des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) sur la santé des enfants ainsi conçus. La notion de risque épigénétique a été évoquée, en raison du lien entre AMP et pathologies associées à des anomalies de l'empreinte parentale (syndromes de Beckwith-Wiedemann-BWS et de SilverRussell-SRS). La reprogrammation épigénétique qui caractérise la période périconceptionnelle (gamétogénèse, fécondation et développement embryonnaire précoce) serait ainsi vulnérable aux manipulations mises en œuvre lors d'AMP. Cette reprogrammation est normalement essentielle pour la régulation de gènes développementaux clefs, et les transitions entre pluripotence et différenciation de lignage. Elle est aussi fondamentale pour le contrôle des séquences répétées et en particuliers des éléments transposables (Transposable Elements-TE). Les TE sont des séquences mobiles endogènes qui représentent plus de la moitié du génome chez la souris et l'homme, et qui peuvent altérer l'organisation et l'expression des gènes. Malgré leur présence en milliers de copies et leurs effets délétères potentiels, les études concernant leur rôle en reproduction sont quasi-inexistantes. Nous proposons que les TE pourraient représenter des senseurs et des acteurs de dérégulations épigénétiques liées à l'AMP. L'objectif de ce projet est d'évaluer les effets du protocole d'AMP le plus courant, la fécondation in vitro (FIV), sur le contrôle des TE chez l'embryon préimplantatoire, en utilisant le modèle murin.

Résultats attendus :

Ce projet de recherche permettra une meilleure connaissance des risques mis en jeu en contexte d'AMP et ainsi une amélioration des protocoles utilisés. Des anomalies de contrôle des TE pourraient participer au phénotype des enfants atteints de BWS et SRS, ou avoir des conséquences plus tardives chez les individus conçus par AMP, comme la survenue de cancers ou de problèmes d'infertilité. A l'inverse, cette étude pourrait démontrer l'absence d'effet de la FIV sur le contrôle des TE, constituant alors un argument majeur pour une pratique sans risque de l'AMP. En définitive, cette étude pose le principe d'un critère d'évaluation nouveau et puissant de la qualité et de l'intégrité des embryons préimplantatoires issus d'AMP, afin de s'assurer que ces méthodes sont appliquées de manière efficace et sûre en reproduction humaine

Méthodologie :

Nous proposons d'évaluer les effets des techniques liées aux protocoles d'AMP sur le contrôle des éléments transposables dans l'embryon préimplantatoire murin. La mise en œuvre de ce projet comprend 1) la mise en place d'un protocole d'AMP humain de type FIV appliqué à la souris, et l'analyse de l'impact des manipulations inhérentes à AMP sur 2) l'expression des TE, au niveau ARN par RT-qPCR et protéique par immunofluorescence, 3) la mobilisation des TE, par l'utilisation d'un modèle murin transgénique porteur d'une cassette de rétrotransposition et 4) la production de petits ARNs régulateurs dérivés des TE, par Small RNASeq.

Notre approche est originale et innovante, conceptuellement et techniquement, grâce notamment à des méthodes et outils d'analyse pour la première fois utilisés en reproduction assistée.

Résultats

Carmignac, Virginie, Julie Barberet, Julian Iranzo, Ronan Quéré, Magali Guilleman, Déborah Bourc'his, et Patricia Fauque. 2019. « Effects of Assisted Reproductive Technologies on Transposon Regulation in the Mouse Pre-Implanted Embryo ». Human Reproduction 34 (4): 612-22.

[Retour tableau](#)

Année: 2012

Détection de la présence de bisphénol A dans les milieux de culture d'embryons humains

LEANDRI Roger - CHU Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Parmi les perturbateurs endocriniens, le bisphénol A (BPA) constitue l'un des polluants chimiques environnementaux les plus répandus : on retrouve du BPA dans les urines de plus de 90% des américains. D'autres perturbateurs endocriniens (certains phtalates) ont été retrouvés dans des milieux de culture embryonnaire humaine. La recherche de BPA dans ces milieux n'est pas documentée. Or il a été montré que l'exposition à des doses faibles de BPA lors de la culture embryonnaire chez la souris perturbe le développement embryonnaire et se répercute sur la croissance post natale.

Objectifs :

Nous nous proposons de doser, pour la première fois, la concentration en bisphénol A dans les principaux milieux de culture commercialisés dans le cadre de l'aide médicale à la procréation.

Résultats attendus :

Nous avons réalisé des mesures préliminaires sur un petit nombre d'échantillons. Elles montrent que le BPA est présent dans un milieu de culture commercial à des taux avoisinant 1ng/mL. Cette concentration est très comparable à celle retrouvée dans le sang chez l'homme et pour laquelle des effets toxiques reproductifs sont suspectés.

Il est probable que le taux de BPA varie selon les milieux, en lien avec leurs méthodes de fabrication et/ou de conservation. Par ailleurs, il est possible que la supplémentation protéique influe par elle-même sur la présence de BPA. Le projet permettra de différencier les conditions d'exposition au BPA maximales et minimales au sein de pratiques de culture courantes en Assistance Médicale à la Procréation. Ces conditions de culture pourront servir de base à une étude animale cherchant à en comparer les effets sur le développement embryonnaire préimplantatoire, post-implantatoire et post-natal.

Méthodologie :

On effectuera un dosage de la concentration en BPA basal (dans le conditionnement commercial) de 4 milieux commerciaux différents, puis après des incubations de durée différente à l'étuve à 37°C et selon des méthodes de culture habituelles (micro-gouttes sous huile minérale). Pour chaque condition, 3 expériences seront répétées contenant chacune 2 microgouttes soit 6 dosages de BPA par condition. L'effet de la supplémentation macromoléculaire sur le taux de BPA sera évalué sur un seul milieu en comparant l'effet de concentrations croissantes (0 ; 5 et 10 %) de 3 sources de macromolécules différentes (albumine humaine sérique purifiée, albumine recombinante, sérum synthétique de remplacement).

Les dosages de BPA seront réalisés à l'aveugle par l'équipe de la plateforme AXIOM de l'UMR 1331 Toxalim. Une méthode chromatographique (UPLC) couplée à la spectrométrie de masse (MS/MS) mise au point et utilisée par cette équipe sera utilisée. Cette équipe est rodée à ce type de dosage.

Les analyses statistiques feront appel à des tests non paramétriques (Mann-Whitney ; Wilcoxon pour les séries appariées).

Résultats

Gatimel, N., M. Z. Lacroix, S. Chanthavisouk, N. Picard-Hagen, V. Gayrard, J. Parinaud, et R. D. Léandri. 2016. « Bisphenol A in Culture Media and Plastic Consumables Used for ART ». Human Reproduction 31 (7): 1436-44.

[Retour tableau](#)

