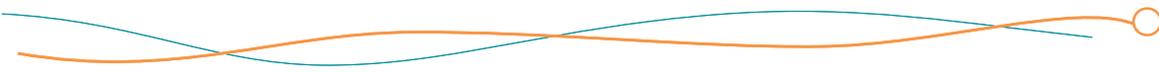


Généralités sur la PMA



Jean-François Guérin

Professeur émérite à la
faculté de médecine Lyon Est

Historique

Les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP)
se sont développées en France
au début des années 70, avec la constitution des CECOS
(centres d'étude et de conservation du sperme)
à l'initiative du Pr G David (1^{er} CECOS / 1973;
réalisation des inséminations avec sperme de donneur)

Dans la décennie suivante sont apparues :
les inséminations artificielles avec sperme du conjoint (IAC)
La fécondation in vitro (1^{ère} naissance en 1978 à Cambridge)
La congélation embryonnaire (1^{ère} naissance en 1984)
L'ICSI (1^{ère} naissance en 1992)
La vitrification des embryons et des ovocytes
(début des années 2000)

Remarque : toutes ces techniques sont de nature palliative;
Elles ne constituent pas une thérapie de l'infertilité

L'assistance médicale à la procréation (AMP)

- est définie clairement dans la loi dite de « bioéthique » du 29 juillet 1994 , révisée en 2004, puis en 2011, enfin le 2 août 2021
- concerne les pratiques :
 - d'insémination artificielle
 - de fécondation *in vitro*, y compris les techniques dérivées (congélation embryonnaire, ICSI, ...).
 - d'autoconservation des gamètes et tissus germinaux depuis 2004

est le plus souvent réalisée avec les gamètes du couple, mais peut faire intervenir un don de gamètes (spermatozoïdes ou ovocytes), ou d'embryons, dont peuvent maintenant bénéficier les couples de femmes et les femmes seules

Assistance Médicale à la Procréation (AMP / PMA)

- Manipulation de gamètes et d'embryons au laboratoire
- IAC : Insémination Artificielle avec Sperme de Conjoint (ou IUI : insémination intra-utérine)
- IAD : Insémination Artificielle avec sperme de Donneur congelé
- FIV : Fécondation In Vitro
 - Avec gamètes de conjoint
 - Avec gamète de donneur/donneuse
 - Avec microinjection d'un spz dans l'ovocyte (ICSI)
 - Avec congélation des embryons non transférés, suivi d'un transfert ultérieur (TEC)

Notion d'épidémiologie

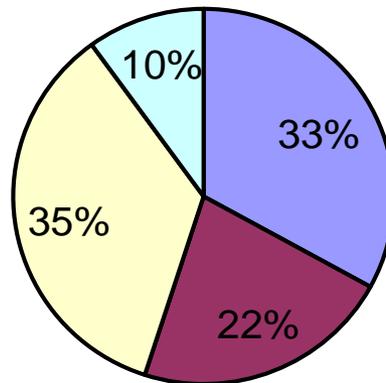
Un couple sur sept (~14%) consulte en France pour un problème d'infertilité.

Environ 60 000 nouveaux couples par an sont concernés

Ces chiffres sont en augmentation depuis l'an 2000

Origines de l'infertilité (données INSERM)

Remarque : le % des indications masculines tend à augmenter



- Origine féminine
- Origine masculine
- Origine mixte
- infertilité inexplicée

Situations schématiques :

1°) Troubles mineurs masculins et/ou féminins

- troubles mineurs de l'ovulation +/- test post coïtal médiocre
- altérations peu sévères du sperme



Insémination artificielle intra-utérine

Condition requise : trompes saines

2°) Indication principalement féminine

- problèmes tubaires
- endométriose, troubles de l'ovulation,...



Fécondation *in vitro* (FIV)

Condition requise : Caractéristiques du sperme

normales ou peu altérées

3°) Indication principalement masculine (+/- problèmes féminins) :

ICSI (*intra cytoplasmic sperm injection*) : fécondation in vitro « assistée » : ponction ovocytaire, puis micro-injection d'un spermatozoïde dans l'ovocyte

4°) Azoospermie (absence de spermatozoïdes dans le sperme)

→ **ICSI avec ponction chirurgicale des spermatozoïdes dans les testicules**

→ **AMP avec sperme de donneur**

5°) Ovaires non fonctionnels (d'origine génétique, ou IOP insuffisance ovarienne prématurée) :

FIV avec don d'ovocytes

6°) Double stérilité: Accueil d'embryons ou double don de gamètes (autorisé depuis 2021)

Quelques Données chiffrées (Agence de la biomédecine 2019)

- 44000 inséminations artificielles
- 62000 tentatives de FIV+ ICSI (dont 3,5% avec don de gamètes)
- 44000 transferts d'embryons congelés (TEC)

→ 27000 enfants nés (>3% des naissances)
(dont 1300 avec don de gamètes)

Remarques : le taux d'accouchements par tentative de FIV / ICSI stagne depuis plusieurs années autour de 20%
Cependant : le % de grossesses / TEC augmente (21%)
ce qui augmente les chances par tentative pour un couple

PRINCIPES DE TRAITEMENT EN AMP

- IAC : accompagner le cycle naturel (stimulation monofolliculaire : doses faibles de FSH)
- FIV / ICSI : produire une ovulation supraphysiologique en synchronisant une cohorte de follicules antraux (stimulation pluri-folliculaire : doses fortes de FSH)

L'insémination artificielle

Les inséminations intra-cervicales n'ont presque plus d'indication réelle

La plupart des IA sont intra-utérines (IIU)

Les indications

- Hypofertilité masculine modérée
 - inséminer plus de 1 M de spz mobiles progressifs
 - cas particulier du don de sperme
- Infertilités inexplicées (après échec de stimulations simples et un long passé d'infécondité)
- **Infertilités cervicales (glaires cervicales imperméables)**
- Dysovulations (après échec des stimulations)

Nécessitent : Trompes perméables

Pathologie spermatique peu sévère

Nombre d'inséminations à limiter si échecs répétés (6 au maximum)

Les avantages de l'IIU

- simple, indolore, peu coûteuse, ne nécessitant pas d'hospitalisation
- Pas d'hyperstimulation ovarienne
- Pouvant être répétée d'un cycle à l'autre

Mais

- Pas de preuve de fécondance ...
sauf si grossesse



La préparation des Spermatozoïdes : migration sur gradient de densité

Déposer 2 ml sperme sur le gradient

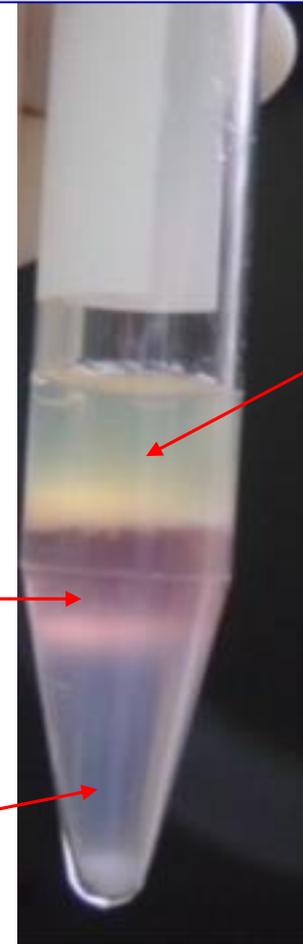


Centrifuger 20 minutes à 300g



Phase 45 %
Anneau de
débris cellulaires

Phase 90 %
Concentre les spz
les plus féconds



Liquide
séminal

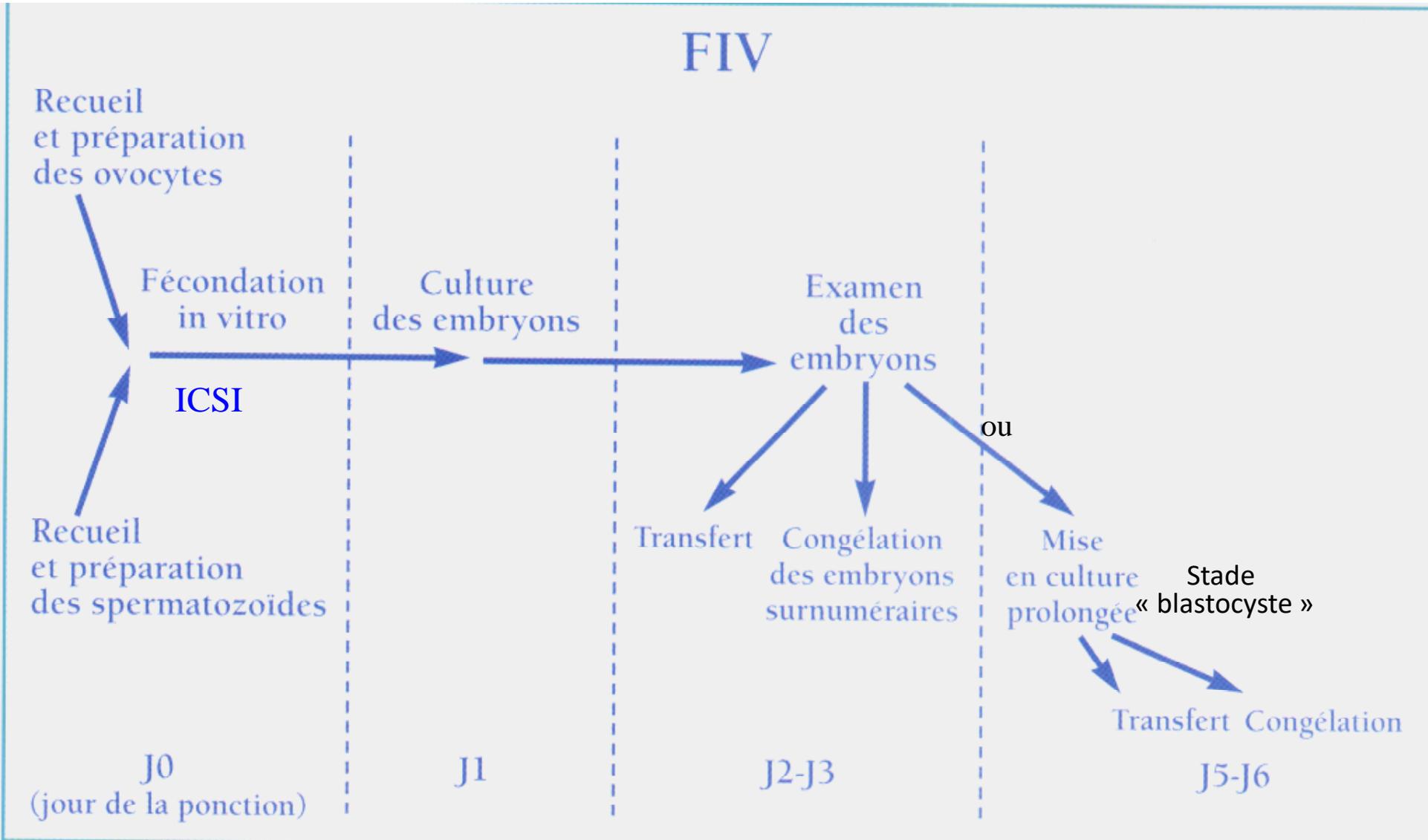
Les résultats de l'IU

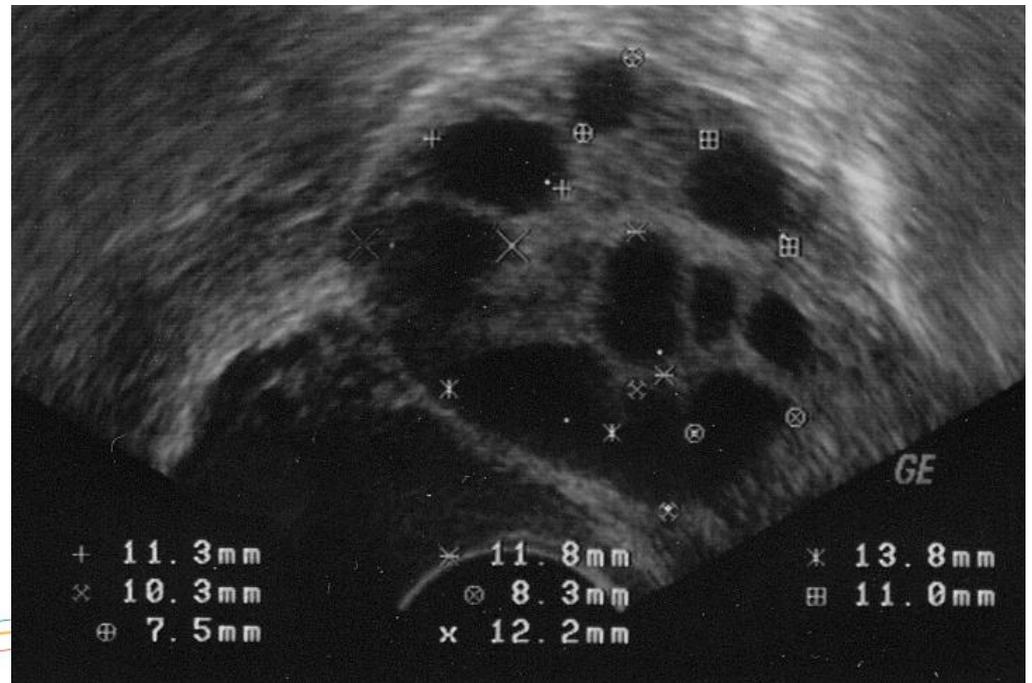
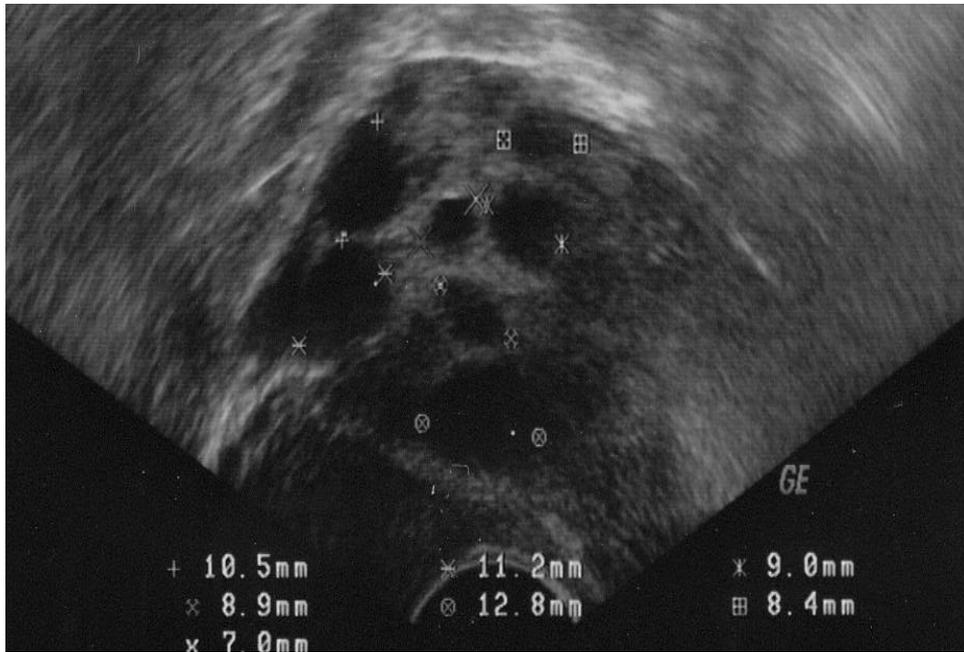
- Varient en fonction
 - De l'âge de la femme +++
 - De la qualité initiale du sperme et du nombre de spz mobiles inséminés +++
 - des indications
 - de la stimulation ovarienne associée
- De 7 à 15% de grossesses cliniques par cycle (10,8% en 2019)
- Environ 45% des couples obtiennent une grossesse dans les 6 cycles

LA FECONDATION IN VITRO

- Consiste à mettre en contact les gamètes, assurer la fécondation et les premiers jours de développement embryonnaire *in vitro* avant de placer les embryons dans la cavité utérine
- Les gamètes doivent être matures
 - Ovocyte mature (en Métaphase II)
 - » Stimulation ovarienne
 - » Déclenchement de l'ovulation
 - Spermatozoïdes capables de faire la réaction acrosomique
 - » Capacitation préalable

Schéma du déroulement d'une tentative de FIV/ ICSI





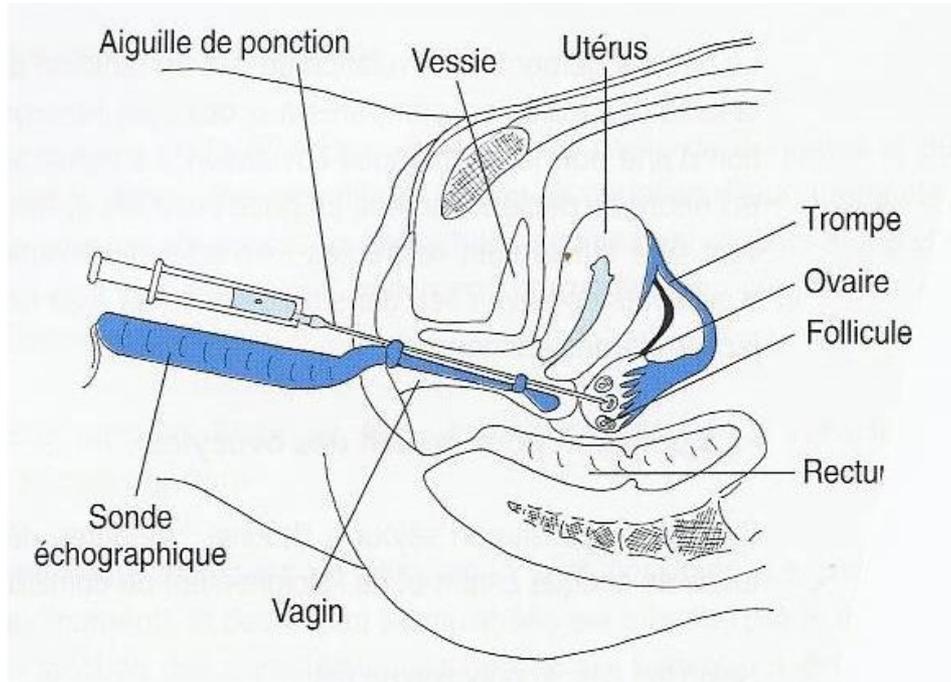
Stimulation pluri-folliculaire:
 Risque d'hyperstimulation
 (majoré dans le syndrome
des ovaires micro-
polykystiques)

JO

La ponction

L'examen des liquides folliculaires

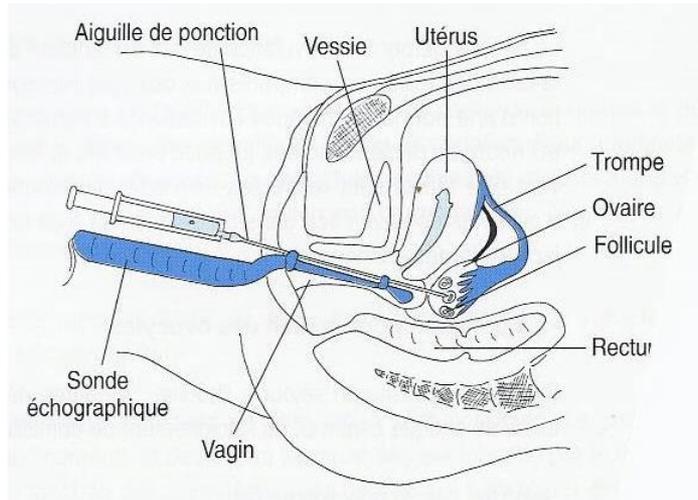
Le recueil des ovocytes



Hotte à flux laminaire
Loupe binoculaire
Platine chauffante
37° air et 5% CO₂



Les étapes biologiques de la FIV



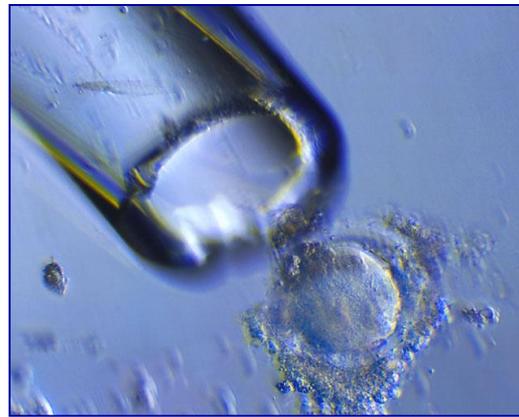
1. Ponction folliculaire sous contrôle Échographique (J0)



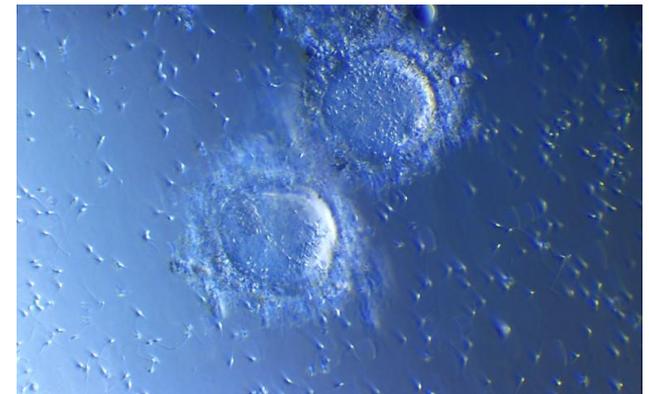
2. Repérage des complexes cumulo-ovocytaires à la loupe binoculaire (J0)



5. Stade « 2 pronuclei » :
1^{er} signe de fécondation



4. Etape de décoronisation à la pipette (J1)



3. Étape d'insémination (100 000 spz Mobiles /ml) (J0)

J0 La mise en culture des ovocytes

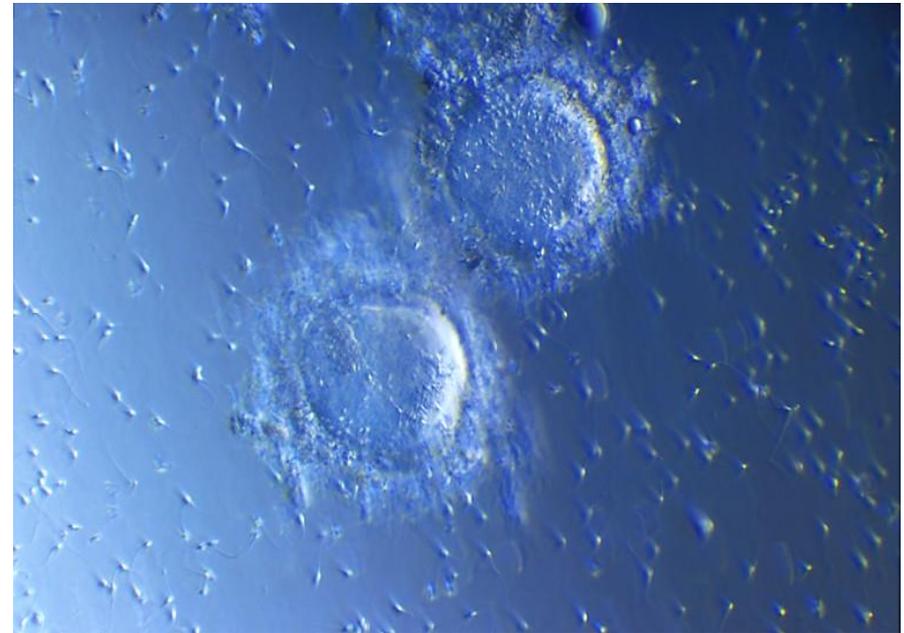
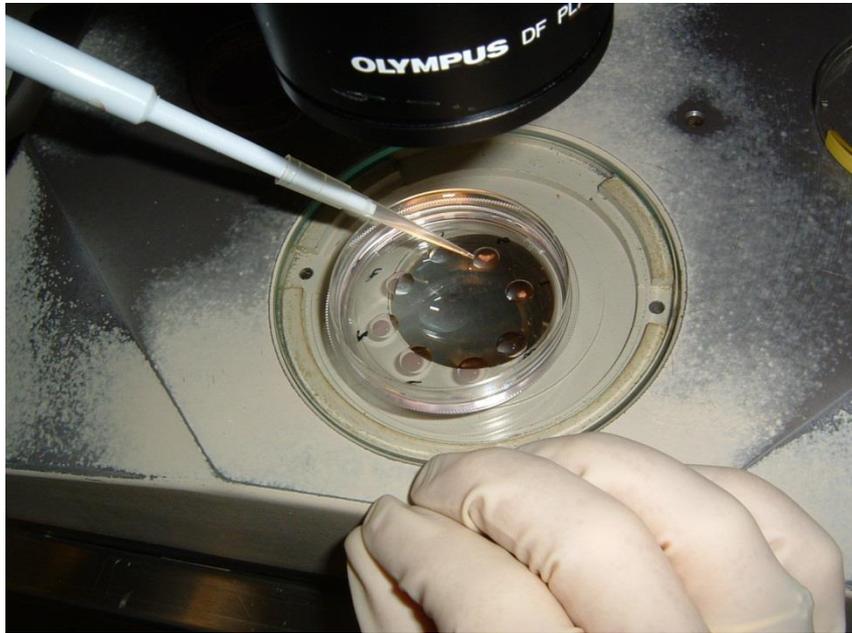
- Culture isolée en micro gouttes \Rightarrow suivi ovocyte par ovocyte
- Culture « groupée »
- sous huile \Rightarrow effet protecteur
- incubation à 37°C sous air + CO2 5% + atmosphère humide



JO

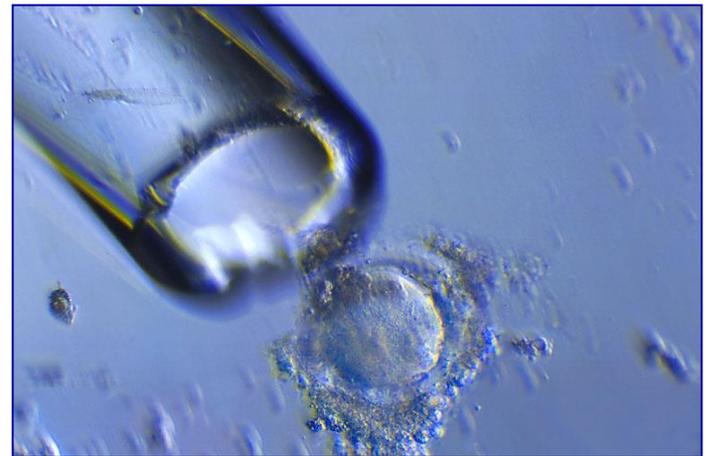
Insémination des milieux contenant les ovocytes

Concentration finale d'environ 100 000 spz mobiles/ml



J1 La décoronisation

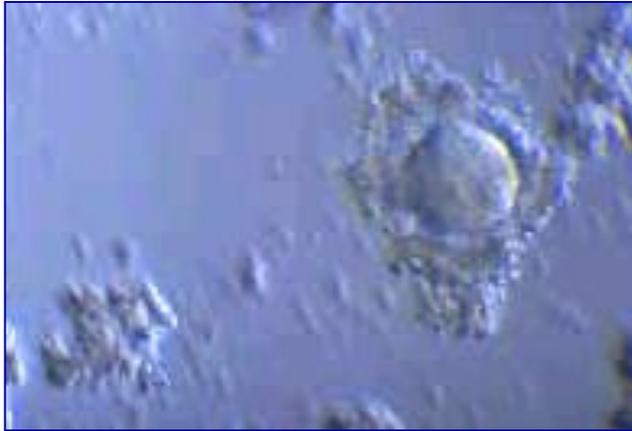
18 à 20h après insémination
des milieux



La décoronisation, initiée par les spermatozoïdes, est complétée par une action mécanique

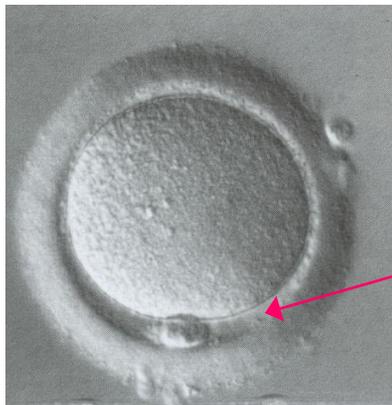
J1 Observation des ovocytes

Qualité de la décoronisation? Signes de fécondation

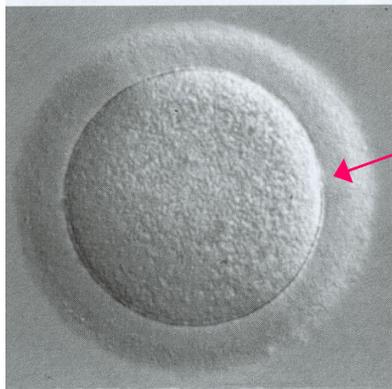


Maturité nucléaire de l'ovocyte

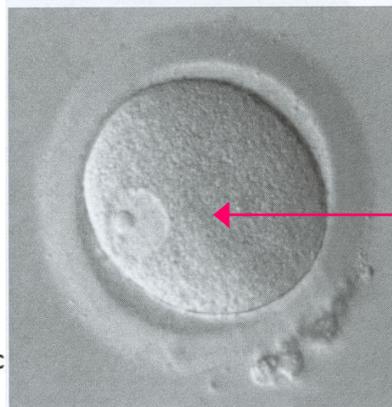




1 GP



0 GP

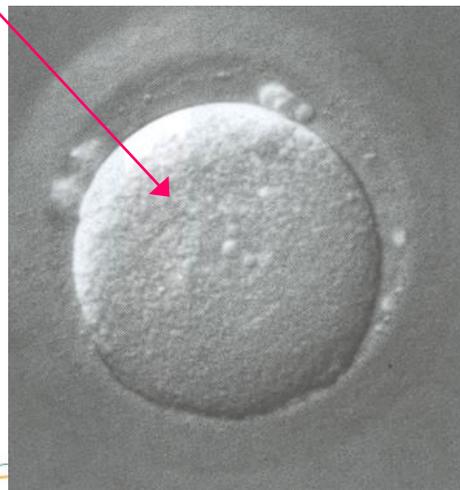


VG

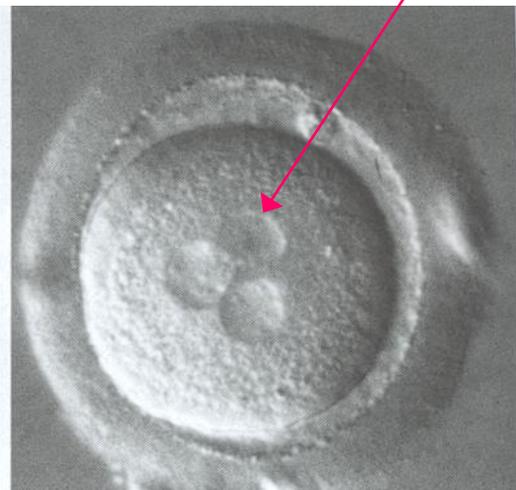


**2 GP
2 PN**

**3 GP
1 PN**



3 PN



Fac



**42 à 48 h après insémination,
40% des embryons sont à 4 cellules**



Le rythme des divisions est corrélé au taux d'implantation

EMBRYONS TYPIQUES



EMBRYONS ATYPIQUES





Blastomère bi-nucléé

Embryon porteur d'anomalies multiples

La culture prolongée pour un transfert au stade **blastocyste (la plus répandue)**

Milieus séquentiels ou uniques
Meilleure sélection des embryons à transférer et à congeler
Intérêt : meilleures chances d'implantation
Limites : adéquation des milieux utilisés

J4 Morulae



Morula en cours de compaction



J5

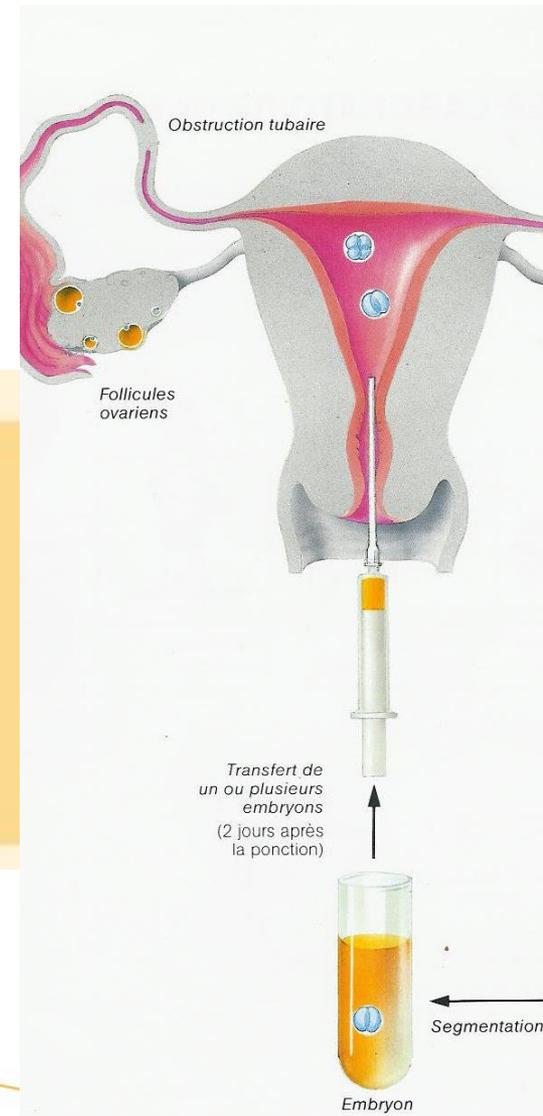
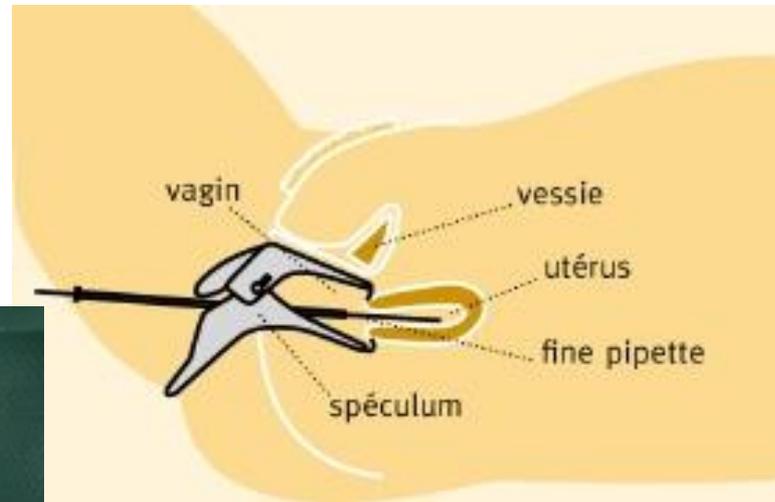


Blastocyste

Le transfert embryonnaire

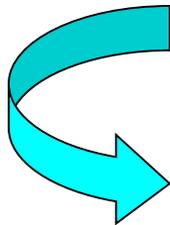
La stratégie de transfert

- Age de la femme
- Antécédents gynéco-obstétricaux
- Cohorte ovocytaire
- Taux de fécondation
- Qualité embryonnaire
- Qualité du transfert



Facteurs de succès

- **Age de la femme +++**
- Grossesse antérieure
- Indication de la FIV : Spermie de donneur, tubaire pure... : bon pronostic
- Qualité de la réponse ovarienne (facteurs prédictifs : FSH et AMH plasmatiques, échographie ovarienne en début de cycle)
- Morphologie et stade de développement des embryons ++
- **Nombre d'embryons transférés++ mais il faut éviter les grossesses multiples**



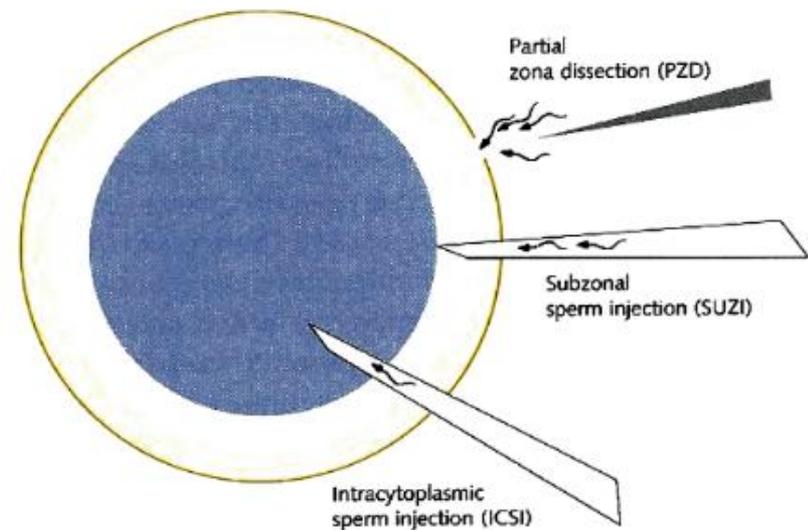
Stratégie de transfert embryonnaire

Les limites de la fécondation invitro

- Atteintes spermatiques sévères
- Échecs de fécondation inexplicés à sperme normal : environ 5%

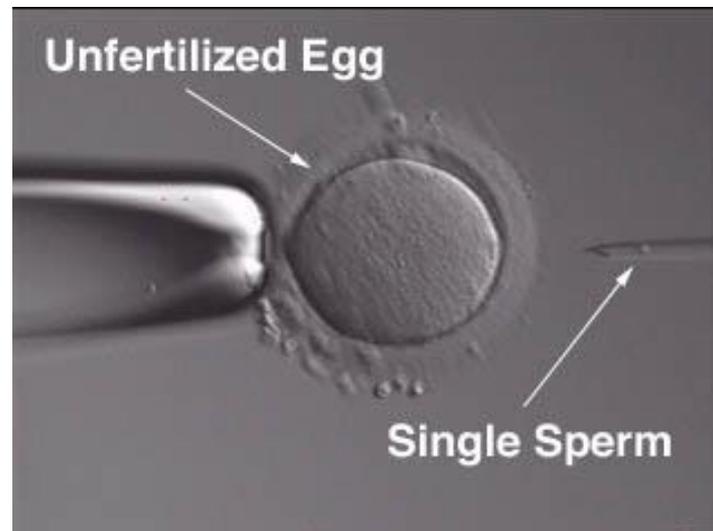
Évolution nécessaire des techniques

Efficacité / Innocuité



L'ICSI ou Intracytoplasmic sperm injection

« The revolution in male infertility »
Palermo, 92

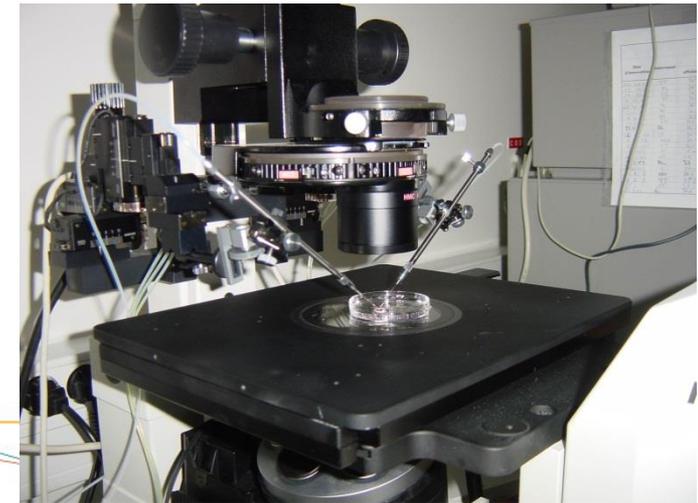
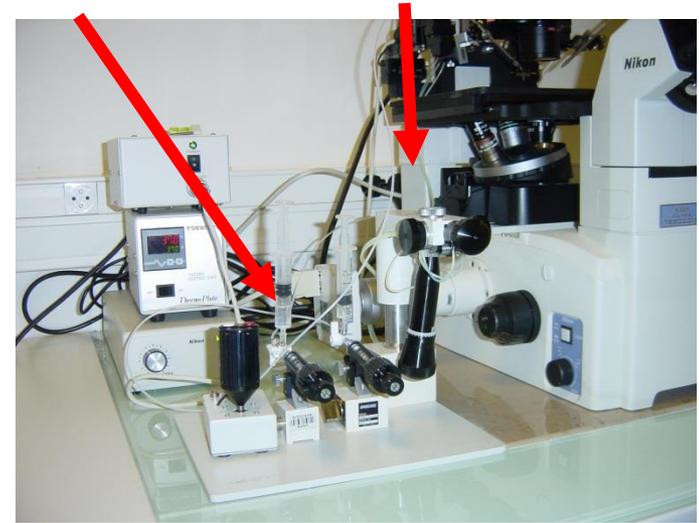


Le poste de travail de l'ICSI

Microscope à lumière inversée
avec contraste de phase
et platine chauffante
et micro-manipulation

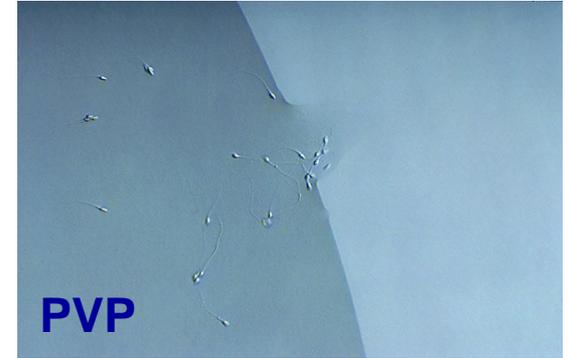
Micro-injecteurs

Micro-manipulateurs

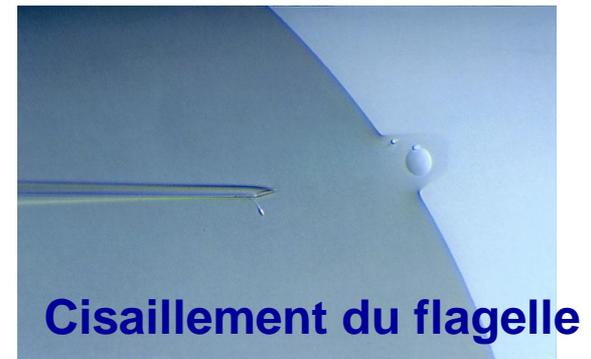


Le spermatozoïde et sa pipette

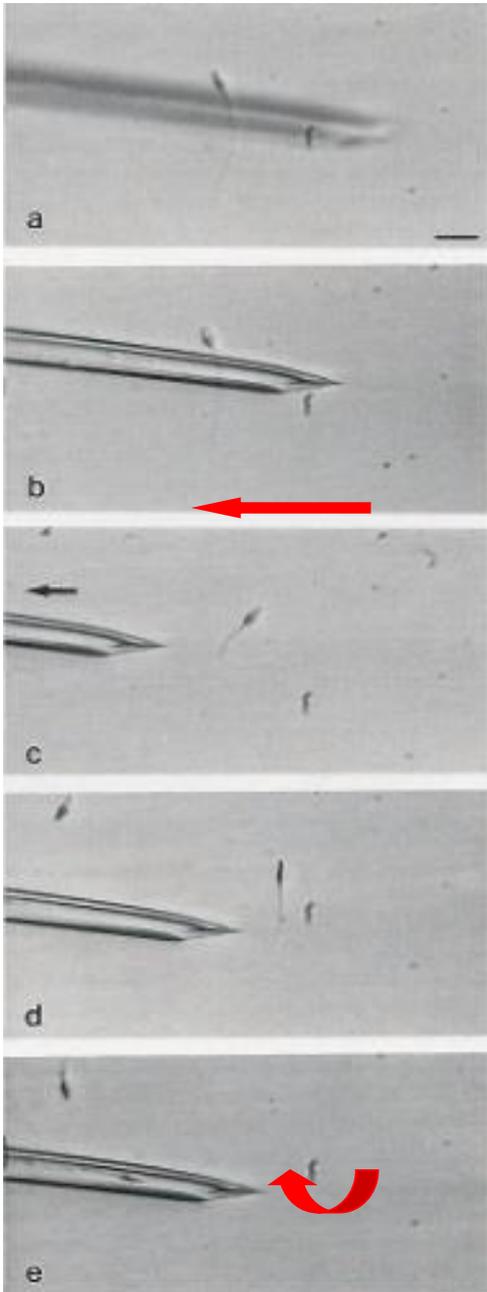
Au bord de goutte :
choix d'un spz mobile



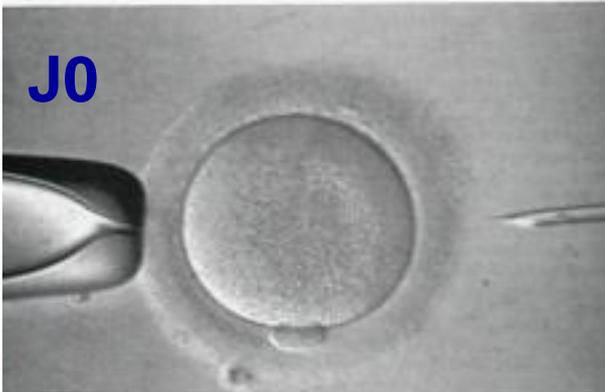
Cisaillement du flagelle
Angulation du flagelle



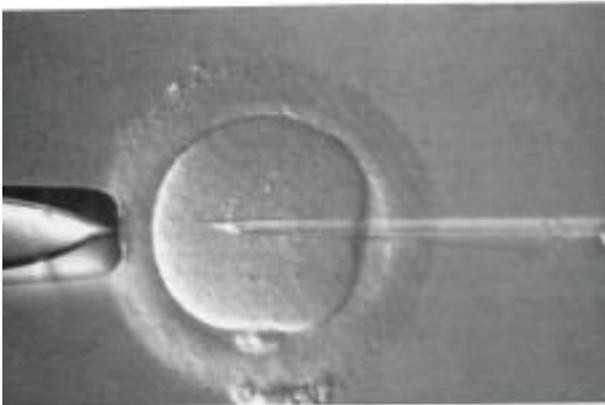
Aspiration tête dernière



La technique d'ICSI

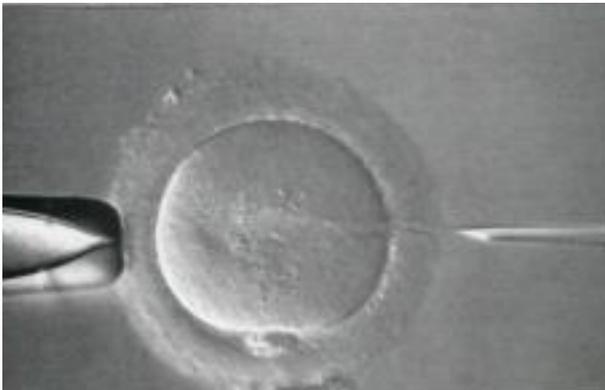


Tête spermatique placée à l'extrémité du biseau de la pipette



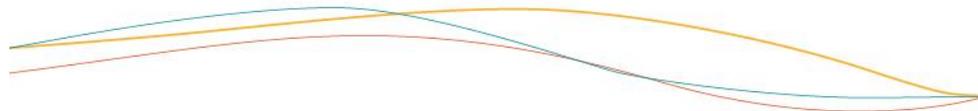
Pénétration à travers les membranes de l'ovocyte

Aspiration vive du cytoplasme jusqu'à rupture de la membrane plasmique



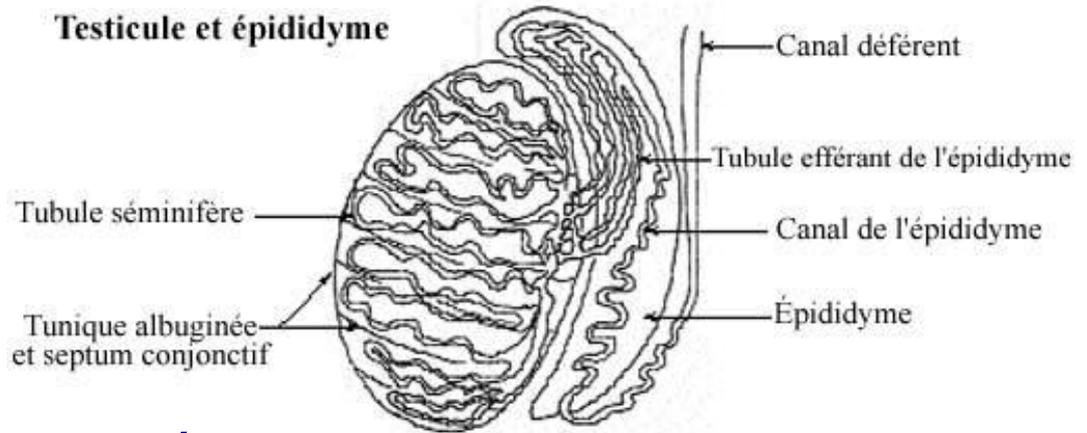
Injection douce et maîtrisée du cytoplasme et de la tête du spz

Retrait de la pipette



**En cas d'azoospermie :
il est parfois possible de
ponctionner
des spz chirurgicalement**

Testicule et épididyme



Ponction épидидymaire avec
examen biologique en extemporané



Biopsie testiculaire, multiple ou large
(TESE)



Les indications de l'ICSI (1)

Atteintes spermatiques de plus en plus sévères

- . OAT sévères < 500.000 spz mobiles sélectionnés, tératospermies céphaliques+++
- . OAT extrême voire cryptozoospermie : spz éjaculés (2)
- . Azoospermie obstructive : spz épидидymaires (Agénésie bilatérale canaux déférents ou obstruction acquise) ou testiculaires
- . Azoospermie non obstructive : spz testiculaires

Dyskinésie flagellaire (ex : syndrome des cils immobiles)

ACAS (> 80% IgG fixés sur la tête spermatique)

Nécrospermie totale : mauvais résultats : indication de TESE



Les indications de l'ICSI (2)

Infertilité inexplicée ou à sperme modérément altéré

5% d'échecs de FIV à sperme « normal »

Responsabilité ovocytaire ou spermatique ?

Emergence d'indications féminines (1997): *contesté par certains auteurs*

-Age féminin élevé

-Petites cohortes ovocytaires

-Echecs de fécondation ou pauci fécondations antérieures

L'AMP avec don de gamètes

- Les techniques sont les mêmes que celles déjà décrites pour les couples hétérosexuels
 - Don de spz : inséminations (IAD : 20% de succès / cycle); puis FIV / ICSI si échecs des IAD
 - Don d'ovocytes : ICSI : 21% de succès / cycle
 - Don d'embryons : 24% de succès / TEC

Les techniques de congélation embryonnaire

- Jusque dans les années 2000 : congélation dite « lente » : $0,3^{\circ} / \text{min}$
- Depuis une quinzaine d'années : affinement de la technique de congélation ultra-rapide ou vitrification
 - Principe : adjonction d'une concentration très élevée de cryoprotecteur → plongée dans l'azote liquide
 - → Amélioration des taux de survie et donc de grossesse, surtout pour les blastocystes
 - → A permis de développer la cryoconservation ovocytaire

Nouveautés apportées par la nouvelle loi de bioéthique (2 août 2021)

- Extension de l'AMP aux couples de femmes et aux femmes seules
- Levée de l'anonymat des donneurs et donneuses de gamètes
- Autorisation de la cryopréservation « sociétale » des ovocytes
- **Restent interdites :**
 - la GPA
 - l'AMP post mortem

Conclusions

- Les techniques de PMA ont été en activité croissante constante ces 30 dernières années; on assiste actuellement à une stabilisation
- Elles sont responsables de plus de 3% des naissances, le taux de succès par tentative de FIV/ICSI ne dépasse guère 20% en transfert « frais », mais les taux de succès après TEC sont en augmentation constante
- On ne les propose qu'au bout d'une année de rapports sexuels non protégés, et après échec des tentatives de traitements appropriés de l'infertilité (ex: traitements hormonaux de stimulation de l'ovulation; embolisation d'un varicocèle)
- L'extension de l'AMP aux couples de femmes et aux femmes seules pose des problèmes aux CECOS : allongement de la liste d'attente, nombre de donneurs insuffisants, etc