

## 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
BUJAN Louis - CECOS - CHU Toulouse	<a href="#">MOTIVATIONS ET ASPECTS PSYCHOLOGIQUES DU DON DE GAMETES : étude prospective multicentrique nationale</a>	2013
HALET Guillaume - Université de Rennes	<a href="#">Rôles de la PI3-kinase beta dans la qualité ovocytaire et la viabilité des embryons pré-implantatoires</a>	2013
KHOSHNOOD Babak - INSERM	<a href="#">Assistance médicale à la procréation et risque de cardiopathies congénitales : études en population</a>	2013
LACROIX Odile - APHM	<a href="#">Apport du dosage du CD146 soluble dans le milieu de culture embryonnaire en fécondation in vitro</a>	2013
METZLER-GUILLEMAIN Catherine - CECOS - APHM	<a href="#">Lamina nucléaire et spermiogenèse : vers de nouveaux marqueurs de qualité des spermatozoïdes humains</a>	2013
RIVES Nathalie - CHU Rouen	<a href="#">Modification de la spermiogenèse après maturation in vitro du tissu testiculaire frais ou décongelé de souris prépubère</a>	2013
BANREZES Bernadette - INRA	<a href="#">Mesure de l'impact métabolique des milieux de culture utilisés pour la fécondation in vitro</a>	2014
BIETH Eric - CHU Toulouse	<a href="#">Recherche de nouveaux déterminants génétiques de l'infertilité masculine par absence bilatérale congénitale des canaux déférents</a>	2014
DELALANDE Christelle - Université de Caen	<a href="#">Estrogènes, xénoestrogènes et qualité des spermatozoïdes humains</a>	2014
DELLUC Aurélien - CHU Brest	<a href="#">AMPERT : Assistance Médicale à la Procréation et Risque Thrombotique</a>	2014
FOUCHET Pierre - CEA	<a href="#">Etude des mécanismes régulant in vitro la balance entre unipotence et pluripotence des cellules souches germinales mâles</a>	2014
HENNEBICQ Sylviane - CHU Grenoble	<a href="#">Vers une AMP plus physiologique par l'utilisation des phospholipases A2 acrosomiales sur les spermatozoïdes humains</a>	2014

Nom et institution	Titre	Année AOR
HOFFMANN Pascale - CHU Grenoble	<a href="#">Apport du dosage de la prokinéticine 1 (PROK1) dans le liquide folliculaire et les cellules folliculaires en fécondation in vitro</a>	2014
MORCEL Karine - CECOS, CHU Rennes	<a href="#">Etude protéomique de l'endomètre chez les receveuses sous traitement hormonal substitutif dans le cadre du don d'ovocytes</a>	2014
VIVILLE Stéphane - IGBMC	<a href="#">Génétique de l'infertilité masculine : gènes impliqués dans l'azoospermie non obstructive</a>	2014
BEAUQUIER-MACCOTTA Béregère - Necker - APHP	<a href="#">Le couple parental et conjugal à l'épreuve de l'insémination artificielle avec donneur (IAD) : coparentage et incidences sur le développement de l'enfant</a>	2015
LE RAY Camille - INSERM Paris 14	<a href="#">Fécondation in vitro et risque de morbidité maternelle sévère</a>	2015
LIVERA Gabriel MARTINI Emmanuelle - CEA - Fontenay.	<a href="#">Effet du BPA sur la stabilité génomique de l'ovocyte humain</a>	2015
MARTIAL Agnès - CNRS Marseille	<a href="#">Infertilité féminine liée à l'âge et autoconservation sociétale des ovocytes : étude sociologique</a>	2015
MAUREL Marie-Christine - INRA Nouzilly	<a href="#">Etude de la réponse immunitaire aux gonadotrophines exogènes chez des patients traités en FIV : influence du polymorphisme du récepteur à la FSH</a>	2015
MITCHELL Valérie - CHRU Lille	<a href="#">AKAP4 et hexokinase1 : vers de nouveaux marqueurs diagnostiques de la qualité des spermatozoïdes humains en AMP</a>	2015
MOREL Frédéric - INSERM Brest	<a href="#">Apports du tri cellulaire de spermatozoïdes chez des hommes porteurs d'une anomalie chromosomique de structure</a>	2015
ROUX Christophe - CHU Besançon	<a href="#">Amélioration des techniques de qualification fonctionnelle et sécuritaire du tissu ovarien</a>	2015
UZBEKOVA Svetlana - INRA Nouzilly	<a href="#">BestOv : identification de marqueurs de la qualité de l'ovocyte dans les cellules de cumulus par la spectrométrie de masse</a>	2015
BOITRELLE Florence - CHI Poissy	<a href="#">Présence de vacuoles céphaliques et épigénome des spermatozoïdes humains : description et potentiels impacts sur la décondensation du noyau spermatique et la formation du pronucléus mâle après fécondation hétérosécificque</a>	2016
DALBIES-TRAN Rozenn - INRA Nouzilly	<a href="#">Le rôle du Gène à Effet Maternel BCAR4 dans la qualité de l'OVOCYTE : approches in vivo et in vitro (GEMOVO)</a>	2016
DUPONT Joëlle - INRA Nouzilly	<a href="#">Obésité et qualité des spermatozoïdes humains : importance des adipocytokines ?</a>	2016

Nom et institution	Titre	Année AOR
DURANTHON Véronique - INRA Jouy en Josas	<a href="#">Culture in vitro de l'embryon : évaluation des conséquences épigénétiques de culture en milieu "one-step" ou "séquentiel"</a>	2016
GARLANTEZEC Ronan - INSERM U1085 - Rennes	<a href="#">Altération de la réserve ovarienne: étude du rôle de l'exposition aux perturbateurs endocriniens persistants et aux solvants organiques</a>	2016
LEANDRI Roger - CHU Toulouse	<a href="#">Bisphénol A et activation des récepteurs membranaires aux œstrogènes de l'embryon préimplantatoire de mammifères</a>	2016
PERRIN Jeanne - Université Aix-Marseille	<a href="#">Impact des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques sur la fécondation in vitro : des cellules parentales à la qualité embryonnaire précoce</a>	2016
RIVES Nathalie - CECOS Chu Rouen	<a href="#">Impact de la qualité nucléaire des spermatozoïdes murins générés in vitro sur le développement embryonnaire après ICSI</a>	2016
VIALARD François - Montigny le Bretonneux	<a href="#">Identification et caractérisation des mutations géniques chez des patients présentant une azoospermie par arrêt de maturation</a>	2016
WOLF Jean-Philippe - Cochin - APHP	<a href="#">Influence du plastique des boîtes pétri sur la régulation de l'expression du génome au cours de l'AMP, chez la souris</a>	2016
CHRISTIN-MAITRE Sophie - Saint-Antoine - APHP	<a href="#">Analyse en NGS des points de cassures dans des remaniements chromosomiques chez les femmes avec une insuffisance ovarienne prématurée</a>	2017
COUTTON Charles - CHU Grenoble	<a href="#">Intérêt du séquençage exomique dans le diagnostic génétique des patients globozoospermiques DPY19L2 négatifs</a>	2017
GAYRARD Véronique - UMR1331 Toulouse	<a href="#">Impact de l'exposition humaine aux bisphénols sur la fonction ovarienne et sa réponse à une stimulation</a>	2017
GRANDJEAN Valérie - INSERM U1065 - Nice	<a href="#">Impact de la perte de poids induite par un by-pass gastrique sur la qualité des spermatozoïdes</a>	2017
MAY-PANLOUP Pascale - INSERM U1083 - Angers	<a href="#">Quantification de l'ADN mitochondrial des cellules folliculaires comme facteur prédictif de l'implantation embryonnaire</a>	2017
MISRAHI Micheline REINER Veitia - INSERM U1193 - Paris	<a href="#">Etude pilote de validation du diagnostic génétique des insuffisances ovariennes prématurée par séquençage d'exomes</a>	2017
MITCHELL Michael - GMGF UMR 910 Marseille	<a href="#">Contribution des protéines BAF, BAF-L et Lamine B3 au remodelage du noyau spermatique avant et après la fécondation</a>	2017
MOUTEL Grégoire - UMR 1086 Caen	<a href="#">Développement d'un outil d'aide à la décision en oncofertilité pour les jeunes femmes atteintes d'un cancer du sein</a>	2017

Nom et institution	Titre	Année AOR
BEAU Isabelle - UMRS 1185 - Le Kremlin Bicêtre	<a href="#">L'AMH, une promesse pour la préservation de la fertilité chez la femme jeune atteinte de cancer du sein</a>	2018
BRUGNON Florence - CECOS - CHU Clermont-Ferrand	<a href="#">Impact d'un traitement par rayonnement ionisant sur la structure nucléaire des spermatozoïdes humains</a>	2018
DI CLEMENTE RENAULD BESSE Nathalie - INSERM UMRS938 - Paris	<a href="#">Mesure de l'activité biologique de l'hormone anti-Müllérienne : vers une meilleure prise en charge des femmes en AMP</a>	2018
ELIS Sébastien - INRA 0085 - Nouzilly	<a href="#">Effets du bisphénol S sur la qualité de l'ovocyte et sur les fonctions des cellules folliculaires ovariennes</a>	2018
FOUCHET Pierre - IRCM - Fontenay	<a href="#">Caractérisation des Cellules Souches Germinales dans les biopsies testiculaires d'enfants prépubères</a>	2018
HAMDJ Safouane - EA 3694 - Toulouse	<a href="#">Dépistage et diagnostic de l'absence de canaux déférents chez les hommes de couples consultant pour infécondité.</a>	2018
KHOSHNOOD Babak - INSERM U1153 - Port Royal	<a href="#">Assistance médicale à la procréation, grossesses multiples et risque d'anomalies de fermeture du tube neural : études en population</a>	2018
LABRUNE Elsa - INSERM U1208 - Bron	<a href="#">Nouvelle stratégie de préservation de la fertilité féminine : vitrification ovarienne et folliculogenèse in vitro</a>	2018
METZLER-GUILLEMAIN Catherine - CECOS - APHM	<a href="#">Information des personnes nées grâce à un don de gamètes sur leur mode de conception: vers une évaluation des pratiques</a>	2018
MOREAU Jessika - CECOS - CHU Toulouse	<a href="#">TABAGERM « Tabac et génome du spermatozoïde : effets du sevrage tabagique »</a>	2018
PERRARD Marie-Hélène - INSERM U1208 - Bron	<a href="#">Testicule artificiel pour préserver la fertilité des enfants atteints de cancers: preuve du concept chez le primate</a>	2018
ROZEE Virginie - USVQ	<a href="#">L'autoconservation ovocytaire : différer la maternité pour raisons médicales ou sociales</a>	2018
THONNEAU Patrick - EA 3694 - Toulouse	<a href="#">Evolution des paramètres spermatiques chez les donneurs admis entre 1992 et 2017 dans les 26 CECOS français</a>	2018
BOISSONNAS CHALAS Céline - CECOS - Port Royal	<a href="#">Effet de la vitrification ovocytaire et embryonnaire sur la régulation épigénétique et l'expression de Zac1 et ses partenaires chez la souris</a>	2019
BRUGNON Florence LEVY Rachel - BLEFCO - CHU Clermont-Ferrand	<a href="#">Données néonatales après congélation lente ou vitrification embryonnaire : état des lieux en France</a>	2019

Nom et institution	Titre	Année AOR
BYDLOWSKI Sarah - Descartes - Sorbonne Paris Cité	<a href="#">Développement et devenir des enfants issus de l'Assistance Médicale à la Procréation</a>	2019
DOS SANTOS Esther - EA 7404 - USVQ	<a href="#">Impact de l'obésité sur la réceptivité endométriale chez la femme</a>	2019
GATIMEL Nicolas - EA 3694 - Toulouse	<a href="#">Impact d'une exposition alimentaire in utero à un mélange de pesticides, sur la folliculogenèse et la stéroïdogénèse chez la souris adulte</a>	2019
LEANDRI Roger - CHU Toulouse	<a href="#">Exposome chimique tubaire durant la phase préconceptionnelle et le développement préimplantatoire humain</a>	2019
RONDANINO Christine - EA 4308 - CHU Rouen	<a href="#">Maturation in vivo et in vitro du tissu testiculaire prépubère après exposition à un traitement par chimiothérapie</a>	2019
SAEZ Fabrice - GRéD - Clermont-Ferrand	<a href="#">Effet d'une supplémentation orale antioxydante sur la qualité des spermatozoïdes et leurs marques épigénétiques</a>	2019
WOLF Jean Philippe - INSERM U1016 - Cochin	<a href="#">Etude de la transmissibilité aux générations suivantes des altérations épigénétiques du génome induites au cours de la fécondation in vitro dans des boîtes en plastique, chez la souris</a>	2019
ARNOULT Christophe - IAB - La Tronche	<a href="#">Amélioration du succès de l'insémination intra-utérine (IIU) par le clofilium</a>	2020
BOURDET-LOUBERE Sylvie - LCPI - EA 4591 - Toulouse	<a href="#">Accompagner la procréation avec don d'ovocytes : les apports d'un groupe à médiation Photolangage©</a>	2020
BRUGNON Florence - CECOS - CHU Clermont-Ferrand	<a href="#">Impact de la maturation in vitro et de la vitrification ovocytaire dans le cadre de la préservation de la fertilité féminine</a>	2020
DECANTER Christine - CHRU Lille	<a href="#">Préservation de la fertilité par congélation d'ovocytes en cas de tumeur ovarienne bénigne à haut risque d'altération du stock folliculaire</a>	2020
FAUQUE Patricia - CECOS - CHU Dijon	<a href="#">Impact du procédé et du milieu de vitrification ovocytaire</a>	2020
FERAILLE - RIVES Aurélie - CECOS - EA 43208 - CHU Rouen	<a href="#">Recherche de la maladie résiduelle au sein du tissu testiculaire conservé chez des patients ayant une leucémie aigüe</a>	2020
FROMENT Pascal - INRA Nouzilly	<a href="#">Projet EXFO : Analyse des vésicules extracellulaires (microparticules and exosomes) issues du liquide folliculaire des patientes infertiles normaux poids et obèse avec ou sans SOPK</a>	2020
MAISONNEUVE Emeline - Trousseau - APHP	<a href="#">Effet des immunoglobulines pour retarder l'âge gestationnel à la 1ère transfusion in utero dans les allo-immunisations très sévères</a>	2020

Nom et institution	Titre	Année AOR
MATHIEU D'ARGENT Emmanuelle - Tenon - APHP	<a href="#">Etude de l'Hormone Anti Müllérienne (AMH) dans le liquide folliculaire de patientes bénéficiant d'une préservation de fertilité pour endométriose.</a>	2020
MAY-PANLOUP Pascale - INSERM U1083 - Angers	<a href="#">Etude du profil de méthylation de l'ADN mitochondrial ovocytaire au cours du vieillissement ovarien</a>	2020
REYNIER PASCAL - INSERM U1083 - Angers	<a href="#">Morphologie Mitochondriale et Infertilité Masculine – MMIM</a>	2020
BROUILLET Sophie - INSERM U1203 IRMB - CHRU Montpellier	<a href="#">L'ADN libre embryonnaire, nouveau biomarqueur non-invasif du potentiel implantatoire de l'embryon en FIV ?</a>	2021
BRUGNON Florence - CECOS - CHU Clermont-Ferrand	<a href="#">Etude de la présence du SARS-CoV-2 dans le sperme : Impact sur la préservation de la fertilité masculine oncologique</a>	2021
EL KHATTABI Laïla - Institut Cochin - INSERM U1016	<a href="#">Impact de l'âge paternel sur la qualité épigénétique des gamètes mâles</a>	2021
FAUQUE Patricia - CECOS - Dijon	<a href="#">Rôle de l'infertilité sur la régulation épigénétique chez les nouveaux-nés</a>	2021
FOUCHET Pierre - UMR008/IRCM/IBFJ/CEA - Fontenay aux roses	<a href="#">Préservation de la fertilité et cancer : cellules souches germinales et thérapies anticancéreuses ciblant les gènes DOT1L et AF9</a>	2021
HERTZOG Irène-Lucile - Centre de Recherche Risques & Vulnérabilités - CAEN	<a href="#">Les expériences des hommes dans l'assistance médicale à la procréation</a>	2021
JULLIEN Jérôme - CRTI - ITUN, Nantes	<a href="#">Perturbations moléculaires et cellulaires associées à l'azoospermie sécrétoire</a>	2021
MALISSEN Nausicaa - Dermatologie et Cancérologie Cutanée - APHM	<a href="#">Évolution de la réserve ovarienne et des paramètres du spermogramme au cours de traitements utilisés en situation adjuvante dans le mélanome</a>	2021
MOREAU Émilie - CECOS - Tenon - APHP	<a href="#">Description et analyse des connaissances en matière de fertilité et exploration du désir de parentalité chez les personnes transgenres adultes dans le cadre d'un parcours de préservation de la fertilité.</a>	2021
NETCHINE Irène - Trousseau - APHP	<a href="#">Syndrome de Silver Russell, fertilité parentale et conception par Aide Médicale à la Procréation</a>	2021
BARBOTIN Anne-Laure - CHU de Lille	<a href="#">Caractérisation immunohistochimique des arrêts de maturation homogènes dans l'azoospermie non obstructive</a>	2022

Nom et institution	Titre	Année AOR
BENOIT Alexandra - Médecine de la reproduction - Béclère	<a href="#">Développement d'un outil d'aide à la décision pour des femmes demandant une congélation d'ovocytes sans motif médical</a>	2022
DROUINEAUD Véronique - CECOS - Cochin	<a href="#">Modalités de construction de la famille chez les couples hétérosexuels, les couples lesbiens et les femmes seules ayant recours à un don de spermatozoïdes</a>	2022
MOREAU JESSIKA - INRA, UMR 1331 TOXALIM - E3 EXPER 6 Toulouse	<a href="#">Evaluation de la santé post natale et à l'âge adulte de souris après exposition embryonnaire à des bisphénols présents au cours des manipulations de routine dans les laboratoires de PMA</a>	2022
NOURI Nadjet - CECOS - Toulouse	<a href="#">Etude des motivations et aspects psychologiques des candidats(tes) au don de gamètes suite au changement de la loi sur l'anonymat : étude nationale multicentrique</a>	2022
REIGNIER Arnaud - CRTI - ITUN, Nantes	<a href="#">Identification d'un biomarqueur protéique prédictif de la grossesse dans le milieu de culture embryonnaire</a>	2022
GATIMEL Nicolas - UMR 1203 INSERM – TOULOUSE	<a href="#">Développement d'organoïdes humains de Trompes de Fallope comme nouveau modèle d'étude de la survie, de la mobilité et de la capacitation spermatique. ORGASPER</a>	2023
KLEIN Jean-Philippe - Histologie-embryologie, cytogénétique - CHU de Saint-Etienne	<a href="#">Préservation sociétale des ovocytes : les professionnels de santé vont-ils la proposer ?</a>	2023
MAHI Lara - Centre Max Weber (UMR 5283) Lyon	<a href="#">« MumSolo » : Analyse sociologique de l'accès des femmes célibataires à l'assistance médicale à la procréation en France</a>	2023
SONIGO Charlotte - Inserm UMR-S 1185 - Le Kremlin-Bicêtre	<a href="#">Une nouvelle approche pour préserver la fertilité chez la femme après une chimiothérapie combinée</a>	2023

**Année: 2013**

## MOTIVATIONS ET ASPECTS PSYCHOLOGIQUES DU DON DE GAMÈTES : étude prospective multicentrique nationale

**BUJAN Louis** - CHU Toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

Au cours de la révision de la loi de bioéthique, les principes de recrutements des donneurs de gamètes ont été modifiés par les nouveaux textes. En effet, la loi de juillet 2011, malgré le fait qu'elle préserve l'anonymat du don et la gratuité, apporte une innovation. Le donneur ou la donneuse de gamètes ne sont plus dans l'obligation d'avoir procréé. De plus, cette loi prévoit la possibilité pour les donneurs(ses) n'ayant pas procréé de conserver des ovocytes ou des spermatozoïdes à leurs bénéficiaires. Ce changement va probablement être à l'origine d'une nouvelle population de donneurs et donneuses. Ces différents points suscitent de nombreux questionnements, dans les équipes médicales notamment sur la motivation, les caractéristiques psychologiques et sociodémographiques des donneurs et donneuses.

En France, peu d'études ont abordé les questions des motivations des donneurs(ses) de gamètes et leur profil psychologique. Au niveau international plusieurs études se sont intéressées avant tout aux aspects psychosociaux et aux possibles motivations mais dans des contextes différents du contexte français.

Notre étude vient dans ce contexte particulier de changement du texte de loi.

L'objectif du projet est d'étudier les caractéristiques de personnalité et les motivations des donneurs et donneuses dans les différentes modalités de recrutement et ainsi de répondre aux questionnements liés à l'approche du don, ses représentations ainsi que les motivations et le profil des donneurs et donneuses.

La méthodologie utilisée est mixte avec une approche quantitative et qualitative : pour la première, une approche psychosociale sur un large effectif (400 donneurs et 400 donneuses) avec deux groupes : donneurs de gamètes sans enfants, et donneurs qui ont déjà procréé. Deux questionnaires seront utilisés lors de cette enquête : sur la motivation et les traits de personnalité des donneurs (ses).

La seconde approche est qualitative par une étude de cas clinique. C'est une approche psychodynamique, qui prend en considération le donneur et la donneuse, avec toute leur subjectivité, leur histoire personnelle et familiale et leurs représentations. 60 sujets, 30 donneurs versus 30 donneuses, seront reçus pour des entretiens cliniques.

La recherche sera réalisée grâce à la collaboration entre les équipes de la Fédération des CECOS et les laboratoires de recherche, en médecine de la reproduction, en psychopathologie ainsi que le laboratoire de développement et processus de socialisation. Elle sera ouverte à toutes les autres équipes qui travaillent dans le champ du don de gamètes en dehors des CECOS.

Les résultats attendus permettront de mieux comprendre les motivations des donneurs et de montrer les liens de ces derniers avec le statut du donneur (se) (ayant procréé ou pas) et les relations avec cette possibilité d'autoconservation. Une meilleure connaissance de ces différents points sera fortement utile tant dans les campagnes d'information que dans la pratique clinique.

[Retour tableau](#)

**Année: 2013**

## Rôles de la PI3-kinase beta dans la qualité ovocytaire et la viabilité des embryons pré-implantatoires

**HALET Guillaume** - Université Rennes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les phosphoinositide 3-kinases de classe I (PI3K) sont une famille de lipide kinases qui synthétisent le second messager lipidique PIP3 (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate) dans la membrane plasmique des cellules, après stimulation par des facteurs de croissance, cytokines, ou hormones. En activant de nombreux effecteurs, dont la kinase majeure Akt, le PIP3 favorise la prolifération et la survie cellulaire, et régule l'expression des gènes et le métabolisme. Dans les cellules somatiques, la synthèse de PIP3 est un phénomène transitoire, contrebalancé par la désensibilisation des récepteurs membranaires, et l'action de la PIP3-phosphatase PTEN.

Dans nos travaux antérieurs, nous avons montré que, contrairement au schéma classique décrit dans les cellules somatiques, les ovocytes et embryons préimplantatoires de souris présentent une activation constitutive de la PI3K, sans ajout de facteurs de croissance. Cette synthèse constitutive de PIP3, qui rappelle la situation rencontrée dans les cellules cancéreuses, est soutenue pendant toute la durée du développement préimplantatoire, et est nécessaire au développement et à la survie des embryons jusqu'au stade blastocyste.

Nous proposons donc que l'activité PI3K, d'origine maternelle et/ou embryonnaire, joue un rôle majeur dans la viabilité des ovocytes et embryons pré-implantatoires, et que son dysfonctionnement puisse être une cause d'infertilité due à la mauvaise « qualité » des ovocytes et embryons.

Différentes isoformes de PI3K existent, avec différents modes d'activation. Il est également suggéré que certaines fonctions cellulaires sont régulées par les PI3K de façon isoforme-spécifique. Une étude précédente a montré que l'invalidation de l'isoforme PI3Kbeta (souris KO) conduisait à une létalité préimplantatoire chez la souris. Cependant, la stratégie KO induit des modifications compensatrices des autres isoformes de PI3K. Le rôle exact de PI3Kbeta et son mécanisme d'activation dans les embryons précoces, sont des questions qui restent non-résolues. Ce projet de recherche vise

1°) à définir l'importance de PI3Kbeta embryonnaire dans le développement pré-implantatoire à l'aide d'une nouvelle stratégie d'invalidation permettant d'éviter les phénomènes de compensation (souris KI), et

2°) à procéder à l'invalidation de PI3Kbeta spécifiquement dans les ovocytes (souris « floxées ») afin d'étudier la contribution de PI3Kbeta d'origine maternelle. Nous examinerons si ces souris présentent des problèmes de fertilité, et nous rechercherons les anomalies ovocytaires et/ou embryonnaires responsables de ce déficit.

### Résultats

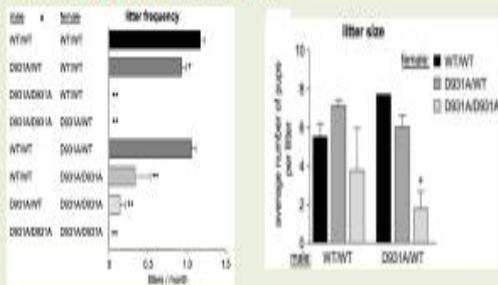
Guillemet-Guibert, Julie, Lee B. Smith, Guillaume Halet, Maria A. Whitehead, Wayne Pearce, Diane Rebourcet, Kelly León, et al. 2015. « Novel Role for p110 $\beta$  PI 3-Kinase in Male Fertility through Regulation of Androgen Receptor Activity in Sertoli Cells ». PLOS Genet 11 (7): e1005304.

Poster

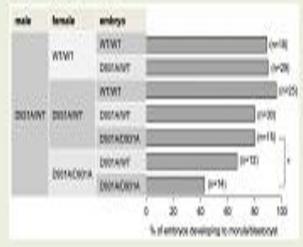
## Rôle de la PI3Kbeta dans la qualité ovocytaire et la viabilité des embryons pré-implantatoires

Coordinateur : Guillaume Halet CNRS UMR6290, IGDR, Rennes  
AOR-AMP 2013

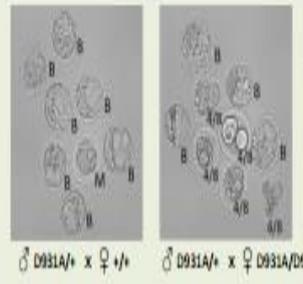
### 1- PI3Kbeta régule le développement pré-implantatoire des embryons de souris, et la fertilité des femelles.



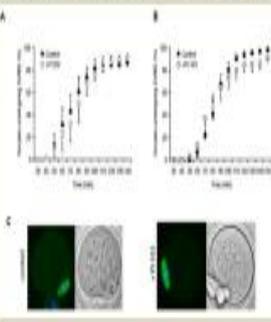
1.1. L'inactivation de PI3Kbeta diminue la fertilité des femelles. A gauche: nombre de portées/mois selon le génotype du mâle et de la femelle. A droite: nombre de ports par portée, en fonction du génotype des parents. DO1A indique l'allèle muté inactif de la sous-unité catalytique p100beta (PI3Kbeta).



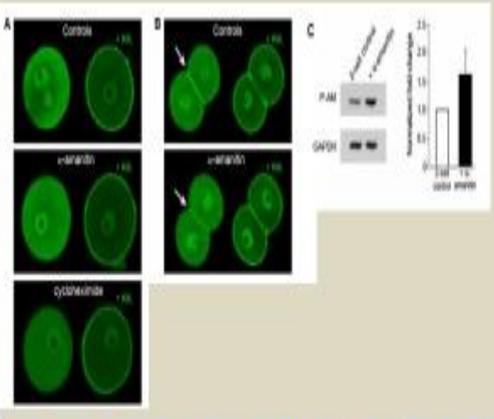
1.2. L'inactivation de PI3Kbeta inhibe le développement pré-implantatoire in vitro. Les embryons issus des divers croisements ont été mis en culture in vitro pendant 4 jours pour examiner la formation des blastocystes, puis génotypés individuellement. En haut: pourcentage d'embryons atteignant le stade blastocyste, selon le génotype. En bas: images représentatives des embryons après 4 jours de culture in vitro (B: blastocyste, M: morula, 4/B: bloqué au stade 4/B-cellules).



### 2- La PI3K maternelle régule la synthèse de PIP3 et l'activation d'Akt dans les premiers stades embryonnaires



2.1. L'inhibition de PI3K n'affecte pas la reprise de la méiose ni la maturation des ovocytes de souris. Des ovocytes au stade GV (prophase-I) ont été préalablement injectés avec un ARN codant PTDI (A) ou traités au PI-103 (10 μM), un inhibiteur de PI3K (B). Ces traitements n'affectent pas la cinétique ni le taux de réussite global de reprise de la méiose (Germlinal Vesicle Break Down/GVBD). (C) L'inhibition de PI3K par le PI-103 (10 μM) n'affecte pas la maturation in vitro vers le stade métaphase-II.



2.2. La PI3K responsable de la synthèse de PIP3 dans les embryons 1-cellule et 2-cellules est d'origine maternelle. (A) Dans les embryons 1-cellule, la synthèse de PIP3 (GFP-PIP3) déclenchée par K251 n'est pas affectée par un inhibiteur de la transcription (alpha-amanitine) ou un inhibiteur de la traduction (cycloheximide). (B) Dans les embryons 2-cellules, l'inhibition de la transcription par l'alpha-amanitine n'affecte pas la synthèse de PIP3 constitutive aux jonctions cellulaires (Mehrus), ni la synthèse de PIP3 déclenchée par K251. (C) La phosphorylation d'Akt sur T308 est détectée dans les embryons 2-cellules contrôles, et ceux traités avec l'alpha-amanitine.

Publication : Guillermet-Guibert J, Smith LB, Halet G et al. (18 authors) PLoS Genetics (2015) 11(7): e1005304

Publication : Viard P, Bourdais A, Bormann J, Carroll J and Halet G. manuscrit en préparation

**Année: 2013**

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

**KHOSHNOOD Babak - INSERM**

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs:** 1) Evaluer le rôle des grossesses multiples dans l'association entre AMP et risque de cardiopathies congénitales spécifiques; 2) Etudier l'impact de la conception par AMP sur le diagnostic prénatal et le recours à l'interruption médicale de grossesse chez les fœtus porteurs de cardiopathies congénitales ; 3) Etudier l'impact de la conception par AMP sur le devenir périnatal et néonatal précoce chez les fœtus porteurs de cardiopathies congénitales

**Méthodes :** Deux sources de données seront utilisées : 1) le Registre des Malformations Congénitales de Paris et 2) l'étude EPICARD (Etude sur le devenir des enfants porteurs de cardiopathies congénitales). Pour le premier objectif, une méthodologie cas-témoins et des modèles contrefactuels seront utilisés pour distinguer l'effet direct de l'AMP sur le risque de cardiopathie et l'effet indirect de l'AMP médié par la multiplicité. Pour les deuxième et troisième objectifs, une méthodologie de « cohorte » (exposés à l'AMP vs. non-exposés à l'AMP) sera utilisée. Les analyses porteront sur l'ensemble des cas de cardiopathies ainsi que des catégories (cas sans anomalies chromosomiques, sous-catégories homogènes de cardiopathies définies selon une classification anatomo-clinique récemment établie par notre équipe (Houyel et al, 2011). Les analyses statistiques feront appel à des modèles de régression binomiale pour évaluer l'effet de l'AMP sur le diagnostic prénatal, le recours à l'IMG et le devenir périnatal et néonatal précoce (prématurité, retard de croissance, mort in utero, mortalité néonatale). 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 les caractéristiques maternelles (âge, origine géographique, profession, parité), l'âge paternel et l'année d'enregistrement des cas.

**Résultats attendus :** Ces études peuvent permettre d'apporter des informations nouvelles concernant d'une part le risque de cardiopathies congénitales spécifiques chez les enfants conçus par AMP et d'autre part la prise en charge prénatale (diagnostic, interruption de grossesse) et le devenir périnatal et néonatal précoce des fœtus conçus par AMP et porteurs de cardiopathies.

### Résultats

Tararbit, K., N. Lelong, J.-M. Jouannic, F. Goffinet, et B. Khoshnood. 2015. « Is the Probability of Prenatal Diagnosis or Termination of Pregnancy Different for Fetuses with Congenital Anomalies Conceived Following Assisted Reproductive Techniques? A Population-based Evaluation of Fetuses with Congenital Heart Defects ». *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 122 (7): 924-31.

Tararbit, Karim, Nathalie Lelong, François Goffinet, et Babak Khoshnood. 2018. « Assessing the Risk of Preterm Birth for Newborns with Congenital Heart Defects Conceived Following Infertility Treatments: A Population-Based Study ». *Open Heart* 5 (2): e000836.

Tararbit, Karim, Nathalie Lelong, Lucile Houyel, Damien Bonnet, François Goffinet, et Babak Khoshnood. 2014. « Assessing the Role of Multiple Pregnancies in the Association between Tetralogy of Fallot and

Assisted Reproductive Techniques: A Path-Analysis Approach ». *Orphanet Journal of Rare Diseases* 9 (1): 1.

Tararbit, Karim, Nathalie Lelong, Anne-Claire Thieulin, Lucile Houyel, Damien Bonnet, François Goffinet, Babak 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.

# Appel d'offres

## Assistance Médicale à la Procréation et en particulier l'injection intracytoplasmique de sperme sont spécifiquement associée avec un risque plus levee de Tétralogie de Fallot: une étude en population

K. Tararbit\*, N. Lelong\*, AC Thieulin\*, L. Houyelt†, D. Bonnet‡, F. Goffinet\*§, B. Khoshnood\*

\* INSERM UMR 1153, Epidémiologie Périnatale, Obstétricale et Pédiatrique(EPOPé), Centre de Recherche Epidémiologie et Statistique Sorbonne Paris Cité (CRESS), DHU Risks in Pregnancy, université Paris Descartes, Maternité, Port-Royal Paris, France; † Service de chirurgie des cardiopathies congénitales, Hôpital Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson; ‡ Centre de référence M3C-Necker, Université Paris Descartes, Paris; § Maternité Port Royal, Hôpital Cochin Saint-Vincent-de-Paul, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Université Paris-Descartes, Paris.

### Objectifs

L'Assistance médicale à la procréation (AMP) est connue pour être associée à une élévation modeste du risque global de malformations congénitales. Il existe relativement peu d'informations spécifiques sur le risque de cardiopathies congénitales majeures (CCM)

Les données disponibles suggère un risque global de CCM en relation avec l'AMP comparable à celui rencontré pour toutes les anomalies congénitales (OR~1.4-1.5).

Cependant, les associations entre les différentes techniques d'AMP et les CCM n'ont pas été examinées. L'évaluation de ces associations spécifiques est importante puisque des tératogènes connus sont généralement associés avec le risque d'avoir une ou plusieurs malformations spécifiques.

**Objectifs:** Estimer les risques pour les quatre CCM spécifiques majeures: la Tétralogie de Fallot (TOF); la coarctation de l'aorte (CoA), la transposition des grandes artères (TGA) et le syndrome d'hypoplasie du cœur gauche (HLHS).

### Méthodologie

Etude en population menée à partir des données du registre de Paris sur les malformations congénitales et une étude de cohorte sur 1583 cas de CCM et 4104 témoins malformés avec aucune association connue avec une technique d'AMP.

Les techniques d'AMP incluait les inducteurs d'ovulation seuls, la fécondation *in vitro* et l'injection intracytoplasmique de sperme (ICSI).

Les risques pour chacune des quatre malformations spécifiques à l'AMP a été estimé en utilisant des modèles de régression logistique, après avoir pris en compte l'année de naissance, l'âge de la mère, la catégorie professionnelle, l'origine géographique et l'âge du père. Nous avons utilisé des imputations multiples pour les données manquantes sur l'âge du père.

### Résultats (1)

L'âge maternel moyen était de 30,6 ans et 23,0% des mères avaient plus de 35 ans. L'âge moyen du père était de 34 ans et 40,2% des pères avaient plus de 35 ans. La catégorie professionnelle « sans occupation » était la plus fréquente pour les mères (27,2%) et la plupart des mères étaient d'origine française (57,0%).

Les naissances multiples représentaient 4% de la population étudiée. Une interruption de grossesse est survenue pour 9,1% de la population étudiée et variait de 10,9% pour les cas de coarctation de l'aorte à 68,7% pour les cas de syndrome d'hypoplasie du cœur gauche.

### Résultats (II)

L'exposition aux techniques de l'AMP était significativement plus élevée pour les cas de TOF que pour les témoins (6.6 vs. 3.5%,  $P=0.002$ ).

Table 2. Numbers of cases and controls and proportions of fetuses conceived after Assisted Reproductive Technologies (ART).

	N	% exposed to ART	p <sup>†</sup>
Controls *	4 104	3.5	
All cases	395	6.6	0.002
Tetralogy of Fallot	391	3.3	0.831
Coarctation of the aorta	444	2.7	0.363
Transposition of the great arteries	353	2.8	0.491
Hypoplastic left heart syndrome	315	7.3	0.001
Cases without chromosomal abnormalities	350	3.7	0.860
Tetralogy of Fallot	430	2.8	0.423
Coarctation of the aorta	303	2.6	0.413
Transposition of the great arteries			
Hypoplastic left heart syndrome			

\* The following malformations were used as controls: club foot, angina, skin abnormality, polydactyly, syndactyly and congenital hip dislocation.

† Comparison of the proportion of children/fetuses conceived after ART between the specific CHD and the malformed controls.

L'AMP (toutes techniques confondues) était associée à un risque 2,4 fois plus élevé d'une TOF après ajustement sur les caractéristiques maternelles, l'âge du père et l'année de naissance (l'Odd Ratio (OR) ajusté = 2,4, 95% CI 1,5 - 3,7) avec un plus grand risque associé à l'ICSI (OR ajusté = 3,0, 95%CI 1.0-8.9).

Table 3. Logistic regression analyses of the associations between the different methods of Assisted Reproductive Technologies (ART) and four specific Congenital Heart Defects (CHD).

CHD	ART	Unadjusted OR*		Maternal Adjusted† OR*		Maternal and Paternal Adjusted‡ OR*	
		95% CI	ref.	95% CI	ref.	95% CI	ref.
Tetralogy of Fallot	None	1.0	ref.	1.0	ref.	1.0	ref.
	Inductors of ovulation only	1.5	0.8-2.9	2.5	1.3-4.8	2.5	1.3-4.8
	IVF <sup>§</sup>	2.0	1.0-3.9	2.0	1.0-4.2	3.0	1.0-8.9
	ICSI <sup>  </sup>	4.1	1.5-11.6	3.0	1.0-8.9	3.0	1.0-8.9
	IVF + ICSI	2.4	1.3-4.2	2.3	1.2-4.2	2.3	1.2-4.2
Coarctation of the aorta	None	1.0	ref.	1.0	ref.	1.0	ref.
	Inductors of ovulation only	0.7	0.3-1.7	1.0	0.4-2.6	1.0	0.4-2.6
	IVF <sup>§</sup>	1.0	0.4-2.4	1.1	0.4-2.9	1.1	0.4-2.9
	ICSI <sup>  </sup>	2.4	0.7-8.5	1.2	0.2-5.8	1.2	0.2-5.8
	IVF + ICSI	1.2	0.6-2.6	1.1	0.5-2.6	1.1	0.5-2.6
Transposition of the great arteries	None	1.0	ref.	1.0	ref.	1.0	ref.
	Inductors of ovulation only	0.8	0.2-1.5	0.6	0.2-1.7	0.6	0.2-1.7
	IVF <sup>§</sup>	1.2	0.5-2.6	1.0	0.4-2.5	1.0	0.4-2.5
	ICSI <sup>  </sup>	/	/	/	/	/	/
	IVF + ICSI	/	/	/	/	/	/
Hypoplastic left heart syndrome	None	1.0	ref.	1.0	ref.	1.0	ref.
	Inductors of ovulation only	0.7	0.3-1.9	0.9	0.3-2.5	0.9	0.3-2.4
	IVF <sup>§</sup>	0.6	0.2-1.0	0.5	0.1-2.3	0.5	0.1-2.3
	ICSI <sup>  </sup>	1.8	0.4-7.9	1.6	0.3-7.2	1.6	0.3-7.2
	IVF + ICSI	0.8	0.3-2.1	0.8	0.3-2.3	0.8	0.3-2.3

\* Odds ratios (OR) represent the odds of a birth (including live births, stillbirths and pregnancy terminations) with congenital heart defect (cases) relative to the odds of a birth with one of the malformed controls (club foot, angina, skin abnormality, polydactyly, syndactyly and congenital hip dislocation).

† Adjusted for maternal age, geographic origin, occupation and year of birth.

‡ Adjusted for maternal characteristics (age, geographic origin and occupation), imputed paternal age and year of birth, missing data on paternal age were imputed using exposure to ART, maternal age, year of birth and case/control status.

§ IVF: *In Vitro* Fertilization; ICSI: *Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*.

**Conclusions** Nous avons mis en évidence que les cas de TOF avaient plus de chances d'avoir été conçus à l'aide d'une AMP en comparaison aux témoins. L'AMP (toutes techniques confondues) était spécifiquement associée avec un risque plus élevé d'une TOF de 2,4 fois après ajustement. L'ordre de grandeur des associations variait selon les différentes techniques d'AMP et une association plus forte était observée pour l'ICSI avec un risque trois fois plus élevé de TOF. En revanche, nous n'avons pas observé d'associations statistiquement significative entre l'AMP et la CoA, la TGA ou du HLHS et la plupart des OR étaient proches de zéro.

Notre étude ne peut pas discriminer jusqu'à quel point les associations observées entre le risque de TOF et l'AMP sont dues à des causes à effets de l'AMP et/ou aux problèmes sous-jacents à l'infertilité des couples qui ont conçus au moyen de l'AMP. Néanmoins, la base développementale de l'association spécifique entre le risque de TOF et l'AMP, particulièrement l'ICSI, et l'implication potentielle des cellules de la crête neurale dans cette association, doit être explorée.

Ce n'était pas le cas pour les autres CCM.

Aucune association statistiquement significative a été trouvée pour les autres CCM.

**Année: 2013**

## Apport du dosage du CD146 soluble dans le milieu de culture embryonnaire en fécondation in vitro

**LACROIX Odile - APMH**

[Retour tableau](#)

### Résumé

Deux acteurs principaux jouent un rôle majeur dans l'implantation embryonnaire, l'embryon et l'endomètre. La connaissance du versant embryonnaire a largement bénéficié de l'essor des techniques de fécondation in vitro (FIV) et des critères de sélection morphologique de plus en plus précis ont pu être établis. Les taux de grossesses en FIV restent cependant comparables à ceux d'un cycle spontané, avec deux embryons transférés en moyenne et un risque de grossesses multiples de ce fait élevé. Du côté maternel, un endomètre réceptif est le pré-requis indispensable. Les facteurs angiogéniques régulant la croissance et le remodelage vasculaire pendant la grossesse sont d'un intérêt majeur, mais restent encore mal connus. La connaissance des mécanismes de l'implantation et l'identification des marqueurs d'implantation permettant la sélection d'un seul embryon à transférer sans diminuer les chances de grossesses, sont une priorité dans la recherche actuelle. Initialement décrite comme un facteur angiogénique, CD146 soluble représente un candidat potentiel. Récemment elle a été découverte comme un facteur régulant l'invasion trophoblastique. De plus, l'injection répétée de CD146s diminue la fertilité dans un modèle de rate gestante ( $62.7\% \pm 12.5$  dans le groupe non traité versus  $38.7\% \pm 6.9$ , dans le groupe traité,  $p= 0.03$ ) ainsi que le nombre d'embryons par portée.

L'objectif principal de ce projet est de corréliser les taux de CD146s dosé dans les milieux de culture embryonnaire à la survenue ou non d'une grossesse après transfert embryonnaire en FIV, afin de

déterminer si le CD146s peut constituer en FIV un biomarqueur non invasif de l'implantation embryonnaire (marqueur de mauvaise implantation en cas d'excès).

Les objectifs secondaires sont :

- d'analyser si ce biomarqueur est fonctionnel en étudiant l'activité de CD146s dans les milieux de culture embryonnaire récupérés après le transfert d'embryons, à l'aide de tests fonctionnels réalisés sur des trophoblastes en culture
- d'étudier le mécanisme de l'effet inhibiteur du CD146s sur la migration/invasion des trophoblastes extravilloux en identifiant le ou les partenaires d'interaction du CD146s

Résultats attendus :

- Montrer l'existence d'une corrélation entre l'absence de survenue de grossesse et les taux de CD146s prélevés dans les milieux de culture provenant des plots où les embryons transférés ont été cultivés
- Montrer l'existence d'une diminution de l'invasion et de l'angiogenèse placentaire dans les cultures de trophoblaste traitées avec les milieux de culture embryonnaire dans les cas où il y a eu échec d'implantation
- Identifier le ou les partenaires d'interaction de CD146s dans la régulation de l'invasion trophoblastique parmi ceux décrits dans la littérature (VEGR2, galectine 1)

Méthodologie :

- Etude prospective avec établissement de 2 groupes rétrospectivement en fonction de la survenue ou non d'une grossesse (effectif statistiquement évalué à 164 cas/groupe).
- Dosage de CD146s dans les milieux de culture des embryons transférés à l'issue de la tentative de fécondation in vitro
- Analyse de l'activité du marqueur provenant de ces milieux à l'aide de tests fonctionnels sur les cellules trophoblastiques permettant de mesurer les capacités invasives, migratoires et angiogéniques de ces cellules
- Détermination des partenaires d'interaction de CD146s sur la capacité migratoire des trophoblastes in vitro.

## Résultats

Bardin, Nathalie, Marcel Blot-Chabaud, Sylvie BOUVIER, Odile LACROIX, Françoise DIGNAT-GEORGE, et Jean-Christophe Raymond GRIS. 2016. Utilisation de cd146 soluble en tant que biomarqueur pour sélectionner un embryon fertilisé in vitro pour implantation dans un mammifère. World Intellectual Property Organization WO2016170021A1, filed 21 avril 2016, et issued 27 octobre 2016. <https://patents.google.com/patent/WO2016170021A1/fr>.

Bouvier, Sylvie, Odile Paulmyer-Lacroix, Nicolas Molinari, Alexandrine Bertaud, Marine Paci, Aurélie Leroyer, Stéphane Robert, Françoise Dignat George, Marcel Blot-Chabaud, et Nathalie Bardin. 2017. « Soluble CD146, an innovative and non-invasive biomarker of embryo selection for in vitro fertilization ». PLOS ONE 12 (3): e0173724.

# Appel d'offres

## Apport du dosage du CD146 soluble (CD146s) dans le milieu de culture embryonnaire en fécondation in vitro (FIV)

S. Bouvier<sup>1</sup>, M. Paci<sup>2</sup>, N. Molinari<sup>3</sup>, A. Bertaud<sup>1</sup>, C. Metzler-Guillemain<sup>2</sup>, J. Perrin<sup>2</sup>, F. Dignat-George<sup>1</sup>, M. Blot-Chabaud<sup>1</sup>, N. Bardin<sup>1</sup>, O. Paulmyer-Lacroix<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unité INSERM UMR-S 1076 : Endothélium, pathologies vasculaires et cibles thérapeutiques, Faculté de pharmacie, AMU, 27 Bd J Moulin, 13005 Marseille  
<sup>2</sup>Service de Biologie de la reproduction, CHU La Conception, 147 Bd Baïlle, 13005 Marseille, et faculté de Médecine, AMU, 27 Bd J Moulin, 13005 Marseille  
<sup>3</sup>Physiologie et Médecine Expérimentale, INSERM U1046, CNRS UMR 9214, Université de Montpellier, 34000 Montpellier

AOR ABM « AMP, diagnostic prénatal, diagnostic génétique » 2013

### Objectifs

**Contexte :** CD146 est une molécule d'adhérence membranaire, dont la forme soluble (CD146s) est générée par protéolyse.

L'effet inhibiteur du CD146s sur la migration/invasion des trophoblastes extra-utérins ainsi que son effet diminuant la fertilité chez l'animal [Angiogenesis, 2013, 16 (2): 329-342] suggèrent que des concentrations élevées de CD146s auraient un effet négatif sur l'implantation embryonnaire.

**Objectif :** Corréler les taux de CD146s dosés dans les milieux de culture embryonnaire à la survenue ou non d'une grossesse après transfert embryonnaire, afin de déterminer si le CD146s peut constituer un biomarqueur non invasif de l'implantation embryonnaire en FIV.

### Méthodologie

•Couples bénéficiant d'un transfert d'embryons à J2/J3 après une FIV ou ICSI intraconjugale, au CHU La Conception (2013-2015)

•Sélection des embryons diploïdes pour le transfert sur les critères morphologiques habituels et classement en 3 sous-groupes selon le consensus d'Istanbul [Hum Reprod. 2011; 26:1270-83] : top (grade A) /bon-moyen (grades B et C) /médiocre (grade D)

•Après le transfert, prélèvement du milieu où a été cultivé l'embryon transféré (1 embryon/plot) et conservation à -20° C jusqu'à utilisation.

•Dosage du CD146s dans le milieu de culture embryonnaire (trousse ELISA, Biocytex).

•Analyse statistique des transferts informatifs, i.e :

-aucun embryon transféré ne s'est implanté : 172 embryons (111 transferts)

-tous les embryons transférés se sont implantés : 24 embryons (21 transferts)

=> 18 grossesses uniques et 3 jumeaux

-un embryon sur les 2 transférés s'est implanté (embryons ayant une qualité morphologique et un taux de CD146s équivalents) : 26 embryons (13 transferts)

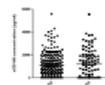
=>13 grossesses uniques

Soit 222 embryons analysables dont 37 s'étant implantés

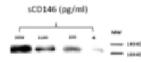
Une valeur de CD146s correspond à un embryon transféré dont le devenir est connu (implantation oui/non). Différence significative si p<0.05

### Discussion / Conclusion

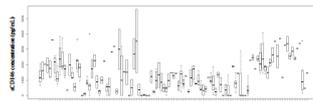
1-Le dosage du CD146s dans le milieu de culture embryonnaire est possible dès J2



Confirmation de la présence de CD146s dans les milieux de culture embryonnaire, par Western blot (analyse de 3 échantillons préalablement dosés en ELISA, ayant des taux de CD146s différents)

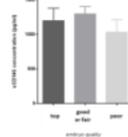


2- Les taux de CD146s sont variables au sein d'une même cohorte embryonnaire



3- Les taux de CD146s ne sont pas corrélés aux différents paramètres clinico-biologiques analysés en particulier: âge féminin, réserve ovarienne, indication de l'AMP ou type d'AMP (FIV ou ICSI)

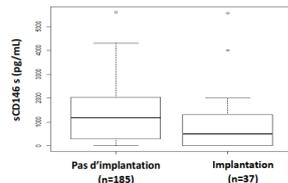
4- Les taux de CD146s ne sont pas corrélés à la qualité embryonnaire appréciée morphologiquement (p=0.5)



alors que le taux d'implantation varie selon le score morphologique (en accord avec la littérature) :

- 27,1% pour les embryons « top »
- 15,6% pour les embryons « bon, moyen »
- 5.9% pour les embryons « médiocres »

5- Les taux de CD146s sont significativement plus élevés pour les embryons ne s'étant implantés que pour les embryons s'étant implantés (p=0.024)



Courbe ROC : Détermination du taux optimal de CD146s pour l'implantation: <1164 pg.mL<sup>-1</sup>

Sensibilité: 76%, Spécificité: 48%, Valeur Prédictive Positive: 25% Valeur prédictive Négative: 92%

**Conclusion:** Nos résultats montrent qu'un taux élevé de CD146s dans le milieu de culture embryonnaire est associé à un potentiel implantatoire faible, et ceci indépendamment de la qualité embryonnaire appréciée morphologiquement.

Ceci nous permet de proposer CD146s comme biomarqueur prédictif de l'implantation embryonnaire en FIV, précoce et non invasif, apportant une aide à la sélection du (des) embryon(s) à transférer, en complément des critères morphologiques utilisés en routine.

Ce projet doit être poursuivi sur une plus large cohorte, multicentrique, pour confirmer ces résultats.

### Valorisation :

- Brevet déposé à la SATT Sud-Est ("Use of soluble CD146 as a biomarker to select in vitro fertilized embryo for implantation in a mammal". Pattern number: EP15305596. Date of file : 21.04.15)
- Publication dans une revue indexée (Soluble CD146, an innovative and non-invasive biomarker of embryo selection for in vitro fertilization. Bouvier et al. PloS One, 2017, 14:12(3):e0173724)

Année: 2013

## Lamina nucléaire et spermiogenèse : vers de nouveaux marqueurs de qualité des spermatozoïdes humains

**METZLER-GUILLEMAIN Catherine** - Université de la Timone

[Retour tableau](#)

### Résumé

La lamina nucléaire (LN) est constituée d'un réseau de protéines interposé entre la chromatine et la membrane nucléaire interne, à laquelle il est étroitement associé. La LN se compose essentiellement de lamines. La littérature montre que la LN joue un rôle très important dans le remodelage intense du noyau et de la chromatine qui se produit pendant la spermiogenèse, lorsque les spermatides rondes se transforment en spermatozoïdes. D'après les études réalisées dans d'autres types de cellules on sait que les lamines interagissent avec différentes protéines pour lier la LN au cytosquelette (protéines à domaine SUN, Nesprines) et à la chromatine (protéines à domaine LEM). En revanche, très peu de données sont disponibles concernant la LN ou ses protéines d'interaction au cours de la spermiogenèse humaine.

Le premier objectif de notre projet est de définir la nature de la LN et de ses protéines d'interaction pendant la spermiogenèse humaine. Nous déterminerons d'abord quelles lamines et de leurs protéines d'interaction connues sont présentes dans les spermatides, par analyse en RT-PCR à partir de l'ARN des spermatozoïdes, et par immunocytochimie (IC) sur des spermatides et spermatozoïdes. Dans une deuxième phase, nous utiliserons la technique du double hybride dans la levure pour identifier les autres protéines qui interagissent avec la LN en utilisant une banque de cDNAs fabriquée à partir d'ARNm présents dans les spermatozoïdes humains. Nous étudierons la capacité des protéines d'interaction candidates fusionnées avec la GFP (green fluorescent protein) à localiser au niveau de la LN quand elles sont surexprimées dans des lignées cellulaires humaines. Lors de la troisième phase, nous utiliserons des anticorps (que nous produirons ou d'origine commerciale) sur des cellules germinales testiculaires pour connaître la localisation des protéines identifiées comme interagissant avec la LN au cours de la spermiogenèse. Enfin, ces protéines seront utilisées comme biomarqueurs d'altération de la LN par criblage en IC d'échantillons de sperme venant d'hommes fertiles et infertiles.

Ces résultats permettront d'élaborer un modèle de la LN au cours de la spermiogenèse humaine d'évaluer l'impact des anomalies fonctionnelles de la LN sur la fertilité masculine. De manière plus générale, la meilleure connaissance du remodelage nucléaire au cours de la spermatogenèse nous apportera l'opportunité de découvrir un nouvel éventail de protéines associées à la lamina nucléaire qui pourraient jouer un rôle dans d'autres tissus. Ces perspectives pourraient ouvrir le champ de nouvelles pistes thérapeutiques pour les patients atteints de laminopathies.

### Résultats

Elkhatib, Razan A., Marine Paci, Romain Boissier, Guy Longepied, Yasmina Auguste, Vincent Achard, Patrice Bourgeois, et al. 2017. « LEM-Domain Proteins Are Lost during Human Spermiogenesis but BAF and BAF-L Persist ». *Reproduction* (Cambridge, England) 154 (4): 387-401.

Elkhatib, Razan, Guy Longepied, Marine Paci, Vincent Achard, Jean-Marie Grillo, Nicolas Levy, Michael J. Mitchell, et Catherine Metzler-Guillemain. 2015. « Nuclear Envelope Remodelling during Human Spermiogenesis Involves Somatic B-Type Lamins and a Spermatid-Specific B3 Lamin Isoform ». *Molecular Human Reproduction* 21 (3): 225-36.

# Appel d'offres

## Le remodelage de la lamina nucléaire au cours de la spermiogénèse humaine fait intervenir les lamines B1 et B3

Razan Elkhatib<sup>a</sup>, Guy Longepied<sup>a</sup>, Vincent Achard<sup>b</sup>, Jean-Marie Grillo<sup>b</sup>, Nicolas Levy<sup>a</sup>, Michael J Mitchell<sup>a</sup>, Catherine Metzler-Guillemain<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>UMR 910, Génétique et génomique fonctionnelle, Faculté de médecine, Aix-Marseille Université,

<sup>b</sup>Gynépôle, Laboratoire de biologie de la reproduction-CECOS, Hôpital La Conception,

### Objectifs

La lamina nucléaire est un réseau des filaments intermédiaires composé essentiellement des lamines. Ce réseau protéique est interposé entre la chromatine et la membrane nucléaire interne, et intervient dans la structure et la stabilité nucléaire. Il a été montré que la lamina nucléaire des spermatides était composée de lamines B1 (codée par le gène LMNB1) et B3 (isoforme codée par le gène LMNB2) chez les rongeurs, mais rien n'est connu chez l'homme.

**But du travail :** Caractérisation de la composition de la lamina nucléaire au cours de la spermiogénèse humaine.

### Méthodologie

\*Echantillons de sperme et prélèvements humains inclus dans le centre de ressources biologiques « Germéthèque ».

\*RT-PCR pour les lamines de type A (A, C et C2) et B (B1, B2, B3) à partir d'extraits d'ARN spermatiques humains,

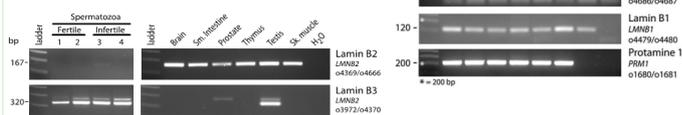
\*Immunocytochimie sur spermatozoïdes éjaculés et sur spermatides testiculaires,

\*Transfections dans des cellules HeLa d'isoformes de lamines de type B.

### Résultats

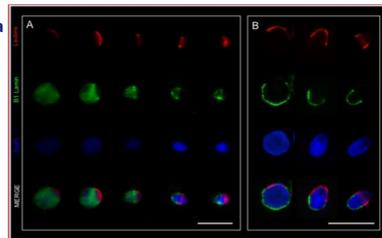
#### Présence des lamines de type B dans les spermatides humains et absence des lamines de type A

Détection par RT-PCR de Lamine B1 et de l'isoforme lamine B3 dans les testicules et les spermatozoïdes humains

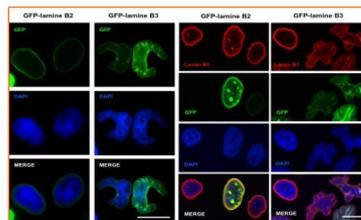


#### Localisation de lamine B1 durant la spermiogénèse :

La lamine B1 est localisée en périphérie nucléaire des spermatides rondes ou des spermatozoïdes matures avec une polarisation du marquage progressant tout au long de la maturation



#### Déformation nucléaire des cellules HeLa transfectées par l'isoforme lamine B3 :



### Conclusion

La conservation de la composition de la lamina nucléaire entre l'homme et la souris suggère que ses fonctions sont importantes.

Nos résultats indiquent que le noyau des spermatides humaine est « assoupli » par le démantèlement de la lamina nucléaire à l'interface avec l'acrosome, et par l'incorporation de la lamine B3 dans la lamina nucléaire.

**Année: 2013**

## Modification de la spermiogenèse après maturation in vitro du tissu testiculaire frais ou décongelé de souris prépubère

**RIVES Nathalie** - CHU Rouen

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les cellules germinales souches sont des cibles de thérapies gonadotoxiques, comme la chimiothérapie ou radiothérapie utilisées dans le traitement du cancer. Des stratégies de préservation des cellules germinales doivent être mises en place chez le jeune garçon, la congélation du tissu qui peut être proposée avant l'introduction de traitements à forte toxicité apparaît la stratégie la plus adaptée. L'utilisation du tissu testiculaire prépubère décongelé peut s'envisager selon différentes modalités : (i) par maturation in vitro, (ii) par maturation in vivo après transplantation de cellules germinales ou greffe de tissu testiculaire. La maturation in vitro ou spermatogenèse in vitro évite la réintroduction de cellules cancéreuses, risque potentiel après transplantation de cellules germinales ou greffe tissulaire chez le patient guéri. Le développement de modèles animaux de congélation du tissu testiculaire pré pubère et de spermatogenèse in vitro est un préalable indispensable en vue d'une application humaine. Ainsi, la culture organotypique en matrice 3D semble être une approche prometteuse permettant la production in vitro de spermatides allongées ou de spermatozoïdes. Cependant, l'optimisation de ce système doit être effectuée de façon à en assurer sa reproductibilité avant d'envisager une application humaine. Il apparaît indispensable de vérifier si le processus de spermiogenèse obtenu in vitro est comparable à celui observé in vivo.

L'objectif principal de ce travail est d'optimiser le rendement de la spermiogenèse obtenue in vitro par adjonction de rétinol ou d'acide rétinoïque dans un système de culture organotypique en phase solide (matrice d'agarose) de tissu testiculaire frais de souris pré pubères. La spermiogenèse obtenue in vitro sera évaluée qualitativement et quantitativement par analyse histologique et par exploration des voies de l'apoptose et de l'autophagie. Les résultats obtenus seront comparés à ceux obtenus dans le cadre d'une spermiogenèse obtenue in vivo dans les conditions physiologiques. Pour les temps de culture permettant d'obtenir des spermatides allongées et des spermatozoïdes, le taux d'aneuploïdie de ces cellules haploïdes sera déterminé par hybridation in situ en fluorescence.

L'objectif secondaire sera d'utiliser la condition de culture qui augmente significativement le pourcentage de tubes séminifères présentant une spermiogenèse complète, sur des fragments de testicules décongelés issus de souris pré pubères.

### Résultats

Arkoun, Brahim, Ludovic Dumont, Jean-Pierre Milazzo, Christine Rondanino, Amandine Bironneau, Julien Wils, et Nathalie Rives. 2015. « Does Soaking Temperature during Controlled Slow Freezing of Pre-Pubertal Mouse Testes Influence Course of in Vitro Spermatogenesis? » *Cell and Tissue Research* 364 (3): 661-74.

Arkoun, Brahim, Ludovic Galas, Ludovic Dumont, Aurélie Rives, Justine Saulnier, Marion Delessard, Christine Rondanino, et Nathalie Rives. 2019. « Vitamin E but Not GSH Decreases Reactive Oxygen

Species Accumulation and Enhances Sperm Production during In Vitro Maturation of Frozen-Thawed Prepubertal Mouse Testicular Tissue ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (21).

Dumont, L., B. Arkoun, F. Jumeau, J.-P. Milazzo, A. Bironneau, D. Liot, J. Wils, C. Rondanino, et N. Rives. 2015. « Assessment of the Optimal Vitrification Protocol for Pre-pubertal Mice Testes Leading to Successful in Vitro Production of Flagellated Spermatozoa ». *Andrology* 3 (3): 611-25.

Dumont, L., F. Chalmel, A. Oblette, B. Berby, A. Rives, V. Duchesne, C. Rondanino, et N. Rives. 2017. « Evaluation of Apoptotic- and Autophagic-Related Protein Expressions before and after IVM of Fresh, Slow-Frozen and Vitrified Pre-Pubertal Mouse Testicular Tissue ». *Molecular Human Reproduction* 23 (11): 738-54.

Dumont, L., A. Oblette, C. Rondanino, F. Jumeau, A. Bironneau, D. Liot, V. Duchesne, J. Wils, et N. Rives. 2016. « Vitamin A Prevents Round Spermatid Nuclear Damage and Promotes the Production of Motile Sperm during in Vitro Maturation of Vitrified Pre-Pubertal Mouse Testicular Tissue ». *Molecular Human Reproduction* 22 (12): 819-32.

Oblette, A., N. Rives, L. Dumont, A. Rives, F. Verhaeghe, F. Jumeau, et C. Rondanino. 2017. « Assessment of Sperm Nuclear Quality after in Vitro Maturation of Fresh or Frozen/Thawed Mouse Pre-Pubertal Testes ». *MHR: Basic Science of Reproductive Medicine* 23 (10): 674-84.

Poster



**Modifications de la spermiogenèse après maturation in vitro du tissu testiculaire frais ou décongelé de souris pré-pubère**

**Brahim Arkoun, Ludovic Dumont, Jean-Pierre Milazzo, Christine Rondanino, Amandine Bironneau, Nathalie Rives**  
 EA 4308 « Gamétogenèse et Qualité du gamète »  
 Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS  
 IRIB – Université de Rouen  
 CHU-Hôpitaux de Rouen  
 76031 Rouen

**Introduction**

Une congélation de tissu testiculaire suivie d'une spermatogenèse *in vitro* reste une des stratégies expérimentales pouvant permettre la préservation et la restauration de la fertilité masculine du jeune garçon après traitement du cancer (chimiothérapie ou radiothérapie).

Les travaux de notre équipe chez la souris pré-pubère ont permis de démontrer que le rétinol (RoI) à 10<sup>-6</sup>M favorise la différenciation des cellules germinales souches en spermatozoïdes à partir du tissu testiculaire frais (Arkoun et al., 2015).

En complément, nous avons évalué l'impact des différentes phases de stabilisation de la température (-7°C, -8°C et -9°C) sur la capacité des spermatogonies souches à se différencier en spermatozoïdes à partir du tissu testiculaire pré-pubère décongelé de souris (Arkoun et al., 2015).

De plus, nous avons également essayé d'identifier un protocole de vitrification (V) [vitrification sur surface 1 (VSS1)] qui pourrait permettre de préserver de manière plus efficace l'intégrité et la fonctionnalité du tissu testiculaire après réchauffement (Dumont et al., 2015). Par ailleurs, une analyse des altérations présentes au sein des spermatozoïdes obtenus au cours de la culture *in vitro* de tissus frais et vitrifiés a été effectuée (Dumont et al., en révision).

Enfin, une étude protéomique ciblée à grande échelle axée sur des voies apoptotiques et autophagique a été mise en place. Cette étude a été effectuée avec des tissus frais, congelés et vitrifiés.

**Résultats et conclusion**

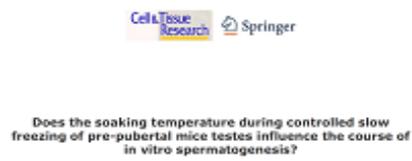
••Les phases de stabilisation de la température évaluées à -7°C et -9°C ont permis un meilleur maintien de l'intégrité structurale de l'épithélium séminifère par comparaison à la température de -8°C à 30 j de culture. Cependant, il apparait que la température située à -9°C est la plus proche du témoin « tissu frais » en terme de pourcentage de spermatozoïdes allongés obtenus par tube (Arkoun et al., 2015).

••Le RoI augmente de manière significative le pourcentage de spermatozoïdes ronds mais également allongés à 34 jours de culture par comparaison au milieu de base et l'association FSH/LH (Arkoun et al., 2015).

••Le protocole de vitrification VSS<sub>1</sub> donne des résultats similaires (voire meilleurs) que ceux de la congélation lente contrôlée. Après 30 jours de culture, on note la présence de spermatozoïdes ronds et de spermatozoïdes allongés flagellés (Dumont et al., 2015)

••A 30 jours de culture, une meilleure différenciation des spermatogonies souches et un meilleur taux de prolifération cellulaire ont été observés pour les fragments tissulaires vitrifiés de 0,75 mm<sup>3</sup> avec un milieu de culture supplémenté en RoI. De plus, une diminution des altérations nucléaires des spermatozoïdes ronds et des dommages à l'ADN associées à une production plus importante de spermatozoïdes dont la mobilité induite par la pentoxyfilline est comparable à celle observée chez des spermatozoïdes issus de testicules de souris pubères démontre l'effet majeur exercé par le rétinol dans la progression de la première vague de spermatogenèse (Dumont et al., en révision).

••Les analyses protéomiques par Reverse Phase Protein Microarrays (RPPM) confirment l'effet antagoniste exercée par l'adjonction simultanée de RoI associé à la FSH/LH et l'effet bénéfique de l'association RoI/Vitamine E sur le tissu frais et le tissu vitrifié.



**Année: 2014**

## Mesure de l'impact métabolique des milieux de culture utilisés pour la fécondation in vitro

**BANREZES Bernadette - INRA**

[Retour tableau](#)

### Résumé

La fécondation chez les mammifères est un processus très sensible aux perturbations du métabolisme. De faibles variations de la composition en substrats du milieu de culture au cours des premiers stades de la fécondation in vitro peuvent modifier l'activité métabolique des embryons et orienter le développement embryonnaire. Les approches pour mesurer ces différences d'activité et identifier les paramètres régulateurs provenant des milieux de culture sont confrontées à plusieurs difficultés. Nous ne connaissons pas l'ampleur des variations d'activité métabolique provoquées par les milieux de culture dont les formules, mises au point pour l'AMP, demeurent secrètes. Il n'existe aucune méthode permettant de relier l'activité fonctionnelle des oeufs à leur potentiel de développement. Il est connu que les effets à long terme sont très variables et pourraient avoir des conséquences sur la santé à l'âge adulte.

### Objectif

Pour évaluer l'effet des milieux de culture destinés à l'AMP sur le développement, nous proposons de conjuguer l'analyse des signaux calciques et des coenzymes NAD et FAD avec les profils d'expression des microARN et autres ARN non codants durant les premiers instants de la fécondation. Le couplage entre les premiers signaux calciques et le début de la régulation épigénétique du développement devrait permettre d'établir des corrélations fonctionnelles entre le régime des signaux  $Ca^{2+}$ , l'activité mitochondriale (phosphorylation oxydative, expression des microARN) et le développement à terme. Ce projet vise à compléter l'unique contrôle qualité des milieux destinés à l'AMP dénommé MEA (Mouse Embryo Assay) qui consiste à vérifier qu'au moins 80% des embryons de souris cultivés durant 72-96 h dans ces milieux atteignent le stade blastocyste.

### Méthodologie

L'aspect novateur du projet repose sur la mise en relation, chez la souris, de la variabilité de la signalisation calcique spontanée de la fécondation avec les différences d'expression des microARN présents dans la mitochondrie. Ce couplage fonctionnel  $Ca^{2+}$ - Mitochondrie pourrait contribuer à la régulation épigénétique du développement dès les premiers instants de la fécondation. Nous utilisons les oscillations  $Ca^{2+}$  à la fois comme un marqueur de l'activité métabolique et comme signal déterminant l'activité mitochondriale et le potentiel de développement des oeufs.

A l'aide d'un programme de calcul que nous avons développé, nous pouvons décomposer chaque signal  $Ca^{2+}$  en deux phases principales, la phase de libération et la phase de recapture du  $Ca^{2+}$ . L'analyse de variance de ces phases permet de quantifier les différences d'activité calcique liées à la formule des milieux. Résultats attendus

Nous utiliserons deux milieux de référence chez la souris, M16 et KSOM, comme milieux étalons pour évaluer deux milieux commerciaux destinés à l'AMP: Cook et Vitrolife. Les résultats préliminaires montrent que la dynamique des signaux calciques peut être utilisée pour discriminer l'impact sur le métabolisme énergétique des milieux de culture. Nous nous attendons à obtenir des profils des microARN différents en fonction des milieux de culture du fait d'une stimulation mitochondriale calcique différente. Ce travail permettra de répondre à la question des effets à long terme liés à l'utilisation de milieux de culture et

proposera une méthode de mesure quantitative de l'impact sur le fonctionnement génomique mitochondrial et le métabolisme énergétique pour la conception et l'amélioration des milieux de culture.

### **Résultats**

Ozil, Jean-Pierre, Thierry Sainte-Beuve, et Bernadette Banrezes. 2017. «  $[Mg^{2+}]_o/[Ca^{2+}]_o$  Determines  $Ca^{2+}$  Response at Fertilization: Tuning of Adult Phenotype? » *Reproduction* (Cambridge, England) 154 (5): 675-93.

CULTURE MEDIA FORMULATION DETERMINES THE REGIME OF  $Ca^{2+}$  OSCILLATIONS DURING FERTILIZATION IN THE MOUSE



Ozil J.-P., Barrezes B., Sainte-Beuve T., Barrey E.  
INRA, BDR-UMR-1198 & GABI-UMR-1313, 78352 Jouy-en-Josas, France

Cast active EPICONCEPT Workshop 2015, Dubrovnik, Croatia 26-29 April 2015

INTRODUCTION

Modulation of cytoplasmic free calcium concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) during fertilization in mammals is a signaling system involved in stimulating OXPHOS activity [1] and regulation of temporal events [2] including early miRNA expression and putative genomic regulations [3] that characterize the period of egg activation. Considerable progress has been made in understanding how these  $Ca^{2+}$  oscillations are generated and terminated [4]. However, while the developmental sensitivity of initial conditions is well acknowledged [5], it is still difficult to quantify change in egg functioning according to change in the composition of the culture media.

Here, the objective is to track and quantify temporal changes in  $Ca^{2+}$  spiking with simultaneous  $FAD^{2+}$  and NADH co-factors responses during the time course of fertilization in presence of two culture media, M16 or KSOM, in the mouse species.

METHODS

We fertilize eggs by ICSI. We record  $Ca^{2+}$  spiking,  $FAD^{2+}$  and NADH signals during the course of egg activation in presence of M16 or KSOM. These two media have the same components, but with different concentrations. By using a home made algorithm we investigate and quantify the evolutionary processes of  $Ca^{2+}$  spiking. We dissect every spike at data point scale (0.5 Hz). Based on this deeper insight, we compute a single record from many eggs and integrate  $Ca^{2+}$  spikes with  $FAD^{2+}$  and NADH responses (Fig 1 and 2). Hence this Big data approach provides a faithful functional fingerprint of a culture media (Fig. 1 & 2).

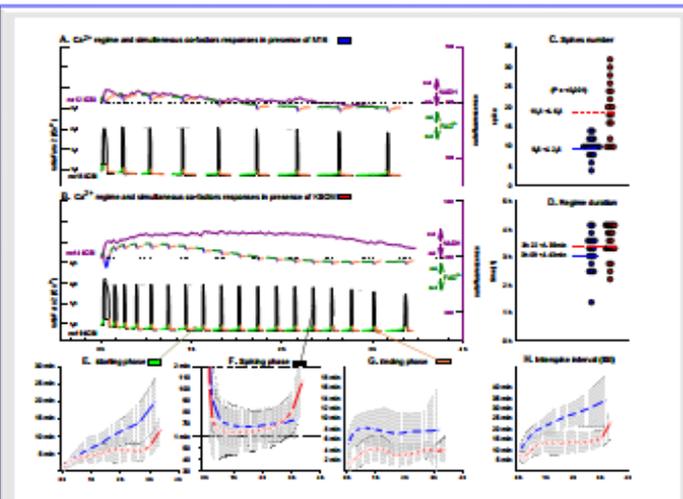
RESULTS

Figure 1 shows M16 and KSOM functional fingerprints. In presence of M16 (lac/pyx=70), eggs develop  $9.5 \pm 2$ .  $Ca^{2+}$  spikes for 3h 09 min (n= 18) while in KSOM (lac/pyx=50), eggs develop **two times more**  $Ca^{2+}$  spikes during the same duration i.e.  $18.8 \pm 6.8$   $Ca^{2+}$  spikes for 3h 22 min (n=19) ( $P < 0.001$ ). Since the total duration of  $Ca^{2+}$  spiking are similar, we can see that the culture media formulation has mostly a direct impact on the spiking frequency (Fig 1A & 1B). Hence the number of  $Ca^{2+}$  spike constitute a reliable parameter that makes it possible to quantify egg functioning including its variability (Fig.1C).

More, the integrative tracking of the duration of the starting phase (green) that corresponds to the open probability of the  $Ca^{2+}$  channel (Fig 1E), shows that M16 slow down  $Ca^{2+}$  spiking while KSOM keep a constant but rapid spiking. The open probability of the  $Ca^{2+}$  channel, appears sensitive to the media formulation. Therefore, it remains to find which components with their concentrations are implicated in setting  $Ca^{2+}$  spiking frequency.

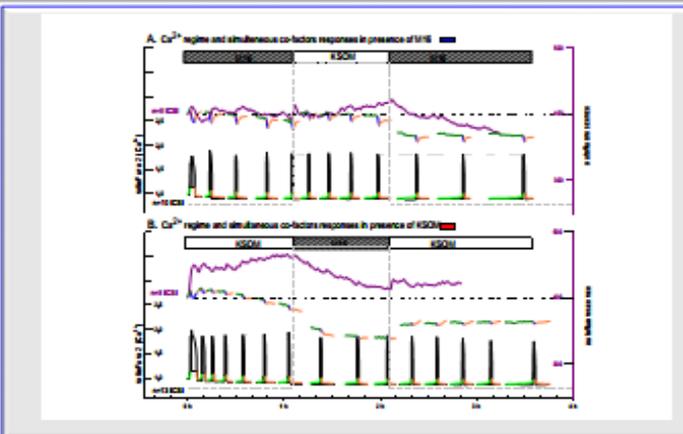
Regarding the co-factors responses ( $FAD^{2+}$ , from mitochondria and NADH, from both cytosol and mitochondria), it appears that  $Ca^{2+}$  spike frequency in KSOM increases NADH reduction and  $FAD^{2+}$  oxidation (Fig 2A & 2B).

Figure 1: Temporal changes in cytosolic  $Ca^{2+}$  oscillations with simultaneous  $FAD^{2+}$  and NADH responses following ICSI in presence of M16 or KSOM



Algorithmic average of  $Ca^{2+}$  spiking and  $FAD^{2+}$  signal during fertilization in presence of M16 (A, 18 eggs) and in presence of KSOM (B, 19 eggs) with the time course of the starting phase (green), spiking (black) and ending (orange) for every single spike. The NADH profile (dark pink) results from the arithmetic average of 12 others eggs in A and 14 in B. The NADH plot is synchronized with the first rise. (C) frequency plot of the number of spikes for M16 (blue) and KSOM (red) culture media. (D) Frequency plot of the regime duration. (E) Integrative change of the starting phase. (F) Integrative changes of the spiking duration. (G) Integrative change duration of the ending phase. (H) integrative change of the ISI

Figure 2: Eggs responses during alternative changes of culture media during the time course of egg activation



CONCLUSION:

- I) The results revealed a functional linkage between the culture media formulation and the  $Ca^{2+}$  spike frequency that stimulates mitochondrial activity.
- II) The computational approach reveals that culture media components impacts the Calcium Induced Calcium release (CICR) and the redox potential.
- III) The culture media formulation constitute a functional lever to decipher how small functional changes at fertilization have long term consequences.

References:

1 Campbell, K. and K. Swann, Dev Biol, 2006. 298(1): p. 225-33.  
3 Barrey, E. et al. (2014) Abstract FEBS\_EMO-3538  
5-Barrezes, B. et al. (2011) PLoS One. 6(12):e29388.

2 -Dudbella, T. and R. Fissore, Dev Biol, 2008. 315(2): p. 257-79  
4-Swann, K. and F.A. Lai, 2013. 53(1): p. 55-62.



This work is supported by the French Fondation pour la Recherche Médicale, l'Agence de la biomédecine and the PRASE department INRA

**Année: 2014**

## Recherche de nouveaux déterminants génétiques de l'infertilité masculine par absence bilatérale congénitale des canaux déférents

**BIETH Eric - CHU Toulouse**

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectif :** Identifier de nouveaux gènes impliqués dans l'absence bilatérale congénitale des canaux déférents (ABCD) non liée au gène CFTR grâce à une analyse comparative des séquences d'exome de patients atteints.

**Matériel et méthodes :** 20 sujets issus d'une importante cohorte déjà constituée de patients infertiles suivis dans les CHU de Toulouse et de Lille, seront soigneusement sélectionnés sur la base d'une part de critères phénotypiques définissant strictement l'absence bilatérale de canaux déférents (azoospermie, critères cliniques, spermioles, hormonologiques, échographiques, chirurgicaux,...) et d'autre part sur la base d'une étude exhaustive du gène CFTR montrant l'absence de mutation causale. L'inclusion des patients dans cette étude est donc faite de manière retrospective sur la base d'explorations déjà réalisées et qui seront éventuellement complétées. La présence ou non d'une agénésie rénale sera le seul critère permettant de définir deux sous-groupes. La stratégie d'analyse comparative d'exomes individuels sur une cohorte de patients non apparentés phénotypiquement homogènes a été retenue du fait de l'inaccessibilité des données familiales permettant des analyses de liaison (absence de grande famille analysable) ou des études par trio. Les résultats finaux (après application des filtres) du séquençage des exomes par la technologie NGS seront comparés soit en prenant en compte soit l'ensemble des patients inclus, soit pour chaque sous-groupes (présence ou absence d'anomalies rénales). Les gènes candidats seront ensuite séquencés par la technique de Sanger afin de confirmer les variations nucléotidiques. Selon les résultats obtenus une validation des gènes candidats par séquençage Sanger pourra être envisagée grâce à une nouvelle cohorte plus importante de patients sélectionnés atteints d'une ABCD.

**Résultats attendus :** de nombreuses évidences cumulées depuis près de 20 ans dans la littérature scientifique montrent que les mutations du gène CFTR ne sont pas les seuls déterminants génétiques de l'ABCD et que pour 15 à 20% des patients concernés l'ABCD reste inexpliquée. Le fait que cette anomalie de développement de structures dérivant du canal de Wolff soit parfois associée à des troubles de développement de l'appareil urinaire telle que l'agénésie rénale suggère qu'au moins un autre gène est directement impliqué dans la survenue de certaines ABCD. L'identification de mutations causales d'ABCD non liées au gène CFTR pourra ainsi déboucher sur de nouvelles pistes étiopathogéniques et donc à une meilleure compréhension de ces anomalies du développement de l'appareil urogénital masculin qui sont une cause fréquente d'infertilité. La possibilité de disposer d'un diagnostic génétique des ABCD non liées au gène CFTR permettrait une meilleure prise en charge de ces patients infertiles notamment grâce à un conseil génétique adapté

### Résultats

Patat, Olivier, Adrien Pagin, Aurore Siegfried, Valérie Mitchell, Nicolas Chassaing, Stanislas Faguer, Laetitia Monteil, et al. 2016. « Truncating Mutations in the Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene

ADGRG2 Cause an X-Linked Congenital Bilateral Absence of Vas Deferens ». The American Journal of Human Genetics 99 (2): 437-42.

# Appel d'offres

## Des mutations dans le gène « Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 » *ADGRG2* causent une absence bilatérale de canaux déférents congénitale liée à l'X

O. Patat<sup>1,11</sup>, A. Pagin<sup>2,11</sup>, A. Siegfried<sup>3</sup>, V. Mitchell<sup>4,5</sup>, N. Chassaing<sup>1</sup>, S. Faguer<sup>6</sup>, L. Monteil<sup>1</sup>, V. Gaston<sup>1</sup>, L. Bujan<sup>7,8</sup>, M. Courtade-Saïdi<sup>3</sup>, F. Marcelli<sup>5,9</sup>, G. Lalau<sup>2</sup>, J.M. Rigot<sup>5,9</sup>, R. Miesusset<sup>8,10</sup>, E. Bieth<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU, 31059 Toulouse; <sup>2</sup>Service de Toxicologie et Génopathies, Centre de Biologie Pathologie Génétique, CHRU, 59037 Lille; <sup>3</sup>Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Institut Universitaire du Cancer Toulouse- Oncopole, CHU, 31059 Toulouse; <sup>4</sup>Spermologie et CECOS, Institut de Biologie de la Reproduction, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, 59000 Lille; <sup>5</sup>EA4308 Gaméto-genèse et Qualité du Gamète, Université Lille II, 59000 Lille; <sup>6</sup>Département de Néphrologie et Transplantation d'Organes, Hôpital Rangueil, CHU, 31059 Toulouse; <sup>7</sup>Groupe Activité Médecine de la Reproduction, CECOS, CHU, 31059 Toulouse; <sup>8</sup>EA3694 Groupe de Recherche en Fertilité Humaine, Université de Toulouse III, 31059, Toulouse; <sup>9</sup>Département d'Andrologie, Hôpital Calmette, CHRU, 59000 Lille; <sup>10</sup>Groupe Activité Médecine de la Reproduction, Département d'Andrologie, Hôpital Paule de Viguier, CHU, 31059 Toulouse; <sup>11</sup>Co-premiers auteurs

### Objectifs

L'absence bilatérale de canaux déférents (ABCD) conduit à une azoospermie obstructive. Quatre-vingt pour cent des azoospermies liées à une ABCD impliquent une mutation du gène *CFTR* (mucoviscidose). Pour les 20% restant, l'origine de l'ABCD reste inconnue.

**Hypothèse:** les sujets non apparentés partageant un même phénotype rare ont une probabilité plus importante de partager des allèles rares au niveau d'un ou des mêmes gènes.

**Objectif:** Utiliser le séquençage d'exome entier pour identifier de nouveaux gènes candidats dans les ABCD non liées à *CFTR*

### Méthodologie

- ❖ Etude rétrospective des dossiers de patients ABCD depuis plus de 10 ans
- ❖ Sélection sur la base de critères phénotypiques stringents et du génotypage *CFTR*
- Critères d'inclusion génétiques:
  - ✓ ADN en quantité suffisante
  - ✓ criblage Sanger ou NGS des 27 exons *CFTR*
  - ✓ recherche de grands réarrangements de *CFTR* (MLPA, QMPF)
- Critères d'exclusion suite au génotypage *CFTR*:
  - ✓ Identification d'un SNV pathogène (classe 5 ou 4) ou d'un VUS (classe 3)
  - ✓ Identification d'un Indel ou grand réarrangement
  - ✓ Identification de l'allèle c.1210-12T[5] à l'état homozygote
  - ✓ Identification de l'allèle c.1210-12T[5] hétérozygote si TG12 ou TG13
- ❖ Exclusion des patients ABCD ayant une anomalie malformative rénale (rein unique)
- ❖ Séquençage exome entier sur 12 patients de la cohorte incluant 2 patients apparentés.

L'analyse combinatoire des 12 exomes vis-à-vis des seuls variants perte de fonction (LoF) rend 13 gènes candidats

### Priorisation du gène *ADGRG2* (Xp22.13)

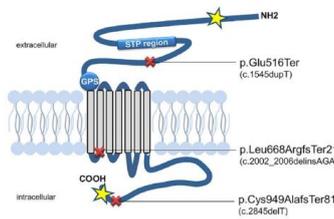
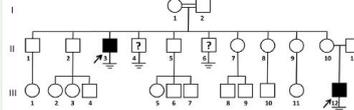
- ❖ 2 indels décalants non répertoriés à l'état hémizygote:
  - c.2845delT (p.Cys949AlafsTer)
  - c.2002\_2006delinsAGA (p.Leu668ArgfsTer21)
- ❖ Gène considéré comme très « intolérant » aux LoF (ExAC: 7/60000 exomes)

### Résultats

**Table S8:** List of genes carrying loss-of-function mutations in at least 3 individuals of the WES cohort, by mode of inheritance.

Gene	Number of individuals carrying mutations
<i>1 heterozygous mutation</i>	
<i>CHADL</i>	5
<i>TYRO3</i>	4
<i>BAZZA</i>	4
<i>C4orf21</i>	3
<i>CLTCL1</i>	3
<i>FBG1</i>	3
<i>1 hemizygous mutation (X-linked)</i>	
<i>NUDT11</i>	12
<i>ADGRG2</i>	3
<i>1 homozygous mutations</i>	
<i>GALC</i>	12
<i>MALM3</i>	12
<i>CSRP59</i>	12
<i>DDHD1</i>	3
<i>PCSK6</i>	3

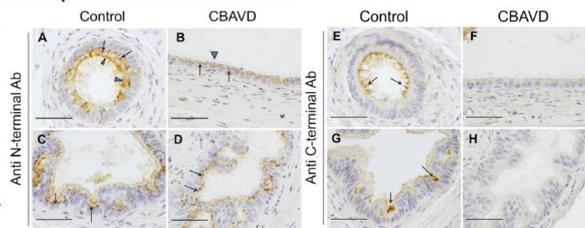
- ❖ Expression tissulaire limitée aux seules voies génitales mâles (épididyme et canaux déférents)



- ❖ Les 2 sujets apparentés de la cohorte sont porteurs de la même mutation dans *ADGRG2* (c.2002\_2006delinsAGA)

### Résultats de microscopie et d'immunohistochimie

TESE (extraction de sperme testiculaire) chez sujet ABCD avec la mutation c.2002\_2006delinsAGA (p.Leu668ArgfsTer21)



### Conclusion

- *ADGRG2*, un second gène d'azoospermie obstructive
- Mutations responsables d'infertilité masculine liée à l'X
- Un éclairage nouveau sur la physiopathologie des ABCD
- Une piste pour un anti-conceptionnel masculin...?

Année: 2014

## Estrogènes, xénoestrogènes et qualité des spermatozoïdes humains

DELALANDE Christelle - Université de Caen

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les taux de fertilité chez l'homme déclinent partout dans le monde. Aujourd'hui, environ 15 0/0 des couples sont confrontés à une infertilité dont la cause est masculine dans la moitié des cas. Très souvent, les causes de l'infertilité chez l'homme ne sont pas connues. Elles peuvent être génétiques et/ou environnementales impliquant des gènes de susceptibilité qu'il est nécessaire d'identifier.

Les estrogènes semblent avoir un rôle dans la fonction de reproduction, comme le montrent les expériences d'inactivation des gènes codant pour les récepteurs aux estrogènes chez la souris et l'étude de quelques cas de mutation du gène de l'aromatase (enzyme responsable de la synthèse des estrogènes à partir des androgènes) chez l'homme. En dehors de leur implication dans la maturation et l'acquisition de la capacité de fécondance des spermatozoïdes, ils pourraient aussi avoir un rôle dans la maturation et l'acquisition de la capacité de fécondance des spermatozoïdes. L'objectif de notre projet est d'étudier le rôle des estrogènes ainsi que leurs mécanismes d'action sur certaines caractéristiques des spermatozoïdes : la mobilité, la capacitation et l'intégrité des noyaux. Certains facteurs environnementaux se comportant comme des perturbateurs endocriniens, nous étudierons parallèlement l'impact du bisphénol A (BPA) qui est considéré comme un xénoestrogène, sur ces mêmes caractéristiques. Après avoir recherché les différentes formes de récepteurs aux estrogènes (ESR1, ESR2 and GPER), étudié leur localisation précise sur les spermatozoïdes et leur présence en fonction de la qualité des différents échantillons, nous analyserons les effets des estrogènes sur la mobilité des spermatozoïdes par analyse automatisée de leur mouvement et sur la capacitation induite in vitro. Les récepteurs et les voies de signalisation impliqués seront recherchés en utilisant des agonistes/antagonistes spécifiques des différents récepteurs ainsi que des inhibiteurs ou anticorps dirigés contre différentes protéines kinases (P13K/akt et PKA).

Les résultats obtenus permettront des avancées sur la connaissance des rôles des estrogènes et sur l'impact du BPA dans la qualité des gamètes chez l'homme. Ces données permettraient de prévenir les risques encourus lors du contact des patients avec de telles substances. L'identification des cibles et des mécanismes d'action du BPA permettrait une meilleure prise en compte des effets délétères de ces xénoestrogènes et pourrait apporter des arguments pour restreindre le matériel utilisé en spermatozoologie, diagnostic et en AMP à des contenants dépourvus de BPA.



**Année: 2014**

## AMPERT : Assistance Médicale à la Procréation et Risque Thrombotique

**DELLUC Aurélien** - CHU Brest

[Retour tableau](#)

### Résumé

La fécondation in-vitro (FIV) est largement utilisée dans le cadre de l'aide médicale à la procréation (AMP). En France, en 2008, 52000 FIV ont été pratiquées, aboutissant à 9000 naissances. Des complications thrombotiques ont été rapportées au cours des procédures de FIV. Ces complications thrombotiques touchent à la fois le territoire artériel et le territoire veineux.

La différence importante entre l'incidence des complications thrombotiques notifiées à l'AMPvigilance (15 événements thrombotiques déclarés, ce qui correspond à une incidence de 0,03 pour cent cycles ovariens) et les incidences rapportées dans la littérature (0,08 à 0,11 pour cent cycles de stimulation) peut être attribuée aux éventuelles différences entre les pratiques françaises par rapport aux études publiées. Un recours plus large à la prévention antithrombotique ou l'utilisation de traitements différents pour la stimulation ovarienne pourraient expliquer la faible incidence de complications thrombotiques notifiées à l'AMPvigilance.

Des recommandations sous l'égide de l'agence de la biomédecine sur la prévention du risque thrombotique lié à la FIV ont été publiées en 2013. Dans son rapport, le groupe de pilotage des recommandations souligne le peu d'informations concernant l'incidence des événements thrombotiques veineux lors d'AMP et qu'en l'absence d'études spécifiques, l'incidence des complications artérielles est inconnue.

### Objectif

L'objectif principal de cette étude est de décrire les pratiques professionnelles concernant la pathologie thrombotique au cours des procédures de FIV (prévention, diagnostic, traitement). L'objectif secondaire est de déterminer prospectivement l'incidence et les facteurs de risque des complications thrombotiques artérielles et veineuses chez les femmes survenant au cours des procédures de FIV.

### Méthodologie :

Etude de cohorte en soin courant, prospective, multicentrique (10 centres représentatifs de la géographie et de l'activité française d'aide médicale à la procréation), exhaustive pour chaque centre, avec une période d'inclusion sur 2 ans. Ces centres pratiquent 10000 procédures annuelles de FIV. Le suivi pour chaque patiente est de un an s'il y a une grossesse et de trois mois en l'absence de grossesse. Un prélèvement d'ADN sera réalisé pour chaque patiente incluse afin d'étudier ultérieurement l'influence des mutations des gènes des facteur II et facteur V sur le risque thrombotique des patientes.

### Résultats attendus :

Description des pratiques professionnelles françaises concernant la thromboprophylaxie au cours des procédures de FIV afin d'expliquer les différences observées entre les notifications au système d'AMP vigilance et l'incidence des complications thrombotiques décrites dans la littérature.

Cette étude apportera par ailleurs de données épidémiologiques fiables qui pourront conforter et éventuellement apporter des arguments pour compléter ou modifier les recommandations concernant la thromboprophylaxie au cours des procédures de FIV, qui viennent d'être publiées par l'Agence de biomédecine.

[Retour tableau](#)

**Année: 2014**

## Etude des mécanismes régulant *in vitro* la balance entre unipotence et pluripotence des cellules souches germinales mâles

**FOUCHET Pierre - CEA**

[Retour tableau](#)

### Résumé

Chez les patients adultes et les enfants atteints de cancer, un des effets secondaires les plus importants des traitements thérapeutiques du cancer est l'atteinte du stock de Cellules souches germinales (CSGs), entraînant par la suite de graves problèmes d'infertilité. Aucune solution thérapeutique n'est actuellement disponible pour restaurer la fertilité des patients qui ont été traités pour un cancer avant leur puberté, la cryopréservation des spermatozoïdes étant impossible dans leur cas puisque la spermatogenèse n'a pas encore commencé. La conservation de fragments testiculaires avant traitement est désormais une option proposée pour les garçons prépubères atteints de cancer, dans la perspective du développement de techniques de thérapie cellulaire utilisant les CSGs.

Afin de restaurer une spermatogenèse normale, la transplantation testiculaire de CSGs est la stratégie la plus prometteuse, ayant déjà prouvé son efficacité dans différents modèles animaux, et récemment dans un modèle de primate non humain. Cependant, le faible niveau d'efficacité de régénération de la spermatogenèse lié à la transplantation d'un nombre insuffisant de cellules souches constitue un frein au développement de ces techniques. La recherche de conditions de culture permettant l'amplification des CSGs humaines *in vitro* est ainsi un point clé à développer afin d'augmenter le nombre de cellules souches obtenues à partir d'une biopsie et ainsi accroître l'efficacité de régénération cellulaire après transplantation. Cependant, les CSGs présentent une certaine plasticité lorsqu'elles sont mises en culture, c'est à dire une capacité à modifier leur destin cellulaire et notamment à acquérir un potentiel pluripotent. Même si la fréquence de conversion de ces cellules en cellules pluripotentes reste très faible, une future utilisation de ces cellules en clinique nécessite la mise au point de méthode de culture contrôlant finement la potentialité des CSGs *in vitro* et prévenant ces événements de reprogrammation cellulaire. Les mécanismes moléculaires impliqués dans cette reprogrammation restant très méconnus, nous proposons d'étudier dans les modèles murins et humains, les mécanismes responsables de la reprogrammation spontanée vers la pluripotence des CSGs *in vitro*. Nous pensons qu'une meilleure connaissance des mécanismes, régulant la reprogrammation spontanée des CSG et l'acquisition de nouvelles potentialités par ces cellules, devrait permettre de définir des stratégies d'amplification cellulaire limitant ces risques de reprogrammation.

Afin de comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents au maintien de l'unipotence des CSG en culture, trois volets d'études seront abordés dans ce projet: (i) rôle de la voie p53 comme barrière de reprogrammation, (ii) rôle du facteur nanog comme voie de reprogrammation dans les CSG, (iii) conséquences de l'activation des protéines TET1/TET2 afin de lever des verrous épigénétiques bloquant la reprogrammation des CSG.

### Résultats

Corbineau, Sébastien, Bruno Lassalle, Maelle Givelet, Inès Souissi-Sarahoui, Virginie Firlej, Paul Henri Romeo, Isabelle Allemand, Lydia Riou, et Pierre Fouchet. 2016. « Spermatogonial stem cells and progenitors are refractory to reprogramming to pluripotency by the transcription factors Oct3/4, c-Myc, Sox2 and Klf4 ». *Oncotarget* 8 (6): 10050-63.

[Retour tableau](#)



**Année: 2014**

## Vers une AMP plus physiologique par l'utilisation des phospholipases A2 acrosomiales sur les spermatozoïdes humains

**HENNEBICQ Sylviane** - Centre AMP, CHU Grenoble

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte : Aujourd'hui les techniques d'aide médicale à la procréation (AMP) sont largement utilisées et près de 3% des enfants sont conçus grâce à ces techniques en France. Parmi ces techniques, plus de la moitié des fécondations in vitro (FIV) sont assistées d'une micro-injection de spermatozoïde dans l'ovocyte (ICSI), ce spermatozoïde étant choisi uniquement sur des critères de mobilité et de morphologie, partiellement liés à la subjectivité de l'opérateur.

Objectif(s) : Notre projet propose de caractériser l'effet des phospholipases sécrétées de groupe A2 sur le taux de réaction acrosomique et les caractéristiques nucléaires et membranaires des spermatozoïdes humains. Ces enzymes naturellement présentes dans l'acrosome ont montré leur efficacité comme agent augmentant le taux de fécondation et le développement embryonnaire chez la souris. Leur évaluation chez le bovin et le babouin est bien avancée et très encourageante (données non encore publiées). Nos travaux font l'objet d'une demande de brevet international. Nous analysons actuellement l'innocuité de la technique sur modèle murin et prévoyons l'extension des études d'innocuité au modèle bovin.

Résultats attendus : Nous espérons montrer une augmentation du taux de réaction acrosomique des spermatozoïdes traités par sPLA2 et progresser dans la caractérisation qualitative des spermatozoïdes sensibles et résistants aux phospholipases. Ces données serviraient ensuite de base à l'élaboration d'un projet de test de l'efficacité de ces molécules en AMP.

Méthodologie : Nous prévoyons l'étude d'une série de 30 témoins fertiles, 30 patients à sperme normal et autant à paramètres de sperme altérés, échantillons suffisant pour observer des différences significatives vu les moyennes et écarts types des données préliminaires déjà acquises. Les analyses statistiques ont été définies par un biostatisticien au sein de notre équipe. Nous analyserons les caractéristiques de mobilité, vitalité, qualité nucléaire et taux de réaction acrosomique de ces spermatozoïdes soumis ou non à l'action des sPLA2. Nous testerons également des méthodologies de tri de ces spermatozoïdes selon leurs caractéristiques acrosomiales et/ou nucléaires afin d'évaluer le bénéfice-coût de ces nouvelles pistes de préparation des gamètes. Par ailleurs, nous caractériserons les lipides et phospholipides des spermatozoïdes traités par les sPLA2 dans le modèle bovin, modèle d'accès facile et de forte homologie avec l'humain. Nous espérons ainsi pouvoir mieux appréhender les modifications des spermatozoïdes qui seraient utilisés en AMP

Retombées potentielles : Compte tenu de la fréquence actuelle des naissances issues de l'AMP dans la population générale, le potentiel de valorisation de cette nouvelle approche pourrait être tout à fait significatif en termes d'amélioration des résultats et de minimisation des risques.

[Retour tableau](#)

**Année: 2014**

## Apport du dosage de la prokinéticine 1 (PROK1) dans le liquide folliculaire et les cellules folliculaires en fécondation in vitro

**HOFFMANN Pascale** - Centre AMP, CHU Grenoble

[Retour tableau](#)

### Résumé

Malgré l'amélioration des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) depuis 30 ans, le taux de grossesse reste toujours limité, avec environ 25% de grossesses par transfert et ce pour une moyenne de 2 embryons replacés. Actuellement, la sélection de ces embryons repose sur l'établissement de scores morphocinétiques, dont l'utilisation exclusive montre aujourd'hui ses limites. L'évaluation de la qualité embryonnaire par des critères de plus haute valeur prédictive est une priorité en vue d'augmenter les taux de grossesse et d'étendre la politique du transfert d'embryon unique (SET), seul rempart contre la mortalité et morbidité associées aux grossesses gémellaires.

Il est aujourd'hui bien établi que l'amélioration des techniques d'AMP dépend de l'identification de biomarqueurs utilisables en routine, et directement corrélés à la qualité embryonnaire et aux taux de grossesse. Parmi ces facteurs, la prokinéticine 1 (PROK1) et ses récepteurs (PROKRs) constituent de nouvelles cibles qui ont réuni au fil des dix dernières années des caractéristiques biologiques directement associées à la physiologie ovocytaire, la réceptivité endométriale, l'implantation embryonnaire et le développement placentaire physiopathologique. En 2012, les taux sériques de PROK1 chez des patientes en fécondation in vitro (FIV) ont été décrits comme corrélés aux taux de grossesse. Ces données préliminaires soulignent le potentiel pronostique de cette cytokine dans le succès de l'implantation et celui de la grossesse.

L'objectif principal est de corréler les taux de PROK1 des liquides folliculaires et des plots de fécondation associés à chaque embryon à la survenue ou non d'une grossesse suite à son transfert électif (eSET),

afin de déterminer si PROK1 peut être considéré comme un biomarqueur non invasif utile pour le choix de l'embryon à transférer en FIV.

Les objectifs secondaires sont:

- d'étudier la corrélation entre les taux de PROK1 et les taux de grossesse dans les transferts sélectifs (sSET) et non sélectif (nsSET) d'embryons.
- d'étudier la corrélation entre les taux de PROK1 et la maturité ovocytaire
- d'étudier la corrélation entre les taux de PROK1 et la compétence ovocytaire

Résultats attendus :

- Montrer l'existence d'une corrélation entre la survenue de la grossesse et les taux de PROK1 des liquides folliculaires et des plots de fécondation associés aux embryons transférés.
- Montrer l'existence d'une corrélation entre la maturité ovocytaire ou/et la compétence ovocytaire et les taux de PROK1 des liquides folliculaires et des plots de fécondation associés aux ovocytes.

Méthodologie :

- Etude prospective avec établissement rétrospectif de plusieurs groupes selon les objectifs (pour l'objectif principal, l'effectif a été statistiquement évalué à 15 cas/groupe).
- Dosage de PROK1 dans les liquides folliculaires et plots de fécondation des embryons transférés à l'issue de la tentative de fécondation in vitro.

## Résultats

Alfaidy, Nadia, Pascale Hoffmann, Pierre Gillois, Aurore Gueniffey, Camille Lebayle, Héloïse Garçin, Claire Thomas-Cadi, et al. 2016. « PROK1 Level in the Follicular Microenvironment: A New Noninvasive Predictive Biomarker of Embryo Implantation ». The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 (2): 435-44.

[Retour tableau](#)

**Année: 2014**

## Etude protéomique de l'endomètre chez les receveuses sous traitement hormonal substitutif dans le cadre du don d'ovocytes

**MORCEL Karine - CECOS, CHU Rennes**

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'implantation embryonnaire est un processus dynamique observable durant une période limitée appelée fenêtre d'implantation, impliquant à la fois la qualité de l'endomètre et celle de l'embryon. Alors que les techniques de FIV donnent la possibilité d'évaluer la qualité embryonnaire, la détermination d'une réceptivité endométriale n'est pas résolue.

La mesure de l'épaisseur de l'endomètre par échographie est une donnée insuffisante pour permettre de prédire les chances d'implantation embryonnaire, démontrant que le potentiel implantatoire de l'endomètre est un processus moléculaire complexe. Dans la littérature, des études d'analyse génomique, transcriptomique et protéomique ont montré qu'il existait des profils d'expression spécifique de la fenêtre d'implantation et que la réceptivité endométriale pouvait être altérée par les traitements d'hyperstimulation ovarienne contrôlée. Par contre, peu d'études se sont intéressées à l'impact des traitements substitutifs de préparation de l'endomètre sur sa réceptivité. Cependant, ces traitements substitutifs associant œstrogènes et progestérone sont préconisés chez les receveuses présentant une insuffisance ovarienne et entrant dans un programme de don d'ovocytes. Malgré cette préparation endométriale, le taux de grossesse n'est que de 25 à 30% après transfert d'embryon(s), montrant les limites de ce protocole.

L'objectif de notre étude est de valider un panel de biomarqueurs pertinents (ITIH5, Annexine A4, HOXA10, Récepteur à la progestérone et Prolactine) afin d'évaluer la réceptivité endométriale et d'établir les chances de succès de l'implantation sous traitement hormonal substitutif.

Il s'agit d'une étude prospective, monocentrique, de soins courants, sur tissus endométriaux collectés au moment d'une biopsie d'endomètre. Dans notre service de Médecine de la Reproduction, cette biopsie est réalisée en pratique courante entre J18 et J22 du cycle précédent le transfert d'embryon chez les receveuses ayant un traitement hormonal substitutif, afin de préparer l'endomètre à une future implantation embryonnaire. Sur ces tissus endométriaux, nous réaliserons une analyse histologique, immunohistochimique ainsi qu'une analyse quantitative protéique des biomarqueurs pré-cités. Une première étape consistera à établir une relation entre l'aspect morphologique de l'endomètre, le site d'expression de marqueurs spécifiques et le taux d'expression précis de chacun de ces marqueurs.

L'étape suivante consistera à associer les données précédemment obtenues avec l'état de succès ou d'échec d'implantation embryonnaire, afin d'étudier l'impact de ce traitement hormonal substitutif sur la qualité endométriale.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Génétique de l'infertilité masculine : gènes impliqués dans l'azoospermie non obstructive

VIVILLE Stéphane - IGBMC

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'infertilité est définie comme l'absence de grossesse après 1 an de relations sexuelles sans protection. Parmi les couples avec un désir d'enfant, approximativement 15 % ont un problème d'infertilité dont 30-40 % sont dus à un facteur masculin. La spermatogenèse est un processus extrêmement complexe qui implique des mécanismes spécialisés exigeant plusieurs centaines de gènes et des protéines. Bien que des données suggèrent que beaucoup de ces infertilités masculines aient une origine génétique, la cause n'a pas été élucidée dans la grande majorité de cas.

Notre compréhension des bases génétiques de l'infertilité masculine a de grandes implications non seulement pour comprendre la cause de cette infertilité, mais aussi dans la détermination du pronostic et de la prise en charge de tels couples et fournir la thérapie la mieux adaptée. L'azoospermie non obstructive (NOA) correspond à l'incapacité de produire des spermatozoïdes par défaut de production. Ceci concerne 10 % des hommes infertiles et est diagnostiqué chez 60 % des hommes azoospermiques.

Basées sur des études d'infertilité masculine familiale, qui implique souvent deux ou plus enfants de mêmes parents, la plupart des patients NOA sont considérés comme porteurs de mutations autosomal inconnues. Cependant peu de défauts autosomal impliqués dans cette forme d'infertilité sont connus. Les approches par gènes candidats ont principalement été utilisées pour essayer d'identifier des mutations causant l'infertilité, cependant en raison de la grande hétérogénéité génétique et le nombre limité de patients testés, les résultats apportés par ces approches sont peu concluants. Récemment l'approche d'analyse du génome par des puces à ADN a permis de mettre en évidence le rôle de gènes différents chez des patients globozoospermiques. Dans notre projet nous aspirons à identifier des gènes responsables d'azoospermie non obstructive. Nous avons identifié deux familles consanguine d'infertilité masculine où les patients souffrent de NOA. Nous utiliserons la nouvelle génération de puce à SNP (Single-Nucleotide Polymorphisms) pour identifier les régions de homozygotie dans la population recrutée associée au séquençage de l'exome de deux patients atteints. La combinaison de ces approches permet une accélération de la découverte de la mutation causale. En effet, ce cela permet de limiter l'analyse du séquençage aux régions d'homozygotie. Il sera alors possible de développer une étude fonctionnelle de ces gènes ainsi qu'un test de diagnostic moléculaire aux patients présentant un phénotype semblable.

La compréhension des mécanismes sous-jacents la spermatogénèse ouvrira la voie à l'étude de la responsabilité des perturbateurs endocriniens dans le déclin de la fertilité masculine et leurs mécanismes d'action avec l'espoir de pouvoir interférer sur ces actions délétères.

### Résultats

Okutman, Ozlem, Jean Muller, Yoni Baert, Munevver Serdarogullari, Meral Gultomruk, Amélie Piton, Charlotte Rombaut, et al. 2015. « Exome sequencing reveals a nonsense mutation in TEX15 causing spermatogenic failure in a Turkish family ». *Human Molecular Genetics* 24 (19): 5581-88.

Okutman, Ozlem, Jean Muller, Valerie Skory, Jean Marie Garnier, Angeline Gaucherot, Yoni Baert, Valérie Lamour, et al. 2017. « A no-stop mutation in MAGEB4 is a possible cause of rare X-linked azoospermia

and oligozoospermia in a consanguineous Turkish family ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 34 (5): 683-94.

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

Le couple parental et conjugal à l'épreuve de l'insémination artificielle avec donneur (IAD) : coparentage et incidences sur le développement de l'enfant  
**BEAUQUIER-MACCOTTA Bérengère** - Service de pédopsychiatrie, APHP Necker enfants malades

[Retour tableau](#)

## Résumé

Introduction : Le coparentage, défini comme le soutien que s'apportent mutuellement la mère et le père dans leurs rôles de parents, est au cœur de la transition à la parentalité. C'est un facteur qui peut expliquer les difficultés rencontrées par les couples ayant conçu par IAD.

Hypothèse principale : La qualité du coparentage pourrait être altérée chez les couples ayant conçu un enfant par insémination avec les spermatozoïdes d'un tiers donneur par rapport aux couples dont l'enfant n'est pas issu d'un don de gamète.

Objectifs :

Objectif principal: Comparer la qualité du coparentage chez les couples, du huitième mois de grossesse aux 18 mois de leur premier enfant conçu :

- par IAD
- par IAC (Insémination Intra-Utérine avec sperme du conjoint)
- naturellement

Objectifs secondaires:

1. Déterminer les facteurs pouvant influencer la qualité du coparentage :

- Alliance ou rivalité conjugale et parentale.
- Investissement paternel et « paternalisation » du père par la mère.
- Place du donneur dans le discours et les représentations.
- Dimension du secret autour de la conception.
- Facteurs psychologiques et histoire de la stérilité
- Caractéristiques sociodémographiques
- Perception du tempérament de l'enfant

2. Evaluer l'impact du coparentage sur le développement psycho-affectif de l'enfant.

Méthodologie : Étude comparative longitudinale prospective monocentrique sur 2 ans.

3 groupes de 55 sujets par groupe dont la 1ère grossesse en cours est obtenue:

- par IAD (avec sperme de donneur)
- par IAC (témoin insémination intra-utérine avec sperme du conjoint)
- Témoin conception naturelle (grossesse obtenue spontanément)

Analyse quantitative sur la base des seuls auto-questionnaires : 45 couples par groupe

Analyse qualitative et quantitative sur la base des auto-questionnaires et des rencontres avec l'équipe : entretiens et passage d'un Jeu triadique de Lausanne (LTP) pour 10 couples par groupe

Critères d'évaluation

- Critère d'évaluation principal

Qualité du coparentage : Echelles Mac Hale et Abidin d'alliance parentale

- Critères d'évaluations secondaires

1. Facteurs influençant le coparentage :

a) Alliance ou rivalité conjugale et parentale - Investissement paternel et processus de « paternalisation » du père par la mère :

Analyse qualitative : Entretiens et LTP: Family Alliance Assessment Scale FAAS

Analyse quantitative : -Relations intra-conjugales : Dyadic Adjustment Scale DAS

Ajustement parental : Parenting Stress Index PSI

b) Place faite au donneur dans le discours et les représentations.

Dimension du secret autour de la conception.

Analyse qualitative : Entretiens

c) Facteurs psychologiques et histoire de la stérilité :

Analyse qualitative : Entretiens

Analyse quantitative : Anxiété : State Trait Anxiety Inventory STAI

Dépressivité : Edinburgh Postnatal Dépression Scale EPDS

- Modalités de prise en charge si insémination

- Caractéristiques socio-démographiques

- Sexe de l'enfant

2. Impact du coparentage sur le développement de l'enfant :

Analyse qualitative : Entretiens et LTP (FAAS)

Echelle de développement Brunet-Lézine

Analyse quantitative :

-Perception du tempérament de l'enfant par les parents: l'Early et Revised Infant Temperament EITQ et R-ITQ

Développement moteur et social ÉDMS

Résultats attendus : Le coparentage influence le développement psychoaffectif de l'enfant. Si une altération du coparentage ainsi que les facteurs à l'origine de cette altération étaient identifiés, cela permettrait d'ajuster la prise en charge psychologique des couples effectuant une demande d'IAD.

Un accompagnement psychologique de l'enfant pourrait également être proposé.

## Résultats

Ségade, Ophélie, Bernard Golse, et Bérengère Beauquier-Maccotta. 2017. « Le couple face au recours à une insémination artificielle avec donneur: entre protection du couple et intérêt de l'enfant, comment en parler? » Spirale, n° 4: 41–48.

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

## Fécondation in vitro et risque de morbidité maternelle sévère

**LE RAY Camille** - INSERM Paris 14

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** Les objectifs de ce projet sont 1) d'étudier l'association entre la fécondation in vitro (FIV autologue et don d'ovocyte) et le risque de morbidité maternelle sévère (MMS), en population, globalement et par grande cause de morbidité, 2) Evaluer l'e rôle des grossesses multiples dans l'association entre FIV et risque de MMS.

**Méthodes :** La population source est celle de l'étude EPIMOMS (EPIdémologie de la MORbidité Maternelle Sévère), étude prospective en population conduite dans 6 régions en France pendant 1 an (2012-2013). On effectuera une étude cas témoins au sein de cette cohorte. Les cas seront les femmes ayant eu une MMS selon la définition d'EPIMOMS (N= 2726) et les témoins seront les femmes indemnes de MMS de l'échantillon représentatif (N= 3649).

Les variables caractérisant l'exposition d'intérêt seront la FIV autologue et le don d'ovocyte.

Les autres variables considérées dans l'analyse comme co-variables d'ajustement seront les caractéristiques socio-démographiques, les antécédents médicaux et obstétricaux, les caractéristiques du déroulement de la grossesse et de l'accouchement. L'association entre FIV et MMS sera testée et quantifiée d'abord par une analyse univariée, puis par une analyse multivariée à l'aide de modèles de régression logistique permettant un ajustement sur les facteurs de confusion potentiels afin d'étudier si la FIV et en particulier la FIV avec don d'ovocyte est un facteur de risque indépendant de MMS. La grossesse multiple fera l'objet d'une considération spécifique, car elle peut agir comme facteur de confusion mais aussi comme facteur intermédiaire dans la relation entre FIV et MMS. L'association sera testée pour la MMS globale, et pour ses différentes composantes, notamment hypertensives, hémorragiques, thromboemboliques.

**Résultats attendus :** Si l'existence d'un sur-risque de MMS est étayé, et selon la nature des associations mises en évidence, ces résultats auront des implications pour la prévention globale du risque de MMS dans un contexte de FIV : 1/ Au temps pré-conceptionnel : information des couples notamment en cas de projet de FIV avec don d'ovocyte, évaluation du risque maternel, 2/ Au temps péri-conceptionnel spécifique à la FIV : nombre d'embryon transféré, orientation précoce du suivi obstétrical, et enfin 3/ En cours de grossesse : optimisation de la surveillance obstétricale.

### Résultats

Ray, C. Le, L. Pelage, A. Seco, M.-H. Bouvier-Colle, A. A. Chantry, et C. Deneux-Tharaux. 2019. « Risk of Severe Maternal Morbidity Associated with in Vitro Fertilisation: A Population-Based Study ». BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology 126 (8): 1033-41.



## MODE DE CONCEPTION DES GROSSESSES GÉMELLAIRES ET MORBI-MORTALITÉ PÉRINATALE SÉVÈRE

Mathilde VICTORIA, Thomas SCHMITZ, Camille LE RAY  
INSERM U1153, Université Paris Descartes  
Maternité Port Royal, Maternité Robert Debré, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris



### INTRODUCTION

L'influence du mode de conception sur la morbi-mortalité périnatale chez les grossesses gémellaires est controversée.

**Objectif** : Évaluer l'association entre mode de conception et morbi-mortalité périnatale sévère chez les grossesses gémellaires bichoriales.

### METHODOLOGIE

**Type d'étude** : Etude observationnelle prospective de type exposé non exposé.

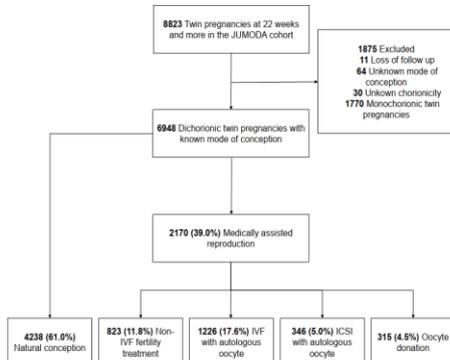
**Population** (cohorte Jumoda) : Toutes les grossesses gémellaires bichoriales de plus de 22 SA ayant accouché dans 176 maternités françaises entre février 2014 et mars 2015

→ 6948 grossesses et 13896 jumeaux

**Le mode de conception** a été divisé en cinq catégories : conception spontanée (CS) induction de l'ovulation (IO), Fécondation In Vitro (FIV), FIV avec Injection Intra Cytoplasmique de Spermatozoïde (ICSI) et don d'ovocyte (DO).

**La morbi-mortalité périnatale sévère (MMPS)** a été évaluée par un critère composite.

L'étude de l'association entre mode de conception et MMPS a été faite par régression de Poisson avec analyse multiniveau.



Etude financée par l'Agence de la BioMédecine

### RÉSULTATS

Association entre MMP sévère et mode de conception (N= 13896)

	Mode de conception					p value
	CS	IO	FIV	ICSI	Don	
	N = 8476	N = 1646	N = 2452	N = 692	N = 630	
<b>Morbi-mortalité périnatale sévère</b>	601 (7,1)	142 (8,7)	190 (7,8)	57 (8,3)	48 (7,6)	0,01
MFUI	60 (0,7)	17 (1,0)	14 (0,6)	6 (0,9)	2 (0,3)	
Décès néonatal	56 (0,7)	15 (0,9)	19 (0,8)	5 (0,7)	1 (0,2)	
Apgar <4 à 5 min	59 (0,7)	17 (1,1)	19 (0,8)	5 (0,7)	4 (0,6)	
Traumatisme de naissance (Fractures os longs/crane, Plexus brachial)	10 (0,1)	3 (0,2)	2 (0,1)	0	1 (0,2)	
Infection néonatale prouvée	174 (2,1)	47 (2,9)	51 (2,1)	20 (2,9)	21 (3,4)	
Encéphalopathie néonatale	13 (0,1)	2 (0,1)	5 (0,2)	0	0	
Convulsion dans les 72 premières heures	8 (0,1)	1 (0,1)	2 (0,1)	0	0	
Leucomalacie péri-ventriculaire	10 (0,1)	2 (0,1)	5 (0,2)	2 (0,3)	2 (0,3)	
Hémorragie intra ventriculaire grade 2 ou 3	24 (0,3)	6 (0,4)	6 (0,3)	5 (0,7)	0	
Hémorragie cérébrale	14 (0,2)	3 (0,2)	4 (0,2)	1 (0,1)	1 (0,2)	
Dysplasie Broncho Pulmonaire	128 (1,5)	32 (2,0)	52 (2,2)	14 (2,1)	12 (1,9)	
Ventilation trachéale > 24h	279 (3,4)	56 (3,5)	115 (4,8)	31 (4,5)	25 (4,0)	
Entérocolite ulcéro-nécrosante opérée	18 (0,2)	2 (0,1)	10 (0,4)	1 (0,1)	1 (0,2)	

Facteurs de risque de MMP sévère – analyses uni et multivariées par régression de Poisson (N= 13794) sur base imputée

Mode de conception	IRR brut (IC 95%)	p value	aIRR (IC 95%)	p value
Conception naturelle	1		1	
IO - IIU	1,22 (0,98-1,52)	0,07	1,15 (0,92-1,44)	0,21
FIV	1,10 (0,90-1,33)	0,36	1,03 (0,83-1,27)	0,78
ICSI	1,14 (0,82-1,60)	0,43	1,09 (0,77-1,53)	0,63
Don d'ovocyte	1,05 (0,73-1,51)	0,78	1,01 (0,68-1,50)	0,96

### CONCLUSION

Le mode de conception ne semble pas avoir d'influence sur la MMPS des grossesses gémellaires bichoriales.

**Année: 2015**

## Effet du BPA sur la stabilité génomique de l'ovocyte humain

**LIVERA Gabriel**

**MARTINI Emmanuelle** - DSV/IRCM/UMR, université Paris Diderot, Fontenay aux Roses (92)

[Retour tableau](#)

### Résumé

Au cours des dernières décennies plusieurs pathologies liées à la fonction de reproduction ont vu leur incidence augmenter dans l'espèce humaine. Une fenêtre d'exposition particulièrement sensible aux perturbateurs endocriniens causant ces altérations se situe pendant le développement des gonades fœtales. Ainsi, nos travaux ont montré que de nombreuses substances chimiques peuvent altérer le développement des gonades murines ou humaines. En particulier le BPA, une des substances reprotoxiques à activité endocrine, a été largement incriminé dans des altérations de fonctions de reproduction. Chez la femelle, le BPA perturbe le développement ovarien de nombreuses espèces avec une altération de la folliculogenèse et des premières étapes de la méiose pouvant aboutir à des aneuploïdies. La mesure et la prise en compte de ce risque est critique car certaines pathologies liées au développement de la gonade peuvent ne se révéler que plusieurs décennies après une exposition in utero. Afin de mieux comprendre l'effet du BPA sur l'intégrité ovarienne, des études menées chez plusieurs organismes pendant la vie fœtale ont révélé qu'une exposition au BPA peut perturber la progression normale de la méiose. Cependant les études menées jusqu'à présent ne permettent pas d'estimer le réel potentiel toxique du BPA dans la méiose femelle humaine. Au cours de ce projet nous proposons de déterminer les effets du BPA sur le développement de l'ovaire humain en nous axant plus particulièrement sur les effets que peut avoir ce perturbateur sur l'intégrité des chromosomes méiotiques essentielle au maintien du génome et à la qualité des gamètes. Grâce à la mise en place d'un modèle original de Xénogreffe, basé sur l'implantation d'ovaires fœtaux humains dans une souris immunodéficiente, nous pourrons suivre pour la première fois l'effet d'une exposition contrôlée du BPA pendant une période essentielle à l'intégrité des gamètes allant de l'entrée en méiose à la formation du follicule. L'utilisation de marqueurs spécifiques des différentes étapes de la progression méiotique nous permettra de caractériser l'impact du BPA sur l'intégrité des chromosomes et le risque de survenue d'aneuploïdie ovocytaire. L'étude détaillée des effets du BPA lors du développement de l'ovaire humain, qui diffère en de nombreux points de celui des organismes modèles, doit permettre d'infirmer ou de confirmer le risque d'une altération du processus méiotique qui conditionne en partie la qualité de l'ovocyte adulte.

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

## Infertilité féminine liée à l'âge et autoconservation sociétale des ovocytes : étude sociologique

**MARTIAL Agnès - CNRS Marseille**

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs : Construire une analyse sociologique : 1) du phénomène social qu'est l'augmentation des demandes de prise en charge en AMP pour infertilité féminine liée à l'âge, du fait d'une diminution physiologique de la réserve ovarienne ; 2) du débat concernant la possibilité ou non pour les jeunes femmes d'autoconserver leurs ovocytes afin de pouvoir reculer l'âge de leur maternité. Notre objectif est d'étudier les représentations sociales de ces deux problématiques, ainsi que les interrogations, attentes, préoccupations du corps médical et des femmes.

Résultats attendus :

1) Rendre compte des problèmes concrets que pose l'infertilité féminine liée à l'âge dans la pratique des médecins. Etudier leurs arguments « pour et contre » concernant l'autoconservation sociétale des ovocytes et mesurer ainsi les enjeux d'une telle possibilité.

2) Réaliser une typologie approfondie des parcours biographiques des femmes de plus de 40 ans en parcours de FIV ; rendre compte de leurs représentations de l'âge et du temps ; expliciter comment elles se représentent une maternité obtenue par FIV à la frontière du biologiquement possible et socialement permis. L'étude de leurs arguments concernant l'autoconservation sociétale des ovocytes permettra là encore de mesurer les enjeux d'une telle possibilité, mais cette fois-ci du point de vue des patientes.

3) Evaluer de façon quantitative les connaissances de jeunes étudiantes en Sciences Sociales dans le domaine de la fertilité féminine et étudier la décision qu'elles penseraient prendre si elles avaient la possibilité d'autoconserver leurs ovocytes pour les utiliser ultérieurement.

Méthodologie :

- 1ère partie du projet :

Des interrogatoires semi-dirigés seront menés auprès des médecins de la reproduction et auprès de patientes infertiles en parcours de FIV âgées de plus de 40 ans.

Les entretiens auprès des médecins comporteront un volet sur les prises en charge de FIV des femmes des plus de 40 ans. Ils seront interrogés sur les profils de ces patientes et sur les réponses que la médecine peut leur apporter. Le second volet portera sur l'autoconservation sociétale des ovocytes.

Les entretiens auprès des patientes comporteront quatre parties : 1) leur histoire personnelle et conjugale, 2) leur parcours d'infertilité, 3) le vécu de leur âge, 4) des questions d'opinions sur l'autoconservation sociétale des ovocytes.

- 2ème partie du projet :

Une enquête par autoquestionnaire sera réalisée auprès d'étudiantes en sociologie. Le questionnaire sera composé de trois parties : 1) des questions destinées à recueillir des informations sur la population étudiée ; 2) des questions visant à tester les connaissances concernant la fertilité féminine et la réserve ovarienne ; 3) des questions visant à connaître les décisions qu'elles penseraient prendre si elles avaient la possibilité d'autoconserver leurs ovocytes pour les utiliser ultérieurement.

## Résultats

1 Gynecol Obstet Fertil. 2016 possible

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

## Etude de la réponse immunitaire aux gonadotrophines exogènes chez des patients traités en FIV : influence du polymorphisme du récepteur à la FSH

**MAUREL Marie-Christine** - INRA Val de Loire, Nouzilly (37)

[Retour tableau](#)

### Résumé

Dans les sociétés industrialisées les problèmes de fertilité humaine sont de plus en plus fréquents. Environ 1 couple sur 7 consulte pour infertilité. Pour pallier à ce problème de santé publique, des traitements hormonaux sont utilisés dans le cadre de la procréation médicalement assistée (PMA). En 2008, plus de 530 000 traitements ont ainsi été administrés en Europe. Ils représentent un marché mondial considérable. Cependant, ces traitements ont une efficacité variable en fonction des patientes : certaines répondent très fortement même à des doses faibles de FSH (hyperstimulation ovarienne) alors que d'autres sont moins sensibles et des doses élevées d'hormones doivent être injectées à ces patientes.

Parmi les facteurs pouvant influencer la réponse des patientes aux traitements de FIV figure le polymorphisme 680 du récepteur FSH (R-FSH) : les patientes porteuses de l'allèle S680 sont moins sensibles à la FSH et nécessitent des doses plus élevées lors de cycle d'AMP. Chez les animaux, l'autre facteur majeur de la réponse in vivo aux hormones est la réponse immunitaire développée vis-à-vis des hormones exogènes injectées. Ces anticorps peuvent être inhibiteurs ou facilitateurs de l'action de l'hormone. Le but du projet que nous présentons est de rechercher les anticorps anti-FSH chez les patientes prises en charge au CECOS de Tours sur la période janvier 2015- janvier 2017 et de le corrélérer avec le polymorphisme du R-FSH. Les anticorps des patientes présentant une réponse immunitaire seront purifiés et serviront à stimuler les cellules de la granulosa issues de la ponction ovarienne de chacune des patientes afin de voir si les anticorps sont neutres, inhibiteurs ou au contraire facilitateurs. Cette étude permettra de mettre en évidence un nouveau facteur à prendre en compte chez les patientes pour ajuster les doses de FSH à utiliser en PMA.

### Résultats

Bouillon, Céline, Fabrice Guérif, Philippe Monget, Marie-Christine Maurel, et Elodie Kara. 2020. « Effect of Cryopreservation on Human Granulosa Cell Viability and Responsiveness to Gonadotropin ». *Cell and Tissue Research* 379 (3): 635-45. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03123-6>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

## AKAP4 et hexokinase1 : vers de nouveaux marqueurs diagnostiques de la qualité des spermatozoïdes humains en AMP

**MITCHELL Valérie** - Hôpital A Calmette CHRU Lille

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** Notre projet propose d'évaluer deux nouveaux biomarqueurs protéomiques identifiés de la qualité spermatique chez des partenaires masculins de couples inscrits dans le parcours d'AMP de manière systématique au spermogramme-spermocytogramme. Une première étape consistera à établir une relation entre le profil protéomique des marqueurs du sperme et les paramètres spermatiques ; l'étape suivante consistera à associer les données précédemment obtenues avec l'état de succès de la fécondation in vitro afin de valider l'intérêt de ces marqueurs sur l'AMP.

**Contexte :** Nos travaux préliminaires, à partir de l'analyse du protéome global du spermatozoïde humain de plusieurs dizaines d'éjaculats d'hommes, ont permis d'identifier 2 marqueurs : l'AKAP4 et l'hexokinase1 dont l'intégrité est corrélée à la mobilité spermatique. Paramètre de fécondance, la mobilité est un critère essentiel dans l'arbre décisionnel d'orientation de la technique d'AMP. Nos travaux et leurs applications ont fait l'objet d'un dépôt de brevet à l'international.

**Résultats attendus :** Nous espérons apporter un test innovant de la qualité du sperme dans la prise en charge de l'infertilité et ainsi améliorer l'offre de soins apportée aux couples en AMP. Cette étude nous permettra d'avoir une meilleure analyse du potentiel de nos 2 biomarqueurs de la qualité du sperme dans le cadre de l'AMP.

Nos biomarqueurs pourront à terme être des outils précieux d'aide à la décision dans le parcours de soins de l'AMP. Ils devraient permettre de mieux appréhender l'infertilité idiopathique et d'augmenter le taux de succès.

**Méthodologie :** Nous réaliserons une étude prospective, monocentrique, de soins courants, sur résidus de soins du sperme collecté au moment du spermogramme. Nous prévoyons d'enrichir l'étude du protéome global du spermatozoïde humain et du profil protéomique de l'AKAP4 et de l'hexokinase1 sur une série de 10 donneurs fertiles, 50 patients à sperme normal et 50 patients à paramètres de sperme altérés, échantillons suffisants pour observer des différences significatives compte-tenu des analyses préliminaires. Nous étudierons l'impact de ces biomarqueurs sur les résultats en AMP : taux de fécondation, d'implantation, qualité embryonnaire et issues de grossesses.

**Retombées potentielles :** L'utilisation de ces biomarqueurs dans cette recherche translationnelle pourrait permettre :

- 1) d'enrichir le spermogramme-spermocytogramme de nouveaux paramètres protéomiques diagnostiques ;
- 2) d'aider au choix d'orientation des techniques d'AMP ;
- 4) d'améliorer les résultats en AMP.

Nos biomarqueurs permettront pour la première fois de proposer aux praticiens d'établir un diagnostic de la qualité des spermatozoïdes humains, conjointement au spermogramme et sur la base d'une analyse simple réalisable dans l'ensemble des centres de procréation en France par son format simple et non invasif. Nos biomarqueurs seront des outils précieux 1) comme indicateur de l'infertilité masculine idiopathique, 2) pour orienter le parcours de prise en charge des couples, et notamment pour la femme qui s'engage dans le parcours thérapeutique lourd psychologiquement, médicalement et économiquement

de l'AMP, 3) pour l'amélioration de l'offre de soin vers une médecine personnalisée, et également 4) pour l'évaluation de la qualité du sperme avant et après traitement stérilisant

### Résultats

Jumeau, F., J. Sigala, F. Dossou-Gbete, K. Frimat, A. L. Barbotin, L. Buée, H. Béhal, N. Sergeant, et V. Mitchell. 2018. « A-Kinase Anchor Protein 4 Precursor (pro-AKAP4) in Human Spermatozoa ». *Andrology* 6 (6): 854-59.

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

## Apports du tri cellulaire de spermatozoïdes chez des hommes porteurs d'une anomalie chromosomique de structure

**MOREL Frédéric - INSERM Brest**

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectifs

Dans ce projet, nous séparerons des spermatozoïdes d'hommes porteurs d'un remaniement chromosomique en deux populations annexine V+ et annexine V- par tri cellulaire à l'aide de microbilles magnétiques conjuguées à l'annexine V.

Nous étudierons la fragmentation de l'ADN et la ségrégation méiotique avec des sondes spécifiques chevauchant les points de cassure du réarrangement sur éjaculat total et sur spermatozoïdes sélectionnés, chez un même patient. Ces évaluations permettront de voir s'il existe des variations de la fréquence des spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés et / ou fragmentés.

A notre connaissance, aucune étude n'a comparé les taux de spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés des deux populations annexine V+ et annexine V- à celui observé dans l'éjaculat total.

De plus, ce projet novateur permettra de déterminer la ou les origine(s) de la fragmentation chez ces hommes porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle.

#### Résultats attendus

Dans de précédents travaux, nous avons émis l'hypothèse qu'une apoptose testiculaire initiée et avortée pourrait expliquer la présence de spermatozoïdes vivants à l'ADN fragmenté et chromosomiquement déséquilibrés dans l'éjaculat de ces hommes porteurs d'un remaniement chromosomique (Perrin et coll. 2011 ; Perrin et coll. 2013).

Par conséquent, lors du tri cellulaire à l'aide de microbilles magnétiques conjuguées à l'annexine V, si réellement les spermatozoïdes vivants à l'ADN fragmenté et chromosomiquement déséquilibrés sont issus d'une apoptose abortive, ils seront retenus sur la colonne. Ainsi, nous devrions obtenir des fréquences de

spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés significativement diminuées dans la population annexine V- chez ces hommes.

Récemment, Rouen et coll. (2013) ont corroboré nos résultats. Toutefois, selon les auteurs, la fragmentation de l'ADN dans les spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés chez ces hommes serait induite durant le transit dans les voies génitales, contrairement à notre hypothèse.

Si tel est le cas, nous devrions obtenir une diminution non seulement du nombre de spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés mais aussi du nombre de spermatozoïdes porteurs du remaniement (équilibrés) dans la population annexine V-.

#### Methodologie

Après obtention du culot cytogénétique à partir du prélèvement de sang, une FISH avec des BACs (bacterial artificial chromosomes) et/ou des sondes commerciales sera réalisée afin de déterminer précisément les points de cassure du remaniement.

La séparation des spermatozoïdes d'hommes porteurs d'un remaniement chromosomique en deux populations annexine V+ et annexine V- s'effectuera par tri cellulaire à l'aide de microbilles magnétiques conjuguées à l'annexine V.

Nous effectuerons sur l'éjaculat et les deux populations de spermatozoïdes sélectionnés :

- une FISH avec les sondes spécifiques chevauchant les points de cassure du remaniement afin d'étudier la ségrégation méiotique
- une technique TUNEL pour évaluer la fragmentation.

#### Résultats

Fekih, S. El, C. Tous, N. Gueganic, F. Brugnon, H. Ben Ali, L. Bujan, N. Moinard, et al. 2020. « Decrease of Spermatozoa with an Unbalanced Chromosome Content after Cell Sorting in Men Carrying a Structural Chromosomal Abnormality ». *Andrology* 8 (1): 181-90.

Poster





**FRAGMENTATION DE L'ADN ET EQUIPEMENT CHROMOSOMIQUE DANS LES SPERMATOZOIDES APRES TRI CELLULAIRE CHEZ DES HOMMES PORTEURS D'UNE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE CONSTITUTIONNELLE**

Sahar EL FEKIH (1,2), Corinne TOUS (3), Elodie CAIRE-TETAURU (1), Nadia GUEGANIC (1), Florence BRUGNON (4), Habib BEN ALI (2), Louis BUJAN (5), Nathalie DOUET-GUILBERT (1,3), Frédéric MOREL (1,3), Aurore PERRIN (1,3)

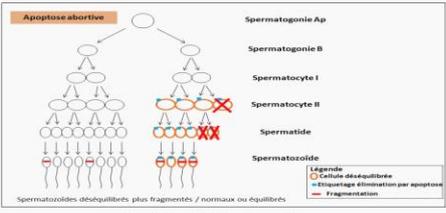
(1) INSERM U1078, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Bretagne Occidentale, Brest.  
 (2) Laboratoire de cytogénétique, génétique moléculaire et biologie de la reproduction humaines. CHU Farhat Hached Sousse, Université de Monastir, Tunisie.  
 (3) Centre Hospitalier Régional Universitaire, laboratoire de cytogénétique et biologie de la reproduction, Brest.  
 (4) Centre Hospitalier Universitaire, laboratoire de biologie de la reproduction et Faculté de médecine, Université Clermont Auvergne.  
 (5) Groupe de Recherche en Fertilité Humaine, Université Paul Sabatier, Toulouse.

**Introduction**

Dans de précédentes études, nous avons émis l'hypothèse qu'une apoptose testiculaire initiée et avortée (figure 1) pourrait expliquer la présence de spermatozoïdes vivants avec ADN fragmenté et chromosomiquement déséquilibrés dans l'éjaculat des hommes porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle.

Les méthodes classiques de préparation des spermatozoïdes en vue d'ICSI permettent de sélectionner les spermatozoïdes en fonction de leur mobilité et de leur morphologie. Le tri cellulaire à l'aide de microbilles magnétiques conjuguées à l'annexine V (MACS) sépare les spermatozoïdes en fonction de marqueurs apoptotiques localisés sur leur membrane plasmique.

L'objectif de notre étude est d'évaluer le taux de spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés et fragmentés avant et après le tri cellulaire chez des hommes porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle.



**Figure 1 : Hypothèse d'apoptose abortive**

**Spermatogonie Ap**

**Spermatogonie B**

**Spermatocyte I**

**Spermatocyte II**

**Spermatozoïde**

**Spermatozoïde déséquilibré ou fragmenté**

**Legende**  
 □ Cellule déséquilibrée ou fragmentée éliminée par apoptose  
 ● Cellule déséquilibrée ou fragmentée

**Patients et Méthodes**

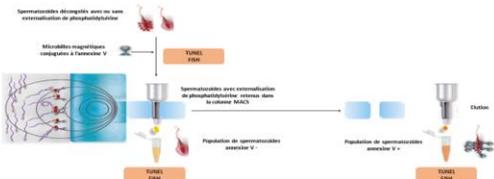
Neuf patients ont été inclus : trois porteurs d'une translocation robertsonienne et six porteurs d'une translocation réciproque équilibrée (Tableau).

La séparation des spermatozoïdes de chaque patient est effectuée par MACS (Figure 2).

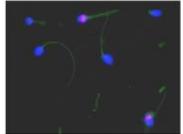
La fragmentation de l'ADN est étudiée grâce à la technique TUNEL (Photo 1) et le contenu chromosomique est analysé grâce à la technique FISH (Photo 2), avant et après tri.

Tableau : Caryotype des patients inclus dans l'étude

Patient	Caryotype
P1	45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
P2	45,XY,rob(14;15)(q10;q10)
P3	45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
P4	46,XY,t(4;12)(q31,q23)
P5	46,XY,t(9;12)(q31,p12)
P6	46,XY,t(1;15)(p22.2,q21.1)
P7	46,XY,t(11;13)(q22.1,q21.2)
P8	46,XY,t(13;19)(q12,q13.3)
P9	46,XY,t(1;22)(p11,p11.2)



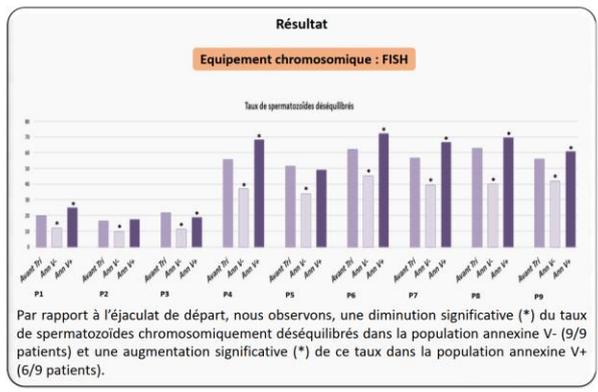
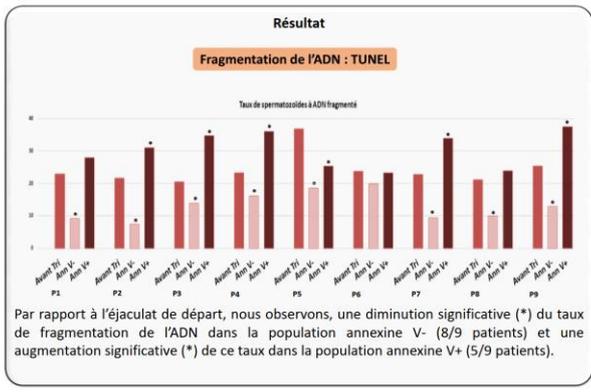
**Figure 2 : Schéma général de l'étude**



**Photo 1 :**  
Spermatozoïdes après la technique TUNEL montrant un ADN fragmenté (Fluorescence rouge) et bleue. Spermatozoïdes avec un ADN intact (Fluorescence bleue).



**Photo 2 :**  
FISH sur spermatozoïdes de l'éjaculat total du patient P4, avec un pool de BACs sur 4q22.1 (Aqua), 4q34.1 (Green) et CEP12 (Orange).



**Conclusion**

Du point de vue fondamental, les résultats obtenus dans cette étude confirment notre hypothèse d'apoptose abortive puisque les spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés sont retenus dans la colonne (population annexine V+), correspondant aux spermatozoïdes ayant externalisé la phosphatidylsérine, phénomène précoce de l'apoptose. Les spermatozoïdes ayant un déséquilibre chromosomique sont, majoritairement, ceux dont l'ADN est fragmenté.

Du point de vue clinique, le tri cellulaire aboutissant à une sélection de spermatozoïdes de meilleure qualité (moins d'anomalies chromosomiques et ADN non fragmenté) pourrait s'avérer une technique de référence pour l'assistance médicale à la procréation chez ces hommes porteurs d'une anomalie chromosomique constitutionnelle.

**Année: 2015**

## Amélioration des techniques de qualification fonctionnelle et sécuritaire du tissu ovarien

**ROUX Christophe** - CIC Besançon CHRU Jean Minjoz Besançon

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'autoconservation de cortex ovarien est proposée à des fillettes ou des femmes jeunes, avant traitement hautement gonadotoxique, comme technique de préservation de la fertilité. Ce tissu ovarien est actuellement réutilisé par technique d'autogreffe. La réussite de la greffe, attestée par une reprise de la fonction ovarienne, dépend de la qualité des greffons et de leur revascularisation après greffe. L'autogreffe de tissu ovarien n'est possible que si l'indication de la cryoconservation de tissu ovarien était une pathologie non néoplasique ou néoplasique avec un risque carcinologique maîtrisé. Notre équipe s'est attachée, à développer et valider des techniques de qualification du tissu ovarien et de recherche de la maladie résiduelle (en cas de leucémies aiguës) au niveau du cortex ovarien cryoconservé. L'équipe est investigateur principal d'une étude multicentrique (PERIDATOR/DATOR) qui a pour but de constituer une cohorte de patientes ayant bénéficié d'une congélation de tissu ovarien, en insuffisance ovarienne prématurée, et potentiellement candidates à l'autogreffe (PERIDATOR). L'autogreffe de tissu ovarien est réalisée en cas de projet parental s'il n'y a pas de contre-indications à la greffe (DATOR).

L'objectif principal de cette étude est de développer et proposer des techniques de qualification du tissu ovarien cryoconservé : Qualification fonctionnelle par la recherche de follicules ovariens vivants et de progéniteurs endothéliaux par immunocytologie et cytométrie en flux (CD45neg, CD34+...), et si nécessaire qualification sécuritaire carcinologique par la recherche de cellules néoplasiques en cytométrie en flux et biologie moléculaire (si des marqueurs moléculaires sont disponibles). L'objectif secondaire est de codifier une ou des techniques de préparation du cortex ovarien qui permettront ces qualifications ainsi que le conditionnement du cortex pour les techniques de biothérapie alternatives à l'autogreffe que sont la folliculogenèse in vitro ou l'injection de follicules ovariens isolés.

Cette étude translationnelle multidisciplinaire nécessite des savoirs faire et des plateaux techniques présents sur le site de Besançon. L'analyse des résultats devrait permettre d'identifier des facteurs prédictifs de réussite de la greffe en terme de reprise de la fonction ovarienne, d'améliorer la sécurité de la pratique de l'autogreffe de cortex ovarien et ainsi de favoriser la réutilisation de ce tissu autoconservé par technique d'autogreffe. De plus ce travail participera à l'amélioration des méthodes et techniques de conditionnement du tissu ovarien cryoconservé en vue de sa réutilisation.

### Résultats

Mouloungui, Elodie, Tristan Zver, Christophe Roux, et Clotilde Amiot. 2018. « A protocol to isolate and qualify purified human preantral follicles in cases of acute leukemia, for future clinical applications ». *Journal of Ovarian Research* 11 (1): 4.

Zver, Tristan, Elodie Mouloungui, Aurélie Berdin, Christophe Roux, et Clotilde Amiot. 2017. « Validation of an automated technique for ovarian cortex dissociation: isolation of viable ovarian cells and their qualification by multicolor flow cytometry ». *Journal of Ovarian Research* 10 (1): 38.

## Appel d'Offres

### « AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique »

AMELIORATION DES TECHNIQUES DE QUALIFICATION FONCTIONNELLE ET SECURITAIRE DU TISSU OVARIEN CRYOCONSERVE EN VUE DE SA REUTILISATION

### Objectifs

La cryoconservation de cortex ovarien est la principale technique utilisée pour préserver la fertilité chez les fillettes et les jeunes femmes devant bénéficier d'un traitement hautement gonadotoxique. Actuellement, en l'absence d'autres techniques (folliculogenèse *in vitro*, utilisation de follicules ovariens isolés...), la réutilisation de ce tissu se fait par technique d'autogreffe. L'objectif principal de ce projet concernera la qualification fonctionnelle et carcinologique, préalable à la greffe, du tissu ovarien autoconservé. Celles-ci devraient permettre d'évaluer les chances de réussite de la greffe et donc la reprise de la fonction ovarienne, mais aussi de s'assurer de l'innocuité de l'autogreffe en cas de pathologie néoplasique à risque.

### Méthodologie

Obtention d'une suspension de cellules ovariennes et de follicules préantraux isolés par actions mécaniques et enzymatiques à partir de :

- Tissu ovarien de référence : fragments de corticale ovarienne provenant de résections percoelioscopiques en cas de syndrome des ovaires polykystiques
- Fragments de cortex ovarien autoconservé provenant de patientes leucémiques

Qualification fonctionnelle du tissu ovarien par cytométrie en flux multicouleurs :

- Cellules stromales: CD34
- Cellules endothéliales: CD31, CD144
- Cellules mésenchymateuses: Vimentine

Qualification carcinologique du tissu ovarien par cytométrie en flux multicouleurs :

- Identification des cellules vivantes et lymphocytes T résiduels : Syto13, 7-AAD ou FVS 780, CD45 et CD3
- Identification des cellules leucémiques en fonction de l'immunophénotype observé lors du diagnostic (LAIP)

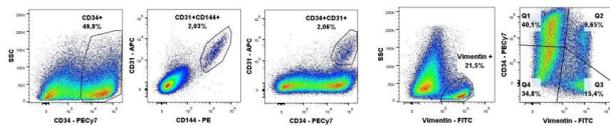
### Contacts

Centre d'Investigation Clinique en BioThérapies (CIC-1431)  
Unité Mixte de Recherche (UMR1098 RIGHT) : EFS/INSERM/UFCC  
Centre d'Assistance Médicale à la Procréation  
Service de Biologie et Médecine de la Reproduction, Cryobiologie  
CHRU J. Minjoz, 3 Bd Fleming 25030 Besançon

Tél. secrétariat : +33 (0)3 81 21 86 98  
christophe.roux@univ-fcomte.fr  
clotilde.amiot@univ-fcomte.fr

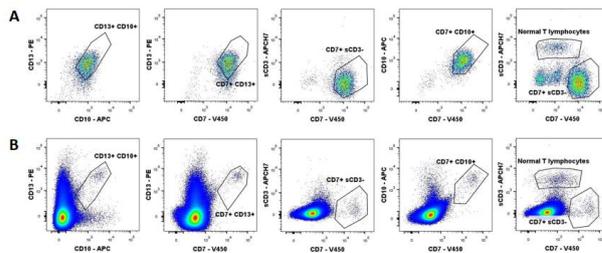
### Résultats

Exemple de qualification fonctionnelle de tissu ovarien de référence:



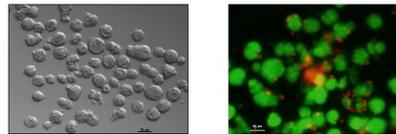
Qualification fonctionnelle d'un échantillon de tissu ovarien de référence à l'aide d'un anticorps anti-CD34, anti-CD31, anti-CD144 et anti-Vimentine. Seules les cellules nucléées vivantes et CD45<sup>hibile</sup> sont représentées.

Exemple de qualification carcinologique du tissu ovarien issu d'une patiente atteinte de leucémie aiguë lymphoblastique de type T:



- A. Cellules leucémiques du diagnostic d'une patiente atteinte de LAL-T (LAIP observé par cytométrie en flux multicouleurs)  
B. Maladie résiduelle dans le tissu ovarien de la patiente. 335 cellules leucémiques identifiées: taux de MRD =  $3 \times 10^{-4}$ .

Exemple d'alternative à l'autogreffe de tissu ovarien développée au laboratoire: isolement, purification et incorporation de follicules ovariens isolés au sein d'une matrice de fibrine GMP en prévision d'une reconstruction ovarienne:



- A. Follicules ovariens isolés à l'aide de la collagénase NB6 de grade GMP.  
B. Viabilité folliculaire réalisée grâce à un marquage à la calcéïne AM et l'éthidium homodimère-1.

### Conclusion

La qualification carcinologique du tissu ovarien de patientes leucémique doit permettre de fournir des informations complémentaires permettant de retenir ou contre indiquer la réutilisation du tissu ovarien par autogreffe.

La qualification fonctionnelle du tissu ovarien doit permettre de mettre en évidence un éventuel lien entre profil de sous populations présentes et rapidité/chance de reprise de la fonction ovarienne après autogreffe.

La perspective d'utilisation de follicules ovariens isolés avec des produits GMP +/- des cellules stromales au sein d'une reconstruction ovarienne est en cours d'évaluation comme alternative à l'autogreffe de tissu ovarien en cas de pathologie néoplasique à risque.

Année: 2015

## BestOv : identification de marqueurs de la qualité de l'ovocyte dans les cellules de cumulus par la spectrométrie de masse

UZBEKOVA Svetlana - INRA PRC Tours

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les techniques d'AMP incitent au développement d'outils prédictifs non-invasifs de la compétence de l'ovocyte à soutenir le développement embryonnaire. Le couplage métabolique entre l'ovocyte et les cellules de cumulus (CC) est indispensable pour acquérir cette compétence. Des analyses des transcrits, des protéines et des lipides de CC, reflétant la qualité de l'ovocyte, ont déjà été engagées pour développer des tests prédictifs de grossesse dans le cadre de l'AMP. Cependant, les analyses qui nécessitent de nombreuses étapes de préparation d'échantillons s'avèrent lourdes pour un diagnostic hospitalier. En revanche, l'analyse de CC par spectrométrie de masse (SM) peut devenir une alternative concrète, grâce à l'approche d'ICM-MS (Intact Cell MALDI-TOF Mass Spectrometry). Celle-ci est simple et rapide et peu coûteuse en fonctionnement.

L'ICM-MS consiste à analyser directement les cellules entières, sans extraction protéique ou lipidique préalable. Nous avons démontré la faisabilité de cette technique sur les cumulus individuels humains et bovins.

L'analyse différentielle des profils spectraux de CC humaines comparant les CC issues d'ovocytes individuels immatures vs matures et de ceux développés en blastocystes après l'ICSI vs arrêtés avant ce stade, a déjà permis de caractériser certains marqueurs protéiques. Les outils de SM à haute résolution dont nous disposons (MALDI-TOF-TOF UltraFleXtrem et LTQ Velos Orbitrap) permettent a) de réaliser et comparer les profils protéiques et lipidiques de CC par ICM-MS, et b) par une approche ciblée top-down, la caractérisation structurale des espèces protéiques (séquence et modifications post-traductionnelles) et lipidiques observés par ICM-MS.

L'objectif de ce projet est de caractériser les marqueurs potentiels de CC humaines, notamment les espèces moléculaires observées par ICM-MS (à la fois protéiques et lipidiques), et de construire un modèle d'implication de ces marqueurs dans la maturation ovocytaire et l'acquisition de sa compétence au développement embryonnaire. Ceci a pour but ultime de développer un test diagnostique non-invasif et rapide de la qualité ovocytaire, en utilisant les CC éliminées lors des procédures d'ICSI.

1. Les analyses différentielles et quantitatives par ICM-MS des CC issues d'ovocytes individuels humains, aptes ou pas au développement embryonnaire après ICSI, seront réalisées sur un grand nombre d'échantillons et couplées à des analyses statistiques afin de révéler (et/ou confirmer) des pics marqueurs potentiels.
2. Une analyse (top-down) par SM à haute résolution après micro-purification de protéines <30 kDa permettra l'identification des espèces protéiques observées par ICM-MS.
3. Une analyse (top-down) par chromatographie liquide et SM à ultra-haute résolution (Q-Exactive, Profiling, CEA) permettra l'identification des espèces lipidiques observées par ICM-MS.
4. L'analyse statistique de données ICM-MS de CC avec celles du développement d'embryons et de patientes permettra, par la modélisation, d'estimer les valeurs prédictives de ces marqueurs.

## Résultats

1 déclaration d'invention 2018

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Présence de vacuoles céphaliques et épigénome des spermatozoïdes humains : description et potentiels impacts sur la décondensation du noyau spermatique et la formation du pronucléus mâle après fécondation hétérospécifique

**BOITRELLE Florence** - Labo Histo Embryologie, Poissy

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs :

La condensation de la chromatine spermatique est une somme d'événements épigénétiques complexes aboutissant au remplacement dans le spermatozoïde humain de la majorité des histones par les protamines. Ces événements conduisent à l'établissement spermatique de « marques épigénétiques » connues pour influencer le développement embryonnaire par l'intermédiaire d'une régulation de l'expression ou de la répression de gènes. Ceci dit en ICSI (intracytoplasmic sperm injection), lorsque l'on sélectionne un spermatozoïde de morphologie normale, rien ne garantit son statut épigénétique. D'un autre côté, dans nos précédents travaux, nous avons montré que les vacuoles céphaliques spermatiques, telles qu'on peut les observer au fort grossissement en IMSI ((intracytoplasmic morphologically selected injection) étaient en lien avec une non-condensation de la chromatine. Nous émettons donc l'hypothèse que certaines marques épigénétiques impliquées dans la structuration de la chromatine pourraient différer d'un spermatozoïde à un autre en fonction de la présence ou non de vacuoles. Pour tester cette hypothèse, nous utiliserons le modèle humain et le modèle bovin. Dans un premier temps, une dizaine de marques épigénétiques sera étudiée dans les spermatozoïdes humains en fonction de la présence ou non de vacuoles. Puis, le modèle bovin nous permettra d'étudier le devenir des marques épigénétiques après fécondation hétérospécifique, dans les ovocytes bovins fécondés hétéro-spécifiquement par les spermatozoïdes humains vacuolés ou non. Ce devenir sera évalué aux stades très précoces post-injection à savoir aux stades de la décondensation du noyau spermatique et à celui de la formation du pronucléus mâle ; deux événements se produisant tous deux avant la syngamie. Ces études de la décondensation spermatique et de formation du pronucléus mâle se feront selon le même principe que celui du hamster-test mais chez le bovin.

Résultats attendus :

Dans un premier temps, nous décrirons chez l'homme une dizaine de marques épigénétiques qui pourraient être différentiellement exprimées dans les noyaux spermatiques en fonction de la présence ou non de vacuoles. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons à l'impact des vacuoles et donc de ces marques épigénétiques d'intérêt sur le développement de l'ovocyte issu d'une fécondation hétérospécifique (spermatozoïde humain-ovocyte bovin) jusqu'aux stades très précoces de décondensation du noyau spermatique et de formation du pronucléus mâle (avant la syngamie) par une approche de « tracking » in vivo.

Ce projet nous permettra de mieux comprendre l'impact des vacuoles et des marques épigénétiques sur le développement du pronucléus mâle, d'améliorer nos connaissances concernant la qualité du gamète humain, de mieux sélectionner le spermatozoïde comportant les marques épigénétiques donnant les meilleures chances, de (mieux) comprendre les résultats de l'IMSI chez l'humain et d'en dégager les meilleurs indications, si elles existent.

Méthodologie :

L'analyse des marques épigénétiques dans les spermatozoïdes humains sera basée sur (1) la sélection à fort grossissement de spermatozoïdes vacuolés ou non (2) l'immuno-détection de ces marques et (3)

l'analyse en microscopie 3D de leur distribution dans le noyau spermatique. Deuxièmement, si tel que nous l'attendons, une ou plusieurs marques épigénétiques diffèrent dans les spermatozoïdes humains en fonction de la présence de vacuoles ou non, le suivi in vivo de ces marques épigénétiques diffèrent dans les spermatozoïdes humains en fonction de la présence de vacuoles ou non, le suivi in vivo se fera dans l'ovocyte bovin après fécondation hétérospécifique (spermatozoïde humain vacuolé ou non-ovocyte bovin). Ce suivi sera réalisé à l'aide de l'injection intra-ovocytaire d'anticorps fluorescents Fabs, repérage morphologique du pronucléus mâle et suivi de la fluorescence des Fabs au cours de la première étape post injection (décondensation spermatique et formation du pronucléus mâle) avant la syngamie. Il n'y aura ni syngamie ni développement embryonnaire.

### Résultats

Bendayan, Marion, Liliana Caceres, Emine Saïs, Nelly Swierkowski-Blanchard, Laura Alter, Amélie Bonnet-Garnier, et Florence Boitrelle. 2022. « Human Sperm Morphology as a Marker of Its Nuclear Quality and Epigenetic Pattern ». *Cells* 11 (11). <https://doi.org/10.3390/cells11111788>.

[Retour tableau](#)

Année: 2016

## Le rôle du Gène à Effet Maternel BCAR4 dans la qualité de l'OVOcyte : approches in vivo et in vitro (GEMOVO)

**DALBIES-TRAN Rozenn** - INRA Nouzilly

[Retour tableau](#)

### Résumé

La qualité de l'ovocyte requiert, outre sa maturation nucléaire au stade métaphase II, la constitution d'un stock optimal d'ARN et de protéines. En effet, l'activité de transcription est minimale pendant la reprise de la méiose, la fécondation et les premières divisions de l'embryon : leur bon déroulement repose donc sur le recrutement de ces facteurs ovocytaires, jusqu'à l'activation majeure du génome embryonnaire, à un stade variable selon les espèces (2 cellules chez la souris, 4/8 cellules chez l'homme, 8/16 cellules chez le lapin ou la vache).

Notre équipe a démontré l'expression dans l'ovocyte du gène BCAR4 (Breast Cancer Anti-estrogen Resistance 4) chez la femme, la vache et la lapine (Thelie et al, 2007; Angulo et al, 2013). En revanche, le gène n'existe pas chez la souris. Chez la vache, la protéine est synthétisée dans l'ovocyte juste avant l'ovulation, devient abondante après la fécondation, et persiste jusqu'au stade morula. Son inhibition par microinjection d'ARN interférents dans l'ovocyte avant la fécondation in vitro provoque une diminution du taux de développement jusqu'aux stades morula et blastocyste. Le gène BCAR4 a été identifié récemment comme un marqueur de certaines tumeurs du sein; il pourrait agir via la protéine ou l'ARN non codant. Globalement, la phylogénie, la fenêtre temporelle d'expression, les données fonctionnelles in vitro et les propriétés pro-prolifératives dans les cellules tumorales indiquent que BCAR4 est un gène à effet maternel, impliqué dans les premières divisions de l'embryon chez les mammifères à activation embryonnaire tardive.

Pour autant, son rôle in vivo et son mécanisme d'action dans l'embryon restent inconnus, et font l'objet de ce projet.

- objectif 1 : démontrer le rôle du gène BCAR4 in vivo. Des lapines porteuses d'un gène BCAR4 inactivé seront phénotypées sur plusieurs paramètres liés à la reproduction : activité ovarienne, ovulation, fécondation et développement embryonnaire, gestation, taille de portée. Il est attendu une stérilité des femelles par arrêt prématuré du développement embryonnaire.
- objectif 2 : préciser le mécanisme moléculaire d'action de BCAR4 dans l'ovocyte et l'embryon. La seule séquence de BCAR4 ne permet pas de suggérer un rôle pour ce gène. La protéine ou le transcrit agissent probablement au sein d'un complexe avec des partenaires protéiques que nous identifierons par co-précipitation avec BCAR4 dans des extraits cellulaires, suivie d'une analyse par spectrométrie de masse. Les résultats de ce programme intéresseront le domaine de l'assistance médicale à la procréation. En effet, en provoquant un arrêt précoce du développement embryonnaire, des mutations dans des gènes à effet maternel peuvent être à l'origine d'infertilités féminines jusqu'alors inexplicables. Identifier chez ces patientes de telles mutations permettrait de poser un diagnostic, de leur épargner des échecs répétés de fécondation in vitro, mais aussi de réduire l'impact économique de tentatives inutiles.

### Résultats

Peyny, Maud, Peggy Jarrier-Gaillard, Laurent Boulanger, Nathalie Daniel, Sébastien Lavillatte, Véronique Cadoret, Pascal Papillier, et al. 2020. « Investigating the role of BCAR4 in ovarian physiology and female fertility by genome editing in rabbit ». Scientific Reports 10 (mars)

Poster

**Le rôle du Gène à Effet Maternal *BCAR4* dans la qualité de l'OVOCYTE (GEMOVO)**

financement  
agence de la  
Biomédecine

Coordinateur: Rozenn Dalbies-Tran, UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements INRAE-CNRS-Université de Tours, 37380 Nouzilly



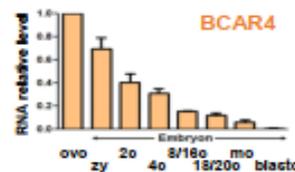
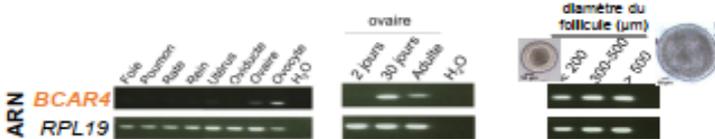
**Introduction**

Notre équipe a démontré l'expression dans l'ovocyte du gène *BCAR4* (*Breast Cancer Anti-estrogen Resistance 4*) chez la femme, la vache et la lapine<sup>1,2</sup>. En revanche, le gène n'est pas retrouvé chez la souris. Chez la vache, son inhibition par micro-injection d'ARN interférents dans

l'ovocyte provoque une diminution du taux de blastocystes *in vitro*. Pour autant, le rôle de ce gène dans la folliculogénèse et le développement préimplantatoire *in vivo* ainsi que son mécanisme d'action dans l'embryon restent inconnus.

**Résultats principaux**

**1 - Expression de *BCAR4* chez la lapine**

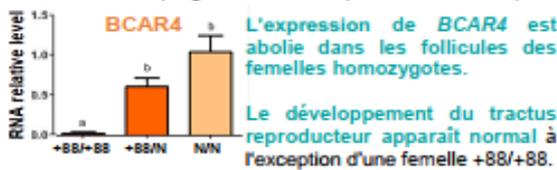


*BCAR4* est transcrit dans l'ovaire/ovocyte, à partir de la formation des follicules et tout au long de la folliculogénèse.

L'abondance du transcrit décroît au cours du développement embryonnaire.

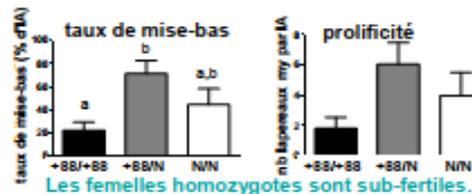
**2 - Approche fonctionnelle *in vivo* par édition du génome chez le lapin**

**Création d'une lignée de lapins porteurs d'une altération du gène *BCAR4* (notée +88)**  
en collaboration avec l'UMR BDR (INRA Jouy-En-Josas) dans le cadre du programme KOALA (financement INRA)

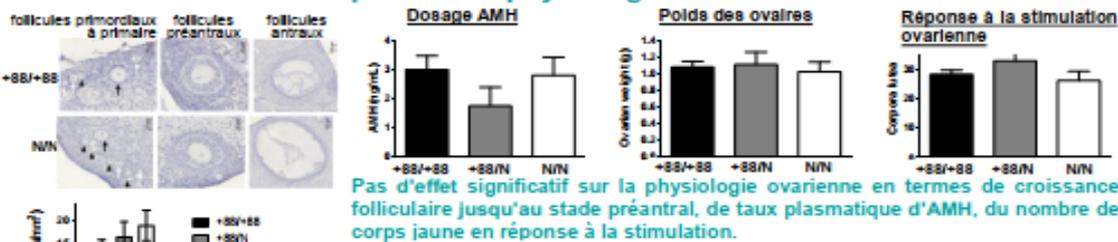


**Impact sur la fertilité des femelles**

Les lapines ont été soumises à 3 IA à six semaines d'intervalle avec de la semence commerciale.



**Impact sur la physiologie ovarienne**



**Conclusion** Le gène *BCAR4* n'est pas essentiel à la croissance folliculaire mais contribue à une fertilité optimale chez la lapine. Le phénotype est compatible avec un rôle dans le développement de l'embryon.

**Contributeurs**

M. Peyny, P. Jarrier-Gaillard, D. Monnlaux, P. Papillier (UMR PRC, INRAE Nouzilly) et V. Cadoret (Id + CHU Bretonneau, Tours): génération de la lignée, expression dans l'ovaire, et phénotypage / G. Jollivet, L. Boulanger, N. Daniel, V. Duranthon et N. Peynot (UMR BDR, INRAE Jouy en Josas): génération des animaux fondateurs et la production d'embryons / S. Lavillatte, le personnel de la PFIE (INRAE Nouzilly) et de SAAJ (INRAE Jouy en Josas): soins aux animaux.

**Valorisation**

• M. Peyny et al (2020) *Sci. Rep* 10:4992  
• M. Peyny (2019) thèse de doctorat, Université de Tours



**Bibliographie**

- Angulo L, et al. (2013) *Human Reprod.* 28:430-41.
- Thélie A, et al. (2007) *BMC Dev Biol.* 7:125.

Année: 2016

## Obésité et qualité des spermatozoïdes humains : importance des adipocytokines ?

DUPONT Joëlle - INRA Nouzilly

[Retour tableau](#)

### Résumé

Comme dans de nombreux pays, l'obésité en France est en augmentation significative depuis ces dernières années. En plus d'être associée au diabète de type 2, aux maladies cardiovasculaires et aux cancers, l'obésité a un impact sur la fertilité chez la femme et chez l'homme. Chez l'homme, contrairement à la femme, les études sur la relation entre indice de masse corporelle (IMC) et paramètres spermatiques sont plus rares et relativement récentes. L'obésité se définissant par un excès de tissu adipeux, une des hypothèses est que les molécules produites et secrétées par le tissu adipeux blanc, appelées adipocytokines, pourraient affecter les fonctions gonadiques. Parmi ces adipocytokines, l'adiponectine (Adipo), la résistine (Res), la visfatine (Visf), la chemerine (Chem) et l'omentine (Omen) ont été récemment étudiées par notre laboratoire dans les cellules de l'ovaire chez la femme. Les résultats montrent que ces hormones sont capables de moduler in vitro la production de stéroïdes. Ces adipocytokines n'ont cependant pas encore été beaucoup étudiées au niveau du sperme humain.

Chez l'homme, les objectifs de notre projet sont :

1. de caractériser en collaboration avec le service de la reproduction de Tours (Partenaire 2) la présence des adipocytokines (Adipo, Res, Visf, Chem et Omen) dans le liquide séminal et de leur récepteur au niveau des cellules testiculaires chez des patients fertiles (ne présentant aucune anomalie dans leur spermogramme)
2. d'évaluer en collaboration avec le Laboratoire Biologie de la Reproduction Hôpital Tenon/Inserm UMR S938 (Partenaire 3) les relations entre ces nouvelles adipocytokines présentes dans le sérum et le plasma séminal avec d'une part les paramètres spermatiques et d'autre part avec les résultats des cycles d'AMP (Aide Médicale à la Procréation). Ce travail sera réalisé sur une cohorte de patients partenaires de couples infertiles avec différents IMC et perturbations métaboliques pris en charge en AMP et inclus dans le protocole de recherche clinique METASPERME
3. de déterminer les effets in vitro de ces adipocytokines sur la fonctionnalité des spermatozoïdes chez des patients témoins en collaboration avec le partenaire 2.

Les résultats de cette étude permettront d'identifier des bio-marqueurs innovants de la qualité du spermatozoïde et apporteront de nouveaux concepts qui serviront à améliorer la qualité des gamètes humains. Ils permettront aussi d'émettre l'hypothèse d'une perturbation de la sensibilité à l'insuline, et des adipocytokines au niveau du sperme de patients présentant un syndrome métabolique.

### Résultats

Int J Mol Sci. 2019 Mar 27;20(7); Int J Mol Sci. 2019 Sep 9;20(18); Asian J Androl. 2019 Sep-Oct; 21(5): 528–530;

Eur J Endocrinol. 2020 Jan;182(1):67-77;

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Culture in vitro de l'embryon : évaluation des conséquences épigénétiques de culture en milieu "one-step" ou "séquentiel"

**DURANTHON Véronique** - INRA Jouy en Josas

[Retour tableau](#)

### Résumé

En AMP, l'objectif de transfert d'un embryon unique incite à recourir à la culture embryonnaire jusqu'au stade blastocyste pour mieux sélectionner l'embryon à transférer. Deux stratégies de culture sont alors possibles : l'utilisation d'un milieu unique ou d'un milieu séquentiel. A ce jour, les critères objectifs de choix entre ces stratégies manquent encore. L'objectif de ce projet est d'évaluer si l'une ou l'autre de ces stratégies est plus proche des conditions de développement in vivo quant à l'évolution de l'épigénome des conceptus et de leur placenta et à la croissance fœtale.

A cette fin nous utiliserons deux milieux de culture très couramment utilisés en France : le milieu Global (Life Global) et la séquence G1+G2+ (Vitrolife). En utilisant l'embryon de lapin comme modèle plus proche de l'embryon humain que ne l'est la souris, nous avons montré grâce à un financement ABM que chacune de ces deux conditions de culture aboutit à des perturbations spécifiques des cinétiques de déméthylation du génome embryonnaire au cours des clivages. Aucune des dynamiques observées ne ressemble à celle d'embryons développés in vivo. Il est donc nécessaire de poursuivre l'évaluation de ces deux procédures en analysant le méthylome des individus obtenus à deux stades clefs ultérieurs: juste après la reméthylation qui a lieu en période péri-implantatoire, susceptible d'effacer, maintenir ou amplifier les anomalies précoces de méthylation, et en période périnatale. Ces stades n'étant pas accessibles chez l'homme nous poursuivrons l'analyse sur des conceptus de lapin à Jour 6 et 28 respectivement. L'évolution des méthylomes dépendant des feuilletts embryonnaires nous distinguerons à Jour 6 l'épiblaste, précurseur des tissus fœtaux dont le foie qui sera analysé à Jour 28, l'hypoblaste, précurseur de la vésicule vitelline et le trophoblaste précurseur du placenta analysé à Jour 28. Les méthylomes correspondants seront analysés à l'échelle du génome entier par Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS). Nous identifierons des Régions Différentiellement Méthylées (DMRs) en fonction des conditions de développement (Global/ G1+G2+/ in vivo) et des feuilletts et organes. Ces DMRs seront localisées sur le génome, celles situées dans des régions régulatrices de gènes importants pour la fonction des feuilletts ou organes analysés seront confirmées par traitement bisulfite et pyroséquençage, leur influence éventuelle sur l'expression génique sera analysée par RT-qPCR. L'analyse de données Echo-Doppler relevées à Jour 14, 21 et 28 sur les conceptus étudiés mettra en évidence d'éventuelles anomalies de croissance. Par comparaison avec l'embryon développé in vivo, ce projet aboutira donc à une évaluation de l'innocuité de chacune de ces deux conditions de culture longue en matière d'épigénome et de croissance fœtale. Les DMRs identifiées pourront être ensuite utilisées comme un panel de biomarqueurs pour valider d'autres conditions de culture.

### Résultats

Mol Reprod Dev. 2018 Apr;85(4):348-368.

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Altération de la réserve ovarienne: étude du rôle de l'exposition aux perturbateurs endocriniens persistants et aux solvants organiques

**GARLANTEZEC Ronan** - Inserm U1085 IRSET, EHESP, Rennes

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'objectif du projet est d'étudier la relation entre l'exposition à des polluants persistants de type perturbateurs endocriniens et aux solvants organiques et l'altération de la réserve ovarienne chez des femmes en âge de procréer.

### Résultats attendus :

projet permettra d'améliorer les connaissances sur l'étiologie de l'altération de la réserve ovarienne. Il s'agit à notre connaissance de la première étude de ce type concernant les expositions d'intérêt. Compte tenu des conséquences de cette pathologie (infertilité féminine) et de la fréquence des expositions concernées, l'impact des résultats en termes de santé publique pourrait être important (certaines des expositions ciblées dans le projet pouvant être prévenues).

### Méthodologie :

Les cas et les témoins seront inclus parmi les nouveaux couples consultant pour infertilité (dans 4 centres d'aide médicale à la procréation (AMP) dans la région Bretagne Pays de Loire. Les cas seront des femmes présentant au moins une caractéristique d'altération de la réserve ovarienne : un nombre de follicules antraux inférieur à 7 et/ou un niveau sanguin d'hormone anti-müllérienne (AMH) inférieur ou égal à 1,1 ng/ml. Pour chaque cas, deux témoins seront sélectionnés par centre et par classes d'âge de 5 ans parmi les femmes consultant pour infertilité du couple dont le bilan d'infertilité est strictement normal et dont le bilan du partenaire est considéré comme anormal. Les critères d'exclusion seront : un âge supérieur à 40 ans, une endométriose ovarienne, un syndrome des ovaires polykystiques, un antécédent de chirurgie annexielle, de cancer avec chimiothérapie ou radiothérapie, une obésité morbide ( $IMC \geq 35$  kg/m<sup>2</sup>). A l'inclusion, les cas et les témoins renseigneront un auto-questionnaire comportant des informations sur leurs antécédents médicaux, leurs caractéristiques sociodémographiques, leurs consommations de tabac et d'alcool, leurs professions et les produits manipulés au travail. Des prélèvements de sang (en vue du dosage de polluants organiques persistants et des métaux lourds) et d'urine (en vue de dosage de métabolites d'éthers de glycol) seront effectués à l'inclusion. Les expositions professionnelles aux solvants seront définies par des matrices emplois expositions. Le risque de diminution de la réserve ovarienne sera étudié en utilisant des régressions logistiques pour chacune des expositions d'intérêt en ajustant sur des facteurs de confusion potentiels.

Un premier financement 161 700 euros permet la mise en place de l'étude, le recueil des données et d'initier une partie des dosages de polluants organiques persistants. Le financement demandé à l'agence de la biomédecine permettra de finaliser les dosages de polluants organiques persistants. D'autres demandes sont actuellement en cours pour permettre le dosage métaux lourds et des métabolites d'éthers de glycol.

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Bisphénol A et activation des récepteurs membranaires aux œstrogènes de l'embryon préimplantatoire de mammifères

**LEANDRI Roger** - Labo D'AMP, CHU de Toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

Nous avons récemment mise en évidence que certains consommables plastiques utilisés en routine en AMP exposent les ovocytes et embryons humains à du bisphénol A (BPA) à des concentrations au moins dix fois supérieures à celles retrouvées dans le sérum ou le liquide folliculaire humain. En routine, ce contact ne dure que quelques dizaines de secondes mais peut se répéter au cours des manipulations successives des embryons. Les effets d'un tel contact sont absolument inconnus.

Le BPA est un xénoestrogène connu pour pouvoir exercer des effets dit non-génomiques rapides et puissants par contact avec les formes membranaires des récepteurs aux estrogènes. Parmi elles, le récepteur aux estrogènes couplé aux protéines G appelé GPER semble, compte tenu des données de la littérature, pouvoir être impliqué au niveau embryonnaire.

Le but de ce projet est de mimer les conditions de laboratoire d'AMP pour exposer des embryons de souris à ce type de matériel et en analyser les conséquences sur le développement embryonnaire (cinétique de développement, taux de blastocystes et qualité des blastocystes, distribution cellulaire entre masse cellulaire interne et trophoctoderme) et sur l'expression génique (analyse transcriptomique) et la méthylation de gènes clés. En parallèle, le travail cherche à démontrer formellement l'implication du BPA dans ces observations et à mettre en évidence l'implication de GPER via l'utilisation d'antagoniste spécifique de GPER.

Ce travail expérimental chez l'animal se base donc sur une observation réalisée dans les pratiques de routines en AMP afin d'en évaluer la sécurité.

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Impact des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques sur la fécondation in vitro : des cellules parentales à la qualité embryonnaire précoce

**PERRIN Jeanne** - Biogénotoxicologie - Santé humaine et Environnement, Université d'Aix-Marseille

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants ubiquitaires persistants désignés par les organismes américains et européens de la protection de l'environnement comme polluants prioritaires à surveiller. Le Benzo[a]pyrène (BaP) est le plus toxique et le plus étudié, classé cancérigène, mutagène et reprotoxique. Les populations sont exposées à des mélanges complexes d'HAP par des voies d'exposition multiples (inhalation, alimentation, contact). Une proportion très importante de la population générale y est exposée. Dans notre population de couples infertiles, nous avons montré que plus de la moitié des hommes y sont exposés (52% par le tabagisme et 28% par leur profession). La question de la transmission à l'embryon des lésions génotoxiques induites par les HAP dans les cellules germinales et de leur impact sur la qualité embryonnaire et l'implantation n'est pas élucidée. A notre connaissance la seule étude s'intéressant à cette question chez l'homme ne s'est attachée qu'à la transmission paternelle.

### Objectifs :

Nous proposons de déterminer les effets génotoxiques de l'exposition aux HAP sur les gamètes parentaux et la qualité embryonnaire. Les objectifs sont : 1) la caractérisation de l'exposition aux HAP par le biais de questionnaires et de dosage de biomarqueurs d'exposition. 2) l'établissement de la relation entre exposition et lésions génotoxiques induites dans les cellules folliculaires et les spermatozoïdes. 3) l'identification de l'effet de ces lésions sur la qualité embryonnaire et le taux de grossesse évolutives en Fécondation In Vitro (FIV).

### Méthodologie :

Dans ce but, nous proposons de réaliser une étude pilote, prospective, mono centrée, exposé-non exposé. Les groupes seront définis en fonction du taux urinaire de 1-hydroxypyrene, biomarqueur le plus sensible de l'exposition aux HAP. Un questionnaire standardisé sur l'exposition aux toxiques environnementaux sera rempli par les couples au début de la prise en charge. La quantification des biomarqueurs d'effet des HAP sur les cellules folliculaires n'a encore jamais été réalisée dans l'espèce humaine. Dans notre projet, nous détecterons et quantifierons les adduits Benzo(a)pyrene-diol epoxyde (BPDE) et les dommages à l'ADN dans les cellules folliculaires et les spermatozoïdes. Nous évaluerons les indicateurs biologiques de qualité en FIV (taux de fécondation, de clivage, paramètres de qualité embryonnaire, taux de grossesse clinique).

### Résultats et retombées attendus :

Notre projet représenterait la première étude à ce jour sur la question de l'effet génotoxique des HAP sur les gamètes, la fécondation, le développement préimplantatoire et les grossesses évolutives. Les biomarqueurs pertinents déterminés grâce à nos résultats pourraient être utilisés pour évaluer les expositions environnementales des couples et la qualité des gamètes avant une tentative de FIV. Les résultats de cette étude devraient permettre de personnaliser la prise en charge des patients et d'évaluer l'efficacité des mesures préventives mise en place durant le parcours d'AMP. Ce projet s'inscrit non seulement dans le cadre des plans nationaux santé environnement mais il répond également aux récentes recommandations de la Fédération Internationale des Gynécologues Obstétriciens (FIGO) concernant la prise en compte de l'environnement pour la santé reproductive.

## Résultats

Netter, Antoine, Elena Siri, Virginie Tassitro, Noémie Resseguier, Nicolas Beauval, Irène Sari-Minodier, Blandine Courbiere, et Jeanne Perrin. 2020. « Influence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Exposure on IVF: Now Is the Time to Focus on Women ». Reproductive BioMedicine Online 41 (2): 161-69.

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Impact de la qualité nucléaire des spermatozoïdes murins générés in vitro sur le développement embryonnaire après ICSI

**RIVES Nathalie** - EA 4308 CECOS CHU de Rouen

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les cellules germinales souches sont les cibles de thérapies toxiques, comme la chimiothérapie ou la radiothérapie. Leur préservation peut s'effectuer par congélation du tissu testiculaire proposée chez le garçon pré-pubère. Le tissu testiculaire décongelé pourra subir une maturation in vitro afin d'obtenir des spermatozoïdes. La congélation lente et la vitrification du tissu testiculaire pré-pubère de souris ont été développées au sein de notre équipe et des conditions optimales de culture ont été identifiées afin de générer in vitro des spermatozoïdes à partir de ce tissu décongelé. Il apparaît indispensable de vérifier que ces spermatozoïdes obtenus in vitro ont une qualité nucléaire comparable à celle observée in vivo et sont capables, après fécondation in vitro par microinjection, de féconder des ovocytes, d'assurer un développement embryonnaire normal et d'obtenir des nouveaux nés normaux et fertiles à l'âge adulte.

Les objectifs de cette thèse sont d'analyser :

- (i) le taux d'anomalies chromosomiques par FISH, le nombre et la longueur relative des télomères, la fragmentation de l'ADN des noyaux spermatiques, la condensation de l'ADN ;
- (ii) les taux de fécondation, de développement embryonnaire, la qualité des embryons obtenus, le taux d'implantation des embryons, le nombre de nouveaux nés obtenus en ICSI avec le système piezzo par utilisation de spermatozoïdes issus de la maturation in vitro à partir du tissu testiculaire pré-pubère frais ou décongelé. Les souris ainsi obtenues seront évaluées également sur la présence ou non de malformations et leur fertilité. Les résultats seront comparés à ceux obtenus à partir de spermatozoïdes issus d'une spermatogenèse in vivo dans les conditions physiologiques.

Mots clés : Congélation du tissu testiculaire/ ICSI / Noyau spermatique / Spermatogenèse in vitro

### Résultats

Oblette, A., N. Rives, L. Dumont, A. Rives, F. Verhaeghe, F. Jumeau, et C. Rondanino. 2017. « Assessment of Sperm Nuclear Quality after in Vitro Maturation of Fresh or Frozen/Thawed Mouse Pre-Pubertal Testes ». *Molecular Human Reproduction* 23 (10): 674-84

Oblette, Antoine, Aurélie Rives-Feraille, Ludovic Dumont, Marion Delessard, Justine Saulnier, Nathalie Rives, et Christine Rondanino. 2021. « Dynamics of Epigenetic Modifications in ICSI Embryos from in Vitro-Produced Spermatozoa ». *Andrology* 9 (2): 640-56.

Oblette, Antoine, Julie Rondeaux, Ludovic Dumont, Marion Delessard, Justine Saulnier, Aurélie Rives, Nathalie Rives, et Christine Rondanino. 2019. « DNA methylation and histone post-translational modifications in the mouse germline following in-vitro maturation of fresh or cryopreserved prepubertal testicular tissue ». *Reproductive BioMedicine Online* 39 (3): 383-401.

Poster

**Impact de la qualité nucléaire des spermatozoïdes murins  
générés *in vitro* sur le développement embryonnaire après ICSI**

Antoine Oblette, Julie Rondeaux, Ludovic Dumont, Justine Saulnier, Marion Delessard, Aurélie Rives-Féaille, Christine Rondanino, Nathalie Rives

EA 4308 « Gamétogenèse et Qualité du gamète »  
Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS  
IRIB – Université de Rouen  
CHU-Hôpitaux de Rouen  
76031 Rouen



**Introduction**

La congélation du tissu testiculaire est proposée depuis peu de temps aux garçons pré-pubères atteints d'un cancer avant le début des traitements dans le but de préserver leur future fertilité. Les cellules souches présentes dans le tissu testiculaire décongelé pourront subir une maturation *in vitro* afin d'obtenir des spermatozoïdes utilisables en Assistance Médicale à la Procréation.

Les objectifs de ce projet ont été d'évaluer pour la première fois dans un modèle animal la qualité des spermatozoïdes générés *in vitro*, leur capacité à féconder un ovocyte et à assurer un développement embryonnaire normal.

**Résultats et conclusion**

La majorité des spermatozoïdes générés *in vitro* ne présentent pas d'anomalies du nombre de chromosomes, contiennent un ADN non fragmenté et compacté. La longueur de l'extrémité des chromosomes est comparable dans les spermatozoïdes produits *in vitro* et *in vivo*. Une légère diminution du nombre d'extrémités chromosomiques a été observée dans les spermatozoïdes produits *in vitro* ainsi qu'une augmentation de l'oxydation de l'ADN dans les cultures de tissu testiculaire décongelé. La méthylation de l'ADN et les modifications des histones (modifications transmissibles à la descendance et jouant un rôle important au cours du développement embryonnaire) ont lieu dans les cellules germinales maturées *in vitro*. La qualité des spermatozoïdes produits *in vitro* est donc proche de celle observée *in vivo*. Des taux de fécondation comparables ont été obtenus après micro-injection de spermatozoïdes générés *in vitro* ou *in vivo* dans des ovocytes. La qualité des embryons issus des spermatozoïdes produits *in vitro* ou *in vivo* est également proche, avec des taux d'histones modifiées H3K4me3, H3K27me3 et H3K9ac similaires. La santé, la survie, le comportement et la fertilité de la descendance restent à évaluer.

En conclusion, ce projet nous a permis de progresser dans l'analyse de la qualité et de la fonctionnalité des spermatozoïdes produits *in vitro* et dans l'analyse des embryons. Au vu des résultats encourageants obtenus, une application du protocole de maturation *in vitro* sur le tissu testiculaire de garçons atteints d'un cancer pourrait être envisagée dans l'avenir.

**RBMO**

ARTICLE

DNA methylation and histone post-translational modifications in the mouse germline following in-vitro maturation of fresh or cryopreserved prepubertal testicular tissue



**BIOGRAPHY**

Antoine Oblette is a PhD student in the Gametogenesis and Gamete Quality Team within the Institute for Research and Innovation in Biomedicine and the University Hospital of Rouen in France. His area of research covers fertility preservation and restoration in young boys with cancer.

Antoine Oblette<sup>1</sup>, Julie Rondeaux<sup>1</sup>, Ludovic Dumont<sup>1</sup>, Marion Delessard<sup>1</sup>, Justine Saulnier<sup>1</sup>, Aurélie Rives<sup>1</sup>, Nathalie Rives<sup>1</sup>, Christine Rondanino<sup>1</sup>

Molecular Human Reproduction, Vol.33, No.10 pp. 474-484, 2017  
Advanced Access publication on September 11, 2017 doi:10.1093/molehr/gax048

reproductive  
human  
reproduction

ORIGINAL ARTICLE

**Assessment of sperm nuclear quality after *in vitro* maturation of fresh or frozen/thawed mouse pre-pubertal testes**

A. Oblette, N. Rives, L. Dumont, A. Rives, F. Verhaeghe, F. Jumeau, and C. Rondanino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Normandie Univ., UNIROUEN, EA-4308 'Gametogenesis and Gamete Quality', Rouen University Hospital, Department of Reproductive Biology – CECOS, F-76031 Rouen, France

\*Correspondence address: Tel: +33 2 35 94 20 20; Fax: +33 2 35 94 20 07; E-mail: antoine.oblette@univ-rouen.fr  
Submitted on May 4, 2017; resubmitted on July 10, 2017; editorial decision on August 16, 2017; accepted on August 17, 2017

**Année: 2016**

## Identification et caractérisation des mutations géniques chez des patients présentant une azoospermie par arrêt de maturation

**VIALARD François** - Unité gamète implantation UFR santé simone Veil, Montigny le Bretonneux

[Retour tableau](#)

### Résumé

La stérilité est un problème de santé mondial qui reste idiopathique dans un grand nombre de cas. De meilleurs niveaux de connaissances fondamentales sont nécessaires pour améliorer les soins cliniques.

Objectifs :

Notre objectif est de réaliser une analyse de l'exome chez des patients azoospermes ayant un phénotype testiculaire caractéristique, celui de l'arrêt de la maturation de la spermatogénèse avec blocage au stade spermatocyte ou spermatide. De tels blocages sont supposés comme ayant une forte composante génétique. L'objectif à terme est d'améliorer notre connaissance des bases génétiques du mécanisme de la gamétogénèse et d'identifier une thérapie qui permettrait de contourner l'arrêt de maturation.

Résultats attendus :

Notre stratégie consiste à cribler une famille consanguine et une cohorte de patients classés en fonction de leurs caractéristiques cliniques, biologiques et histologiques comme ayant un arrêt de maturation. Le choix d'une famille consanguine avec 3 frères ayant le même phénotype testiculaire renforce de façon importante nos chances d'identifier une mutation sur un gène de la spermatogénèse. L'analyse en parallèle d'autres patients permettra d'obtenir de façon rapide, soit la confirmation de l'existence de mutation récurrente sur le même gène, soit l'identification d'autres anomalies touchant d'autres gènes.

Méthodologie :

Pour la mise en place de ce projet, différentes stratégies seront utilisées. L'analyse de l'exome chez les patients afin d'identifier des variants génomiques. Pour confirmer l'impact des variants identifiés sur la spermatogénèse, nous allons également étudier une cohorte de sujets contrôles et une cohorte de patients atteints de diverses atteintes spermatiques les gènes identifiés afin de savoir s'il existe d'autres variants susceptibles de modifier la spermatogénèse. Enfin, une analyse immunohistochimique sera réalisée sur les prélèvements à partir de tissus obtenus au décours de la biopsie testiculaire réalisée dans le cadre de la prise en charge de leur infertilité.

### Résultats

Ben Khelifa, M, F Ghieh, R Boudjenah, C Hue, D Fauvert, R Dard, H J Garchon, et F Vialard. 2018. « A MEI1 Homozygous Missense Mutation Associated with Meiotic Arrest in a Consanguineous Family ». Human Reproduction, avril. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey073>.

Ghieh, F, A L Barbotin, N Swierkowski-Blanchard, C Leroy, J Fortemps, C Gerault, C Hue, et al. 2022. « Whole-Exome Sequencing in Patients with Maturation Arrest: A Potential Additional Diagnostic Tool for Prevention of Recurrent Negative Testicular Sperm Extraction Outcomes ». Human Reproduction 37 (6): 1334-50. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac057>.

Ghieh, Farah, Vincent Izard, Marine Poulain, Johanne Fortemps, Nadia Kazdar, Béatrice Mandon-Pepin, Sophie Ferlicot, Jean Marc Ayoubi, et François Vialard. 2022. « Cryptic Splice Site Poisoning and Meiotic Arrest Caused by a Homozygous Frameshift Mutation in RBMXL2 : A Case Report ». Andrologia 54 (11). <https://doi.org/10.1111/and.14595>.

[Retour tableau](#)



Année: 2016

## Influence du plastique des boîtes pétri sur la régulation de l'expression du génome au cours de l'AMP, chez la souris

**WOLF Jean-Philippe** - Labo Biologie de la repro - Cochin, Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) permet à des couples infertiles d'avoir des enfants. Parmi ceux-ci, on observe une légère augmentation du pourcentage des anomalies majeures chez les nouveaux-nés et une augmentation de la fréquence de maladies liées à des anomalies épigénétiques telles les syndromes de Beckwith-Wiedemann et de Silver-Russel. En outre les enfants issus d'AMP ont un risque accru 2.6 fois de petits poids de naissance à terme identique. Pour expliquer l'ensemble de ces anomalies, sont incriminés l'infertilité du couple, la stimulation ovarienne, la fécondation in vitro mais aucun élément décisif de causalité n'a été mis en évidence.

Dans la pratique, les gamètes et les embryons sont maintenus in vitro dans des boîtes de pétri en plastique, jusqu'à 5 jours pour les cultures prolongées. Les perturbations épigénétiques causées par des composés entrant dans la fabrication des plastiques sont connues dans d'autres contextes, et ont entraîné l'interdiction de l'usage de certains d'entre eux. Il se trouve que les consommables utilisés en AMP n'ont été testés dans le meilleurs des cas que sur des tests de survie des spermatozoïdes ou de développement de blastocystes de souris. A aucun moment d'éventuelles perturbations épigénétiques susceptibles d'être induites n'ont été évaluées alors qu'elles représentent un facteur de risque majeur. Le principe de précaution implique donc que ces effets potentiels soient recherchés. Nous avons mis en évidence chez la souris la perturbation de l'expression des gènes placentaires soumis à empreinte sur des embryons obtenus in vitro comparés à d'autres qui avait été conçus in vivo (Fauque et al. 2010).

Nous proposons de mener une étude chez la souris pour (1) identifier d'éventuelles dérégulation épigénétiques et (2) comparer l'expression de gènes dans deux organes cibles, le foie et le placenta, en particulier les gènes soumis à empreinte parentale, qui sont fondamentaux dans la régulation de la fonction d'échange de l'interface foeto-maternelle, en comparant des embryons conçus in vivo et qui seront incubés soit dans des boîtes en plastiques habituelles, soit dans des boîtes en verre et avec des embryons conçus et gardés in utero. Les boîtes en verre sont choisies pour les contrôles car dans un rapport de l'Inserm et de l'Agence de la Biomédecine sur les perturbateurs endocriniens le verre n'est cité aucune fois contrairement au plastique dont le rapport est l'objet.

Si des différences d'expression entre les deux supports sont retrouvées, cela conduira ultérieurement à reproduire l'étude sur des embryons humains donnés pour la recherche.

L'impact d'une telle étude apparait essentiel. Elle pourrait mettre en évidence des anomalies liées aux consommables et amener à changer ces derniers pour des composés moins, voire non toxiques

### Résultats

Kouakou, Franck, Anne-Lyse Denizot, Audrey L'Hostis, Julie Colet, Sébastien Jacques, Amira Sallem, Ahmed Ziyat, Daniel Vaiman, et Jean-Philippe Wolf. 2023. « Plastic used in in vitro fertilization procedures induces massive placental gene expression alterations ». *Ebiomedicine* 91.

[Retour tableau](#)

**Année: 2017**

## Analyse en NGS des points de cassures dans des remaniements chromosomiques chez les femmes avec une insuffisance ovarienne prématurée

**CHRISTIN-MAITRE Sophie** - Endocrino et Médecine de la reprod; Hôp Saint-Antoine

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le caryotype est l'examen de base pour la détection des remaniements chromosomiques équilibrés qui, lorsqu'ils sont associés à une pathologie donnée, posent la question de la présence d'un gène d'intérêt au niveau ou à proximité de l'un ou l'autre des points de cassures chromosomiques. Malheureusement, le niveau de résolution du caryotype, et la nature même de cet examen, ne permettent pas l'identification de ces points de cassures au niveau moléculaire. L'hybridation in situ fluorescente (FISH) ne peut être utilisée que de façon ciblée et la CGH-Array, quant à elle, ne permet pas d'analyser les remaniements chromosomiques équilibrés. L'objectif de ce projet est d'appliquer les techniques nouvelles de séquençage de l'ADN (NGS) à la détermination moléculaire des points de cassures chromosomiques dans des remaniements équilibrés du caryotype (translocations ou inversions) dans un modèle de pathologie, l'insuffisance ovarienne prématurée. Pour ce faire, il est prévu de séquencer l'ADN de six patientes, déjà identifiées, avec une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) et porteuses soit d'une translocation X;autosome (n=4) soit d'une translocation entre deux autosomes (n=1) soit encore d'une inversion chromosomique (n=1). Le caractère équilibré de ces remaniements a été vérifié en CGH-Array sur puces SNP. Outre l'aspect innovateur de ce travail quant à la technique utilisée, le but est de déterminer si un ou plusieurs gènes, impliqués dans le fonctionnement ovarien, se situent au niveau de l'un ou l'autre des points de cassures chromosomiques ou à proximité immédiate. Une analyse de la méthylation des régions chromosomiques voisines sera également effectuée à l'aide de puces ADN de méthylation de façon à mettre en évidence un éventuel effet de position. Le service d'Endocrinologie de l'hôpital Saint Antoine et l'unité de cytogénétique de l'hôpital Armand Trousseau ont une grande expertise dans l'exploration phénotypique, biologique et génétique des femmes ayant une insuffisance ovarienne prématurée.

Le service de cytogénétique constitutionnelle du CHU de Lyon a acquis ces dernières années une très bonne expertise dans la caractérisation des points de cassures par NGS de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés grâce à la réalisation d'un projet PRTS, le projet ANI, sur le clonage des points de cassures avec déjà plus de 50 patients recrutés. Un budget de 16000€ est demandé pour ce travail, couvrant les réactifs nécessaires au NGS ainsi que les frais d'analyse et d'interprétation des données de séquençage.

[Retour tableau](#)

Année: 2017

## Intérêt du séquençage exomique dans le diagnostic génétique des patients globozoospermiques DPY19L2 négatifs

**COUTTON Charles** - Labo de génétique chromosomique

CHU de Grenoble

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Contexte et objectifs

La globozoospermie, un phénotype rare d'infertilité masculine qui se caractérise par la présence dans l'éjaculat d'une majorité de spermatozoïdes avec une tête ronde, dépourvue d'acrosome. Une récente méta-analyse a démontré que les altérations du gène DPY19L2 sont retrouvées chez près de 2/3 des patients globozoospermiques. L'absence de mutation identifiée dans le gène DPY19L2 chez une proportion de patients globozoospermiques suppose que d'autres gènes sont impliqués dans ce phénotype. Jusqu'à présent chez l'homme, seuls trois autres gènes (PICK1, ZPBP1 and SPATA 16) ont été reliés à la globozoospermie mais le niveau de preuve de leur implication et/ou leur prévalence reste extrêmement faible. La poursuite des efforts pour l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la globozoospermie est primordiale à l'amélioration de la prise en charge des patients. Par ailleurs l'amélioration de l'efficacité diagnostique permettra d'adapter les options thérapeutiques au génotype. L'objectif principal de cette étude est d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans la globozoospermie complète chez des patients pour lesquels la recherche des altérations dans le gène DPY19L2 s'est avérée négative. La plupart de patients inclus dans l'étude ont déjà eu recours à la fécondation in vitro (FIV) avec injection spermatique intra-cytoplasmique (ICSI). Les résultats des ICSI chez ces patients permettront secondairement d'établir s'il existe une corrélation entre le génotype et les taux de réussite de l'ICSI chez ces patients.

#### Résultats attendus

L'identification de nouveaux gènes impliqués dans la globozoospermie nous permettra d'améliorer l'efficacité diagnostique et donc de limiter l'errance diagnostique. La prévalence des mutations identifiées nous aidera à préciser la meilleure stratégie diagnostique à adopter chez les patients globozoospermiques. Ces nouvelles données génétiques corrélées aux résultats d'ICSI nous permettront aussi de proposer de nouvelles recommandations sur les possibilités de prise en charge et les chances de réussite en fonction du génotype.

#### Méthodologie

Nous réaliserons le séquençage exomique d'une cohorte de 25 patients présentant une globozoospermie totale i.e. avec plus de 75% de spermatozoïdes globozoocéphales chez lesquels l'étude complète du gène DPY19L2 par MLPA (multiple ligation-dependant probe amplification) pour la détection de délétions et séquençage Sanger s'est avérée négative. Une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA ou CGH-array) a déjà été aussi réalisée chez ces patients sur notre plateforme mais n'a pas permis de détecter de variations du nombre de copies (CNV) pathogènes pouvant expliquer le phénotype. Chez l'ensemble de ces patients, les résultats des ICSI ont pu être collectés auprès des centres de procréation médicalement assisté (PMA) ayant pris en charge les couples concernés. Les données d'exomes seront analysées et filtrées par un pipeline d'analyse développé au laboratoire. Les mutations ponctuelles mais aussi les petites délétions exoniques seront recherchées.

Poster

INCLUSION



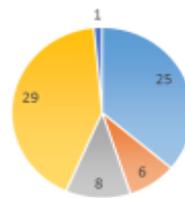
Cohorte de patients globozoospermiques (>20% de l'éjaculat)  
n=69

METHODES



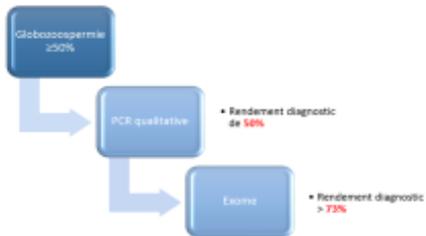
Analyses moléculaires  
MLPA, Séquençage Sanger et exomique (WES)

RESULTATS

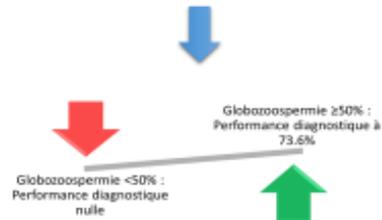


- délétion homozygote DPY19L2
- mutation homozygote DPY19L2
- mutation + délétion DPY19L2 (hétérozygote composite)
- absence d'anomalie
- mutation GGN

- ✓ Identification de 8 **nouvelles mutations** jamais décrites
- ✓ Identification de **hot-spots mutationnels** en lien avec des domaines fonctionnels clé de la protéine DPY19L2
- ✓ Identification d'une nouvelle mutation dans le **gène GGN** soutenant l'hypothèse de son implication dans la globozoospermie



✓ Définition de nouvelles recommandations dans la stratégie d'investigation génétique de la globozoospermie



✓ **Corrélation génotype-phénotype:** meilleur rendement diagnostique chez les patient avec un taux de globozoospermie > 50%

**Année: 2017**

## Impact de l'exposition humaine aux bisphénols sur la fonction ovarienne et sa réponse à une stimulation

**GAYRARD Véronique** - UMR1331 Toxalim

Ecole vétérinaire de toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

La forte prévalence de l'exposition à des perturbateurs endocriniens comme le bisphénol A (BPA) est un sujet de préoccupation pour la fonction reproductive humaine. Une partie des incertitudes soulevées par les agences réglementaires est liée à la difficulté d'extrapoler les données expérimentales à l'homme en raison de la controverse actuelle concernant le niveau des concentrations plasmatiques humaine de BPA. Par ailleurs, la question de la substitution du BPA est posée et de nombreux industriels y ont d'ores et déjà répondu par le bisphénol S (BPS) dont les effets de perturbateurs endocriniens restent encore très mal connus. Le projet proposé, adossé à un programme hospitalier de recherche clinique en cours, vise à développer une approche modélisatrice de type pharmacocinétique (PK) pharmacodynamique (PD) de population pour évaluer l'effet de l'exposition des femmes au BPA et au BPS sur des marqueurs de la fonction ovarienne basale et stimulée dans le cadre des protocoles d'assistance médicale à la procréation (AMP). Cette approche appliquée à un effectif important (800 patientes) permettra de quantifier l'ensemble des sources de variabilité interindividuelle, dont le niveau d'exposition au BPA et au BPS, et de prédire la relation entre les doses quotidiennes d'exposition à ces bisphénols et la fonction ovarienne, en termes de fonctionnement basal et en termes de capacité de réponse à une stimulation gonadotrope, c'est-à-dire des éléments clés influençant la fertilité féminine naturelle et induite. Parallèlement, à travers le développement de modèles PK et PD de population, cette étude aura une contribution originale et majeure à l'évaluation de l'exposition humaine au BPA et au BPS ainsi qu'à la compréhension des mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens sur la fonction reproductive.

## Appel d'offres Recherche AMP, diagnostic prénatal 2017

# Impact de l'exposition humaine aux bisphénols sur la fonction ovarienne et sa réponse à une stimulation gonadotrope

### OBJECTIFS

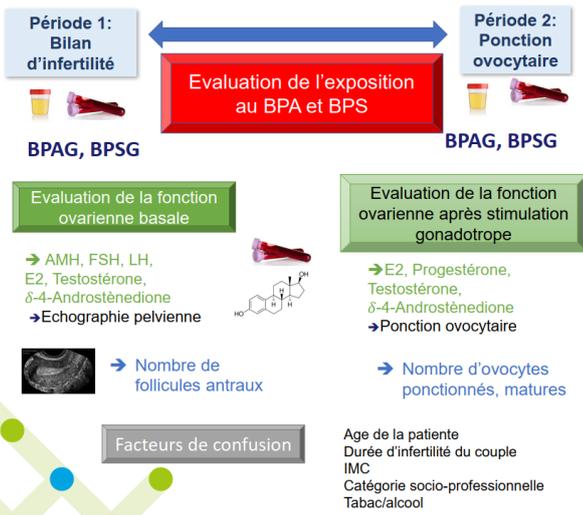
Les restrictions de l'utilisation du Bisphénol A (BPA), un perturbateur endocrinien, ont conduit à son remplacement principalement par le bisphénol S (BPS)  
Les concentrations urinaires des métabolites conjugués du BPA et du BPS, le BPAG et le BPSG sont des marqueurs de l'exposition au BPA (BPS)



L'objectif est d'évaluer l'effet de l'exposition humaine aux bisphénols A (BPA) et S (BPS) sur des marqueurs de la fonction ovarienne basale et stimulée

### MÉTHODOLOGIE

#### Assistance médicale à la procréation (PHRC Fivphenol)



### DISCUSSION / CONCLUSION

Les sujets (n=327) étaient des femmes dont l'âge moyen était de 31.8 ans (26 – 36 ans). L'IMC moyen était de 23.25 kg/m<sup>2</sup> (16 – 38 kg/m<sup>2</sup>).

	BPAG		BPSG	
	Période 1	Période 2	Période 1	Période 2
Fréquence de détection (%)	97.5	99.7	97.5	93.0
Concentration urinaire moyenne (rang, ng/ml)	5.13 (<LOQ-130)	5.72 (<LOQ-439)	2.07 (<LOQ-186)	2.28 (<LOQ-64.)

LOQ: limite de quantification du dosage par HPLC-MS (0.05ng/ml)

Le BPAG et le BPSG n'ont pas été détectés dans les échantillons sanguins. La concentration urinaire moyenne de BPAG (BPSG) n'a pas différé entre les 2 périodes (P>0.05, test de Student).

Une relation linéaire faible entre ces valeurs qui a été mise en évidence à l'aide d'une corrélation de Spearman (r=0.25, p=0.0001).

Un IMC élevé (>25) a été associé à augmentation significative de l'exposition aux bisphénols (P<0.05, Anova). Une augmentation significative de l'exposition au BPS a été observée au cours de la 2<sup>ème</sup> période chez les femmes qui ont déclaré consommer plusieurs fois par semaine des aliments en conserve (P<0.05, Anova) .

Somme des concentrations urinaires de BPAG et BPSG	Concentration plasmatique en AMH basale		
	Coefficient	IC95%	P
Q2 (>25 <sup>ème</sup> au 25 <sup>ème</sup> )	0.249	0.036-0.46	0.022
Q3 (>50 <sup>ème</sup> -75 <sup>ème</sup> )	0.190	-0.024-0.40	0.082
Q4 (>75 <sup>ème</sup> )	0.340	0.13-0.55	0.002

Q2, Q3, Q4: quartiles des concentrations urinaires de BPAG et BPS. Le quartile <LOD-25<sup>ème</sup> est considéré comme le groupe de référence

Une association positive a été observée entre les concentrations urinaires en bisphénol (somme des concentrations de BPAG et BPSG) et les concentrations plasmatiques en AMH basale. Cette association a été significative pour les 2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> quartiles et s'est maintenue après la prise en compte des facteurs de confusion. Des analyses sont en cours pour évaluer l'association entre l'exposition aux bisphénols et les marqueurs de la fonction ovarienne après stimulation gonadotrope.

En conclusion, cette étude suggère que la consommation d'aliments en conserve constitue un déterminant de l'exposition au BPS. La prévalence du surpoids chez les femmes les plus exposées aux bisphénols suggère un lien entre l'exposition aux bisphénols et l'obésité.

L'association entre les concentrations urinaires en bisphénols et les concentrations plasmatiques d'AMH basale est inattendue et doit être explorée.

**Année: 2017**

## Impact de la perte de poids induite par un by-pass gastrique sur la qualité des spermatozoïdes

**GRANDJEAN Valérie** - INSERM U 1065-C3M, Bat Universitaire Archimed, 151 route St Antoine de Ginestière, BP 23194, 06204 Nice Cedex 3

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs du projet et résultats attendus

De nombreux facteurs influencent la qualité du spermatozoïde. C'est le cas notamment de l'obésité. En effet, de récentes analyses épidémiologiques et expérimentales indiquent que l'obésité masculine induit des modifications physiologiques et moléculaires dans les spermatozoïdes qui seraient préjudiciables à la qualité du sperme. Ces altérations auraient des répercussions à la fois sur la fertilité et également sur la santé du futur individu, en augmentant le risque chez la descendance de développer des pathologies métaboliques à l'âge adulte. Ainsi, il est très souvent demandé aux patients obèses venant consulter pour des problèmes de fertilité de maigrir avant leur prise en charge en procréation médicalement assistée. Cela repose sur l'idée que les altérations physiologiques et moléculaires induites par l'obésité sont réversibles dans les spermatozoïdes. Mais qu'en est-il réellement ? L'objectif de notre étude vise à vérifier cette réversibilité tant sur les plans physiologique que moléculaire. Ce projet nous permettra de mieux comprendre l'impact de l'obésité et de la perte de poids sur la qualité du gamète mâle.

Méthodologie

Pour répondre à ces questions, nous analyserons, chez l'homme, l'impact d'une perte de poids induite par un by-pass gastrique sur la qualité spermatique (nombre, morphologie et mobilité) et sur le transcriptome des spermatozoïdes. Ces analyses seront réalisées avec des spermatozoïdes d'homme obèses (avec un IMC  $\geq 35\text{kg/m}^2$ ) avant et (12 mois) après chirurgie. Nous focaliserons nos analyses moléculaires sur l'ARN spermatiques pour plusieurs raisons. Tout d'abord, même si le rôle des ARNs spermatiques n'est pas encore complètement défini, on sait néanmoins qu'ils sont le reflet d'évènements intervenus lors de la spermatogenèse, ce qui fait de leur analyse une image qualitative de la spermatogenèse. D'autre part, des analyses moléculaires et génétiques démontrent qu'ils joueraient un rôle à la fois dans le développement précoce de l'embryon et sur le phénotype des futurs individus. Ainsi, une analyse transcriptomique comparative des spermatozoïdes entre hommes non obèses et obèses avant et après chirurgie nous apparaît un critère de choix pour évaluer la qualité du sperme et la possible réversion des marques non-génétiques induites lors d'obésité importante.

Ce travail est rendu possible grâce à la mutualisation de compétences de trois équipes toutes localisées à Nice qui possèdent une expertise reconnue internationalement dans leur domaine respectif. Il s'agit de l'équipe Recherche intitulée "Control of gene expression" localisée à Nice Unité INSERM U1065 (Dr Valérie Grandjean, Partenaire 1), du Service d'Endocrinologie et Reproduction au CHU l'Archet II de Nice (Dr Mohamed Benhamed, Partenaire 2) et du Service de Chirurgie Digestive et du Centre de Transplantation Hépatique du CHU de Nice (Pr Jean Gugenheim, Partenaire 3).

[Retour tableau](#)

Année: 2017

## Quantification de l'ADN mitochondrial des cellules folliculaires comme facteur prédictif de l'implantation embryonnaire

MAY-PANLOUP Pascale - Biologie de la reproduction UMR CNRS 6214- INSERM 1083- Angers

[Retour tableau](#)

### Résumé

En dépit des progrès de l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP), le taux global de succès en fécondation in vitro (FIV) reste relativement faible. Le choix de l'embryon à transférer devrait permettre la sélection de l'embryon avec le meilleur potentiel évolutif de manière à augmenter les chances de grossesse tout en limitant les risques de grossesse multiple. Cependant malgré les récentes tentatives de standardisation et l'affinement des critères de sélection embryonnaire, les taux de grossesse restent relativement bas, montrant les limites de l'informativité de ces critères. L'un des challenges de notre activité est de définir des marqueurs non invasifs et fiables de la viabilité embryonnaire.

Les mitochondries constituent la force motrice des cellules, produisant l'énergie sous forme d'ATP. Elles sont également essentielles à divers processus cellulaires et voies de signalisation. Il a été montré que la qualité ovocytaire était liée à la teneur en ADN mitochondrial de l'ovocyte (ADNmt) chez l'homme et d'autres espèces animales. Parallèlement il a été mis en évidence que le nombre de copies de l'ADNmt de l'ovocyte était corrélé à celui des cellules folliculaires (CFs) qui l'entourent. La quantification de l'ADNmt des CFs a ainsi été reliée à la qualité de l'embryon évaluée par des critères morphologiques.

Nous proposons une étude observationnelle sur 100 complexes cumulo-ovocytaires provenant de patientes bénéficiant d'une FIV avec micro-injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) au centre d'AMP du CHU d'Angers, sur une période de 3 ans.

Au cours du processus d'ICSI, tous les cumulus seront collectés individuellement et ceux qui correspondent à un embryon transféré dans l'utérus maternel seront conservés. La teneur moyenne en ADNmt des CFs de chaque cumulus sera ensuite évaluée en utilisant une technique de PCR quantitative en temps réel. Nous comparerons la teneur moyenne en ADNmt des CFs des ovocytes menant à un embryon implanté, à ceux des ovocytes conduisant à l'embryon transféré mais non implanté. La relation entre la teneur en ADNmt dans les CFs et les chances d'implantation sera étudiée en utilisant des modèles généralisés univariés et multivariés incluant des paramètres morpho-cinétiques classiques habituellement utilisés pour la sélection embryonnaire dans un laboratoire de FIV.

Le but de cette étude est d'évaluer l'intérêt de la quantification de l'ADNmt dans les CFs en tant que biomarqueur de la compétence des ovocytes. Nous cherchons à savoir si le contenu moyen en ADNmt des CFs pourrait, seul ou en combinaison avec la méthode d'évaluation morpho-cinétique classique, offrir un critère supplémentaire de sélection de l'embryon à transférer.

### Résultats

Taugourdeau, A., V. Desquirit-Dumas, J. F. Hamel, S. Chupin, L. Boucret, V. Ferré-L'Hotellier, P. E. Bouet, et al. 2019. « The mitochondrial DNA content of cumulus cells may help predict embryo implantation ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 36 (2): 223-28. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1348-5>.

Poster

**Quantification de l'ADN mitochondrial des cellules folliculaires comme facteur prédictif de l'implantation embryonnaire**

Taugourdeau A, Desquiere-Dumas V, Hamel JF, Chupin S, Boucret L, Ferré-L'Hotellier V, Bouet PE, Descamps P, Procaccio V, Reynier P, May-Panloup P  
 Institut MITOVASC, CNRS UMR 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, CHU d'Angers, Angers, France

1-INTRODUCTION



A l'heure actuelle, en routine, la sélection embryonnaire se fait **uniquement sur des critères morphologiques et cinétiques imparfaits**. Nous nous sommes intéressés à définir un **nouveau biomarqueur susceptible de refléter** la viabilité de l'embryon et donc ses capacités d'implantation. L'équipe a précédemment mis en évidence une corrélation positive entre la quantité d'ADN mitochondrial (ADNmt) des cellules folliculaires (CFs) et la qualité embryonnaire (Figure 1). Dans la suite de ces travaux, notre étude a pour but d'évaluer la quantification de l'ADNmt des CFs comme biomarqueur du potentiel implantatoire de l'embryon.

Les chances de grossesse suite à une tentative de fécondation in vitro restent aujourd'hui encore modestes. L'un des challenge des praticiens de l'Assistance Médicale à la Procréation est donc de trouver des biomarqueurs permettant d'améliorer la sélection de l'embryon à replacer dans l'utérus maternel afin d'augmenter les chances de grossesse tout en limitant les risques de grossesses multiples.

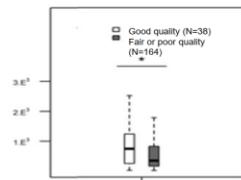
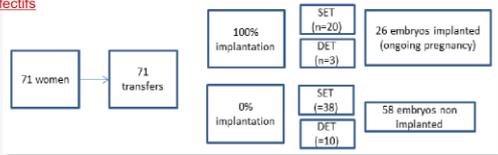


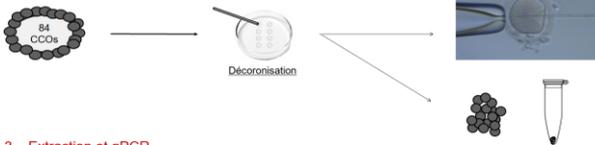
Figure 1.- Quantité d'ADNmt des cellules folliculaires en fonction de la qualité embryonnaire. D'après Desquiere Dumas et al. 2017

2-Material and Methods

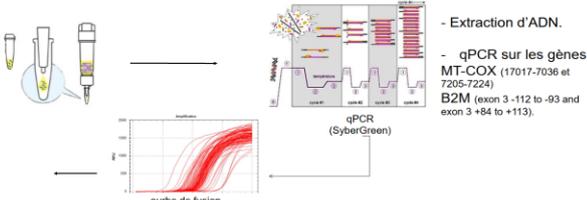
1 – Effectifs



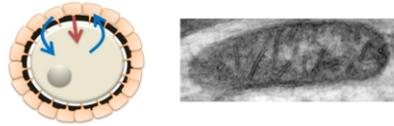
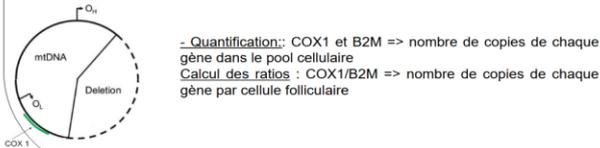
2 – Collecte des cumulus isolés



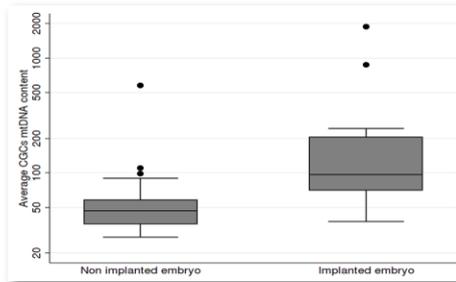
3 – Extraction et qPCR



4 – Quantification du taux d'ADNmt par cellule



3-RESULTS



	Overall embryos n=84	Implanted Embryos n=26	Non implanted Embryos n=58	Univariate analysis p value
mtDNA copy number per CGC	108 ± 226	215 ± 375	59 ± 72	<10 <sup>-4</sup>

Le nombre moyen de copies d'ADNmt (CN ADNmt) dans les CFs était significativement plus élevé dans le groupe «embryon implanté » par rapport au groupe « embryon non implanté » (**p <10<sup>-4</sup>**)

Par ailleurs, l'analyse statistique multivariée prenant en compte les facteurs identifiés dans l'étude comme ayant un lien avec les chances d'implantation ( AMH et taux d'ADNmt des CFs), ainsi que les facteurs habituellement reconnus comme étant liés à la qualité ovocytaire et aux chances d'implantation (age et qualité embryonnaire), ne montrait pas de différence significative entre les embryons implantés et non-implantés excepté pour le CN ADNmt des CFs.

4- CONCLUSION

Malgré un effectif modeste, l'importance de nos résultats met en évidence l'intérêt de la quantification de l'ADNmt dans les CGC en tant que biomarqueur du potentiel d'implantation des embryons.

La simplicité et la rapidité de la technique permettraient d'utiliser ce biomarqueur en pratique clinique de routine, sans avoir à congeler les embryons et à reporter le transfert. Ainsi, la teneur en ADNmt pourrait être facilement quantifiée dans les CGC au cours du développement embryonnaire in vitro afin de sélectionner et de transférer les embryons avec la plus forte teneur en ADNmt dans leurs cellules folliculaires correspondantes.

Des études plus vastes et prospectives seront nécessaires pour confirmer ces résultats préliminaires et avant d'envisager toute utilisation dans la pratique clinique.



**Année: 2017**

## Etude pilote de validation du diagnostic génétique des insuffisances ovariennes prématurée par séquençage d'exomes

**MISRAHI Micheline**

**REINER Veitia** - INSERM U 1193, Génétique des maladies métaboliques et de la reproduction, Université Paris Sud

Equipe Oncologie moléculaire et Pathologies Ovariennes, Institut Paris Diderot, 15 rue Hélène Brion, Paris Cedex 13

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est un syndrome observé chez la femme <40 ans (1% des femmes) aboutissant le plus souvent à une infertilité définitive, conduisant les femmes au don d'ovocyte ou à l'adoption. Il existe cependant des IOP fluctuantes avec fonction ovarienne réversible. Il peut donc persister un capital folliculaire méconnu. L'appréciation du capital folliculaire résiduel est un élément essentiel du pronostic et doit conduire à un conseil génétique et thérapeutique approprié. Les étiologies des IOP restent inconnues dans plus de 80% des cas. Les causes génétiques sont alors suspectées, estimées à ~30%.

Les équipes coordonnatrices de ce projet ont identifié des causes génétiques d'IOP, qu'il s'agisse de gènes impliqués dans la maturation folliculaire ou dans la méiose.

Il existe une très grande hétérogénéité génétique des IOP avec des progrès majeurs dans l'identification de nouveaux gènes responsables dus au séquençage nouvelle génération. Ceci permet actuellement de proposer un diagnostic génétique par l'analyse conjointe de tous les gènes connus, ~50 gènes. Toutefois le nombre de gènes impliqués ne cesse d'augmenter. Il n'existe pourtant aucun arbre décisionnel ni stratégie diagnostique établie.

Trois grands mécanismes peuvent être identifiés : une anomalie de l'établissement du capital folliculaire, augmentation de l'atrésie ou altération de la croissance folliculaire. Dans ce dernier cas l'identification de la cause pourrait permettre d'établir un pronostic pour la fertilité.

**Méthodologie :**

- Recruter de façon prospective 40 patientes avec IOP Isolée idiopathique, venant de 15 centres d'AMP, services de gynécologie ou d'endocrinologie en France.
- Effectuer un phénotypage complet des patientes avec bilan clinique, biologique et échographique ou IRM pelvienne. Eliminer les causes connues.
- Analyser des gènes responsables d'IOP par séquençage d'exomes suivie d'une analyse bioinformatique ciblée en deux temps : 1) étude de gènes validés comme responsable d'IOP avec incrémentation au fil du temps. La rapidité actuelle de découverte de nouveaux gènes responsables explique la méthodologie

d'étude pan-génomique choisie, permettant une analyse de nouveaux gènes candidats sélectionnés (90 gènes au total). La mise au point de la validation bioinformatique des résultats sera réalisée.

Résultats attendus :

- Préciser la proportion de patientes pouvant bénéficier d'un diagnostic génétique étiologique. (attendue > à 1/3 patientes). Ceci conduira au conseil génétique et à une prise en charge.
- Identifier de nouveaux gènes responsables d'IOP.
- Si des mutations sont identifiées, établir des corrélations génotype-phénotype pour réaliser une stratification en fonction de l'atteinte prédite de la réserve ovarienne.
- Effectuer des tests diagnostiques et un conseil génétique dans les familles.
- Proposer un arbre décisionnel et des recommandations pour l'étude génétique des IOP qui n'existent pas à l'heure actuelle.
- Estimer la proportion de patientes avec une cause génétique laissant suspecter la persistance d'une réserve ovarienne. Ceci conduirait à un conseil thérapeutique en définissant une sous population susceptible de bénéficier dans l'avenir d'un protocole de recherche thérapeutique pour préservation de la fertilité. En effet très récemment une activation in vitro de l'entrée en croissance du pool folliculaire a été obtenue pour des IOP.

## Résultats

Caburet, Sandrine, Abdelkader Heddar, Elodie Dardillac, Héléne Creux, Marie Lambert, Sébastien Messiaen, Sophie Tourpin, Gabriel Livera, Bernard S. Lopez, et Micheline Misrahi. 2021. « Homozygous Hypomorphic BRCA2 Variant in Primary Ovarian Insufficiency without Cancer or Fanconi Anaemia Trait ». *Journal of Medical Genetics* 58 (2): 125-34.

Heddar, Abdelkader, Cagri Ogur, Sabrina Da Costa, Inès Braham, Line Billaud-Rist, Necati Findikli, Claire Beneteau, et al. 2022. « Genetic landscape of a large cohort of Primary Ovarian Insufficiency: New genes and pathways and implications for personalized medicine ». *eBioMedicine* 84 (octobre): 104246. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104246>.

Poster

Etude pilote de validation du diagnostic génétique de l'insuffisance ovarienne prématurée par séquençage d'exomes

Abdelkader HEDDAR<sup>1</sup>, Baptiste FOUQUET<sup>1</sup>, Sandrine CABURET<sup>2</sup>, Hélène LETUR<sup>3</sup>, Jeannine OHL<sup>4</sup>, Joelle BELLAISH-ALLART<sup>5</sup>, Celia RAVEL<sup>6</sup>, Veronika GRZEGORCZYK MARTIN<sup>7</sup>, Anne MEYER<sup>8</sup>, Hélène CREUX<sup>9</sup>, Anne-Marie GUEDJ<sup>10</sup>, Aude BRAC<sup>11</sup>, Anne-Marie GUERROT<sup>12</sup>, Hervé FERNANDEZ<sup>1</sup>, HAMMAMAH Samir<sup>13</sup>, Isabelle CEDRIN<sup>14</sup>, Reiner A VEITIA<sup>2</sup> and Micheline MISRAHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GHU Paris Saclay, Hôpital Bicêtre AP-HP, 94275, Le Kremlin-Bicêtre. <sup>2</sup>Institut Jaques Monod, Université de Paris, 75001, Paris. <sup>3</sup>Institut Mutualiste Montsouris, 75014, Paris. <sup>4</sup>Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 67000, Strasbourg. <sup>5</sup>Centre Hospitalier des Quatre Villes, 92310, Saint Cloud. <sup>6</sup>Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS, 35000, Rennes. <sup>7</sup>Clinique Metilde, 76000, Rouen. <sup>8</sup>Centre Hospitalier Métropole Savoie, 73000 Chambéry. <sup>9</sup>CHU de Bordeaux, 33044 Bordeaux. <sup>10</sup>CHU de Nîmes, 30029, Nîmes. <sup>11</sup>Hospice civils de Lyon, 69002 Lyon. <sup>12</sup>CHU de Rouen, 76000, Rouen. <sup>13</sup>CHU de Montpellier, 34295 Montpellier. <sup>14</sup>GHU Paris Nord, Hôpital Bondy AP-HP, 93140, Bondy Contact : Micheline.misrahi@aphp.fr

INTRODUCTION

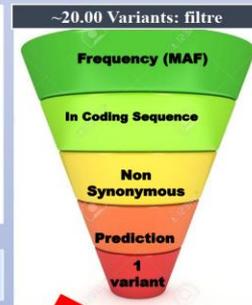
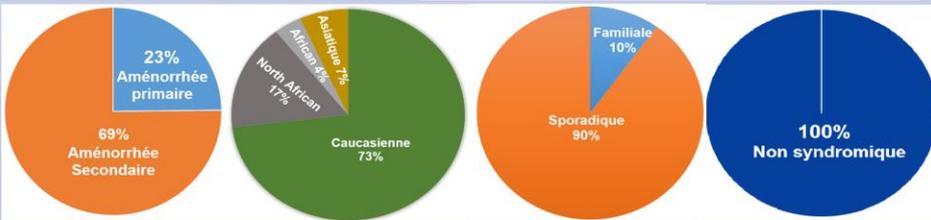
L'insuffisance ovarienne primitive (IOP) est un syndrome observé chez 1% des femmes <40 ans. Il s'agit donc d'un problème de santé publique. Les étiologies des IOP sont multiples. Cependant et malgré une recherche exhaustive 70-80% des causes de l'IOP sont indéterminées. Le développement récent des connaissances génétiques obtenues en particulier par le séquençage d'exome a permis d'identifier des nouvelles causes génétiques et plus de 80 gènes sont connus à ce jour. Cependant chaque gène est identifié dans une ou deux familles ce qui souligne la très forte hétérogénéité génétique de cette pathologie. Il n'existe pourtant aucun arbre décisionnel ni stratégie diagnostique établie. L'objectif de cette étude pilote était de (1) Préciser la proportion de patientes pouvant bénéficier d'un diagnostic génétique étiologique. Ceci conduira au conseil génétique et à une médecine personnalisée. (2) Identifier de nouveaux gènes responsables d'IOP. (3) Etablir des corrélations génotype-phénotype et prédire la persistance ou non d'une réserve ovarienne. (4) Proposer un arbre décisionnel et des recommandations pour l'étude génétique des IOP.

PATIENTS ET METHODES

- Cohorte de patientes-

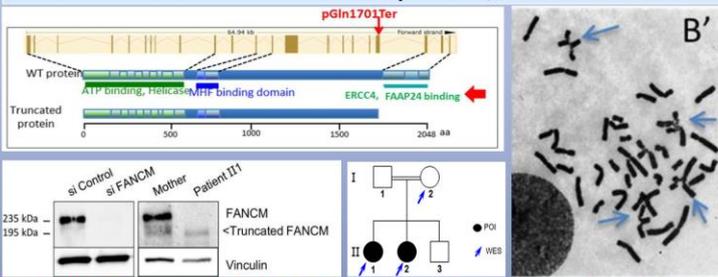
N= 40 patientes | FSH >25 UI/l | FMR1 normal et 46,XX

- Séquençage de l'Exome -

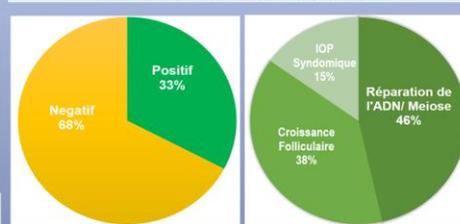


RESULTATS ET DISCUSSION

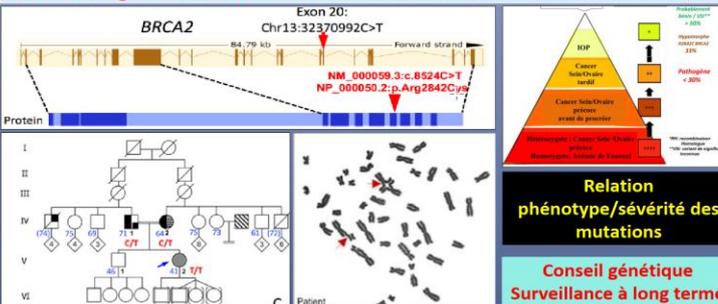
1) Première implication d'un gène de la voie Fanconi, *FANCM*, dans une IOP isolée - Fouquet et al., eLife 2018 -



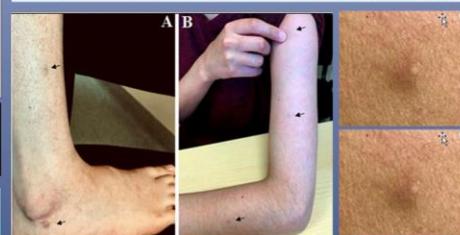
- Rendement diagnostique 33%-



2) Mutation homozygote de *BRCA2*, un gène majeur du cancer du sein et ovaire à l'origine d'une IOP isolée- Caburet, Heddar, et al., J Med Genet 2020



3) Mutation homozygote de *MCM8* à l'origine IOP et tumeurs cutanées - Heddar et al., J Clin Endocrinol Metab 2020



CONCLUSION

➤ Notre étude Pilote montre que :

- Le rendement du diagnostic étiologique génétique est de 33 %.
- Dans 15% des cas, une comorbidité non-diagnostiquée est associée.

➤ Au total :

- Toute patiente avec IOP doit bénéficier d'un diagnostic génétique.

➤ Ce diagnostic génétique permet :

- Une prise en charge personnalisée en fonction de la physiopathologie
- Une détection/prévention de comorbidités.
- Une prédiction de l'état de la réserve ovarienne en fonction de la cause, en vue d'une préservation de la fertilité ou de nouvelles techniques d'activation folliculaire in vitro (IVA) dans le futur
- Une Surveillance à long terme, dans une équipe multidisciplinaire

Année: 2017

## Contribution des protéines BAF, BAF-L et Lamine B3 au remodelage du noyau spermatique avant et après la fécondation

MITCHELL Michael - GMGF UMR 910

Marseille

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les études soutiennent que la lamina nucléaire (LN) joue un rôle central dans le remodelage du noyau de spermatozoïde au cours de la spermiogénèse et constitue donc un déterminant important de la qualité des gamètes. Notre étude de la LN dans les spermatides au cours de la spermiogénèse humaine montre qu'elle est composée des lamines B1, B2 et un isoforme B3 spécifique aux spermatides, B1 et B3 étant retenues dans les spermatozoïdes éjaculés. Nous avons montré que la lamine B3 est capable de déformer l'enveloppe nucléaire, propriété qui pourrait être vitale pour le remodelage des spermatides (Elkhatib et al., 2015). L'évacuation de la LN du noyau de la spermatide dans le sens antéro-postérieur est coordonnée avec l'étalement de l'acrosome et l'élimination des histones. Dans les cellules somatiques, la LN forme des liaisons avec la chromatine par l'intermédiaire de protéines à domaine-LEM qui interagissent avec la protéine de chromatine BAF. BAF est nécessaire pour le réassemblage de la membrane nucléaire, et a un paralogue spécifique aux spermatides BAF-L. Nous avons trouvé BAF et BAF-L dans des spermatides allongées et des spermatozoïdes éjaculés, ce qui suggère qu'ils pourraient jouer un rôle clé dans le remodelage du noyau spermatique avant et après la fécondation. Notre objectif global est d'étudier la contribution de BAF, BAF-L et lamine B3 au remodelage du spermatozoïde au cours de la spermiogénèse et dans le cytoplasme ovocytaire après la fécondation, et à évaluer leur utilisation comme biomarqueurs de la qualité des gamètes. Nous étudierons les effets de l'absence de BAF-L et de lamine B3 en créant des souris knock-out par CRISPR-Cas9. Nous anticipons un phénotype limité à la spermiogénèse, basé sur l'expression prédominante dans les spermatides de BAF-L et de lamine B3. Nous définirons la fertilité, la spermiogénèse et la qualité des gamètes (morphologie, chromatine, motilité, marqueurs LN) chez la souris sans lamine B3 ou BAF-L. Des gamètes produits seront testés par fécondation in vitro, ou microinjection dans les ovocytes, pour leur capacité à donner un pronucléus mâle. Nous définirons également des protéines qui interagissent avec BAF-L et BAF dans les spermatozoïdes, par co-IP avec des protéines candidates identifiées lors de nos études préliminaires. Enfin, par immunofluorescence, western blot et RT-PCR, nous étudierons les variations d'expression de ces biomarqueurs potentiels (persistance, augmentation ou diminution) entre les spermatozoïdes non sélectionnés et sélectionnés chez les hommes normospermiques (n = 25). Ces résultats seront analysés pour évaluer la relation entre chaque marqueur et la qualité des gamètes. Ainsi nous définirons les rôles de BAF, BAF-L et lamine B3 à travers la caractérisation de complexes protéiques, ce qui permettra d'identifier de nouveaux facteurs déterminants pour la fonction du spermatozoïde.

[Retour tableau](#)

**Année: 2017**

## Développement d'un outil d'aide à la décision en oncofertilité pour les jeunes femmes atteintes d'un cancer du sein

**MOUTEL Grégoire - UMR 1086**

Caen

[Retour tableau](#)

### Résumé

La fertilité représente un enjeu majeur pour de nombreuses jeunes femmes atteintes de cancer du sein. Dans cette situation, il est admis que la mise en différé du projet de grossesse, durant laquelle le vieillissement ovarien physiologique se poursuit, et associée aux effets de la chimiothérapie peuvent avoir un impact négatif sur la fertilité future. La consultation d'oncofertilité doit être organisée idéalement avant l'initiation d'un traitement potentiellement gonadotoxique, et donc rapidement après le diagnostic de cancer. Les patientes doivent donc prendre une décision urgente et complexe ; la difficulté pour elles étant de se projeter dans un désir d'enfant immédiatement après l'annonce d'une maladie potentiellement mortelle.

Ce projet vise à développer un outil d'aide à la décision en ligne pour la préservation de la fertilité (PF) et à évaluer son efficacité lorsqu'il est intégré dans le parcours de soins du cancer, au moment du diagnostic et de la planification du traitement.

Cette étude multicentrique sera menée grâce à la collaboration d'un département de Médecine de la Reproduction, de 5 cliniques d'oncologie et d'une équipe spécialisée sur les questions d'éthique en santé et les questions de santé publique en cancérologie.

Elle a pour objectifs :

1. Une évaluation des besoins d'information sur la fertilité future de ces jeunes femmes => Construction de 2 « focus groups » :
  - Un « focus group » de 5 patientes ayant préservé leur fertilité dans un contexte de cancer du sein,
  - Un « focus group » de 5 spécialistes de la fertilité.
2. Le développement d'un outil d'aide à la décision sur une plateforme numérique à partir des besoins des patientes identifiées précédemment.
3. La mesure de l'efficacité de cet outil à l'aide d'une étude prospective randomisée, multicentrique. Cent cinquante jeunes femmes atteintes de cancer du sein, âgées de 18 à 40 ans seront randomisées en 2 groupe : accès à l'outil d'aide à la décision en ligne versus information écrite standard. L'objectif de cette étape est d'évaluer l'impact des modalités de diffusion de l'information sur les critères suivants : acceptation de la prise en charge, niveau de conflit décisionnel, mesure des connaissances et de l'anxiété.

Nous pensons que l'outil d'aide à la décision améliorera le processus de prise de décision en :

- réduisant le nombre de jeunes femmes qui ne savent pas quoi faire,
- accroissant les connaissances de ces jeunes femmes au sujet de l'infertilité, des options de PF et des résultats,
- réduisant les conflits de décision et les facteurs contribuant aux conflits décisionnels,
- augmentant la participation des jeunes femmes à la prise de décision sans nuire à l'anxiété.

Les résultats de ce projet de recherche permettront donc aux spécialistes de la fertilité et aux professionnels du cancer d'optimiser la prise en charge globale de ces jeunes femmes en leur proposant un outil d'aide à la décision de qualité, pour les guider dans les choix possibles concernant la PF.

## Résultats

Benoit, Alexandra, Michael Grynberg, Rémy Morello, Nathalie Sermondade, Guillaume Grandazzi, et Grégoire Moutel. 2020. « Does a web-based decision aid improve informed choice for fertility preservation in women with breast cancer (DECISIF)? Study protocol for a randomised controlled trial ». *BMJ Open* 10 (2).

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## L'AMH, une promesse pour la préservation de la fertilité chez la femme jeune atteinte de cancer du sein

**BEAU Isabelle** - Signalisation Hormonale, Physiopathologie Endocrinienne et Métabolique - UMRS 1185 - Le Kremlin Bicêtre

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les progrès thérapeutiques en oncologie et le dépistage précoce ont considérablement augmenté les taux de survie des jeunes patientes atteintes de cancer du sein au prix de traitements délétères pour la fonction de reproduction. Or, la fertilité tient une place majeure dans la qualité de vie après le cancer chez les patientes guéries et en âge de procréer. La préservation de la fertilité est donc devenue un enjeu majeur dans la prise en charge de ces patientes.

Chez la femme, le stock de cellules germinales est défini tôt dans la vie embryonnaire et ne cesse de décroître jusqu'à la ménopause. Il est régulé par des facteurs activant l'initiation de la croissance folliculaire et ceux inhibant cette entrée en croissance, comme l'Hormone Anti-Müllérienne (AMH). Cette hormone est sécrétée par les cellules de la granulosa entourant les petits follicules qui ont débuté leur croissance. Elle est considérée aujourd'hui comme un des meilleurs marqueurs indirects de la réserve ovarienne. La chimiothérapie entraîne une entrée en croissance massive des follicules primordiaux ce qui se traduit par une baisse considérable du stock ovocytaire et donc une altération de la fertilité. Elle agirait directement sur les follicules constituant le stock ovocytaire et/ou sur les petits follicules en croissance sécrétant l'AMH.

Etayée par des résultats préliminaires originaux, notre hypothèse est que l'AMH pourrait exercer un effet protecteur sur l'action du cyclophosphamide utilisé couramment dans le traitement du cancer du sein. Ce projet vise à mieux évaluer cet effet et à élucider son mécanisme d'action sur le stock des follicules de réserve en utilisant un modèle de souris.

Notre premier objectif sera d'évaluer la réserve par comptage des différentes catégories de follicules. Nous développons actuellement une technique innovante de comptage folliculaire automatisé (« deep-learning ») pour gagner en performance et en fiabilité. Nous explorerons les effets à long terme d'un traitement concomitant de cyclophosphamide et d'AMH sur les capacités de reproduction du modèle. Plusieurs critères seront évalués : les cycles oestriens, la fertilité des souris, la réserve ovarienne et enfin l'analyse histologique des ovaires et le comptage exhaustif des follicules. Par ailleurs, les voies de signalisation impliquées dans le contrôle de l'entrée en croissance des follicules primordiaux par l'AMH seront explorées.

Ce projet permettra de mieux comprendre les mécanismes d'atteinte de la fonction ovarienne lors des chimiothérapies ainsi que les facteurs protégeant la gonadotoxicité. Si le traitement avec l'AMH s'avère efficace, il pourrait être administré chez la femme pour limiter la perte folliculaire consécutive à la chimiothérapie. L'AMH pourrait ainsi constituer une nouvelle option dans l'arsenal thérapeutique de la préservation de la fertilité féminine.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Impact d'un traitement par rayonnement ionisant sur la structure nucléaire des spermatozoïdes humains

**BRUGNON Florence** - Laboratoire de Biologie de la Reproduction, AMP-CECOS

pôle FFE, CHU Clermont-Ferrand, Hopital Estaing

[Retour tableau](#)

### Résumé

Notre objectif principal est de mesurer in vitro l'impact d'un traitement par rayonnement ionisant sur la qualité nucléaire spermatique et notamment la taille des télomères en comparaison avec les effets d'une cryopréservation. A cette fin, nous exposerons des spermatozoïdes humains éjaculés (n=90) à différentes doses d'irradiation délivrées par des photons gamma ou X afin de mimer l'irradiation des gonades et des spermatozoïdes dans le cadre d'une exposition à une faible dose et une moyenne dose. Toutes les mesures se feront à partir de reliquats de sperme éjaculé issus de prélèvements de patients suivis dans le laboratoire de BDR dans le cadre de leur prise lors d'un examen spermiologique après informations et signature d'un consentement éclairé. Un même prélèvement sera subdivisé en 3 bras afin d'analyser la qualité spermatique après :

- un traitement par rayonnement ionisant
- un cycle de congélation et décongélation
- à l'état frais : contrôle négatif sans traitement

Avant (état frais) et après chaque traitement (ionisation/congélation-décongélation) seront analysés :

- la taille des télomères par Flow FISH, q-PCR et q-FISH
- les paramètres spermatiques standards selon les recommandations de l'OMS, 2010
- la condensation chromatinienne (chromomycine A3),
- l'oxydation de l'ADN (résidus 8-OHdG)
- la fragmentation de l'ADN (TUNEL)
- la structure 3D des noyaux spermatiques.

Notre étude permettra, pour la première fois, de caractériser de manière quantitative l'impact de la cryopréservation et du traitement par rayonnement ionisant sur la qualité télomérique spermatique et la structure du noyau.

A ce jour, aucune étude ne s'est intéressée à l'impact de ce type d'irradiations sur la qualité nucléaire des spermatozoïdes humains et particulièrement sur la taille des télomères. Cette étude permettra de mieux définir le seuil de pathogénicité du rayonnement ionisant sur la fertilité masculine et les indications de préservation de fertilité de patients devant subir ce traitement. En parallèle nous déterminerons l'impact de la cryoconservation sur la structure nucléaire et la taille télomères des spermatozoïdes humains. Ce projet permettra enfin la mise au point et la validation d'une technique innovante adaptée à notre pratique hospitalière pour l'étude de la taille des télomères des spermatozoïdes humains, en comparaison de 2 techniques de référence : la qPCR et la q-FISH. Notre objectif final est d'offrir une amélioration significative du diagnostic de la fertilité masculine et d'optimiser nos pratiques de préservation de la fertilité.

[Retour tableau](#)



**Année: 2018**

## Mesure de l'activité biologique de l'hormone anti-Müllérienne : vers une meilleure prise en charge des femmes en AMP

**DI CLEMENTE RENAULD BESSE Nathalie** - INSERM UMRS938 - Equipe "Lypodystrophies génétiques et acquises" - Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'hormone anti-Müllérienne (AMH) est exprimée chez la femelle depuis le début de la folliculogénèse jusqu'à la ménopause par les cellules de la granulosa des follicules en croissance dont elle inhibe le recrutement et la maturation. L'AMH est une molécule de 140kDa, qui doit être clivée pour libérer sa partie C-terminale active, les fragments N- et C-terminaux étant présents soit sous une forme libre soit associés dans un complexe non covalent. Le dosage de l'AMH s'est beaucoup développé dans les services de médecine de la reproduction car de nombreuses équipes ont montré que la mesure de l'AMH sérique était un outil diagnostique et pronostique fiable en AMP. Cependant, en dépit des avancées apportées par le dosage d'AMH sérique, certaines patientes présentent des réponses ovariennes paradoxalement insuffisantes ou excessives. Une explication pourrait être que tous ces dosages y compris le plus couramment utilisé, l'AMH GenII (Beckman-Coulter) et ceux qui sont automatisés, dosent à la fois l'AMH non clivée et l'AMH clivée et que la mesure de la concentration d'AMH par ces dosages commerciaux ne soit pas un bon reflet de son activité biologique. De plus, plusieurs études suggèrent que l'obésité, l'insulino-résistance et différents paramètres métaboliques, qui ne font pas partie du bilan de fertilité, pourraient également réguler l'AMH.

L'objectif primaire de ce projet est d'étudier le lien entre l'AMH bioactive dans le sérum et le syndrome métabolique afin de mieux personnaliser la prise en charge des femmes devant suivre des traitements de stimulation afin de mieux personnaliser la prise en charge des femmes devant suivre des traitements de stimulation ovarienne, et de limiter ainsi des réponses ovariennes insuffisantes ou excessives. Nous utiliserons pour cela un test de détection de l'AMH bioactive sur plaque basé sur la capacité de l'AMH à se fixer sur son récepteur spécifique que nous avons mis au point qui a été breveté. Nous étudierons le lien entre AMH bioactive et syndrome métabolique sur une cohorte de 750 patientes consultant en AMP en cours d'établissement, et faisant l'objet d'un PHRC obtenu par notre groupe pour étudier l'environnement préconceptionnel dans la prise en charge du couple infertile.

### Résultats

Clemente, Nathalie di, Chrystèle Racine, Alice Pierre, et Joëlle Taieb. 2021. « Anti-Müllerian Hormone in Female Reproduction ». *Endocrine Reviews* 42 (6): 753-82.

Clemente, Nathalie di, Chrystèle Racine, et Rodolfo A. Rey. 2022. « Anti-Müllerian Hormone and Polycystic Ovary Syndrome in Women and Its Male Equivalent ». *Biomedicine* 10 (10): 2506.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Effets du bisphénol S sur la qualité de l'ovocyte et sur les fonctions des cellules folliculaires ovariennes

**ELIS Sébastien** - INRA Centre Val de Loire, UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements

UMR 0085 - Nouzilly

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le bisphénol A (BPA), utilisé dans les contenants alimentaires, a des effets délétères sur la fonction reproductive des mâles et des femelles. Le BPA a été interdit en France (Loi n°2012-1442) dans les biberons et l'industrie agro-alimentaire (substance présumée toxique pour la reproduction humaine (R1B) par l'agence chimique européenne (ECHA ; 2014)). De nouveaux analogues du BPA, dont le bisphénol S (BPS), ont émergé. Il est important d'étudier les effets du BPS chez l'humain, avant que l'exposition environnementale du BPS augmente (stabilité supérieure à celle du BPA dans l'environnement). Les données obtenues chez les rongeurs et les poissons suggèrent que les 2 molécules (BPA et BPS) ont des effets similaires. Par ailleurs, le métabolisme, notamment lipidique, affecte de façon importante le fonctionnement des cellules ovariennes et la qualité de l'ovocyte. Un statut métabolique exacerbé peut entraîner une plus grande sensibilité des complexes ovocytescumulus, en effet ces cellules sont capables d'incorporer rapidement des concentrations excessives d'acides gras pour protéger l'ovocyte des effets lipotoxiques des lipides.

Ce projet vise à étudier comment le BPS affecte la physiologie ovarienne chez l'humain et en utilisant un modèle de brebis. En effet, le modèle ovin est plus proche de l'homme, en terme de métabolisme et de reproduction, qu'un modèle rongeur (résistant aux BPA et S). Ce projet visera également à étudier l'interaction entre le statut métabolique de l'individu et la sensibilité des cellules aux effets du BPS. L'originalité de ce projet repose dans l'étude des effets du BPS dans les cellules humaines disponibles, et dans un modèle brebis permettant de mener l'étude à des stades sensibles du développement (follicules et ovocytes adultes, embryon précoce, jeunes femelles exposées in utero). Elle repose également sur la question de l'interaction avec le statut métabolique de l'individu.

Ces effets ovariens du BPS seront étudiés chez l'humain, sur les fonctions des cellules de granulosa des femmes (prolifération et stéroïdogénèse) subissant une FIV (CHRU Tours). Les niveaux de bisphénols mesurés dans les liquides folliculaires des patientes permettront de prendre en compte leur exposition préalable. Les données cliniques (notamment l'indice de masse corporelle, IMC) permettront de prendre en compte leur statut métabolique. Ces données (niveau de BPS et IMC) permettront d'analyser l'impact du BPS sur la réussite de la FIV et l'impact du statut métabolique de la patiente sur la sensibilité de ces cellules ovariennes aux effets du BPS. Les effets ovariens du BPS seront également étudiés chez la brebis, sur les fonctions des cellules de granulosa et sur la qualité de l'ovocyte, à partir d'ovaires d'abattoirs. Deux dispositifs expérimentaux in vivo seront complémentaires à ces approches, afin d'étudier les effets d'une exposition prolongée au BPS sur la qualité de l'ovocyte chez l'adulte puis sur la folliculogénèse foetale, chez l'ovine.

## Résultats

Amar, Sarah, Aurélien Binet, Ophélie Tétéau, Alice Desmarchais, Pascal Papillier, Marlène Z. Lacroix, Virginie Maillard, Fabrice Guérif, et Sébastien Elis. 2020. « Bisphenol S Impaired Human Granulosa Cell Steroidogenesis in Vitro ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (5).

Desmarchais, Alice, Ophélie Tétéau, Nathalie Kasal-Hoc, Juliette Cognié, Olivier Lasserre, Pascal Papillier, Marlène Lacroix, et al. 2022. « Chronic Low BPS Exposure through Diet Impairs in Vitro Embryo Production Parameters According to Metabolic Status in the Ewe ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 229 (janvier): 113096.

Tétéau, Ophélie, Manon Jaubert, Alice Desmarchais, Pascal Papillier, Aurélien Binet, Virginie Maillard, et Sébastien Elis. 2020. « Bisphenol A and S Impaired Ovine Granulosa Cell Steroidogenesis ». *Reproduction* 159 (5): 571-83.

Togola, A, A Desmarchais, O Tétéau, C Vignault, V Maillard, C Buron, S Bristeau, F Guérif, A Binet, et S Elis. 2021. « Bisphenol S is present in culture media used for ART and cell culture ». *Human Reproduction* 36 (4): 1032-42.



# Bisphenols are present in culture media and consumables used for ART

C. VIGNAULT<sup>1,3</sup>, A. Togola<sup>2</sup>, A. Desmarchais<sup>2</sup>, O. Tétreau<sup>2</sup>, V. Maillard<sup>2</sup>, S. Bristeau<sup>2</sup>, A. Binet<sup>1,4</sup>, F. Guérif<sup>1,3</sup>, S. Ellis<sup>1</sup>

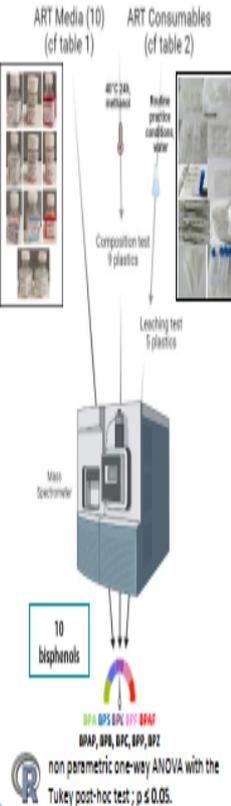
<sup>1</sup>Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHRU Tours; <sup>2</sup>BRGM, 3 Avenue C. Guillemin, BP 36029, 45002 Orléans Cedex 2, France; <sup>3</sup>CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PMC, F-37380, Nouilly; <sup>4</sup>Service de Chirurgie pédiatrique vicérale, urologique, plastique et brûlés, CHRU Tours. [claire.vignault@inrae.fr](mailto:claire.vignault@inrae.fr)



## INTRODUCTION

The deleterious effect of the endocrine disruptor bisphenol A (BPA) on female fertility raised concerns regarding ART outcome. Previous studies reported positive correlations between the outcome of IVF and embryo transfer and the levels of pollutants in female follicular fluids [1-3]. Regarding these results, the aim of this study was to assess different bisphenols (BP) in plastic laboratory consumables and cell culture media used in human ART.

## METHODS



## RESULTS

Table 1 : Measured concentrations in 10 media :

Product type	Name	Reference number	Bisphenols: mean ± SEM (ng/L)				
			BPA	BPS	BPE	BPF	BPAF
Oocyte retrieval, holding and washing media	Synvotflash, Origio®	15040121A	0	0	0	0	0
	Flushing medium, Origio®	10040060A	5 ± 0,7	446 ± 11,3	20 ± 0,7	15 ± 1,1	0
Sperm preparation	Gradient 4000, Origio®	04022060A	0	67 ± 2,1	0	0	0
<i>In vitro</i> embryo culture media	Sequential Fert, Origio®	03010060A	0	0	0	0	0
	Universal IVF medium, Origio®	10310060A	0	750 ± 41,1	18 ± 1,0	20 ± 2,6	10 ± 0,3
	SAGE 1-step, Origio®	67010010A	12 (1)	338 ± 39,4	17 ± 1,4	9 ± 2,2	11 (1)
	Sequential Clean, Origio®	03040010A	18 ± 1,1	179 ± 7,1	7 ± 2,3	8 ± 2,1	7 ± 0,8
	Sequential Blast, Origio®	03060010A	4 ± 1,1	187 ± 35,4	0	3 ± 0,8	5 ± 0,1
	Global, LifeGlobal®	LGCG-020	0	10 ± 0,2	0	0	0
	Global with HEPES, LifeGlobal®	LGGE-020	0	5 ± 0,1	0	0	0

5 different types of bisphenols were detected in those 10 media. BPS was the main bisphenol detected in the cell culture media assessed. The minimal concentration is 3,6 ng/L for BPA and reached to 750,4 ng/L for the BPS.

Table 2 : Presence of BPs in 9 plastics consumables with methanol :

Product type	Bisphenols: mean ± SEM (ng/L)		
	BPA	BPS	BPAF
15 ml tubes, Falcon BD Biosciences®	108±101	4±1	45±14
1.5 ml tubes, Eppendorf®	65±8	8±4	7±1
Tips, Fisher scientific® and Gilson®	736±303	85±5	52±19
Plates for cell culture, Thermo scientific®	31(1)	4±2	54±16
Flask for cell culture, Falcon BD Biosciences®	57±36	5±2	195±108
Culture medium bottles, Origio®	32±24	712±1205	229±35
Plastic dishes for oocyte collection, Thermo scientific®	99±80	7±1	16±11
Plastic dishes for oocyte maturation / embryo culture, Thermo scientific® and Vitrolife®	34±15	4±2	11±2
Tubes for embryo cryopreservation, Thermo scientific®	87±67	4±2	9±2

The composition test shows 3 different types of bisphenols in each of this 9 plastics consumables. Under routine practice no quantification of bisphenols, neither in leaching water nor in controls, was reported.

## CONCLUSION AND PERSPECTIVES

Different BP are already reported to impair oocyte quality and disturbed steroidogenic activity. We showed that up to 5 different BP were in a single medium. BPS is the main bisphenol found in culture media with a range of concentration of 5 to 750 ng/L (0,02 to 3 nM). Also three different BP are found in all the plastic consumables used in ART but none under routine conditions. Its presence in both ART media and plastics consumables could contribute to a decrease in the ART success rate. Further studies are required to investigate a greater number of ART media to identify the safe ones in terms of bisphenol abundance and consequences on female and male gametes quality and ART success.

References : 1. Tétreau, O. et al. *Reprod.* 2020 ; 2. Desmarchais, A. et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2020 ; 3. Amar, S., et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2020.

Fundings and acknowledgment : This study was financially supported by the "Centre-Val de Loire" Region (Bemol project, APR IR 2017), INRAE, BRGM, the French National Research Agency (project ANR-19-CE34-0011-01 MAMBO) and the BioMedicine Agency (Project 18AMPO06 FertilPhenol).

**Année: 2018**

## Caractérisation des Cellules Souches Germinales dans les biopsies testiculaires d'enfants prépubères

**FOUCHET Pierre** - Institut de Radiobiologie Cellulaire et Moléculaire/Laboratoire de recherche sur la Réparation et la Transcription dans les cellules Souches, Fontenay aux Roses

[Retour tableau](#)

### Résumé

Chez les patients atteints de cancer dont les enfants prépubères, un des effets secondaires majeurs des chimiothérapies/radiothérapies est l'atteinte du stock de cellules souches germinales (CSGs) et les problèmes d'infertilité qui en découlent. Après traitement d'un cancer dans l'enfance, 1 homme sur 3 présentera des troubles irréversibles de fertilité. Des solutions thérapeutiques à ces troubles sont maintenant envisagées telles que la transplantation autologue de CSG prépubères obtenues à partir de biopsies testiculaires cryoconservées, et nécessitent la caractérisation de ces cellules. Nous avons récemment obtenu l'autorisation d'effectuer des recherches sur des fragments de pulpe testiculaire de patients prépubères. Ces prélèvements sont réalisés dans un contexte de préservation de la fertilité chez des garçons devant recevoir un traitement gonadotoxique (Agrément CPP Sudest2- Protocole GERMCELL 2016-A01824-47).

Notre projet de recherche vise à caractériser les CSGs humaines des patients prépubères afin d'évaluer leur potentiel de régénération. Pour cela, nous avons développé des outils méthodologiques (marqueur phénotypique, transplantation, culture in vitro à court terme) permettant d'étudier et d'évaluer le potentiel des CSGs humaines, ces résultats émanant d'un projet mené ces dernières années sur la caractérisation des CSGs chez les patients adultes. Nous chercherons notamment à déterminer le phénotype des CSGs prépubères en terme de marqueur cellulaire, de potentiel à former des colonies germinales in vitro et in vivo après transplantation dans des testicules de souris immunodéficientes. Une fois la population contenant les CSGs prépubères identifiée, nous réaliserons une analyse transcriptomique. Nous générerons le profil transcriptionnel par RNAseq de cette population. L'étude des mécanismes moléculaires régulant la physiologie des CSGs prépubères devrait contribuer à développer des conditions de culture soutenant l'expansion in vitro de ces cellules, qui est une étape clé pour leur utilisation potentielle en thérapie cellulaire. Nous chercherons ainsi à développer un système de culture in vitro à long terme des CSGs prépubères humaines et à étudier le rôle potentiel de l'hypoxie dans la maintenance de ces cellules. Enfin, nous proposons de développer en parallèle un modèle de xéno greffe de tissu testiculaire prépubère humain dans des testicules de souris immunodéficientes, afin d'élaborer un modèle d'étude des CSGs prépubères in vivo. Le développement d'un modèle de xéno greffe permettrait à terme d'étudier les effets des thérapies/conditionnements utilisés (irradiation/chimiothérapie) sur les CSGs et le microenvironnement testiculaire, qui régule leur destin cellulaire, afin d'améliorer et de minimiser les effets secondaires. Un objectif de ce projet est la mise au point d'un système fiable et reproductible d'isolement, d'amplification, et de conservation des CSGs humaines prépubères.

### Résultats

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). <https://doi.org/10.3390/ijms20225773>.

Gille, Anne-Sophie, Corinne Pondarré, Jean-Hugues Dalle, Françoise Bernaudin, Céline Chalas, Mony Fahd, Camille Jean, et al. 2021. « Hydroxyurea does not affect the spermatogonial pool in prepubertal patients with sickle cell disease ». Blood 137 (6): 856-59.

Givelet, Maelle, Virginie Firlej, Bruno Lassalle, Anne Sophie Gille, Clementine Lapoujade, Isabelle Holtzman, Amandine Jarysta, et al. 2022. « Transcriptional profiling of  $\beta$ -2M-SP $\alpha$ -6+THY1+ spermatogonial stem cells in human spermatogenesis ». Stem Cell Reports 17 (4): 936-52.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Dépistage et diagnostic de l'absence de canaux déférents chez les hommes de couples consultant pour infécondité.

**HAMDI Safouane** - Groupe de Recherche en Fertilité Humaine

EA 3694

Hôpital Paule de Viguié , Toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'absence des canaux déférents chez l'homme peut être bilatérale (ABCD) ou unilatérale (AUCD). La prévalence de l'ABCD, le risque de mutations de CFTR et d'absence unilatérale de rein sont connus. Son diagnostic chez l'homme infécond et la prise en charge en AMP du couple concerné sont bien éprouvés. Ce n'est pas le cas pour l'AUCD où la problématique est double : i)- il y a un réel déficit de connaissances concernant les risques CFTR et rénal associés, en raison notamment de la faible taille des séries rapportées ; ii)- la variabilité des tableaux spermatiques des patients ABCD est importante (azoo/oligo/normozoospermie) et nous amène à poser l'hypothèse qu'avec les pratiques actuelles, l'ABCD est sous-diagnostiquée malgré une prévalence estimée à 1% des hommes inféconds. Cette double problématique implique de réévaluer le risque CFTR et rénal dans le cadre de l'AMP et l'enjeu de cette réévaluation réside dans l'amélioration des pratiques diagnostiques de l'AUCD chez les hommes des couples consultant pour infécondité. Au regard de la littérature et de l'expérience du centre, nous proposons une seconde hypothèse : pour améliorer le diagnostic de l'AUCD, il serait possible de sélectionner une population à risque accru par une procédure de dépistage basée sur une combinaison de signes d'appel cliniques et biologiques. Cette population se verrait alors proposée une échographie pour rechercher une anomalie des canaux déférents.

Pour explorer ces deux hypothèses, nous proposons une étude qui relève du thème n°2 « Sécurité et qualité des pratiques ». Son objectif principal est d'identifier les paramètres cliniques et paracliniques spécifiques de patients AUCD confirmés.

L'objectif secondaire est l'exploration de facteurs prédictifs potentiels pour le dépistage de l'AUCD.

Il s'agira d'une étude monocentrique observationnelle avec inclusion rétrospective des sujets. A partir d'une file active de 10000 dossiers du Centre d'infertilité masculine du CHU de Toulouse, nous prévoyons l'extraction de 100 patients AUCD confirmés. Ils seront comparés à deux groupes contrôles : 100 patients ABCD et 1000 patients normozoospermes pour identifier les variables statistiquement spécifiques de l'AUCD. Ces variables et le raisonnement clinique permettront de proposer des facteurs prédictifs potentiels qui seront à leur tour explorés par des méthodes statistiques adaptées (validation interne).

Les retombées sont :

- i)-une meilleure compréhension de la physiopathologie des anomalies des canaux déférents,
- ii)-confirmer le sousdiagnostic des AUCD et améliorer l'efficacité de leur diagnostic en proposant une étape de dépistage préalable,
- iii)-sécuriser les pratiques d'AMP en tenant compte de risques CFTR muté et rénal sousévalués dans l'intérêt du patient, du couple et de l'enfant à venir.

Ce projet sert de pilote pour une étude de plus grande envergure, prospective et multicentrique, qui permettrait de valider le dépistage des AUCD (validation externe). 2994 caractères

## Résultats

Brusq, Clara, Roger Mieusset, et Safouane M. Hamdi. 2022. « Development of a Multivariable Prediction Model for Congenital Unilateral Absence of the Vas Deferens in Male Partners of Infertile Couples ». *Andrology* 10 (2): 262-69. <https://doi.org/10.1111/andr.13106>.

Mieusset, Roger, Eric Bieth, Myriam Daudin, Francois Isus, Boris Delaunay, Louis Bujan, Laetitia Monteil, Isabelle Fauquet, Eric Huyghe, et Safouane M. Hamdi. 2020. « Male Partners of Infertile Couples with Congenital Unilateral Absence of the Vas Deferens Are Mainly Non-Azoospermic ». *Andrology* 8 (3): 645-53. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/andr.12749>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Assistance médicale à la procréation, grossesses multiples et risque d'anomalies de fermeture du tube neural : études en population

**KHOSHNOOD Babak** - INSERM U1153, Equipe EPOPé, Maternité de Port Royal - Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs:** 1) Estimer le risque de survenue d'une anomalie de fermeture du tube neural (AFTN) associé à différentes méthodes d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP), pour l'ensemble des AFTN ainsi que pour les anencéphalies et les spina bifidas séparément ; 2) Evaluer l'effet des grossesses multiples dans l'éventuelle association entre AMP et risque d'AFTN; 3) Etudier l'impact de la conception par AMP sur la fréquence de diagnostic prénatal et le recours à l'interruption médicale de grossesse chez les fœtus porteurs d'AFTN.

**Méthodes :** Les données proviendront de trois registres en France : 1) Registre des Malformations Congénitales de Paris, 2) Registre des malformations congénitales d'Auvergne et 3) Registre des malformations congénitales de Bretagne. Tous les cas d'AFTN non-associés à des anomalies chromosomiques seront inclus pour la période 1987 – 2015 (Paris, N ~1600), 1987-2015 (Auvergne, N~380), 2011 – 2015 (Bretagne, N~200). La variable principale à expliquer est le risque (odds) d'AFTN (analyses séparées pour l'anencéphalie et le spina bifida), Une étude cas-témoin sera menée pour évaluer le risque d'AFTN en relation avec l'AMP. Le risque d'AFTN sera estimé à la fois pour l'ensemble des cas (nés vivants, mort-nés et interruptions de grossesse) et pour les naissances vivantes. L'AMP sera considérée en quatre catégories : aucune, inducteurs seuls, FIV, et ICSI. La deuxième variable à expliquer (cf. objectif secondaire) est la fréquence de diagnostic prénatal d'AFTN en relation avec les différentes méthodes d'AMP. Les variables considérées comme facteurs de confusion potentiels ou d'interaction incluront l'âge maternel, la parité, le statut socio-économique, le lieu de résidence.

Afin de prendre en compte les hétérogénéités possibles entre les données des trois registres, y compris la possibilité de mesures d'association (odds ratios) différentes entre l'AMP et le survenu des AFTN, nous allons utiliser la méthode Mantel-Haenszel avec un test d'homogénéité des odds ratios (Wolfe's test) pour les analyses bivariées. Pour les analyses multi-variables nous allons utiliser les modèles mixtes marginaux (GEE). Un aspect assez original de l'étude est l'utilisation d'une méthode statistique d'analyse de cheminement (path analysis) pour évaluer le rôle des grossesses multiples dans l'association entre les AFTN et l'AMP.

**Résultats attendus :** Vu le peu de données sur le risque d'AFTN en relation avec l'exposition à l'AMP, en particulier 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. En plus de son implication pour la surveillance des anomalies congénitales exposées à l'AMP, l'évaluation des taux de diagnostic prénatal et de l'IMG peut fournir des informations pour la prise en charge et le devenir des grossesses avec malformation après AMP.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Nouvelle stratégie de préservation de la fertilité féminine : vitrification ovarienne et folliculogénèse in vitro

**LABRUNE Elsa** - Inserm U1208, Institut Cellule Souche et Cerveau – Dr C Dehay Service de biologie de la reproduction - Bron

[Retour tableau](#)

### Résumé

La congélation du cortex ovarien est la seule méthode de préservation de la fertilité féminine pouvant être proposée en urgence avant un traitement gonadotoxique. Elle consiste à prélever chirurgicalement un ovaire, de le congeler jusqu'à l'autogreffe. Cette stratégie de préservation n'a pas le rendement espéré en France. Selon la société du Grecot, 20 naissances ont eu lieu sur 76 greffes. De plus l'inconvénient majeur de la greffe du tissu ovarien est le risque de réintroduction de cellules malignes. Il est essentiel de mettre au point une nouvelle stratégie permettant l'obtention d'ovocytes matures à partir de tissu ovarien. L'avenir serait de le vitrifier et de le mettre en culture lors du projet parental.

Notre étude se compose de deux objectifs : la comparaison de la vitrification du tissu ovarien à la congélation lente et la mise au point d'une folliculogénèse in vitro dans une structure en trois dimensions chez la brebis.

12 ovaires de brebis seront coupés en trois fragments : un fragment témoin, un fragment congelé par congélation lente en système fermé et un fragment vitrifié en système ouvert. Le milieu de congélation est composé d'HSA, de BM1 et de DMSO. Le milieu de vitrification est composé de 3 bains de DMSO, EG et sucrose en concentration croissante. En parallèle, nous effectuerons la mise au point du système de culture qui est un nouveau dispositif en 3D en collaboration avec l'ingénierie des matériaux polymères. Les témoins seront cultivés en puits sans support. Chaque ovaire est coupé en 11 fragments de poids similaire afin d'arrêter la culture à des temps précis : frais (J0), 6 jours (J6), J14, J30, J60, J90. Le milieu de culture est l'alpha MEM supplémenté avec de l'ITS, de la FSH et de l'acide ascorbique. La culture est effectuée à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>. Les critères d'évaluation seront le nombre de follicules typiques classés selon le stade de développement et l'aspect du tissu de soutien sur 5 coupes colorées à l'HPS lues en aveugle, une évaluation de l'apoptose par marquage de la caspase 3 clivée et méthode TUNEL, et de la prolifération cellulaire par marquage du Ki67 clone MIB1 ainsi que l'expression des gènes par qRT PCR du cycle cellulaire : cycline D2 (CCND2) et inhibiteur de la cycline D2 (CDKN1A), des gènes d'enzyme de la stéroïdogénèse : CYP19A1 et CYP17A1, des gènes spécifiques à l'ovocyte : BMP15, KIT, ZP3 et GJA4. Nous ajouterons des activateurs en l'absence de croissance des follicules primordiaux (inhibiteur de PTEN, activateur de PI3K et de mTOR).

Les analyses statistiques seront réalisées grâce au logiciel SPSS par des tests non paramétriques : test de Wilcoxon, test de

Friedman apparié. La survie de tissu ovarien pendant plus de 2 mois, sans isolement des follicules, n'a pas encore été obtenue en raison de forte nécrose du tissu de soutien. Ce système de culture a permis cette avancée technique de façon répétée; et a permis des avancées importantes sur d'autres types tissulaires.

### Résultats

Jaeger, Pauline, Cyrielle Fournier, Claire Santamaria, Eloise Fraison, Nicolas Morel-Journal, Mehdi Benchaib, Bruno Salle, Jacqueline Lornage, et Elsa Labrune. 2022. « Human Ovarian Cryopreservation:

Vitrification versus Slow Freezing from Histology to Gene Expression ». *Human Fertility* (Cambridge, England), novembre, 1-9. <https://doi.org/10.1080/14647273.2022.2136540>.

Jovet, Cynthia, Eloïse Fraison, Jacqueline Lornage, Nicolas Morel Journel, Antoine Gavaille, Laurent David, Alexandra Montembault, Cyrielle Fournier, Bruno Salle, et Elsa Labrune. 2023. « A New Bioreactor to Promote Human Follicular Growth with or without Activin A in Transgender Men ». *Reproductive Medicine* 4 (1): 14-27. <https://doi.org/10.3390/reprodmed4010003>.

Labrune, Elsa, Cyrielle Fournier, Benjamin Riche, Laurent David, Alexandra Montembault, Sophie Collardeau-Frachon, Mehdi Benchaib, Jacqueline Lornage, Jean Iwaz, et Bruno Salle. 2022. « Development and Survival of Human Ovarian Cells in Chitosan Hydrogel Micro-Bioreactor ». *Medicina* 58 (11): 1565. <https://doi.org/10.3390/medicina58111565>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Information des personnes nées grâce à un don de gamètes sur leur mode de conception: vers une évaluation des pratiques

**METZLER-GUILLEMAIN Catherine** - Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS Hôpital La Conception - Marseille

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'assistance médicale à la procréation (AMP) avec don de gamètes est très encadrée en France par des principes énoncés initialement par la fédération française des CECOS (Centre d'Etude et de Conservation des Oeufs et du sperme) puis repris dans la loi de bioéthique. Depuis 1973, plus de 50 000 naissances ont été obtenues par don de spermatozoïdes, et nous avons peu de connaissances sur l'information que les parents transmettent à leur enfant concernant leur mode de conception. Or, il est admis que le maintien du secret du mode de conception a des conséquences négatives.

Nous proposons un projet original jamais initié en France, permettant d'évaluer à l'échelle nationale l'information des personnes conçues par don de gamètes sur leur mode de conception, grâce à une recherche interdisciplinaire croisant approche médicale (biologie, psychologie) et sciences sociales (anthropologie, sociologie).

Elle utilise une démarche à la fois quantitative et qualitative en s'appuyant d'une part sur des questionnaires en ligne et d'autre part sur des entretiens semi-directifs, destinés aux parents ayant eu recours à un don et aux personnes qui en sont issues. Cette double approche permettra d'esquisser de grandes tendances concernant le partage de l'information sur le recours au don, d'étudier en profondeur les motivations des choix parentaux en matière d'information et de mieux comprendre les dynamiques familiales et biographiques associées au partage de l'information ou à son absence, d'évaluer la manière dont les parents ont reçu les messages des professionnels impliqués dans l'AMP avec don de gamètes, en matière d'information sur le recours au don.

Les conclusions permettront de dégager les éléments les plus importants qui seront utiles aux professionnels impliqués dans l'AMP avec don de gamètes (médecins cliniciens, biologistes, psychologues) pour les aider à améliorer leurs pratiques en amont, pendant, et après la réalisation de l'AMP avec don de gamètes.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## TABAGERM « Tabac et génome du spermatozoïde : effets du sevrage tabagique »

**MOREAU Jessika** - CECOS Midi-Pyrénées, Groupe d'activité de médecine de la reproduction

Hôpital Paule de Viguier

330, Avenue de Grande Bretagne - Toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le tabac contient plus de 4000 composants. Parmi eux, 70 ont été identifiés comme carcinogènes (formaldéhyde, butadiène, hydrocarbures aromatiques...) Il représente un facteur de risque d'infertilité d'origine masculine. De nombreuses études comparant les fumeurs aux non-fumeurs ont mis en évidence des effets sur la spermatogenèse et la qualité du gamète mâle. Les taux de succès en fécondation in vitro sont diminués chez les fumeurs et en procréation naturelle le délai nécessaire pour concevoir semble rallongé. Le tabac, est un mutagène bien connu. Il va induire des dommages à l'ADN du gamète mâle. Le tabac augmente l'oxydation de l'ADN. L'exposition au tabac accroît le pourcentage de spermatozoïdes présentant un ADN fragmenté ou une chromatine défectueuse. Le tabac peut induire une aneuploïdie du gamète comme le montrent plusieurs études. L'ensemble des effets du tabac sur le gamète mâle questionne sur les conséquences pour le conceptus et son devenir (de l'embryon à l'adulte).

L'étude prospective que nous proposons de mener permettrait de connaître le délai nécessaire à la réparation des anomalies spermatiques et notamment de l'ADN du gamète engendrées par le tabagisme. En effet, un cycle de spermatogenèse s'étendant sur 74 jours, il serait important de savoir s'il est

nécessaire d'attendre un cycle complet ou plus avant la prise en AMP. Elle permettrait donc de trouver la période la plus propice pour réduire les risques liés au tabac et pour une prise en charge efficace.

L'objectif principal est d'évaluer la diminution du pourcentage de spermatozoïde présentant une fragmentation de l'ADN spermatique par la technique TUNEL en suivant l'évolution de ce taux à 3 mois, 6 mois et 12 mois après sevrage.

Les objectifs secondaires sont l'évaluation à 3 mois, 6 mois et 12 mois après arrêt du tabagisme

- du stress oxydatif de l'ADN spermatique à 3 mois
- des caractéristiques classiques du sperme de la structure de la chromatine par la technique SCSA
- du taux d'aneuploïdie par la technique FISH
- du lien entre les altérations de l'ADN et les fonctions Sertolienne et Leydigienne (évaluées par l'inhibine B, et la testostérone).

Le critère de jugement principal est le pourcentage de spermatozoïdes présentant un ADN fragmenté évalué par la technique TUNEL avant et à 3, 6 et 12 mois après l'arrêt du tabagisme.

Les critères de jugements secondaires sont (à 3 mois, 6 mois et 12 mois après arrêt du tabagisme)

- Taux de 8-OHdG de l'ADN du gamète
- Spermogramme : volume et pH de l'éjaculat de sperme, numération, mobilité, vitalité des spermatozoïdes
- Index de fragmentation (DFI)
- Taux de spermatozoïdes aneuploïdes
- Taux d'Inhibine B et testostéronémie

C'est une étude de cohorte, monocentrique, prospective, descriptive. 20 patients sont nécessaires. La durée de la période d'inclusion est d'un an. La durée de participation de chaque patient est d'un an. La durée totale de l'étude est de 2 ans ½. Nous prévoyons de pouvoir recruter 6 volontaires supplémentaires pour remplacer les patients qui ne maintiendraient pas le sevrage tabagique durant l'année de suivi. Analyses statistiques des données :

L'évolution du pourcentage de spermatozoïdes altérés entre T0 et 12 mois après arrêt du tabac sera décrite. Les valeurs à 3, 6 et 12 mois seront comparées aux valeurs initiales (T0) par des tests appariés. Un modèle linéaire multiple à effet mixte sera utilisé pour étudier la variation du pourcentage de spermatozoïdes altérés au cours du temps, en fonction de certains cofacteurs (antécédents, examen clinique, facteurs de risque, ...).

Retombées attendues :

Acquisition de données concernant les effets de l'arrêt du tabagisme sur la spermatogenèse. Ces connaissances amélioreront l'efficacité d'une prise en charge en procréation.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Testicule artificiel pour préserver la fertilité des enfants atteints de cancers: preuve du concept chez le primate

**PERRARD Marie-Hélène** - Institut Cellule Souche et Cerveau - INSERM U1208 - Bron

[Retour tableau](#)

### Résumé

Chaque année dans le monde, on estime à 150 000 le nombre d'enfants atteints de cancers dont 20% dans les pays développés (70 000 en guérissent). En France, 1700 enfants en sont atteints chaque année (1 enfant sur 500) et on estime aujourd'hui que 60 000 personnes ont survécu à un cancer pédiatrique dont environ la moitié sont des hommes. Cependant, ces thérapies sont connues pour leurs effets gaméto-toxiques, pouvant entraîner une stérilité définitive. Alors que chez l'adulte on peut proposer de congeler des spermatozoïdes avant d'engager le traitement pour préserver sa fertilité, ce n'est bien entendu pas possible chez l'enfant.

Dans ce contexte, nous avons développé, en collaboration avec des partenaires académiques et la société Kallistem, un prototype de « testicule artificiel »: ARTISTEM® qui a permis pour la première fois de réaliser toute la spermatogenèse ex vivo chez le rat, le singe et l'homme. ARTISTEM® pourra permettre la production de spermatozoïdes ex vivo à partir des propres cellules germinales primitives de ces garçons. L'objectif final est donc (i) de prélever du tissu testiculaire de ces garçons avant la première chimiothérapie, (ii) de réaliser leur spermatogenèse ex vivo dans ARTISTEM®, (iii) d'obtenir ainsi des spermatozoïdes qui seront utilisés en fécondation in vitro avec micro-injection dans l'ovocyte (ICSI) lorsque l'enfant guéri, devenu adulte, aura un projet parental. Pour ces jeunes patients, les spermatozoïdes devront être cryo-conservés jusqu'au désir de paternité.

Le projet proposé vise à réaliser la preuve de concept chez le primate non humain, en particulier chez le macaque, qui est plus proche de l'homme que les rongeurs. Le projet est divisé en cinq étapes:

1 / la production de spermatides allongées/spermatozoïdes matures par spermatogenèse ex vivo à partir de biopsies testiculaires de jeunes singes macaques, en utilisant la procédure développée au laboratoire;

2 / l'étude épigénétique comparée des spermatozoïdes maturés ex vivo avec ceux maturés in vivo, afin d'identifier d'éventuelles anomalies épigénétiques;

3 / l'évaluation de la capacité des spermatozoïdes maturés ex vivo à féconder par ICSI des ovocytes de macaques et à produire des embryons préimplantatoires;

4 / l'analyse du transcriptome des blastocystes produits à partir de spermatozoïdes maturés ex vivo par séquençage d'ARN sur cellule unique, et la comparaison au transcriptome d'embryons de macaques du même stade de développement, produits à partir de spermatozoïdes maturés in vivo, afin d'identifier d'éventuelles anomalies dans la formation des trois premiers lignages embryonnaires, epiblaste, hypoblaste, et trophoblaste;

5 / la production d'embryons au stade 4-cellules avec des spermatozoïdes maturés ex vivo et leur transfert dans l'utérus de mères porteuses. Les gestations seront surveillées par échographie et les naissances seront réalisées par césarienne.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## L'autoconservation ovocytaire : différer la maternité pour raisons médicales ou sociales

**ROZEE Virginie** - Equipe de recherche labellisée Inserm-Ined-Paris XI-UVSQ « Santé sexuelle et reproductive »

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Contexte

La vitrification ovocytaire est une nouvelle technique de reproduction qui donne aux femmes la possibilité de conserver leurs ovocytes, et ainsi de différer leur maternité en augmentant les probabilités de concevoir avec leurs propres ovocytes à un âge plus avancé ou après un traitement altérant la fertilité. En France, l'autoconservation ovocytaire est légalement possible pour des raisons de santé et dans le cadre d'un don. Elle n'est en revanche pas autorisée pour raisons sociales, contrairement à d'autres pays européens comme le Royaume-Uni, la Belgique ou l'Espagne, ce qui suscite de nombreux débats et controverses et conduit à des prises de positions différentes, parfois antagoniques, y compris au sein de la communauté scientifique et médicale. Elle fait néanmoins l'objet de peu d'études en sciences sociales, permettant de mieux comprendre ce recours et les logiques qui le sous-tendent.

#### Objectifs

L'objectif principal est de comprendre le recours à l'autoconservation ovocytaire depuis le discours et le parcours des femmes françaises qui décident de conserver leurs ovocytes, pour raisons médicales, pour raisons sociales ou dans le cadre d'un don. Deux hypothèses guideront l'étude :

- (1) cette technique est utilisée comme une contrainte pour les femmes qui considèrent ne pas avoir d'autres choix pour espérer concevoir ;
- (2) elle est utilisée comme une possible et future option de reproduction.

#### Méthodologie

Ce projet se situe dans la continuité de 2 études :

- (1) l'étude « AMP sans frontière », dans le cadre de laquelle ont été interrogées des femmes recourant à la vitrification ovocytaire ;
- (2) l'étude menée par le Centre éthique clinique de l'hôpital Cochin sur l'autoconservation ovocytaire pour raison d'âge.

Afin de développer une compréhension globale, le projet développera trois niveaux de recherche et d'analyse selon une perspective interdisciplinaire : le niveau institutionnel, le niveau intermédiaire, et le niveau individuel qui sera le niveau privilégié de l'étude. A ce niveau, 45 entretiens semi-directifs sont envisagés auprès de trois groupes de femmes : celles qui recourent à cette technique (1) pour raisons médicales en France, (2) dans le cadre d'un don en France, (3) pour raisons sociales en Espagne et en Belgique.

#### Résultats attendus

Cette étude vise à produire des données empiriques et compréhensives sur les pratiques et représentations de l'autoconservation ovocytaire, et à interroger le rôle social de la médecine reproductive. Elle permettra d'identifier les raisons qui motivent le recours à cette technique, les attentes et intentions quant à l'utilisation future des ovocytes, et d'observer entre autres les différences entre les trois groupes interrogés. Elle permettra ainsi d'éclairer de façon empirique les débats au sujet de cette nouvelle pratique

socio-médicale qui sont amenés à se développer et à s'intensifier avec la prochaine révision de la loi de bioéthique, prévue en automne 2018.

### **Résultats**

Hernández, Yolíniztli Pérez. 2021. « Autoconservation ovocytaire dite sociale en France : imaginer le chaos ». In Procréation et imaginaires collectifs : Fictions, mythes et représentations de la PMA, édité par Doris Bonnet, Fabrice Cahen, et Virginie Rozée, 137-48. Questions de populations. Paris: Ined Éditions. <http://books.openedition.org/ined/17274>.

## L'autoconservation ovocytaire en France

Différer la maternité pour raisons médicales ou sociales

Yoliliztli Pérez-Hernández (yolizloti@gmail.com) & Virginie Rozée (virginie.rozee@ined.fr)

### CONTEXTE

La vitrification ovocytaire à visée autologue ou autoconservation ovocytaire (AO) est une nouvelle technique d'assistance médicale à la procréation (AMP) inexplorée en France. L'objectif principal de l'étude était de comprendre le recours à l'AO depuis le discours et le parcours des femmes qui habitent en France et qui décident de conserver leurs ovocytes, pour raisons médicales (préservation de la fertilité ou PF), pour raisons sociales ou pour « raison d'âge » (AO dite sociale) ou dans le cadre d'un don (autoconservation ovocytaire dans le cadre d'un don ou AO/DO).

### MATÉRIEL & MÉTHODES

Enquête qualitative menée sur 20 mois en 2018 et 2019 :

- **Entretiens semi-directifs** auprès de 43 femmes et de 30 spécialistes de la reproduction travaillant en France, en Belgique et en Espagne
- **Observation directe** dans 3 centres français d'AMP-CECOS et dans leurs laboratoires de fécondation *in vitro*.

Les **femmes interrogées** ont entre 23 et 44 ans (âge médian de 31,5), majoritairement cadres ou exerçant une profession intermédiaire, et ont fait des études universitaires (voir tableau 1).

Les **médecins rencontrés** sont majoritairement des femmes, gynécologues-obstétriciennes et travaillent en Île-de-France.

### PRINCIPAUX RÉSULTATS

#### ➤ Les ovocytes vitrifiés ne s'inscrivent que rarement dans un projet d'enfant

77% des femmes (n= 34) n'ont pas de projet d'enfant au moment de l'AO (voir tableau 1). Les ovocytes congelés ne s'inscrivent qu'exceptionnellement dans un projet d'enfant en cours ou futur. L'objectif des femmes n'est pas d'avoir des enfants avec leurs ovocytes congelés, mais d'optimiser leurs chances de concevoir en cas d'infertilité future.

#### ➤ Des projets d'enfant sans recourir aux ovocytes congelés

Dix des femmes avaient un projet d'enfant (y compris une grossesse en cours) ou étaient déjà devenues mère au moment de l'entretien (tableau 1). Parmi celles qui ont des enfants (n=5), deux sont devenues mères à l'aide de leurs ovocytes congelés.

#### ➤ Des trajectoires d'AO différentes, mais pas forcément opposées

Les femmes interrogées ont différents profils sociodémographiques selon le type d'AO qu'elles ont mené (voir tableau 2) et leur accès à l'AO répond à différents contextes de vie. Les femmes dans le groupe AO dite sociale congèlent des ovocytes après 35 ans et sont célibataires ; celles qui ont mené une PF le font suite à la découverte d'une maladie ; et celles du groupe AO/DO le font dans le *continuum* des dons (de sang, de plaquettes). Mais, certaines motivations pour congeler des ovocytes sont communes à toutes, comme celles de « se donner du temps » pour trouver un compagnon ou de se sentir prête pour avoir des enfants.

#### ➤ Les femmes qui congèlent leurs ovocytes ne souhaitent pas toutes devenir mère

Un tiers des femmes rencontrées ne sont pas sûres de leur désir d'enfant ou ont fait le choix de la non-procréation. Pour elles, l'AO leur permet de se confronter à la question sur leur « vrai » désir d'enfantement, et de mieux assumer leur choix d'opter pour la non-procréation (temporellement ou définitivement) tout en se laissant la possibilité de changer d'avis.

#### ➤ Les médecins majoritairement favorables à l'AO dite sociale, mais restent prudents

Une majorité de médecins ont déclaré être favorables à l'ouverture de l'AO dite sociale, mais craignent que, dans l'état actuel, les ressources humaines et matérielles ne suffisent pas à absorber cette nouvelle demande.

### DISCUSSION & CONCLUSION

L'étude n'est pas représentative des femmes en France qui autoconservent des ovocytes, mais donne de premiers éléments empiriques et pistes de réflexions. Deux conclusions principales sont à retenir : (1) Le rapport entre autoconservation ovocytaire et maternité est complexe ; (2) PF, AO/DO et AO dite sociale sont des catégories flexibles et variables. Ces conclusions pourraient être amenées à changer après l'autorisation de l'AO dite sociale. Il serait donc important de continuer à étudier ce phénomène.

Tableau 1

Caractéristiques des femmes interrogées au moment de l'entretien

	n	%
<b>Type d'AO</b>		
PF	17	40
AO dite sociale	16	37
AO/DO	10	23
<b>Âge</b>		
< 35	24	56
≥ 35 ans	19	44
<b>Profession</b>		
Cadre	20	67
Profession intermédiaire	6	14
Employée	7	16
Sans emploi	1	2
<b>Niveau de scolarité</b>		
Docteur	3	7
Master	9	21
Licence	20	67
Baccalauréat	2	5
<b>Situation amoureuse</b>		
En couple	22	51
Célibataire	20	47
Non mentionné	1	2
<b>Projet d'enfant</b>		
Pas de projet d'enfant	33	77
Projet d'enfant en cours	5	12
Déjà un enfant	5	12

Tableau 2

Caractéristiques des femmes interrogées selon le type d'autoconservation ovocytaire

	PF n=17	AO/DO n=10	AO dite sociale n=16
<b>Âge</b>			
< 35	14	8	2
≥ 35 ans	3	2	14
<b>Profession</b>			
Cadre	8	6	14
Intermédiaire	4	1	2
Employée	4	3	0
Archivage	1	0	0
<b>Attitude d'une maladie</b>			
Non	0	6	9
Oui	17	4	7
<b>Évaluation</b>			
Évaluation	11	2	1
OP	2	0	2
Cancer	2	0	0
Séjournance	0	0	2
Autre	2	2	2

### POUR EN SAVOIR PLUS

Pérez Hernández, Y. (2021). « Médicaliser l'incertitude. Étude ethnologique de l'autoconservation ovocytaire en France », Thèse de doctorat, Paris : EHESS/INED. [Voir code QR].

Pérez Hernández, Y. (2021). Autoconservation ovocytaire dite "sociale" en France : Imaginer le chaos. In D. Bonnet, F. Cahen, & V. Rozée (Eds.), *Procréation et imaginaires collectifs. Fictions, mythes et représentations de la PMA* (pp. 137-147). INED.

Pérez Hernández, Y., et Rozée, V. (2019). « L'autoconservation ovocytaire en France : Analyse d'une pratique biomédicale controversée ». *Interrogations* ?, 28.



**Année: 2018**

## Evolution des paramètres spermatiques chez les donneurs admis entre 1992 et 2017 dans les 26 CECOS français

**THONNEAU Patrick - EA 36 94 - CECOS**

Hôpital Paule de Viguié, Toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

Depuis la publication de l'équipe danoise de Skakkebaek, parue en 1992 et montrant une baisse régulière et significative des principales caractéristiques spermatiques depuis plusieurs décades, un grand nombre de publications internationales ont confirmé les résultats de cette méta-analyse dans la plupart des pays industrialisés. En France, plusieurs publications majeures ont aussi mis en évidence une baisse des caractéristiques spermatiques, avec des variations régionales assez importantes. Toutefois, deux méta-analyses récentes ont montré certes une baisse globale de la numération spermatique mais avec une tendance baissière nettement moins importante depuis les années 2000.

Dans cette réflexion d'une possible « inflexion/ralentissement/plateau » dans la baisse de la numération spermatique depuis les années 2000, nous avons décidé de mener une étude sur l'ensemble des CECOS de France métropolitaine afin d'analyser les caractéristiques spermatiques des donneurs de sperme venus entre 1992 et 2017, soit sur une période de 25 années.

Cette étude rétrospective de type cohorte sera coordonnée par le Dr Patrick Thonneau, médecin épidémiologiste de la Reproduction humaine et Directeur de Recherche INSERM, rattaché à l'Equipe d'Accueil en Fertilité Humaine EA 36394 (Université Paul Sabatier Toulouse).

La population d'étude sera constituée par les donneurs de sperme, estimés à environ 13 000 hommes venus faire un don de sperme. Seront inclus dans la base de données les paramètres de sperme: le délai d'abstinence, le volume d'éjaculat, la concentration spermatique, la mobilité, la vitalité et la morphologie.

En pratique, l'EA 3694 recrutera un ARC par CECOS pour une durée d'une semaine sous forme de vacation afin d'effectuer la saisie des données. La fusion des 26 bases de données et le contrôle sera réalisée par M. Walschaerts temporelle entre 1992 et 2017 à l'aide entre autres de la méthode BoxCox (normalisation des données) et des modèles de Bernardinelli et al. permettant de décomposer les prédicteurs en fonction du temps et de l'espace.

Ce projet devrait permettre d'estimer la tendance des paramètres spermatiques depuis ces 25 dernières années. Nous devrions être en mesure d'établir si oui ou non une baisse effective est observée sur une période d'année récente. L'intérêt de ce type d'étude est d'une part le grand nombre d'hommes inclus dans le projet qui autorisera des analyses inférentielles si besoin, d'autre part une analyse spatio-temporelle afin de déterminer s'il existe des variations géographiques dans l'évolution des paramètres spermatiques.

La baisse des paramètres spermatiques et plus globalement la majoration des perturbations touchant la sphère reproductive masculine au cours des dernières décennies constituent des enjeux majeurs de santé publique, impliquant potentiellement des considérations/expositions environnementales et/ou des modes de vie spécifiques.

[Retour tableau](#)

**Année: 2019**

## Effet de la vitrification ovocytaire et embryonnaire sur la régulation épigénétique et l'expression de Zac1 et ses partenaires chez la souris

**BOISSONNAS CHALAS Céline** - Service d'Histologie-Embryologie-Biologie de la Reproduction-CECOS

Bâtiment Port Royal 123 Bd de Port Royal 75014 Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

Des études précédentes ont démontré que la manipulation des gamètes et des embryons associée aux techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) pouvait avoir des conséquences sur les marques épigénétiques. Plusieurs étapes seraient impliquées depuis l'infertilité jusqu'aux techniques de fécondation et de culture embryonnaire. Parmi elles, un questionnement persiste concernant l'innocuité de la vitrification, une procédure innovante largement utilisée pour congeler les ovocytes et les embryons. Des résultats préliminaires, issus d'une collaboration avec le Pr Rinaudo (UCSF, USA), ont permis d'identifier un gène soumis à empreinte maternelle, Zac1, qui présente une forte perte de méthylation dans les blastocystes issus de fécondation in vitro (FIV) comparés à ceux issus de fécondation naturelle. Zac1 est un gène candidat impliqué dans le contrôle de la croissance embryonnaire, la susceptibilité au diabète et le syndrome de Beckwith-Wiedemann. Il peut également interagir et moduler l'expression d'autres gènes soumis à empreinte ou non mais est aussi un cofacteur régulant l'expression de certaines protéines impliquées dans des voies métaboliques et de signalisation.

Le but du projet est de rechercher si la vitrification des ovocytes et des embryons s'accompagne d'une dérégulation de l'expression et du contrôle de Zac1. Quatre groupes expérimentaux seront constitués chez la souris utilisant des ovocytes frais ou vitrifiés et des blastocystes frais et vitrifiés issus de ces mêmes ovocytes. Les trois objectifs sont les suivants :

1°) étudier l'expression et la régulation de Zac1 (méthylation différentielle de son centre d'empreinte (ICR) et acétylation des histones de son promoteur)

2°) évaluer l'expression de gènes soumis à empreinte régulés par Zac1 : H19 et Lit1, Igf2 et Cdkn1c et la méthylation des ICR de H19 et Lit1.

3°) mesurer l'expression de gènes partenaires de Zac1 : Pacap1-r, Ppar $\alpha$ , Hdac1, Sp1 and Ap-1.

Les analyses d'expressions du gène Zac1 et de ses partenaires seront réalisées par RT-PCR quantitative et RNA FISH permettant de différencier l'expression issue de la masse cellulaire interne et du trophoctoderme. L'étude de la méthylation sera réalisée par pyroséquençage après traitement au bisulfite et le profil d'acétylation des histones au promoteur de Zac1 par immunoprécipitation de la chromatine. Les analyses seront menées et comparées sur des pools d'ovocytes (n=5 à 10) et sur blastocystes dans les 4 groupes expérimentaux, dépendant de l'état frais ou congelés des ovocytes et/ou blastocystes.

Ces résultats nous permettront de mieux caractériser la régulation de Zac1 dans le cadre de l'AMP mais surtout de la vitrification. Nous pourrons aussi déterminer son impact sur la régulation d'autres gènes soumis à empreinte. Enfin, l'évaluation de son interaction avec d'autres protéines dans le contexte de l'AMP pourrait apporter des éléments importants concernant la régulation de certaines voies biologiques.

[Retour tableau](#)

**Année: 2019**

## Données néonatales après congélation lente ou vitrification embryonnaire : état des lieux en France

**BRUGNON Florence**

**LEVY Rachel - BLEFCO**

(Biologistes des Laboratoires d'Etude de la Fécondation et de la Conservation de l'oeuf)

Assistance Médicale à la Procréation CECOS

CHU Estaing

1 Place Aubrac

[Retour tableau](#)

### **Résumé**

Justification de l'étude et intérêt de la question

Le recours à la congélation embryonnaire en FIV est de plus en plus fréquent, avec un pourcentage croissant d'enfants nés issus d'embryons congelés. La question d'un éventuel impact des procédés de congélation/décongélation sur la santé des enfants se pose, d'autant que les techniques de congélation ont évolué avec l'introduction de la vitrification. Si les données disponibles sont globalement rassurantes, mettant même en évidence des issues périnatales meilleures pour les risques d'hypotrophie et de prématurité, elles soulignent également un sur-risque de macrosomie foetale, pour l'instant mal expliqué. Néanmoins, aucune de ces études n'a été menée en France. De plus, aucune étude ne s'est intéressée à l'influence éventuelle des types de milieux et supports de vitrification sur les issues périnatales. Enfin, différents protocoles de préparation endométriale sont utilisés en vue de transfert d'embryons congelés et

aucune donnée n'est disponible sur l'éventuelle influence de ceux-ci sur les issues périnatales, alors même que les fluctuations hormonales induites sont extrêmement différentes.

#### Objectif principal

Comparer le taux de macrosomie foetale (définie par un poids de naissance supérieur à 4000g en cas de naissance à terme (supérieur ou égal à 37 SA)) après vitrification, congélation lente et transfert frais.

#### Objectifs secondaires

Comparer vitrification à congélation lente et transfert frais en termes de :

- taux de survie embryonnaire, taux de grossesse clinique et de naissance par transfert, taux de fausse couche,
- sex ratio des enfants, taux de prématurité (< 37 SA), taux de petit poids de naissance (<2500g à terme).

Analyse des résultats selon :

- les stades de congélation (embryon clivé ou blastocyste),
- les milieux et supports de vitrification,
- les protocoles de préparation endométriale.

#### Méthodologie

- Etude épidémiologique multicentrique sur données par analyse rétrospective des fiches cliniques individuelles standardisées du registre national des FIV de 4 années (2014-2017), incluant les transferts d'embryons frais ou congelés et collectées prospectivement dans les centres d'AMP français.
- Complément de recueil de données auprès des centres pour les différents milieux de congélation/vitrification, les supports et les préparations endométriales utilisés de 2014 à 2017.
- Fusion des données recueillies auprès des centres avec la base des tentatives du registre national.
- Anonymisation des données (identification des couples, des centres et des dates) puis export vers la base de données de l'étude.
- Ajustement sur les caractéristiques des couples (âge, tabac, IMC, nature de l'infertilité) et des tentatives.
- Comparaison avec une approche par modèles à effets aléatoires pour prendre en compte la variabilité inter et intra centre. Analyses univariée et multivariée, et présentation des résultats en différences absolues, risques relatifs et intervalles de confiance à 95%.

[Retour tableau](#)

Année: 2019

## Développement et devenir des enfants issus de l'Assistance Médicale à la Procréation

**BYDLOWSKI Sarah** - Laboratoire de Psychologie Clinique, Psychopathologie, Psychanalyse - Université Paris-Descartes-Sorbonne Paris Cité

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le développement et le devenir des enfants issus de de l'assistance médicale à la procréation (AMP) interroge au vu des conditions particulières de leur conception et de leur naissance. En tant que pédopsychiatres, nous relevons une distorsion entre les conclusions rassurantes des recherches empiriques étudiant le devenir des enfants conçus par AMP et les nombreux cas aux problématiques complexes que nous rencontrons dans notre pratique clinique quotidienne. Dans ce contexte, une étude clinique transversale descriptive a été menée sur la cohorte de notre centre médico-psychologique pour enfants et adolescents du secteur pédopsychiatrique du 13ème arrondissement de Paris (Centre Alfred Binet, ASM13). On a ainsi observé une surreprésentation significative des enfants issus d'AMP par rapport au nombre de cas attendu dans la population générale avec un ratio SIR estimé à 4,08 [2.28;6.73] après analyse de sensibilité. Nous avons donc élaboré une nouvelle recherche dont l'objectif principal consiste à identifier les spécificités développementales sur les aspects cognitifs, sensori-moteurs et neuro-visuels d'enfants issus d'AMP et à élaborer une compréhension psychopathologique de leur fonctionnement. Les objectifs secondaires visent à décrire les particularités de la symptomatologie somatique et fonctionnelle d'enfants issus de l'AMP, des interactions parents-enfant après un parcours d'AMP et de l'état psychique des parents ayant traversé un processus d'AMP. Cette étude clinique observationnelle descriptive prospective exploratoire qualitative et quantitative comparative sera menée en incluant 4 cohortes de 20 enfants provenant des Maternités, Centre d'AMP, CECOS et consultations pédiatriques constituant ainsi trois groupes : « AMP sans don » ; « AMP avec don en France » ; « AMP avec don à l'étranger et non autorisés en France » ; « témoins sans AMP ». Après une information sur l'étude, le recueil du consentement, et une inclusion en prénatal ou postnatal, trois rencontres seront organisées au Centre Alfred Binet à différents âges de l'enfant : 3 mois, 2 ans, 3 ans, en présence de trois intervenants : pédopsychiatre, psychologue et psychomotricien. Notre recherche est novatrice à différents égards. Nous nous intéressons pour la première fois à la construction psychique de l'enfant en nous appuyant sur l'observation directe de l'enfant et des épreuves projectives, ne se limitant pas aux auto-questionnaires des parents. Nous nous inscrivons dans un suivi prospectif longitudinal permettant d'observer la construction globale de l'enfant de 3 mois à 3 ans. Nous étudierons les interactions précoces en lien avec la construction parentale d'une part, et le développement de l'enfant d'autre part. Nous explorerons les particularités de l'AMP avec don en distinguant le don autorisé et légal en France des dons à l'étranger ne répondant pas aux mêmes réglementations. Les retombées de cette étude seront transdisciplinaires et profiteront à diverses institutions en permettant un travail conjoint. Nous souhaitons ainsi élaborer des dispositifs pluridisciplinaires préventifs qui puissent accompagner ces nouvelles parentalités en pré-conceptionnel, prénatal, post-partum et tout au long du développement de l'enfant. L'ASM13 assurant la prise en charge psychiatrique de secteur pour l'ensemble de la population du 13ème arrondissement parisien, il existe une continuité des espaces bébés, enfants, adolescents et adultes permettant d'inscrire la réflexion dans des cadres complémentaires et d'assurer un suivi au long cours des familles si cela s'avère nécessaire.

[Retour tableau](#)

Année: 2019

## Impact de l'obésité sur la réceptivité endométriale chez la femme

**DOS SANTOS Esther** - Laboratoire Gamètes-

Implantation-Gestation (GIG)

Equipe d'accueil EA 7404

Université de Versailles,

UFR des Sciences de la Santé, 78180 Montigny le Bretonneux, France.

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'obésité qui se définit par un indice de masse corporelle (IMC)  $> 30 \text{ kg/m}^2$  constitue un problème majeur de Santé publique dans le monde. En France, la prévalence estimée de l'obésité est de 15%. L'obésité concerne toutes les catégories d'âge, notamment les femmes en âge de procréer. Différentes données épidémiologiques démontrent clairement que les fonctions de reproduction de la femme sont étroitement liées à son IMC. En effet, les chances de concevoir spontanément un enfant sont diminuées de 5% pour chaque augmentation d'une unité d'IMC et de manière plus générale, les femmes obèses ont trois fois plus de risques de ne pas concevoir naturellement. L'impact de l'IMC sur la fertilité féminine semble, en partie, lié à un trouble de l'implantation embryonnaire. L'implantation embryonnaire est un processus complexe qui implique un dialogue interactif entre un endomètre réceptif et un blastocyste fonctionnel. Cette symbiose nécessite une synchronisation spatio-temporelle préalable entre la différenciation du stroma utérin (décidualisation, statut énergétique et angiogenèse) et le développement de l'embryon. La période où cette synchronisation est effective, définit les concepts de fenêtre d'implantation (5 à 8 jours après ovulation) et de réceptivité utérine. Deux études ont récemment mis en évidence des différences de profil d'expression des gènes endométriaux entre des femmes obèses et des femmes normo-pondérées. Plus précisément, l'expression des gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire, le remodelage de la matrice extracellulaire, la sécrétion de cytokines / chemokines est dérégulée chez la femme obèse comparée à celle de la femme normo-pondérée. Cependant, à ce jour, les mécanismes moléculaires (voies de signalisation, facteurs de transcription) restent inconnus. Des données récentes indiquent que les vésicules extracellulaires (exosomes, microvésicules...), communément appelées EVs, sont des nouveaux acteurs du dialogue paracrine à l'interface foëto-maternelle. En effet, l'endomètre secrète des exosomes qui semblent favoriser l'implantation embryonnaire. Par ailleurs, des études montrent que le contenu des EVs sécrétées par les cellules adipeuses de patientes obèses est différent de celui des patientes normo-pondérées. Cependant, le profil des EVs issues de l'endomètre de femmes obèses est actuellement inconnu.

Dans ce contexte où les notions ne sont pas encore clairement établies, nous souhaitons étudier l'impact de l'obésité sur la réceptivité utérine humaine en comparant entre des femmes obèses et des femmes normo-pondérées plus spécifiquement i) les capacités de différenciation, de migration et le statut

énergétique des cellules stromales endométriales, ii) les capacités de réceptivité des cellules épithéliales endométriales et iii) le profil des EVs produites par l'endomètre.

L'ensemble de ce travail devrait nous permettre i) de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'endomètre de femmes obèses et ii) d'identifier d'éventuels cibles thérapeutiques et / ou des biomarqueurs de la réceptivité endométriale humaine

[Retour tableau](#)

**Année: 2019**

## Impact d'une exposition alimentaire in utero à un mélange de pesticides, sur la folliculogénèse et la stéroïdogénèse chez la souris adulte

**GATIMEL Nicolas** - EA3694 Groupe de Recherche en Fertilité Humaine (Pr Louis Bujan)

Hôpital Paule de Viguié, 330 avenue de Grande Bretagne

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Contexte :** L'exposition récurrente par l'alimentation aux pesticides, perturbateurs endocriniens pour la plupart, génère de nombreuses questions et inquiétudes de la société quant aux conséquences sur la santé reproductive et la qualité des gamètes de la population. Dans l'espèce humaine, comme chez la souris, la période de gestation est un moment critique dans la mise en place de la fonction de reproduction féminine. La connaissance de l'impact de ces expositions sur la fonction ovarienne est mal connue et constitue un défi majeur de santé publique.

**Objectifs :** Evaluer l'impact sur la folliculogénèse et stéroïdogénèse ovarienne chez des souris descendantes adultes d'une exposition alimentaire à un mélange de pesticides retrouvés régulièrement dans les fruits et légumes au cours de la période de vulnérabilité périnatale (gestation/lactation), en utilisant des conditions expérimentales mimant l'exposition des consommateurs.

**Méthodologie et résultats attendus :** Nous souhaitons utiliser un modèle murin d'exposition alimentaire aux pesticides, (modèle publié par l'équipe 2). Le choix d'un modèle animal est lié à la difficulté d'étude de l'impact de ces toxiques environnementaux chez la femme, notamment sur le plan histologique. Un cocktail de 6 pesticides utilisés dans le traitement des pommeraies en Occitanie et fréquemment retrouvés sur les fruits et légumes (Boscalide, Captan, Chlorpyrifos, Thiachlopride, Thiophanate et Ziram) sera incorporé dans l'aliment des animaux. Le partenaire 2 a récemment publié que l'exposition alimentaire chronique de souris adultes à la Dose journalière Tolérable (DJT)

de chacun de ces composés entraîne lorsqu'ils sont en mélange une dérégulation de l'homéostasie métabolique de façon sexe dépendant. Deux groupes de 12 souris femelles seront exposés à l'aliment contrôle ou à l'aliment enrichi en pesticides pendant les phases de gestation et de lactation.

Lors du sevrage, nous choisirons de façon aléatoire au minimum 12 descendantes femelles du groupe des mères exposées aux pesticides, ainsi que 12 descendantes femelles du groupe des mères non exposées.

L'évaluation sera réalisée chez les femelles descendantes des 2 groupes à l'âge adulte (24 semaines) par :

- des études histologiques quantitatives et qualitatives des différents stades folliculaires ovariens.
- une analyse immunohistochimique d'un marqueur protéique de la prolifération cellulaire de l'ovaire (PCNA), de l'expression de GDF9 (croissance des stades précoces folliculaire), ainsi que de deux enzymes majeures de la fonction endocrine (CYP17 et CYP19).
- une analyse des marqueurs de l'atrésie folliculaire (par technique TUNEL).
- un dosage sérique de 6 hormones ovariennes (AMH, E2, progestérone,  $\Delta$ 4-dione, pregnenolone et testostérone) et des gonadotrophines FSH/LH. Les stéroïdes seront mesurés par spectrométrie de masse dans un laboratoire spécialisé.

Notre projet souhaite apporter une réponse claire à une question cruciale pour la reproduction humaine : dans un modèle animal contrôlé, l'exposition in utero et périnatale à un cocktail complexe de pesticides

mimant l'exposition humaine affecte-t-elle la folliculogenèse et la réserve folliculaire de la descendance ? Selon nous, cette question est directement en lien avec le thème 4 de l'appel à projet « qualité du gamète » et l'obtention d'une réponse claire via un modèle animal apportera un argument supplémentaire pour améliorer des politiques préventives pendant la grossesse visant à protéger la santé des femmes en âge de procréer et/ou prise en charge en Assistance Médicale à la Procréation.

### **Résultats**

Dopavogui, Léonie, Florence Cadoret, Gaspard Loison, Sara El Fouikar, François-Xavier Frenois, Frank Giton, Sandrine Ellero-Simatos, et al. 2022. « Pre- and Postnatal Dietary Exposure to a Pesticide Cocktail Disrupts Ovarian Functions in 8-Week-Old Female Mice ». International Journal of Molecular Sciences 23 (14): 7525.

## Poster

Dr GATIMEL Nicolas AO AMP 2019

**Impact of dietary exposure during intrauterine life, lactation and until adulthood to a mixture of pesticides on folliculogenesis and ovarian steroidogenesis in adult mice.**

**Context and Objective:** Recurrent dietary exposure to pesticides generates many societal concerns about reproductive health consequences. In the human species, as in mice, the antenatal, perinatal and childhood periods are critical times in the development of female reproductive function and in the sensitivity to toxics as well. We aimed to evaluate the impact on ovarian function in adult descendant mice of a chronic dietary (from gestation to adulthood) exposure to a mixture of low doses of pesticides, using experimental conditions simulating consumer exposure.

**Materials and Methods:** We chose to incorporate in the diet of mice a cocktail of 6 pesticides frequently found on fruits and vegetables (Boscalide, Captan, Chlorpyrifos, Thiachloprid, Thiophanate and Ziram) (Lukowicz et al., 2018). Two groups of 12 F0 female mice were fed the control diet or the pesticide-enriched (animals were exposed to the TDI levels of each compound), during gestation and lactation. At weaning, F1 female mice from both groups continued to be fed the corresponding diet of their mother until sacrifice at 8 weeks of age. Seven F1 female offspring from the pesticide-exposed dams and 8 female offspring from the unexposed dams were randomly selected.

The analysis conducted at 8 weeks of age on F1 mice encompass:

- a histological analysis of the ovarian follicles at each stage on the whole ovary.
- an immunohistochemical analysis of the PCNA marker as a proxy for cell proliferation or repair.
- an analysis of markers of follicular atresia (TUNEL technique).
- a serum assay of the main plasma ovarian hormones and gonadotropins

**Results:** The F1 generation was reduced from the initial projections due to significant cannibalism, which was prevalent in the Exposed group ( $p=0.005$ ). Female F1 mice exposed to pesticides had a lower body weight at the time of sacrifice ( $p=0.001$ ), ovary weight was also lower ( $p=0.001$ ) but their ratio was not different between the two groups ( $p=0.064$ ). Histological analysis did not reveal any difference in follicular count at any stage, but showed a decrease in the number of corpora lutea in the ovaries of mice belonging to the Exposed group ( $p=0.01$ ) as well as changes in the ultrastructure of the ovary, with hypotrophy of the stroma. Our data also indicated an increase in the number of nuclei positive for PCNA in the follicles ( $p=0.01$ ), corpora lutea ( $p=0.04$ ) and total ovary ( $p=0.01$ ) in animals in the Exposed group. TUNEL assays did not show changes in the percentage of apoptotic nuclei in follicles ( $p=0.23$ ) or total ovary ( $p=0.20$ ) in mice upon exposure to pesticide cocktail compared to the unexposed group. However, significant decrease in serum progesterone in the exposed group ( $p=0.02$ ) was observed. This is consistent with the decreased number of corpora lutea in the ovaries of exposed mice found in histology.

**Conclusion:** This study highlights the damaging effects of a chronic exposure to pesticides at non toxic dose on ovary function. The long-term consequences of the observed effects are being currently assessed in older (40 weeks old) animals from the same cohort.

Lukowicz, C., Ellero-Simatos, S., Regnier, M., Polizzi, A., Lasserre, F., Montagner, A., Lippi, Y., Jamin, E. L., Martin, J. F., Naylies, C., Canlet, C., Debrauwer, L., Bertrand-Michel, J., Al Saati, T., Theodorou, V., Loiseau, N., Mselli-Lakhal, L., Guillou, H. & Gamet-Payrastré, L., 2018. Metabolic Effects of a Chronic Dietary Exposure to a Low-Dose Pesticide Cocktail in Mice: Sexual Dimorphism and Role of the Constitutive Androstane Receptor. *Environ Health Perspect.* 126, 067007.

**Année: 2019**

## Exposome chimique tubaire durant la phase préconceptionnelle et le développement préimplantatoire humain

**LEANDRI Roger** - Groupe d'activité de médecine de la reproduction, Pôle Femme-Mère-Couple, CHU de Toulouse

[Retour tableau](#)

### Résumé

La trompe de Fallope constitue l'environnement physiologique des gamètes matures et de l'embryon préimplantatoire. Alors que les données démontrant l'implication des perturbations de l'environnement fœtal dans la programmation de la santé post-natale et à l'âge adulte s'accumulent chez l'animal comme chez l'Homme, celles impliquant la responsabilité des phases très précoces du développement (fécondation et développement préimplantatoire) restent quasi exclusivement animales, en dehors des questions persistantes sur la santé des enfants issus d'AMP. Des expositions animales à des contaminants chimiques environnementaux ciblées sur la phase préimplantatoire du développement sont de fait capables d'altérer la santé à l'âge adulte. De même de courtes expositions in vitro des gamètes mâles et femelles à certains contaminants peuvent altérer leur fonctionnalité. Il est donc important de pouvoir caractériser cet environnement.

Ce projet vise à démontrer la possibilité de mesurer quantitativement un large spectre de contaminants chimiques environnementaux au niveau tubaire. Des pièces opératoires tubaires issues de salpingectomie bilatérale à visée contraceptive chez des femmes en âge de procréer et dénuées de pathologies susceptibles d'affecter la muqueuse tubaire seront collectées par laparoscopie. Une fois la muqueuse tubaire disséquée celle-ci sera analysée en terme de concentrations pour 3 familles de toxiques de type polluants organiques persistants : pesticides organochlorés (DDE, HCB), polychlorobiphényles (PCB 153 et 158) et retardateurs de flamme type polybromodiphényléthers (PBDE47 et 153). Une comparaison avec les concentrations obtenues au niveau du tissu adipeux (prélevé lors de l'abord ombilical laparoscopique) permettra de s'assurer de l'exposition effective du sujet à chaque type de contaminant.

Ce projet est une étude de faisabilité dont les perspectives sont multiples. Il est porté par un consortium solide permettant d'assurer le recrutement des sujets et la mise en œuvre technique du projet.

[Retour tableau](#)

**Année: 2019**

## Maturation in vivo et in vitro du tissu testiculaire prépubère après exposition à un traitement par chimiothérapie

**RONDANINO Christine** - EA 4308 « Gamétogenèse et Qualité du Gamète »

Faculté de Santé

22, bd Gambetta

Rouen

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les spermatogonies présentes dans le testicule prépubère ont longtemps été considérées comme étant moins sensibles à la chimiothérapie que les spermatogonies du testicule adulte. Très peu d'études ont en fait évalué l'impact des chimiothérapies administrées avant la puberté sur la spermatogenèse. A l'heure actuelle, la majorité des enfants et adolescents atteints de leucémie aiguë ont reçu des cures de chimiothérapie avant la conservation de leur tissu testiculaire. L'impact de ces traitements sur la possibilité de restaurer leur fertilité par maturation in vitro du tissu testiculaire n'a jamais été évalué. Le développement de modèles animaux prépubères traités in vivo par mono- ou polychimiothérapie est donc nécessaire afin de mieux connaître les effets secondaires de ces traitements sur le tissu testiculaire, la capacité des spermatogonies à se différencier in vivo ou in vitro et la qualité des spermatozoïdes.

Les objectifs de ce projet de recherche sont d'évaluer l'impact de la vincristine, de la cytarabine, de la daunorubicine et du cyclophosphamide administrés seuls ou en combinaison à des souris prépubères sur (i) la spermatogenèse in vivo à la fin de la première vague de spermatogenèse et à l'âge adulte, la qualité des spermatozoïdes épидидymaires, la fertilité et la descendance (étude 1), et (ii) la spermatogenèse in vitro et la qualité des spermatozoïdes produits (étude 2).

Dans l'étude 1, nous évaluerons les dommages au niveau du tissu testiculaire, la prolifération et l'apoptose des cellules germinales, la présence de cassures double-brin de l'ADN, la progression de la spermatogenèse, la qualité nucléaire spermatique (taux d'anomalies chromosomiques, nombre et longueur des télomères, fragmentation de l'ADN, compaction de la chromatine, oxydation de l'ADN), la fertilité des mâles exposés à la chimiothérapie ou non exposés et la descendance (nombre de nouveaux nés obtenus, sexe ratio, taux de mortalité postnatale, croissance postnatale, présence ou non de malformations, fertilité). Dans l'étude 2, les tissus testiculaires prépubères seront maturés in vitro. Nous évaluerons comme dans l'étude 1 l'intégrité structurale et fonctionnelle du tissu testiculaire et les noyaux de spermatozoïdes obtenus, en comparant animaux exposés et non exposés. Les résultats seront comparés à ceux obtenus dans les conditions physiologiques.

Ce projet permettra d'acquérir des connaissances fondamentales sur l'exposition du testicule prépubère à quatre molécules classiquement utilisées pour le traitement des leucémies aiguës. De plus, la maturation in vitro de tissu testiculaire prépubère préalablement exposé à la chimiothérapie sera étudiée pour la première fois. L'administration des agents de chimiothérapie seuls ou en combinaison permettra d'évaluer la gonadotoxicité relative de chacune des molécules. Une meilleure connaissance de leurs effets secondaires sur le testicule prépubère permettra de mieux informer les patients des risques potentiels pour leur fertilité future.

## Résultats

Delessard, Marion, Justine Saulnier, Ludovic Dumont, Aurélie Rives-Feraille, Nathalie Rives, et Christine Rondanino. 2020. « Paradoxical Risk of Reduced Fertility after Exposure of Prepubertal Mice to Vincristine or Cyclophosphamide at Low Gonadotoxic Doses in Humans ». *Scientific Reports* 10 (1): 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74862-8>.

Delessard, Marion, Laura Stalin, Aurélie Rives-Feraille, Laura Moutard, Justine Saulnier, Ludovic Dumont, Nathalie Rives, et Christine Rondanino. 2022. « Achievement of Complete in Vitro Spermatogenesis in Testicular Tissues from Prepubertal Mice Exposed to Mono- or Polychemotherapy ». *Scientific Reports* 12 (1): 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11286-6>.

Dumont, Ludovic, Nicolas Levacher, Damien Schapman, Aurélie Rives-Feraille, Laura Moutard, Marion Delessard, Justine Saulnier, Christine Rondanino, et Nathalie Rives. 2021. « IHC\_Tool: An open-source Fiji procedure for quantitative evaluation of cross sections of testicular explants ». *Reproductive Biology* 21 (2): 100507. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2021.100507>.

Dumont, Ludovic, Hélène Lopez Maestre, Frédéric Chalmel, Louise Huber, Aurélie Rives-Feraille, Laura Moutard, Frédérique Bateux, Christine Rondanino, et Nathalie Rives. 2023. « Throughout in vitro first spermatogenic wave: Next-generation sequencing gene expression patterns of fresh and cryopreserved prepubertal mice testicular tissue explants ». *Frontiers in Endocrinology* 14 (mars). <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1112834>.



**Année: 2019**

## Effet d'une supplémentation orale antioxydante sur la qualité des spermatozoïdes et leurs marques épigénétiques

**SAEZ Fabrice** - GReD – Génétique, Reproduction et Développement

Bâtiment CRBC

Faculté de Médecine

28 Place Henri Dunant

[Retour tableau](#)

### Résumé

Bien que les dommages à l'ADN spermatique soient une cause bien admise d'échecs reproductifs, l'intégrité du patrimoine génétique spermatique n'est pas un critère utilisé pour diagnostiquer une infertilité mâle, sélectionner une approche thérapeutique ou/et choisir une technologie particulière en assistance médicale à la procréation.

Encore aujourd'hui, seules la numération, la morphologie et éventuellement la mobilité spermatique sont des paramètres utilisés en routine pour l'évaluation clinique de la qualité spermatique. Des études récentes ont cependant montré que 60 % des hommes, parmi les couples consultant pour une infertilité, présentaient des dommages à l'ADN spermatique et que dans près de 80% des infertilités mâles idiopathiques des dommages à l'ADN spermatique sont retrouvés. En utilisant des modèles murins développés au laboratoire possédant des spermatozoïdes dont les noyaux sont affectés par des dommages à l'ADN très courants dans les situations d'infertilité clinique (oxydation du noyau spermatique) nous proposons ici d'évaluer les conséquences de ces altérations à la fois sur la qualité des gamètes mâles et sur certaines marques épigénétiques importantes pour le développement embryonnaire. Des approches d'analyses semi-automatiques des spermatozoïdes seront entreprises (viabilité, mobilité, morphologie, présence de l'acrosome, fragmentation et oxydation de l'ADN via le système d'analyse « sperm class analyzer » - Microptic), ainsi que la recherche des marques épigénétiques (5-méthylcytosine et 5-hydroxyméthylcytosine) par des techniques d'immunofluorescence couplée à de la microscopie confocale et de séquençage dernière génération. La cinétique et le déroulement du programme de développement embryonnaire précoce pourront être évalués par des observations en « time-lapse » après fécondation in-vitro. Les effets d'une supplémentation orale antioxydante (Fertilix®) sur ces différents paramètres seront évalués.

Nous avons préalablement démontré que la supplémentation orale antioxydante prévenait les altérations oxydantes du noyau spermatique, nous espérons démontrer ici qu'elle préserve la qualité des gamètes et permet

le maintien des marques épigénétiques importantes pour le futur embryon. Nous espérons aussi contribuer à insuffler l'idée que de nouveaux tests d'évaluation de la qualité spermatique sont nécessaires pour compléter le

spermogramme classique. Ces approches doivent permettre de mieux qualifier l'intégrité du noyau spermatique, un des garants du succès reproductif et de la qualité de vie de la descendance et de l'espèce.

[Retour tableau](#)

Année: 2019

## Etude de la transmissibilité aux générations suivantes des altérations épigénétiques du génome induites au cours de la fécondation in vitro dans des boîtes en plastique, chez la souris

**WOLF Jean Philippe** - Laboratoire d'Assistance Médicale à la Procréation ; Service d'Histologie Embryologie, Biologie de la Reproduction – CECOS, hôpital Cochin, AP-HP

Unité Inserm U1016 : Institut Cochin Equipe « From Gametes To Baby » 24 rue du Faubourg Saint Jacques 75014 Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les enfants conçus par AMP ont 2,6 fois plus de risques d'être de petits poids à la naissance ce qui les expose aux complications liées à l'hypotrophie. Ils présentent également un pourcentage d'anomalies majeures plus important ainsi qu'une augmentation de la fréquence des maladies liées à des défauts épigénétiques comme les syndromes de Beckwith-Wiedemann et de Silver-Russel.

Or les gamètes et les embryons sont maintenus in vitro dans des boîtes de pétri en plastique, alors que les perturbations causées par des composés entrant dans la fabrication des plastiques sont nombreuses, connues et ont entraîné l'interdiction de l'usage de certains d'entre eux, dans les biberons notamment. De plus les embryons sont incubés à 37°, sous huile, pendant 5 jours pour les cultures prolongées, soit une période couvrant l'activation du génome embryonnaire, toutes conditions susceptibles d'aggraver leurs effets.

Nous avons déjà mis en évidence, chez la souris, une perturbation de l'expression des gènes placentaires soumis à empreinte sur des embryons obtenus in vitro comparés à ceux conçus in vivo (Fauque et al. 2010).

Lors d'une récente étude, financée par l'Agence de la BioMédecine, nous venons d'étudier la régulation épigénétique de l'expression du génome murin lors de l'utilisation de boîtes en verre et de boîtes en plastique chez la souris. Les embryons ont été transférés chez des femelles pseudo-gestantes et les grossesses interrompues à 16,5 jours de façon à pouvoir étudier le placenta et des organes embryonnaires. Les données ont été comparées à celles obtenues d'embryons conçus in vivo et également transférés chez des femelles pseudogestantes de façon à être rigoureusement comparables.

L'analyse des placentas des fœtus montre qu'un grand nombre de gènes sont dérégulés dans le placenta de fœtus incubés sur plastique comparé à ceux incubés in vivo (n=1121), alors qu'ils sont près de six fois moins nombreux dans la comparaison entre les embryons conçus in vivo et ceux cultivés sur verre (n=200).

L'analyse semi-supervisée des conditions d'exposition par Arraymining montre que le clustering des gènes sur les 100 gènes les plus significativement différents (ANOVA), réalise une classification parfaite des trois groupes analysés avec un excès de gènes up-régulés dans les placentas issus d'embryon cultivés sur plastique.

L'analyse fonctionnelle par Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) montre une surreprésentation massive de gènes placentaires impliqués dans les différents types de stress (hypoxique, inflammatoire, nutritionnel, mis-conformation des protéines) chez les embryons incubés dans des boîtes en plastique. Des gènes de

placentation sont sous exprimés par rapport aux embryons in vivo et aux embryons cultivés dans des boîtes en verre.

Les effets délétères de la culture sur plastique sont variés, impliquant des modifications de l'expression des gènes dans des fonctions biologiques concertées portant sur les gènes de placentation notamment. Il n'y a par contre pas de différence d'expression des gènes du cerveau que nous avons également analysés.

Nous proposons de compléter l'étude chez la souris par la comparaison des courbes de poids des souriceaux nouveaux nés dans chacun des trois groupes et sur leur descendance afin de voir si les modifications de l'expression des gènes est transmissible ou non.

L'impact d'une telle étude apparait essentiel. Elle pourrait mettre en évidence des anomalies liées aux consommables et amener à changer ces derniers pour des composés moins, voire non toxiques, ou conclure à leur innocuité.

### **Résultats**

Plastic used in in vitro fertilization procedures induces massive placental gene expression alterations.

Kouakou F PhD, Denizot AL PhD, L'Hostis A MSc, Colet J, Sébastien J, PhD, Sallem A MD, PhD, Ziyat A PhD, Vaiman D PhD, Wolf JP, MD, PhD. eBioMedecine

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Amélioration du succès de l'insémination intra-utérine (IIU) par le clofilium

**ARNOULT Christophe** - Institut pour l'Avancée des Biosciences (IAB), Faculté de Médecine et de Pharmacie- Domaine de la Merci

Equipe "Génétique, Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité"

Bâtiment Jean Roget - 3 étage, Pièce 3111 chemin Duhamel

38700 LA TRONCHE

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'insémination intra utérine (IIU) représente 45% des tentatives de procréation assistée chez l'homme. Cependant le taux de gestation après IIU est très bas, autour de 10,5%, et il est donc important de proposer des innovations technologiques permettant d'en améliorer l'efficacité. L'objectif de ce projet de recherche est d'étudier les effets d'une molécule, préalablement identifiée comme améliorant l'IIU chez le bovin, sur les spermatozoïdes humains. Cette molécule, développée par notre équipe, permet de ralentir la maturation (capacitation) des spermatozoïdes, qui bien qu'indispensable à la fécondation est aussi un processus délétère pour le spermatozoïde.

Le projet est divisé en 4 axes.

- Le premier axe est un axe réglementaire, comprenant les autorisations nécessaires aux recrutements de donneurs sains et une analyse de leur paramètres spermatiques.
- Le deuxième concerne une étude biologique. Après avoir déterminé la concentration optimale permettant de bloquer le changement de potentiel de membrane des spermatozoïdes incubés dans un milieu capacitant (utilisé comme marqueur de la capacitation), les effets de la molécule sur la mobilité, le potentiel mitochondrial et le niveau d'oxydation des spermatozoïdes humains seront étudiés. La mobilité sera mesurée en utilisant un CASA et les autres paramètres en utilisant la cytométrie en flux.
- Le troisième axe concerne une étude physiologique, permettant d'évaluer la fertilité des spermatozoïdes traités avec la molécule. Pour des raisons éthiques, aucun embryon humain ne sera créé et la fertilité des spermatozoïdes sera évalué à partir de 2 paramètres complémentaires : la traversée de la zone pellucide (ZP) d'un modèle humanisé de souris (souris exprimant les 4 protéines de la ZP humaine et dépourvue des protéines de la ZP de souris) et la fusion avec des ovocytes d'hamster (Test de pénétration avec les ovocytes de hamster).
- Finalement, nous terminerons cette étude, avec un axe toxicologique permettant de mesurer l'impact du traitement des spermatozoïdes sur la viabilité et l'intégrité de l'ADN spermatique. Nous intéresserons à la mesure de la compaction (test bleu d'aniline et chromomycine A3) ainsi qu'à la fragmentation (TUNEL test, Sperm Chromatin Structure Assay). Ces résultats, associés aux larges études préalablement réalisées sur 2 modèles animaux (murin et bovin), nous permettront de lancer une phase II d'un essai clinique (la phase 1 a déjà été réalisé, car il s'agit d'un repositionnement de molécule) afin de démontrer l'intérêt du traitement des spermatozoïdes par cette molécule dans le cadre de l'IIU humaine.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Accompagner la procréation avec don d'ovocytes : les apports d'un groupe à médiation Photolangage©

**BOURDET-LOUBERE Sylvie** - Laboratoire Cliniques Pathologique et Interculturelle (LCPI) - EA 4591

Université Toulouse Jean-Jaurès

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** Ce projet correspond à une étude de faisabilité à propos de l'acceptabilité et de l'intérêt d'un groupe à médiation Photolangage© pour des couples concernés à titre de receveurs dans la procréation avec accueil d'ovocytes. Le dispositif testé vise à accompagner le processus de deuil de la fertilité de la femme et l'acceptation de la technique procréative par don en vue d'exprimer, de partager et d'assouplir : 1) Les représentations de la parentalité (paternité, maternité) 2) Les représentations de la femme et de l'homme en ce qui concerne l'apport biologique de la donneuse dans la conception d'un enfant. **Résultats attendus :** Une meilleure connaissance des processus psychiques complexes qui président aux positions et au lien imaginaire des couples en attente d'un accueil d'ovocytes – Une évolution des représentations des liens de filiation et d'affiliation – Une diminution des symptômes dépressifs et anxieux - Une amélioration de l'estime de soi – Le maintien ou la restauration d'un ajustement conjugal de qualité. **Méthodologie :** Nous prévoyons un essai randomisé incluant 2 groupes de 10 couples sur 1 an. Le groupe traité bénéficiera d'une médiation Photolangage© sur une année, à raison de 4 séances annuelles avec les deux membres des couples receveurs, ainsi que des entretiens individuels semi-directifs avec chacun des partenaires en amont, à la mi-temps et dans l'après coup du groupe. Le groupe témoin bénéficiera de la prise en charge classique proposée dans le service dans l'indication du don d'ovocytes (la participation à un groupe à médiation Photolangage© pourra leur être proposée s'ils le souhaitent avec 12 mois de décalage). La comparaison entre les 2 groupes sera faite à l'aide de la version française des questionnaires suivants : BDI-II (Beck & al., 1998), STAI (Spielberger, 1983), EES (Rosenberg, 1965) et DAS (Spanier, 1976).

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Impact de la maturation in vitro et de la vitrification ovocytaire dans le cadre de la préservation de la fertilité féminine

**BRUGNON Florence** - Laboratoire de Biologie de la Reproduction, AMP-CECOS (Pôle FEE), CHU Estaing ;

1 place Lucie et Raymond Aubrac,  
63003 Clermont-Ferrand Cedex 1

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les traitements anticancéreux peuvent altérer la fertilité des patientes en réduisant le stock ovocytaire et diminuant les chances grossesse futures de ces patientes. La préservation de la fertilité avant la mise en œuvre de ces traitements peut être réalisée par cryoconservation de tissu ovarien et/ou des ovocytes. La technique de référence pour la préservation de la fertilité de ces patientes est la cryoconservation d'ovocytes matures par vitrification. Néanmoins, la stimulation de l'ovulation n'est pas toujours possible (contre-indication à la stimulation hormonale, urgence thérapeutique, jeunes filles prépubères). Dans ce cas, seuls des ovocytes immatures (issus de ponction ovarienne ou de tissu ovarien prélevé) peuvent être recueillis nécessitant une maturation in vitro (MIV) en vue d'une utilisation ultérieure pour restauration de la fertilité. Il n'est pas clairement établi si la vitrification doit être effectuée avant ou après MIV. Le but de cette étude est de mieux comprendre les effets de la vitrification des ovocytes maturés in vitro en étudiant la qualité de leur maturation nucléaire et cytoplasmique. L'utilisation d'un automate de vitrification (Gavi®, Merck) sera validée au cours de cette étude. Pour cela, différents paramètres seront analysés sur les ovocytes maturés in vitro : la cinétique de reprise de la méiose, la structure du fuseau et l'alignement des chromosomes, la relocalisation des granules corticaux, la ségrégation méiotique et la stabilité de l'expression des facteurs maternels afin de définir s'il est préférable de vitrifier les ovocytes avant ou après MIV. L'analyse sera effectuée sur des ovocytes immatures recueillis au cours de tentatives d'ICSI (Injection Intra-Cytoplasmique de Spermatozoïdes). Cinq groupes seront étudiés: ovocytes frais maturés in vitro et non vitrifiés (Groupe 1 contrôle, n=40), ovocytes vitrifiés manuellement (a) à l'aide d'un automate (Gavi®) (b) après MIV (Groupes 2a, n=40 et 2b, n=40), ovocytes vitrifiés avant MIV (Groupes 3a, n=40 et 3b, n=40). Nous analyserons dans chacun des groupes :1) La cinétique de reprise de la méiose avec expulsion du 1er globule polaire par time-lapse (Geri®, Merck), 2) L'organisation du fuseau méiotique et l'alignement des chromosomes par immunofluorescence (IF) en microscopie confocale avec marquage de l'alpha-tubuline, 3) La ségrégation méiotique par CGH-Array 4) La relocalisation des granules corticaux au niveau du cortex par IF en microscopie confocale et 5) La stabilité des facteurs maternels sur ovocyte unique par qPCR. Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet permettront à terme, d'optimiser notre protocole de préservation de la fertilité des patientes.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Préservation de la fertilité par congélation d'ovocytes en cas de tumeur ovarienne bénigne à haut risque d'altération du stock folliculaire

**DECANTER Christine** - Service AMP et Préservation de la fertilité

Hôpital Jeanne de Flandre, service de chirurgie gynécologique CHU de Lille

Rue Eugène Avinée

59037 Lille cedex

EA de rattachement : EA 4308 « gamétogénèse et qualité du gamète »

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les kystes ovariens bénins constituent une pathologie fréquente. On estime qu'une femme sur quatre en présentera un durant sa période d'activité génitale. Ces kystes sont diagnostiqués devant un tableau d'algies pelviennes ou, fortuitement, lors d'un examen échographique. En cas de persistance de l'image kystique, une chirurgie est nécessaire pour identifier la nature du kyste. 25% d'entre eux sont organiques (endométriomes, kystes séro-mucineux ou dermoïdes) et ont la particularité d'être récidivants et d'occasionner des chirurgies itératives. Quelle que soit la technique adoptée pour l'exérèse du kyste, il existe un risque d'altération du capital folliculaire ovarien et donc d'infertilité secondaire voire d'insuffisance ovarienne. Les techniques de préservation de la fertilité (PF) se sont considérablement développées à la faveur des progrès en congélation ovocytaire. Depuis 2013, la vitrification ovocytaire, qui est une méthode de congélation ultra-rapide, n'est plus considérée comme expérimentale et doit être proposée comme une technique de routine en PF. En France, la loi prévoit que « toute personne dont la prise en charge est susceptible d'altérer la fertilité, ou dont la fertilité risque d'être prématurément altérée par un traitement médical ou autre, puisse bénéficier du recueil ou de la conservation de ses gamètes en vue de la préservation et de la restauration de sa fertilité », offrant ainsi l'opportunité d'étendre les stratégies de PF en dehors du seul champ de l'oncologie. Aucune étude de cohorte n'a été publiée à ce jour dans le cadre de la thématique des tumeurs ovariennes bénignes et PF. L'objectif de notre étude est d'évaluer prospectivement la cohorte ovocytaire obtenue après stimulation ovarienne pour préservation de la fertilité (nombre d'ovocytes matures éligibles pour la vitrification) chez de jeunes patientes porteuses de tumeurs ovariennes bénignes à hauts risques de récurrence et/ou d'amputation du capital folliculaire : endométriomes, kystes séro-mucineux ou dermoïdes. 1 à 3 cycles d'accumulation ovocytaire seront proposés systématiquement chez toute patiente présentant une tumeur ovarienne bénigne avec les caractéristiques précitées. L'adhésion des patientes au protocole sera évaluée par le nombre de patientes ayant accepté le principe de l'accumulation ovocytaire. De la même manière, la tolérance fonctionnelle de la stimulation puis de la ponction ovocytaire seront étudiées à l'aide de questionnaires téléphoniques le lendemain de la ponction.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Impact du procédé et du milieu de vitrification ovocytaire

**FAUQUE Patricia** - Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS 14 rue Gaffarel 21079 DIJON

[Retour tableau](#)

### Résumé

En quelques décennies, la cryoconservation ovocytaire par le procédé de vitrification s'est imposée dans le monde de la biologie de la reproduction. Une nette amélioration des taux de survie depuis les prémices de la congélation lente a été observée avec la vitrification mais avec des résultats très hétérogènes. En effet, la vitrification manuelle reste une technique opérateur-dépendant avec une longue courbe d'apprentissage et ne permettant pas de dépasser un taux de survie des ovocytes de 70-80%. De plus, le procédé de vitrification pourrait diminuer les capacités développementales des ovocytes comme cela a été démontré chez les mammifères. Il est donc crucial, que l'on améliore nos protocoles et également nos connaissances sur l'impact de ces techniques chez l'Homme. La commercialisation récente d'un automate de vitrification permettrait de standardiser une partie du procédé de vitrification depuis la mise en contact/échanges de fluides jusqu'au scellement des dispositifs, et ainsi potentiellement d'augmenter le taux de survie des ovocytes. Dans l'intérêt des femmes, il apparaît ainsi majeur que leur capital fertilité soit préservé avec la technique offrant les meilleurs taux de survie et reproductibilité tout en respectant les aspects sécuritaires. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a comparé au sein d'une même patiente les protocoles de vitrification ovocytaire et en particulier le protocole semi-automatisé sur la viabilité ovocytaire. Ainsi nous souhaitons mettre en place une étude comparative entre la technique semiautomatisée (système Gavi) et une technique de routine, manuelle, toutes deux en système fermé, à partir d'ovocytes maturés in vitro. La viabilité ovocytaire sera étudiée à l'échelle cellulaire mais aussi moléculaire. Une première évaluation de la viabilité ovocytaire sera classique et appréciée par l'absence de lyse de l'ovocyte post-décongélation (une différence +15% est attendue avec le système Gavi). Cette évaluation sera ensuite complétée par l'étude dans les deux groupes expérimentaux de la lyse ovocytaire et du degré de réhydratation des ovocytes jusqu'à trois heures post-décongélation à l'aide de mesures morphométriques qui seront réalisées grâce à l'utilisation du système time-lapse. Nous prévoyons aussi d'étudier le taux de résistance à la micro-injection « test » (sans spermatozoïde). Enfin l'étude des profils transcriptomiques des ovocytes non lysés après dévitrification et des ovocytes dits "contrôles" (non vitrifiés au sein de la même patiente) sera ensuite mise en œuvre. Nous avons prévu pour répondre au mieux à la critique que les résultats d'ovocytes immatures ne peuvent pas être transposables à ceux d'ovocytes maturés in vivo, de comparer nos données transcriptomiques avec celles de la littérature ainsi qu'à celles d'ovocytes de donneuses qui auront accepté de céder leurs ovocytes pour la recherche. Pour ces analyses nous allons déployer des technologies innovantes dans ce domaine chez l'Homme (RNAseq sur single-cell). Soixante-quatre patientes volontaires sont prévues pour la participation à cette recherche biomédicale, soit 128 ovocytes pour répondre à l'objectif primaire. Nous avons finalisé ces inclusions. Notre demande concerne le soutien financier pour réaliser le réchauffement, l'évaluation de la survie ovocytaire, le degré de réhydratation, la résistance à la micro-injection et les études transcriptomiques.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Recherche de la maladie résiduelle au sein du tissu testiculaire conservé chez des patients ayant une leucémie aigüe

**FERAILLE - RIVES Aurélie** - Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS

EA 4308 « Gamétogenèse et Qualité du Gamète »

Hôpital Charles Nicolle - CHU Hôpitaux de Rouen

1 rue de Germont

76031 Rouen cedex

[Retour tableau](#)

### Résumé

Environ 2550 nouveaux cas de cancer sont diagnostiqués annuellement chez les enfants et les adolescents, les leucémies aigües étant les plus fréquents. L'amélioration des taux de survie associée au développement de procédures de congélation des gamètes et tissus germinaux ont permis de proposer aux garçons prépubères la préservation de leur fertilité par congélation du tissu testiculaire. Le tissu testiculaire décongelé doit subir une maturation pour produire des spermatozoïdes utilisables en Assistance Médicale à la Procréation qui peut s'envisager selon différentes modalités : (i) la maturation in vitro des spermatogonies (spermatogenèse in vitro), (ii) la maturation in vivo des spermatogonies après transplantation autologue ou greffe de tissu testiculaire. Cependant, la transplantation de spermatogonies ou la greffe de tissu testiculaire interroge sur le risque de réintroduction de la maladie plus particulièrement dans les leucémies aiguës. A notre connaissance, aucune étude n'a évalué la présence de cellules tumorales au sein du tissu testiculaire de patients ayant bénéficié d'une conservation de tissu testiculaire, en dehors de l'examen anatomo-pathologique conventionnel. L'objectif de cette étude, "preuve du concept", est d'identifier la présence de cellules tumorales par biologie moléculaire au sein du tissu testiculaire de garçons prépubères ou adolescents ayant bénéficié d'une conservation du tissu testiculaire avant allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour la prise en charge thérapeutique de leur leucémie aigüe. Les échantillons biologiques sont actuellement disponibles au sein du Centre de Ressources Biologiques GERMETHEQUE. La recherche de cellules tumorales au sein du tissu testiculaire s'effectuera selon trois approches différentes : (i) sur un fragment testiculaire après décongélation, (ii) après xénogreffe chez une souris immuno-déficiente et (iii) après 7 et 14 jours de culture organotypique. Chez la souris immuno-déficiente greffée, la dissémination des cellules tumorales sera également évaluée sur différents organes. La recherche de la maladie résiduelle dans les fragments testiculaires sera réalisée par qPCR et RT-qPCR en utilisant les marqueurs clono-spécifiques pour les leucémies aigües lymphoblastiques et les marqueurs de positivité tels que l'expression de NPM1 dans les leucémies aigües myéloblastiques. La caractérisation initiale de ces marqueurs sera réalisée sur les prélèvements médullaires du diagnostic. Les résultats de cette étude nous permettront de confirmer la faisabilité des différentes approches proposées pour la détection des cellules tumorales dans le tissu testiculaire conservé et d'envisager une étude multicentrique prospective en vue d'une application clinique ultérieure.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Projet EXFO : Analyse des vésicules extracellulaires (microparticules and exosomes) issues du liquide folliculaire des patientes infertiles normaux poids et obèse avec ou sans SOPK

**FROMENT Pascal** - Centre Val de Loire - UMR de Physiologie de la Reproduction et des Comportements

37380 – Nouzilly France

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte : La maturation des gamètes chez les mammifères nécessite une signalisation importante entre les cellules germinales et leurs cellules somatiques qui les soutiennent. Récemment, il a été montré que des vésicules extracellulaires contenant des protéines et des petits ARN régulateurs non codants appelés microARN étaient sécrétées par les cellules ovariennes dans le liquide folliculaire (microparticules, et exosomes). Le contenu de ces vésicules jouerait un rôle dans la qualité des ovocytes. Peu d'études sur ces vésicules ovariennes ont été réalisées chez la femme, mais certaines d'entre elles ont montré l'importance des exosomes dans la qualité ovocytaire. Ainsi des compositions différentes dans les exosomes ont été observées chez les patientes « jeunes » (<31 ans) versus patientes plus âgées (>38 ans). Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), responsable d'une infertilité très fréquente touchant plus de 15% des femmes en âge de procréer est fréquemment associé à des troubles du métabolisme. La majeure partie des patientes SOPK font appel aux techniques de procréation médicalement assistée. Objectifs : L'objectif de ce projet est d'obtenir une vision « globale » des vésicules extracellulaires (microparticules, et exosomes) chez des patientes normaux poids ou obèse avec ou non un SOPK. Dans ce projet, nous analyserons la composition en protéine et en microARN des vésicules extracellulaires chez des cohortes de patientes SOPK ou non avec un  $18 < \text{IMC} < 25$  (non obèse) ou avec un  $\text{IMC} > 30$  et nous étudierons le rôle de ces vésicules sur la physiologie des cellules ovariennes. Résultats attendus : Nous établirons d'une part les profils d'expression des microARN et des protéines pouvant être impliquées dans la physiopathologie sous-jacente du SOPK. D'autre part, nous étudierons le rôle de ces vésicules extracellulaires sur la prolifération cellulaire, l'apoptose, la stéroïdogénèse, le métabolisme du glucose et l'insulino sensibilité des cellules ovariennes. L'exposition des 4 types d'exosomes sur des cellules de granulosa devrait permettre de confirmer leurs actions spécifiques qui peuvent être néfastes dans la maturation ovocytaire. La caractérisation des vésicules extracellulaires dans le liquide folliculaire pourrait améliorer le diagnostic des maladies de la reproduction, notamment des patientes infertiles qui sont atteintes du SOPK, et fournir des biomarqueurs de la qualité des ovocytes dans le traitement de procréation assistée. Methodologie: Les outils mis en place sont la purification des vésicules extracellulaires, l'analyse par spectrométrie de masse des protéines contenus dans ces vésicules (lab.M.Salzet), le contenu en microARN par séquençage de type RNAseq ainsi que des tests biologiques cités ci-dessus lors de l'exposition de cellules de granulosa par les exosomes issus des 4 groupes.

[Retour tableau](#)

Année: 2020

## Effet des immunoglobulines pour retarder l'âge gestationnel à la 1ère transfusion in utero dans les allo-immunisations très sévères

**MAISONNEUVE Emeline** - Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale, Unité clinique Service de Médecine fœtale, DMU ORIGYNE

Hôpital Armand Trousseau,

26 avenue du Dr Arnold Netter

75012 PARIS

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs:** Les allo-immunisations érythrocytaires surviennent dans 0,5% des grossesses. Elles sont considérées comme très sévères lorsqu'elles sont associées à un antécédent de transfusion in utero (TIU) avant 20-24 semaines d'aménorrhée (SA) ou de décès périnatal en lien direct avec l'allo-immunisation. Plus particulièrement, le risque de perte fœtale est multiplié par 9 en cas de TIU à un terme précoce. Les immunoglobulines polyvalentes intraveineuses (IgIV) sont utilisées depuis plusieurs décennies dans ce contexte, du fait de leur action immuno-modulatrice. Leur efficacité demeure contestée dès lors qu'elle n'a pu être évaluée qu'à partir de petites séries rétrospectives avec des schémas d'administration différents. Notre objectif est de démontrer si les IgIV permettent un gain d'au moins 2 semaines d'âge gestationnel à la 1ère TIU, par rapport à la grossesse précédente sans IgIV chez une même patiente, associé à une naissance vivante à un terme supérieur à 32 SA. Les objectifs secondaires de notre étude sont de comparer le nombre de TIU par grossesse et le nombre de transfusions totales (in utero et postnatales), la mortalité périnatale, la morbidité néonatale, la décroissance des dosages pondéraux des anticorps maternels sous IgIV et sa corrélation à la réussite du traitement, ainsi que les effets indésirables des IgIV.

**Résultats attendus:** Une étude préliminaire sur 16 cas traités par IgIV débutées avant 13SA par l'équipe du Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale à l'hôpital Trousseau a mis en évidence un décalage médian de 16 jours à la réalisation de la 1ère TIU par rapport à la précédente grossesse, par rapport à 12 cas non traités par IgIV. Même si ces résultats suggèrent un intérêt potentiel du traitement par IgIV dans les situations d'allo-immunisation sévères, il n'existe actuellement pas d'étude à haut niveau de preuve permettant de diffuser cette recommandation. Ces résultats seraient importants étant donné le coût élevé de cette stratégie, des potentiels effets indésirables chez la mère et la relative rareté des IgIV.

**Méthode:** Nous souhaitons réaliser une étude interventionnelle prospective multicentrique, selon un plan de Simon Minimax à 2 étapes. La réponse au traitement par IgIV est définie par un décalage de la première TIU d'au moins 2 semaines aboutissant à une naissance vivante après 32 SA. Pour estimer la taille de l'échantillon selon le plan de Simon minimax, nous supposons qu'une proportion <30% de TIU différées de plus de 2 semaines n'est pas cliniquement pertinente pour juger de l'efficacité des IgIV, tandis qu'une proportion de > 65% est considérée comme acceptable. Avec un risque  $\alpha$  à 0,05 et une puissance de 90%, nous avons besoin d'inclure 10 patientes présentant une allo-immunisation très sévère pour la première étape: si au moins 3 cas ont un résultat positif à la première étape, alors 7 cas supplémentaires seront inclus dans l'étape 2 pour un total de 17 patientes au maximum. Si au moins 9 des 17 cas ont une TIU reportée de plus de 2 semaines avec une naissance vivante après 32 SA, les IgIV seront jugées comme ayant un effet positif.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Etude de l'Hormone Anti Müllérienne (AMH) dans le liquide folliculaire de patientes bénéficiant d'une préservation de fertilité pour endométriose.

**MATHIEU D'ARGENT Emmanuelle** - Service de Gynécologie Obstétrique et Médecine de la reproduction

Unité Fonctionnelle d'Aide Médicale à la Procréation Hôpital TENON, APHP

4 rue de la Chine, 75020 PARIS

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les mécanismes de l'infertilité en cas d'endométriose sont mal connus, et probablement intriqués. Une altération de la qualité ovocytaire est souvent évoquée, sans qu'aucune étude pour l'instant ne puisse l'affirmer. En Fécondation in Vitro, le nombre d'ovocytes ponctionnés chez les patientes atteintes est significativement inférieur à celui des patientes témoins, mais les taux de fécondation et d'implantation sont similaires dans la majorité des études récentes. A contrario, en don d'ovocytes, les chances de grossesse chez les receveuses sont moindres lorsque les donneuses sont atteintes d'endométriose. Par ailleurs, l'étude du liquide folliculaire chez les patientes atteintes montre une augmentation des concentrations en facteurs inflammatoires, en facteurs angiogéniques, en marqueurs de stress oxydatif, ou en fer, et ces altérations du liquide folliculaire sont corrélées à une diminution des taux de maturation ovocytaire et à une moindre qualité embryonnaire.

L'étude de l'AMH du liquide folliculaire des patientes atteintes d'endométriose pourrait apporter des éléments nouveaux. En effet, dans le liquide folliculaire, la concentration d'AMH semble être un marqueur important de la maturation et de la fécondabilité après stimulation ovarienne par la FSH, et pourrait être corrélée positivement avec les taux de grossesse.

Les études existantes portant sur l'étude de l'AMH du liquide folliculaire en cas d'endométriose sont peu nombreuses, contradictoires et concernent de très faibles cohortes de patientes. Certaines études montrent une diminution de l'AMH dans le liquide folliculaire des patientes atteintes, tandis que d'autres ne montrent pas de différences. Par ailleurs, les concentrations en AMH folliculaires sont rarement interprétées en fonction des caractéristiques des patientes, du stade de leur maladie endométriosique ou des caractéristiques des protocoles de stimulation dont elles ont bénéficié.

Une étude pilote a été menée dans notre centre d'AMP de l'Hôpital Tenon (en collaboration avec l'équipe du Dr Di Clemente), dans le cadre de l'observatoire PREFENDO, qui collige les données des patientes prises en charge dans le service de gynécologie Obstétrique et Médecine de la Reproduction du Pr Daraï pour une préservation de fertilité en contexte d'endométriose et organise une collection biologique pour ces patientes (sang et liquide folliculaire). Ce travail, portant sur l'expression de l'AMH (ARNm) dans les cellules de la granulosa isolées, en cas d'endométriose, a montré que l'expression de l'AMH en cas d'endométriose est significativement plus élevée que chez les témoins. Ceci est conforme à la seule étude récente publiée sur ce sujet. En ce qui concerne la concentration en AMH des liquides folliculaires, une seconde étude préliminaire a étudié des échantillons de liquides folliculaires prélevés chez 22 patientes atteintes d'endométriose et 15 témoins. Les taux d'AMH folliculaires sont comparables dans les 2 groupes. Il nous semble indispensable de faire une étude plus large (nous prévoyons une étude portant sur 40 patientes atteintes d'endométriose, et 20 témoins) comparant l'expression de l'AMH dans les cellules de la granulosa ainsi que les concentrations d'AMH dans les liquides folliculaires chez des patientes atteintes et des témoins, pour lesquels seront également colligées les données personnelles, les données de stimulation et les caractéristiques de l'endométriose. Le but de cette étude sera, à partir de données plus

larges, d'interpréter les résultats des dosages d'AMH folliculaire et de l'expression de l'AMH dans la granulosa en fonction des caractéristiques des patientes (Age, BMI, marqueurs de réserve ovarienne, caractéristiques de l'endométriose, paramètres de la stimulation ovarienne), afin d'affiner nos pratiques en préservation de fertilité en cas d'endométriose, pour conseiller au mieux les patientes sur le nombre optimal d'ovocytes à conserver.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Etude du profil de méthylation de l'ADN mitochondrial ovocytaire au cours du vieillissement ovarien

**MAY-PANLOUP Pascale** - Biologie de la Reproduction CHU Angers & UMR CNRS 6015-INSERM1083

4, rue Larrey

49000 Angers

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les mitochondries ont pour rôle central la production d'énergie mais sont aussi impliquées dans de nombreuses autres fonctions cellulaires. Seul l'ADN mitochondrial (ADNmt) maternel est transmis à la descendance et la masse mitochondriale ovocytaire est essentielle au démarrage du développement embryonnaire. Environ 20% des patientes consultant pour infertilité présentent des signes de vieillissement ovarien. Or, au cours du vieillissement ovarien, ont été mises en évidence des anomalies morphologiques et fonctionnelles des mitochondries ovocytaires, ainsi qu'une baisse de leur contenu en ADNmt. Dans le cadre de ces infertilités, au-delà de l'altération de la compétence ovocytaire à soutenir le développement embryonnaire précoce, se pose la question de la transmission à la descendance de mitochondries altérées. En effet, il a été montré que les anomalies mitochondriales ovocytaires persistaient dans la descendance, associées à des troubles métaboliques qui pourraient résulter de la transmission de ces mitochondries altérées via les cellules germinales. La transmission des troubles métaboliques fait intervenir des mécanismes de transmission épigénétique via les gamètes. En raison de la place de la mitochondrie dans le métabolisme cellulaire et de sa transmission strictement maternelle, l'implication du génome mitochondrial dans la transmission épigénétique est importante à considérer. Il a été mis en évidence que le génome mitochondrial, tout comme le génome nucléaire, peut être méthylé sur ces résidus cytosine. Récemment, il a été montré que l'ADNmt des ovocytes bovins présentait un profil de méthylation spécifique, différents de celui des cellules somatiques et que ce statut de méthylation dépendait de la maturité et de la qualité ovocytaire. Nous proposons d'étudier les modifications du profil de méthylation de l'ADNmt, sur ovocyte isolé, au cours du vieillissement ovarien. La technique utilisée sera celle du whole genome bisulfite sequencing (WGBS). Nous prévoyons de collecter 40 ovocytes immatures au cours des processus de FIV-ICSI réalisés dans notre centre (biocollection) et de comparer le profil de méthylation ovocytaire de patientes présentant une diminution de leur réserve ovarienne à celui de femmes ayant une réserve normale. Parallèlement nous réaliserons la même analyse sur 40 ovocytes matures obtenus dans deux groupes de souris d'âges différents (jeunes versus vieilles). Cette étude repose sur trois partenaires spécialisés dans la mitochondrie, l'épigénétique, la fécondation et le développement embryonnaire précoce. Le but du projet est d'évaluer si l'altération des mitochondries ovocytaires au cours du vieillissement ovarien est associée à une modification de la méthylation de leur ADNmt qui sera transmis à la descendance. Cette étude ouvre la voie de l'épigénétique mitochondriale dans l'infertilité qu'il est intéressant de mettre en perspective avec l'augmentation de l'incidence de certaines pathologies chez les enfants issus d'Assistance Médicale à la Procréation.

[Retour tableau](#)

Année: 2020

## Morphologie Mitochondriale et Infertilité Masculine – MMIM

**REYNIER PASCAL** - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire & UMR CNRS 6015-INSERM1083 CHU Angers

4, rue Larrey

49933 Angers Cedex 9

[Retour tableau](#)

### Résumé

Au moins 70 millions de couples sont concernés par l'infertilité dans le monde (Boivin et al. 2007), faisant de celle-ci un véritable enjeu de santé publique. Les différentes techniques D'Aide Médicale à la Procréation (AMP) tentent de palier aux problèmes d'infertilité, cependant le taux de réussite demeure relativement faible (20 % de naissances vivantes en FIV en 2017, Agence de la Biomédecine). La compréhension des mécanismes en lien avec l'infertilité est nécessaire afin de mieux accompagner les couples dans leur désir d'enfant. Les causes d'infertilité sont multiples mais les facteurs sous-tendant la qualité gamétique sont encore mal compris. La mitochondrie, véritable usine à énergie cellulaire, située à la croisée des voies métaboliques et des voies de signalisation, a dans ce cadre, fait l'objet de nombreuses études (Ramalho-Santos, Varum et al. 2009, Otten and Smeets 2015). En particulier, ces études rapportent une réorganisation complexe des mitochondries au cours de la spermatogenèse et un rôle crucial dans la qualité spermatique (Amaral, Lourenco et al. 2013). Dans le spermatozoïde les mitochondries, localisées au niveau de la pièce intermédiaire, fournissent l'ATP indispensable au mouvement flagellaire. Mais au-delà de ce rôle dans la mobilité spermatique ces organites semblent aussi impliqués dans les phénomènes de capacitation et de fécondation notamment. Ainsi les mitochondries pourraient être impliquées dans l'infertilité masculine, soit par le biais d'une altération des paramètres spermatiques, soit par le biais d'une incapacité du spermatozoïde à féconder voire à promouvoir un développement embryonnaire normal. Nous proposons une étude observationnelle monocentrique sur les spermatozoïdes de 60 patients : un premier groupe de 30 patients avec des paramètres spermatiques normaux (groupe témoin) et un second groupe de 30 patients présentant une oligo-asthéo-tératospermie. Ces patients seront recrutés parmi les patients bénéficiant d'une FIV classique ou d'une ICSI au centre d'assistance médicale à la procréation du CHU d'Angers. Les nouveaux outils d'imagerie fluorescente super résolution, dSTORM (direct stochastic optical reconstruction microscopy), permettent d'envisager l'analyse très fine des relations entre le contenu en ADNmt, la morphologie et la distribution des mitochondries, ainsi que la localisation et l'expression des protéines mitochondriales dans le spermatozoïde. Ce travail a pour but, l'analyse des anomalies mitochondriales dans les spermatozoïdes de patients présentant des anomalies spermatiques. Il permettra d'affiner notre hypothèse de l'implication de la mitochondrie dans l'infertilité et d'envisager, ultérieurement, une analyse quantitative de plus grande ampleur. Cette étude nous donne aujourd'hui la possibilité de poursuivre nos travaux sur la mitochondrie et la fertilité masculine. L'expertise en imagerie mitochondriale à haute résolution de notre laboratoire, permettra d'apporter des éléments nouveaux susceptibles d'améliorer notre compréhension du rôle de la mitochondrie dans la qualité spermatique et la fertilité. Ce travail est susceptible d'ouvrir de nouvelles voies à la fois diagnostiques (biomarqueur de la qualité spermatique) et thérapeutiques (amélioration de la prise en charge par l'utilisation de composés ciblant la mitochondrie).

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## L'ADN libre embryonnaire, nouveau biomarqueur non-invasif du potentiel implantatoire de l'embryon en FIV ?

**BROUILLET Sophie** - Unité INSERM 1203 Institut de Médecine Régénérative et Biothérapies (IRMB)  
Hôpital Saint Eloi - CHRU Montpellier 80, rue Augustin Fliche 34295 MONTPELLIER

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'infertilité est un problème de santé publique majeur qui touche un couple sur six en âge de procréer. En fécondation in vitro (FIV), le taux moyen d'accouchement après tentative est de l'ordre de 20% en France (chiffres de l'Agence de la Biomédecine, 2018). Malgré des avancées importantes, l'identification des embryons de haut potentiel implantatoire parmi la cohorte embryonnaire reste toujours imparfaite. L'identification de biomarqueurs prédictifs et objectifs de la compétence embryonnaire est nécessaire afin d'améliorer le taux de naissances vivantes en FIV.

Des données récentes de la littérature internationale suggèrent que la quantification d'ADN libre dans les milieux de culture embryonnaire pourrait être particulièrement prometteuse et constituer un nouveau biomarqueur prédictif et objectif du succès de la FIV. Néanmoins, aucune publication n'a rapporté la valeur prédictive du dosage d'ADN libre dans la survenue d'une naissance vivante après transfert, critère le plus important pour évaluer le succès de la FIV.

Suite (1) à la réalisation d'une première étude de faisabilité par notre équipe, (2) au dépôt de notre brevet sur le dosage de l'ADN libre dans le milieu de culture comme outil prédictif du potentiel implantatoire embryonnaire (<https://patents.google.com/patent/US20160138104A1/en>) et (3) à la publication de notre protocole optimisé de culture embryonnaire pour contrôler le risque de contamination des milieux de culture par de l'ADN exogène (Brouillet, et al. 2020), nous avons pour projet d'évaluer l'intérêt du dosage de l'ADN libre dans les milieux de culture comme nouveau biomarqueur prédictif de la survenue d'une naissance vivante en FIV.

Pour répondre à nos objectifs, nous avons pour projet de conduire une étude prospective non interventionnelle au sein du service de Biologie de la Reproduction du CHU de Montpellier. La collecte des milieux de culture et des données clinico-biologiques associées ainsi que le dosage de l'ADN libre par quantification des séquences ALU115 sera réalisé par l'équipe de recherche INSERM U1203 selon son domaine d'expertise. Le dosage de l'ADN libre embryonnaire sera réalisé par le laboratoire de cytogénétique du CHU de Grenoble.

L'originalité du projet repose sur notre approche innovante permettant de quantifier spécifiquement l'ADN embryonnaire libre grâce à l'association des deux protocoles mis en place dans nos équipes respectives ainsi qu'à la synergie de nos domaines d'expertise (Biologie de la reproduction et dosage de l'ADN libre pour l'unité INSERM 1203/CHU de Montpellier ; Test d'une technique alternative de dosage de l'ADN embryonnaire par le Laboratoire de Cytogénétique du CHU de Grenoble).

Les retombées de l'étude sont de déterminer si la quantification d'ADN libre peut être utilisé comme biomarqueur non-invasif objectif de la compétence embryonnaire à l'implantation et à la naissance dans le choix des embryons à transférer et/ou à congeler. Nos résultats participeront également à augmenter les connaissances sur le développement embryonnaire précoce et l'acquisition du potentiel implantatoire dans l'espèce humaine. De plus, la validation d'un protocole de dosage de l'ADN embryonnaire dans les

milieux de culture pourrait permettre d'avancer également sur la mise au point du diagnostic préimplantatoire non-invasif (Brouillet, et al. 2020).

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Etude de la présence du SARS-CoV-2 dans le sperme : Impact sur la préservation de la fertilité masculine oncologique

**BRUGNON Florence -**

Laboratoire AMP-CECOS, pôle FFE, CHU Clermont-Ferrand, Hôpital Estaing

1 Place Lucie et Raymond Aubrac,

63003 CLERMONT FERRAND CEDEX

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'objectif de notre étude est d'analyser la présence du SARS-CoV-2 dans le sperme humain en différenciant sa présence potentielle dans le liquide séminal et/ou les spermatozoïdes chez les patients pris en charge pour préservation de la fertilité pour indication oncologique. En effet, la présence du virus SARS-CoV-2 dans le sperme est encore incertaine et controversée dans la littérature. Il existe, par ailleurs, un risque de contamination lors du recueil de sperme par masturbation.

A notre connaissance, aucune étude ne rapporte l'étude de la présence de SARS-CoV-2 dans le liquide séminal et/ou dans les spermatozoïdes chez les patients atteints de cancer.

Pour mener à bien cette étude multicentrique (18 CECOS participants), chaque patient qui bénéficiera d'une préservation de fertilité oncologique sera reçu en consultation avec la recherche d'une symptomatologie COVID (fièvre, toux, céphalées, myalgies, diarrhées, anosmie, pharyngodynie) et effectuera un prélèvement nasopharyngé pour une recherche de SARS-CoV-2 par RT- qPCR le jour du prélèvement de sperme. En complément de l'analyse moléculaire, des tests sérologiques seront réalisés le jour du prélèvement de sperme et 30 à 50 jours après le prélèvement de sperme au cours du suivi itératif du cancer du patient. Le prélèvement de sperme sera traité par migration sur gradient de densité (TMS) pour conserver de façon séparée le liquide séminal et les spermatozoïdes pour une analyse à posteriori de la présence de SARS-CoV-2.

Etant donné l'absence de contrôle positif dans le sperme, un groupe contrôle sera constitué à partir de liquides séminaux, de spermatozoïdes et de spermatozoïdes natifs issus de patients non porteurs du SARS-CoV-2 et infectés in vitro par une concentration croissante de SARS-CoV-2. Cette étape permettra de mettre au point la RT-PCR quantitative sur les 2 types de prélèvements pour lesquels il n'y a que peu de données dans la littérature et de s'assurer de la robustesse de la détection.

Dans un second temps, les spermatozoïdes natifs infectés seront traités par TMS afin de séparer les liquides séminaux et les spermatozoïdes et de mesurer quantitativement la charge virale dans chaque fraction.

Cette étape permettra de mettre de valider notre méthode de sélection avant de réaliser les mesures sur les patients ayant bénéficié d'une préservation de la fertilité

Ainsi, nous pourrons mesurer au sein d'un même éjaculat la concordance entre la présence du SARS-CoV-2 dans le liquide séminal et dans les spermatozoïdes.

Nous déterminerons également si la présence du virus dans le sperme est liée à :

- (i) la présence de SARS-CoV-2 dans le prélèvement nasal;
- (ii) la symptomatologie du patient;
- (iii) un profil sérologique;
- (iv) une pathologie et/ou un/des traitement(s) oncologique(s) particulier(s).

Nous pourrons également déterminer si la présence du virus SARS-CoV-2 dans le sperme affecte la qualité spermatique.

Cette étude sera, à notre connaissance, la première à étudier la présence du SARS-CoV-2 dans le sperme humain chez les patients atteints de cancer. Cela permettra de garantir la sécurité de leurs prélèvements durant la période épidémique en vue de leur utilisation ultérieure. Elle permettra également d'adopter une stratégie de prise en charge en AMP durant et après la période de pandémie COVID-19.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Impact de l'âge paternel sur la qualité épigénétique des gamètes mâles

**EL KHATTABI Laïla** - Institut Cochin INSERM U1016

Bâtiment Faculté

Equipe « Génomique, Epigénétique et Physiopathologie de la Reproduction »

24, Rue du Faubourg Saint Jacques

75014 Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'âge paternel est négativement corrélé aux paramètres spermatiques, à la fertilité et à la santé des enfants alors même que la proportion de paternité tardive augmente. Les conceptions issues de pères de plus de 40 ans ont un risque plus élevé de pathologies obstétricales et périnatales, de certaines maladies monogéniques, ainsi qu'un certain nombre de pathologies complexes telles que les troubles du spectre autistique et la schizophrénie. Les mécanismes moléculaires ne sont toujours pas élucidés.

Le vieillissement induit des changements transcriptionnels et épigénétiques dans les cellules somatiques. Ce projet vise à explorer l'effet de l'âge paternel sur le paysage d'expression génique, de marques épigénétiques et d'organisation de la chromatine dans la lignée germinale mâle. Nous posons l'hypothèse que certaines de ces altérations qui font partie de l'héritage paternel transmis à l'embryon après la fécondation, participeraient à la baisse de fertilité avec l'âge mais aussi à l'augmentation du risque de survenue de pathologies obstétricales et infantiles liées à l'âge paternel au moment de la conception.

Nous proposons d'appliquer une approche de biologie intégrative par des analyses pangénomiques des profils épigénétique et transcriptionnel du spermatozoïde. Nous analyserons des prélèvements humains issus du protocole de la collection biologique Germethèque. Deux groupes d'âge seront étudiés : le groupe des hommes « jeunes » ayant entre 20 et 30 ans et le groupe des hommes « âgés » ayant entre 50 et 60 ans.

Nous réaliserons des analyses très précises et informatives par :

- (i) un séquençage des ARN totaux (ARN codants mais aussi non codants très présents dans le spermatozoïde mature) ;
- (ii) une étude de l'organisation de la chromatine et en particulier des histones retenues au niveau de gènes impliqués dans le développement embryonnaire précoce ;
- (iii) une étude de l'impact sur la méthylation de l'ADN qui est un marqueur constant du vieillissement au moins dans les cellules somatiques.

L'approche multi-omics adoptée dans cette étude est indispensable à la compréhension des mécanismes moléculaires liés à l'âge afin de pouvoir évaluer leur rôle potentiel dans le risque accru de pathologies

complexes chez la progéniture et mieux informer les cliniciens et les patients voire la population générale. Ces approches se révèlent aujourd'hui très utiles et s'appliquent de plus en plus dans les études cliniques pour identifier des marqueurs pronostiques et des pistes thérapeutiques ou préventives.

[Retour tableau](#)

Année: 2021

## Rôle de l'infertilité sur la régulation épigénétique chez les nouveau-nés

**FAUQUE Patricia** - Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS

14 rue Gaffarel

21079 DIJON

[Retour tableau](#)

### Résumé

Depuis leur introduction, les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) ont permis la naissance de millions d'enfants chez des couples infertiles, totalisant de 2 à 6% des naissances en Europe. Toutefois il a été rapporté par plusieurs équipes que les enfants conçus par AMP présentent un risque plus élevé de complications et de pathologies (incidence accrue de petits poids de naissance, de troubles de la croissance et du métabolisme ainsi que des retards de développement psychomoteur ou mental). Plus spécifiquement, une augmentation du nombre de pathologies liées à l'empreinte génomique, tel que le syndrome de Beckwith-Widemann, a également été retrouvée chez les enfants conçus par AMP.

La période de péri-conception -gaméto-genèse, fécondation et développement embryonnaire précoce- étant effectivement physiologiquement soumise à une reprogrammation épigénétique intense (avec des modifications épigénétiques importantes en effet au niveau de la méthylation de l'ADN), renforce l'hypothèse de l'existence d'un risque de dérégulation épigénétique en contexte d'AMP. La question si ce risque serait rattaché aux procédures utilisées en AMP ou bien s'il serait lié aux facteurs biologiques intrinsèques rattachés à l'infertilité, n'est toujours pas résolue.

Il est intéressant de souligner que récemment nous avons pu démontrer que l'infertilité féminine expliquerait 20% de l'excès de risque de malformations majeures congénitales retrouvé chez les enfants conçus par AMP et que l'endométriose serait associée à une augmentation du risque de pathologies impliquant les gènes soumis à l'empreinte - régulés par la méthylation de l'ADN- chez leurs enfants indépendamment de leur mode de conception.

Pour répondre à cette question majeure, nous nous proposons d'étudier pour la première fois le rôle de l'infertilité sur la régulation épigénétique des gènes soumis à empreinte (GSEs), des éléments transposables (Transposable Elements, TEs) et du génome in toto (méthylome) à la naissance.

En effet, nous nous proposons d'évaluer de manière exploratoire, l'impact de l'infertilité masculine et/ou féminine sur les niveaux de méthylation des GSEs et TEs au niveau du conceptus (sang de cordon et placenta) à l'aide d'une méthode ciblée (bisulfite – pyroséquençage) et d'évaluer l'impact de l'infertilité sur les changements de méthylation à l'échelle globale du génome au niveau placentaire en utilisant une puce à ADN nouvelle génération (Human-MethylationEPIC-BeadChip-Illumina).

Cette étude totalement innovante tant par le sujet développé que par son approche analytique, apportera des informations majeures sur le rôle propre de l'infertilité dans la susceptibilité des variations épigénétiques décrites en contexte d'AMP.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Préservation de la fertilité et cancer : cellules souches germinales et thérapies anticancéreuses ciblant les gènes DOT1L et AF9

**FOUCHET Pierre** - Laboratoire d'Etude des Cellules souches Germinales

U MR008/I RCM/ /I BFJ/CEA - Fontenay aux roses

[Retour tableau](#)

### Résumé

Environ 2 550 nouveaux cas de cancers sont diagnostiqués par an chez les enfants, et leur survie est maintenant de plus de 80 % en raison des progrès réalisés dans la prise en charge de la maladie (source Institut National du Cancer). Chez les enfants traités par chimiothérapie et/ou radiothérapie, un des effets secondaires majeurs qui altère la qualité de vie après guérison est l'atteinte du stock de cellules souches germinales (CSGs) et les problèmes d'infertilité qui en découlent.

Chez l'enfant prépubère, la préservation de biopsies testiculaires est actuellement préconisée chez ces patients dans l'optique du développement de nouvelles thérapies à partir des CSGs présentes dans le prélèvement, le nombre de cellules souches au moment de la congélation est donc un paramètre primordial pour le succès de futures thérapies.

L'étude des effets des chimiothérapies sur les cellules souches est importante afin de minimiser leurs effets délétères sur le stock et la fonctionnalité de ces cellules. L'avènement de thérapies ciblées semble prometteur pour traiter certains cancers. La perspective de cibler l'activité des gènes DOT1L ou AF9 afin de traiter les leucémies avec un réarrangement impliquant MLL, notamment chez les enfants prépubères, souligne l'importance d'étudier leur fonction sur le développement du lignage germinale, qui reste peu connu. Notamment, aucune donnée n'est disponible sur les conséquences d'une altération de la fonctionnalité de ces deux gènes sur le potentiel des CSGs. Ce projet tend à étudier le rôle des gènes AF9 et DOT1L dans la régulation du destin cellulaire des CSGs et dans la réponse aux dommages de l'ADN dans les modèles murins et humains.

Ce projet devrait ainsi permettre d'apprécier l'impact d'une inhibition de DOT1L ou d'AF9 sur le pool de CSGs et le risque d'infertilité, et contribuer à mieux définir la prise en charge de la préservation de fertilité chez les enfants atteints de cancer.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Les expériences des hommes dans l'assistance médicale à la procréation

**HERTZOG Irène-Lucile** - Centre de Recherche Risques & Vulnérabilités

Université de Caen Normandie

Esplanade de la Paix

CS 14 032 CAEN CEDEX

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Contexte

Dans les parcours d'assistance médicale à la procréation, les hommes se trouvent très souvent marginalisés tant par la biomédecine – l'attention se portant essentiellement sur les corps procréateurs féminins sur lesquels les soins se concentrent – que par les recherches en sciences sociales – promptes à anticiper les difficultés à recruter des hommes dans des enquêtes sur l'infertilité.

En France, l'essentiel des travaux sur l'infertilité masculine se concentre ainsi sur la question du secret dans l'AMP avec tiers donneur et sur l'éventualité de la levée de l'anonymat, sur la question du recueil de sperme par masturbation qui introduit le sexuel dans un milieu hospitalier, ou encore sur la blessure identitaire affectant psychologiquement les hommes infertiles. Une lacune subsiste donc dans les études

en sciences sociales sur les expériences et représentations masculines de la prise en charge médicalisée de l'infertilité, quelle qu'en soit d'ailleurs l'origine.

## Objectifs

L'objectif principal est de comprendre ce qui se joue pour les hommes dans les parcours d'assistance médicale à la procréation en veillant à porter une attention particulière aux inégalités sociales (de genre, de classe et d'âge).

Trois hypothèses guideront l'étude :

- (1) l'entrée des hommes dans les parcours d'AMP par une consultation chez le/la gynécologue de leur conjointe reconfigure les rapports de genre et influence leur positionnement dans le parcours biomédical ;
- (2) les rôles de genre établis au sein des couples structurent fortement le vécu par les hommes des parcours d'AMP ;
- (3) la médiatisation d'études scientifiques abordant l'influence de facteurs environnementaux sur la baisse de la fertilité masculine favorise l'acceptabilité sociale des infertilités masculines.

## Méthodologie

A partir d'une approche ethnographique, ce projet combinera des observations de consultations médicales dans plusieurs centres d'AMP français avec des entretiens semi-directifs auprès de patients confrontés à la prise en charge médicale de leur infertilité conjugale, ainsi qu'auprès de soignant·es (médecins, biologistes, sages-femmes, infirmier·ères) au contact de ces mêmes patients.

## Résultats attendus

Cette recherche sociologique vise, dans une démarche compréhensive, à produire des données empiriques sur les représentations et pratiques des hommes concernant le travail procréatif médicalement assisté, tant d'un point de vue matériel que symbolique.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Perturbations moléculaires et cellulaires associées à l'azoospermie sécrétoire

**JULLIEN Jérôme** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) - Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN)

CHU de Nantes

30 boulevard Jean Monnet

44093 Nantes cedex 01

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### OBJECTIFS:

L'azoospermie non obstructive (NOA) représente jusqu'à 10% de l'infertilité masculine. Cependant, les bases mécanistiques d'une telle maladie sont mal comprises, ce qui ralentit les progrès dans le traitement de ces cas d'infertilité. En particulier, une connaissance détaillée de la composition du tissu testiculaire associée à l'état pathologique est mal définie. Nous proposons de classer les cas d'azoospermie testiculaire en générant un inventaire non-biaisé des caractéristiques cellulaires et moléculaires représentatives du testicule de patients souffrant de NOA. Nous affinerons la caractérisation de l'azoospermie en sélectionnant à partir de cet inventaire, les ARNs messagers spécifiques des types cellulaires associés à la maladie. Ces marqueurs moléculaires seront alors utilisés pour révéler la distribution tissulaire des cellules associées à l'azoospermie.

#### METHODOLOGIE :

Tout d'abord des biopsies testiculaires de patient NOA et de patients témoins seront dissociées pour réaliser une analyse de transcriptome en cellule unique (scRNA-seq) afin de révéler les états cellulaires caractéristiques de ces cas d'infertilité. Une analyse bio-informatique de ces données sera ensuite conduite afin de déterminer spécifiquement si l'azoospermie testiculaire entraîne un défaut de composition cellulaire, de prolifération cellulaire, de transcriptome et / ou de voies de signalisation. Des échantillons supplémentaires provenant des mêmes patients seront finalement utilisés pour confirmer le phénotype et affiner notre vision de la distribution topologique des états cellulaires identifiés. Ceci sera réalisé par in situ hybridation en fluorescence multiplexée (ou hybridation Chain Reaction HCR).

#### RÉSULTATS ATTENDUS:

Ces analyses permettront la stratification des cas d'azoospermie en fonction de la composition cellulaire et moléculaire de l'ensemble du tissu testiculaire. Ce projet fournira également une description de la distribution spatiale, dans le tissu testiculaire, des types cellulaires identifiés comme associés à l'azoospermie. L'ensemble des données générées permettra de formuler des hypothèses sur la base

mécanistique de l'origine des défauts de la spermatogénèse caractérisant l'azoospermie et servira de base pour de future analyses fonctionnelles.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Évolution de la réserve ovarienne et des paramètres du spermogramme au cours de traitements utilisés en situation adjuvante dans le mélanome

**MALISSEN Nausicaa** - Service de Dermatologie et Cancérologie Cutanée

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les traitements par immunothérapie anti PD-1 et les thérapies ciblant la voie des MAP kinases, réservées aux patients BRAF mutés, ont révolutionné la prise en charge du mélanome en situation adjuvante. Les patients traités soit par anti-PD-1, soit par anti-BRAF+ anti-MEK pendant 1 an suivant la résection complète de leurs métastases ganglionnaires et/ou viscérales de mélanome ont vu leur risque de récurrence diminuer d'environ 50% permettant l'obtention d'une AMM dans cette indication.

Au vu des données animales disponibles, il est devenu pratique courante, au titre du principe de précaution, de proposer une conservation de la fertilité chez les hommes et femmes en âge de procréer. A notre connaissance, aucune donnée n'est disponible chez l'Homme quant à l'impact de ces thérapeutiques sur la réserve ovarienne et la qualité du spermogramme, ni sur leurs effets mutagènes éventuels.

### Objectif principal :

mesurer l'évolution pré-traitement (T0) et post-traitement immédiat (T1) des taux bruts d'hormone antimüllérienne (AMH) reflétant la réserve ovarienne chez la femme, et du nombre de spermatozoïdes mobiles par éjaculat chez l'homme, chez les patients en âge de procréer traités par immunothérapie anti-PD-1 ou thérapies ciblées en situation adjuvante d'un mélanome à haut risque de récurrence.

### Méthode :

Etude prospective multicentrique (Marseille, Nice, Montpellier, Nîmes) interventionnelle incluant des femmes de 18 à 35 ans et des hommes de 18 à 45 ans au cours de leur visite au CECOS en vue d'une conservation de la fertilité.

Les sujets seront inclus avant l'initiation du traitement adjuvant (T0) et revus en post traitement immédiat (environ 1 an après l'initiation, T1), et, en post traitement tardif (1an après l'arrêt du traitement, T2).

A chacune de leur visite au CECOS (T0, T1 et T2), les femmes bénéficieront d'un dosage de l'AMH et d'un compte des follicules antraux (CFA) par échographie tandis que les hommes réaliseront un spermogramme, spermocytogramme et coloration au bleu d'aniline pour analyse de la condensation de la

chromatine. Un questionnaire standardisé visant à recueillir des données la présence de facteurs pouvant altérer la fertilité sera soumis à chacune de ces visites.

Afin de s'assurer de pouvoir mettre en évidence une diminution a minima de 30% de ces paramètres de fertilité chez l'homme et la femme, il nous faudra inclure 20 hommes et 20 femmes par groupe de traitement (immunothérapie anti-PD-1 /bithérapie ciblées) soit 80 patients au total.

Résultats attendus et perspectives :

Cette étude permettra d'évaluer l'évolution de l'AMH, du CFA, et des paramètres du spermogramme dans notre cohorte de patients traités par anti-PD-1 et thérapie ciblée en situation adjuvante d'un mélanome.

Il s'agit d'une étude préliminaire qui devra être complétée par une étude de plus grande ampleur associée à la réalisation d'un test COMET sur les spermatozoïdes conservés pour rechercher la présence d'effets mutagènes induits par ces traitements.

Les perspectives de ce travail seraient d'avoir une meilleure connaissance des conséquences de ces traitements chez l'Homme afin d'optimiser la prise en charge (choix du traitement adjuvant, proposition d'une autoconservation) des patients en âge de procréer traités par anti-PD-1 ou thérapies ciblées et d'améliorer la qualité de vie post-traitement de ces patients.

Enfin, la multiplication des indications thérapeutiques de traitement par anti-PD1 impliquent des perspectives au-delà du cadre de la seule dermato-oncologie

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

Description et analyse des connaissances en matière de fertilité et exploration du désir de parentalité chez les personnes transgenres adultes dans le cadre d'un parcours de préservation de la fertilité.

**MOREAU Émilie** - Service de biologie de la reproduction – CECOS. Hôpital Tenon, APHP. 4 rue de la Chine. 75020 PARIS

[Retour tableau](#)

## Résumé

L'évolution de l'accompagnement médical des personnes transgenres permet actuellement de proposer la mise en place de stratégies de préservation de la fertilité, idéalement avant l'instauration des traitements hormonaux et/ou actes chirurgicaux dont l'impact sur la fertilité a été montré comme délétère. La dimension « reproductive » et le désir de parentalité chez les personnes transgenres ont longtemps été ignorés. Ces aspects sont pourtant importants à considérer et des mesures de préservation de la fertilité doivent donc être discutées avant le démarrage du parcours médical de transition physique.

Depuis 2018, le service Biologie de la reproduction de l'hôpital Tenon (Paris) propose l'autoconservation de gamètes pour les personnes transgenres qui en émettent le souhait. Une consultation avec un médecin biologiste puis avec une psychologue sexologue permettent de faire le point sur le protocole de préservation et les possibilités d'utilisation des gamètes préservées.

Cette recherche vise à évaluer les connaissances en matière de fertilité et le désir de parentalité des femmes et hommes adultes transgenres. Par ailleurs, cette nouvelle pratique médicale vient interroger les pratiques des professionnel.le.s de santé impliqué.e.s dans la prise en charge.

La recherche vise donc également à explorer les représentations de ces professionnel.le.s afin de comprendre les éventuels freins et éléments facilitateurs dans l'accueil des personnes transgenres.

La méthodologie proposée pour cette recherche est mixte : quantitative et qualitative.

Concernant les patient.e.s, un questionnaire en amont et un autre à distance de l'acte de préservation de fertilité seront créés et proposés à toutes les personnes prises en soins. Une enquête qualitative auprès des personnes ayant accepté sera également réalisée par entretiens semi-directifs afin d'explorer plus finement le vécu subjectif de la préservation de fertilité et de ses implications en termes de connaissances, de représentations et de projections autour de la question reproductive. Des focus groups et des entretiens semi-directifs seront réalisés auprès des professionnel.le.s de santé afin d'analyser leurs représentations d'une telle prise en soins.

L'objectif opérationnel de cette recherche est d'améliorer la prise en soins de ces personnes en termes d'accueil et de procédures, en proposant un protocole de prise en charge et un guide de bonnes pratiques à l'intention des associations de personnes transgenres et des professionnel.le.s de santé impliqué.e.s auprès d'elles.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Syndrome de Silver Russell, fertilité parentale et conception par Aide Médicale à la Procréation

**NETCHINE Irène** - Explorations Fonctionnelles Endocriniennes

26 Avenue du Dr Arnold Netter

75012 Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le Syndrome de Silver Russell (SRS) est une pathologie rare (estimé à 1/30000 naissances) de l'empreinte parentale. L'empreinte parentale est un phénomène de régulation épigénétique qui entraîne une expression monoallélique de certains gènes. Son instauration a lieu dans les gamètes et son maintien est important au stade embryonnaire précoce. Une augmentation de la prévalence des naissances par aide médicale à la procréation (AMP) a été identifiée chez des patients présentant des pathologies de l'empreinte comme les syndromes d'Angelman, de Beckwith-Wiedemann ou de Prader Willi (Gicquel et al 2003, Maher et al 2005, Doornbos et al 2007, Amor et al 2008) et plus récemment le SRS (Wakeling et al 2010, Geoffron et al 2018). L'AMP est ainsi associée à une augmentation de la fréquence du SRS entre 8,9 (Hattori et al 2019) et 11.3 fois (Cortessis et al 2017).

Plusieurs hypothèses sont formulées pour expliquer cette augmentation. La première est celle d'une implication de la cause de l'infertilité dans la genèse de pathologies de l'empreinte (Doornbos et al 2007). La seconde hypothèse est l'implication des techniques d'AMP dans l'installation d'anomalies de l'empreinte lors de la manipulation des gamètes ou lors du maintien de l'empreinte aux stades embryonnaires précoces (Amor et al 2008).

Notre objectif principal est d'estimer la prévalence des conceptions par AMP chez les enfants suivis pour un SRS.

Les objectifs secondaires sont d'estimer la prévalence de l'infertilité chez les parents de patients atteints du SRS ainsi que de décrire les causes de cette infertilité et le détail des méthodes d'AMP utilisées (protocoles de stimulation, type de fécondation, modalité de culture embryonnaire et de transfert, caractéristiques embryonnaires).

Une étude pilote transversale sera réalisée chez les parents de patients suivis dans le centre de référence du SRS (Explorations Fonctionnelles Endocriniennes du Pr Netchine, Hôpital Trousseau, Paris). Actuellement 125 enfants y sont suivis avec environ 10 nouveaux patients ayant un SRS par an. Ce centre de référence est rattaché au laboratoire de génétique moléculaire de l'hôpital Trousseau qui centralise sur le plan national toutes les demandes de diagnostic moléculaire du SRS et travaille en étroite collaboration

avec plusieurs associations de patients. Il s'agit donc d'une des plus grandes cohortes de cette maladie rare, sur le plan international.

Après recueil de la non opposition des parents un questionnaire sera complété avec les parents par téléphone, concernant leur fertilité et le mode de conception de leur enfant. En cas de conception par AMP, un questionnaire concernant le détail de la technique d'AMP utilisée sera envoyé au médecin ayant réalisé l'AMP. Les données seront anonymisées et recueillies sur une base REDCap. Une extension à l'ensemble des patients ayant eu un diagnostic moléculaire de SRS au laboratoire de génétique moléculaire du Pr Netchine (environ 300 patients) sera envisagée par la suite.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Caractérisation immunohistochimique des arrêts de maturation homogènes dans l'azoospermie non obstructive

**BARBOTIN Anne-Laure** - Unité Amandine, CHU Lille, hôpital Jeanne de Flandre, avenue eugène avinée

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte :

Chez l'homme, l'azoospermie non obstructive (ANO) est une forme sévère d'infertilité, définie comme l'absence totale de spermatozoïdes dans l'éjaculat, conséquence d'une spermatogenèse défectueuse. Dans les cas d'ANO, une biopsie testiculaire dans le but d'extraire chirurgicalement des spermatozoïdes testiculaires (TESE) peut être proposée en vue d'une utilisation ultérieure lors d'une procédure d'ICSI. L'analyse histo-fonctionnelle de la spermatogenèse est effectuée sur un échantillon testiculaire obtenu simultanément à celui prélevé pour l'extraction. Les chances de succès de la TESE sont variables et dépendent en particulier du résultat de l'analyse histologique de la spermatogenèse. Les ANO sont en effet classées selon trois phénotypes histologiques principaux: le syndrome des cellules de Sertoli seules (SCOS), l'hypospermatogenèse et enfin l'arrêt de maturation pour lequel les cellules germinales sont présentes initialement en grand nombre dans les tubes séminifères mais subissent un arrêt de développement à un stade précis de leur maturation. Les arrêts de maturation représentent le phénotype le plus rare (moins de 5% des ANO) avec des chances d'extraction très variables selon qu'il s'agisse d'un arrêt précoce (pré-méiotique, méiotique) ou tardif (post-méiotique). Cette distinction entre les arrêts précoces et tardifs se fait sur le plan morphologique selon le stade de la cellule la plus mature observée. Néanmoins, cette analyse histologique seule souffre de lacunes : d'une part, la spermatogenèse dans ce contexte étant anormale, il est parfois difficile de faire le distinguo entre un spermatocyte en apoptose et une spermatide ronde ; d'autre part : des TESE positives ont été rapportées dans des séries de patients azoospermes et présentant un arrêt de maturation homogène au stade méiotique pouvant faire douter de la précision du diagnostic histologique. Il est donc nécessaire de mettre en place des outils complémentaires afin d'améliorer la description histologique des arrêts de maturation.

L'objectif de ce projet est d'améliorer cette description phénotypique faite lors de l'analyse histologique de la spermatogenèse en procédant à un immunomarquage des marqueurs méiotiques afin de mieux préciser le stade de l'arrêt de maturation.

### Résultats attendus

Ce projet permettra d'améliorer la compréhension de la corrélation entre phénotype et chances d'extraction. Il permettra également d'améliorer la prise en charge des patients et de les orienter plus rapidement vers un don de sperme en cas de confirmation de l'arrêt méiotique et ainsi d'éviter des

propositions thérapeutiques inutiles (comme les traitements permettant de stimuler la spermatogenèse ou une seconde intervention chirurgicale pour TESE).

Enfin, cette étude permettra par la suite de développer un réseau national pour une caractérisation et une investigation systématique et standardisée des cas d'arrêt de maturation méiotique homogène, et de corrélérer cette analyse aux études génétiques actuellement proposées.

#### Méthodes

Nous proposons donc de standardiser les protocoles d'évaluation immunohistochimique de la spermatogenèse en analysant différents marqueurs de la maturation spermatique (SYCP3, SYCE1, H2AX, etc...) sur des prélèvements obtenus au moment de la TESE. Les résultats pour les patients infertiles seront comparés à ceux obtenus sur de patients dont la spermatogenèse est normale, c'est-à-dire les patients atteints d'azoospermie obstructive.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Développement d'un outil d'aide à la décision pour des femmes demandant une congélation d'ovocytes sans motif médical

**BENOIT Alexandra** - Hôpital ANTOINE BECLERE, 157 Rue de la Porte de Trivaux, 92140 CLAMART

Service de médecine de la reproduction et préservation de la fertilité,

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'autorisation de l'autoconservation ovocytaire en France sans nécessité d'un motif médical a récemment été actée dans la dernière révision des lois relatives à la bioéthique (02 août 2021). Elle permet par conséquent à toutes les femmes âgées de 29 à 37 ans de pouvoir bénéficier des techniques dites de préservation de la fertilité (PF) dans le but d'éventuellement recourir à une future assistance médicale à la procréation. Cette modification de la loi de bioéthique va impliquer la mise en place d'un nouveau parcours pour ces demandes au sein des centres clinico-biologiques de médecine de la reproduction qui vont être autorisés à proposer la PF.

Ce projet vise à développer un outil d'aide à la décision en ligne pour la PF sans motif médical et à évaluer son efficacité.

Cette étude monocentrique sera menée grâce à la collaboration d'un centre de Médecine et Biologie de la Reproduction, d'une équipe spécialisée sur les questions d'éthique en santé et de santé publique et d'une équipe centrée sur l'évaluation des risques et des vulnérabilités.

Elle a pour objectifs :

1. Une évaluation des besoins d'information sur les techniques de PF et sur la fertilité future de ces jeunes femmes :
  - Un « focus group » de 5 femmes souhaitant congeler leurs ovocytes sans motif médical.
  - Un « focus group » de 5 femmes ayant l'expérience de la congélation d'ovocytes à l'étranger sans motif médical.
  - Un « focus group » de 5 spécialistes de la fertilité.
2. Le développement d'un outil d'aide à la décision en ligne à partir des besoins des femmes identifiées précédemment.
3. La mesure de l'efficacité de cet outil à l'aide d'une étude prospective randomisée, monocentrique. 76 femmes, âgées de 29 à 36 ans inclus, souhaitant auprès d'un centre de médecine et biologie de la reproduction, une consultation pour une congélation d'ovocytes sans motif médical seront randomisées en 2 groupes : accès à l'outil d'aide à la décision en ligne versus information standard délivrée lors de la consultation clinico-biologique. Les objectifs de cette étude sont d'étudier si la décision prise par les femmes est établie suivant un processus logique et cohérent lors de la consultation de PF sans motif

médical, d'évaluer le niveau de « conflit décisionnel » des femmes et l'anxiété et enfin d'étudier si l'outil d'aide à la décision modifie la décision de la patiente.

Nous pensons que cet outil améliorera le processus de prise de décision en :

- réduisant le nombre de jeunes femmes qui ne savent pas quoi faire,
- accroissant les connaissances de ces jeunes femmes au sujet de l'infertilité, des options de PF et des résultats,
- réduisant les conflits de décision et les facteurs contribuant aux conflits décisionnels,
- augmentant la participation des femmes à la prise de décision sans nuire à l'anxiété.

Les résultats de ce projet de recherche permettront aux spécialistes de la fertilité d'optimiser la prise en charge globale de ces jeunes femmes.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Modalités de construction de la famille chez les couples hétérosexuels, les couples lesbiens et les femmes seules ayant recours à un don de spermatozoïdes

**DROUINEAUD Véronique** - Service de Biologie de la Reproduction – CECOS

Assistance Publique- Hôpitaux de Paris (AP-HP) – Centre – Université de Paris

Hôpital Cochin

123 Boulevard Port-Royal – Bât Port-Royal

75014 PARIS

[Retour tableau](#)

### Résumé

La loi de Bioéthique du 02/08/2021 a introduit des modifications majeures de cadre de la procréation par don de spermatozoïdes en France. Les principales modifications introduisent d'une part, la possibilité de recours au don de gamètes pour les couples de femmes et les femmes seules, d'autre part, la possibilité pour l'enfant devenu majeur d'accéder aux informations non identifiantes et à l'identité du donneur. En Belgique, le don de spermatozoïdes est, sauf cas particuliers, anonyme, et les couples hétérosexuels et lesbiens ainsi que les femmes seules y ont accès depuis 2007.

Les recherches sur les représentations psychiques du don menées dans différents pays auprès des receveurs de spermatozoïdes rapportent des résultats contrastés notamment sur les représentations de la parentalité et du tiers donneur, en fonction du type de receveurs. Ceci soulève l'intérêt de mener une étude conjointe chez les couples hétérosexuels et lesbiens ainsi que chez les femmes seules, dans 2 pays où les contextes culturels et juridiques sont différents. Dans le cadre d'une collaboration Franco-Belge, nous proposons de mener une étude originale à large échelle, multicentrique, comparative, prospective, qualitative et quantitative en France et en Belgique, avec comme objectif principal l'analyse des représentations psychiques et des perceptions du don de spermatozoïdes en lien avec le processus de construction de la famille chez les couples hétérosexuels et lesbiens et les femmes seules.

Nous utiliserons des autoquestionnaires (partie quantitative) et des entretiens semi-directifs (partie qualitative), en 2 temps : avant le début de la prise en charge en assistance médicale à la procréation, et aux 6 mois de l'enfant. La partie quantitative du projet sera portée par la commission d'éthique de la

Fédération française des CECOS dont le porteur de projet est responsable. L'ensemble des centres CECOS sera sollicité pour le recrutement des patient(e)s.

Le changement récent de cadre légal représente une opportunité de mener cette étude en France.

Elle permettra d'analyser les enjeux psychologiques et éthiques de la construction de la famille dans le cas d'un recours au don de spermatozoïdes. Les résultats pourront potentiellement mettre en évidence des différences de représentations psychiques et de perception du recours au don de spermatozoïdes entre les 3 groupes de receveurs, ainsi qu'entre les 2 pays concernés.

Par ailleurs, les conclusions de cette étude permettront de dégager les éléments les plus importants qui seront utiles aux professionnels (médecins cliniciens, biologiste, psychologues) pour le meilleur accompagnement des patients avant et après la conception par don, selon le profil des receveurs.

Enfin ce travail devrait enrichir les réflexions sur les aspects éthiques des nouvelles demandes de prise en charge en France.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Evaluation de la santé post natale et à l'âge adulte de souris après exposition embryonnaire à des bisphénols présents au cours des manipulations de routine dans les laboratoires de PMA

**MOREAU JESSIKA** - INRA, UMR 1331 TOXALIM - E3 EXPER Exposition, Perturbation Endocrinométabolique et Reproduction

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

23, chemin des Capelles - BP 87614

F-31076 TOULOUSE cedex 3, France

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### OBJECTIFS

En Procréation Médicalement Assistée (PMA), il est maintenant démontré que les embryons humains sont exposés à différents bisphénols : bisphénol (BPA) A via les strippers en polycarbonate (expositions courtes répétées) et bisphénol S (BPS) via la contamination de certains milieux de culture (exposition longue). Nous souhaitons par ce projet évaluer les effets de chacune de ces expositions, isolément et en combinaison, sur le développement embryonnaire, sur la santé postnatale immédiate et à l'âge adulte dans un modèle souris. Des embryons de souris récoltés au stade de zygote et « cultivés » selon 6 conditions différentes jusqu'au stade blastocyste (évaluation pré-implantatoire) seront ensuite transférés chez des femelles non exposées afin d'évaluer les conséquences post natales immédiates et à moyen terme.

#### RESULTATS ATTENDUS

Etant donné les études épidémiologiques et les effets métaboliques connus des bisphénols, nous émettons l'hypothèse que ces manipulations peuvent entraîner des conséquences cardio-métaboliques et neuro-comportementales. C'est la raison pour laquelle il nous semble nécessaire de mettre en œuvre une évaluation de la sécurité de ces pratiques. Dans l'éventualité (souhaitable) où les résultats seraient négatifs, nous avons inclus un contrôle positif dans notre analyse pour la consolider.

#### METHODOLOGIE

72 souris Swiss seront utilisées afin de produire 720 zygotes répartis en 6 conditions de manipulation différentes. La 1<sup>e</sup> condition de manipulation mime les manipulations au laboratoire de PMA où des strippers en polycarbonate seront utilisés. La 2<sup>e</sup> condition consiste à manipuler les embryons avec un stripper en polyamide BPA-free (Gynemed®). La 3<sup>e</sup> condition est le témoin négatif du plan expérimental. La 4<sup>e</sup> condition consiste à évaluer l'impact du BPS par le biais des milieux de culture. La 5<sup>e</sup> condition évalue l'effet combiné du BPS des milieux de culture et des strippers en polycarbonate. La 6<sup>e</sup> condition expose les embryons pré-implantatoires à du sérum de veau foetal à 10 % démontré comme altérant le comportement cognitif de la souris à l'âge adulte. Cette dernière condition est notre contrôle positif. Ce design à 6 conditions va permettre d'évaluer l'effet propre de strippers en polycarbonate, celui de nouveaux strippers en plastique « BPA-free », celui de la culture dans un milieu commercial contaminé par du BPS et celui du cumul des expositions via les strippers en polycarbonate et du milieu contaminé.

Seront analysés les données néonatales (taille de portée, poids, sex-ratio), la croissance hebdomadaire, une analyse comportementale et cognitive à 2 mois (7 tests différents), une analyse gonado-sexuelle à 3 mois, la tension artérielle à 16, 22 et 28 semaines, une analyse métabolique à 28 semaines (bilan lipido-glucidique, test d'hyperglycémie provoquée) et des analyses histologiques et moléculaires hépatiques au sacrifice.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Etude des motivations et aspects psychologiques des candidats(tes) au don de gamètes suite au changement de la loi sur l'anonymat : étude nationale multicentrique

**NOURI Nadjet** - Service de médecine de la reproduction - CECOS

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte : La loi relative à la bioéthique du 2 août 2021 a introduit deux novations majeures : l'accès à l'insémination avec sperme de donneur sans indication médicale et un accès à l'identité du donneur. Cette rupture dans l'anonymat strict concerne en premier lieu les donneuses et les donneurs de gamètes. Les pays où un tel changement a été réalisé ont souvent eu une baisse transitoire du nombre de don et un changement de la population des donneurs et donneuses. Les centres ont l'impression, actuellement, d'accueillir de nouveaux donneurs. Il conviendra de suivre cette évolution et de connaître les caractéristiques des donneurs et donneuses qui viendront par la suite en routine, à distance de l'épisode médiatique suscité par les discussions sur la loi.

Nous avons en 2016-2018 mené une étude multicentrique sur les motivations et les aspects psychologiques du don de gamètes. 20 centres ont été impliqués et l'inclusion de 1021 candidats au don de gamètes a permis de décrire les motivations de ces candidats, leur représentation du don mais également de la stérilité ou de la famille. Nous faisons l'hypothèse que les nouveaux candidats au don de gamètes seront différents au niveau du profil et de leurs motivations. Dans ce contexte nous proposons de mener une étude sur la nouvelle population de candidats au don de gamètes mais également de comparer leurs caractéristiques avec la population antérieure.

L'Objectif de ce projet est de décrire les motivations, la représentation du don et de la stérilité, d'évaluer les aspects psychologiques des nouveaux candidats hommes et femmes au don de gamète puis de comparer les résultats obtenus de cette population (post anonymat) à la population antérieure (anonymat).

La méthodologie utilisée est mixte avec une approche quantitative et qualitative : Pour la première, une approche psychosociale sur un large effectif (au minimum : 500 femmes et 500 hommes) de candidats au don. Bien entendu seront pris en compte dans les analyses, comme lors de la précédente étude le genre et la parentalité. Nous utiliserons pour cette étude deux questionnaires : 1) celui qui a été validé pour l'étude précédente, incluant les données sociodémographiques, les motivations des donneurs et les représentations, 2) un questionnaire explorant la personnalité, le NEO-PR, qui a été utilisé également pour la précédente étude.

La seconde approche est qualitative par une étude de cas clinique. C'est une approche psychodynamique, qui prend en considération le donneur et la donneuse, avec toute leur subjectivité, leur histoire personnelle et familiale et leurs représentations. 60 sujets, 30 donneurs versus 30 donneuses, seront reçus pour des entretiens cliniques.

Les données recueillies lors de cette étude seront de plus comparées à celles de la précédente étude permettant ainsi de mettre en évidence les changements suivant le régime de l'anonymat. La recherche sera réalisée grâce à la collaboration avec les centres de la Fédération des CECOS et les équipes porteuses du projet.

Les résultats attendus permettront de mieux comprendre les motivations des donneurs et de montrer les liens de ces derniers avec leur statut de parentalité et le genre et enfin de d'évaluer les changements suite à l'introduction de l'accès possible à l'identité du donneur. Une meilleure connaissance de ces différents

points sera fortement utile tant pour les décideurs et les campagnes d'information que pour la pratique clinique.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Identification d'un biomarqueur protéique prédictif de la grossesse dans le milieu de culture embryonnaire

**REIGNIER Arnaud** - CRTI UMR 1064

CHU Nantes - Hôtel Dieu

30 Bd Jean Monnet

44093 Nantes Cedex 01

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'infertilité est un problème de santé publique majeur qui touche un couple sur six en âge de procréer. Les taux de succès suite à une Fécondation In Vitro (FIV) sont faibles avec seulement 20% d'accouchement par ponction ovarienne (rapport de l'ABM 2019). Malgré une amélioration des conditions de culture et le développement de nouveaux outils, il est toujours difficile d'identifier l'embryons de la cohorte avec le meilleur potentiel de grossesse. L'identification d'un marqueur objectif de capacité embryonnaire à donner la grossesse est primordial pour améliorer les résultats en FIV.

Plusieurs éléments de la littérature récente laissent penser que les cellules du trophoblaste secrètent des protéines dans leur environnement avec une action possible sur les cellules de l'endomètre et donc l'implantation. Cependant, alors que de nombreuses publications se sont attachées à réaliser des profils protéiques de milieux de culture embryonnaire, aucun marqueur peptidique ou protéique n'a été à ce jour validé pour la prédiction de la grossesse.

Pour répondre à nos objectifs, nous souhaitons conduire une étude prospective non interventionnelle au sein du service de Biologie de la Reproduction du CHU de Nantes. Une bio-collection de milieu de culture embryonnaire sera réalisée par les membres du service de BDR du CHU de Nantes, tandis que le dosage des protéines sera assuré par la plateforme Protim à Rennes. L'originalité de notre projet repose sur l'approche ciblée sur des protéines ou peptides présumés sécrétés et non un profil complet du milieu de culture. Ainsi les données du transcriptome de cellule uniques d'embryons humains ont été analysées par notre équipe (Meistermann et al, 2021) et couplées à 4 bases de données protéiques. Cela a permis l'élaboration d'un secrétome embryonnaire virtuel et de limiter le nombre de protéine candidates.

L'identification de biomarqueurs protéiques dans le milieu de culture représenterait une avancée majeure dans le choix objectif et non invasif de l'embryon à transférer ou congeler. Les retombées seraient un raccourcissement du temps nécessaire à l'obtention de la grossesse mais aussi une meilleure compréhension des mécanismes physiologiques de l'implantation embryonnaire.

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## Développement d'organoïdes humains de Trompes de Fallope comme nouveau modèle d'étude de la survie, de la mobilité et de la capacitation spermatique. ORGASPER

**GATIMEL Nicolas** - Développement Embryonnaire Fertilité Environnement UMR 1203 INSERM – TOULOUSE

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte et objectifs du projet :

La trompe de Fallope est le siège d'évènements cruciaux pour l'obtention d'une grossesse. La migration des gamètes, leur interaction, la fécondation et la plus grande partie de la phase préimplantatoire du développement embryonnaire se déroule dans la trompe. Les mécanismes moléculaires impliqués dans ces évènements sont mal connus dans l'espèce humaine. La bonne connaissance des mécanismes d'interactions entre l'épithélium tubaire et les gamètes constituerait un apport majeur dans l'amélioration des milieux de préparation des gamètes, de fécondation ou de culture embryonnaire au cours d'une Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Dans ce contexte, il apparaît important de développer un modèle humain complexe in vitro de trompes de Fallope. Ainsi, l'équipe coordinatrice du projet a développé récemment un modèle d'organoïdes de trompes qui est reproductible, qui offre un bon niveau de différenciation avec la présence de cellules ciliées et de cellules sécrétrices et des capacités fonctionnelles permettant un maintien de la survie et de la mobilité spermatique à des niveaux supérieurs aux milieux commerciaux.

L'objectif du travail est maintenant d'analyser le sécrétome extracellulaire et les vésicules extracellulaires des organoïdes tubaires afin de comprendre et d'identifier les mécanismes impliqués dans la survie, la mobilité et la capacitation spermatique et de déceler d'éventuelle protéine candidates à l'amélioration des milieux de lavage et de fécondation des spermatozoïdes utilisés en AMP.

Résultats attendus :

Nous espérons d'une part détecter les homologues entre le sécrétome organoïde et le sécrétome du tissu de trompe de départ, et d'autre part mettre en évidence des protéines d'intérêt sécrétées spécifiquement en présence de spermatozoïdes.

Methodologie :

Nous allons produire des organoïdes de trompe de Fallope (isthme et ampoule) à partir de 5 patientes bénéficiant d'une salpingectomie bilatérale dans le cadre d'une stérilisation contraceptive à partir d'une méthodologie mise au point dans notre équipe. Après avoir reproduit les tests fonctionnels déjà réalisés au cours de l'étude préliminaire, sur la vitalité, la mobilité et la capacitation des spermatozoïdes au sein des organoïdes de trompe (isthme et ampoule), l'analyse du sécrétome tubaire (sécrétome « extracellulaire » et vésicules extracellulaire) sera réalisée par spectrophotométrie de masse (LC-MS) sur un plateau spécialisé. Une analyse comparative sera menée entre le sécrétome des organoïdes tubaires et celui du tissu de départ. Une analyse comparative sera également réalisée entre les sécrétomes des organoïdes qui ont été en contact ou non avec les spermatozoïdes afin de déceler d'éventuelles conséquences des

interactions avec les spermatozoïdes sur le comportement de l'épithélium. L'analyse du sécrétome sera accompagnée d'une analyse transcriptomique des organoïdes et du tissu de départ (épithélium).

Ce projet est porté par un consortium solide permettant d'assurer la mise en œuvre du projet. La meilleure connaissance de cet environnement tubaire via ce modèle in vitro d'organoïdes humains, pourrait offrir des perspectives pour l'amélioration des conditions de manipulation et de culture des gamètes et embryons au cours d'une AMP.

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## Préservation sociétale des ovocytes : les professionnels de santé vont-ils la proposer ?

**KLEIN Jean-Philippe** - Service d'histologie-embryologie, cytogénétique. CHU de Saint-Etienne

[Retour tableau](#)

### Résumé

En 2021, la révision des lois de bioéthique a ouvert la porte à la préservation sociétale des ovocytes. Celle-ci donne la possibilité aux femmes, entre leur 29ème et 37ème anniversaire, de faire congeler leurs ovocytes dans le but de lutter contre le déclin de leur fertilité lié à l'âge. Toutefois, la communication autour de cette possibilité nouvelle est restée limitée aussi bien auprès des femmes susceptibles d'en bénéficier que des professionnels chargés de leur prise en charge.

Ainsi, nous émettons l'hypothèse que ces professionnels, à savoir les médecins généralistes, les gynécologues et les sage-femmes, sont insuffisamment sensibilisés au déclin de la fertilité liée à l'âge et peu au courant de l'ouverture de la préservation sociétale des ovocytes.

Afin de valider cette hypothèse, nous mettons en place cette étude transversale observationnelle multicentrique dont l'objectif sera :

- D'évaluer les connaissances de ces professionnels en matière de baisse de la fertilité liée à l'âge.
- De mesurer leur propension à aborder spontanément le sujet avec leurs patientes sans enfants.
- D'évaluer leur connaissance et leur adhésion concernant la préservation sociétale des ovocytes.

Cette étude se fera à l'aide d'un questionnaire en ligne qui sera distribué sous un format électronique à l'ensemble des professionnels de santé concernés dans les départements participants.

Cette étude permettra d'apporter des connaissances précieuses sur la perception de la préservation sociétale des ovocytes par les praticiens, de déterminer leurs besoins en formation et de motiver de nouvelles campagnes d'information sur ce sujet.

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## « MumSolo » : Analyse sociologique de l'accès des femmes célibataires à l'assistance médicale à la procréation en France

**MAHI Lara** - Centre Max Weber (UMR 5283) Lyon

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte.

La dernière révision de la loi de bioéthique autorise les femmes célibataires à recourir à l'assistance médicale à la procréation (AMP) en France. Les services hospitaliers de médecine et de biologie de la reproduction connaissent depuis une forte hausse du volume des demandes de prises en soin qui leurs sont adressées, ainsi qu'une transformation de la morphologie de leurs publics et de leurs activités : une large part de ces demandes émane de femmes n'étant pas en situation d'infertilité, mais qui se tournent vers les centres de fertilité afin d'avoir un enfant, par le recours au don de gamètes, dans le cadre d'un projet de famille monoparentale.

Objectifs.

Le programme de recherche en sciences sociales MumSolo vise à combler un manque dans les connaissances disponibles sur ce nouveau public de l'AMP et les modalités de sa prise en soin dans les établissements de santé français. Il poursuit deux objectifs :

(1) Décrire l'espace social des (futurs) mères célibataires par AMP en France, c'est-à-dire les positions et les trajectoires sociales des femmes qui souhaitent avoir (ou ont eu) un enfant seule par le recours à la médecine, ainsi que le sens donné à ce projet ; et (2) Analyser les enjeux autour de l'ouverture de l'AMP aux femmes célibataires, pour les établissements de santé, en interrogeant :

- (i) les (ré)organisations des services hospitaliers et des parcours de soins,
- (ii) les représentations sociales des équipes d'AMP vis-à-vis de ce nouveau public, leurs pratiques professionnelles (secrétariat, consultations, staff...), et les arguments mobilisés dans la construction des décisions médicales, le tout en étant sensible
- (iii) aux éventuelles disparités territoriales et variations liées aux types de structures et à des contextes locaux (taille de l'établissement ; habilité au don ou non ; public/privé ; environnement urbain, périurbain ou rural ; localisation dans une région frontalière).

Méthodologie.

La méthodologie est mixte, qualitative et quantitative.

Le premier objectif (1) reposera sur l'exploitation d'une base de données quantitatives préalablement constituée (N=724) à partir d'un questionnaire administré auprès de (futurs) mères célibataires par AMP et dont l'analyse sera complétée par la réalisation d'entretiens semi-directifs (N=70).

Le second objectif (2) sera abordé à partir d'une enquête par observation dans les services de biologie et de médecine de la reproduction de quatre établissements (2 publics disposant d'un centre de don, 1 public

n'en disposant pas et 1 privé), situés dans des régions différentes, ainsi que des entretiens (N=30) avec leurs professionnels (secrétaires, médecins, biologistes, psychologues, techniciennes).

Faisabilité.

Le programme de recherche s'appuie sur les résultats préliminaires d'une enquête exploratoire (2020-2022), et il bénéficie du support de l'association loi 1901 Mam'en Solo, ainsi que d'un partenariat avec le CHU de Tenon (Île-de-France) et le CHRU de Nancy (Lorraine).

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## Une nouvelle approche pour préserver la fertilité chez la femme après une chimiothérapie combinée

**SONIGO Charlotte** - Inserm UMR-S 1185 - Le Kremlin-Bicêtre

[Retour tableau](#)

### Résumé

La chimiothérapie utilisée dans le cancer induit une déplétion du stock folliculaire pouvant conduire à une infertilité et au maximum à une insuffisance ovarienne prématurée. Plusieurs techniques dites de préservation de la fertilité sont aujourd'hui proposées aux patientes avant le début des traitements. Cependant, ces techniques ne sont pas toujours réalisables et ne représentent pas des garanties de grossesse. Ainsi, de nouvelles stratégies de préservation de la fertilité sont nécessaires afin d'améliorer les chances de grossesse après cancer.

Dans le cadre du cancer du sein, les patientes reçoivent en général une combinaison de chimiothérapies comprenant le 5-fluorouracile, l'épirubicine (Epi) et le cyclophosphamide (Cy). La gonadotoxicité de ces médicaments a été étudiée indépendamment. Il a été montré que le Cy induit d'une part une entrée une croissance massive des follicules primordiaux et d'autre part l'apoptose des follicules en croissance. L'Epi augmente le niveau des espèces réactives de l'oxygène dans l'ovaire, provoquant un stress du reticulum qui conduit à l'apoptose. Le 5-FU provoque l'apoptose des follicules secondaires principalement, par la voie d'activation intrinsèque de la caspase-3.

Si l'impact ovarien de chaque type de chimiothérapie a été bien étudié, l'effet d'une combinaison de plusieurs chimiothérapies sur l'ovaire n'a jamais été évalué. Ce projet vise à explorer le mécanisme de gonadotoxicité exercé par une combinaison de chimiothérapie habituellement utilisée dans le cadre du cancer du sein, à rechercher de nouvelles stratégies pour limiter ces dommages ovariens induits par la chimiothérapie et à explorer les mécanismes moléculaires impliqués dans cette protection ovarienne.

En utilisant un modèle murin, nous explorerons l'atteinte ovarienne exercée par la combinaison de chimiothérapie (Cy + Epi + 5-FU). La réserve ovarienne sera évaluée en comptant les follicules ovariens grâce à une approche innovante de deep-learning que nous avons développée au laboratoire. Le mécanisme moléculaire de la gonadotoxicité de cette chimiothérapie combinée sera étudié afin d'adapter une nouvelle stratégie pour limiter les dommages ovariens.

Au laboratoire, nous avons mis en évidence que l'AMH limite la déplétion folliculaire induite par le Cy et que l'autophagie pourrait être impliquée dans ce processus. Par ailleurs, il a été montré que la mélatonine prévient l'apoptose causée par l'Epi. Nous testerons l'efficacité de l'AMH, de la mélatonine ou de l'association AMH+mélatonine pour limiter la gonadotoxicité d'une chimiothérapie combinée. Les mécanismes moléculaires impliqués dans ce processus seront explorés par des techniques innovantes de séquençage de l'ARN et de RNAscope.

Si ces résultats sont probants, ces traitements pourraient être testés chez la femme et utilisés en préservation de la fertilité.

[Retour tableau](#)

