

**THÈSE**  
**pour le**  
**DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**PAR**

**Stéphanie LÉVÊQUE**

*présentée et soutenue publiquement le 29-09-2003*

**Etude comparative des résultats de l'ICSI au CHU de Nantes selon l'origine  
des spermatozoïdes**

**Président :** M<sup>r</sup> PETIT Yves, Professeur de Pharmacologie, Nantes

**Membres du Jury :** M<sup>r</sup> JEAN Miguel, Maître de Conférences de biologie du développement, Nantes  
M<sup>me</sup> THIBAUT Emmanuelle, Assistante Hospitalo-Universitaire, Nantes

## REMERCIEMENTS

A M<sup>r</sup> Petit, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

A M<sup>r</sup> Jean, pour m'avoir assisté tout au long de ce travail et pour m'avoir fait l'honneur d'être membre du jury.

A M<sup>me</sup> Thibault, pour m'avoir aidé à réaliser cette thèse et pour avoir accepté de faire parti du jury.

A M<sup>r</sup> Auger, pour m'avoir aidé à la réalisation des statistiques de cette étude.

A toute l'équipe du laboratoire de biologie de la reproduction au HME de Nantes, pour m'avoir donné l'envie de réaliser une thèse sur ce sujet et pour m'avoir aidé à le concrétiser.

Avec tout mon amour, à mes parents, pour m'avoir soutenue, motivée et supportée tout au long de mes études.

A mon frère, ma sœur et ma belle-sœur, ainsi qu'à mes amis, parce que la vie ne vaut d'être vécue que si elle est partagée.

A toutes les petites mouches qui se reconnaîtront.

## TABLE DES MATIERES

Chapitre 1: Introduction.....	8
Chapitre 2: Physiologie de la reproduction.....	9
I. <u>Rappels anatomiques</u> .....	9
A. <u>L'appareil génital masculin</u> .....	9
1. <u>Les testicules</u> .....	9
2. <u>L'épididyme</u> .....	11
3. <u>Les voies spermatiques extra-testiculaires</u> .....	11
4. <u>Les glandes annexes</u> .....	11
B. <u>L'appareil génital féminin</u> .....	12
1. <u>Les ovaires</u> .....	13
2. <u>Les trompes</u> .....	13
3. <u>L'utérus</u> .....	14
4. <u>Le vagin</u> .....	14
II. <u>Gamétogenèse</u> .....	14
A. <u>Chez l'homme</u> .....	14
1. <u>Spermatogenèse</u> .....	14
2. <u>Spermiogenèse</u> .....	16
3. <u>Régulation hormonale</u> .....	18
4. <u>Elaboration du liquide spermatique</u> .....	19
B. <u>Chez la femme</u> .....	19
1. <u>Ovogenèse et maturation folliculaire</u> .....	19
2. <u>Folliculogenèse</u> .....	21
3. <u>Régulation hormonale</u> .....	22
III. <u>Fécondation in vivo</u> .....	24
A. <u>Insémination</u> .....	24
B. <u>Migration des spermatozoïdes-capacitation</u> .....	24
C. <u>Réaction acrosomique</u> .....	24
D. <u>Interaction spermatozoïde-zone pellucide</u> .....	25
E. <u>Fusion des gamètes</u> .....	25
F. <u>Réaction corticale</u> .....	25
G. <u>Maturation des gamètes</u> .....	25
IV. <u>Implantation</u> .....	26
Chapitre 3: Epidémiologie de la fertilité humaine.....	27
I. <u>Définitions</u> .....	27
II. <u>Indices de mesure de la fertilité</u> .....	27
A. <u>Délai nécessaire à concevoir</u> .....	27
B. <u>Fécondabilité</u> .....	27
III. <u>Facteurs influençant la fertilité</u> .....	28
A. <u>L'âge</u> .....	28
1. <u>Chez la femme</u> .....	28

2. <u>Chez l'homme</u> .....	28
B. <u>Le moment et le nombre des rapports dans le cycle</u> .....	28
C. <u>Le poids</u> .....	29
D. <u>Le tabac</u> .....	29
1. <u>Chez la femme</u> .....	29
2. <u>Chez l'homme</u> .....	29
IV. <u>Infécondité : types et fréquences</u> .....	29
A. <u>Les causes féminines</u> .....	30
1. <u>Les troubles de l'ovulation</u> .....	30
2. <u>Les anomalies tubaires</u> .....	30
3. <u>L'endométriase</u> .....	30
4. <u>Les dysmucorrhées</u> .....	31
5. <u>Les anomalies du tractus</u> .....	31
6. <u>L'hyperprolactinémie</u> .....	31
B. <u>Les causes masculines</u> .....	31
1. <u>Les oligoasthénotératospermies</u> .....	31
2. <u>Les azoospermies</u> .....	32
C. <u>Les causes mixtes</u> .....	32
D. <u>Les causes idiopathiques</u> .....	32
Chapitre 4: <u>Exploration du couple infécond</u> .....	33
I. <u>Interrogatoire</u> .....	33
A. <u>La motivation du couple</u> .....	33
1. <u>La durée d'infécondité</u> .....	33
2. <u>Le mode de vie</u> .....	33
B. <u>La femme</u> .....	33
1. <u>L'âge</u> .....	33
2. <u>Les cycles génitaux</u> .....	34
3. <u>Les antécédents obstétricaux</u> .....	34
4. <u>Les antécédents infectieux</u> .....	34
5. <u>Les antécédents chirurgicaux</u> .....	34
6. <u>Une maladie endocrinienne</u> .....	34
7. <u>Le DES syndrome</u> .....	34
C. <u>L'homme</u> .....	35
1. <u>L'âge</u> .....	35
2. <u>Le type d'infécondité</u> .....	35
3. <u>Les antécédents infectieux</u> .....	35
4. <u>Les antécédents chirurgicaux</u> .....	35
5. <u>Les antécédents familiaux</u> .....	35
6. <u>Les antécédents carcinologiques</u> .....	35
7. <u>Les habitudes de vie et l'activité professionnelle</u> .....	36
II. <u>Bilan d'orientation</u> .....	36
A. <u>Chez la femme</u> .....	36
1. <u>L'examen clinique</u> .....	36
2. <u>La courbe des températures</u> .....	36
3. <u>Le bilan hormonal</u> .....	37
4. <u>L'hystérosalpingographie</u> .....	37
5. <u>L'hystérocopie</u> .....	37
6. <u>La cœlioscopie</u> .....	37

B. <a href="#">Chez l'homme</a> .....	38
1. <a href="#">L'examen clinique</a> .....	38
2. <a href="#">Le spermogramme</a> .....	38
3. <a href="#">Le test de capacitation-survie</a> .....	39
4. <a href="#">La spermoculture</a> .....	40
5. <a href="#">Le bilan hormonal</a> .....	40
6. <a href="#">L'exploration chirurgicale</a> .....	40
7. <a href="#">Le caryotype</a> .....	41
8. <a href="#">Le bilan sérologique</a> .....	41
C. <a href="#">Le couple</a> .....	41
1. <a href="#">Le test de Hünher</a> .....	41
2. <a href="#">Le test de pénétration in vitro</a> .....	42
III. <a href="#">Approches thérapeutiques proposées</a> .....	42
A. <a href="#">Principes généraux</a> .....	42
B. <a href="#">Différentes approches thérapeutiques</a> .....	42
1. <a href="#">La stimulation simple</a> .....	42
2. <a href="#">L'insémination intra-utérine</a> .....	43
3. <a href="#">La fécondation in vitro</a> .....	43
4. <a href="#">Don de gamètes</a> .....	44
Chapitre 5: <a href="#">Injection intra-cytoplasmique du spermatozoïde</a> .....	45
I. <a href="#">Bref historique</a> .....	45
II. <a href="#">Cadre législatif</a> .....	46
III. <a href="#">Matériel et méthode</a> .....	46
A. <a href="#">La stimulation multifolliculaire</a> .....	46
1. <a href="#">Les molécules utilisées</a> .....	46
2. <a href="#">Les types de protocoles</a> .....	48
3. <a href="#">Le monitoring</a> .....	50
4. <a href="#">Les effets indésirables</a> .....	51
B. <a href="#">Le premier jour</a> .....	51
1. <a href="#">Le recueil des ovocytes</a> .....	51
2. <a href="#">La préparation du sperme</a> .....	52
3. <a href="#">L'injection</a> .....	53
C. <a href="#">Le deuxième jour</a> .....	55
D. <a href="#">Le troisième et quatrième jour</a> .....	55
1. <a href="#">Suivi du développement embryonnaire</a> .....	55
2. <a href="#">Choix du nombre d'embryon à transférer</a> .....	55
3. <a href="#">Réalisation du transfert embryonnaire</a> .....	56
4. <a href="#">Congélation des embryons surnuméraires</a> .....	56
Chapitre 6: <a href="#">Etude comparative des résultats de l'ICSI au CHU de Nantes selon l'origine des spermatozoïdes</a> .....	57
I. <a href="#">Introduction</a> .....	57
II. <a href="#">Calculs statistiques</a> .....	58
A. <a href="#">La composante féminine</a> .....	58
B. <a href="#">Calculs statistiques</a> .....	58
III. <a href="#">Discussion</a> .....	61

<a href="#">A. La chirurgie</a> .....	61
<a href="#">B. La congélation</a> .....	61
<a href="#">C. Conclusions</a> .....	62
Annexes.....	64
Bibliographie.....	74

## TABLE DES FIGURES

<a href="#">Figure 1 : Appareil génital masculin</a> .....	9
<a href="#">Figure 2 : Structure générale du testicule</a> .....	10
<a href="#">Figure 3 : Coupe histologique transversale de tubes séminifères</a> .....	10
<a href="#">Figure 4 : Tractus uro-génital masculin</a> .....	11
<a href="#">Figure 5 : L'appareil génital féminin</a> .....	12
<a href="#">Figure 6 : Coupe histologique de l'ovaire</a> .....	13
<a href="#">Figure 7 : Maturation des cellules germinales entre les cellules de Sertoli</a> .....	15
<a href="#">Figure 8 : Gamétogenèse chez l'homme</a> .....	16
<a href="#">Figure 9 : Spermiogenèse</a> .....	17
<a href="#">Figure 10 : Contrôle endocrinien de la fonction testiculaire</a> .....	18
<a href="#">Figure 11 : Gamétogenèse chez la femme</a> .....	20
<a href="#">Figure 12 : L'ovaire à différents stades du cycle</a> .....	22
<a href="#">Figure 13 : Contrôle endocrinien de la fonction ovarienne</a> .....	24
<a href="#">Figure 14 : La migration d'un ovocyte fécondé</a> .....	26
<a href="#">Figure 15 : Répartition des causes d'infertilité</a> .....	30
<a href="#">Figure 16 : Etapes d'un test de capacitation-survie</a> .....	39
<a href="#">Figure 17 : Un ovocyte et son globule polaire</a> .....	52
<a href="#">Figure 18 : Photos de microinjection</a> .....	54
<a href="#">Figure 19 : nombre d'ovocytes fécondés selon l'origine des spermatozoïdes</a> .....	59

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

<a href="#">Tableau 1 : groupage des sujets</a> .....	57
<a href="#">Tableau 2 : âge moyen et écart-type des femmes au sein des huit groupes</a> .....	58
<a href="#">Tableau 3 : données sur les ovocytes recueillis et fécondés au sein des huit groupes</a> .....	59
<a href="#">Tableau 4 : comparaison statistique du nombre d'ovocytes fécondés</a> .....	60



## **INTRODUCTION**

Depuis la naissance du premier bébé éprouvette en 1978, les techniques de fécondation assistée n'ont cessé de progresser. En 1992, le recours à l'injection du spermatozoïde dans l'ovocyte pour traiter les infertilités masculines constitue certainement l'innovation la plus marquante de l'histoire de l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Depuis plus de 10 ans, cette technique baptisée ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) a permis à des millions d'hommes considérés comme stériles de devenir pères.

Il est aujourd'hui possible de déterminer la cause d'une infertilité au sein d'un couple dans 92 % des cas. Une fois le diagnostic établi, le couple est orienté vers une thérapeutique adaptée. La fécondation *in vitro*, et notamment la FIV-ICSI est l'une des techniques proposées. L'ICSI étant pratiquée depuis peu de temps, des questions se posent encore sur le devenir des enfants nés par cette technique et sur le risque de transmission d'anomalies génétiques.

Après un rappel sur la physiologie de la reproduction et l'épidémiologie de la fertilité, le déroulement de la prise en charge médicale d'un couple infécond sera envisagé. De la stimulation hormonale, en passant par le recueil des gamètes, jusqu'à l'injection du spermatozoïde dans l'ovocyte, nous développerons le protocole de l'ICSI. Ensuite notre travail consistera à comparer les résultats de l'ICSI au CHU de Nantes selon l'origine des spermatozoïdes, qu'ils proviennent d'un éjaculat ou d'une chirurgie, qu'ils soient frais ou congelés. Cette étude portera sur les 2735 couples qui ont eu recours à une ICSI à Nantes entre 1996 et 2001. Les chances d'obtenir un embryon viable sont-elles comparables ? Un spermatozoïde immature permet-il l'obtention d'une grossesse ? La congélation des spermatozoïdes pénalise-t-elle les taux de succès ?

## PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION

### I. Rappels anatomiques

#### A. L'appareil génital masculin (1)

Il assure la production des spermatozoïdes, leur transport, nutrition et stockage dans les voies génitales masculines, ainsi que leur expulsion dans les voies génitales féminines lors du coït.

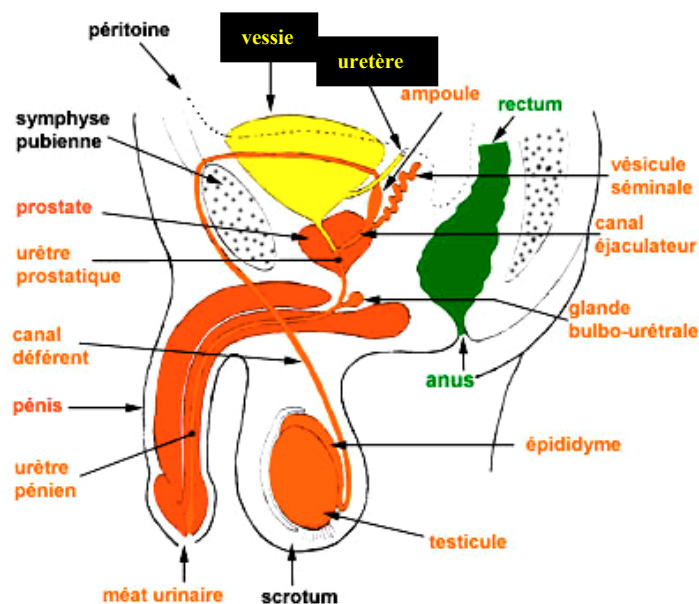


Figure 1 : Appareil génital masculin (1)

#### 1. Les testicules

##### a. Morphologie (2-3)

Ce sont des organes pairs ovoïdes de 5 cm de long sur 3 cm de large et 2,5 cm d'épaisseur ; chaque testicule est logé dans une poche revêtue de peau, le scrotum. Il est coiffé par l'épididyme, est suspendu dans le sac scrotal par le cordon spermatique qui contient le canal déférent, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et des fibres nerveuses. Il est fixé à la base du scrotum par le ligament scrotal.

## b. Histologie

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive séreuse épaisse et résistante, l'albuginée, qui lui donne sa couleur blanche in vivo ; cette capsule s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis ; du corps de Highmore partent des cloisons conjonctives radiaires, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires ; chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères débouchant dans le rete testis par de courts segments rectilignes, les tubes droits.

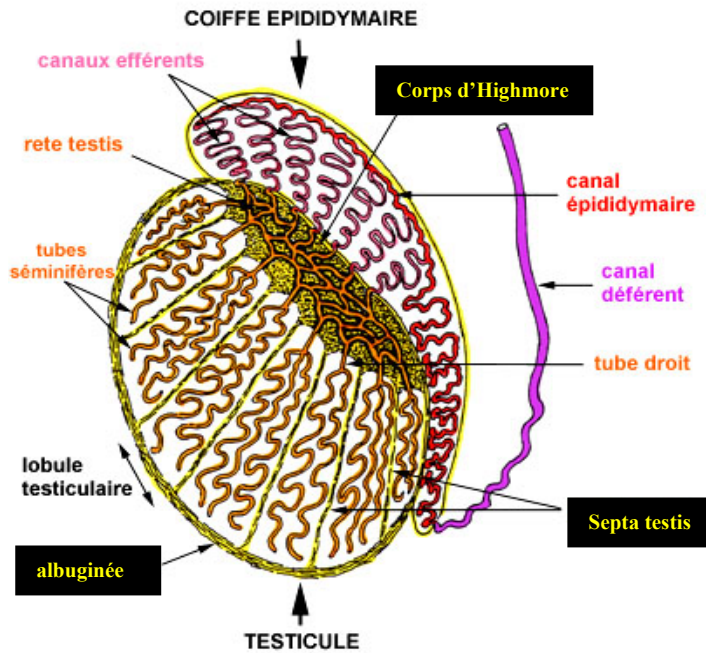


Figure 2 : Structure générale du testicule (1)

Le tube séminifère est limité par une gaine tubulaire mince, entre les tubes, un tissu conjonctif lâche contient des cellules endocrines isolées ou en petits îlots situés à proximité des capillaires, les cellules de Leydig. La paroi du tube séminifère est formée d'un épithélium stratifié comprenant deux types de cellules : les cellules de la lignée germinale disposées sur 4 à 8 couches et les cellules de Sertoli.

Légende :

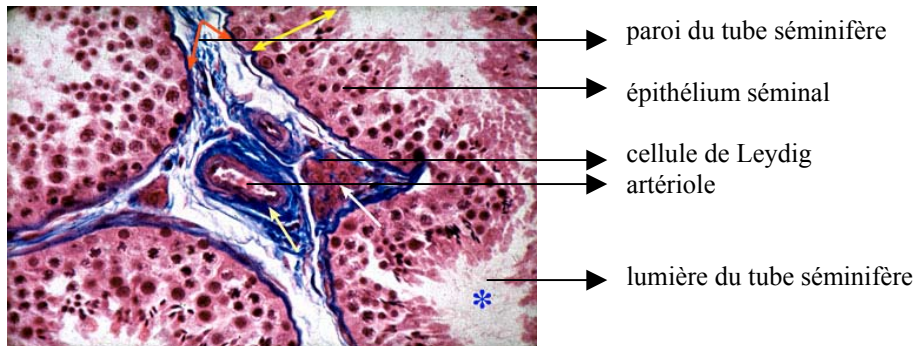


Figure 3 : Coupe histologique transversale de tubes séminifères (4)

## 2. L'épididyme

C'est un organe encapsulé de 5 cm de long sur 1 cm de large, en forme de virgule, accolé à la face postérieure du testicule.

Il comprend une tête, partie antérieure renflée, dans laquelle pénètrent les cônes efférents.

Le corps, prismatique, est constitué essentiellement par le canal épидидymaire très pelotonné d'environ 5 mètres de long.

La queue de l'épididyme, plaquée à la surface externe du testicule est suivie par le canal déférent.

## 3. Les voies spermatiques extra-testiculaires

Dans chaque testicule, elles débutent par les cônes efférents, canaux assurant le transport des spermatozoïdes du rete testis à la tête de l'épididyme, se poursuivent par le canal épидидymaire où les spermatozoïdes s'entassent dans la portion distale. Ensuite le canal déférent, jouant un rôle important dans l'éjaculation, se prolonge jusque dans le petit bassin où il augmente de calibre et devient sinueux pour rejoindre la partie postérieure de la vessie ; à ce niveau, il se dilate en ampoule déférentielle s'ouvrant et marquant ainsi le passage des canaux déférents aux canaux éjaculateurs. Ceux-ci pénètrent aussitôt dans le tissu prostatique où ils rejoignent l'urètre.

## 4. Les glandes annexes

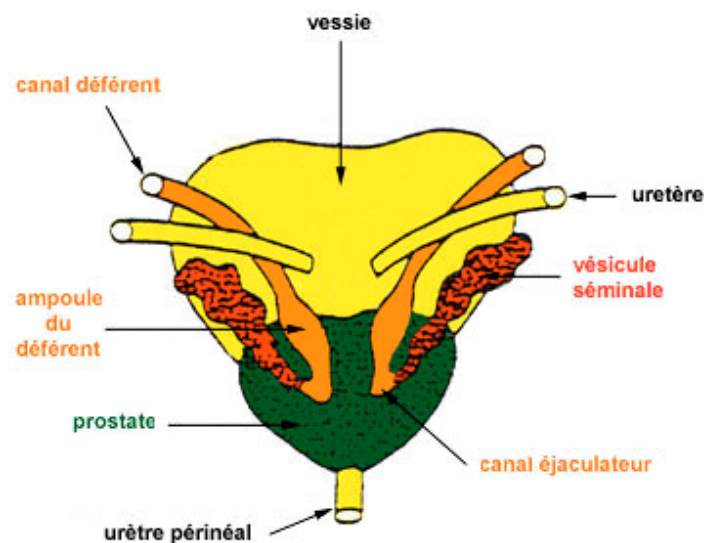


Figure 4 : Tractus uro-génital masculin (1)

### a. Les vésicules séminales

Ce sont deux petits organes glandulaires, bosselés, annexés aux canaux déférents au niveau de leurs portions terminales. Ils élaborent un liquide clair, le plasma séminal, constituant une partie du sperme.

### b. La prostate (5)

C'est un organe impair et médian, de la taille et de la forme d'une petite châtaigne, situé à la partie inférieure de la vessie. Outre son rôle physiologique dans la miction et l'éjaculation, il participe à l'élaboration du liquide séminal via les glandes prostatiques.

### c. Les glandes de Cowper

Ce sont deux petites glandes situées à la jonction de l'urètre membraneux et pénien. Elles produisent un liquide proche du liquide prostatique.

## **B. L'appareil génital féminin (6)**

Il assure la reproduction c'est à dire la production des gamètes féminins, l'accueil et l'acheminement des spermatozoïdes, la fécondation de l'ovocyte, le transit et l'implantation de l'œuf, le développement de l'embryon puis du fœtus, ainsi que son expulsion à la fin de la grossesse.

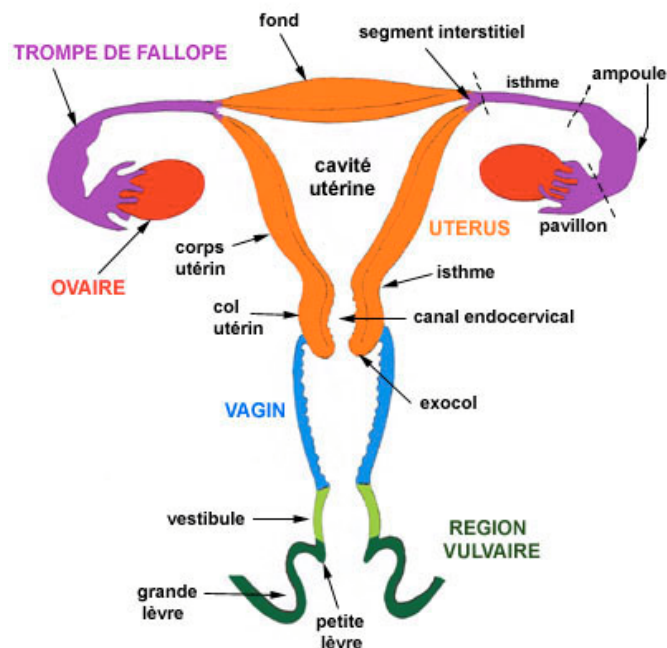


Figure 5 : L'appareil génital féminin (6)

## 1. Les ovaires

### a. Morphologie

Ce sont deux petits organes ovoïdes aplatis en forme d'amande, de 4 cm de long sur 1,5 cm d'épaisseur, situés latéralement à gauche et à droite dans la cavité pelvienne.

L'ovaire est rattaché au ligament large par un repli péritonéal, le mésovarium qui permet le passage des vaisseaux et des nerfs au niveau du hile.

### b. Histologie

L'ovaire comprend une zone médullaire, formée de tissu conjonctif fibreux où circulent les nerfs, les vaisseaux sanguins et lymphatiques ; et une zone corticale comportant une couche conjonctive dense sous-épithéliale, l'albuginée qui confère sa teinte blanchâtre à l'ovaire. Sous l'albuginée, les follicules gamétogènes, éparpillés dans le stroma, contiennent les ovocytes.

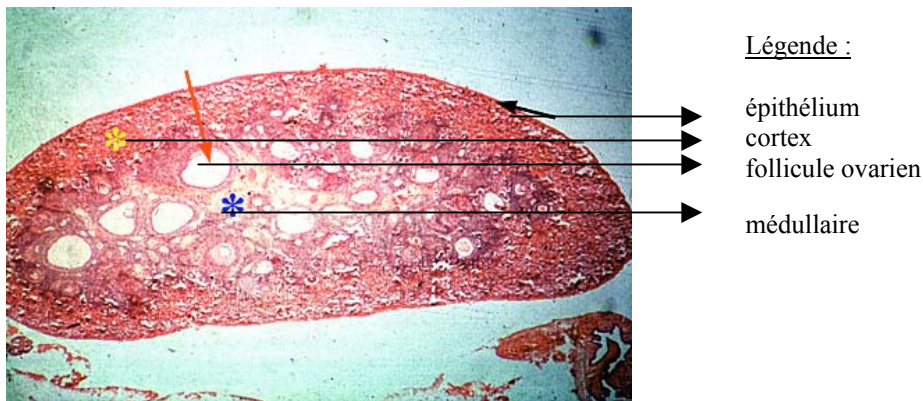


Figure 6 : Coupe histologique de l'ovaire (7)

## 2. Les trompes

Ce sont deux formations tubulaires de 10 à 12 cm de long, divisées en 4 segments :

- le pavillon ou infundibulum, en forme d'entonnoir, est la partie mobile de la trompe située au voisinage de l'ovaire. Il s'ouvre dans la cavité abdominale et présente des franges qui participent à la captation de l'ovocyte lors de la ponte.

- l'ampoule, le plus long, large et courbe, représente 2/3 de la trompe.

- l'isthme est un segment étroit et rectiligne.

- la portion interstitielle, très courte, située dans le corps de l'utérus.

Elles assurent le transport des spermatozoïdes, la captation de l'ovocyte facilitée par l'existence d'un courant séreux et la migration de l'ovocyte fécondé.

### 3. L'utérus

C'est un organe de 6 à 8 cm de long, situé dans la cavité péritonéale entre la vessie et le rectum. Le corps utérin a la forme d'un cône aplati creusé d'une cavité, il communique par l'isthme avec le col utérin, composé de l'endocol et l'exocol, et avec le vagin.

Il est constitué d'une muqueuse, l'endomètre, et d'une musculature, le myomètre, qui subissent des variations morphologiques et fonctionnelles au cours du cycle menstruel. La muqueuse endocervicale possède des glandes sécrétant la glaire cervicale, hydrogel présentant des modifications cycliques.

### 4. Le vagin

C'est un conduit musculo-membraneux, de 7 à 9 cm de long, qui s'étend de l'utérus au vestibule de la vulve. Il est doté d'une grande élasticité qui permet l'extension de sa paroi lors du coït et le passage du fœtus lors de l'accouchement.

## **II. Gamétogenèse**

### **A. Chez l'homme**

#### 1. Spermatogenèse (1-8)

Chez les embryons, la gonade commence à se différencier en testicule à partir de la septième semaine de vie intra-utérine avec l'apparition des futures cellules de Sertoli, de Leydig et des gonocytes primordiaux. Au cours du cinquième mois, les gonocytes se divisent en spermatogonies. Ces mitoses cessent à la naissance.

La spermatogenèse débute à la puberté, atteint son maximum entre 20 et 30 ans, ralentit progressivement vers la quarantaine mais peut se poursuivre jusqu'à un âge avancé. C'est un processus lent et continu d'environ 70 jours qui se déroule par vagues successives dans la paroi des tubes séminifères.

Dans les tubes séminifères, les différentes couches de cellules germinales représentent les phases de la spermatogenèse qui s'effectue de façon centripète depuis la spermatogonie, située contre la membrane basale, jusqu'au spermatozoïde libéré dans la lumière :



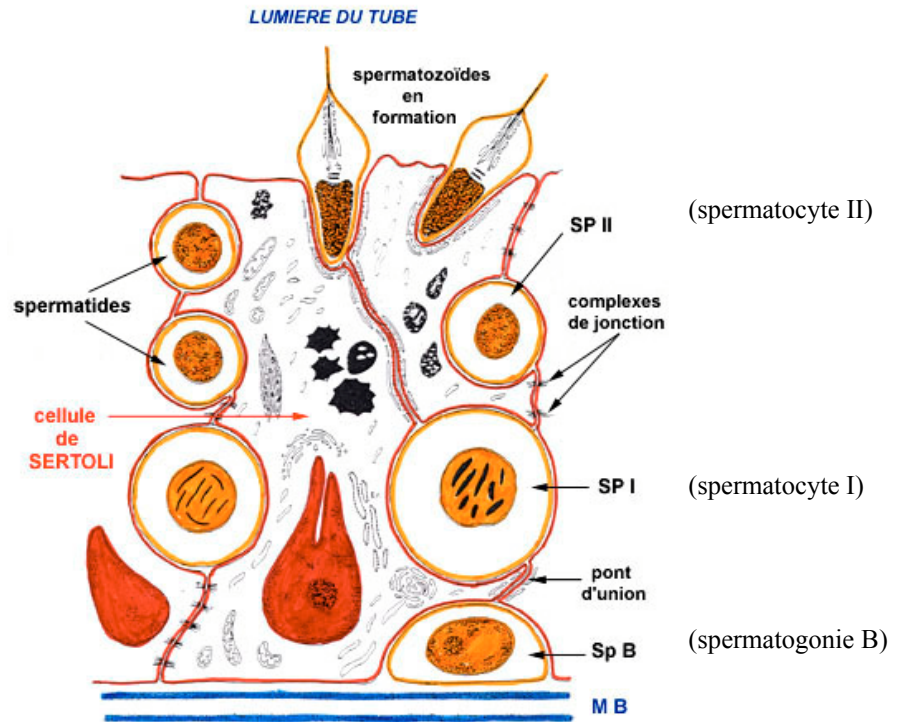


Figure 7 : Maturation des cellules germinales entre les cellules de Sertoli (1)

- les spermatogonies se multiplient par mitoses somatiques ; la spermatogonie à chromatine sombre Ad (dark) se divise en 2 cellules filles : une cellule Ad qui assure le renouvellement des cellules souches et une cellule Ap à chromatine pâle ; la cellule Ap se divise elle-même en 2 spermatogonies B.

- les spermatocytes I résultent de la division somatique des spermatogonies B ; ils augmentent de volume puis sont le siège de la première division méiotique ou méiose réductionnelle ; cette phase est caractérisée par une réplication de l'ADN et un brassage génétique (crossing over) pendant la prophase, la répartition aléatoire des chromosomes maternels et paternels de part et d'autre de la plaque équatoriale lors de la métaphase et la séparation des chromosomes sexuels ; cette phase est très longue et dure 23 jours.

- les spermatocytes II ont une durée de vie brève, d'environ 24 heures ; ils sont rarement visibles sur les coupes histologiques car ils se divisent rapidement en spermatides : c'est la méiose équationnelle, les 23 chromosomes composés chacun de deux chromatides sœurs se disposent sur la plaque équatoriale et se divisent par leur centromère.

- les spermatides obtenues vont alors amorcer leur différenciation en spermatozoïdes : c'est la spermiogénèse.



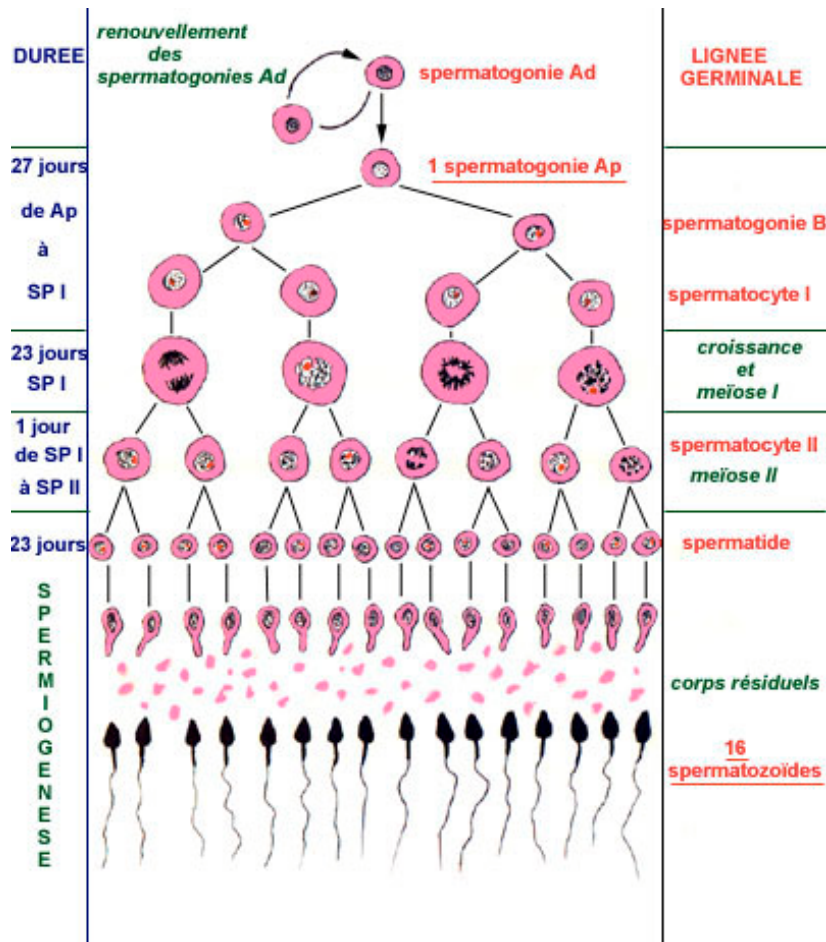


Figure 8 : Gamétogenèse chez l'homme (1)

## 2. Spermio-genèse (1-9)

C'est un processus complexe qui a une durée fixe de 24 jours.

Les changements des spermatozoïdes sont d'ordres morphologiques et fonctionnels avec :

- le développement de l'acrosome qui contient des enzymes nécessaires à leur interaction avec un ovocyte.
- l'apparition du flagelle.
- l'élimination de l'excès de cytoplasme donnant le corps résiduel.
- la spermiation c'est à dire le largage des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère.

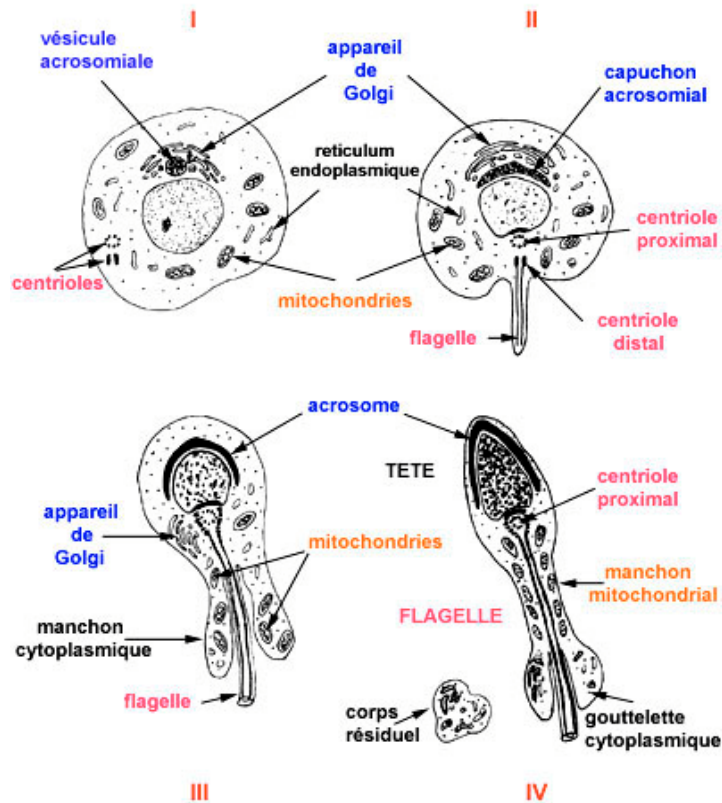


Figure 9 : Spermiogenèse (1)

Lors du passage dans l'épididyme, les spermatozoïdes vont achever leur maturation :

- la chromatine va terminer sa condensation
- ils vont acquérir leur mobilité
- des glycoprotéines vont se fixer sur la membrane plasmique, sur ces molécules ligands des protéines vont se fixer et ainsi masquer les glycosyltransférases : c'est la décapacitation, cette perte de pouvoir fécondant ne sera levée que dans les voies génitales féminines.

Au cours du passage dans l'épididyme, les spermatozoïdes vont subir des modifications biochimiques (méthylations) liées au phénomène d'empreinte génomique (10). L'empreinte génomique est une modification différentielle des allèles de l'origine paternelle et maternelle de gènes dont la fonction est de réguler l'expression de ces gènes. Une expression anormale des gènes imprimés est parfois associée à des pathologies humaines. L'absence de l'empreinte génomique est incompatible avec le développement du fœtus jusqu'au terme. Les données récentes nous permettent de conclure que les gènes critiques pour le développement sont déjà imprimés au stade de spermatocytes II chez la souris et au stade de spermatide ronde chez l'homme. La seule chose potentiellement préoccupante est que tous les gènes imprimés ne le sont pas nécessairement en même temps dans la spermatogenèse. Ainsi tous les gènes indispensables pour le développement jusqu'à la naissance pourraient être imprimés alors que l'empreinte d'autres gènes, y compris ceux impliqués dans des pathologies, pourrait être incomplète (11-12).

### 3. Régulation hormonale(13-14)

La spermatogenèse est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire. La GnRH (Gonadotrophine Releasing Hormone) est libérée de façon pulsatile au niveau hypothalamique, cette sécrétion entraîne une production hypophysaire de FSH (Folliculine Stimulating Hormone) et de LH (Luteisine hormone).

La LH se fixe sur des récepteurs membranaires des cellules de Leydig et commande ainsi la stéroïdogénèse. La testostérone sécrétée pénètre dans le cytoplasme sertolien où elle se lie à l'ABP (Androgen Binding Protein) pour conditionner le développement des cellules germinales. La testostérone libre passe dans le sang et exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse, ainsi qu'une inhibition des enzymes de la stéroïdogénèse. La testostérone peut être aromatisée en œstradiol dans la cellule de Sertoli. L'œstradiol va alors inhiber la sécrétion de testostérone des cellules de Leydig.

La FSH agit au niveau de la cellule de Sertoli en stimulant la formation d'ABP, en activant la spermatogenèse et provoquant la sécrétion d'inhibine qui exerce un rétrocontrôle négatif.

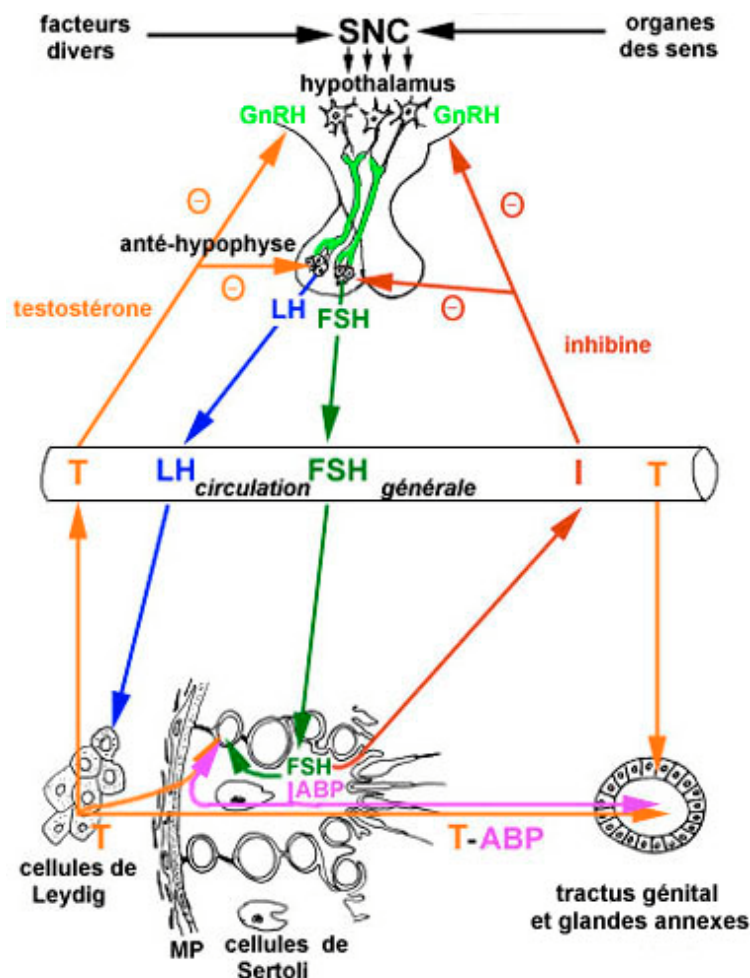


Figure 10 : Contrôle endocrinien de la fonction testiculaire (1)

#### 4. Elaboration du liquide spermatique (1)

Le sperme est constitué d'une part par des cellules, des spermatozoïdes et des cellules de la lignée germinale, et d'autre part par un liquide, le fluide testiculaire et des sécrétions glandulaires des vésicules séminales et de la prostate.

##### a. Le fluide testiculaire

Il est élaboré dans les cellules de Sertoli et constitue un quart du liquide spermatique. Il est riche en potassium, protéines, acides aminés, sucres et hormones stéroïdes ; sa formation et sa composition sont sous la dépendance de la FSH. Ce fluide joue un rôle important dans l'apport d'éléments nutritifs pour les cellules germinales en maturation et pour les spermatozoïdes libérés. Il permet aussi le transport de molécules régulatrices de la communication cellulaire et des spermatozoïdes vers le rete testis.

##### b. Les sécrétions glandulaires

Elles représentent trois quarts du liquide spermatique.

- Les vésicules séminales sécrètent un liquide alcalin, jaunâtre et visqueux riche en fructose, vitamine C, protéines et prostaglandines. Ce plasma séminal est une source énergétique pour les spermatozoïdes.

- La prostate, via les glandes prostatiques, élabore un liquide séminal épais, blanchâtre, riche en acide citrique, phosphatases acides, protéines, glycoprotéines zinc, magnésium et calcium.

- Les glandes de Cowper produisent un liquide mucoïde qui participe à la lubrification de l'urètre.

## **B. Chez la femme**

### 1. Ovogenèse et maturation folliculaire (6)

Elle débute à la quinzième semaine de la vie embryonnaire par la multiplication des ovogonies dans les cordons de Valentin-Pflügger de la zone corticale ovarienne. Ces mitoses somatiques se poursuivent jusqu'au septième mois de la vie fœtale pour aboutir à la constitution d'un stock d'environ sept millions d'ovogonies, à ce stade les ovogonies sont cernées par une couche de cellules folliculeuses. Les mitoses stoppent et les premières divisions de la méiose démarrent transformant les ovogonies en ovocytes du premier ordre, cellules diploïdes. Les méioses se bloquent sous l'action de l'Ovocyte Maturation Inhibiteur (OMI) à la fin de la prophase et ne reprendront ensuite qu'entre la puberté et la ménopause dans les follicules pré-ovulatoires une fois tous les 28 jours. En effet peu avant la ponte, l'ovocyte I va terminer la première division de la méiose et entamer la deuxième division où il sera de nouveau bloqué au stade de la métaphase II, c'est l'ovocyte II, cellule haploïde. La méiose ne s'achèvera que si la fécondation a lieu.

L'étude de l'ovogenèse ne peut être dissociée de celle de la maturation folliculaire. De la naissance à la puberté, la maturation s'amorce dans quelques follicules mais ne dépasse pas le stade de follicule préantral ; aucun follicule ne peut parvenir à maturité sans l'installation des cycles hormonaux c'est-à-dire à la puberté. Par contre on assiste à une diminution très importante du nombre de follicules primordiaux entre le septième mois de la vie embryonnaire et la naissance, passant environ de sept à un million. Ce phénomène de dégénérescence folliculaire ou atrésie se continue à une moins grande échelle jusqu'à la puberté où moins de la moitié des ovocytes I persiste. Dès l'installation des cycles hormonaux, le cortex est le siège de remaniements constants, c'est la folliculogénèse.

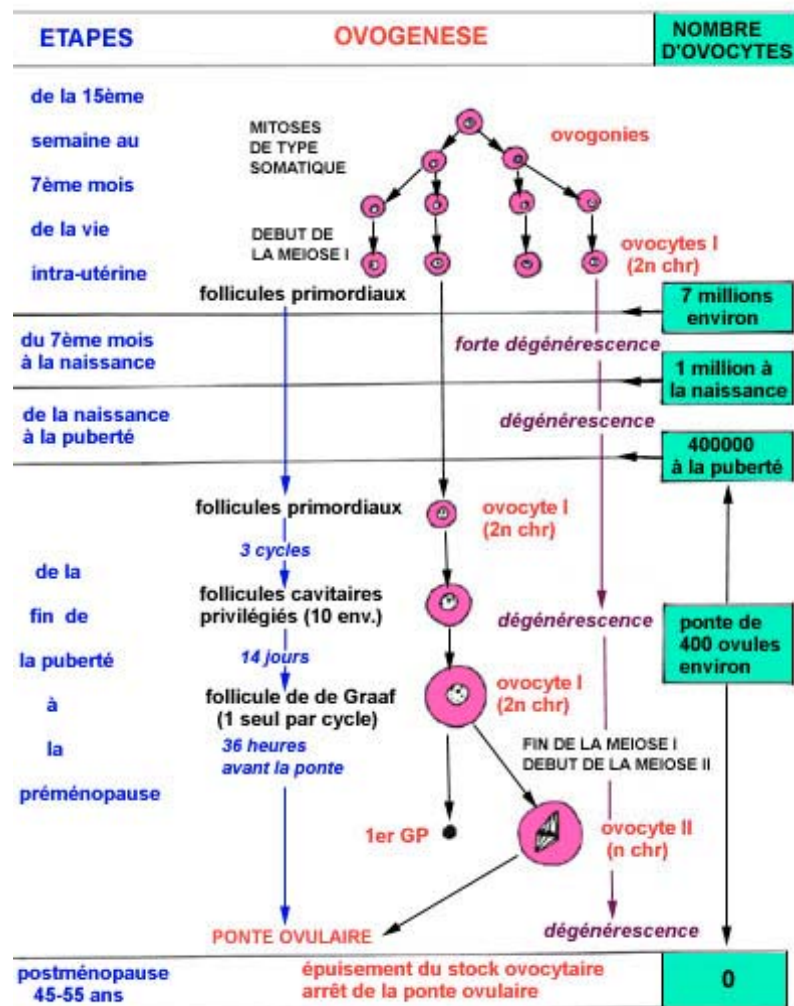


Figure 11 : Gamétogenèse chez la femme (6)

## 2. Folliculogenèse (6)

Le développement folliculaire se déroule sur trois cycles et ne concerne qu'une dizaine de follicules primordiaux.

Ils donnent les follicules primaires qui ne diffèrent des précédents que par les cellules folliculeuses devenues cubiques.

Puis le follicule secondaire se caractérise par la formation d'une deuxième assise cellulaire et un accroissement du nombre de cellules folliculeuses constituant la granulosa, l'ovocyte augmente de volume et s'entoure d'une enveloppe glycoprotéique, la zone pellucide.

Le follicule tertiaire se définit par l'apparition de petites cavités au sein de la granulosa et par la différenciation des thèques internes et externes. Les cavités vont confluer en une seule cavité, l'antrum qui contient le liquor folliculi. La taille du follicule augmente énormément.

Dans le follicule cavitaire, l'antrum s'est agrandi réduisant la granulosa à quelques assises périphériques et repoussant latéralement l'ovocyte I. A ce niveau, la granulosa forme un promontoire, le cumulus oophorus ; une assise de cellules folliculeuses particulières forme la corona radiata accrochée à la zone pellucide.

Enfin le follicule atteint son volume maximal, c'est le follicule de De Graaf. Au pic ovulatoire, l'ovocyte I achève sa maturation donnant l'ovocyte II et le premier globule polaire. Dans les quelques heures suivant le pic de LH, la pression du liquide folliculaire augmente, une vasoconstriction très localisée au niveau de l'apex provoque une ischémie suivie d'une nécrose tissulaire responsable de la rupture de la paroi folliculaire. L'ovocyte II, entouré de la corona radiata et de quelques cellules du cumulus oophorus, est entraîné dans le liquide folliculaire qui se déverse dans la cavité péritonéale, il est alors capté par le pavillon de la trompe.

Le follicule vidé de son contenu s'affaisse et se plisse, c'est le follicule déhiscent qui va se transformer en corps jaune. Les cellules folliculeuses augmentent considérablement de volume, s'enrichissent en lipides et sécrètent un pigment, le lipochrome, c'est la lutéinisation. Les grandes cellules lutéales vont sécréter la progestérone et les petites cellules lutéales vont sécréter des oestrogènes. En l'absence de fécondation, le corps jaune dégénère en quelques jours pour donner le corpus albicans, organite très volumineux.



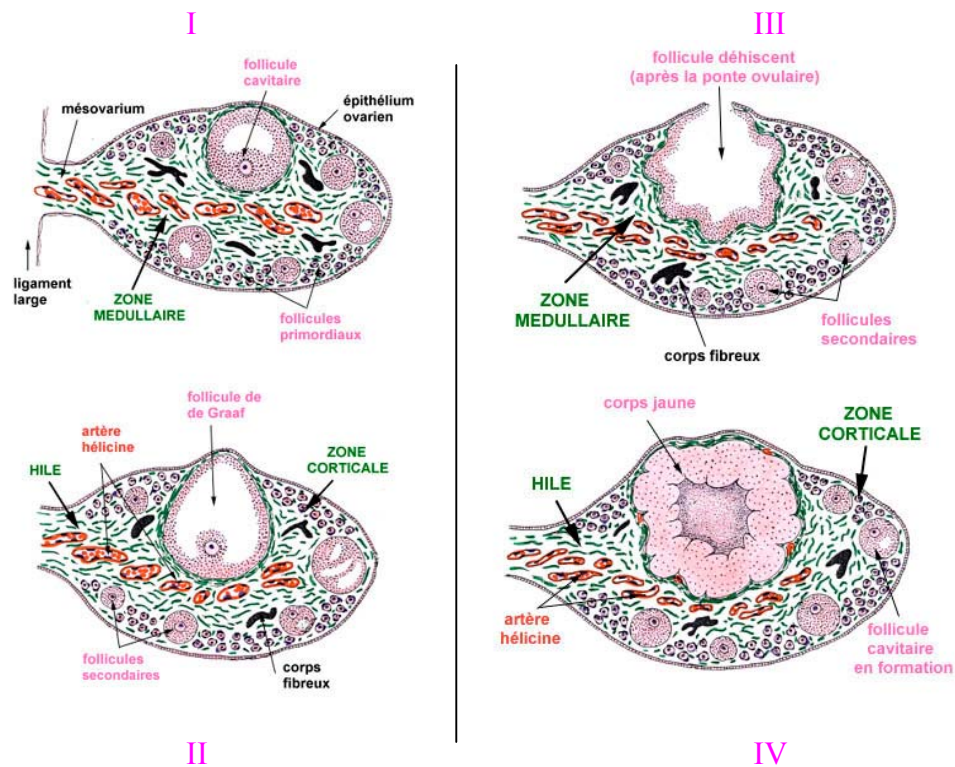


Figure 12 : L'ovaire à différents stades du cycle (6)

### 3. Régulation hormonale (15)

Chez la femme, les cycles génitaux s'instaurent à la puberté, ils durent en moyenne 28 jours et sont soumis aux régulations de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. Le cycle démarre au premier jour des règles. Dans l'hypothalamus, la GnRH est libérée de façon pulsatile dans le système vasculaire porte, cela génère une sécrétion d'hormones hypophysaires, la FSH et la LH.

La FSH a un rôle prépondérant dans la première phase du cycle menstruel ; lors de cette phase folliculaire, la FSH assure le développement d'une cohorte de follicules dont la maturation va se poursuivre. Les follicules recrutés sécrètent de l'œstradiol en quantité croissante et de l'inhibine. Localement, la synergie d'action de l'œstradiol et de la FSH aboutit à un développement accéléré des follicules en croissance.

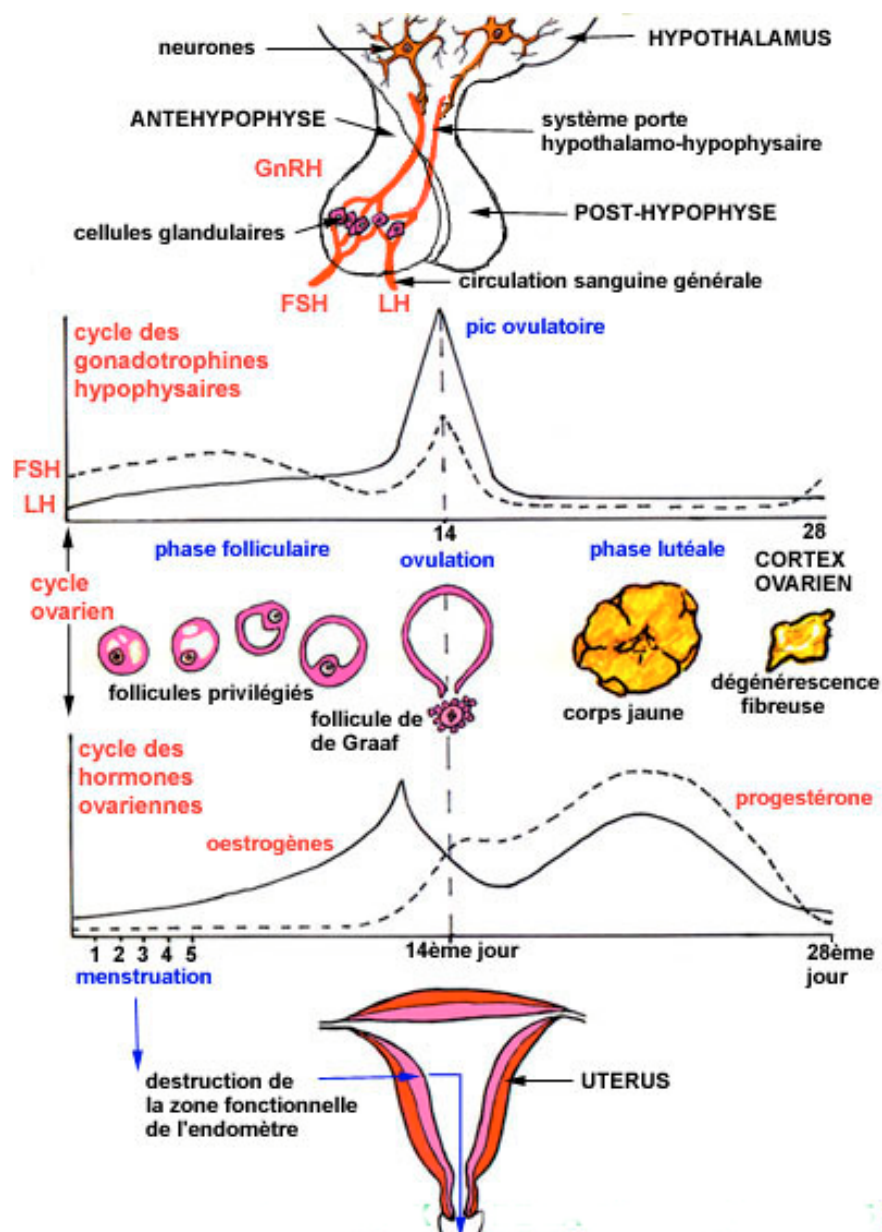
A partir du milieu de la phase folliculaire, une franche augmentation du taux plasmatique d'œstradiol, du fait d'un rétro-contrôle négatif, entraîne une baisse du taux de FSH. Le follicule destiné à ovuler est alors bien différent de ses congénères sur le plan fonctionnel.

Trois jours avant le pic de LH, le follicule dominant continue son développement rapide malgré la baisse de FSH car il possède un plus grand nombre de récepteur et reste ainsi moins sensible à la chute du taux de cette hormone ; c'est lui qui est à l'origine de la quasi-totalité de la sécrétion d'œstradiol dans l'ovaire. Au niveau des cellules de la granulosa, les

récepteurs à FSH continuent d'augmenter et des récepteurs à LH apparaissent. Par contre, les autres follicules subissent l'atrésie tour à tour.

Le taux d'œstradiol augmente rapidement et lorsque l'imprégnation oestrogénique est suffisante en taux et en durée, par rétro-contrôle positif, la sécrétion hypophysaire de LH commence à augmenter. L'ovaire répond par une petite sécrétion de progestérone. L'influence des taux élevés d'œstradiol, modulée par la progestérone, permet la décharge pré-ovulatoire de FSH et surtout de LH.

L'ovulation a lieu environ 36 heures après le début de la montée du pic ovulatoire. Lors de la deuxième phase du cycle, la LH permet la formation du corps jaune et la transformation des cellules de la granulosa en grandes cellules lutéales, source de progestérone. Des cellules de la thèque subissent aussi la lutéinisation et se transforment en petites cellules lutéales sécrétant de l'œstradiol. S'il n'y a pas fécondation les taux hormonaux chutent vers le vingt et unième jour. En l'absence de nidation, le corps jaune involue (lutéolyse) après quatorze jour d'existence.





### **III. Fécondation in vivo (16)**

#### **A. Insémination**

Au cours du coït, les spermatozoïdes sont déposés dans la cavité vaginale au moment de l'éjaculation. Ils peuvent être au nombre de 300 à 400 millions et sont encore incapables de féconder l'ovocyte (décapacités). Leur durée de vie n'est plus qu'alors de 2 ou 3 jours.

Après l'ovulation, l'ovocyte II reste fécondable environ 24 heures, ce qui laisse un laps de temps très court pour la réalisation de la fécondation.

#### **B. Migration des spermatozoïdes-capacitation**

Le sperme se liquéfie dans le vagin qui est un milieu très hostile pour les spermatozoïdes puisque le pH est acide. Les spermatozoïdes mobiles peuvent franchir le col utérin si la glaire est de qualité suffisante pour les accueillir. Le sperme est filtré par la glaire cervicale et les spermatozoïdes vont retrouver leur pouvoir fécondant, la capacitation débutée dans le col se poursuit dans l'utérus et les trompes. Ce phénomène consiste en l'enlèvement des facteurs décapacitants déposés lors du transit épидидymaire. La perméabilité au calcium et à l'oxygène au niveau de la membrane des spermatozoïdes va être favorisée, et leur motilité va être activée. A ce moment, le nombre de spermatozoïdes est réduit à moins de 10%, la glaire ayant sélectionnée les plus mobiles et laissée les spermatozoïdes anormaux et le liquide séminal dans le vagin.

Le transit utéro-tubaire est rendu possible, outre la mobilité propre des spermatozoïdes, par les contractions musculaires de l'utérus et à la présence de liquide utérin sécrété par les glandes endométriales. Le nombre de spermatozoïdes atteignant l'ampoule est fortement réduit à quelques centaines.

#### **C. Réaction acrosomique**

Elle est soit spontanée (environ 20%), soit induite lors de la fixation du spermatozoïde sur la ZP. C'est un processus d'exocytose avec libération des enzymes de l'acrosome et externalisation de la membrane acrosomique interne. Elle se caractérise par la fusion en divers points de la membrane plasmique et de la membrane acrosomique externe, suivie de la vésicularisation des zones non fusionnées et de l'élimination des deux membranes, sauf dans la zone équatoriale.

L'acrosome déverse plusieurs enzymes dont :

- la hyaluronidase qui dissout le ciment intercellulaire du cumulus oophorus et de la corona radiata.

- la CPE (Corona Penetrating Enzyme), estérase qui permet la traversée de la corona radiata.

#### **D. Interaction spermatozoïde-zone pellucide**

La traversée de la zone pellucide se fait obliquement en un temps variant entre cinq et vingt minutes. Elle se réalise par la digestion enzymatique de proche en proche de la zone pellucide et par la poussée du mouvement flagellaire exacerbé par la réaction acrosomiale. L'acrosine est une protéase présente sur la membrane acrosomique interne sous forme inactive, la proacrosine. Cette dernière est activée lors de la capacitation. Le spermatozoïde débouche finalement dans l'espace périvitellin et se couche sur les villosités de la membrane plasmique de l'ovocyte.

#### **E. Fusion des gamètes**

Les membranes plasmiques de l'ovocyte et du spermatozoïde fusionnent. Cette fusion débute dans la région du col de l'acrosome et se propage aux zones plus postérieures de sorte que la totalité du spermatozoïde pénètre dans le cytoplasme ovocytaire. Elle met en jeu des enzymes présentes dans l'acrosome (phospholipases) et dans la membrane ovocytaire (glycosyltransférases).

#### **F. Réaction corticale**

Dans les minutes qui suivent la fusion, l'exocytose des granules corticaux au contact de la zone pellucide provoque des modifications qui la rende imperméable à la pénétration et à la progression de spermatozoïdes surnuméraires. Ce mécanisme est destiné à limiter la polyspermie.

#### **G. Maturation des gamètes**

L'ovocyte synthétise un facteur particulier, le MPGF (Male Pronucleus Growing Factor), qui permet la décondensation de la chromatine du noyau du spermatozoïde qui est à ce stade qualifié de pronucleus mâle.

La maturation de l'ovocyte s'achève par la reprise de la seconde division méiotique et l'expulsion du second globule polaire. Le noyau de l'ovocyte prend alors le nom de pronucleus femelle.

Les deux pronuclei migrent au centre de l'ovule, leurs membranes disparaissent, leurs chromosomes se condensent et s'associent par paires homologues (amphimixie). Les chromosomes se placent sur la plaque équatoriale et le zygote à l'issue d'une mitose donne naissance aux deux premiers blastomères.

#### IV. Implantation (6)

Le zygote se segmente le long de la trompe tout en se dirigeant vers la cavité utérine. Après passage par un stade intermédiaire à trois blastomères, le stade quatre blastomères est obtenu 40 à 50 heures après la fécondation. La morula (environ 16 cellules) franchit la barrière utéro-tubaire vers le quatrième jour de développement embryonnaire. L'œuf reste libre dans la cavité utérine jusqu'au sixième jour et passe au stade blastocyste (formation du bouton embryonnaire). Il éclot et s'accroche à l'épithélium de l'endomètre par le trophoblaste et commencer à s'y enfouir.

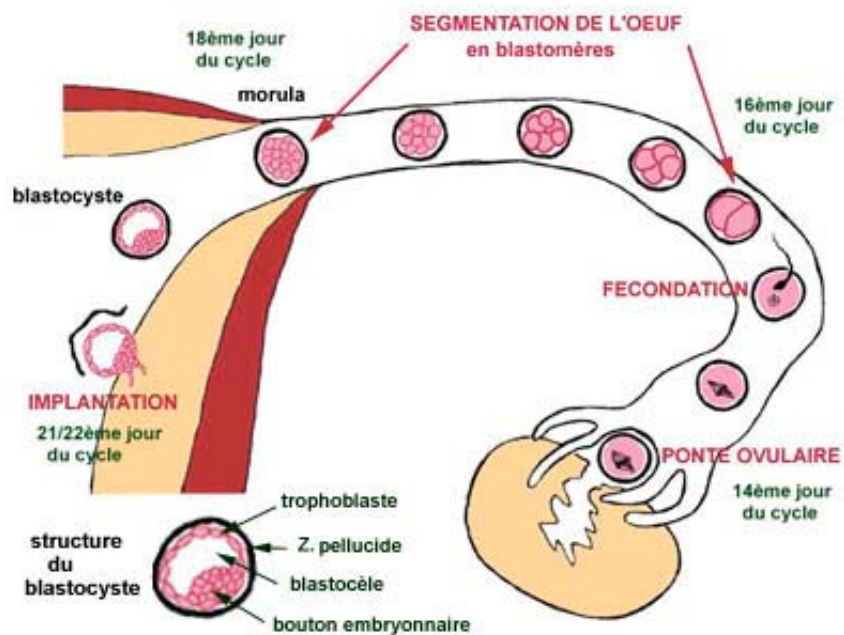


Figure 14 : La migration d'un ovocyte fécondé (6)

## EPIDEMIOLOGIE DE LA FERTILITE HUMAINE

### **I. Définitions (17-18)**

Les termes de fécondité et d'infécondité peuvent être utilisés aussi bien pour un individu que pour un couple. La fécondité est un état. On appelle fécond une personne qui a eu un enfant. Toute personne n'ayant pas d'enfant est donc dite inféconde.

La fertilité est une potentialité, une aptitude à concevoir. Une personne fertile est susceptible d'être féconde.

L'infertilité est caractérisée par une difficulté à concevoir. L'OMS considère comme infertile un couple qui, au bout de deux ans de relations sexuelles infécondes, sans contraception, ni intervention médicale, n'a pas conçu ; ce délai est appelé « durée d'infécondité » ; l'âge de la femme doit aussi être pris en compte. A 40 ans, les conditions physiologiques favorables diminuent et le délai peut être ramené à 18 voire à 12 mois pour parler d'infécondité.

La stérilité est l'impossibilité absolue et définitive de concevoir. Ceci est appréciable uniquement après la fin de la période de reproduction du couple.

### **II. Indices de mesure de la fertilité**

#### **A. Délai nécessaire à concevoir (DNC)**

C'est le nombre de cycles au terme duquel la grossesse est obtenue. A 25 ans, le DNC est de 4 cycles ; tous âges confondus il est de 5 cycles. On ne considère comme pathologique qu'un délai supérieur à 2 ans au terme duquel des explorations de l'infertilité peuvent être envisagées.

#### **B. Fécondabilité**

C'est la probabilité de concevoir au cours d'un cycle, le pourcentage de grossesses par cycle exposé à la grossesse. Elle se mesure à l'échelle d'une population puisque pour un couple la survenue d'une grossesse répond à la loi du tout ou rien.

A 25 ans, la fécondabilité est de 25%. Tous âges confondus, elle est de 20%.

Il faut raisonner sur des périodes de 12 cycles. Au bout d'un an, 93% des couples ont conçu. Parallèlement la fécondabilité des couples n'ayant pas encore conçu diminue avec le temps car les couples les plus fertiles conçoivent plus vite que les autres ; après 1 an d'infécondité, la fécondabilité moyenne est de 12%, après 2 ans elle est de 7,9% et après 5 ans elle chute à 4%. Ces chiffres expliquent le fait que la prise en charge des couples se fasse après 2 ans, le nombre de grossesses spontanées devenant alors très faible.

### **III. Facteurs influençant la fertilité**

#### **A. L'âge**

##### **1. Chez la femme**

La fertilité diminue progressivement dès 25 ans mais le point d'inflexion principal se situe à 38 ans. Ceci est dû à une diminution de la qualité ovocytaire et embryonnaire et à une diminution des taux d'implantation. Parallèlement le nombre de fausses couches spontanées (FCS) augmente, c'est ainsi qu'après 40 ans une femme sur trois rencontre des difficultés très importantes pour avoir un enfant.

##### **2. Chez l'homme (19)**

L'âge est associé à une diminution de la fertilité mais à un degré bien moindre que chez la femme. Les altérations du sperme ne seraient sensibles qu'à partir de 45 ans, affectant principalement la mobilité.

#### **B. Le moment et le nombre des rapports dans le cycle (20)**

Le jour le plus favorable pour la fécondation se situe en théorie deux jours avant l'ovulation. La probabilité de concevoir est maximale entre le jour de l'ovulation et les deux jours qui la précèdent.

Le DNC diminue avec l'augmentation du nombre des rapports dans le cycle en période favorable. Plusieurs études ont bien démontré une augmentation du taux de grossesse avec l'augmentation de la fréquence des rapports en période pré-ovulatoire.

### **C. Le poids**

Les troubles de l'alimentation ont une influence péjorative sur la fertilité. Une anorexie est souvent associée à des troubles de l'ovulation pouvant aller jusqu'à l'anovulation. Un surpoids, en dehors des problèmes rencontrés pendant la grossesse, peut également entraîner des perturbations hormonales en raison de la redistribution des hormones dans les masses graisseuses.

### **D. Le tabac**

#### **1. Chez la femme (21)**

Une corrélation entre le tabagisme et une hypofécondité a été démontrée. Le DNC, le taux de FCS et de grossesses extra utérines (GEU) sont augmentés chez les fumeuses. De plus, la qualité ovocytaire et la réserve ovarienne sont diminuées. Un arrêt du tabac est bénéfique six mois avant la grossesse.

#### **2. Chez l'homme**

Le tabac entraîne une diminution de la mobilité et une chute du pourcentage de formes normales des spermatozoïdes. On constate également une diminution de la testostérone et une augmentation de la FSH. Les effets néfastes du tabac sont plus controversés chez l'homme dans la mesure où l'essentiel des études a été réalisé in vitro.

### **IV. Infécondité : types et fréquences (22-23)**

Environ 5 % de la population des pays développés seraient concernés par l'infertilité. Mais le taux d'hypofertilité ne cesse d'augmenter et les traitements débutent de plus en plus précocement, souvent pour répondre à un certain degré d'impatience des couples. En pratique environ 15 % de la population est concernée par l'infertilité, soit environ 50 000 à 60 000 couples par an en France ce qui, sur un strict plan quantitatif, fait de ce phénomène un véritable problème de santé publique. Deux autres observations vont dans ce sens : le coût économique très élevé des traitements et des interventions (pris en charge à 100 % par la sécurité sociale) et les nombreuses questions éthiques soulevées par les pratiques médicales dans ce domaine (24).

Les causes d'infertilité se répartissent de la façon suivante :

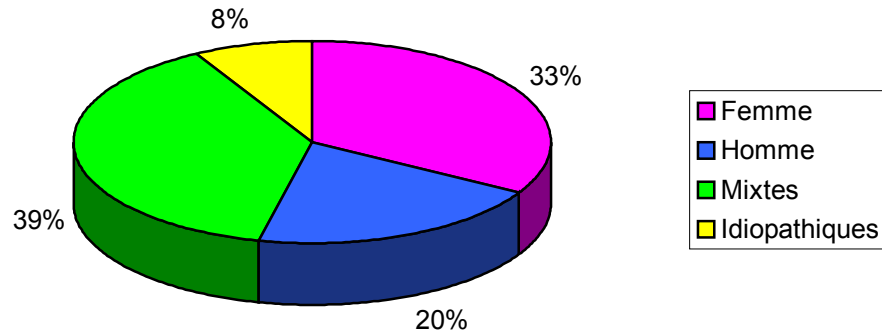


Figure 15 : Répartition des causes d'infertilité (d'après 23)

### A. Les causes féminines

Une cause purement féminine est retrouvée dans environ 33% des cas d'infertilité du couple.

#### 1. Les troubles de l'ovulation

C'est la cause la plus fréquente, elle représente plus de 30% des cas. Il peut s'agir d'une anovulation ou d'une dysovulation, qui se traduit par l'absence de production d'un ovocyte fécondable. Ces troubles peuvent être dûs à un dysfonctionnement des ovaires ou des structures cérébrales qui contrôlent leur activité.

#### 2. Les anomalies tubaires

Ces troubles représentent environ 26% des cas. Les trompes peuvent être obturées ou altérées, ce qui va empêcher la rencontre de l'ovocyte et des spermatozoïdes. Ces anomalies sont pour la plupart dues à des infections génitales, notamment par *Chlamydia trachomatis*, germe qui peut être à l'origine d'une inflammation des muqueuses (salpingite) altérant le tissu de la trompe ou les cils tubaires.

#### 3. L'endométriose

Elle est liée à la présence ectopique de fragments d'endomètre au niveau de l'ovaire, de la trompe, du vagin, voire au niveau des voies digestives ou urinaires : ces fragments ectopiques d'endomètre subissent le cycle endométrial et entraînent des douleurs pelviennes,

des dysménorrhées (règles douloureuses), voire des hémorragies abdominales. L'endométriome est responsable d'environ 4% des cas d'infertilité.

#### 4. Les dysmucorrhées

Les causes cervicales sont responsables d'environ 4% des cas. La glaire peut être sécrétée de façon inadéquate en terme de quantité, de qualité et de pH. Ces anomalies sont dues à des infections, des dysfonctionnements des glandes endocervicales ou des ovaires ou sont consécutives à des traitements de lésions du col (conisation, électrocoagulation).

#### 5. Les anomalies du tractus

Les malformations ou traumatismes de l'appareil génital sont responsables d'environ 4% des cas d'infertilité féminines.

#### 6. L'hyperprolactinémie

Elle est entraînée un syndrome galactorrhée-amenorrhée et est responsable d'environ 4% des causes d'infertilité féminine.

### **B. Les causes masculines**

Les causes masculines exclusives représentent 20% des troubles de la fertilité dans les couples.

#### 1. Les oligoasthénotéraspermies (OATS)

Les OATS sont les troubles les plus fréquents, ils représentent environ 84% des cas :

- on parle d'oligospermie lorsque le nombre de spermatozoïdes est insuffisant, c'est à dire inférieur à 20 millions/ml.

- l'asthénospermie est un défaut de la mobilité des spermatozoïdes, le seuil défini est de 40% de spermatozoïdes mobiles dans le sperme. Il peut également y avoir des troubles du mouvement (vitesse, trajectoire), on parle alors de dyskinésie flagellaire. Quand aucun des spermatozoïdes n'est mobile, il s'agit d'akinétopermie. Ces anomalies peuvent être dues à des malformations des spermatozoïdes ou à des infections. La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes peut entraîner une diminution de la mobilité et de la capacité fécondante des spermatozoïdes.

- la téraspermie est définie par un taux élevé de formes anormales. Un sperme normal doit comprendre plus de 35% de spermatozoïdes normaux.



## 2. Les azoospermies

L'azoospermie est une absence de spermatozoïde dans le sperme. Ces troubles représentent 16% des cas. Il faut distinguer deux types d'azoospermies :

- l'azoospermie sécrétoire (10%) est une altération de la production de spermatozoïdes intervenant soit au niveau des testicules, qui fonctionnent mal, soit au niveau du cerveau, en raison d'une anomalie de fonctionnement de l'hypophyse. Des anomalies génétiques peuvent être à l'origine des perturbations de la spermatogenèse en particulier un syndrome de Klinefelter (47,XXY), des microdélétions sur le chromosome Y ou la mucoviscidose (CFTR).

- l'azoospermie excrétoire (6%), lorsque l'un des canaux d'excrétion (urètre, épидидyme, canal déférent) est endommagé (les testicules fonctionnent normalement). Elle est consécutive soit à une malformation congénitale, soit à une infection ayant souvent pour origine une maladie sexuellement transmissible, soit à un traumatisme.

Des troubles de l'éjaculation peuvent également être à l'origine d'azoospermie, en particulier l'éjaculation rétrograde. Dans ce cas, les spermatozoïdes peuvent être retrouvés dans l'urine et pris en charge au cours d'une tentative d'AMP.

## C. Les causes mixtes

Le couple est mis en cause dans environ 39% des cas, l'homme et la femme présentant chacun un trouble de la fonction de reproduction.

## D. Les causes idiopathiques

Les problèmes d'infécondité au sein d'un couple restent inexplicés dans 8% des cas.

## **EXPLORATION DU COUPLE INFECOND**

La première consultation est essentielle car au-delà de l'examen clinique, le médecin doit être à l'écoute de la demande, du désir d'enfant. Il doit informer le couple sur les différentes étapes de la physiologie de la reproduction humaine et envisager avec lui des perspectives qui ne sont pas toujours médicales.

### **I. Interrogatoire**

#### **A. La motivation du couple (25)**

Il est important d'apprécier le désir d'enfant du couple car seuls les plus motivés auront la constance suffisante pour accepter les investigations et les traitements.

##### **1. La durée d'infécondité**

Le médecin fera préciser la date de début de vie commune, de l'arrêt de la contraception. La notion de durée d'infécondité est importante car elle conditionne la suite de l'interrogatoire. Lorsque des couples viennent consulter trop précocement après uniquement quelques mois de tentatives de grossesse, il convient par exemple de rappeler la relative modestie des chiffres de la reproduction.

##### **2. Le mode de vie**

Le médecin questionnera le couple sur le rythme de travail de chacun des conjoints, l'activité professionnelle, la fréquence des rapports sexuels et sur leurs connaissances des périodes fécondes. En effet, bien des couples ignorent quel est le moment du cycle le plus favorable à la fécondation.

#### **B. La femme**

##### **1. L'âge**

Comme le montre les données épidémiologiques, la fécondabilité diminue avec l'âge et chute fortement après 38 ans.

## 2. Les cycles génitaux

Il faut rechercher un éventuel retard d'installation des règles à la puberté, des cycles irréguliers, une notion d'aménorrhée, de dysménorrhée ou de métrorragies, une prise de médicaments (neuroleptiques, tranquillisants...) pouvant révéler ou expliquer des troubles de l'ovulation.

## 3. Les antécédents obstétricaux

Il peut s'agir d'une infécondité primaire si la femme n'a jamais eu d'enfant ou secondaire si elle a des enfants ou subit une FCS ou une interruption volontaire de grossesse (IVG), dans ce cas il faut préciser si le géniteur est le partenaire actuel. Dans tous ces cas, une infection du post-partum, des hémorragies traitées par curetage seront recherchées.

## 4. Les antécédents infectieux

Le médecin va rechercher une infection ancienne du vagin ou du col (leucorrhée, cervicite, électrocoagulations), une salpingite parfois méconnue de la patiente mais retrouvée par le souvenir de douleurs abdominales accompagnées de leucorrhées et de fièvre. Il demandera également les sérologies obligatoires pour la syphilis, l'hépatite B et C, le VIH, la toxoplasmose et la rubéole.

## 5. Les antécédents chirurgicaux

Le médecin va rechercher une appendicectomie banale ou compliquée, une salpingite opérée multipliant les risques d'infertilité par 45 (26), une intervention sur les trompes, l'utérus ou les ovaires.

## 6. Une maladie endocrinienne

Une pathologie hypophysaire ou un désordre hormonal, comme un diabète ou une maladie thyroïdienne, peuvent être à l'origine d'une infertilité.

## 7. Le DES syndrome

Les femmes nées entre 1955 et 1977 peuvent avoir des malformations de l'appareil génital si leurs mères ont reçu du distilbène au cours de leur grossesse.

## C. L'homme

### 1. L'âge

Bien que cela soit moins important que pour la femme, la fertilité diminue au fil du temps.

### 2. Le type d'infécondité

Comme pour la femme, il faut interroger le patient sur l'existence éventuelle d'une paternité antérieure afin de définir s'il s'agit d'une infécondité primaire ou secondaire.

### 3. Les antécédents infectieux

Le médecin va rechercher une infection à gonocoque, à germes banals, une infection à virus (orchite ourlienne, hépatite virale) qui multiplient les risques d'infécondité (27).

### 4. Les antécédents chirurgicaux

Une lésion chirurgicale peut être en cause (section du déférent ou lésions vasculaires) lors d'une herniographie. On recherchera également la notion de traumatisme testiculaire, une intervention pour cryptorchidie ou torsion testiculaire.

### 5. Les antécédents familiaux

Il est intéressant de se renseigner sur d'autres cas de troubles de la reproduction au sein de la famille car l'infertilité peut être d'origine génétique (Klinefelter, microdélétions sur le chromosome Y...).

### 6. Les antécédents carcinologiques

La radiothérapie et la chimiothérapie sont des causes de stérilité, et si maintenant la congélation de sperme avant traitement tend à pallier ces problèmes, cette pratique n'était pas aussi étendue il y a quelques années.

## 7. Les habitudes de vie et l'activité professionnelle

Certains comportements affectent le déroulement normal de la spermatogenèse comme le tabagisme, l'alcoolisme, le port de vêtements serrés, le sauna, le vélo. De même la chaleur et l'exposition à des toxiques augmentent le risque d'infécondité.

## **II. Bilan d'orientation**

### **A. Chez la femme (28)**

#### 1. L'examen clinique

Il s'agit d'un examen gynécologique classique. On notera avec soin le morphotype (normal, obèse, maigre), le rapport poids/(taille)<sup>2</sup> (IMC= Index de masse corporelle).

Le médecin examinera les seins en appréciant leur volume, l'existence d'un écoulement lactescent, d'une pilosité anormale.

Il examinera la pilosité axillaire, pubienne, abdominale.

La vulve sera inspectée à la recherche d'une anomalie des récepteurs hormonaux. On notera les dimensions de la vulve, du clitoris, l'état de l'hymen qui, intact, fera penser à un trouble de la vie sexuelle.

La pose du spéculum permet l'examen du col et de la glaire. En milieu de cycle, elle doit être limpide et abondante. Absente ou visqueuse, elle fera penser à un trouble de l'ascension des spermatozoïdes. On recherchera une cervicite. Le médecin appréciera le volume de l'utérus, sa position anté- ou rétroversée, l'existence ou non d'une masse annexielle.

#### 2. La courbe des températures

Sa réalisation renseigne sur la qualité du cycle menstruelle : ovulation (décalage thermique) et corps jaune adéquat (durée du plateau de 14 jours). Toute anomalie de cette courbe faite sur 3 à 5 cycles nécessitera des explorations hormonales pour expliquer la dysovulation.

### 3. Le bilan hormonal (29)

Il doit être prescrit rapidement et systématiquement quel que soit l'âge de la femme, notamment pour l'œstradiol, la FSH et la LH au troisième ou quatrième jour du cycle.

Une FSH supérieure à 10 UI/L en RAI est en faveur d'une réserve ovocytaire altérée. Une œstradiolémie élevée (>75pg/ml) associée ou non à l'augmentation de la FSH est péjorative pour les chances de grossesse ; elle traduit souvent une maturation ovocytaire accélérée et de mauvaise qualité.

Le dosage plasmatique de LH recherche une pathologie de type ovaires polykystiques (OPK).

Le dosage plasmatique de prolactine (PRL) est classique en cas d'aménorrhée galactorrhée ou d'insuffisance lutéale.

### 4. L'hystérosalpingographie (HSG)

Cet examen radiologique avec produit de contraste est réalisé en début de cycle par le gynécologue en collaboration avec le radiologue. Des antibiotiques peuvent être prescrits par précaution s'il y a des antécédents de salpingite.

L'HSG peut montrer une anomalie congénitale (utérus unicorne, bicorne, cloisonné), une anomalie acquise (synéchie, polype, myome) ou une anomalie tubaire (obturation).

### 5. L'hystérocopie

Elle peut remplacer l'HSG pour explorer la cavité utérine et traiter les anomalies observées : résections endoscopiques de cloison, d'une synéchie... Cet examen ne permet pas d'explorer les trompes.

### 6. La cœlioscopie

C'est un examen chirurgical sous anesthésie générale plus invasif qui sera réalisé s'il existe ou si on suspecte une pathologie tubo-péritonéale.

## **B. Chez l'homme**

### 1. L'examen clinique

Le médecin notera le morphotype (taille, poids, obésité, maigreur) et examinera les seins, la pilosité axillaire, thoracique, pubienne.

L'examen du scrotum se fait sur un sujet debout puis couché. On recherchera une cicatrice, une fistule en dépliant les plis du scrotum. On palpera les testicules en appréciant leur consistance, leur sensibilité et leur taille.

L'épididyme est palpé de la tête à la queue.

Le déférent sera recherché des deux côtés en pinçant le cordon et en précisant son diamètre et sa consistance. On étudiera soigneusement la jonction épидидymo-déférentielle.

Un varicocèle sera recherché d'abord en position debout. Cette varice de la veine spermatique se traduit par un épaississement du cordon mollassse comme un « paquet de nouilles ».

La verge sera examinée : on notera sa taille, l'emplacement du méat. Si la verge est de très petite taille, il faudra faire préciser si l'érection se fait bien et si l'on a observé une éjaculation.

Un toucher rectal terminera l'examen, il apprécie la prostate et les vésicules séminales.

### 2. Le spermogramme (cf annexe 1)

Cet examen est fondamental dans l'évaluation de la fertilité masculine, mais il ne faut pas oublier qu'une affection bénigne comme un épisode fébrile est susceptible d'avoir des répercussions négatives sur les caractéristiques du sperme étudié 2 à 3 mois plus tard.

Différents facteurs influencent la variabilité intra-individuelle :

- les conditions de recueil : le recueil au laboratoire par masturbation est préférable afin de respecter les conditions de délai d'examen et d'asepsie.
- le délai d'abstinence doit être de 3 à 5 jours pour pouvoir standardiser les résultats.

Un spermogramme doit être interprété paramètre par paramètre après liquéfaction, les valeurs « normales » sont les suivantes :

- le volume : 2 à 6 ml
- le pH : 7,2 à 8
- la viscosité est appréciée à la pipette
- la vitalité :  $\geq 75\%$
- les cellules germinales :  $\leq 10\%$  de la numération des spermatozoïdes
- taux de leucocytes :  $< 100000/ml$
- la numération :  $\geq 20$  millions/ml

- la mobilité :  $\geq 50\%$  à 1H et  $40\%$  à 4H
- le spermocytogramme : plus de 30 à 40% de formes normales
- le mouvement par microvidéographie assistée par ordinateur permet d'apprécier la fonction flagellaire.

### 3. Le test de capacitation-survie

Ce test consiste à reproduire ce qui se passe in vivo au niveau du col utérin afin d'évaluer les capacités des spermatozoïdes à se déplacer, à traverser la glaire cervicale et à survivre 24H au minimum.

Il se déroule de la façon suivante :

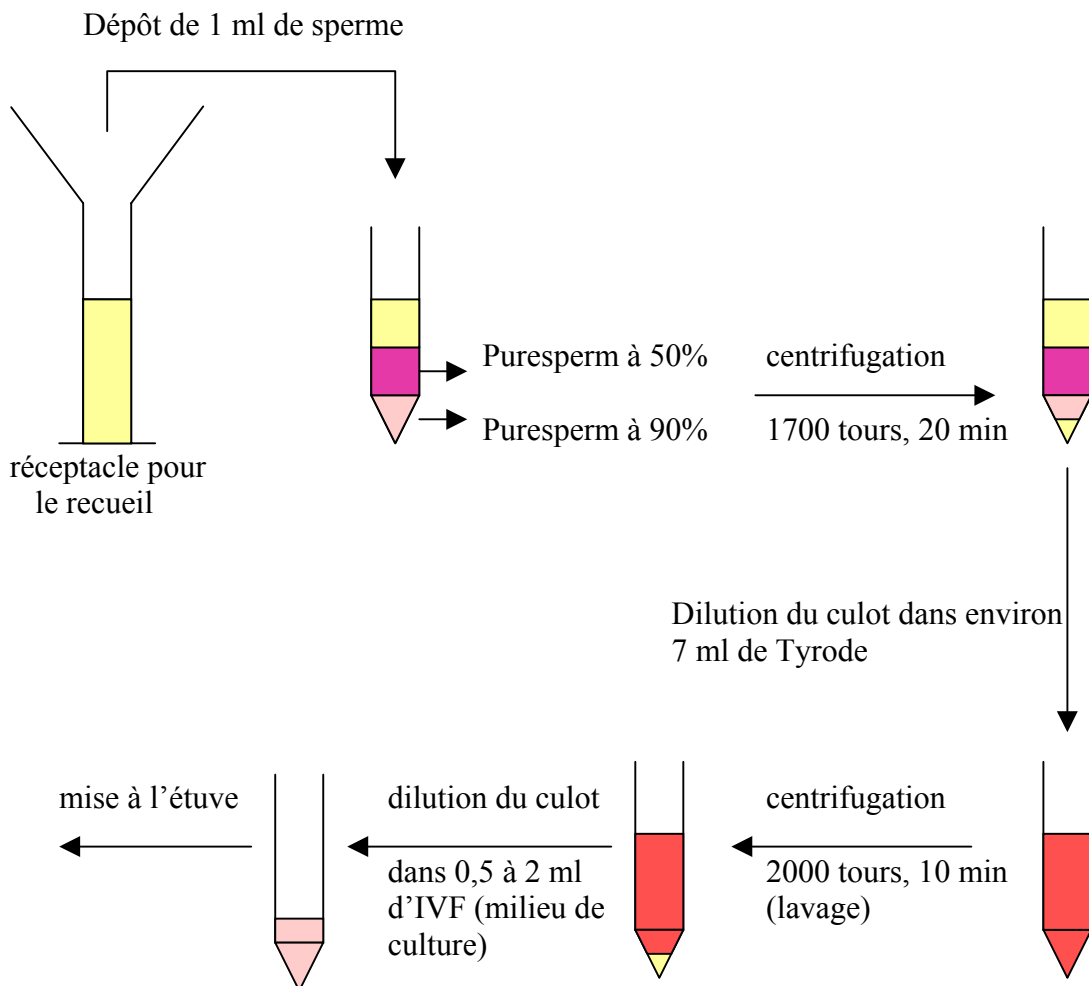


Figure 16 : Etapes d'un test de capacitation-survie



Le Puresperm est une solution colloïdale qui forme un tamis moléculaire de plus en plus serré au fur et à mesure que la concentration augmente. Au cours de la première centrifugation, le plasma séminal va rester en surface, les spermatozoïdes morts ou anormaux et les contaminants cellulaires vont migrer et s'accumuler dans les fractions de densité correspondantes. Les spermatozoïdes mobiles à forme normale vont migrer jusqu'au fond du tube où la densité correspond à celle de la tête des spermatozoïdes. Après récupération et lavage du culot, la fraction sera lue une heure après la dilution dans le milieu de culture puis 24 heures plus tard à fin de calculer le pourcentage de spermatozoïdes vivants restants.

#### 4. La spermoculture

C'est la recherche de germes dans le sperme. Elle peut être demandée sur des éléments d'orientation clinique, antécédents d'infection urinaire ou génitale, écoulement matinal, dysurie...

Des précautions doivent être respectées afin de pouvoir exploiter les résultats correctement : miction abondante, désinfection soigneuse des mains et du gland, recueil en flacon stérile. La spermoculture est positive lorsqu'on retrouve au moins entre  $10^3$  et  $10^4$  bactéries pathogènes. Le patient devra alors suivre un traitement antibiotique adéquat, une spermoculture de contrôle sera demandée.

#### 5. Le bilan hormonal

Le dosage de la FSH est important dans la recherche des causes des troubles de la spermatogénèse. Une azoospermie avec FSH élevée est en faveur d'une azoospermie sécrétoire.

Le dosage de la testostérone explore la fonction endocrine du testicule. Une diminution de la testostérone et de la FSH est en faveur d'une insuffisance gonadotrope. Une diminution de la testostérone avec augmentation des gonadotrophines signe une insuffisance testiculaire primitive.

Le dosage de LH est moins informatif, augmenté il évoque plutôt une souffrance de la fonction endocrine du testis et permet d'éliminer une atteinte haute.

#### 6. L'exploration chirurgicale

Elle est fréquemment réalisée en cas d'azoospermie. L'analyse de la biopsie testiculaire permet de définir plusieurs situations : une absence totale de cellules germinales, un arrêt de la maturation spermatogénétique, une hypospermatogénèse ou une spermatogénèse normale.

## 7. Le caryotype

Cette étude cytogénétique est aujourd'hui systématique dans le bilan d'une infertilité masculine sévère. Les anomalies observées justifient toujours un conseil génétique.

## 8. Le bilan sérologique

Comme chez la femme, les dispositifs réglementaires imposent les sérologies hépatites B et C, syphilis, VIH, *Chlamydia*, mycoplasmes.

## **C. Le couple**

### 1. Le test de Hünher (cf annexe 2)

Ce test post-coïtal (TPC) permet d'apprécier la glaire cervicale, la présence de spermatozoïdes et leur ascension dans celle-ci. Il est pratiqué à la fin de la phase folliculaire, avant la montée de la courbe thermique, après 2 à 3 jours d'abstinence, 8 à 12 heures après un rapport sexuel.

Un premier prélèvement est réalisé dans le cul de sac vaginal postérieur, il permet de s'assurer que l'on est bien dans la première moitié du cycle et qu'il n'existe pas une infection surajoutée. La présence de spermatozoïdes permet aussi de s'assurer que le rapport a bien eu lieu avec éjaculation intravaginale au cas où il y aurait un doute sur la physiologie sexuelle.

Un deuxième prélèvement est fait à l'orifice externe du col. La glaire sera étudiée grâce au score d'Insler qui tient compte de l'ouverture du col, de l'abondance de la glaire, de sa filance et de sa cristallisation. Le prélèvement sera déposé entre lame et lamelle et examiné à l'objectif 40. Pour être positif, il faudra observer au moins 5 spermatozoïdes mobiles progressifs par champ.

Un troisième prélèvement endocervical doit être fait à 2 cm au-dessus de l'orifice externe. Plus de 5 spermatozoïdes à mobilité progressive par champ doivent également être observés.

Un quatrième prélèvement endo-utérin peut être fait au fond de l'utérus, les spermatozoïdes y sont normalement peu nombreux.

Quel que soit le résultat de ce test, les résultats devront être analysés avec les explorations féminines et masculines afin de mieux comprendre l'origine de l'infertilité.

## 2. Le test de pénétration in vitro (TPIV)

Ce test peut être réalisé lorsqu'un TPC négatif est associé à des anomalies du sperme afin d'évaluer la capacité de pénétration in vitro des spermatozoïdes dans la glaire témoin.

En pratique, la glaire cervicale est prélevée en période pré-ovulatoire en dehors de tout rapport (abstinence de trois jours) et aspirée dans deux tubes capillaires. Le conjoint fait un prélèvement de sperme sur lequel on réalise un spermogramme. Une petite fraction du sperme est placée au départ du capillaire et étudiée sur quatre heures. On apprécie la concentration, la progression, la mobilité et la survie des spermatozoïdes. Le test est croisé avec un sperme et une glaire témoin, ce qui permet de mettre en cause soit le sperme, soit la glaire, soit le sperme et la glaire du couple étudié dans la négativité du TPC. Pour que le TPIV soit interprétable, il faut que les témoins soient de bonne qualité.

## **III. Approches thérapeutiques proposées (30)**

### **A. Principes généraux**

La prise en charge d'un couple ne saurait se limiter aux seuls éléments médicaux. Il faut souvent rassurer le couple confronté à cette médicalisation du désir d'enfant. L'épidémiologie de la reproduction montre que le facteur temps fait partie intégrante de l'arbre décisionnel diagnostique et thérapeutique.

Les traitements de l'infertilité ont souvent des contraintes lourdes, des effets secondaires potentiels et des risques de grossesse multiple, ils nécessitent donc motivation et solidité du couple. Les informations doivent être données dans le respect du code de déontologie et les alternatives éventuelles doivent être évoquées (abstention thérapeutique, adoption, don de gamètes).

Les traitements sont proposés après un diagnostic étiologique précis et doivent être biologiquement argumentés.

### **B. Différentes approches thérapeutiques**

#### 1. La stimulation simple

C'est un traitement de l'infertilité féminine, il peut être proposé en cas de troubles de l'ovulation (anovulation, dysovulation). La fertilité du conjoint doit être vérifiée au préalable. La stimulation doit être paucifolliculaire (1 à 2 follicules) et doit s'accompagner d'un monitoring écho-œstradiolémique des cycles afin de s'assurer de la réalité et de la qualité de la réponse ovarienne et d'évaluer le risque potentiel de grossesse multiple.

## 2. L'insémination intra-utérine (IIU)

C'est la technique d'aide à la procréation la moins lourde qui est proposée chez les femmes infertiles à trompes perméables si la qualité du sperme le permet. Après une stimulation paucifolliculaire, les spermatozoïdes capacifiés sont déposés dans la cavité utérine. Physiologiquement il y a possibilité de fécondation 38 à 54 heures après la montée du taux de LH ou après l'injection d'HCG. Le cycle doit donc être soigneusement monitoré. L'insémination s'effectue avec un cathéter souple en déposant dans la cavité utérine le sperme capacifié dilué dans une quantité faible de milieu de 0,2 à 0,3 ml afin d'éviter le reflux. Cette manipulation est rarement douloureuse et se fait sans anesthésie. Les rapports sexuels les jours suivants sont tout à fait conseillés pour optimiser les chances de réussite.

Au cours de ces dernières décennies, l'IIU a vu ses indications se multiplier. Les inséminations avec sperme de conjoint (IAC) sont réalisées en cas de pathologies cervicales ou d'altérations modérées des paramètres spermiologiques. Néanmoins au moins 0,5 à 1 million de spermatozoïdes mobiles doivent être obtenus après capacitation. Les IAC sont proposées aussi après échec de stimulations simples. Le taux de succès moyen est de 10 à 15% de grossesse par insémination.

L'IAC avec du sperme congelé intéresse des patients qui ont eu recours à l'autoconservation avant un traitement antimitotique ou une vasectomie. Les techniques d'utilisation des paillettes après décongélation, sont les mêmes que celles utilisées pour l'insémination avec du sperme frais.

## 3. La fécondation in vitro (FIV)

Après un protocole de stimulation des ovaires, la FIV consiste à recueillir les gamètes du couple pour réaliser une fécondation extracorporelle puis à transférer les embryons obtenus dans l'utérus.

Il existe deux types de fécondation in vitro : la FIV conventionnelle et la FIV-ICSI.

### a. La FIV conventionnelle

La première indication a été l'obstruction tubaire. Les indications masculines deviennent actuellement de plus en plus nombreuses. Sont concernées les atteintes modérées du sperme (OATS) avec cependant un nombre suffisant de spermatozoïdes pour espérer une fécondation. La valeur seuil de 250000 spermatozoïdes mobiles après capacitation est souvent retenue. La FIV est également proposée dans les cas d'endométriose sévère, les infertilités immunologiques, les infertilités inexplicables après échec d'IAC.

Le bilan pré-FIV inclut des sérologies récentes (HCV, HBV, VIH, toxoplasmose, syphilis, rubéole), une hystérocopie révélant une cavité utérine indemne de toute formation pouvant compromettre l'implantation, une spermoculture de moins de six mois. La stimulation des ovaires est multifolliculaire pour augmenter les chances de recueil de plusieurs ovocytes.

## b. La FIV-ICSI

Ses indications sont essentiellement masculines : les OATS sévères (<1 million de spermatozoïdes/ml), les OATS moyennes avec échec de FIV classique, les anomalies spermatiques (anomalies de l'acrosome, syndrome des flagelles courts, dyskinésies flagellaire), les auto-immunisations antispermatozoïdes à taux très élevés d'anticorps. L'ICSI peut être proposée en cas d'azoospermies sécrétoires ou excrétoires, dans ce cas les spermatozoïdes sont prélevés chirurgicalement.

## 4. Don de gamètes

Il peut être proposé en cas d'impossibilité de prise en charge homologue.

L'insémination peut être réalisée avec sperme de donneur (IAD) en cas de stérilité masculine (azoospermie totale, nécrospermie). D'autres indications peuvent être évoquées comme les échecs répétés après ICSI ou le risque de transmission d'une maladie grave (maladies génétiques, VIH...). Les donneurs doivent être jeunes, avec un ou plusieurs enfants en bonne santé, sans antécédents génétiques particuliers. Ils sont volontaires et effectuent un don gratuit. Leurs femmes consentent à ce don. Les sérologies virales classiques négatives à plusieurs reprises, la qualité du sperme, sa capacité à être congelé et une spermoculture sont aussi indispensables à l'acceptation du don. Les possibilités de procréer avec le sperme d'un même donneur sont limitées à cinq enfants pour des raisons de risques de consanguinité de première génération.

Le don d'ovocyte (disponibilité très faible) est envisagé pour les dysgénésies gonadiques et les ménopauses précoces.

## INJECTION INTRA-CYTOPLASMIQUE DU SPERMATOZOÏDE (ICSI)

### I. Bref historique (30)

Les premiers acquis en médecine la reproduction ont été la description des follicules (1543), des spermatozoïdes (1677) et des ovocytes (1827) puis en 1853 la description par Newport du processus de fécondation et des premières divisions embryonnaires.

A la fin du dix huitième siècle, J.Hunter et M.A.Thouret ont réalisé les premières inséminations avec sperme du conjoint. Par la suite, les américains développent les inséminations avec donneur et par-là, la conservation du sperme apparaît. Parallèlement au début du vingtième siècle, les gonadotrophines sont découvertes. Mais il faudra encore une quarantaine d'années avant de comprendre comment l'axe neuroendocrinien conditionne le fonctionnement des ovaires.

Les grandes avancées débutent en 1959 avec la réalisation de la première FIV chez le lapin, en France par C.Thibaut. Les étapes se succèdent ensuite rapidement, en 1970 Steptoe réalise le premier recueil d'ovocytes par cœlioscopie. En 1972, Whittingham obtient la première naissance de souriceaux après congélation embryonnaire. En 1978, Louise Brown est le premier enfant né après FIV (Steptoe, Edwards). Il faut attendre quatre ans pour voir cet exploit en France : Amandine naît en 1982 à l'hôpital Béchère (Frydman, Testart).

En 1982, Lenz réalise les premiers recueils ovocytaires sous contrôle échographique et en 1984, Dellenbach et Nissand les premiers recueils ovocytaires échoguidés par voie vaginale. En 1984, c'est la naissance de Zoé, premier enfant né d'un embryon congelé (Trousseau, Morh). En 1987, le seuil de la fertilité naturelle est franchi (>25%).

Il y a onze ans, en 1992, Palermo permet la première naissance d'un enfant après microinjection d'un spermatozoïde dans l'ovocyte. En France la première naissance par ICSI a lieu en 1994. En 1995, la naissance de deux enfants par injection d'une spermatide prélevée dans le testicule est obtenue par Tesarik et Testart. Sofitis est à l'origine de la première naissance d'un enfant par injection d'un spermatozoïde II en 1997 (31).

Aujourd'hui l'ICSI se pratique en routine et le nombre de patients pris en charge par cette technique va croissant. Ainsi au CHU de Nantes, 252 couples ont eu recours à l'ICSI en 1996, 355 en 1997, 441 en 1998, 476 en 1999, 635 en 2000, 764 en 2001 et 718 en 2002.

## **II. Cadre législatif**

La prise en charge d'un couple infertile en AMP est soumise à une réglementation stricte relevant de la loi du 29 juillet 1994 relative au « don, utilisation des éléments et produits du corps humain » (cf annexe 3).

Il faudra d'abord s'assurer du caractère pathologique de l'infertilité. Le couple, en âge de procréer, doit être marié ou en mesure d'apporter la preuve d'une vie commune depuis au moins deux ans. Ils doivent consentir par écrit au transfert d'embryons et à l'insémination. Si l'intervention d'un tiers donneur est nécessaire, le couple doit donner son consentement au préalable (cf annexe 4).

L'équipe de FIV est également soumise à certaines obligations. Le médecin doit s'assurer de la motivation réelle du couple et rappeler les possibilités en matière d'adoption. Il doit informer les couples sur les possibilités de réussites comme d'échecs ainsi que la pénibilité des techniques d'AMP.

Le couple est informé sur les dispositifs législatifs et sur le déroulement des techniques mises en œuvre. La demande par écrit d'AMP ne peut être confirmée qu'après un délai de réflexion d'un mois. Enfin, cette prise en charge comprend des règles sanitaires auxquelles le couple devra se soumettre.

## **III. Matériel et méthode**

La prise en charge d'un couple par FIV-ICSI, après diagnostic d'une infertilité masculine, est identique à celle mise en place lors d'une FIV conventionnelle : les sérologies et la spermoculture doivent dater de moins de six mois et l'hystérocopie aura montré une cavité utérine « réceptrice », la femme va devoir suivre un protocole de stimulation multifolliculaire. La différence avec la FIV classique est la technique réalisée par le biologiste au laboratoire.

### **A. La stimulation multifolliculaire (32)**

Les stimulations de FIV font appel à des protocoles d'hyperstimulation ovarienne permettant le recueil de plusieurs ovocytes augmentant ainsi le taux de fécondation et le nombre d'embryons potentiellement transférables.

#### **1. Les molécules utilisées**

Cinq types d'hormones peuvent être utilisés :

### a. Les agonistes du GnRH

Ces molécules diffèrent du décapeptide naturel uniquement par un acide aminé en position 6. Cette substitution permet d'augmenter l'affinité pour le récepteur hypophysaire et la durée de vie passe de quelques minutes à quelques heures. L'administration continue et non pulsatile de GnRH au niveau de l'hypophyse provoque dans les 48 premières heures une libération massive de LH et de FSH (effet flare-up) puis une désensibilisation hypophysaire. Cette désensibilisation entraîne une chute des taux plasmatiques des gonadotrophines et une mise au repos des ovaires. Ce phénomène est durable pendant toute la période d'administration, cela permet donc d'éviter un pic de LH et une ovulation spontanée.

Ils sont administrés durant un mois soit sous forme retard (Décapeptyl 3 mg LP®) ou quotidiennement à 0,1 mg (Décapeptyl® (triptoréline), Suprefact® ( buséréline)...).

### b. Les gonadotrophines

La FSH permet le recrutement et le développement folliculaire. On utilise des gonadotrophines urinaires ou de la FSH recombinante issue de la biotechnologie, c'est à dire synthétisée à partir de cellules ovariennes de hamster transfectées par des gènes codant pour les sous-unités alpha et bêta de FSH, puis purifiée par immunochromatographie sur anticorps monoclonaux. La posologie est variable selon le protocole, elle est adaptée à chaque patiente en fonction de son profil hormonal établi lors du bilan initial. Deux gonadotrophines urinaires sont commercialisées : le Menopur®, la ménotropine, et le Fostimon®, l'urofollitropine, dosées à 75 et 100 UI, ainsi que deux FSH recombinante sous forme d'ampoules d'injectables : le GonalF® (75 ou 150 UI) et le Puregon® (50, 75, 100 ou 150 UI).

### c. Les anti-oestrogènes

On utilise le citrate de clomifène, il se lie au récepteur hypothalamique de l'œstradiol mais entraîne un état de pseudo-carence oestrogénique et lève l'inhibition exercée par l'œstradiol sur la sécrétion de GnRH (rétrocontrôle négatif), permettant une augmentation des taux de FSH et de LH plasmatiques dès le deuxième jour de traitement. Deux produits sont commercialisés, le Clomid® et la Pergotime®, sous forme de comprimés à 50 mg.

### d. Les antagonistes du GnRH

Les protocoles avec antagonistes sont très récents. Les effets sont les même que ceux observés avec les agonistes sauf l'effet flare-up qui est inexistant. Ils évitent donc un pic de LH endogène, leur administration a lieu après celles des gonadotrophines, ce qui évite une mise au repos des ovaires parfois trop poussée chez certaines femmes. Il existe deux molécules : le cétrorelix (Cétrotide®) et le ganirelix (Orgalutan®) utilisés quotidiennement à 0,25 mg/jour ou sous forme retard à 3 mg efficace pendant 4 jours.



### e. La gonadotrophine chorionique (HCG)

L'HCG est une hormone sécrétée au cours de la grossesse par le trophoblaste. Cette molécule ressemble à la LH mais a une demi-vie plus longue. Elle est employée pour simuler le pic de LH déclenchant l'ovulation. Elle permet la reprise de la méiose bloquée en métaphase I. Au moment du recueil, l'ovocyte est en métaphase II. Le déclenchement est décidé lorsque les conditions sont jugées satisfaisantes par le médecin (cf monitoring). Il se fait par injection unique (Gonadotrophine chorionique endo® à 5000 UI ou Ovitrelle® 250, l'ovulation a lieu dans les 36 à 40 heures suivantes.

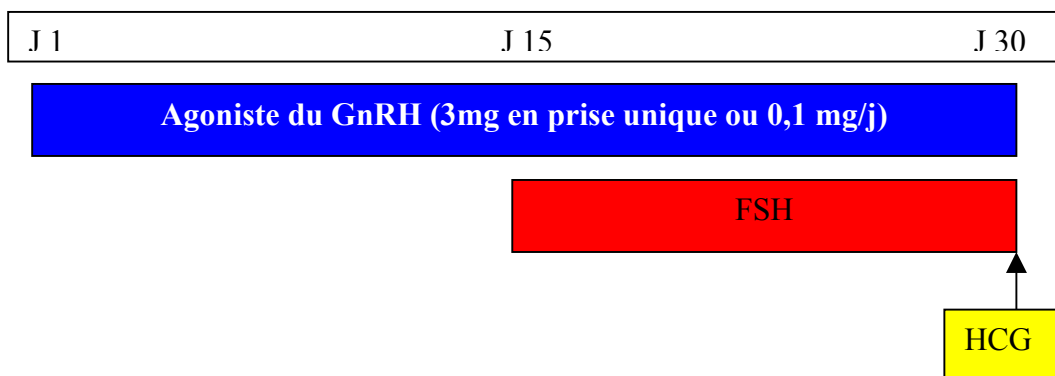
## 2. Les types de protocoles

Il existe plusieurs types de protocoles utilisés en FIV-ICSI. Ils sont choisis en fonction des résultats hormonaux et des réponses obtenues lors de stimulations précédentes si elles existent.

### a. Le protocole long

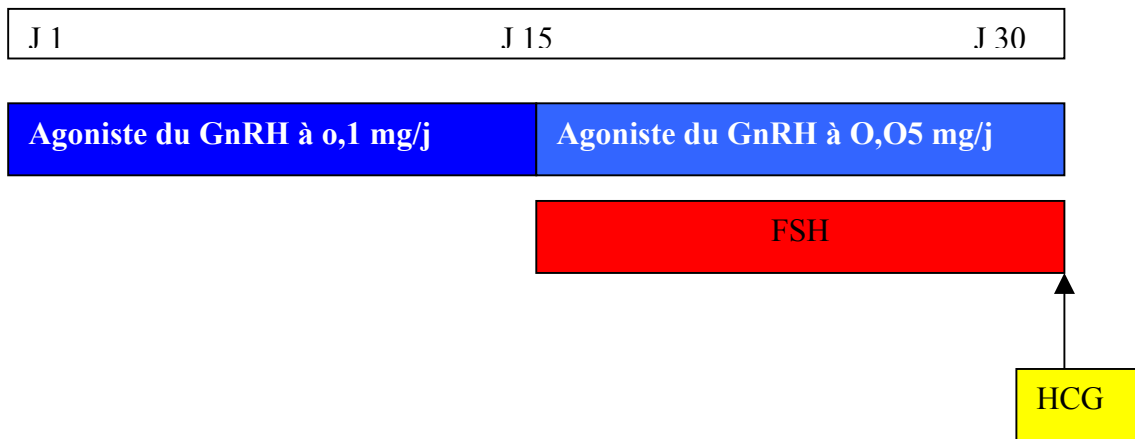
➤ protocole classique :

C'est le protocole le plus utilisé au cours duquel trois types de médicaments sont utilisés : un agoniste du GnRH, de la FSH recombinante et de l'HCG.



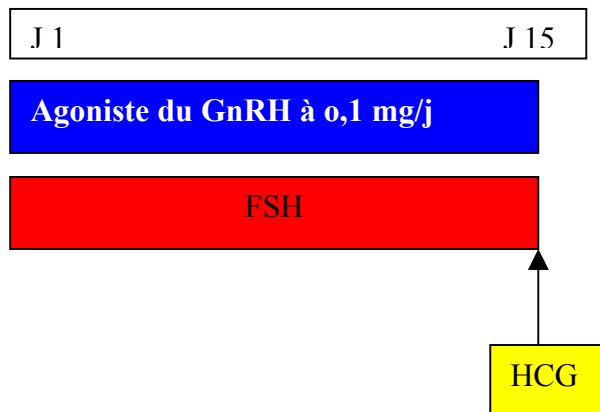
➤ protocole demi-dose :

Ce protocole utilise des doses inférieures en agoniste, les ovaires sont ainsi moins « freinés », il est donc proposé à des femmes dont la réponse ovarienne est un peu diminuée.



b. Le protocole court

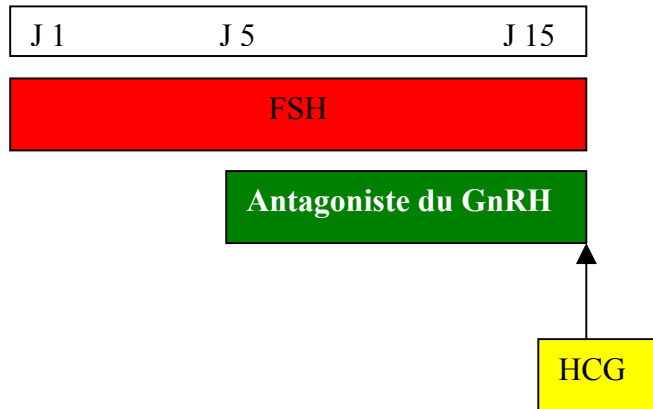
Ce protocole suit le schéma suivant :



La FSH est administrée en même temps que l'agoniste, en début de traitement, ce qui permet de profiter de l'effet flare-up. Les ovaires sont ainsi soumis à la FSH endogène et exogène, cela permet d'augmenter le recrutement folliculaire.

### c. Le protocole avec antagoniste

Ce traitement s'administre de la façon suivante :



Le recrutement folliculaire débute dans les ovaires sous l'action de la FSH sans avoir à sortir de l'état de mise au repos, ce qui est intéressant chez les femmes dites mauvaises répondeuses. Puis on administre un antagoniste afin de contrôler le pic de LH. Il est administré au cinquième jour si on utilise la forme quotidienne à 0,25 mg/jour ou au septième jour si on utilise la forme retard à 3 mg pour 4 jours.

### 3. Le monitoring

Les traitements de stimulation ovarienne sont monitorés, cela signifie que la patiente va bénéficier d'une surveillance échographique et hormonale.

La surveillance échographique va permettre d'évaluer la réponse des ovaires en terme de nombre et de taille des follicules ainsi que la taille de l'endomètre. La première échographie a lieu environ huit jours après la première injection de FSH, puis elle sera répétée tous les deux à trois jours.

Parallèlement, une surveillance hormonale est indispensable. Le taux d'œstradiol est mesuré environ un jour sur trois au début du traitement puis tous les jours à partir du huitième jour. De même, le taux de LH est contrôlé vers le huitième jour puis de façon quotidienne à partir du onzième ou douzième jour.

Une fiche de stimulation est établie à partir de tous ces résultats. Elle va permettre de vérifier si la croissance folliculaire est bien régulière et si le taux d'œstradiol est concordant avec le développement des follicules. Selon les résultats, il sera possible d'adapter la posologie de la FSH recombinante afin d'obtenir une croissance des follicules la plus harmonieuse possible. Quand les follicules seront matures ( $\geq 18$  mm) et le taux d'œstradiol satisfaisant (250 à 300 pg/ml par follicule), le déclenchement de l'ovulation par l'HCG sera décidé. A la vue des résultats, l'interruption du traitement pourra également être décidée, si la réponse ovarienne est trop faible ou s'il existe un risque d'hyperstimulation ovarienne (HSO).

#### 4. Les effets indésirables (33)

Comme lors de tout traitement il peut survenir des effets secondaires liés à l'administration de médicaments. Ils peuvent provoquer des réactions allergiques et des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées...), des réactions locales aux points d'injection.

Le risque majeur de ces protocoles est l'hyperstimulation ovarienne (HSO). Elle survient chez des femmes qui ont de fortes réponses (>8 follicules) et plus fréquemment si elles présentent une dystrophie ovarienne. L'HSO correspond à une augmentation très importante de la taille des ovaires et à une rétention d'eau pouvant s'accompagner de déséquilibres électrolytiques, d'ascite, de pleurésie et de péricardite. Elle se manifeste par une prise de poids, des douleurs abdominales et pelviennes, une sensation de gonflement, de gêne abdominale voire respiratoire. Il n'y a pas de traitement spécifique pour l'HSO : la patiente est hospitalisée, placée sous surveillance hydro-électrolytique et mise au repos. Si le déclenchement n'a pas eu lieu, le protocole est interrompu. S'il a eu lieu, le transfert embryonnaire est annulé et les embryons sont congelés. Ils seront décongelés et transférés lorsque l'épisode d'HSO sera terminé.

### **B. Le premier jour (34)**

#### 1. Le recueil des ovocytes

##### a. La ponction échoguidée

Elle a lieu 36 heures après l'injection d'HCG. La ponction des follicules se déroule au bloc opératoire, dans des conditions d'asepsie rigoureuse, sous anesthésie locale ou générale et sous contrôle échographique à l'aide d'une sonde endovaginale. Le gynécologue aspire le contenu des follicules par voie vaginale grâce à une aiguille et confie immédiatement les seringues au laboratoire.

##### b. La préparation des ovocytes

Le biologiste va observer le contenu de toutes les seringues à la loupe binoculaire et laisser de côté les ovocytes atrétiques. Lorsque les ovocytes sont recueillis, ils sont entourés par le cumulus oophorus qu'il est nécessaire d'éliminer afin de permettre la microinjection. Pour cela les ovocytes sont placés dans une boîte à quatre puits contenant une solution enzymatique (la hyaluronidase). Puis ils sont aspirés et rejetés à l'aide d'une micropipette afin de les débarrasser totalement des cellules folliculaires qui les entourent. Les ovocytes sont examinés au microscope afin de savoir s'ils sont matures c'est à dire s'ils ont émis le premier globule polaire, puis ils sont replacés à 37°C, à 5% de CO<sub>2</sub> dans l'air dans une boîte à quatre puits contenant un milieu de culture jusqu'à l'injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde.



Figure 17 : Un ovocyte et son globule polaire (34)

## 2. La préparation du sperme

### a. L'origine des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes peuvent provenir d'un éjaculat ou d'un prélèvement chirurgical. L'éjaculat est obtenu par masturbation après miction et désinfection des mains et du gland. Cet échantillon peut être utilisé frais, c'est à dire le jour même, ou après congélation dans l'azote liquide (-196°C).

Le prélèvement chirurgical peut se faire à trois niveaux différents selon la cause de l'infertilité. S'il s'agit d'une azoospermie excrétoire avec fonction testiculaire normale (agénésie des canaux du déférent, d'une partie de l'épididyme, infection, vasectomie ou séquelles d'herniographie...), le prélèvement a lieu au niveau de l'épididyme. S'il s'agit d'un trouble organique de l'éjaculation (paraplégie...), les spermatozoïdes sont ponctionnés au niveau du déférent ou de l'épididyme. Enfin s'il y a lésion de l'épididyme, obstruction du rete testis ou dans le cas d'une azoospermie sécrétoire avec persistance de quelques foyers de spermatozoïdes, l'urologue va pratiquer une biopsie testiculaire.

Le jour de la ponction est déterminé en fonction du moment du déclenchement de l'ovulation chez la patiente si le prélèvement est utilisé frais ou indépendamment de la stimulation s'il est congelé. Le prélèvement est réalisé au bloc opératoire sous anesthésie générale par un urologue. Celui-ci pratique une incision du scrotum puis repère la zone à ponctionner et aspire le contenu à l'aide d'une aiguille (MESA=Microchirurgical Epididymal Sperm aspiration). S'il s'agit d'une biopsie testiculaire, le chirurgien incise l'albuginée dans une zone avasculaire et prélève un fragment de pulpe (TESE=Testicular Sperm Extraction). Le patient est recousu à l'aide d'un fil à résorption lente. Le biologiste présent au moment de l'intervention examine immédiatement le prélèvement pour rechercher la présence de spermatozoïdes. Après le prélèvement chirurgical, les spermatozoïdes recueillis sont acheminés rapidement au laboratoire dans un milieu adapté à leur survie.

### b. La préparation des spermatozoïdes

Si le sperme du patient provient d'un éjaculat, la préparation est la même que celle effectuée lors du test de capacitation survie.

Les spermatozoïdes épидидymaires et déférentiels récupérés par aspiration sont placés dans un milieu de culture avant d'être centrifugés et lavés.

Les spermatozoïdes provenant d'une biopsie testiculaire sont libérés dans un milieu de culture par dilacération des tissus, puis ils sont lavés par centrifugation.

Lorsque la qualité du prélèvement chirurgical est satisfaisante, les spermatozoïdes recueillis peuvent être congelés pour éviter d'imposer au patient une nouvelle intervention en cas d'échec de la tentative de FIV.

### c. Evaluation de la qualité

Les fractions obtenues après la préparation des spermatozoïdes vont être examinées au microscope. Une mobilité et une numération vont être réalisées sur la préparation avant qu'elle soit placée à l'étuve à CO<sub>2</sub> en attendant la fin de la préparation.

## 3. L'injection

Après ces phases préparatoires des ovocytes et des spermatozoïdes, l'étape suivante est la mise en contact des gamètes par microinjection.

### a. L'appareillage

C'est un ensemble complexe comprenant :

- un microscope inversé à fort grossissement ;
- deux micromanipulateurs ;
- un porte micropipettes solidaire des micromanipulateurs reliés à des seringues ;
- deux micropipettes en verre, l'une pour l'injection, l'autre pour la contention ;
- un système optique afin de suivre la manipulation sur écran ;

### b. La mise en place des ovocytes

Les ovocytes sont placés sous l'objectif dans leur milieu de culture. Les ovocytes sont injectés les uns après les autres, pour cela ils doivent être maintenus en place avec la pipette de contention.

### c. La sélection des spermatozoïdes

Une goutte de la suspension de spermatozoïdes est déposée sur le support. Sous le microscope, le biologiste va choisir pour chaque ovocyte, un spermatozoïde si possible de morphologie normale et mobile. La mobilité du spermatozoïde est un signe de vitalité. Le spermatozoïde sélectionné est immobilisé en pressant son flagelle contre le fond de la boîte, ce qui lèse sa membrane plasmique, puis aspiré à l'aide de la micropipette d'injection.

### d. L'injection

La micropipette contenant le spermatozoïde est placée sur le même plan que la micropipette de contention. La pipette d'injection est enfoncée dans le cytoplasme de l'ovocyte où le spermatozoïde est injecté, puis elle est retirée. La manipulation est répétée pour tous les ovocytes matures recueillis.

Tous les ovocytes injectés sont mis en culture à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub> dans l'air.

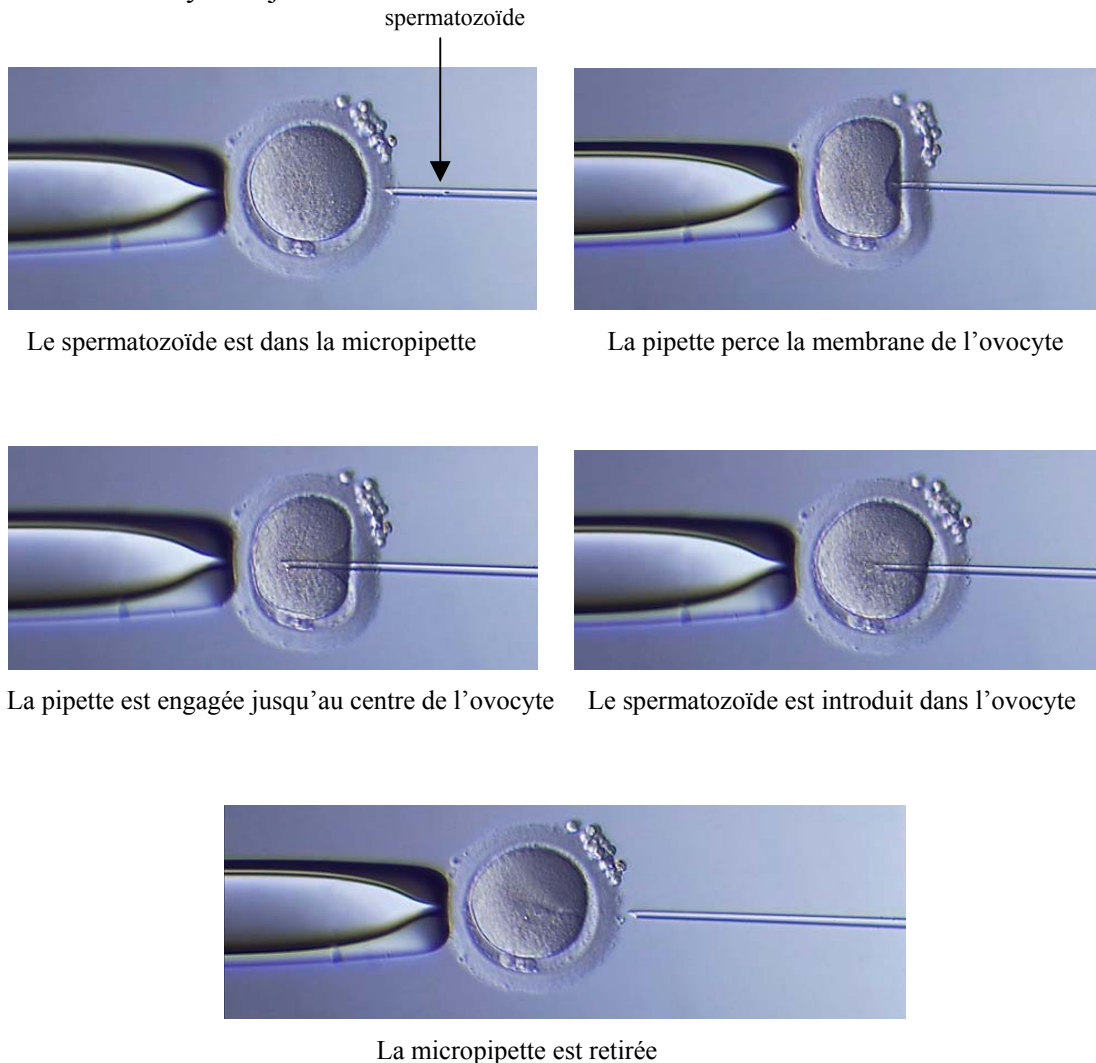


Figure 18 : Photos de microinjection (34)

### **C. Le deuxième jour (34)**

Il est important de déterminer si la fécondation a eu lieu et si elle est normale. La fécondation normale se traduit par l'expulsion du 2<sup>ième</sup> globule polaire dans l'espace périvitellin et la présence de 2 pronuclei dans l'ovocyte. Les pronuclei contiennent le matériel génétique de l'homme et de la femme respectivement. Les pronuclei peuvent apparaître quelques heures après l'ICSI et sont souvent encore visibles 20h plus tard. Les ovocytes fécondés sont appelés zygotes.

Bien que nous n'en connaissions pas toujours la raison, un échec de fécondation peut se produire. Après ICSI, il se rencontre plus fréquemment lorsque seuls quelques ovocytes ont été injectés (de 1 à 3). L'absence d'activation de l'ovocyte, due à une anomalie de l'ovocyte ou du spermatozoïde, semble être la cause la plus probable de l'échec de fécondation après ICSI. Cependant, pour un couple donné, un échec de fécondation dans un cycle ICSI ne signifie pas forcément qu'un second échec aura lieu lors d'un traitement ultérieur.

La fécondation est anormale lorsque plus de 2 pronuclei sont présents dans le cytoplasme ovocytaire. Dans l'ICSI, l'absence d'émission du 2<sup>ième</sup> globule polaire de l'ovocyte est la cause la plus probable des fécondations anormales observées. La présence d'un seul pronucleus est également une situation anormale car il s'agit d'une activation du développement se produisant sans le concours du spermatozoïde. Les ovocytes fécondés anormalement, même s'ils sont capables de se diviser, ne sont jamais transférés dans l'utérus.

### **D. Le troisième et quatrième jour (34)**

#### **1. Suivi du développement embryonnaire**

La disparition des pronuclei indique que les chromosomes masculins et féminins se regroupent pour former le génome embryonnaire et que l'ovocyte fécondé se prépare à la première division cellulaire. Les premières divisions sont visibles le lendemain de l'observation des pronuclei. En général, l'embryon présente 2 à 4 blastomères le deuxième jour, 4 à 8 blastomères le troisième jour et atteint le stade du blastocyste le cinquième ou le sixième jour. Le blastocyste est le stade auquel l'embryon peut s'implanter dans l'utérus.

#### **2. Choix du nombre d'embryon à transférer**

C'est le couple qui choisit le nombre d'embryons qui seront transférés, grâce aux explications de l'équipe de FIV. Un transfert de deux embryons permet un taux de réussite de 15% contre 20% avec trois embryons. Le choix se fait le jour même du transfert embryonnaire (TE). Au-delà de trois embryons, le risque de grossesse multiple est trop important.

C'est en fonction du nombre d'embryons obtenus que la date du TE est fixée. S'il y a moins de trois embryons, le TE est réalisé au troisième jour, s'il y en a trois ou plus, le TE est retardé au quatrième jour.



### 3. Réalisation du transfert embryonnaire

La patiente arrive dans le service en ayant pris soin de boire car le TE est facilité par une vessie pleine. Les embryons sont aspirés dans un cathéter avec un minimum de milieu de culture. La patiente en position gynécologique, le gynécologue introduit le cathéter dans la cavité utérine et y dépose les embryons.

### 4. Congélation des embryons surnuméraires

La congélation des embryons peut se faire à différents stades : lors des premières divisions cellulaires (2-4 blastomères) ou au stade du blastocyste.

Pour protéger l'embryon de la congélation, on ajoute des cryoprotecteurs à la solution de congélation. Après équilibration avec la solution de congélation, les embryons sont placés dans des paillettes qui sont mises dans un appareil permettant de contrôler très précisément la vitesse de refroidissement et d'induire la cristallisation à un moment déterminé. La congélation se fait très lentement pour éviter la formation de cristaux de glace à l'intérieur de l'embryon. Les embryons sont ensuite conservés à très basse température dans de l'azote liquide (-196 °C).

## ETUDE COMPARATIVE DES RESULTATS DE L'ICSI AU CHU DE NANTES SELON L'ORIGINE DES SPERMATOZOÏDES

### I. Introduction

Cette étude rétrospective porte sur les données recueillies au laboratoire de FIV à Nantes depuis le démarrage de la FIV-ICSI en 1996 jusqu'en 2001, soit un total de 2735 prises en charge.

Les patients ont été regroupés en fonction du site de prélèvement des spermatozoïdes, et de la réalisation d'une congélation des spermatozoïdes.

Tableau 1 : « groupage » des sujets

Numéro du groupe	Origine des spermatozoïdes	Effectif
1	Ejaculat frais	2392
2	Ejaculat congelé	96
3	Epididyme frais	66
4	Epididyme congelé	68
5	Déférent frais	8
6	Déférent congelé	12
7	Testis frais	49
8	Testis congelé	44

Dix huit niveaux de comparaison ont été choisis :

- A :éjac versus chirurgie (chir) (groupe 1+2 vs groupe 3+4+5+6+7+8)
- B :éjac F versus chir F (groupe 1 vs groupe 3+5+7)
- C :éjac F versus def F (groupe 1 vs groupe 5)
- D :éjac F versus épi F (groupe 1 vs groupe 3)
- E :éjac F versus test F (groupe 1 vs groupe 8)
- F :éjac C versus chir C (groupe 2 vs groupe 4+6+8)
- G :éjac C versus def C (groupe 2 vs groupe 6)
- H :éjac C versus épi C (groupe 2 vs groupe 4)
- I :éjac C versus test C (groupe 2 vs groupe 8)
- J :éjac F versus éjac C (groupe 1 vs groupe 2)
- K :chir F versus chir C (groupe 3+5+5 vs groupe 4+6+8)
- L :def F versus def C (groupe 5 vs groupe 6)
- M :épi F versus épi C (groupe 3 vs groupe 4)
- N :test F versus test C (groupe 7 vs groupe 8)
- O :def versus épi (groupe 5+6 vs 3+4)

P :def versus test (groupe 5+6 vs groupe 7+8)  
Q :épi versus test (groupe 3+4 groupe 7+8)  
R :F versus C (groupe 1+3+5+7 vs groupe 2+4+6+8)

## **II. Calculs statistiques**

La comparaison a porté sur le nombre d'ovocytes fécondés après injection du spermatozoïde.

Les calculs ont été réalisés à l'aide du programme informatique Systat 9 (SPSS inc, 1999).

### **A. La composante féminine**

Afin d'éliminer une éventuelle participation féminine dans les résultats obtenus, des statistiques portant sur l'âge des femmes ayant suivie un protocole de stimulation ont été réalisées :

Tableau 2 : âge moyen et écart-type des femmes au sein des huit groupes

Groupe	Age moyen
1	31.5 +/- 0.1
2	30.2 +/- 0.4
3	29.6 +/- 0.5
4	31.3 +/- 0.5
5	30.4 +/- 1.4
6	31.8 +/- 1,1
7	30.6 +/- 0.6
8	30.6 +/- 0.6

Une analyse de variance sur ces données a montré qu'il existe une différence significative ( $p < 0.001$ ) entre la moyenne des âges au sein des huit groupes d'étude. Afin de ne pas biaiser les conclusions de cette étude, ces résultats ont été pris en compte lors des statistiques effectuées ultérieurement.

### **B. Calculs statistiques**

La comparaison entre les huit groupes établis a porté sur le nombre d'ovocytes qui ont pu être fécondés par ICSI. Seule cette donnée a été étudiée car c'est la seule capable de montrer l'influence de l'origine du spermatozoïde sans que la composante féminine ne prenne

une part trop importante dans les résultats. En effet, des conclusions sur l'incidence de l'origine du spermatozoïde en FIV-ICSI sur les différents stades d'une grossesse, comme le taux d'implantation, le nombre d'embryons, de fœtus et de bébés ne pourraient être exploitées sans biais, la physiologie et les pathologies féminines jouant un trop grand rôle dans ces phases.

Tableau 3 : données sur les ovocytes recueillis et fécondés au sein des huit groupes

Groupe	Nbr d'ovocytes recueillis	Moyenne d'ovocytes recueillis	Nbr d'ovocytes fécondés	Moyenne d'ovocytes fécondés	Moyenne corrigée par l'âge
1	27026	11.3 +/- 4.86	8622	3.6 +/- 2.56	3.611
2	1157	12.05 +/- 5.96	284	2.96 +/- 2.45	2.879
3	859	13.01 +/- 4.87	290	4.39 +/- 2.52	4.284
4	907	13.34 +/- 5.45	229	3.37 +/- 2.56	3.310
5	111	13.87 +/- 7.39	40	5 +/- 2.51	4.932
6	127	10.58 +/- 4.83	50	4.17 +/- 3.56	4.195
7	520	10.61 +/- 4	117	2.39 +/- 1.87	2.337
8	592	13.45 +/- 5.45	138	3.14 +/- 2.17	3.083

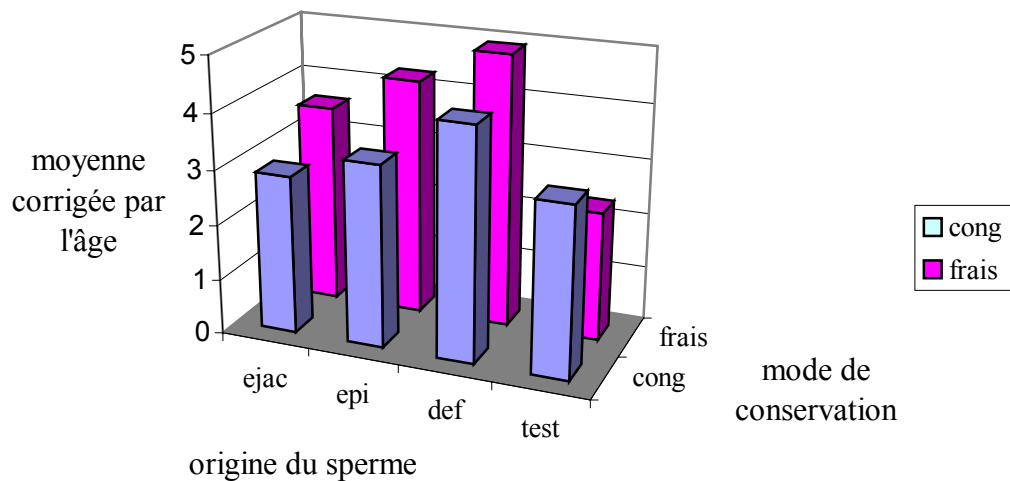


Figure 19 : nombre d'ovocytes fécondés selon l'origine des spermatozoïdes

Le test s'est porté sur la comparaison des moyennes des ovocytes fécondés après correction par l'âge.

Les groupes ont été testés avec une analyse de covariance, la covariable étant l'âge, selon la méthode de Bonferroni ( $\alpha$  abaissé) au risque de 1%.

Tableau 4 : comparaison statistique du nombre d'ovocytes fécondés

Niveau de comparaison	comparaison	P	résultats
A	éjaculat < chirurgie	0.083	NS
B	éjaculat frais < chirurgie frais	0.479	NS
C	éjaculat frais < déférent frais	0.136	NS
D	éjaculat frais < épидидyme frais	0.033	NS
E	éjaculat frais > testis frais	< 0.001	S
F	éjaculat congelé > chirurgie congelé	0.092	NS
G	éjaculat congelé < déférent congelé	0.086	NS
H	éjaculat congelé < épидидyme congelé	0.279	NS
I	éjaculat congelé < testis congelé	0.654	NS
J	éjaculat frais > éjac congelé	0.005	S
K	chirurgie frais > chirurgie congelé	0.468	NS
L	deférent frais < deférent congelé	0.518	NS
M	épидидyme frais > épидидyme congelé	0.026	NS
N	testis frais < testis congelé	0.151	NS
O	deférent > épидидyme	0.210	NS
P	deférent > testis	0.003	S
Q	épидидyme > testis	0.001	S
R	frais > congelé	0.210	NS

Légende :

NS= différence non significative

S= différence significative

Sur les 18 niveaux testés, seuls 4 ont montré une différence significative, ils apparaissent en rose dans le tableau ci-dessus. La couleur orange signifie une différence non significative mais qui est à signaler car les statistiques ont été réalisées de façon sévère ( $\alpha$  abaissé à 1%). Lors de la discussion il ne faudra pas oublier que la taille des groupes est très disparate et que cela a pu interférer dans les résultats.

### **III. Discussion**

Deux critères sont intéressants à analyser : la chirurgie et la congélation des spermatozoïdes.

#### **A. La chirurgie**

D'une façon globale (niveau A), l'origine chirurgicale des spermatozoïdes ne semble pas délétère par rapport à un sperme éjaculé ( $p=0.083$ ). Mais en regardant plus précisément, cela devient discutable.

Si la différence n'est pas significative entre le groupe éjaculat et les chirurgies sur l'épididyme et le déférent (niveau C,  $p=0.136$  ; G,  $p=0.086$  ; D,  $p=0.033$  ; H,  $p=0.279$ ), le groupe testis donne des taux d'ovocytes fécondés bien inférieurs (niveau E,  $p<10^{-3}$ ). De plus, il existe des disparités au sein même du groupe chirurgie : les spermatozoïdes testiculaires semblent moins féconds que les spermatozoïdes épидидymaires (niveau P,  $p=0.003$ ) et déférentiels (niveau Q,  $p=0.001$ ).

Ces résultats sont confirmés par d'autres équipes, notamment celle d'Alboulghar au Caire (35) qui retrouve une diminution des taux de fécondation pour les spermatozoïdes issus d'une biopsie testiculaire par rapport aux spermatozoïdes éjaculés. L'immaturité des spermatozoïdes testiculaires est probablement à l'origine de ces résultats.

En effet, les spermatozoïdes testiculaires n'ont pas encore acquis la mobilité (cf chapitre 2, p17). Lors de l'injection du spermatozoïde dans l'ovocyte, le biologiste doit repérer un spermatozoïde vivant, or ceci est basé sur sa motilité. Cette absence de maturité est donc un réel handicap qui se surajoute à un sperme déjà souvent pauvre.

L'empreinte génomique est une étape importante de la maturation du spermatozoïde. Une absence de méthylation sur certains gènes pourrait être à l'origine d'une baisse du pouvoir fécondant des spermatozoïdes prélevés en amont de l'épididyme, siège de l'empreinte génomique.

#### **B. La congélation**

Les résultats globaux ne montrent pas d'impact négatif de la congélation sur la fécondation des ovocytes (niveau R,  $p=0.210$ ). En revanche des différences apparaissent au sein de certains groupes.

Dans le groupe chirurgie, il y a très peu de disparités (niveau K,  $p=0.468$  ; niveau L,  $p=0.518$  ; niveau N,  $p=0.151$ ). La différence n'apparaît pas significative pour le groupe épидидyme (niveau M,  $p=0.026$ ) mais les statistiques ont été réalisées de façon très sévère avec un risque  $\alpha$  abaissé à 1%, l'échantillon épидидyme frais donne des résultats supérieurs aux spermatozoïdes congelés. La congélation semble également être délétère pour l'échantillon éjaculat (niveau J,  $p=0.005$ ).

Les études réalisées sur ce sujet ne confirment pas ces résultats : l'équipe de l'université de Chicago (36) n'a montré aucune différence significative entre un spermatozoïde provenant d'un échantillon frais et congelé. Les mêmes résultats sont retrouvés par l'équipe de Kuczynski (37), la congélation n'affecte pas négativement les résultats de l'ICSI.

Les résultats obtenus sur le niveau J ne sont donc pas similaires à ceux obtenus par les autres équipes. Cependant il ne faut pas perdre de vue que nos échantillons sont de taille très inégale. En effet, le groupe éjaculat frais comprend 2392 sujets alors que le groupe éjaculat congelé n'en contient que 96, ceci pourrait expliquer les résultats observés.

### **C. Conclusions**

A l'issue de cette étude, deux points nécessitent d'être soulignés.

Le premier concerne la chirurgie. Il apparaît que l'origine épидидymaire ou déférentielle des spermatozoïdes ne pénalise pas les résultats de l'ICSI. L'espoir de paternité reste donc possible pour les couples concernés. En revanche, l'injection de spermatozoïdes provenant d'une biopsie testiculaire semble diminuer les chances de succès. Il sera donc important de le signaler aux patients afin qu'ils puissent réfléchir aux options qui leur sont proposées, comme l'adoption ou le don de sperme.

Le second concerne la congélation. Celle-ci ne semble pas être préjudiciable aux résultats attendus. Des études réalisées sur les avantages de la congélation, en terme d'aide à la sélection des spermatozoïdes les plus féconds seraient intéressantes. De plus il ne faut pas oublier que l'ICSI reste une prise en charge très lourde pour les couples. La congélation du sperme présente l'avantage d'éviter le passage au bloc opératoire le même jour pour les patients. Le mari et la femme peuvent ainsi se soutenir l'un et l'autre et l'intervention d'une tierce personne, afin de les reconduire chez eux le soir après une anesthésie, n'est plus obligatoire.

Même si la composante féminine a été prise en compte dans les tests effectués, elle reste primordiale dans la conception d'un enfant : qualité ovocytaire dans les premières étapes puis qualité de l'environnement pour l'implantation, la nidation et la maturation de l'embryon.

L'ICSI a révolutionné la prise en charge des couples confrontés à une infertilité masculine. Mais cette technique n'a qu'une dizaine d'années d'existence et nous manquons de recul. Le suivi à moyen et long terme des enfants, s'il représente un élément très important dans l'évaluation de l'innocuité de l'ICSI, est difficile à mettre en place du fait du taux de « perte de vue » des enfants, de l'impact psychologique d'une surveillance accrue et du souci de confidentialité. De ce fait très peu d'études ont été réalisées sur l'évaluation des enfants nés par ICSI. Une équipe belge a montré une augmentation des aberrations chromosomiques au niveau des chromosomes sexuels (0.83%) et un risque modéré d'anomalie de développement des aires de la parole, de la motricité et de l'apprentissage (38). En revanche, d'autres études ne retrouvent pas de différences entre les enfants conçus par ICSI et les enfants issus de la FIV.

En dépit des difficultés liés à ce type d'étude, le suivi des enfants nés par ICSI est capital pour évaluer les risques de cette technique médicale.



Annexe 1

(Etiquette patient)	<b>Nom Patient</b> : <b>Prénom Patient</b> : <b>N° Dossier</b> :	<b>Prescripteur</b>
---------------------	--	---------------------

<input type="checkbox"/> FIV Conventionnelle <input type="checkbox"/> FIV-ICSI Programmée en : ..... <input type="checkbox"/> Vasectomie - Date de l'opération : .....	Date : N° Ordre Heure de recueil <input type="checkbox"/> H2O .....
--	--

- Spermogramme (B110)     Spermoculture       Capacitation/Survie (B120)       Mouvement  
 Congélation (B350)       Mar-test (B50)       Biochimie séminale (B175 + B85)

Prélèvement : Laboratoire / Domicile      Traitement :      Abstinance : ..... jours

Volume : ..... mL      Viscosité : .....      pH : .....

Présence d'agglutinats :       OUI       NON      IgA : .....% Type : Flagelle Tête Mixte  
 IgG : .....% Type : Flagelle Tête Mixte

**NUMERATION**

Nombre de spermatozoïdes : ..... Millions/mL      Nombre de cellules rondes : ..... Millions/mL

<u>MOBILITE</u>	Après ..... minutes	Après ..... heures
Normale	..... %	..... %
Sur place ou diminuée	..... %	..... %
Immobiles	..... %	..... %

MOTILITE Mauvaise    Moyenne    Bonne      VITALITE ..... % sur ..... spz observés

Volume traité : ..... mL      **Test de Capacitation - Survie**  
 Capacitation : ..... millions/mL    dans ..... µL de milieu de culture      Survie 24 H : ..... %

**CONCLUSION**

Réalisé par

**Compte réalisé sur .....spermatozoïdes**

Formes normales		%
allongée (a)		/
amincie (b)		/
microcéphale (c)		/
macrocéphale (d)		/
multiples (e)		/
base de la tête anormale (f)		/
acrosome malformé ou absent (g)		/
reste cytoplasmique (h)		/
angulation (i)		/
grêle (j)		/
absent (k)		/
écourté (l)		/
calibre irrégulier (m)		/
enroulé (n)		/
multiples (o)		/
flagelles isolés		
polynucléaires		
cellules de la lignées germinales		
IAM		



CENTRE HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE DE NANTES

**BIOLOGIE DE LA  
REPRODUCTION**

**DR. P. BARRIERE**  
Chef de Service

DR. M. JEAN  
DR. S. MIRAILLE  
DR. GRIVARD Ph

**Hormonologie - Dépistage**  
Mme M.F. DUBIN

**Attachés**  
DR. F. DANO  
DR. P. MAHJOI  
DR. B. PAILLARD  
DR. M. ROCHI

**Infirmière**  
M.A. BLAYO  
Accueil et Rendez-vous  
☎ 02 40 08 32 34  
Fax 02 40 08 32 28

**Technicienne-Surveillante**  
M.C. COMMUNAL  
**Techniciennes de Laboratoire**  
V. BABIN  
N. FAVROU  
J. JUNGBLUTH  
C. JAHN

**Secrétaires**  
S. BION  
B. PLOQUIN  
F. VITTE

**GYNECOLOGIE ET MEDECINE DE  
LA REPRODUCTION**

PR. P. LOPES  
Chef de Service

DR. M. BOUDINEAU  
DR. M. FONDEVILA  
DR. O. MULTON  
DR. R. SIMONNET

**ASSISTANCE MEDICALE A LA  
PROCREATION**

**Sages-Femmes**  
S. BUNFORD  
C. VASSEUR  
☎ 02 40 08 31 80  
Fax 02 40 08 31 33

**OBSTETRIQUE ET MEDECINE  
FOETALE**

PR. G. BOOG  
Chef de Service

DR. Y. CAROIT  
DR. J. LAPORTE  
DR. C. LE VAILLANT  
DR. N. WINER

**POLE MERE-ENFANT  
BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION**

**TEST DE HUNHER**

Etiquette

Prescripteur :

**Commentaires :**

- Jour du cycle :
- Traitement :
- Dernier rapport sexuel : il y a
- Spermogramme :

**Score de Insler :**

- ouverture du col :
- abondance de la glaire :
- filance de la glaire :
- cristallisation de la glaire :
- SCORE = /12

**Observation au microscope (objectif x 20) :**

**Exocol :**

**Endocol :**

**CONCLUSION : Test**

## Annexe 3

### **Loi 94-653 du 29 juillet 1994**

#### **relative au respect du corps humain**

L'Assemblée nationale et le Sénat ont adopté,  
Vu la décision du Conseil constitutionnel 94-343/344 DC en date du 27 juillet 1994,  
Le Président de la République promulgue la loi dont la teneur suit :

#### TITRE I

#### DU RESPECT DU CORPS HUMAIN

**Article premier.-** I.-L'intitulé du titre 1er du livre 1er du code civil est ainsi rédigé :

"TITRE I

"DES DROITS CIVILS

II.- L'intitulé du chapitre II du titre 1er , du livre 1er du même code est ainsi rédigé :

#### **"Du respect du corps humain**

**Art. 2.-** L'article 16 du code civil est rétabli dans la rédaction suivante et inséré au début du chapitre II du titre 1er du livre 1er du code civil :

*"Art. 16. - La loi assure la primauté de la personne, interdit toute atteinte à la dignité de celle-ci et garantit le respect de l'être humain dès le commencement de sa vie."*

**Art. 3.-** Après l'article 16 du code civil, sont insérés les articles 16-1 à 16-9 ainsi rédigés :

*"Art. 16-1.- Chacun a droit au respect de son corps.*

*"Le corps humain est inviolable.*

*"Le corps humain, ses éléments et ses produits ne peuvent faire l'objet d'un droit patrimonial.*

*"Art. 16-2.- Le juge peut prescrire toutes mesures propres à empêcher ou faire cesser une atteinte illicite au corps humain ou des agissements illicites portant sur des éléments des produits de celui-ci.*

*"Art. 16-3.- Il ne peut être porté atteinte à l'intégrité du corps humain qu'en cas de nécessité thérapeutique pour la personne.*

*"Le consentement de l'intéressé doit être recueilli préalablement hors le cas où son état rend nécessaire une intervention thérapeutique à laquelle il n'est pas à même de consentir.*

*"Art. 16-4.- Nul ne peut porter atteinte à l'intégrité de l'espèce humaine.*

*"Toute pratique eugénique tendant à l'organisation de la sélection des personnes est interdite.*

*"Sans préjudice des recherches tendant à la prévention et au traitement des maladies génétiques, aucune transformation ne peut être apportée aux caractères génétiques dans le but de modifier la descendance de la personne.*

*"Art. 16-5.- Les conventions ayant pour effet de conférer une valeur patrimoniale au corps humain, à ses éléments ou à ses produits sont nulles.*

*"Art. 16-6.- Aucune rémunération ne peut être allouée à celui qui se prête à une expérimentation sur sa personne, au prélèvement d'éléments de son corps ou à la collecte de produits de celui-ci.*

*Art. 16-7.-* Toute convention portant sur la procréation ou la gestation pour le compte d'autrui est nulle.

*Art. 16-8.-* Aucune information permettant d'identifier à la fois celui qui a fait don d'un élément ou d'un produit de son corps et celui qui l'a reçu ne peut être divulguée. Le donneur ne peut connaître l'identité du receveur ni le receveur celle du donneur.

" En cas de nécessité thérapeutique, seuls les médecins du donneur et du receveur peuvent avoir accès aux informations permettant l'identification de ceux-ci.

*Art. 16-9.-* Les dispositions du présent chapitre sont d'ordre public."

**Art. 4.-** L'article 227-12 du code pénal est complété par un troisième et un quatrième alinéa ainsi rédigés :

"Est puni des peines prévues au deuxième alinéa le fait de s'entremettre entre une personne ou un couple désireux d'accueillir un enfant et une femme acceptant de porter en elle cet enfant en vue de le leur remettre. Lorsque ces faits ont été commis à titre habituel ou dans un but lucratif, les peines sont portées au double.

"La tentative des infractions prévues par les deuxième et troisième alinéas du présent article est punie des mêmes peines."

## TITRE II

### DE L'ETUDE GENETIQUE DES CARACTERISTIQUES D'UNE PERSONNE ET DE L'IDENTIFICATION D'UNE PERSONNE PAR SES EMPREINTES GENETIQUES

**Art. 5. -** Il est inséré, dans le titre 1er du livre 1er du code civil, un chapitre III ainsi rédigé :

#### "CHAPITRE III

##### **"De l'étude génétique des caractéristiques d'une personne et de l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques**

*Art. 16-10.-* L'étude génétique des caractéristiques d'une personne ne peut être entreprise qu'à des fins médicales ou de recherche scientifique.

"Le consentement de la personne doit être recueilli préalablement à la réalisation de l'étude.

*Art. 16-11.-* L'identification d'une personne par ses empreintes génétiques ne peut être recherchée que dans le cadre de mesures d'enquête ou d'instruction diligentées lors d'une procédure judiciaire ou à des fins médicales ou de recherche scientifique.

"En matière civile, cette identification ne peut être recherchée qu'en exécution d'une mesure d'instruction ordonnée par le juge saisi d'une action tendant soit à l'établissement ou la contestation d'un lien de filiation, soit à l'obtention ou la suppression de subsides. Le consentement de l'intéressé doit être préalablement et expressément recueilli.

"Lorsque l'identification est effectuée à des fins médicales ou de recherche scientifique, le consentement de la personne doit être au préalable recueilli.

*Art. 16-12.-* Sont seules habilitées à procéder à des identifications par empreintes génétiques les personnes ayant fait l'objet d'un agrément dans des conditions fixées par décret en Conseil d'Etat. Dans le cadre d'une procédure judiciaire, ces personnes doivent, en outre, être inscrites sur une liste d'experts judiciaires."

**Art. 6.-** Il est inséré, dans la loi 71-498 du 29 juin 1971 relative aux experts judiciaires, un article 6-1 ainsi rédigé :

*Art. 6-1.-* Sont seules habilitées, en matière judiciaire, à procéder à l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques les personnes inscrites sur les listes instituées par l'article 2 de la présente loi et ayant fait l'objet d'un agrément dans des conditions fixées par décret en Conseil d'Etat."

**Art. 7.** - Les deux premiers alinéas de l'article L. 611-17 du code de la propriété intellectuelle sont ainsi rédigés :

<< Ne sont pas brevetables :

"a/ Les inventions dont la publication ou la mise en oeuvre serait contraire à l'ordre public ou aux bonnes moeurs, la mise en oeuvre d'une telle invention ne pouvant être considérée comme telle du seul fait qu'elle est interdite par une disposition législative ou réglementaire ; à ce titre, le corps humain, ses éléments et ses produits ainsi que la connaissance de la structure totale ou partielle d'un gène humain ne peuvent, en tant que tels, faire l'objet de brevets."

**Art. 8.- I.**- La section 6 du chapitre VI du titre II du livre II du code pénal devient la section 7 de ce chapitre.

II.- L'article 226-25 du code pénal devient l'article 226- 31.

III. - Il est inséré, dans le chapitre VI du titre II du livre II du code pénal, une section 6 intitulée : "Des atteintes à la personne résultant de l'étude génétique de ses caractéristiques ou de l'identification par ses empreintes génétiques", comportant six articles ainsi rédigés:

"*Art. 226-25.*- Le fait de procéder à l'étude des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales sans avoir préalablement recueilli son consentement dans les conditions prévues par l'article L. 145-15 du code de la santé publique est puni d'un an d'emprisonnement et de 100 000 F d'amende.

"*Art. 226-26.*- Le fait de détourner de leurs finalités médicales ou de recherche scientifique les informations recueillies sur une personne au moyen de l'étude de ses caractéristiques génétiques est puni d'un an d'emprisonnement et de 100 000 F d'amende.

"*Art. 226-27.*- Le fait de rechercher l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques à des fins médicales sans recueillir préalablement son consentement dans les conditions prévues par l'article L. 145-15 du code de la santé publique est puni d'un an d'emprisonnement et de 100 000 F d'amende.

"*Art. 226-28.*- Le fait de rechercher l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques à des fins qui ne seraient ni médicales ni scientifiques ou en dehors d'une mesure d'enquête ou d'instruction diligente lors d'une procédure judiciaire est puni d'un an d'emprisonnement et de 100 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait de divulguer des informations relatives à l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques ou de procéder à l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques sans être titulaire de l'agrément prévu à l'article L. 145-16 du code de la santé publique.

"*Art. 226-29.*- La tentative des infractions prévues aux articles 226-25, 226-26, 226-27 et 226-28 est punie des mêmes peines.

"*Art. 226-30.*- Les personnes morales peuvent être déclarées responsables pénalement, dans les conditions prévues par l'article 121-2, des infractions définies à la présente section.

" Les peines encourues par les personnes morales sont :

1) L'amende, suivant les modalités prévues par l'article 131-38 ;

2) Les peines mentionnées aux 2, 3, 4, 5, 7, 8 et 9 èmes points de l'article 131-39.

"L'interdiction mentionnée au point 2 de l'article 131-39 porte sur l'activité dans l'exercice ou à l'occasion de l'exercice de laquelle l'infraction a été commise."

IV.- Après l'article 226-31 du code pénal, il est inséré un article 226-32 ainsi rédigé :

"*Art. 226-32.*- Les personnes physiques coupables des infractions prévues à l'article 226-28 et de la tentative de ces infractions ayant la qualité d'expert judiciaire encouruent également la radiation de la liste sur laquelle elles sont inscrites."

V. - Dans le dernier alinéa (point 5) de l'article 226-31 du code pénal, les références: ", 226-15 et 226-28" sont substituées à la référence : "et 226-15 ".

**Art. 9.-** I.- Il est inséré, dans le livre V du code pénal, un titre 1er intitulé : "Des infractions en matière de santé publique".

Il est créé, dans ce titre 1er, un chapitre 1er intitulé : "Des infractions en matière d'éthique biomédicale", comprenant quatre sections ainsi rédigées :

#### "SECTION I. - DE LA PROTECTION DE L'ESPECE HUMAINE

*"Art. 511-1.-* Le fait de mettre en oeuvre une pratique eugénique tendant à l'organisation de la sélection des personnes est puni de vingt ans de réclusion criminelle.

#### "SECTION II. - DE LA PROTECTION DU CORPS HUMAIN

*"Art. 511-2.-* Le fait d'obtenir d'une personne l'un de ses organes contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines, le fait d'apporter son entremise pour favoriser l'obtention d'un organe contre le paiement de celui-ci, ou de céder à titre onéreux un tel organe du corps d'autrui.

" Les mêmes peines sont applicables dans le cas où l'organe obtenu dans les conditions prévues au premier alinéa provient d'un pays étranger.

*"Art. 511-3.-* Le fait de prélever un organe sur une personne vivante majeure sans que le consentement de celle-ci ait été recueilli dans les conditions prévues par l'article L. 671-3 du code de la santé publique est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait de prélever un organe sur un donneur vivant mineur ou sur un donneur vivant majeur faisant l'objet d'une mesure de protection légale sans avoir respecté les conditions prévues aux articles L. 671-4 et L. 671-5 du code de la santé publique.

*"Art. 511-4. -* Le fait d'obtenir d'une personne le prélèvement de tissus, de cellules ou de produits de son corps contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, est puni de cinq ans d'emprisonnement et de 500 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait d'apporter son entremise pour favoriser l'obtention de tissus, de cellules ou de produits humains contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, ou de céder à titre onéreux des tissus, des cellules ou des produits du corps d'autrui.

*"Art. 511-5.-* Le fait de prélever un tissu ou des cellules ou de collecter un produit sur une personne vivante majeure sans qu'elle ait exprimé son consentement est puni de cinq ans d'emprisonnement et de 500 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait de prélever un tissu ou des cellules ou de collecter un produit sur une personne vivante mineure ou sur une personne vivante majeure faisant l'objet d'une mesure de protection légale sans avoir respecté les conditions prévues par l'article L. 672-5 du code de la santé publique.

*"Art. 511-6.-* Le fait de recueillir ou de prélever des gamètes sur une personne vivante sans son consentement écrit est puni de cinq ans d'emprisonnement et de 500 000 F d'amende.

*"Art. 511-7.-* Le fait de procéder à des prélèvements d'organes ou des transplantations d'organes, à des prélèvements ou des greffes de tissus, à la conservation ou à la transformation de tissus ou à la greffe de cellules dans un établissement n'ayant pas obtenu l'autorisation prévue par les articles L. 671-12, L. 671-16, L. 672-7, L. 672-10 et L. 672-13 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

*"Art. 511-8.-* Le fait de procéder à la distribution ou à la cession d'organes, de tissus, de cellules et produits humains en vue d'un don sans qu'aient été respectées les règles de sécurité sanitaire exigées en application des dispositions de l'article L. 665-15 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

*"Art. 511-9.-* Le fait d'obtenir des gamètes contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, à l'exception du paiement des prestations assurées par les établissements effectuant la préparation et la conservation de ces gamètes, est puni de cinq ans d'emprisonnement et de 500 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait d'apporter son entremise pour favoriser l'obtention de gamètes contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, ou de remettre à des tiers, à titre onéreux des gamètes provenant de dons.

*"Art. 511-10.-* Le fait de divulguer une information permettant à la fois d'identifier une personne ou un couple qui a fait don de gamètes et le couple qui les a reçus est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

*"Art. 511-11.-* Le fait de recueillir ou de prélever des gamètes sur une personne vivante en vue d'une assistance médicale à la procréation sans procéder aux tests de dépistage des maladies transmissibles exigés en application de l'article L. 665-15 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

*"Art. 511-12.-* Le fait de procéder à une insémination artificielle par sperme frais ou mélange de sperme provenant de dons en violation de l'article L. 673-3 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

*"Art. 511-13.-* Le fait de subordonner le bénéfice d'un don de gamètes à la désignation par le couple receveur d'une personne ayant volontairement accepté de procéder à un tel don en faveur d'un couple tiers en violation de l'article L. 673-7 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

*"Art. 511-14.-* Le fait de procéder à des activités de recueil, de traitement, de conservation et de cession de gamètes provenant de dons sans avoir recueilli l'autorisation prévue à l'article L. 673-5 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

### "SECTION III. - DE LA PROTECTION DE L'EMBRYON HUMAIN

*"Art. 511-15.-* Le fait d'obtenir des embryons humains contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait d'apporter son entremise pour favoriser l'obtention d'embryons humains contre un paiement, quelle qu'en soit la forme, ou de remettre à des tiers, à titre onéreux, des embryons humains.

*"Art. 511-16.-* Le fait d'obtenir des embryons humains sans respecter les conditions prévues aux articles L. 152-4 et L. 152-5 du code de la santé publique est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

*"Art. 511-17.-* Le fait de procéder à la conception in vitro d'embryons humains à des fins industrielles ou commerciales est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

" Est puni des mêmes peines le fait d'utiliser des embryons humains à des fins industrielles ou commerciales.

*"Art. 511-18.-* Le fait de procéder à la conception in vitro d'embryons humains à des fins de recherche ou d'expérimentation est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

*"Art. 511-19.-* Le fait de procéder à une étude ou une expérimentation sur l'embryon en violation des dispositions de l'article L. 152-8 du code de la santé publique est puni de sept ans d'emprisonnement et de 700 000 F d'amende.

*"Art. 511-20.-* Le fait de procéder au diagnostic prénatal sans avoir reçu l'autorisation mentionnée à l'article L. 162-16 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.



"Art. 511-21.- Le fait de méconnaître les dispositions de l'article L. 162-17 du code de la santé publique relatif au diagnostic préimplantatoire est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

"Art. 511-22.- Le fait de procéder à des activités d'assistance médicale à la procréation sans avoir recueilli l'autorisation prévue à l'article L. 184-1 du code de la santé publique est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

"Art. 511-23.- Le fait de divulguer une information nominative permettant d'identifier à la fois le couple qui a renoncé à un embryon et le couple qui l'a accueilli est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

"Art. 511-24.- Le fait de procéder à des activités d'assistance médicale à la procréation à des fins autres que celles définies à l'article L. 152-2 du code de la santé publique est puni de cinq ans d'emprisonnement et de 500 000 F d'amende.

"Art. 511-25.- Le fait de procéder au transfert d'un embryon dans les conditions fixées à l'article L. 152-5 du code de la santé publique sans avoir pris connaissance des résultats des tests de dépistage de maladies infectieuses exigés en application de l'article précité est puni de deux ans d'emprisonnement et de 200 000 F d'amende.

" SECTION IV. - AUTRES DISPOSITIONS ET PEINES COMPLEMENTAIRES  
APPLICABLES AUX PERSONNES PHYSIQUES ET RESPONSABILITE DES PERSONNES  
MORALES

"Art. 511-26. - La tentative des délits prévus par les articles 511-2, 511-3, 511-4, 511-5, 511-6, 511-9 et 511-15 est punie des mêmes peines.

"Art. 511-27.- Les personnes physiques coupables des infractions prévues au présent chapitre encourrent également la peine complémentaire d'interdiction pour une durée de dix ans au plus, d'exercer l'activité professionnelle ou sociale dans l'exercice de laquelle ou à l'occasion de laquelle l'infraction a été commise.

"Art. 511-28.- Les personnes morales peuvent être déclarées responsables pénalement, dans les conditions prévues par l'article 121-2, des infractions définies au présent chapitre. Les peines encourues par les personnes morales sont :

- 1) L'amende, suivant la modalité prévue par l'article 131 -38 ;
- 2) Les peines mentionnées à l'article 131 -39.

"L'interdiction mentionnée au point 2 de l'article 131-39 porte sur l'activité dans l'exercice ou à l'occasion de l'exercice de laquelle l'infraction a été commise."

II.- Il est créé, dans le livre V du code pénal, un titre II intitulé : "Autres dispositions", comprenant un chapitre unique intitulé : "Des sévices graves ou actes de cruauté envers les animaux".

Les articles 511-I et 511-2 du code pénal deviennent respectivement les articles 521-1 et 521-2.

TITRE III

DE LA FILIATION EN CAS DE PROCREATION MEDICALEMENT ASSISTEE

**Art. 10.** - Il est inséré, au chapitre Ier du titre VII du livre Ier du code civil, une section 4 ainsi rédigée :

"SECTION IV. - DE LA PROCREATION MEDICALEMENT ASSISTEE

"Art. 311-19.-En cas de procréation médicalement assistée avec tiers donneur, aucun lien de filiation ne peut être établi entre l'auteur du don et l'enfant issu de la procréation.

"Aucune action en responsabilité ne peut être exercée à l'encontre du donneur.

*"Art. 311-20.- Les époux ou les concubins qui, pour procréer, recourent à une assistance médicale nécessitant l'intervention d'un tiers donneur, doivent préalablement donner, dans des conditions garantissant le secret, leur consentement au juge ou au notaire, qui les informe des conséquences de leur acte au regard de la filiation.*

" Le consentement donné à une procréation médicalement assistée interdit toute action en contestation de filiation ou en réclamation d'état à moins qu'il ne soit soutenu que l'enfant n'est pas issu de la procréation médicalement assistée ou que le consentement a été privé d'effet.

" Le consentement est privé d'effet en cas de décès, de dépôt d'une requête en divorce ou en séparation de corps ou de cessation de la communauté de vie, survenant avant la réalisation de la procréation médicalement assistée. Il est également privé d'effet lorsque l'homme ou la femme le révoque, par écrit et avant la réalisation de la procréation médicalement assistée, auprès du médecin chargé de mettre en oeuvre cette assistance.

" Celui qui, après avoir consenti à l'assistance médicale à la procréation, ne reconnaît pas l'enfant qui en est issu engage sa responsabilité envers la mère et envers l'enfant.

" En outre, est judiciairement déclarée la paternité hors mariage de celui qui, après avoir consenti à l'assistance médicale à la procréation, ne reconnaît pas l'enfant qui en est issu. L'action obéit aux dispositions des articles 340-2 à 340-6."

**Art. 11.-**Les dispositions de la présente loi sont applicables dans les territoires d'outre-mer et dans la collectivité territoriale de Mayotte.

#### Annexe 4

POLE MERE ENFANT

BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION

Pr.BARRIERE- Directeur POLE MERE ENFANT

Dr. M. JEAN - Chef de Service

Tél. : 02 40 08 32 34

**CONSENTEMENT ECRIT A LA DEMANDE D'ASSISTANCE MEDICALE A LA  
PROCREATION**

N° de dossier.....  
Nous soussignés,  
Madame..... Nom de jeune fille.....  
Née le ...../...../..... n° de SS.....  
Monsieur.....  
Né le ...../...../..... n° de SS.....  
Adresse.....  
Code Postal..... Ville.....  
Numéro de téléphone.....

Certifions avoir demandé conjointement de faire l'objet d'une assistance à la procréation dans le cadre d'une demande parentale pour notre couple.....(date de la première consultation) dans le service de *Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction - 7, Quai Moncouso - 44093 NANTES*

Nous confirmons notre demande

I Après un délai de réflexion d'un mois à l'issue du dernier entretien réalisé avec l'équipe pluridisciplinaire du Centre, nous donnons conjointement notre consentement pour bénéficier d'un acte d'Assistance Médicale à la Procréation.

Nous consentons (cocher la case correspondante)

- à l'insémination artificielle
- à l'insémination avec sperme du donneur
- à la Fécondation In Vitro
- à la Fécondation In Vitro avec micro-injection
- à la Fécondation In Vitro avec Tiers Donneur

Nous certifions (cocher la case correspondante).

- être mariés. Nous nous sommes mariés le .....(joindre la photocopie du Livret de Famille)
- vivre en union libre depuis plus de deux ans (joindre preuves et/ou témoignages écrits)

Nous certifions avoir reçu une information sur la réglementation en vigueur, notamment sur la loi n094-654 du 29 juillet 1994 sur l'assistance médicale à la procréation. Nous avons reçu des explications au cours des entretiens avec l'équipe pluridisciplinaire du service de la Biologie de la Reproduction sur les différentes techniques d'AMP ainsi que leurs conséquences, les contraintes, les risques, les pourcentages de réussite. Nous avons aussi été informés sur les différentes possibilités ouvertes par la loi en matière d'adoption.

En cas de dissolution de notre couple, de renoncement à notre projet parental, de décès de l'un d'entre nous, il ne pourra plus être procédé à une assistance médicale à la procréation.

Nous connaissons aussi la faculté de pouvoir révoquer notre consentement avant toute intervention.

Fait à.....Le.....

Signature Madame

Signature Monsieur

HOPIATL DE LA MERE ET DE L'ENFANT  
7, Quai Moncouso - 44093 NANTES Cedex 1

## BIBLIOGRAPHIE

1. <http://cri-cirs-wnts.univ-lyon1.fr/Polycopies/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasculin/texteP.1.html>
2. JP.Dadoune, A. Demoulin. Structure et fonction du testicule. La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Ed.Ellipses INRA, 1991 :p221-250
3. G.Tobelem. anatomie des bourses. Andrologie I G.Arvis. Ed Malouines, 1987 :p15-25
4. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/Tphisto/test01.jpg>
5. P.Colombeau, D.Valleix. anatomie de la prostate. Andrologie II G.Arvis. Ed Malouines, 1989 :p863-872
6. <http://cri-cirs-wnts.univ-lyon1.fr/Polycopies/HistologieFonctionnelleOrganes/Genitalfeminin/texteP.1.html>
7. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/Tphisto/ova01.jpg>
8. S.Hamamah, E.Saliba, M.Benhamed, F.Gold. médecine et biologie de la reproduction. Ed Masson, Paris, 1999 :p87-91
9. E.Baret-Thibault. Interet du dosage de l'hormone anti-mullerienne dans l'exploration des biopsies testiculaires, revue de la litterature et mise au point technique. Thèse, Nantes, 2001 :p81
10. A.Tengleton, C.Fraser, B.Thompson. The epidemiology of infertility in Aberdeen. BMJ 1990:p148-152
11. <http://pro.gyneweb.fr/Sources/congres/jta/98/tt%20infert/TESARIK.html>
12. J.Tesarik, la fécondation humaine sans spermatozoïdes. La Recherche, 1997 :N<sup>o</sup>-295(février) :p78-83
13. AM.Mastumoto. Spermatogenesis-In : Reproductive endocrinology, surgery and technology. Ey.Adaski, JA.Rock and Z.Rosenwaks(eds). Lippinurt Roven, Philadelphia, 1996, 1:p360-384
14. AM.Matsumo, WJ.Bremner. Endocrine control of human spermatogenesis, 1989:p789-790
15. M.Tournaire. Physiologie de la reproduction humaine, Ed Masson, Paris, 1985
16. S.Hamamah, E.Saliba, M.Benhamed, F.Gold. médecine et biologie de la reproduction. Ed Masson, Paris, 1999 :p245-247
17. P.Barrière, ML.Couet, S.Hamanah, J.Lansac, D.Le Lannou, D.Royère. Pratique de l'assistance médicale à la procréation. Ed Masson, 1998 :p11

- 18.D.Scharwz. L'approche épidémiologique en fertilité humaine. IM :SFEF Recherches récentes sur l'épidémiologie de l'infertilité. Ed Masson, Paris, 1986
- 19.JF.Guerin, S.De Mouzon. Age de l'homme et fertilité. Contracept Fertility Sex, 1997,25 :p515-518
- 20.D.Scharz, PDM.Mac Donald, V.Heuchel. Fecondability, coïtal frequency and the viability of the ova. Population Studies, 1980,34:p397-400
- 21.MT.Zenzes, P.Wang, RF.Casper. Cigarettes smoking may affect meiotic maturation of human ovocytes. Hum Reprod 1995, 10:p3213-3217
- 22.[http://www.chu-toulouse.fr/fiv\\_lg/HTM/p.3.htm](http://www.chu-toulouse.fr/fiv_lg/HTM/p.3.htm)
- 23.P.Thonneau, S.Marchand, A.Tallec, ML.Ferial, B.Ducot, J.Lansac, P.Lopes, JM.Tabaste, A.Spina. Incidence and Main Causes of infertility in a resident population (1850000) of three French Regions (1988-1989). Hum Reprod, 1991,6:p811-816
- 24.<http://www.inserm.fr/servcom/servcon.nsf>
- 25.P.Barrière, ML.Couet, S.Hamanah, J.Lansac, D.Le Lannou, D.Royère. Pratique de l'assistance médicale à la procréation. Ed Masson, 1998 :p17-42
- 26.P.Thonneau. Female and male infertility risk factors: result of a case control study. Human Reprod, 1992,7:p55-58
- 27.M.Auroux. Infection urogénitale et fertilité masculine. J.Gynecol. Obstet. Biol. Reprod, 1988:p869-875
- 28.P.Barrière, ML.Couet, S.Hamanah, J.Lansac, D.Le Lannou, D.Royère. Pratique de l'assistance médicale à la procréation. Ed Masson, 1998 :p30-32
- 29.P.Barrière, ML.Couet, S.Hamanah, J.Lansac, D.Le Lannou, D.Royère. Pratique de l'assistance médicale à la procréation. Ed Masson, 1998 :p34-40
- 30.<http://www.ulpmen.u-strasbrg.fr/medecine/enseignement-reforme/pdf-conception-naissance/assistance-medecale-procreation.pdf>
- 31.[http://www.genethique.org/carrefour\\_infos/textes\\_officiels/titres\\_textes/textes/dnp-6.htm](http://www.genethique.org/carrefour_infos/textes_officiels/titres_textes/textes/dnp-6.htm)
- 32.S.Hamamah, E.Saliba, M.Benhamed, F.Gold. médecine et biologie de la reproduction. Ed Masson, Paris, 1999 :p60-68
- 33.<http://perso.wanadoo.fr/fivnat/gpcomplication.htm>
- 34.[http://matweb.hcuge.ch/FIV\\_atlas/fiv\\_icsi.htm](http://matweb.hcuge.ch/FIV_atlas/fiv_icsi.htm)
- 35.Aboulghar, Serour, Fahmy, Kamal, Tawab, Amin. Fertilization and pregnancy rates after ICSI using ejaculate semen and surgically retrieved sperm.

36.Habermann, Seo, Cieslak, Niederberger, Prins, Ross. In vitro fertilization outcomes after ICSI fresh or frozen thawed testicular spermatozoa.

37.Kuczynski, Grygoruk, Grochowski, Wolczynski, Szamatowicz. The outcomes of intracytoplasmic injection of fresh or cryopreserved ejaculated spermatozoa.

38.Bonduelle, Camus, De Vos, Staessen, Tournay, Van Assche, Verheyen, Devroey, Liebaers, Van Steirteghem. Seven years of intracytoplasmic sperm injection and follow-up of 1987 subsequent children. Hum Reprod 1999; 14: 243-264.

Vu, Le Président du Jury

Vu, Le Directeur de Thèse

Vu, Le Directeur de L'U.E.R

**Nom Prénoms :** LEVEQUE Stéphanie Elisabeth Véronique

**Titre de la thèse :** Etude comparative des résultats de l'ICSI au CHU de Nantes selon l'origine des spermatozoïdes

---

**Résumé de la Thèse :**

Avec l'apparition en 1992 de la technique de microinjection du spermatozoïde dans l'ovocyte (ICSI), la prise en charge de l'infertilité masculine a connu une véritable révolution. Pour évaluer les taux de succès de cette méthode en fonction de l'origine de l'infertilité, une étude rétrospective a été menée sur 2735 tentatives d'ICSI réalisées au CHU de Nantes. Les résultats font apparaître une diminution des taux de fécondation lorsque les spermatozoïdes pris en charge sont issus d'un prélèvement testiculaire. La cryopréservation des gamètes semble également diminuer les chances de succès. Cependant, l'ICSI offre désormais à des hommes jadis considérés comme stériles, la possibilité de devenir pères.

---

**MOTS CLES :** ICSI, FIV, spermatozoïdes, physiologie de la reproduction, infertilité.

---

**JURY**

**PRESIDENT :**

M<sup>r</sup> PETIT YVES, Professeur de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, Nantes

**ASSESEURS :**

M<sup>r</sup> JEAN Miguel, Maître de Conférences de biologie du développement, Hôpital de la mère et de l'enfant, Nantes  
M<sup>me</sup> THIBAUT Emmanuelle, Assistante Hospitalo-Universitaire, Hôpital de la mère et de l'enfant, Nantes

---

**Adresse de l'auteur:** Poulbleye, 56400 Ploemel