

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 IIU : 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

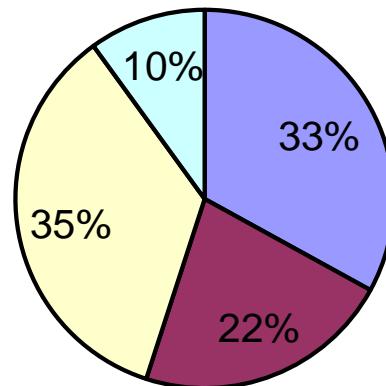
Un couple sur sept (~14%) consulte en France pour un problème d'infertilité.

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 inexpliquée



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 prématuée) :

FIV avec don d'ovocytes

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

L'activité AMP en France en 2023 (Données de l'Agence de la biomédecine)

- 46653 cycles d' inséminations artificielles (dont 23,2% avec don de spz) : 5790 enfants nés (12,4% / cycle)
- 62403 tentatives de FIV+ ICSI (dont 8,6% avec don de gamètes) : 8445 enfants nés (13,5% /cycle)
- 55230 transferts d'embryons congelés (TEC) 13133 enfants nés (23,8% / cycle)

→ 27389 enfants nés (4% des naissances)
(dont 3342 avec don de gamètes)

Remarques : le taux d'accouchements par tentative de FIV / ICSI stagne depuis plusieurs années

Cependant : le % de grossesses / TEC augmente régulièrement(23,8%)
ce qui augmente les chances par tentative pour un couple

Le % d'enfants nés par don de gamètes augmente (conséquence de l'accès à l'AMP
aux femmes seules ou en 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 inexplicquées (après échec de stimulations simples et un long passé d'infécondité)
- Infertilités cervicales (glaire cervicale imperméable)
- 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

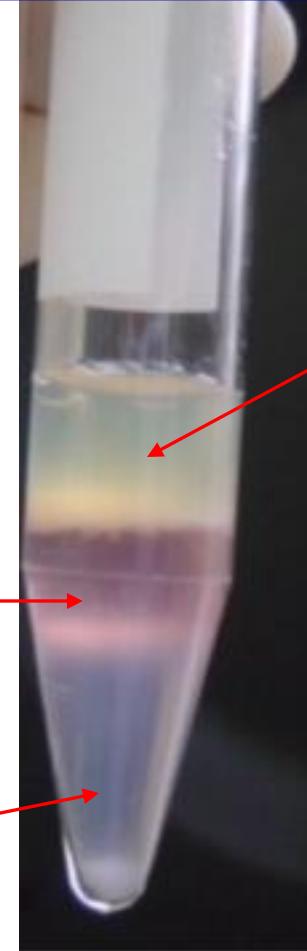


Centrifuger 20 minutes à 300g



Phase 45 %
Anneau de débris cellulaires

Phase 90 %
Concentre les spz les plus fécondants



Les résultats de l'IIU

- 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
- 12,4% de naissances 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

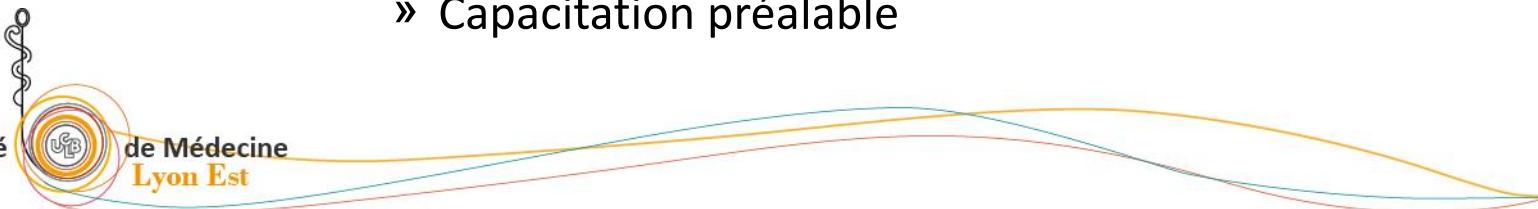
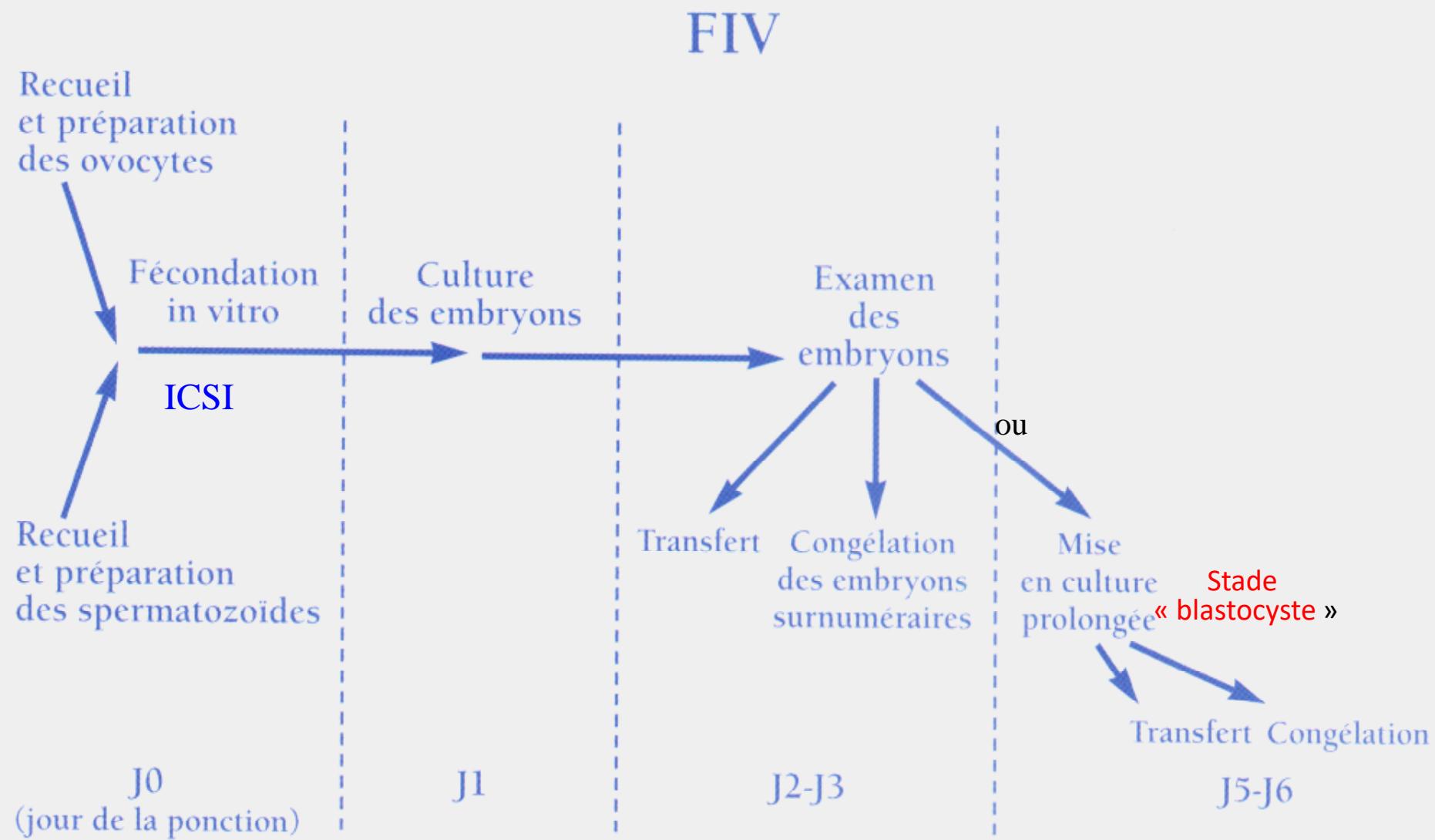
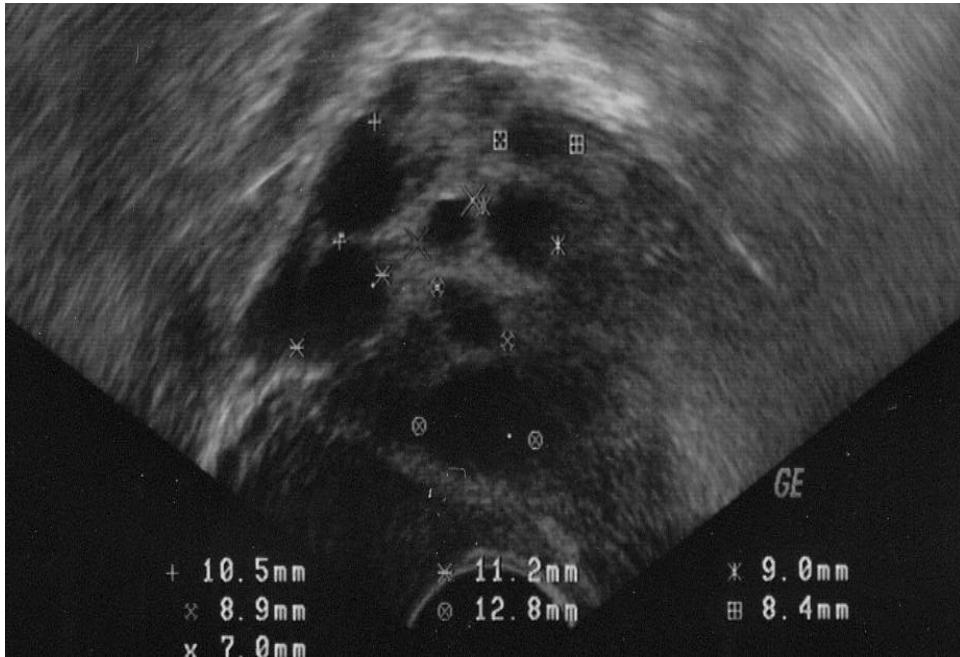
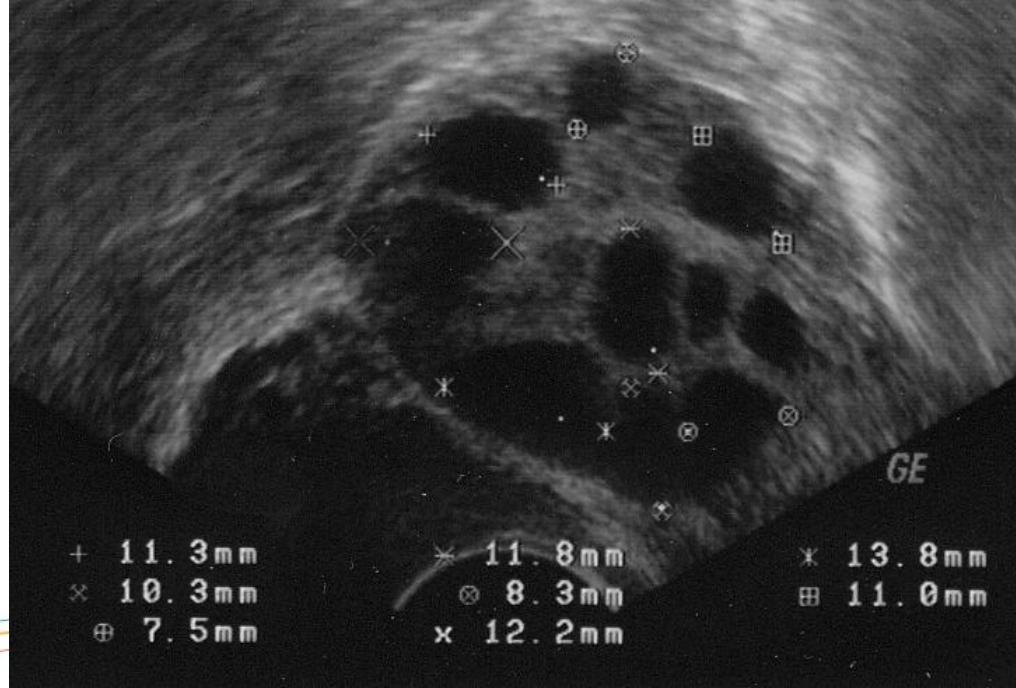


Schéma du déroulement d'une tentative de FIV/ ICSI



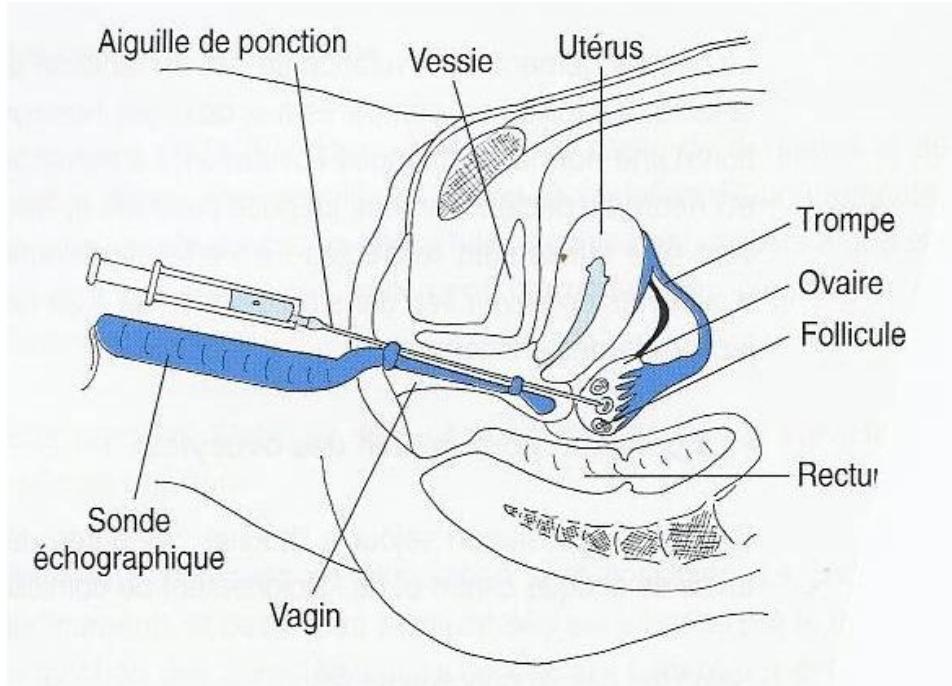


Stimulation pluri-folliculaire:
Risque d'hyperstimulation
(majoré dans le syndrome
des ovaires micro-
polykystiques)



J0

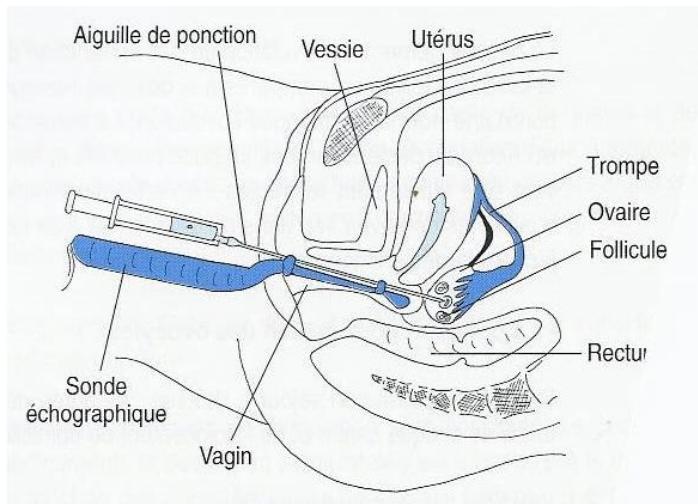
La ponction L'examen des liquides folliculaires Le recueil des ovocytes



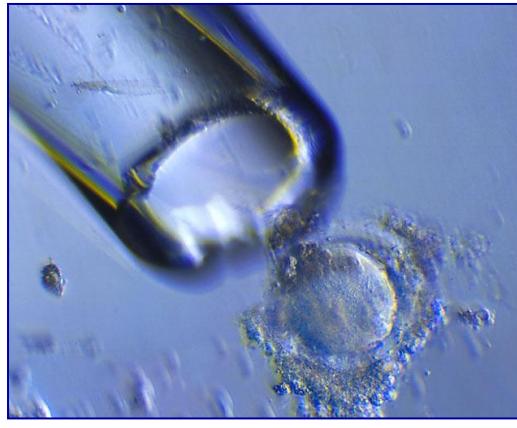
**Hotte à flux laminaire
Loupe binoculaire
Platine chauffante
37° air et 5% CO₂**



Les étapes biologiques de la FIV



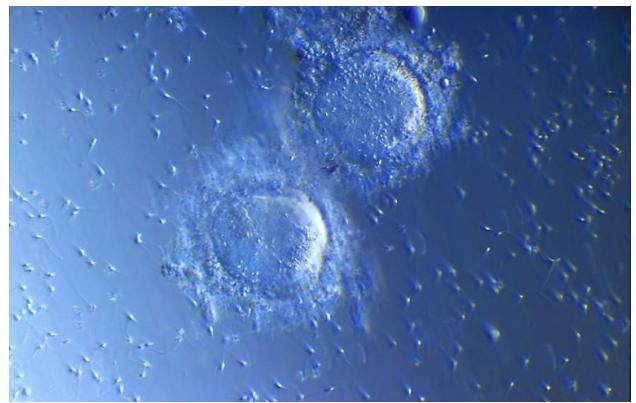
1. Ponction folliculaire sous contrôle
Échographique (J0)



5. Stade « 2 pronucléi »:
1° signe de fécondation
Faculté de Médecine
Lyon Est



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



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

4. Etape de décoronation à
la pipette (J1)

J0 La mise en culture des ovocytes

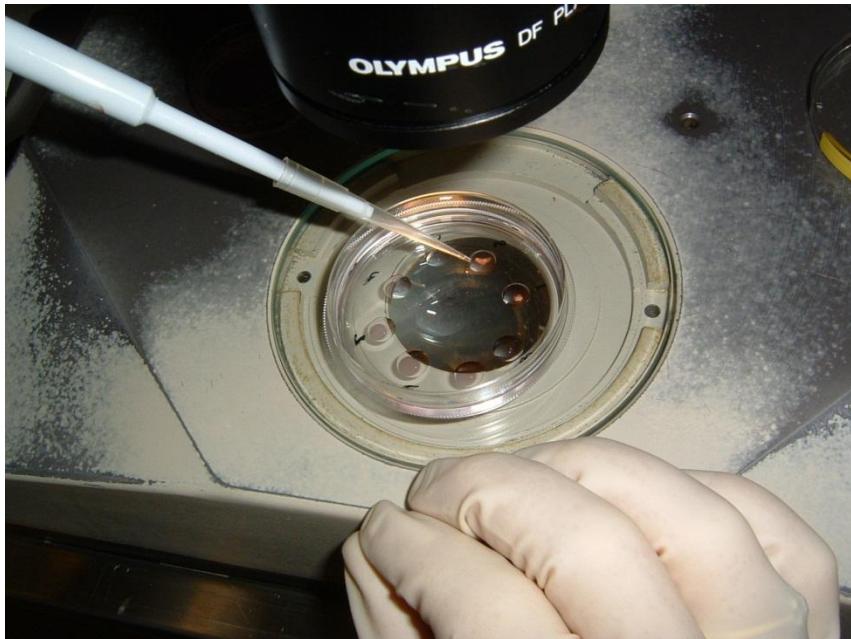
- **Culture isolée en micro gouttes \Rightarrow suivi ovocyte par ovocyte**
- **Culture « groupée »**
- **sous huile \Rightarrow effet protecteur**
- **incubation à 37°C sous air + CO2 5% + atmosphère humide**



J0

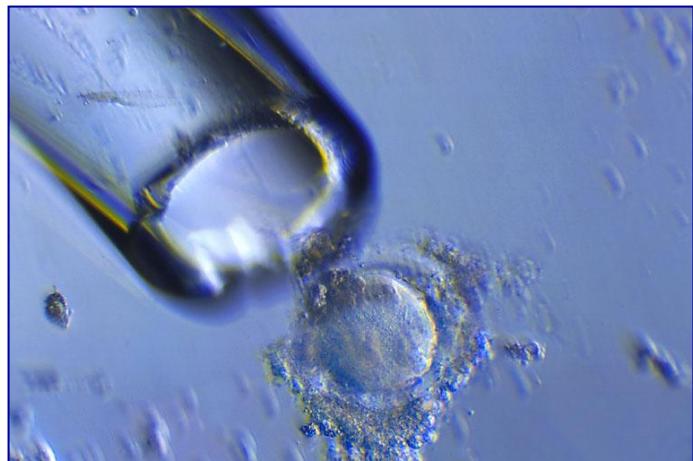
Insémination des milieux contenant les ovocytes

Concentration finale d'environ 100 000 spz mobiles/ml



J1 La décoronisation

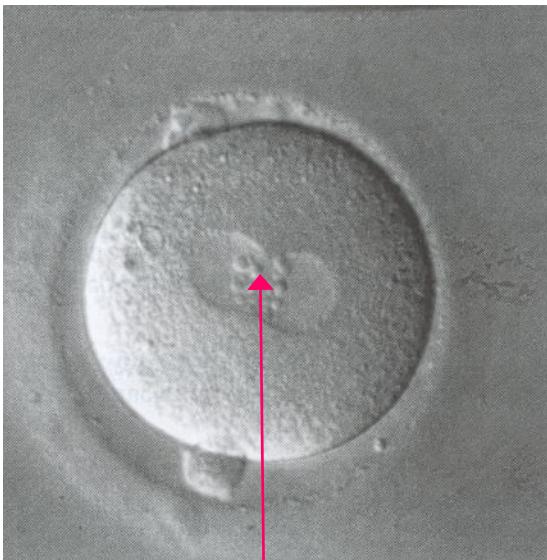
18 à 20h après insémination
des milieux



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

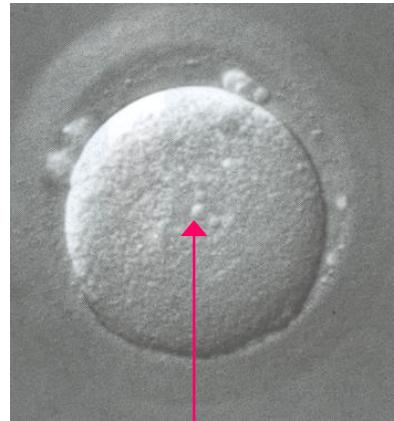
J1 : Observation des ovocytes

Fécondation normale

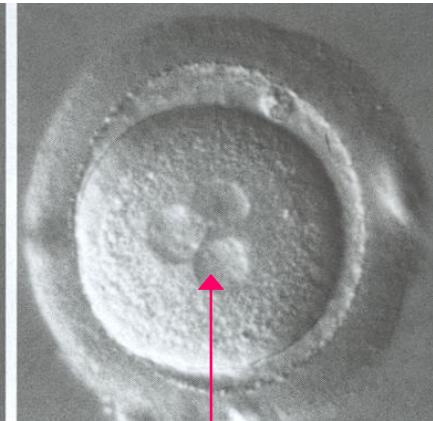


Stade « 2 pronucléi »:
Œuf fécondé

Anomalies de la fécondation



Œuf à 1 pronucléus :
Fécondation anormale



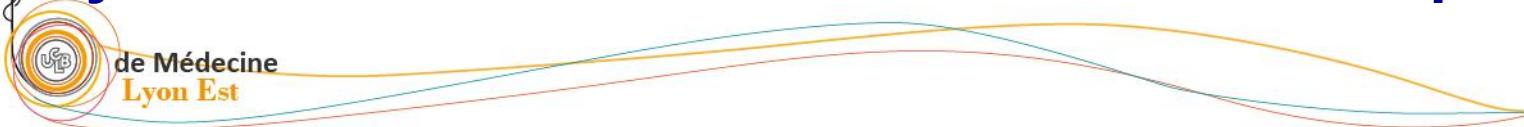
Œuf à 3 pronucléi :
Signe de triploïdie



**J2 : 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



Embryon porteur d'anomalies multiples

Blastomère bi-nucléé

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

J4 Morulae



Morula en cours de compaction



Milieux séquentiels ou uniques

Meilleure sélection des embryons à transférer et à congeler (au moins 50% des œufs fécondés n'atteignent pas ce stade)

Intérêt : meilleures chances d'implantation
Limites : adéquation des milieux utilisés

J5



Blastocyste

Le transfert embryonnaire

La stratégie de transfert

Age de la femme

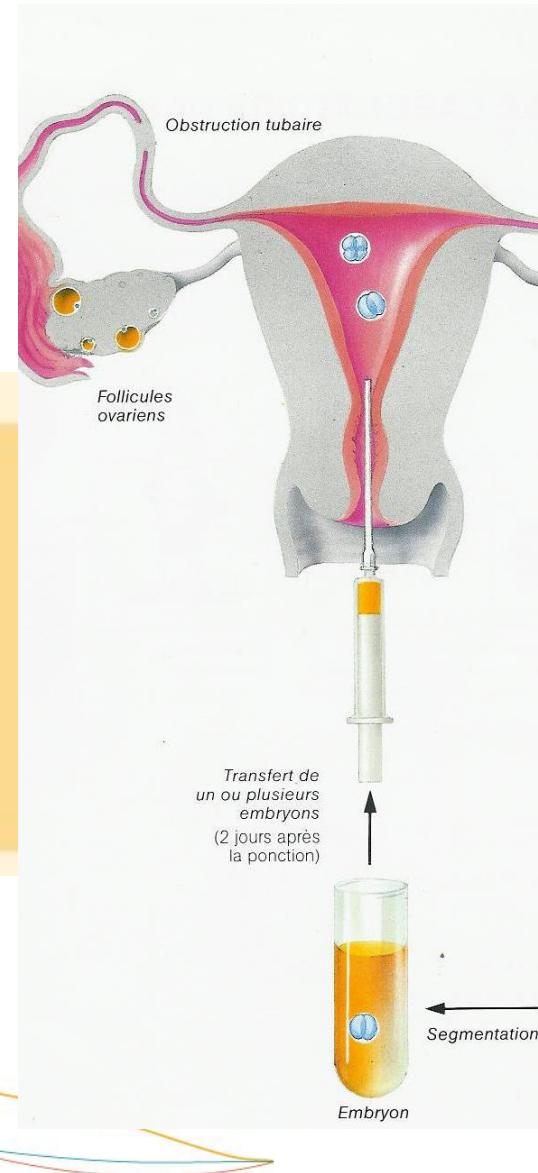
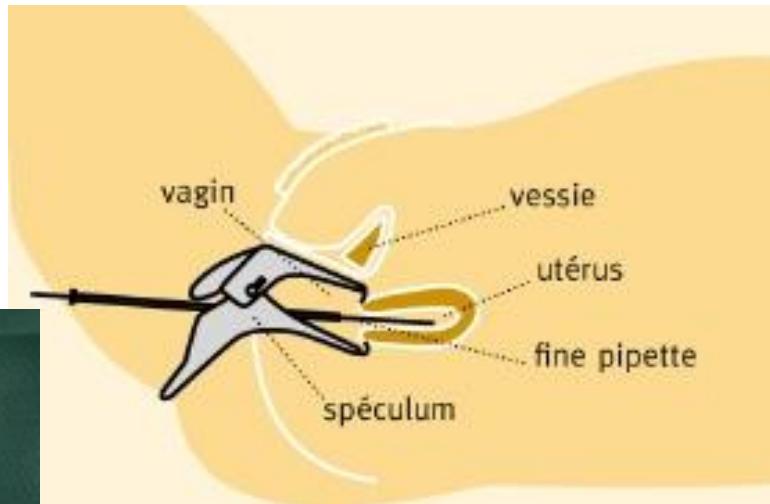
Antécédents gynéco-obstétricaux

Cohorte ovocytaire

Taux de fécondation

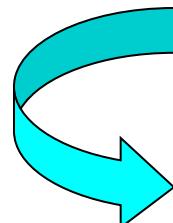
Qualité embryonnaire

Qualité du transfert



Facteurs de succès

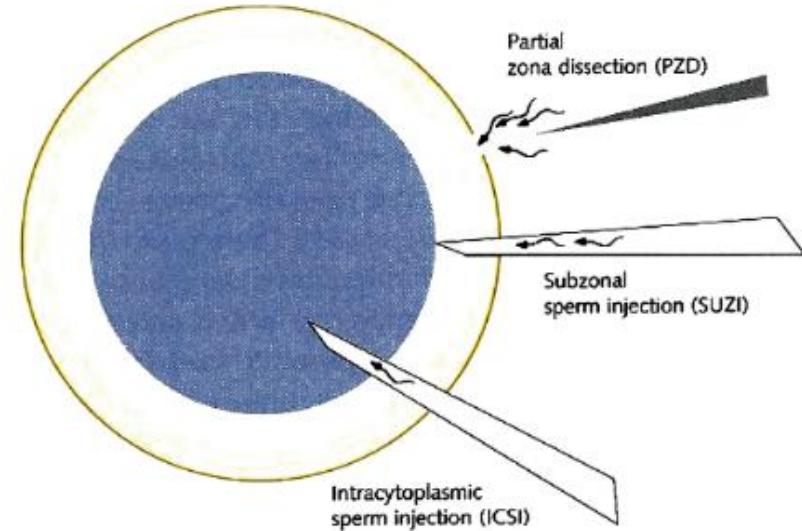
- Age de la femme +++
- Grossesse antérieure
- Indication de la FIV : Sperme de donneur, tubaire pure... : bon pronostic
- Qualité de la réponse ovarienne (facteurs prédictifs : FSH et AMH plasmatiques, échographie ovarienne en début de cycle)
- Morphologie et stade de développement des embryons ++
- **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 inexplicables à sperme normal : environ 5%

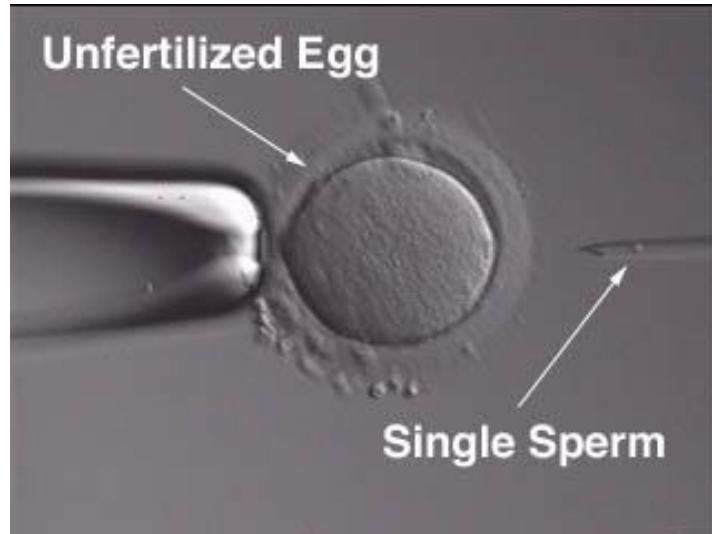


Évolution nécessaire des techniques
Efficacité / Innocuité

L'ICSI ou Intracytoplasmic sperm injection

« *The revolution in male infertility* »

Palermo, 92



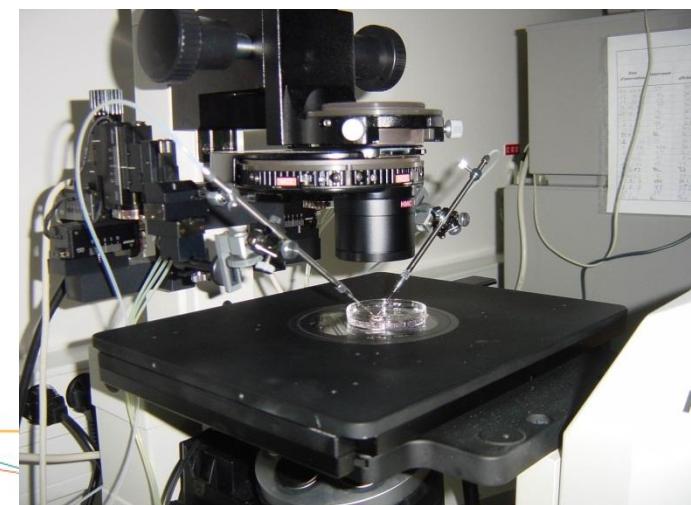
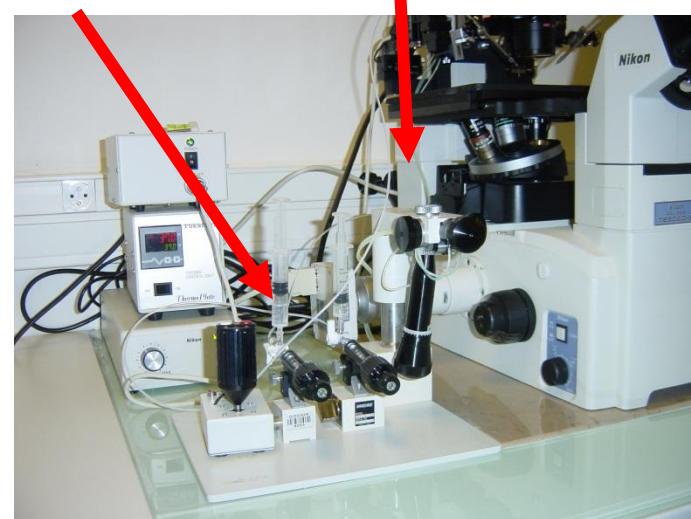
Le poste de travail de l'ICSI

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



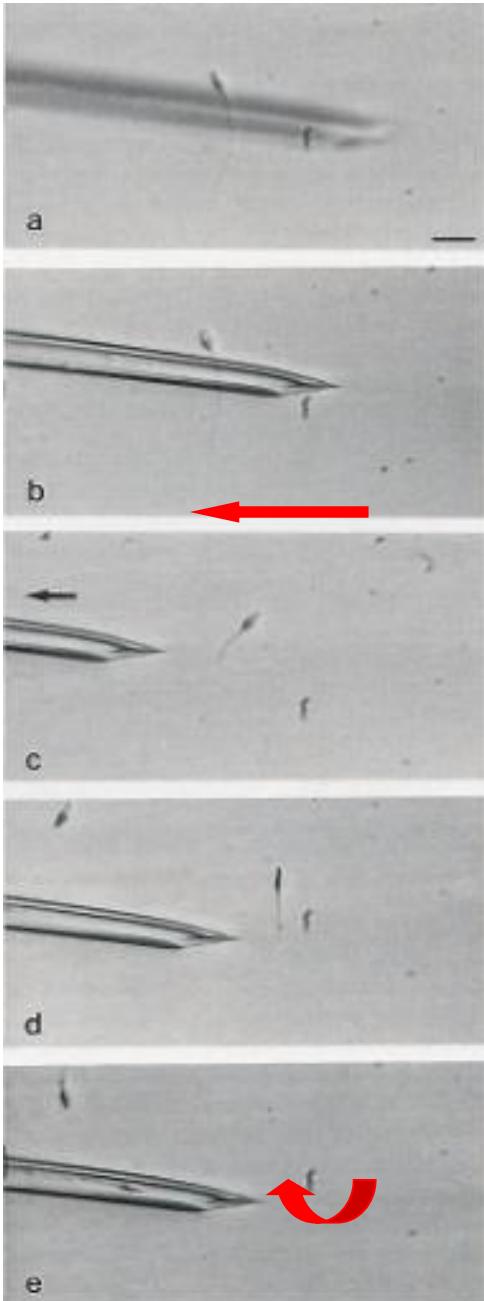
Micro-injecteurs

Micro-manipulateurs

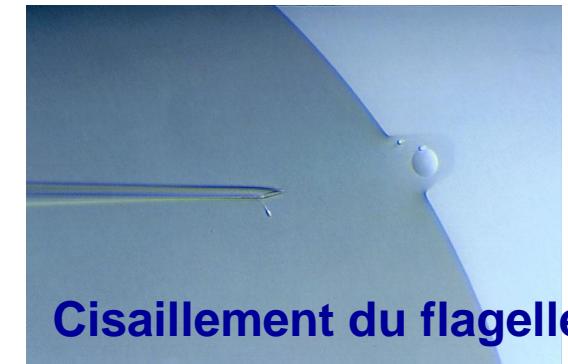
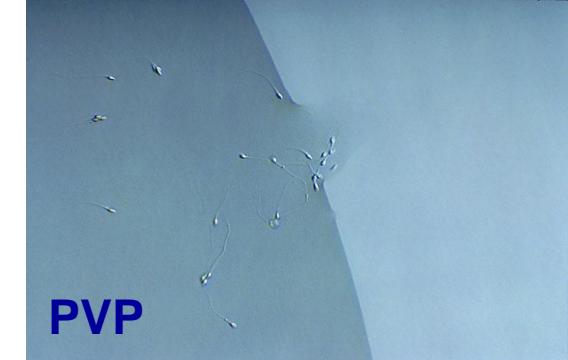


Le spermatozoïde et sa pipette

Au bord de goutte :
choix d'un spz mobile



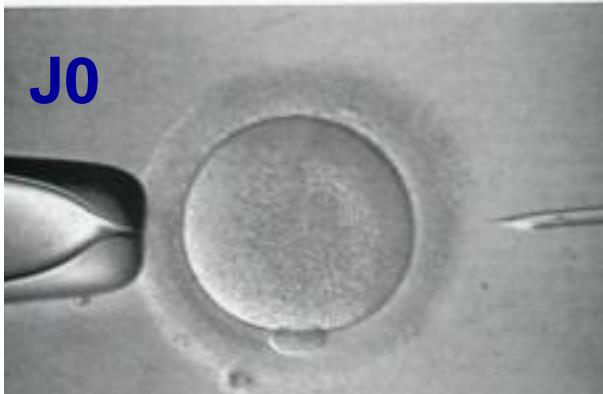
Cisaillement du flagelle
Angulation du flagelle



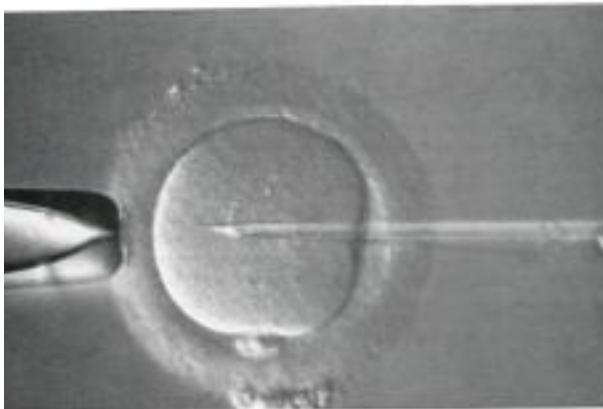
Aspiration tête dernière



La technique d'ICSI

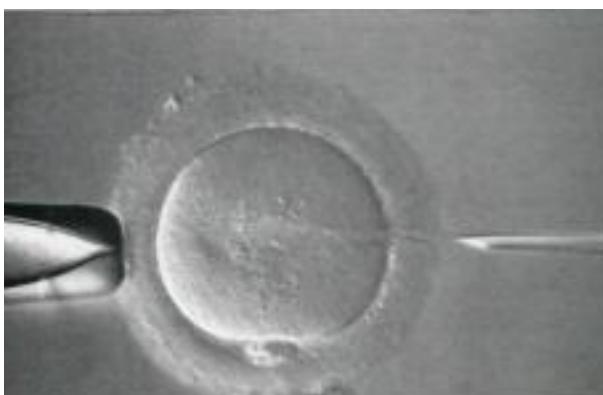


Tête spermatique placée à l'extrémité du biseau de la pipette



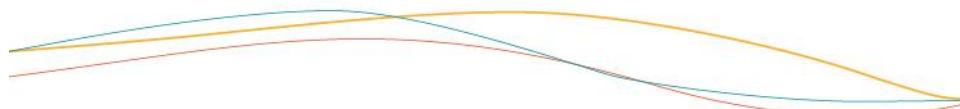
Pénétration à travers les membranes de l'ovocyte

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

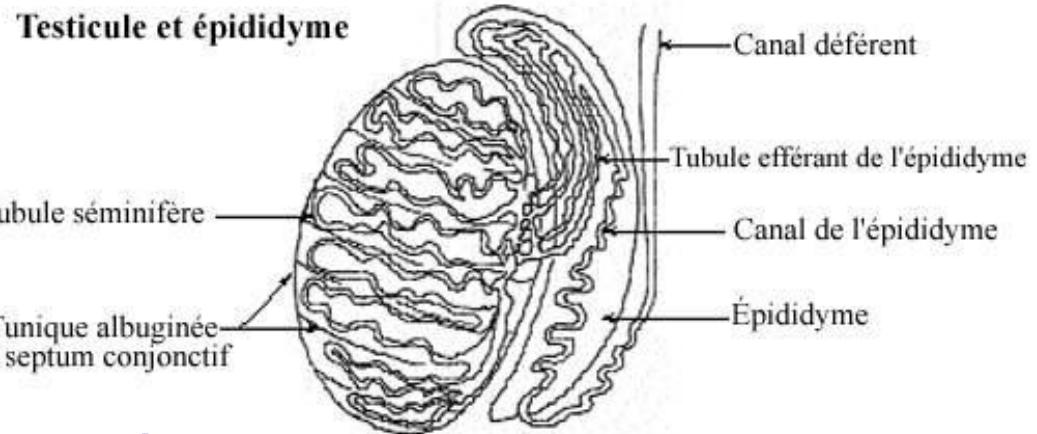


Injection douce et maîtrisée du cytoplasme et de la tête du spz

Retrait de la pipette



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



Ponction épididymaire 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,
téatospermies céphaliques+++
- . OAT extrême voire cryptozoospermie : spz éjaculés (2)
- . Azoospermie obstructive : spz epididymaires (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 inexpliquée 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



de Médecine
Lyon Est

Faculté

L'AMP avec don de gamètes

- Les techniques sont les mêmes que celles déjà décrites pour les couples hétérosexuels
 - Don de spz : inséminations (IAD : 16% de succès / cycle); puis FIV / ICSI si échecs des IAD
 - Don d'ovocytes : ICSI : 20% de succès / cycle
 - Don d'embryons : 27% de succès / TEC

Les techniques de congélation embryonnaire

- Jusque dans les années 2000 : congélation dite « lente » : $0,3^\circ/\text{min}$
- Depuis les années 2000: la technique de congélation ultra-rapide ou vitrification a remplacé progressivement la congélation lente
 - 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 4% des naissances, le taux de succès par tentative de FIV/ICSI est < 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 entraîne une élévation du taux d'AMP avec don de spz, mais pose des problèmes aux CECOS : allongement de la liste d'attente, nombre de donneurs insuffisants, etc