Techniques de l'assistance médicale à la procréation

G. SANDJON



Introduction

Le terme AMP regroupe un ensemble de techniques nouvelles mises au point dans les 20 ou 30 dernières années.

Ceci a permis de passer de la stérilité (absolue) à l'infécondité (relative) grâce à une évolution très spectaculaire de ces méthodes.

L'IAC et la FIV restent les 2 principales techniques de l'AMP.

Historique

Sur le plan historique la FIV est le stade le plus abouti d'une technique imaginée par les hommes dès l'antiquité pour aider les couples stériles.

1790 : John HUNTER : injection par une plume de SPZ dans le vagin de son épouse (Hypospadias).

1969 : BOB Edwards, biologiste anglais parvient pour la première fois à féconder l'œuf humain dans une éprouvette.

Historique (suite)

- 1978 : dix ans plus tard, il parvient avec le Gynécologue Patrick Steptoe à réaliser leur but avec la naissance de Louise Brown, premier bébé éprouvette.
- 1981 : René Frydman permet la naissance d'Amandine en France.
- 1992, la technique subit sa dernière grande évolution à ce jour par le Professeur André Van Steirteghem (Belgique): L'ICSI (Intracytoplasmic Sperm injection) pour les stérilités masculines.

INSEMINATION ARTIFICIELLE

Technique simple et indolore.

- · IIV et IIC abandonnées
- IIP réservée au cas où passage du col impossible (Chirurgie)
- IIU avec préparation du sperme est la plus courante actuellement

INSEMINATION ARTIFICIELLE

Indications courantes:

- Facteur cervical: glaire hostile
- · Facteur masculin : OATS, éjaculation rétrograde
- · IAD
- · Stérilités immunologiques
- Stérilités inexpliquées (échec de 6 cycles de stimulation)

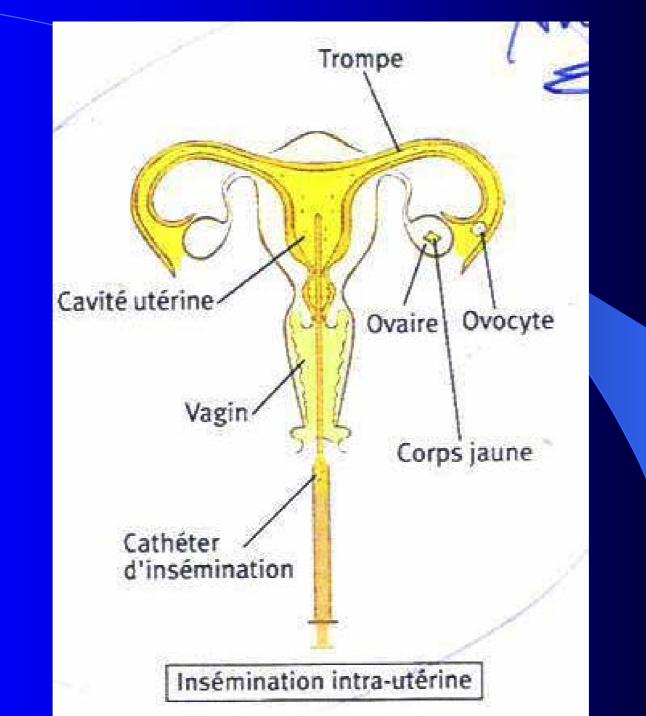
Préparation du sperme

- ·Recueil du SPZ par masturbation ou dans les urines en cas d'éjaculation rétrograde
- · Paillettes de SP en cas d'IAD
- · Éliminer le liquide séminal
- · Sélectionner les SPZ les plus mobiles
- · Améliorer la mobilité des SPZ
- Lavage et centrifugation du SPZ avec des milieux spécifiques : Percoll, Suprasperme, Puresperme

Préparation de la femme

Traitement inducteur de l'ovulation (Clomid et/ou HMG)

- · Surveillance écho et hormonale
- Déclenchement de l'ovulation avec HCG quand le follicule atteint 18 mm
- IIU du SPZ par un petit cathéter souple 38 heures après le déclenchement.
- · Risques du traitement faible :
 - ·Hyperstimulation modérée et grossesse gémellaire.
- · Résultats : 15 à 20% en fonction de la qualité du SPZ

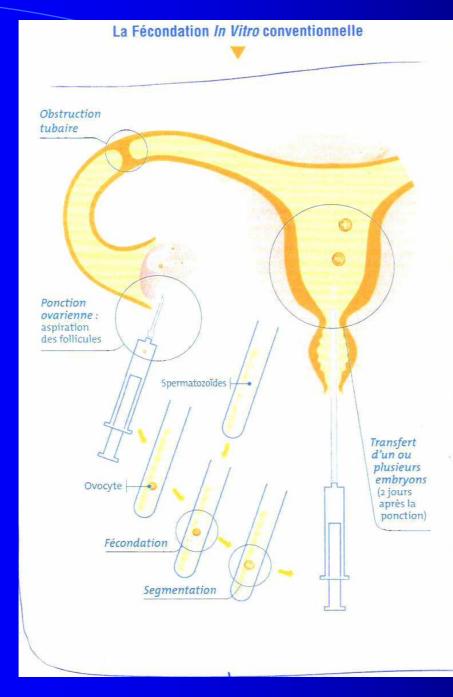


FECONDATION IN VITRO

- Traitement élaborée et complexe de la stérilité
- Nécessite un travail d'équipe (Gynécologue, Biologiste, Andrologue ou Endocrinologue, voire psychologue)
- · ZIFT et GIFT sont peu courants
- La FIV avec transfert d'embryons dans l'utérus est plus classique
- ICSI est de plus en plus répandue
- Indications:
 - · Chez la femme: OTB
 - · Chez l'homme : OATS sévère (ICSI)

Étapes de la FIV

- Stimulation ovarienne
- Fécondation proprement dite au Labo
- Transfert des embryons



La Fécondation In Vitro (FIV) reproduit au laboratoire la fécondation et les premières étapes du développement embryonnaire. Elle réalise – le plus souvent pendant 2 ou 3 jours in vitro, hors de l'organisme, dans un milieu de culture approprié – ce qui se passe normalement dans la trompe : rencontre des ovocytes et spermatozoïdes (fécondation) et formation de l'embryon aux tous premiers stades du développement. Plusieurs étapes sont nécessaires:

- assurer une croissance et une maturation adéquates de plusieurs follicules ovariens contrôlés par :
 - des dosages hormonaux sanguins (estradiol* et éventuellement LH et progestérone),
 - des examens échographiques* (taille, nombre des follicules);
- ② déclencher la maturation finale des ovocytes par une injection de gonadotrophines chorioniques (hCG);
- ③ prélever les ovocytes par ponction des follicules sous échographie avant leur expulsion naturelle;
- Techercher les ovocytes dans les liquides folliculaires*;
- sobtenir des embryons soit par FIV conventionnelle, soit par microinjection de spermatozoïdes (ICSI*);
- 6 transférer le ou les embryons dans la cavité utérine, en général 2 ou 3 jours après la ponction folliculaire.

Stimulation ovarienne : en vue d'une ovulation plurifolliculaire contrôlée et programmée : 2 phases : blocage et stimulation

Blocage : évite l'ovulation spontanée incontrôlable

Principe: bloquer les gonadotrophines produites par

hypophyse

Produits utilisés: analogues GRH

Agonistes GNRH: ex Décapeptyl, SVPREFACT,

SYNAREL

Antagonistes GRH: ORGALUTAN, CETROTIDE

CLASSES THERAPEUTIQUES	SPECIALITES PHARMACEUTIQUES		INDICATIONS RETENUES PAR A.M.M.	
Analogues de la GnRH	AGONISTES ANTAGONISTES	Triptoréline (DÉCAPEPTYI® 0.1 & LP 3 mg) Buséréline (SUPREFACT®) Nafaréline (SYNAREL®) Ganirélix (ORGALUTRAN®) Cétrorélix (CETROTIDE® 0.25 & 3mg)	Traitement complémentaire, en association avec les gonadotrophines (hMG, FSH, hCG), au cours d'une induction de l'ovulation en vue d'une fécondation in vitro suivie d'un transfert d'embryon (Fivete). Préparation à l'induction de l'ovulation pour la fécondation in vitro (FIVETE) Désensibilisation hypophysaire au cours de l'induction de l'ovulation en vue d'une fécondation in vitro suivie d'un transfert d'embryons. Non remboursé dans cette indication. Prévention des pics prématurés d'hormone lutéinisante (LH) chez les femmes en cours d'hyperstimulation ovarienne contrôlée (HOC) dans le cadre des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP). Prévention de l'ovulation prématurée chez les patientes incluses dans un protocole de stimulation ovarienne contrôlée, suivie de prélèvement d'ovocytes et de techniques de reproduction assistée	
Gonadoréline	(LUTRELEF®)		Induction de l'ovulation pour le traitement de la stérilité dans les anovulations d'origine hypothalamique. Selon la classification des anovulations par l'OMS, seules la classe I et la classe II a, en cas d'échec de citrate de clomifène relèvent de l'administration de GnRH.	

Stimulation proprement dite

Doit être adaptée à chaque patiente en fonction de l'indication, de l'âge et de sa réponse ovarienne.

Produits utilisés:

- HMG anciennes (HUMEGON, MENOGON): abandonnés, nouveau: MENOPUR
- ·FSH recombinantes: PUREGON, GONAL F

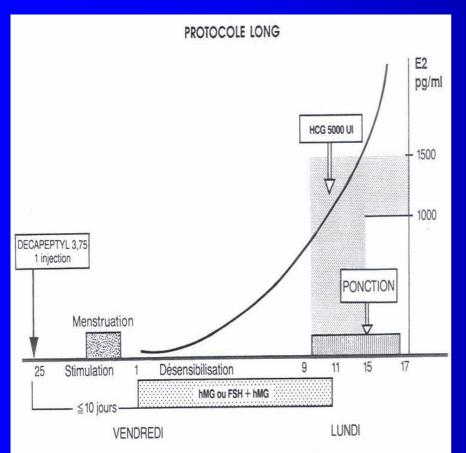
CLASSES	SPECIALITES	INDICATIONS	
THERAPEUTIQUES	PHARMACEUTIQUES	RETENUES PAR L'AMM	
	Follitropine alfa	Anovulation (y compris le syndrome des ovaires	
	(GONAL-F®)	polykystiques, SOPK) chez les femmes qui n'ont	
)		pas répondu au traitement par le citrate de	
		Stimulation de la croissance folliculaire multiple	
i i		chez les femmes entreprenant une superovulation	
)		dans le cadre des techniques d'assistance médicale	
Ĥ.		à la procréation (AMP) telles que la fécondation in	
		vitro (FIV), le transfert intratubaire de gamètes	
		(GIFT) et le transfert intrabulaire de sygotes (ZIFT).	
X		Gonal-F®, en association avec une préparation	
		d'hormone lutéinisante (LH), est recommandé pour	
		stimuler le développement folliculaire chez les	
±1		femmes qui présentent un déficit sévère en LH et	
		en FSH. Au cours des essais cliniques, ces patientes étaient définies par un taux plasmatique	
Gonadotrophines		de LH endogène < 1,2 UI/I	
	Eallitraning hâte	Americalism (c. como in distriction in	
	Follitropine bêta (PUREGON®)	Anovulation (y compris dystrophie ovarienne polykystique (SOPK)) chez les femmes ne	
	()	répondant pas au traitement par le citrate de	
		clomifène.	
		Hyperstimulation ovarienne contrôlée pour induire	
		le développement de follicules multiples dans le	
	1	cadre des programmes de procréation médicalement assistée (par exemple fécondation in	
		vitro avec transfert d'embryon (Fivete), transfert de	
		gamètes dans les trompes (Gift), injection	
		intracytoplasmique de spermatoroïde (ICSI)).	
	Ménotropine	Traitement de la stérilité, le plus ouvent en	
	(MENOPUR®)	association avec les hCG, dans les cas où l'anovulation est la seule cause de stérilité :	
		anovulation d'origine hypothalamo-hypophysaire;	
		dysovulation	
		Induction de l'ovulation dans le cadre de la	
	-	procréation médicalement assistée (FIV, GIFT) Stérilité par insuffisance de production de glaire	
		de production de giaire	
	II Carr	Anovulation (y compris le syndrome des ovaires	
0	Urofollitropine (FOSTIMON®	polykystiques, SOPK) chez les femmes ne répondant pas au traitement par le citrate de	
	(1 OGTHVOING	clomifène.	
		Hyperstimulation ovarienne contrôlée pour induire	
3		le développement de follicules multiples dans le	
		cadre des techniques d'assistance médicale à la procréation telles que la fécondation in vitro (FIV),	
N		le transfert intratubaire de gamètes (GIFT) et le	
		transfert intratubaire des sygotes (ZIFT).	

Quelques exemples

- avant 30 ans: 150 UI (2 A de 75 UI)
- · après 30 35 ans : 225 UI (3 A de 75 UI)
- · au délà 30 35 ans : 300 UI (4 A de 75 UI)

Quel protocole proposer: 2 principaux

Protocole «long» avant 37 ans le plus fréquent Protocole «court» après 37 ans



CENTRE PMA DOUALA

B.P 4108 Tél.: 42 92 36

Docteurs:

SANDJON Guy GWET-BELL Ernestine BOLLO Berthe ONOMO Monique AKOUNG Nicole PANY Christian

Saylor

FECONDATION IN VITRO

FICHE DE TRAITEMENT

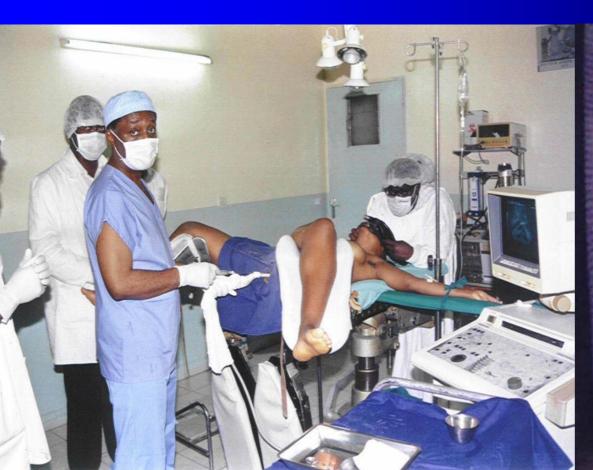
Nom: Mme C. . Age: Protocole court

Ddr----- Decapeptyl 0.1 mg

JOUR	DATE	DECAPEPTYL 0,1	PUREGON 75 UI		
JI		Une Ampoule			1
12		Une Ampoule			1
J3		Une demie Ampoule	4 Ampoules		
J4		Une demie Ampoule	4 Ampoules		
J5		Une demie Ampoule	4 Ampoules		
J6		Une demie Ampoule	4 Ampoules	6ème J OVD OVG	Ren A D
37		Une demie Ampoule	4 Ampoules	1	1
J8		Une demie Ampoule	4 Ampoules	8 JOVD OVG	
J9					
J10				10 OVD OVG	
			Muqueuse		
JII					
J12				12 J OVD OVG	
			Muqueuse	1	
J13				1	
J14					
J15					
J16	i.				1
Ponction :			Ovocytes		

Prélèvement des ovocytes

- · Au bloc opératoire ; sous AG, parfois locale
- · Ponction échoguidée





Laboratoire: Fécondation proprement dite

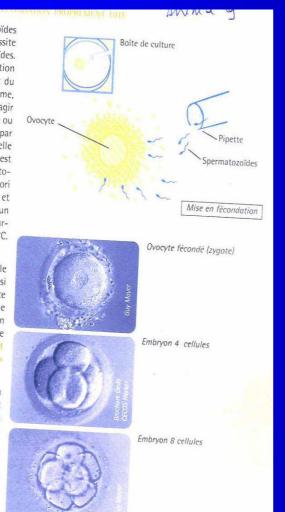
Mise en présence des gamètes

Les ovocytes et les spermatozoïdes sont mis en présence. Cela nécessite une préparation des spermatozoïdes. Le jour même où se fait la ponction des follicules ovariens, on obtient du conjoint un prélèvement de sperme, au laboratoire. Parfois, il peut s'agir d'un sperme préalablement congelé ou du sperme d'un donneur délivré par une banque de sperme (CECOS). Quelle que soit son origine, le sperme est traité pour sélectionner les spermatozoïdes les plus mobiles qui sont a priori les plus fécondants. Puis ovocytes et spermatozoïdes sont placés dans un milieu de culture favorable à leur survie et mis dans l'incubateur à 37°C. C'est l'étape de mise en fécondation.

Au bout de 24 heures d'incubation, le biologiste recherche au microscope si la fécondation a eu lieu. L'ovocyte fécondé se présente alors sous forme d'une cellule à deux noyaux, l'un d'origine paternelle, l'autre d'origine maternelle. Ce stade essentiel est désigné « stade des 2 pro-nuclei » ou 2 PN.

Au bout de 48 heures d'incubation l'aspect de l'œuf fécondé est déjà tout différent. Il est constitué de plusieurs cellules et entouré d'une enveloppe appelée zone pellucide.

C'est déjà un embryon que l'on peut transférer dans l'utérus maternel. L'endomètre (revêtement interne de l'utérus) s'est préparé pour recevoir un éventuel embryon.





Transfert des embryons dans l'utérus

- Technique semblable à IIU: indolore, sans anesthésie, ni hospitalisation
- Embryons aspirés dans une goutte de milieu de culture par un cathéter fin par le biologiste et transfert dans l'utérus par le gynécologue



ICSI

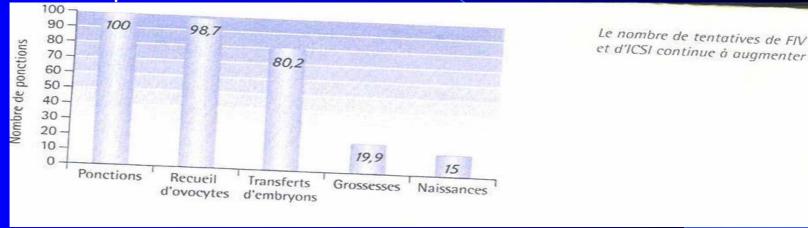
- · Dernière variante de la FIV, date de moins de 10 ans.
- Injection d'un SPZ unique dans chaque ovocyte.
- Micro injection faite sous microscope avec un dispositif de grande précision (micro-manipulateur).
- Sperme obtenu par masturbation, paillettes ou aspiration à la seringue, du testicule ou de l'épididyme.
- · Les autres étapes sont identiques à la FIV classique.



Injection Intra-Cytoplasmique de Spermatozoïde (ICSI)

Résultats de la FIV

1-Probabilité de grossesse par cycle pour un couple normal : 25% Actuellement par FIV on a 20 - 22%



2- Echecs: une femme sur 5

- Réponse ovarienne mauvaise
- Ponction ovarienne blanche ou ovocyte de mauvaise qualité
- Absence d'ovulation
- Arrêt de la division cellulaire
- Absence d'implantation des embryons transférés : cause d'échec la plus fréquente et le plus difficile à expliquer

Congélation

Gamètes

- SPZ: sur paillettes dans azote liquide
- Ovules : pas encore possible

Embryons surnuméraires : dans azote liquide réimplantation sans protocole lourd

Culture embryonnaire ou coculture

- Normalement implantation à J2 J3
- Coculture permet l'obtention blastocyste : embryon à J5-J6 au stade ultime avant implantation
- Utilisation des milieux beaucoup plus riches: milieux séquentiels

Accidents

- Hyperstimulation
- Risque lié à l'anesthésie générale.

Manipulation génétique :

- clonage thérapeutique
- clonage reproductif à bannir

CENTRE AMP DOUALA

- Création: 1997 (4 gynécologues, 2 biologistes)
- Collaboration: Labo DROUOT du Dr Guy
 CASSUTO à Paris
- Naissance du premier bébé le 14 avril 1998
- Spécificité Africaine:
 - Technique
 - Hygrométrie
 - Culture
 - Économique

TABLEAU COMPARATIF DES RESULTATS FIVNAT France/Centre PMA Douala

FIVNAT (Année98/99)	PMA Douala (2000/2001)	
Population 35929 (79 centres)	207	
Ponctions positives 97,3%	95%	
Transfert/Ponction 82,8%	80,02%	
Taux de grossesse		
-Par ponction 21,7	18,1%	
-Par transfert 26,2	22,1%	
Embryons obtenus 4,5	4,8%	
Embryons transférés 2,35	3,9%	