

Gamètes et VIH/VHC

H. Lucas

15/04/01

[Cliquez ici pour démarrer](#)

Table des matières

[Diapositive PPT](#)

[Diapositive PPT](#)

[Diapositive PPT](#)

[Diapositive PPT](#)

[VIH et SPERME](#)

[Diapositive PPT](#)

[VHC et FOLLICULES OVARIENS](#)

[La loi sur les PMA et la prise en charge des couples sérodifférents](#)

[Diapositive PPT](#)

14.08.2001



Gamètes et VIH / VHC

Hervé LUCAS

Clinique de stérilité et de gynécologie endocrinienne,
Hôpitaux Universitaires de Genève

CLS Clinique de La Source

HUG
Hôpitaux Universitaires de Genève

Diapositive 1 sur 30



➔ Spermatozoïdes humains et virus :

- Séquences du génome du virus de l'hépatite B intégrées dans les noyaux des spermatozoïdes et des cellules séminales.

Hadchouel et al., J. Med. Virol., 1985; 16 : 61-66

- Séquences des HPV types 16 et 18 identifiées à partir de spermatozoïdes d'hommes infertiles.

Lai et al., Fertil. Steril., 1996; 65 : 1026-1030

Pao et al., Fertil. Steril., 1996; 66 : 630-633

- DNA des virus Herpes simplex I et II dans les spermatozoïdes d'hommes fertiles, infertiles, HIV+.

Kotronias et Kapranos, In Vivo, 1998; 12 : 391-394

Bobroski et al., J. Reprod. Immunol., 1998; 41 : 149-160



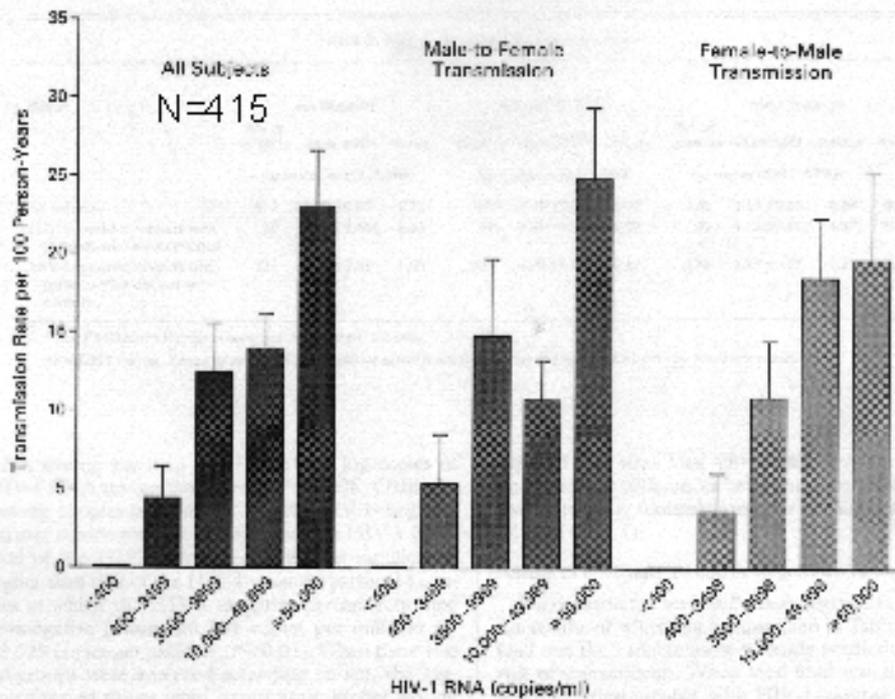
→ Le Virus HIV :

- Virus à ARN : rétrovirus
- Possède une reverse transcriptase (ADN proviral) et peut donc s'intégrer dans le génome des cellules permissives.
- Récepteur CD4 et les co-récepteurs CXCR4 (LT) CCR5 (macrophages). GalactosylCéramide like receptor ?
- Aucun vaccin existant à ce jour



➤ Charge virale et transmission hétérosexuelle de HIV-1

Quinn et al., N. Engl. J. Med., 2000; 342 : 921-929



MAIS... ,
situation *in vivo* !

Figure 1. Mean (±SE) Rate of Heterosexual Transmission of HIV-1 among 415 Couples, According to the Sex and the Serum HIV-1 RNA Level of the HIV-1-Positive Partner.
At base line, among the 415 couples, 270 male partners and 187 female partners were HIV-1-positive. The limit of detection of the assay was 100 HIV-1 RNA copies per milliliter. For partners with fewer than 400 HIV-1 RNA copies per milliliter, there were zero transmissions.

Pas de contamination quand CV < 1500 copies / ml



VIH et SPERME

Diapositive 5 sur 30



➔ Controverse sur la présence du VIH dans les SPZ :

➤ Localisation du virus HIV dans les spermatozoïdes en ME.

Baccetti et al., J. Submicr. Cytol. Pathol., 1991; 23 : 339-345

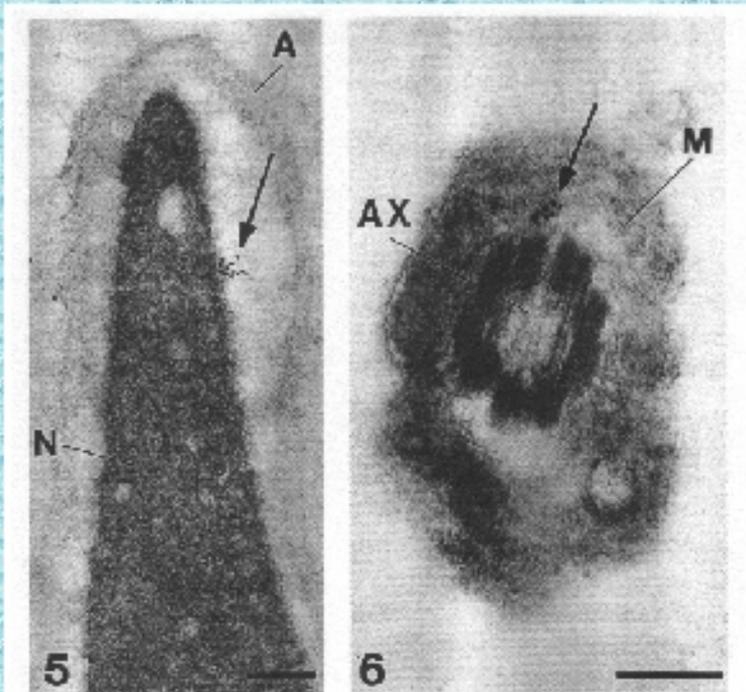
Dussaix et al., Res. Virol., 1993; 144 : 487-495

Baccetti et al., J. Cell. Biol., 1994; 127 : 903-914



Figs. 1 and 2: Transmission electron micrographs of HIV-like particles in the cytoplasm surrounding the midpiece region of spermatozoa from seronegative donors, *in vitro* incubated with HIV-1. **Fig. 1** shows a viral particle (arrow) with a dense core, devoid of membrane

coat. **Fig. 2** shows a viral particle (arrow) with a dense nucleoid, truncated cone shaped, and surrounded by a membrane coat. M, mitochondria. Bar = 0.1 μ m.



Figs. 5 and 6. Immunogold labeling of HIV-1 RNA by *in situ* hybridization using a biotinylated-DNA probe. Gold particles label the viral RNA (arrows) in the perinuclear region of HIV-1-incubated spermatozoa from seronegative men (Fig. 5) and in the mitochondrial helix of a spermatozoon from HIV-1-infected patients (Fig. 6). A, acrosome; N, nucleus; AX, axoneme; M, mitochondria. Bar = 0.2 μ m.

Localisation du virus en ME :

- région périnucléaire,
- les mitochondries,
- la pièce intermédiaire

➤ Transmission à l'ovocyte



➔ Hypothèse sur le mode d'entrée du virus HIV dans les cellules séminales :

- Les cellules neuronales (CD4⁻) infectées par le HIV en l'absence de blocage des GalactosylCeramide (GalCer).

Harouse et al., Science, 1991; 253 : 320-323

- Présence de GalCer sur les membranes des cellules séminales (segment équatorial et pièce intermédiaire), et absence sur les cellules de Sertoli.

Brogi et al., 1995; 1996; 1998.

Critiques :

- ➔ **Contaminations expérimentales**
- Résultats non reproduits par d'autres équipes**
- Critiques méthodologiques**



Apparition des techniques PCR sperme :

- ADN proviral jamais détecté dans les spermatozoïdes ou les cellules de la lignée.
- ADN proviral retrouvé dans les lymphocytes et les macrophages.

Quayle et al., J. Infect. Dis., 1997; 176 : 960-968

Brécharé et al., Contracept. Fertil. Sex., 1997; 25 : 389-391

Problèmes méthodologiques lors des PCR ?

- Préparation des spermatozoïdes :
- ADN proviral = 0 / 78) ARN Viral = 2 / 78

Leruez-Ville et al., Séminaire ANRS, Paris, Mars 2001



➔ Compartiment sanguin vs génital :

➤ Corrélation relative entre le taux de CD4 et la CV plasmatique, et la CV du plasma séminal ainsi que l'isolement du virus à partir des cellules du sperme

➤ La concentration de VIH dans le sperme est corrélée avec l'infectiosité. Elle est fonction de l'état immunitaire de l'homme

Vermazza et al., AIDS, 1994; 8 : 1325-1329

Vermazza et al., AIDS, 1997; 11 : 1058-1059



Préparation des spermés de 52 patients VIH+ par la technique du Gradient de Percoll deux couches :

Tachet et al., AIDS, 1999; 13 : 823-831

- ARN viral+
pour 86 % des plasma sanguins,
pour 15 % des fractions spermatisques préparées
- ADN proviral+
pour 57 % des fractions non spermatisques
pour 1/26 fraction SPZ (3 copies / M SPZ)

➤ La charge virale du sperme diminue sous traitement tout comme la charge virale plasmatique

Vernazza et al., AIDS, 1997; 11 : 987-993

Vernazza et al., AIDS, 1997; 11 : 1249-1254

Gilliam et al., JAIDS, 1997; 15 : 54-60



➤ Notion de réservoir génital pour le HIV

Tachet et al., AIDS, 1999; 13 : 823-831

Pour les couples sérodifférents pour le VIH et désirant un enfant :

➤ Les différents traitements n'ont probablement pas le même effet sur le compartiment séminal.

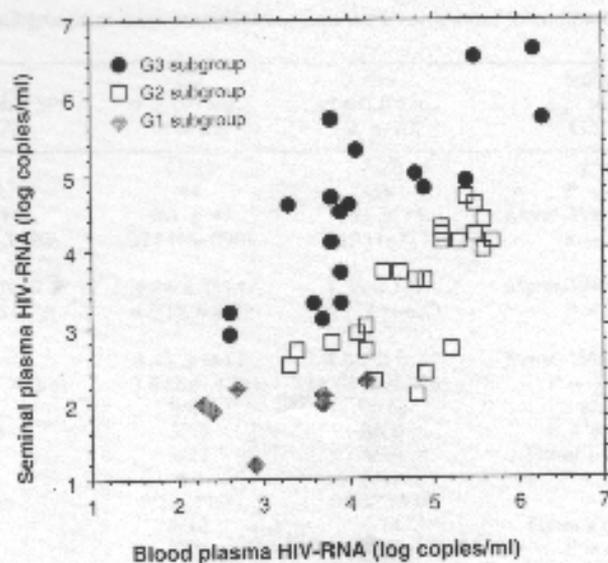


Fig. 1. Correlation ($r^2 = 0.56$; $P < 0.0001$, Spearman's rank correlation) between HIV RNA levels in blood plasma and seminal plasma. The three subgroups of men, G1 (undetectable seminal plasma HIV RNA), G2 (d value $> 0.6 \log_{10}$) and G3 (d value $\leq 0.6 \log_{10}$) are shown.



The European MaxSemen Substudy (ritonavir/indinavir vs ritonavir/saquinavir)



CONCLUSION

Un doute subsiste sur la présence intra-spermatique de particules virales. Le spermatozoïde un « vecteur » ?

Objectif : Eliminer au maximum le risque

Les PMA ?



Les assistances à la procréation quand l'homme est VIH+ :

- 1- Rapports au moment de l'ovulation**
- 2- Les Inséminations artificielles (IAC)**
- 3- La FIV avec micromanipulation (ICSI)**



→ Les rapports non protégés au moment de l'ovulation :

Mandelbrot et al., Lancet, 1997; 349 : 850-851.

68 conceptions dont 17 après un rapport unique

Aucune séroconversion des enfants à 3 mois

4 femmes contaminées : 2 au 7^e mois de grossesse, et deux en post-partum (utilisation non systématique du préservatif)

à l'époque : aucune autre stratégie de prise en charge à proposer aux couples sérodifférents.



Technique de préparation des spermatozoïdes pour PMA cas viraux :

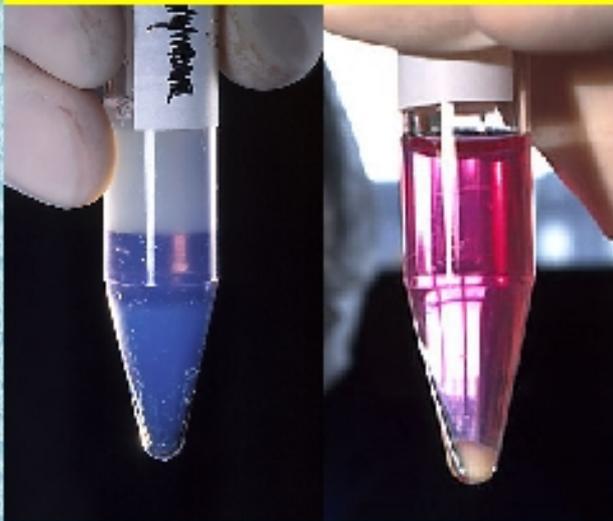
Cumul de deux techniques de préparation :

Gradient

Migration

PS 90/45 %

Ascendante



➤ **Le gradient de densité**
(Percoll, PureSperm)

➤ **La migration ascendante**
(swim-up)



→ **IAC** chez les couples sérodifférents pour le HIV et dont l'homme est HIV+

- Taux de grossesse / cycle IAC = 14-18 %
- Plus de 2000 IAC réalisées à ce jour
- Aucune séroconversion de la mère ou de l'enfant

Gilling-Smith, AIDS, 2000; 10 : 581-587

Semprini et al., Hum. Reprod., 1998; 13 suppl 1 : 89

Marina et al., Fertil. Steril., 1998; 70 : 35-39

Bujan et al., Séminaire ANRS, Paris, Mars 2001

Brécharad et al., Contracept. Fertil. Sex., 1997; 25 : 389-391

Rassurant pour la prise en charge des couples sérodifférents. Certains groupes ont des populations sélectionnées (Bujan et al.)



➤ Préparation des spermatozoïdes pour IAC :

Pasquier et al., AIDS, 2000; 14 : 2093-2099

Bujan et al., Séminaire ANRS, Paris, Mars 2001

	Cellules sperme natif		Cellules de la fraction 50%		Cellules de la fraction finale	
	ADN	ARN + ADN	ADN	ARN + ADN	ADN	ARN + ADN
VIH	14/272	22/272	14/269	14/266	0/224	0/256
	5,2%	8%	5,2%	5,3%	0%	0%

Résultats sur une sous-population sélectionnée :
CV plasmatique toujours < 3000 copies/ml et stable.



➔ ICSI chez les couples sérodifférents et dont l'homme est HIV+

➤ 1ère ICSI publiée

Marina et al., Fertil. Steril., 1998; 70 : 35-39

➤ 2 ICSI sans contamination de la mère et des enfants

Loutradis et al., Fertil. Steril., 2001; 75 : 210-212

➤ 68 couples, 97 ICSI, 92 TE et 34 Grossesses dont 22 évolutives

24 couples ont eu un enfant ou ont une grossesse évolutive

A ce jour aucune séroconversion des mères ou des enfants

➤ *De Almeida et al., Séminaire ANRS, Paris, Mars 2001*



→ CONCLUSION pour la prise en charge en PMA des couples sérodifférents dont l'homme est VIH+

Ne prendre en charge que les patients ayant un bon pronostic pour leur maladie (loi LPMA). Bilan de santé multidisciplinaire indispensable.

La PMA permet de diminuer le risque de transmission à la mère et/ou à l'enfant.

Tester systématiquement la fraction spermatique sélectionnée, en PCR (ARN et ADN proviral).

Utiliser la technique de PMA la plus adaptée : IAC ou ICSI (d'autant que patients VIH+ ont souvent un hypogonadisme relatif).



VIH et FOLLICULES OVARIENS

Diapositive 21 sur 30



Baccetti et al., JAIDS, 1999; 21 : 355-361

➔ Infection in vitro d'ovocytes par le VIH :

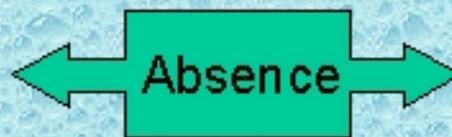
PCR, TEM, Immunocytochimie



Pas de virus retrouvé

➔ Recherches de récepteur/co-récepteurs pour le VIH :

OVOCYTES
et
CELLULES
FOLLICULAIRES



CD4,
CCR5, CXCR4,
GalCer



→ **CONCLUSION** pour la prise en charge des couples sérodifférents dont la femme est VIH+

Importance du pronostic de la maladie. Bilan de santé multidisciplinaire indispensable.

FERTILITE
NORMALE



Auto-insémination
vaginale du sperme
(recueil spécifique)



Risque de la
transmission à l'enfant

INFERTILITE



Bilan et PMA si
nécessaire



Laboratoire de PMA adapté





➔ **Le Virus de l'hépatite C :**

- Virus à ARN de 10 000 nucléotides
- Ne possède pas de reverse transcriptase et ne peut donc pas s'intégrer dans le génome de la cellule infectée
- Aucun vaccin existant à ce jour
- Prévalence estimée : 0,5-1% de la population : 600 000 en France, 35-100 000 en Suisse.
- Recherches sur VHC et Fertilité-PMA, risques de transmission moins avancées. Technique PCR fiable !
- Charge virale plasmatique bp plus élevée que pour HIV
(précautions laboratoire +++, cas de contamination décrits en PMA)



VHC et SPERME

Table 2 Genotype and HCV RNA quantitation in serum and semen

Patients	Genotype	HCV RNA by PCR in serum	HCV RNA by Monitor (eq/ml)	HCV RNA in spermatozoa by PCR	HCV RNA in seminal fluid by PCR
1	1b	+	780 000	-	-
2	3a*	-	ND	-	-
3	3a*	-	ND	-	-
4	3a	+	210 000	-	-
5	3a*	-	ND	-	-
6	1a	+	1 010 000	-	-
7	4a	+	11 000	-	-
8	1a	+	475 000	-	-
9	3a	+	200 000	-	-
10	1b	+	<2000	-	-
11	3a	+	180 000	-	-
12	1a	+	180 000	-	-
13	1a	+	540 000	-	-
14	1b	+	105 000	-	-
15	1a	+	195 000	-	-
16	3a	+	335 000	-	-
17	1a	+	450 000	-	-
18	1b	+	320 000	-	-
19	1a	+	200 000	-	-
20	1a	+	115 000	-	-
21	1b	+	160 000	-	-
22	3a	+	350 000	-	-
23	1a/2a	+	125 000	-	-
24	1b	+	530 000	-	-
25	1b	+	310 000	-	-

* genotype was determined prior to initiating treatment.

➤ Spermes de 25 patients HCV+ :

Debono et al., Liver, 2000; 20 : 257-261

Aucun sperme +

Problème des inhibiteurs de PCR



➤ Préparation des spermatozoïdes pour IAC :

Bujan et al., Séminaire ANRS, Paris, Mars 2001

	Plasma séminal	Cellules sperme natif	Cellules de la fraction 50%	Cellules de la fraction finale
ARN	15/95	0/102	0/94	0/67
VHC	15,8%	0%	0%	0%

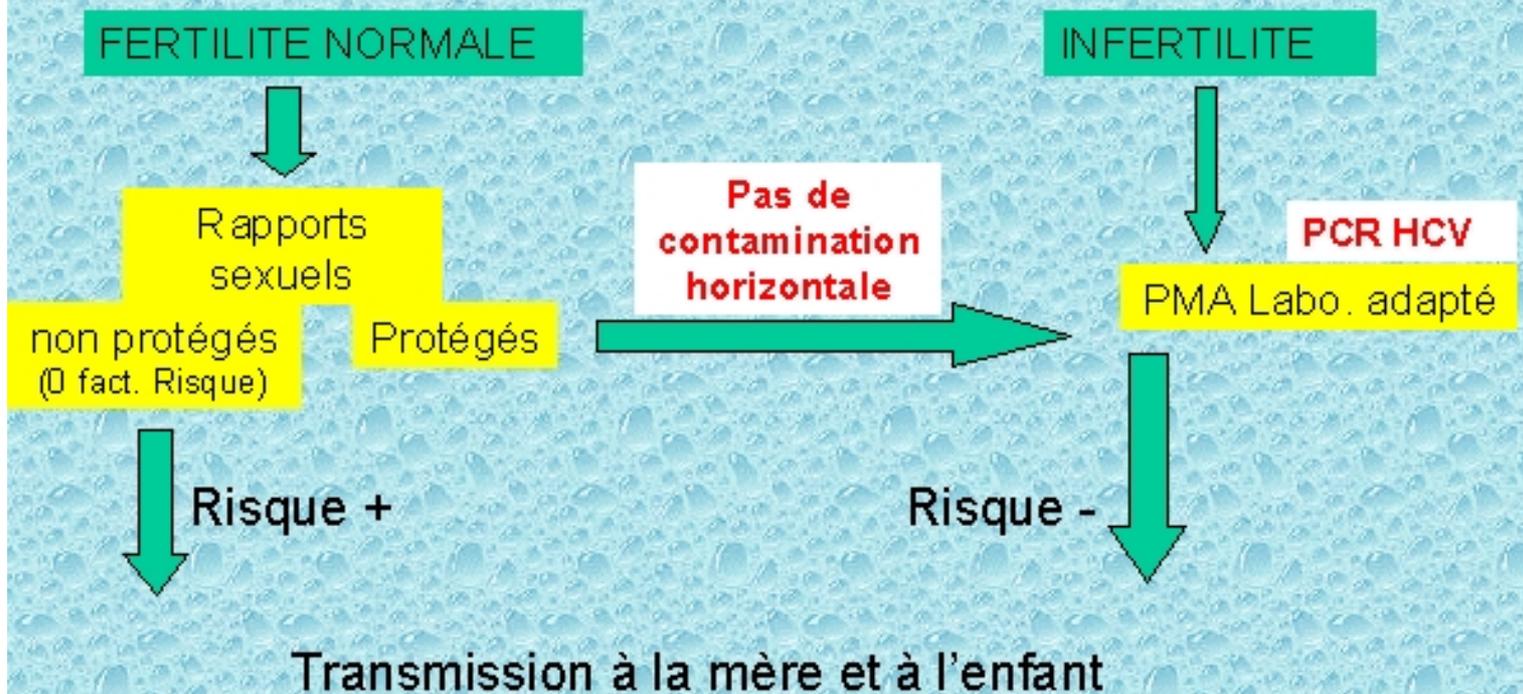
Lévy et al., Hum. Reprod., 2000; 15 : 810-816

	Plasma séminal	Cellules sperme natif	Cellules de la fraction finale
ARN	2/39	2/39	0/39
VHC	5 %	5 %	0%



➔ **CONCLUSION** pour la prise en charge des couples sérodifférents dont l'homme est VHC+

Importance du pronostic de la maladie. Bilan de santé multidisciplinaire indispensable.



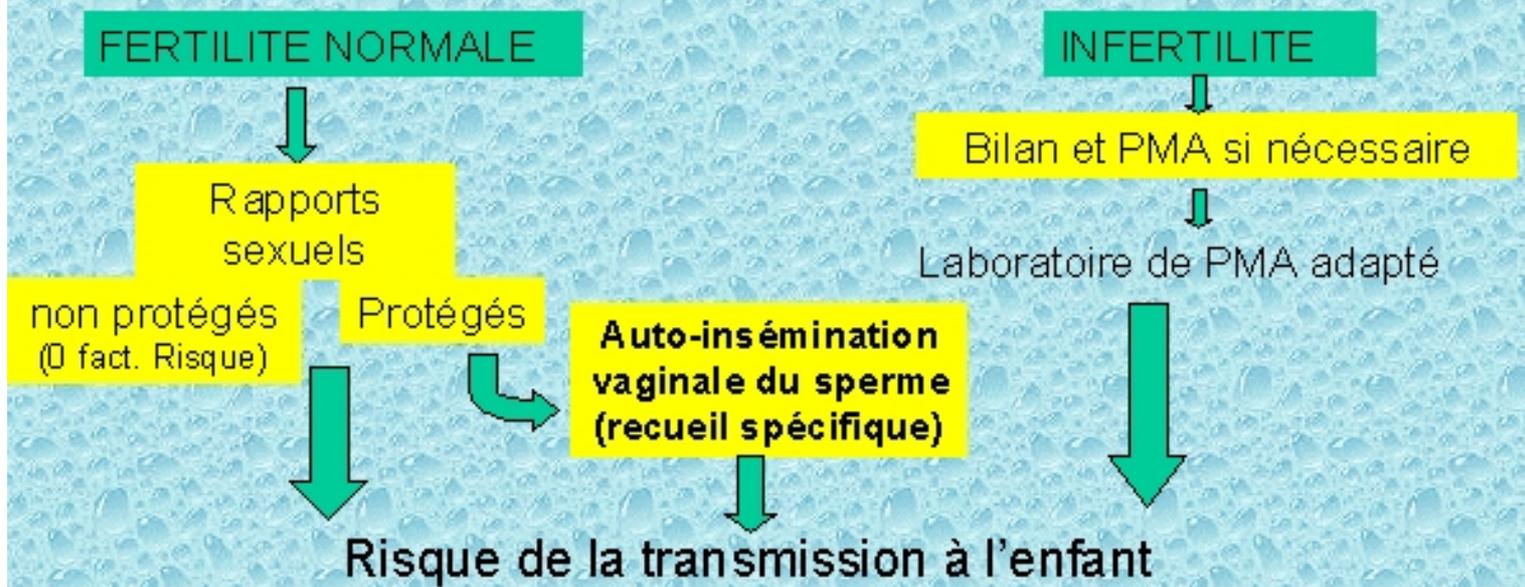


VHC et FOLLICULES OVARIENS

Aucune publication à ma connaissance...

➔ **CONCLUSION** pour la prise en charge des couples sérodifférents dont la femme est VIH+

Importance du pronostic. Bilan de santé multidisciplinaire indispensable.



Diapositive 28 sur 30



La loi sur les PMA et la prise en charge des couples sérodifférents

“ la PMA n’est autorisée que : (a) si elle permet de remédier à la stérilité d’un couple et que les autres traitements ont échoués ou sont vains, ou (b) si le risque de transmission d’une maladie grave et incurable aux descendants ne peut être écartée d’une autre manière (art. 5) ”.

“ la PMA est réservée aux couples qui, en considération de leur âge et de leur situation personnelle, paraissent être à même d’élever l’enfant jusqu’à sa majorité ”)



PRISE EN CHARGE DES COUPLES A RISQUE VIRAL EN PMA

Site : Centre de PMA, Clinique de la Source, Lausanne

Laboratoire spécifique : matériel, méthodologies, personnel

Prise en charge multidisciplinaire : HUG-CLS

Infectiologie : Drs C. JACCARD, J.P. CHAVE (CLS), Pr B. HIRSCHTEL (HUG)

Virologie : Drs L. PERRIN, S. YERLI, (HUG) , Laboratoire Virologie St Etienne

Andrologie-Labo PMA : Mr S. EL MATRIBI (CLS), Dr H. LUCAS (HUG-CLS)

Gynécologie : Dr D. CHARDONNENS (HUG-CLS), Dr B. BOURRIT (CE)

Obstétrique : Dr O. IRION (HUG) → Pédiatres

Objectifs : Donner une solution aux couples concernés par les VIH et VHC.

Développer les recherches dans ce domaine.