

La Fécondation *In Vitro* et autres Techniques de Procréation Assistée chez le Primate Microcèbe.

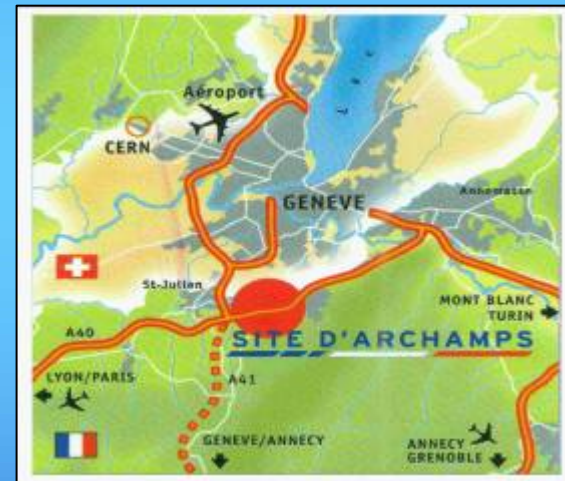
Un modèle pour la Formation et la Recherche

Hervé LUCAS, MD, PhD,

Anis FEKI, MD, PhD,

Sidi EL MATRIBI, Tech. AMP,

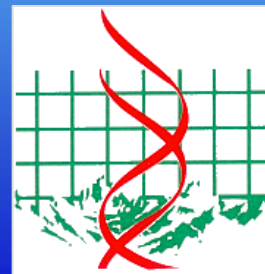
Aldo CAMPANA, MPr.



Fondation Genevoise pour la
Formation et la Recherche Médicales.

www.gfmer.ch

Laboratoire de Biologie Médicale
Baltassat-Lucas



Le Modèle Microcèbe

En médecine moderne, les progrès de la recherche dépendent la plupart du temps de la qualité des modèles animaux utilisés.

Compte tenu de la « distance phylogénique » entre l'homme et les rongeurs, l'utilisation du modèle rongeur atteint rapidement ses limites pour certains aspects de la physiologie et de la pathologie humaine, incluant **la reproduction** et **les fonctions cérébrales supérieures**.

Les primates simiens constituent indéniablement le modèle « idéal », mais leur coût, leur durée de vie très longue, ainsi que des considérations éthiques, constituent une limitation de leur utilisation comme modèles en recherche.

Mise au point de la FIVETE
chez un Primate, le *Microcebus murinus*,
Modèle pour la Recherche Biomédicale



➤ **Objectif** : Pratiquer toutes les techniques d'AMP en routine dans le modèle *Microcebus murinus* pour permettre ...

- **La recherche**, en reproduction humaine, sur les maladies neurodégénératives, sur les cellules souches embryonnaires...
- **La formation** en biologie de la reproduction et à toutes les techniques d'AMP, sur un modèle primate.

Connaissances sur la reproduction de *Microcebus murinus* -1-



Les microcèbes atteignent leur maturité sexuelle à 6-8 mois et se reproduisent, du début du printemps jusqu'à la fin de l'été, jusqu'à 9 ans environ (Petter et al., 1977). La gestation dure environ 2 mois et deux petits naissent en général.

Il est possible de raccourcir le cycle d'activité annuel en induisant un cycle photopériodique complet en 8 mois.

Connaissances sur la reproduction de *Microcebus murinus* -2-

Les fonctions, **hypophysaire** (Perret, 1972,1974),
surrénalienne (Perret et Predine 1984),
tyroïdienne (Perret, 1975 ; Petter-Rousseaux 1984)
testiculaire (Petter-Rousseaux et Picon 1981 ; Perret 1985)
utéro-ovarienne, (Perret ,1986).

L'ovogenèse (Gérard, 1932 ; Gérard et Herlant, 1953)

La placentation (Gérard, 1929 ; Reng, 1977)

La spermatogenèse (Petter-Rousseaux, 1974b, 1975, 1979)

Recueil de sperme

Analyse du sperme

Congélation du sperme

MAZUE A. – Contribution à l'étude de la reproduction du Microcèbe: électro-éjaculation du mâle. Thèse vétérinaire, Alfort 1986.



ASLAM H., SCHNEIDERS A., PERRET M., WEINBAUER G.F., HODGES J.K. – Quantitative assessment of testicular germ cell production and kinematic and morphometric parameters of ejaculated spermatozoa in the grey mouse lemur, *Microcebus murinus*. *Reproduction*, 2002, 123, 323-332.

FERADIS A.H., PAWITRI I.K., SUATHA I.K., AMIN M.R., YUSUF T.L., SAJUTHI D., BUDIARSA I.N., HAYES E.S. – Cryopreservation of epididymal spermatozoa collected by needle biopsy from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Medical Primatology*, 2001, 30, 100-106.

Stimulation ovarienne

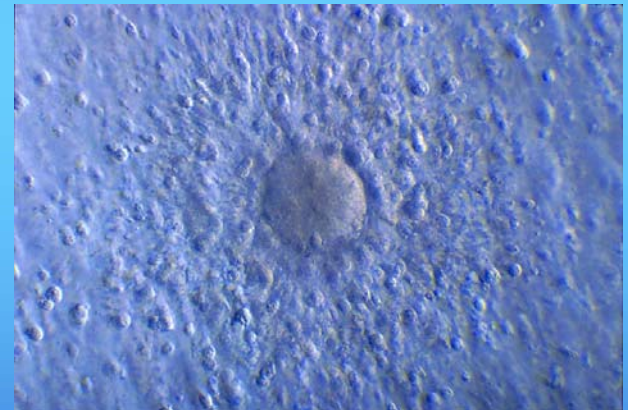
Recueil des ovocytes

Stimulation ovarienne :

Cynomolgus monkey (Ng et al., 2002)

Marmoset monkey, (Marshall et al., 2003)

Rhesus monkey (Dumesic et al., 2002).



Recueil des ovocytes par ponction ovarienne :

Cynomolgus monkey (Ng et al., 2002).

Fécondation *In Vitro*

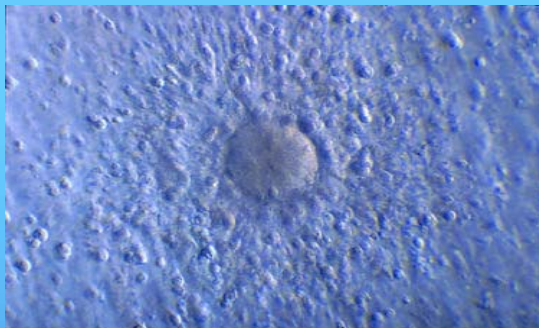
J0

Capacitation du sperme

Mise en contact des gamètes

Capacitation du sperme :

Cynomolgus monkey (Ng et al., 2002).



FIV Classique

Rhesus monkey

(Dumesic et al., 2002).

Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

J0

ICSI :

Cynomolgus monkey

(Ng et al., 2002)

Rhesus monkey

(Mitalipov et al., 2002).



Décoronisation
des ovocytes

Ovocyte en métaphase de 2^{ème}
division méiotique (M2)



1 Globule Polaire (GP)

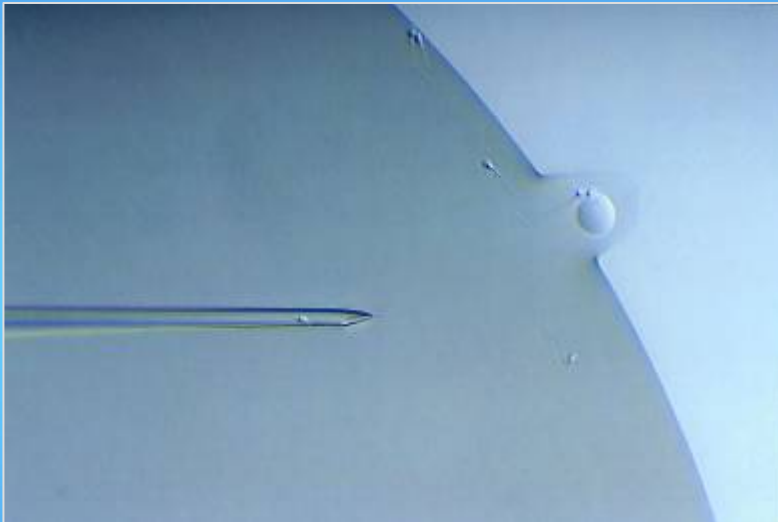
Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

J0



Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

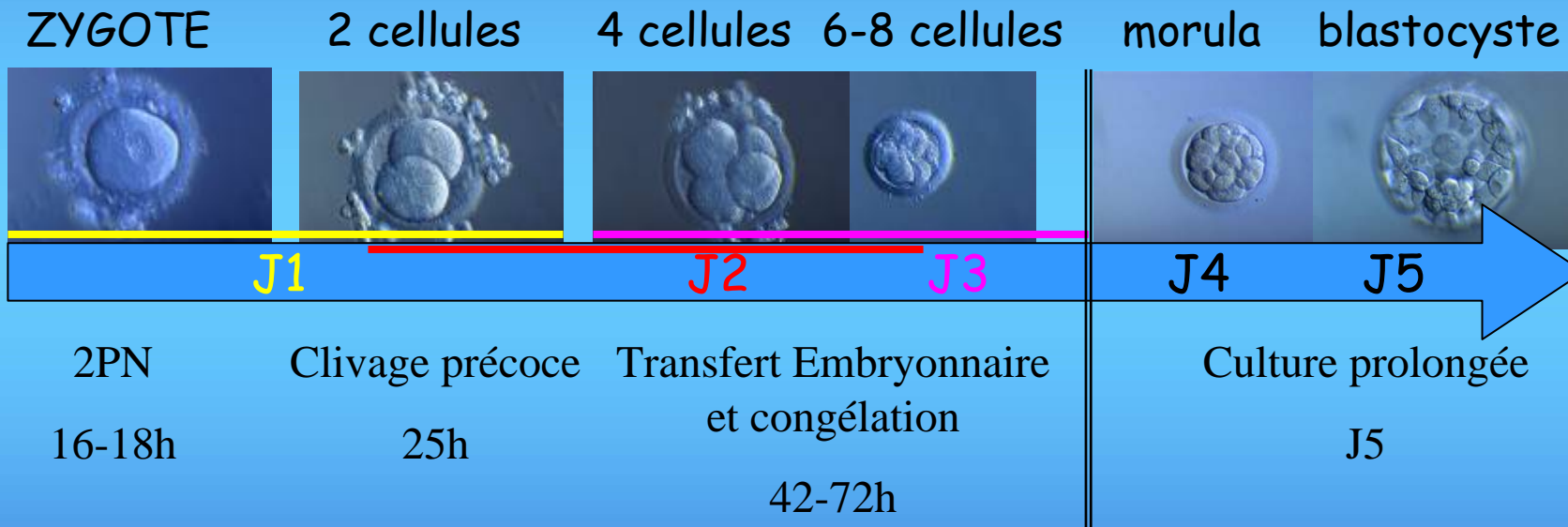
J0



Introduction de la pipette d'injection contenant le spermatozoïde à l'intérieur du cytoplasme ovocytaire.



Les Étapes du développement embryonnaire précoce



CURNOW E.C. et al., Sequential culture medium promotes the *in vitro* development of macaca fascicularis embryos to blastocysts. American Journal of Primatology, 2002, 57, 203-212.

DUMESIC D.A. et al. Impaired developmental competence of oocytes in adult prenatally androgenized female rhesus monkeys undergoing gonadotropin stimulation for *in vitro* fertilization. The Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 2002, 87, 1111-1119.



Conclusions :

Importance du modèle MICROCEBE pour la **RECHERCHE** et la **FORMATION** en reproduction humaine :

- ✓ Congélation-décongélation des fragments ovariens,
 - ✓ Maturation folliculo-ovocytaire *in vitro*,
 - ✓ Mise au point de milieux de culture pour l'AMP humaine,
 - ✓ Etude de la spermatogenèse,
 - ✓ Et de multiples autres applications encore...*DPI*...
- ✓ Validation des techniques d'AMP humaine sur un modèle primate.

Geneva Foundation for Medical Education and Research

WHO Collaborating Centre in Education and Research in Human Reproduction

Director : Pr. Aldo Campana



Terms of Reference

1. To provide a postgraduate training in research methodology in Reproductive Health.
2. To develop & conduct research & research synthesis activities.
3. To assist partner institutions in the conduct of postgraduate medical education programmes.
4. To provide expertise to WHO or to centres of WHO's network requesting collaboration in research, research training or clinical aspects in human reproduction.
5. To collaborate with WHO on e-learning activities as well as on the conduct of short postgraduate courses in epidemiology.



REPRODUCTIVE HEALTH

Reproductive Health

is the official journal of the Geneva Foundation
for Medical Education and Research (GFMER)

www.reproductive-health-journal.com

Groupe de Travail en Andrologie-Sexologie-Biologie de la Reproduction

Coordinateur : Hervé LUCAS

Organisation de cours de formation pratique
et théorique (langue française),

Participation de nombreux spécialistes
Internationaux,

Mise en place de recommandations,

Organisation de recherches collaboratives...



Constitution d'un Réseau International pour la Formation dans le domaine des Assistances Médicales à la Procréation

Activités du réseau : Bonnes pratiques clinique et biologiques, contrôle de qualité, mise en commun des bases de donnée informatique...

Création d'un réseau de centres qui opèrent sur la base de lignes directrices bien définies au niveau **clinique, biologique, scientifique et éthique**. Cela implique la création d'un système d'assistance et contrôle de qualité qui offrira :

- une formation pour des centres internationaux d'excellence,
- l'envoi d'experts dans les centres participants,
- un suivi de la qualité des centres agréés,
- un site internet interactif, pour la dissémination des connaissances et l'échange d'information.

Cette initiative sera conduite par la GFMER en collaborations avec l'OMS, le BioPark d'Archamps, les équipes de recherche intéressées par des collaborations internationales.

Le réseau international de centres d'AMP : fonctionnement

- Mise en place d'une **base de donnée en réseau** gérant les activités biologiques et cliniques en AMP pour l'uniformisation des pratiques de gestion des centres du réseau.
- Mise en place d'un **contrôle qualité externe**. Collaboration avec la société *Biologie Prospectives* (Nancy, France) qui possède déjà une grande expérience dans l'organisation de contrôles de qualité en spermiologie (mobilité- morphologie des spermatozoïdes). Notre base de donnée nous permettra d'évaluer en temps réel les résultats d'un laboratoire donné. Coordination de ce domaine par le Pr R. Eliasson
- Mise en place d'une **hotline** pour les médecins et biologistes travaillant dans un centre appartenant au réseau international. L'accès se fera via le site internet de la GFMER.
- L'OMS nous aidera, via les gouvernements locaux, à imposer ces centres d'excellence dans leur pays. Des collaboration publiques-privées seront mises en place pour que soit assurée la formation des cadres de laboratoire, des médecins, des biologistes, d'autres centres dans le même pays.

Organisation de la Formation

➤ **Formation théorique**

GFMER

➤ **Formation pratique**

**BioPark d'Archamps, Laboratoire de Biologie de la
Reproduction de Bonneville**

Le Centre de Diagnostic et de Traitement des Infertilités de Bonneville

Ouverture 1/1/2005

Centre Public-Privé

Activité 500-600 FIV/an

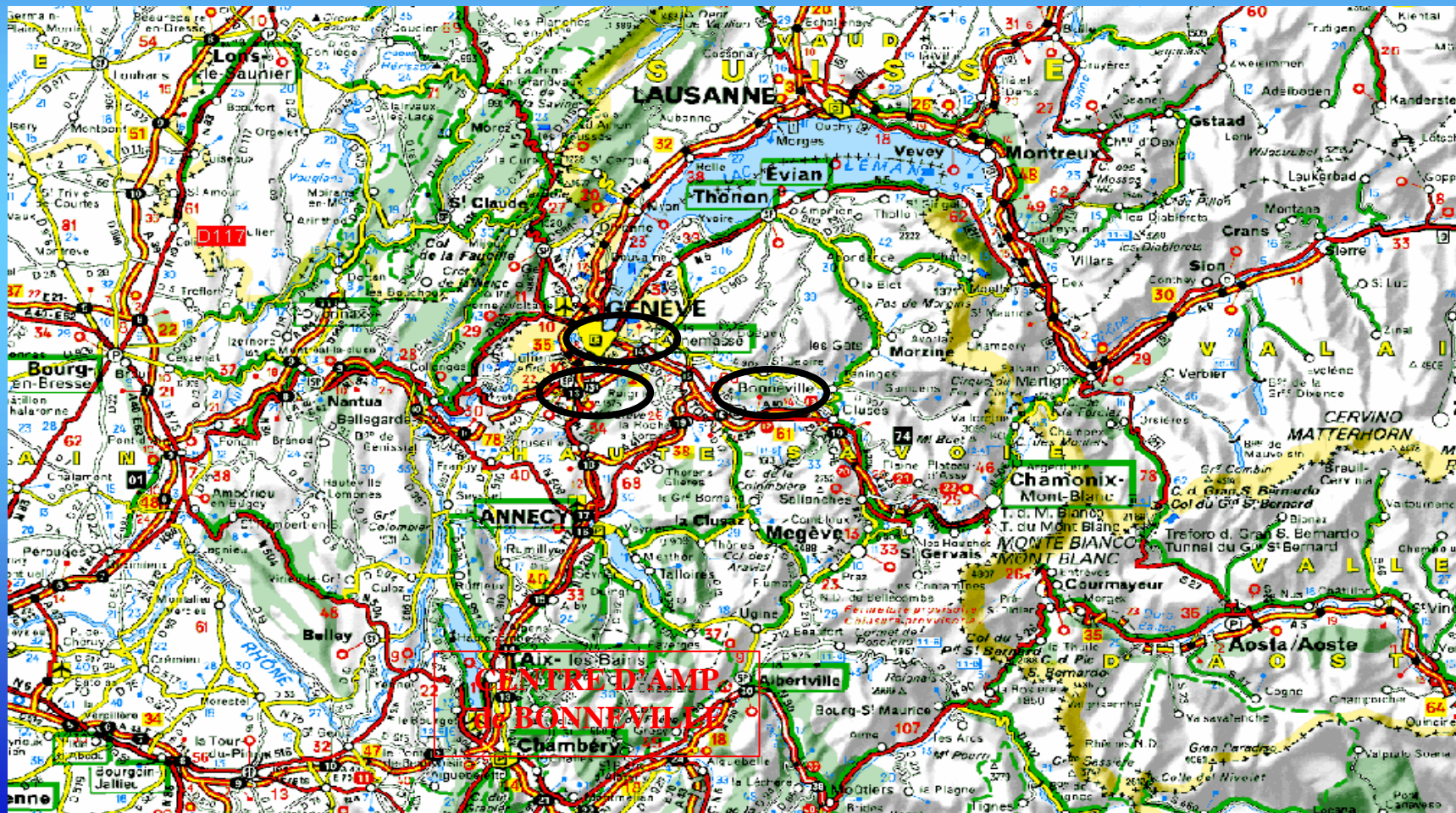


Centre Hospitalier
Intercommunal d'Annemasse-
Bonneville (CHIAB)



Laboratoire de Biologie
Baltassat-Lucas

Localisation des 3 entités participant à la formation



Conclusions

Importance du modèle Microcèbe pour la recherche et la Formation bio-médicale.

Attente de la communauté scientifique et médicale pour l'apparition d'un modèle adapté en reproduction humaine

Nombreux débouchés en recherche fondamentale