

**AOR 2006 « Procréation, embryologie et génétique humaines »
Résumés résultats et publications**

Chercheur	Sujet de recherche	Thème
BAILLY Marc	Etude prospective multicentrique sur la pratique des prélèvements testiculaires et épidimaires : du diagnostic à l'enfant né.	2
BEAUQUIER-MACOTTA Bérengère	Etude prospective de l'évolution psychologique périnatale des couples bénéficiant d'un accueil d'embryon et de leur enfant.	1
BOYER Pierre	Suivi des Enfants de l'AMP. Mise en place d'actions d'amélioration de l'enregistrement et de la fiabilité des informations.	3
DOCO-FENZY Martine	Création d'une plateforme informatique sécurisée pour la gestion du contrôle de qualité externe en cytogénétique (CPICQE).	4
DUPONT Jean Michel	Application de l'hybridation génomique comparative sur puce à ADN au diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques cryptiques.	4
DURANTHON Véronique	Culture in vitro de l'embryon : mise en œuvre d'un modèle animal d'analyse des effets précoces sur les réseaux de gènes exprimés, et des conséquences sur le développement fœtal et post-natal.	2
FAUQUE Patricia	Conséquences épigénétiques de la stimulation, de la fécondation in vitro et de la culture sur la qualité du conceptus chez la souris.	1
GRANET Philippe	Le don d'ovocytes dans la construction du lien mère/ enfant.	1
HEARD Edith	Etude de l'impact épigénétique de la super ovulation et de la culture in vitro des embryons chez la souris en utilisant le modèle de l'inactivation du chromosome X.	2
JONVEAUX Philippe	Détection d'aneusomies segmentaires dans les syndromes polyformatifs fœtaux par hybridation génomique comparative sur le micro réseau d'ADN.	4
KALAMPALIKIS Nikos	Enjeux éthiques et identitaires engagés dans l'acte de procréation avec don de sperme.	1
KHOSHNOOD Babak	Assistance médicale à la procréation et risque d'anomalies congénitales : étude en population.	3

LEFEVRE Annick	<u>Les nouvelles technologies de l'AMP et la qualité des ovocytes: aspect épigénétique, analyse de la méthylation de l'adn et du profil des histones.</u>	3
PARINAUD Jean	<u>Les échecs en fécondation in vitro : Prise en charge et conséquences pour les couples.</u>	3
POULY Jean- Luc	<u>Impact des ICSI avec le sperme testiculaire sur la qualité des enfants conçus.</u>	3
SELVA Jacqueline	<u>La sélection des spermatozoïdes à fort grossissement permet-elle une diminution de la fréquence des aneuploidies par FISH?</u>	4
WOLF Jean Philippe	<u>Augmentation des taux de fécondation en FIV par l'utilisation d'un peptide reproduisant le site de liaison de la fertiline.</u>	4

THEMES DE RECHERCHE : PROCREATION, EMBRYOLOGIE ET GENETIQUE HUMAINES

- 1) Études socio-économiques ou humaines dans les domaines du diagnostic génétique ou anténatal, du conseil génétique, et du don de gamètes et/ou embryon ;
- 2) Sécurité et qualité des pratiques, notamment dans les technologies innovantes en AMP ;
- 3) Impact des diverses méthodes d'AMP en matière de santé (sous tous ses aspects et concernant parents et enfants), à court ou long terme ;
- 4) Amélioration des techniques et méthodes en matière de prise en charge prénatale

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

BAILLY Marc - Association SALF

Résumé :

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

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

BEAUQUIER-MACOTTA Bérengère - AP-HP Hôpital Necker Enfants Malades

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

Publication :

Canneaux M, Chabert C, Golse B, Wolf J-P, Beauquier-Maccotta B. Comment devient-on mère grâce à un don d'ovocytes?? La psychiatrie de l'enfant. 2013;56(1):67.

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

BOYER Pierre - Association Hôpital St Joseph de Marseille

Résumé :

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

Publications :

1. Boyer M, Meddeb L, Pauly V, Boyer P. Suivi des enfants de l'AMP: Expérience d'un centre français. In: Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain [Internet]. Springer Paris; 2011 [cité 23 juin 2015]. p. 665-76. Disponible sur: http://link.springer.com.gate2.inist.fr/chapter/10.1007/978-2-8178-0061-5_63
2. Meddeb L, Boyer M, Pauly V, Tourame P, Rossin B, Pfister B, et al. [Procedure used to follow-up a cohort of IVF children. Interests and limits of tools performed to longitudinal follow up for a monocentric cohort]. Rev Epidemiol Sante Publique. avr 2011;59(2):97-105.
3. Meddeb L, Gervoise Boyer M-J, Tourame P, Gentile S, Sambuc R, Boyer P. Étude de l'indice de masse corporelle (IMC) d'enfants nés après fécondation in vitro (FIV) entre 0 et 6 ans. Références en Gynécologie obstétrique. 2006;(13):1-1.

Création d'une plateforme informatique sécurisée pour la gestion du contrôle de qualité externe en cytogénétique (CPICQE)

DOCO-FENZY Martine - Association ACLF

Résumé :

L'objectif du projet est de créer un outil sécurisé permettant aux cytogénéticiens français de réaliser un contrôle qualité externe (CQE) dans les meilleures conditions de confidentialité. Le CQE en cytogénétique s'est développé en France depuis 2005 à l'initiative du GFCH (groupe Français de Cytogénétique Hématologique) et de l'ACLF (Association des Cytogénéticiens de Langue Française). La difficulté est liée au grand nombre de laboratoires et à la gestion d'un grand nombre d'images à expertiser. La création de la plateforme informatique permettra une gestion des dossiers rapide, fiable, sécurisée. Elle permettra de faire l'économie d'un local pour la réception et le stockage des dossiers. Il s'agit d'un support technique indispensable pour le succès du CQE initié début 2006.

Nous demandons une subvention de 23000 € afin de créer une base de données avec une interface via un site web. Ce système doit permettre aux différents laboratoires de cytogénétique français de transmettre leurs dossiers de cytogénétique sous format électronique (fichiers texte et image) et de les anonymiser. Il permettra aux experts examinateurs de consulter les dossiers après anonymisation et de transmettre leurs évaluations sur la même base commune sans avoir obligatoirement à se déplacer pour cela. Les résultats pourront être consultés directement sur la base de données. Nous désirons recruter un informaticien pendant une année pour créer cette base de données. Il sera encadré par le responsable du site web de l'ACLF. Cette base sera créée conformément au cahier des charges défini par les membres du bureau de l'ACLF. Ce cahier des charges sera inspiré des systèmes sécurisés de contrôle de qualité existant déjà en Europe. Il sera validé suivant les recommandations de l'AFSSAPS, de la CNIL et la réglementation en vigueur. Le but est donc de mettre en réseau les cytogénéticiens qui seront tous acteurs de ce contrôle car ils interviendront en tant que testés et experts. La conséquence en sera la formation des praticiens afin d'homogénéiser et d'améliorer la pratique de la cytogénétique. Ce système pourra être adapté à la fois pour la cytogénétique constitutionnelle pré et post natale, la cytogénétique hématologique et la cytogénétique des tumeurs solides.

Application de l'hybridation génomique comparative sur puce à ADN au diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques cryptiques

DUPONT Jean Michel - AP-HP Hôpital Cochin

Résumé :

Le caryotype fœtal réalisé sur liquide amniotique ou biopsie de villosités choriales constitue actuellement la technique de référence pour le diagnostic des anomalies chromosomiques, son principal avantage résidant dans sa capacité à analyser l'ensemble du génome fœtal. Cependant, la sensibilité du caryotype (environ 10 à 20 Mb pour un caryotype standard) est parfois insuffisante pour le diagnostic de certaines anomalies de petite taille en postnatal, on a recours à l'hybridation in situ à l'aide de sondes fluorescentes spécifiques de la région à analyser, déterminée d'après les signes cliniques. Malheureusement, pour beaucoup de syndromes microdélétionnels, les manifestations prénatales sont insuffisantes ou méconnues, ce qui ne permet pas d'orienter les analyses en hybridation in situ. Une alternative consiste à utiliser l'ADN du patient comme sonde pour mettre en évidence ces remaniements déséquilibrés. L'ADN du patient est co-hybridé avec un ADN témoin (CGH : hybridation génomique comparative) afin d'identifier les régions en excès ou en défaut chez le patient par rapport au témoin. Cette approche prend une nouvelle dimension avec l'apparition des puces à ADN (CGH array) puisque la résolution dépend alors du nombre de fragments déposés sur la puce. Il existe actuellement des puces comprenant plus de 3000 fragments d'ADN ce qui représente un fragment toutes les mégabases et représente une sensibilité plus de 10 fois supérieure à celle du caryotype standard. Le CGH array a permis d'identifier de nombreux remaniements cryptiques en diagnostic post natal. Malheureusement la très grande sensibilité de la technique a également mis en évidence des polymorphismes génomiques de grande taille (de l'ordre de plusieurs mégabases) totalement méconnus jusqu'alors. Ces polymorphismes compliquent l'établissement d'un lien entre une anomalie chromosomique et des manifestations cliniques associées. De ce fait, l'application de cette technologie au diagnostic prénatal nécessite un travail de sélection des régions chromosomiques à tester afin à la fois d'améliorer la qualité et la sensibilité du diagnostic prénatal chromosomique et la spécificité des résultats obtenus qui doivent permettre d'assurer un conseil génétique efficace. Le but de cette étude prospective est double :

- Evaluer la pertinence de la technique de CGH array dans le cadre du diagnostic prénatal ; deux aspects sont particulièrement importants : la sensibilité de la technique pour identifier des microremaniements non détectés par le caryotype standard et son adaptabilité aux contraintes de temps inhérentes au DPN.

- Mieux cibler les régions d'intérêt pour orienter la fabrication de puces dédiées au diagnostic prénatal. Ces puces dédiées n'ont en effet pas vocation à avoir une sensibilité maximale mais au contraire la meilleure spécificité possible quant aux conséquences des anomalies dépistées.

Sur une période de deux ans, 50 fœtus à caryotype normal seront testés, sélectionnés parmi les prélèvements reçus pour signe d'appel échographique. La technique de CGH array sera réalisée sous la direction de l'équipe d'Integragen et les vérifications en FISH effectuées par les laboratoires de cytogénétique. D'après les études réalisées en post natal ou sur des fœtus après mort fœtale in utero ou interruption médicale de grossesse, un taux de 15 % d'anomalies cryptiques est attendu.

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

DURANTHON Véronique - INRA Jouy en Josas

Résumé :

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

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

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

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

FAUQUE Patricia - AP-HP GH Cochin St Vincent de Paul

Résumé :

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

Publications :

1. Fauque P, Jouannet P, Lesaffre C, Ripoche M-A, Dandolo L, Vaiman D, et al. Assisted Reproductive Technology affects developmental kinetics, H19 Imprinting Control Region methylation and H19 gene expression in individual mouse embryos. *BMC Developmental Biology*. 2007;7(1):116.
2. Fauque P, Mondon F, Letourneur F, Ripoche M-A, Journot L, Barbaux S, et al. In Vitro Fertilization and Embryo Culture Strongly Impact the Placental Transcriptome in the Mouse Model. *Baltz JM*, éditeur. *PLoS ONE*. 15 févr 2010;5(2):e9218.
3. Fauque P, Ripoche MA, Tost J, Journot L, Gabory A, Busato F, et al. Modulation of imprinted gene network in placenta results in normal development of in vitro manipulated mouse embryos. *Human Molecular Genetics*. 1 mai 2010;19(9):1779-90.
4. Okamoto I, Patrat C, Thépot D, Peynot N, Fauque P, Daniel N, et al. Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development. *Nature*. avr 2011;472(7343):370-4..

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

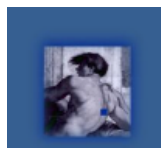
GRANET Philippe - Institut Mutualiste Montsouris

Résumé :

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

Publications :

1. Cochini A, Letur-Könirsch H, Granet P, Wainer R, Cupa D. Le vécu des patientes et les représentations maternelles au fil des étapes d'un don d'ovocytes. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. sept 2011;39(9):533-7.
2. Cochini A. Donneuse d'ovocytes, une vocation. *Vocation Sage-femme*. 2011;10(90):8-10.



LASI EA 4430

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

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

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

Introduction

Les progrès de la science avançant à grand pas, il est rapidement apparu nécessaire aux équipes médicales d'évaluer l'impact psychologique que cet essor amène. Cette étude s'inscrit dans ce projet, elle a pour objectif d'avancer dans la compréhension du fonctionnement psychique de la femme infertile et de l'impact psychologique du recours à une FIV ou à un don d'ovocytes.

Cette recherche est une réflexion théorico-clinique sur l'état psychologique des femmes infertiles en parcours de FIV et de don d'ovocytes. Elle vise à étudier le vécu et les représentations maternelles de ces femmes au fil des étapes de leur parcours en AMP. L'hypothèse générale de cette étude soutient l'idée qu'il existe des particularités dans le fonctionnement psychique des femmes infertiles, ces particularités diffèrent selon qu'elles ont recours à une FIV ou à un don d'ovocytes. De plus, selon la technique d'AMP employée, ces patientes sont en proie à une série de fantasmes et de représentations maternelles spécifiques.

Population et méthode

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

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

Résultats

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

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

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

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

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

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

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

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

Discussion

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

Conclusion

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

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

HEARD Edith - Institut Curie

Résumé :

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

Détection d'aneusomies segmentaires dans les syndromes polyformatifs fœtaux par hybridation génomique comparative sur le micro réseau d'ADN

JONVEAUX Philippe - CHU de Nancy Hôpital Brabois

Résumé :

Un déséquilibre chromosomique identifiable par les techniques conventionnelles est observé dans environ 10 à 15 % des mort-nés et nouveau-nés vivants avec des malformations. Toutefois plus de 50 % des syndromes polymalformatifs fœtaux restent inexpliqués malgré l'ensemble des explorations cliniques et paracliniques effectuées. Un nouveau champ de la pathologie chromosomique est apparu depuis peu grâce au développement de technologies autorisant l'étude des anomalies quantitatives du génome à un seuil de résolution 50 à 100 fois supérieur à celui du caryotype. Nous proposons d'utiliser la technique d'hybridation génomique comparative sur microréseau d'ADN (array-CGH) ou puce ADN afin de rechercher des aneusomies segmentaires pathogènes, de novo, à partir d'une étude rétrospective chez 50 fœtus avec un syndrome polymalformatif grave ayant conduit à une interruption médicale de grossesse jugée recevable par le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal de Lorraine. Nous souhaitons établir la fréquence de ces remaniements génomiques dans la population ciblée et en définir les caractéristiques cliniques et moléculaires. L'objectif ultime est d'utiliser ces loci remaniés dans un deuxième temps, comme cibles diagnostiques pour améliorer la prise en charge précoce de grossesses avec des syndromes malformatifs et ainsi améliorer le conseil génétique. Nous utiliserons une puce 1Mb, constitué de 3696 cibles de type BAC/PAC. Chaque anomalie décelée est systématiquement contrôlée avec une technique indépendante. Hybridation in situ en fluorescence (FISH) à l'aide de sondes BAC spécifiques (sur métaphase et sur noyau interphasique dans le cas d'une éventuelle duplication) et/ou moléculaire (marqueurs microsatellites, dosage génique par QMPSF) sur les prélèvements fœtaux et sur les prélèvements parentaux. Ce contrôle a pour but de vérifier la nature de novo, délétère du déséquilibre, ou héritée et donc reflet d'un polymorphisme. Notre interprétation des résultats reposera aussi sur les bases de données dédiées à la technique d'array-CGH : DECIPHER (www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher) et Génome Variation Database, sur les variants génomiques recensés actuellement (<http://projects.tcag.ca/variation/>). Ce contrôle s'inscrit aussi dans la recherche d'une anomalie chromosomique équilibrée cryptique (translocation, insertion) chez l'un des parents qui conditionne le risque de récurrence et le conseil génétique pour les apparentés à risque. Les anomalies identifiées comme pathogènes feront l'objet dans un deuxième temps d'une cartographie plus précise pour borner les points de cassure et mieux cerner les gènes impliqués dans le déséquilibre.

Publication :

1. Valduga M, Philippe C, Bach Segura P, Thiebaugeorges O, Miton A, Beri M, et al. A retrospective study by oligonucleotide array-CGH analysis in 50 fetuses with multiple malformations. Prenatal Diagnosis. 2010;30:333-41.

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

KALAMPALIKIS Nikos - Université Lyon 2

Résumé :

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

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

Publication :

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

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

KHOSHNOOD Babak - INSERM ADR Paris VI

Résumé :

Objectifs : (1) Estimer le risque de différentes anomalies congénitales associé à différentes méthodes d'AMP dans la population parisienne. (2) Etudier le taux de diagnostic prénatal des anomalies congénitales en relation avec différentes méthodes d'AMP.

Méthodes : la principale source proviendra du registre des malformations congénitales de Paris. Les données des enquêtes nationales périnatales de 1998 et 2003 seront utilisées pour fournir des données sur des témoins non malformés. La population d'étude comprendra les femmes qui résident dans Paris et la petite Couronne et accouchent ou ont une interruption de grossesse dans les maternités parisiennes (environ 38000 naissances annuelles). Toutes les anomalies congénitales seront incluses pour la période 1987-2003. La variable principale à expliquer est le risque d'anomalies congénitales globalement et pour des anomalies spécifiques : les anomalies chromosomiques (analyse séparée pour la trisomie 21), les anomalies de fermeture du tube neural (anencéphalie, spina bifida), les cardiopathies congénitales (incluant des sous-groupes et des cardiopathies majeures spécifiques isolées), les anomalies gastro-intestinales (analyse séparée pour l'atrésie de l'œsophage) et les anomalies génito-urinaires (en particulier hypospadias et agénésie rénale). Le risque d'anomalies congénitales sera estimé à la fois pour les naissances vivantes et pour l'ensemble des cas (nés vivants, morts-nés et interruptions de grossesse). L'AMP sera considérée en quatre catégories : aucune, inducteurs seuls, FIV et ICSI. La deuxième variable à expliquer (cf. objectif secondaire) est le diagnostic prénatal des anomalies congénitales spécifiques et de l'ensemble des anomalies, 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 socioéconomique, le lieu de résidence. Une étude cas-témoin sera menée pour évaluer le risque d'anomalies congénitales en relation avec l'AMP. Nous allons utiliser des groupes témoins alternatifs afin d'évaluer dans quelle mesure les estimations pourraient varier selon les choix raisonnables bien que incertains du groupe témoin (différents témoins malformés dans le Registre et les témoins non malformés dans l'Enquête nationale).

Résultats attendus : Vu le peu de données sur le risque d'anomalies congénitales spécifiques en relation avec l'exposition à l'AMP en France, notre étude peut fournir des informations sur le risque associé à l'AMP qu'il serait difficile (et même impossible) à obtenir dans une étude de type cohorte, étant donné les moyens nécessaires pour étudier de tels devenir rares. Ces résultats seront donc complémentaires à ceux des études de cohorte en cours en France. Nous allons aussi évaluer le taux de diagnostic prénatal en relation avec l'utilisation de l'AMP. En plus de son implication pour la surveillance des anomalies congénitales exposées à l'AMP, l'évaluation des taux de diagnostic prénatal peut fournir des informations pour la prise en charge et le devenir des grossesses avec malformation après AMP.

Publication :

1. Tararbit K, Houyel L, Bonnet D, De Vigan C, Lelong N, Goffinet F, et al. Risk of congenital heart defects associated with assisted reproductive technologies: a population-based evaluation. *European Heart Journal*. 2 févr 2011;32(4):500-8.

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

LEFEVRE Annick - INSERM ADR Rhône Alpes Auvergne

Résumé :

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

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

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

Publication :

Khoureiry R, Ibalá-Rhombane S, Mery L, Blachere T, Guerin J-F, Lornage J, et al. Dynamic CpG methylation of the KCNQ1OT1 gene during maturation of human oocytes. *Journal of Medical Genetics*. 4 juin 2008;45(9):583-8.

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

PARINAUD Jean - CHU de Toulouse

Résumé :

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

- D'un point de vue global, en analysant le retentissement de la décision d'arrêt définitif du traitement qui vient d'être prise et laisse les femmes à nouveau face à leur infertilité (et l'équipe médicale souvent fort démunie face à la détresse de ses patientes).
- D'un point de vue plus diachronique, en retraçant avec chaque femme, la succession d'échecs auxquels elle a été confrontée et la manière dont elle les a vécus ainsi que les moments où elle s'est trouvée en situation de décider de poursuivre ou non le traitement.

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

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

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

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

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

POULY Jean-Luc - Association FIVNAT

Résumé :

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

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

SELVA Jacqueline - CHI Poissy Saint Germain

Résumé :

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

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

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

Publication :

Chelli MH, Ferfour F, Boitrelle F, Albert M, Molina-Gomes D, Selva J, et al. High-magnification sperm selection does not decrease the aneuploidy rate in patients who are heterozygous for reciprocal translocations. *J Assist Reprod Genet.* avr 2013;30(4):525-30.

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

WOLF Jean Philippe - AP-HP Jean Verdier

Résumé :

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

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

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

Publication :

Barraud-Lange V, Naud-Barriant N, Ducot B, Chambris S, Bomsel M, Wolf J-P, et al. Cyclic QDE peptide increases fertilization rates and provides healthy pups in mouse. *Fertility and Sterility*. 1 mai 2009;91(5, Supplement):2110-5.