

Les grands principes de l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP)

**Nathalie Massin,
Hélène
Bry-Gauillard,
Olivier Mialon**

Unité d'AMP
Service de
Gynécologie-Obstétrique
Université Paris 12
Centre Hospitalier
Intercommunal
40 avenue de Verdun
94000 Créteil
E-mail : nathalie.massin@
chicreteil.fr

Mots clés :
infertilité, assistance
médicale à la procréation,
insémination intra utérine,
fécondation *in vitro*,
injection intra
cytoplasmique
de spermatozoïde.

Une enquête récente de l'Ined-Inserm constate que : moins patients et plus actifs dans leurs démarches, les couples font davantage appel à la médecine pour faire des enfants [1] et qu'entre 5 et 6 % des naissances surviennent après un traitement médical, dont un tiers grâce à une Fécondation *In Vitro* (FIV), alors que les taux de succès des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) sont autour de 20 % seulement, toutes techniques confondues. La moitié des couples consultent dès la première année d'infécondité et 20 000 nouveaux couples sont pris en charge chaque année en France.

Schématiquement pour 10 femmes, l'étiologie mise en cause est uniquement féminine pour 3, uniquement masculine pour 2, d'origine mixte (masculine et féminine associée) pour 4 et une fois sur 10 inexpliquée. Les grands facteurs influençant la fertilité sont bien connus : l'âge de la femme (nette baisse après 35 ans) [2, 3], la sexualité plus ou moins active du couple, les maladies sexuellement transmissibles responsables de pathologie tubaire, les toxiques dont le tabac (fécondité spontanée réduite de 15 %) [4] et enfin la durée d'infécondité qui a un rôle pronostique très important. Après 1 an d'infertilité, 80 % des couples conçoivent dans l'année qui suit contre 43 % après 2 ans, le temps sélectionnant les couples les moins fertiles.

L'exploration minutieuse du couple est le préliminaire indispensable à la prise en charge en AMP puisque de l'étiologie dépendra la ligne de traitement [5]. A moins de l'existence évidente d'un trouble du cycle,

ou d'un antécédent significatif, il est recommandé d'attendre un an de rapports sexuels réguliers avant de débiter les explorations. Ce délai est modulé en fonction de l'âge de la femme. Une investigation complète porte sur 3 grands axes : l'évaluation de la perméabilité tubaire, de l'ovulation et de la qualité du sperme.

L'évaluation tubaire et spermatique sont facilement réalisées respectivement par une hystérosalpingographie, à laquelle on pourra associer un dépistage sérique du *Chlamydiae trachomatis*, et un spermogramme spermoculture réalisé de préférence dans un laboratoire agréé pour l'AMP. Outre l'interrogatoire sur la régularité des cycles menstruels et la réalisation d'une courbe de température si possible, l'évaluation de la fonction ovulatoire, souvent négligée, nécessite au minimum des dosages hormonaux de début de cycle et une échographie pelvienne. Les dosages hormonaux doivent être effectués entre le 2^{ème} et le 5^{ème} jour du cycle, idéalement au 3^{ème}, et comportent FSH, LH, œstradiol et prolactine, complétés par une TSHus. Le dosage des androgènes ovariens D4-androstènedione et/ou testostérone sera effectué en présence de signes cliniques d'hyperandrogénie, auquel pourra être associé un dosage de la 17-hydroxyprogestérone de base et après synacthène en cas d'hyperandrogénémie, à la recherche d'un bloc en 21-hydroxylase à révélation tardive. L'échographie pelvienne, quant à elle, pourra être réalisée en fin de phase folliculaire (12^{ème} jour du cycle) pour vérifier la maturation folliculaire et la bonne imprégnation hormonale de l'endo-

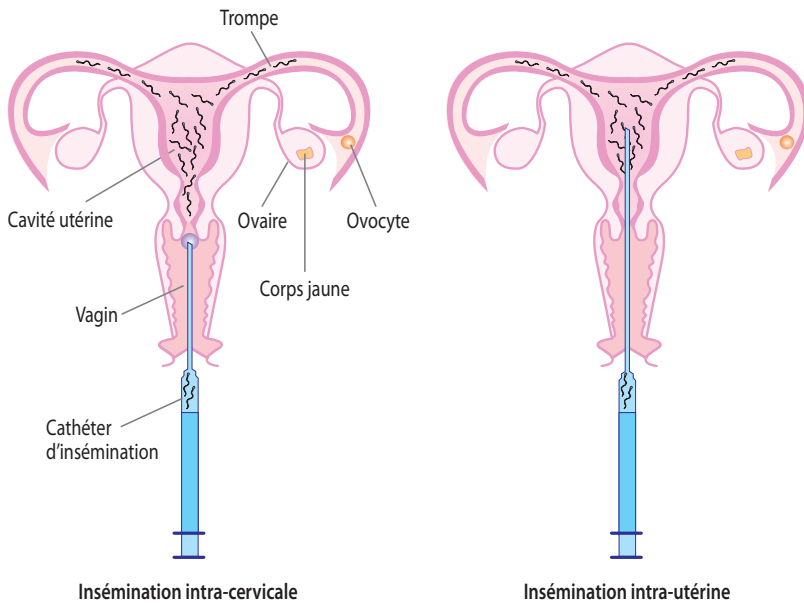


Figure 1. Principe de l'insémination intracervicale et intra-utérine

mètre pour une patiente qui présente des cycles réguliers, ou en début de cycle dans le cas contraire pour évaluer le nombre de petits follicules présents sur les ovaires, permettant une évaluation de la « réserve ovarienne ». Enfin, l'exploration pourra être complétée par la réalisation d'un test de Hühner, ou test post coïtal, qui consiste en un prélèvement de glaire endocervicale en phase ovulatoire 4 à 12 h après un rapport sexuel. Il évalue la qualité de la glaire cervicale et le nombre de spermatozoïdes progressifs. Il est considéré positif, selon les normes de l'OMS, si l'on retrouve plus de 5 spermatozoïdes fléchants par champs à l'objectif 400, et n'a de valeur pronostique que si le couple présente une infertilité de moins de 3 ans.

C'est seulement après cette phase d'exploration que la stratégie de prise en charge pourra être adaptée à l'étiologie de l'infertilité et discutée avec le couple [5]. En cas d'infertilité idiopathique, elle se fera sur la base d'une escalade thérapeutique maîtrisée (des techniques les plus simples et moins coûteuses vers les techniques lourdes) et adaptée au contexte, tel que la durée d'infertilité et l'âge de la femme.

Accès à l'AMP

L'activité d'AMP est une activité réglementée et, à l'exception des stimulations ovariennes simples, les traitements doivent être réalisés par un clinicien agréé pour la technique, en collaboration avec un laboratoire de Biologie de la Reproduction, lui-même également agréé pour la technique en question.

Pour accéder à ces techniques, les couples doivent remplir les conditions légales définies dans la loi de bioéthique de 2004 (consultable sur le site www.procreationmedicale.fr) qui sont : être un couple constitué d'un homme et d'une femme en âge de procréer, mariés ou vivants en concubinage depuis plus de 2 ans, et vivant et donnant leur consentement au jour de l'acte. Les conditions sanitaires préalables sont la vérification des sérologies TPHA/VDRL, HIV, hépatite B et C.

En cas de séropositivité pour le virus du VIH, d'une hépatite B ou d'une hépatite C active, et si une AMP est nécessaire, ces couples doivent être pris en charge dans des centres de biologie de la reproduction agréés pour le risque viral.

Les couples peuvent bénéficier d'une prise en charge à 100 % pour l'exploration et les traitements à partir de 2 ans d'infertilité. Le nombre de tentatives est limité à 6 inséminations et 4 ponctions d'ovocytes avec transfert embryonnaire, par enfant. Au-delà, le coût des traitements est à la charge du couple.

Les techniques d'AMP simples

Les techniques d'AMP dites simples permettent d'optimiser les chances de fécondation naturelle, *in vivo*, par opposition avec les techniques d'AMP lourdes où les gamètes sont récupérés et mis en contact pour une fécondation assurée *in vitro*.

La première ligne de traitement d'AMP est la stimulation ovarienne simple associée ou non à une insémination intra cervicale ou intra utérine (Figure1). En cas d'anovulation, on parle d'induction de l'ovulation. Le but de cette stimulation est en général triple : la correction d'un trouble de l'ovulation plus ou moins patent, l'augmentation des chances de grossesse par augmentation du nombre de follicules pré ovulatoires, et l'optimisation des chances de grossesse par un meilleur ciblage des rapports sexuels et/ou de l'insémination par rapport à l'ovulation.

Plusieurs produits sont disponibles :

- Le citrate de clomiphène (voie orale) : Clomid ou Pergotime, réservé aux patientes anovulatoires tout particulièrement dans le cadre d'un syndrome des ovaires polykystiques. Les taux d'ovulation rapportés sont de l'ordre de 75 à 80 % avec des taux de grossesse cumulés de 50 à 60 % après 6 cycles [6]. Par contre, il a été démontré que le citrate de clomiphène n'a pas d'intérêt pour les patientes normo-ovulantes [7, 8].

- La GnRH administrée de manière pulsatile avec une pompe pour injection sous cutanée ou intra veineuse (Lutrelaf®) dont l'indication princeps est l'hypogonadisme hypogonadotrope avec intégralité hypophysaire.

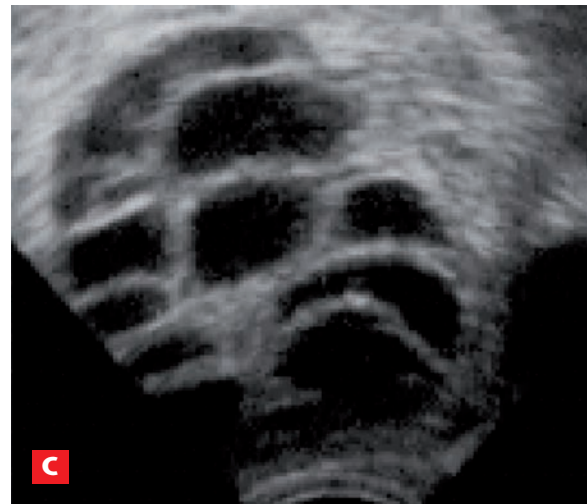
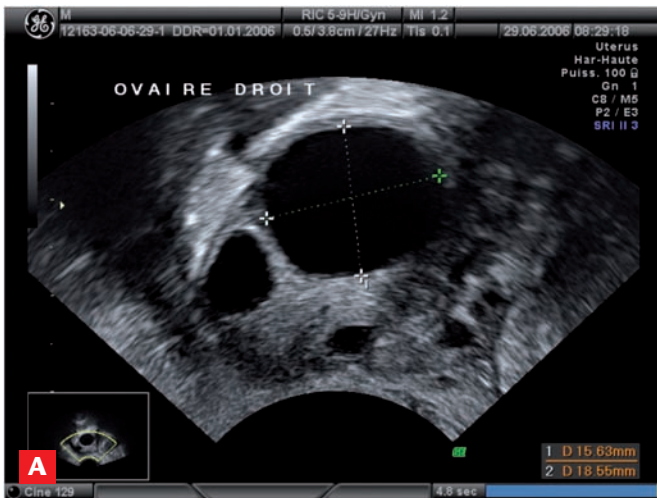


Figure 2. Monitoring échographique de la croissance folliculaire: dans le cadre d'une stimulation simple (fig a: développement monofolliculaire et fig b: bifolliculaire) ou avant FIV (fig c: développement multifolliculaire) et mesure de l'endomètre en fin de phase folliculaire (fig d).

– Les gonadotrophines (voie sous-cutanée) pour l'induction ou la stimulation de la croissance folliculaire : FSH recombinante (Gonal F[®], Puregon[®]), FSH urinaire (Fostimon[®]), HMG urinaire (Human Menopausal Hormon, mélange de FSH et LH extrait d'urines de femmes ménopausées, Ménopur[®]), LH recombinante (Luvéris[®]) [9].

– Les gonadotrophines chorioniques, HCG, à forte activité LH, pour déclencher l'ovulation (voie sous cutanée ou intra musculaire) : d'origine urinaire (Gonadotrophines Chorioniques Endo[®] 5000) ou recombinante (Ovitrelle[®]).

Les indications de la stimulation ovarienne simple sont la dysovulation ou l'anovulation isolées et l'infertilité idiopathique en première intention. Celle-ci sera associée à une insémination intra utérine en cas d'infertilité d'origine cervicale (glairade inadéquate, test de Hühner négatif), en cas d'infertilité masculine modérée : présence d'une oligo-asthénospermie (OATS) modérée avec plus d'un million de spermatozoïdes mobiles progressifs après préparation du sperme, ou enfin en cas de troubles sexuels, tels qu'une éjaculation rétrograde. Cette insémination avec le sperme du conjoint est le

plus souvent intra utérine avec injection du sperme préparé directement au fond de la cavité utérine par un cathéter souple, indolore et réalisé au cabinet en position gynécologique. Exceptionnellement, il est réalisée une simple insémination intra cervicale (Figure 1) avec dépôt du sperme dans une cupule fixée pour quelques heures sur l'extérieur du col, le temps de permettre aux spermatozoïdes de remonter le canal cervical. Cette technique est réservée aux indications sexuelles ou insémination avec sperme de donneur mais donnant de moins bon résultat que l'insémination intra utérine dans cette dernière indication.

Dans le cadre de ce type de stimulation, l'objectif du traitement est d'obtenir un développement pauci folliculaire, de 1 à 2 follicules pré ovulatoires, selon le terrain et les facteurs d'infertilité associés (Figures 2 a et b). Cet objectif folliculaire est déterminé pour équilibrer la balance bénéfice (augmentation des chances de grossesse) / risque (taux de grossesse multiple) [10].

Les techniques d'AMP lourdes

Ces techniques sont principalement constituées par la fécondation *in vitro* classique (FIV) ou la fécondation *in vitro* avec micro-injection ou ICSI (*Intra Cytoplasmic Sperm Injection*) où la fécondation est dite assistée. De cette dernière on peut également rapprocher l'IMSI (*Intracytoplasmic Magnified Sperm Injection*) qui est une ICSI réalisée avec une sélection de spermatozoïdes à très fort grossissement.

Indications

Le but de ce type d'AMP est la rencontre ex utero des gamètes mâles et femelles et l'assurance de l'existence d'une fécondation. Dans ce cas-là, ce sont des embryons et non des gamètes qui sont transférés dans l'utérus.

Les indications de la FIV sont la pathologie tubaire, dite définitive en cas de salpingectomie, l'endométriose moyenne à sévère (grade III et IV), l'OATS modérée avec un nombre total de spermatozoïdes après préparation entre 500 000 et 1 000 000, ou non, après échec de 4 à 6 cycles d'insémination intra utérine [11, 12].

En cas d'OATS extrême (moins de 500 000 spermatozoïdes après préparation) ou d'échec de fécondation en FIV classique, il est pratiqué une ICSI. Celle-ci est le plus souvent réalisée avec le sperme éjaculé frais ou après autoconservation (faite par exemple avant radio ou chimiothérapie) mais peut également être réalisée en cas d'azoospermie avec du sperme épidi-

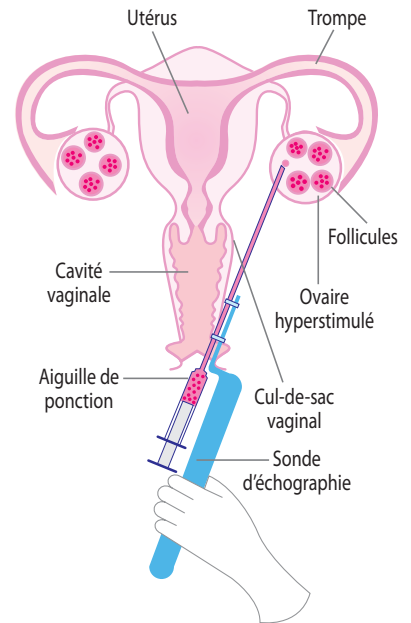
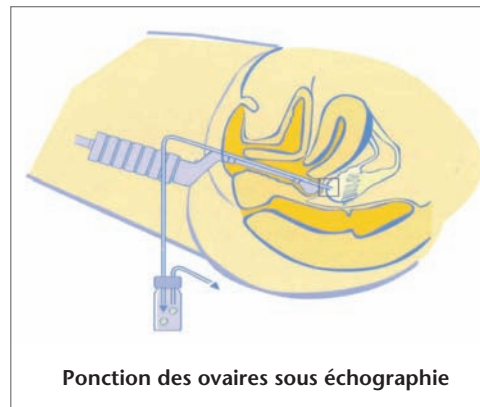


Figure 3. Ponction folliculaire.

dymaire (MESA) ou testiculaire (TESE, *testicular sperm extraction*). La ponction biopsie épидидymaire et/ou testiculaire est réalisée sous anesthésie générale soit de façon synchrone (le même jour que la ponction folliculaire), soit de façon asynchrone avant la stimulation ovarienne : les spermatozoïdes prélevés sont alors cryopréservés pour une utilisation ultérieure en ICSI.

Déroulement de la fécondation *in vitro*

La fécondation *in vitro* nécessite une hyperstimulation ovarienne contrôlée (Figure 2c) avec de fortes doses de gonadotrophines associées à un analogue du GnRH, agoniste ou antagoniste, afin d'éviter une ovulation spontanée et une perte des ovocytes avant le prélèvement. Les ovocytes sont prélevés par aspiration du liquide intra folliculaire, par voie vaginale, au bloc opératoire, sous contrôle échographique endovaginal, sous anesthésie locale (injection de xylocaïne dans les culs de sacs vaginaux) ou sous anesthésie générale (Figure 3). Le liquide folliculaire

maintenu à 37°C est ensuite examiné au laboratoire d'AMP pour comptabiliser les cumulus ovocytaires (ovocytes entourés des cellules de la granuloosa de la corona radiata). Les ovocytes sont ensuite soit inséminés simplement avec le sperme du conjoint préparé, dans du milieu de culture spécifique (FIV classique, Figure 4), soit traités en ICSI avec micro injection d'un spermatozoïde dans chaque ovocyte mature en métaphase 2 (Figure 5) après déconisation (extraction de l'ovocyte de son cumulus) (Figure 6).

L'embryon est observé aux différents stades de son développement (Figure 7) : à la recherche d'un clivage précoce, stade de zygote à J1, stade d'embryon à 4 cellules à J2, d'embryon 8 cellules à J3. Le transfert embryonnaire peut être réalisé à J2 ou J3 (Figure 8), voire exceptionnellement au stade de zygote, à J1 soit dès le lendemain de la ponction. Mais il peut également être réalisé après une culture prolongée qui consiste à attendre J5-J6 le stade blastocyste (Figures 7 et 9).

Juste avant le transfert embryonnaire, il peut être réalisé une éclosion assistée ou hatching qui consiste en

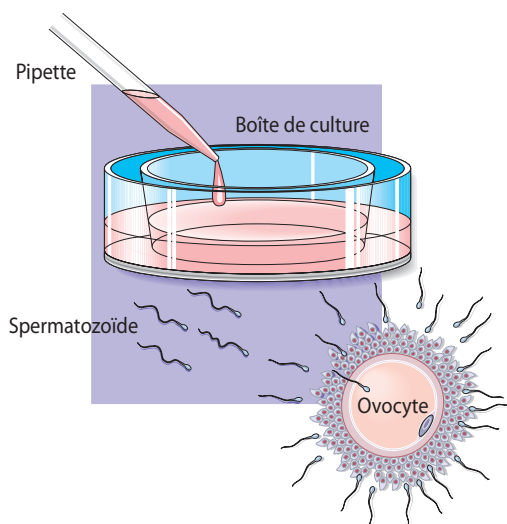


Figure 4. Fécondation *in vitro* classique.

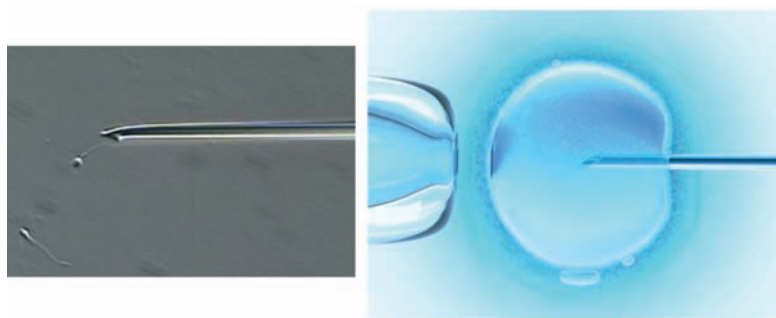
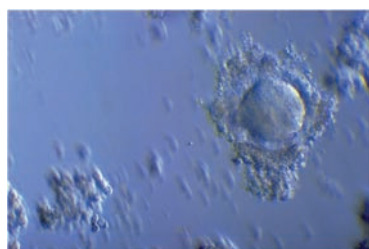
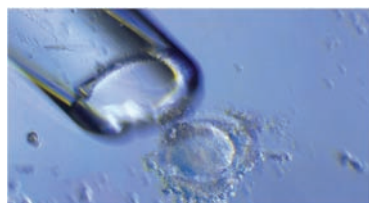


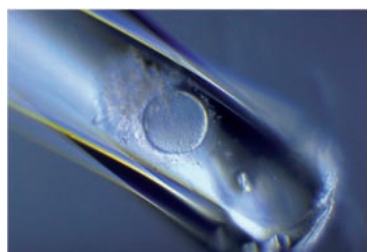
Figure 5. Fécondation *in vitro* avec microinjection (ICSI) : immobilisation d'un spermatozoïde suivi de son injection intracytoplasmique dans l'ovocyte.



Ovocyte entouré de la corona radiata



Aspiration de l'ovocyte dans la pipette



Détachement des cellules de la corona radiata

Figure 6. Fécondation *in vitro* avec microinjection (ICSI) : immobilisation d'un spermatozoïde suivi de son injection intracytoplasmique dans l'ovocyte.

une fragilisation de la zone pellucide entourant l'embryon, soit par action mécanique (pipette ou laser) soit par action chimique, afin de favoriser l'éclosion du blastocyste et l'implantation embryonnaire (Figure 10) [13].

Le nombre d'embryons transférés dans la cavité utérine dépend de l'âge de la femme, de l'étiologie de l'infertilité et de la qualité embryonnaire. Le nombre moyen d'embryon est globalement de 2, mais de plus en plus de centres, avec l'amélioration des techniques et des chances de grossesses, proposent des transferts mono embryonnaires dans les meilleurs cas afin d'éviter la survenue d'une grossesse gémellaire. A l'inverse, les patientes plus âgées avec plusieurs échecs de tentatives se verront proposées le transfert de 3 embryons.

Complications

Outre le risque de grossesse multiple, la principale complication des FIV/ICSI est le syndrome d'hyperstimulation ovarienne [14]. Cette complication est le plus souvent modérée avec des douleurs associées à des gros ovaires et un épanchement pelvien minime mais il existe des formes sévères avec ascite voir pleurésie et des formes très sévères exceptionnelles mais graves pouvant mener à la défaillance cardio-respiratoire. Quelle que soit l'intensité de l'hyperstimulation il existe un risque thrombo-embolique élevé (accidents veineux et artériels) qui nécessite une anticoagulation préventive systématique, indépendamment de la sévérité du syndrome. Les autres complications, en particulier de la ponction, telles qu'abcès ovarien, plaie vasculaire, ... sont exceptionnelles.

Cryopréservation des embryons surnuméraires

Si le couple dispose d'embryons surnuméraires, ceux-ci peuvent être conservés par congélation embryonnaire pour une réimplantation ultérieure. Ils permettent au couple d'avoir

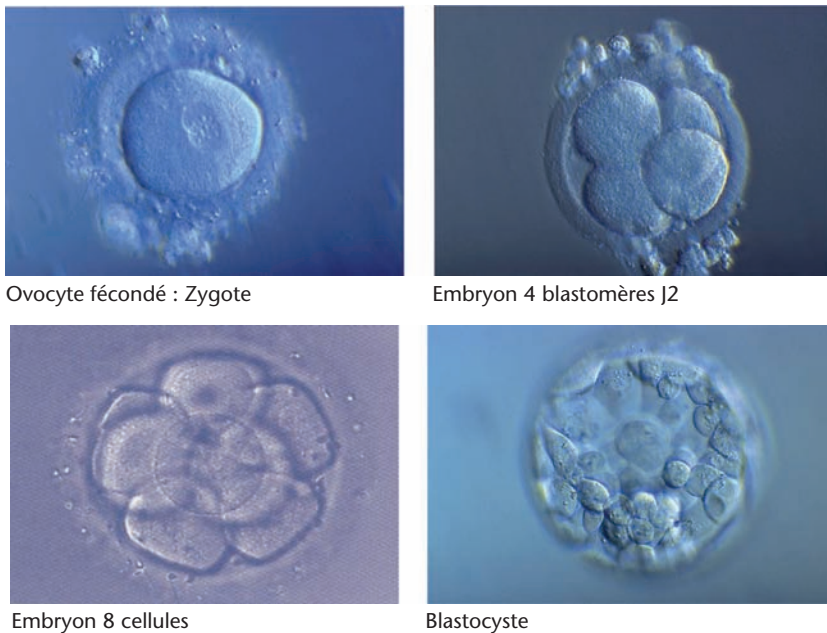


Figure 7. Les différents stades embryonnaires.

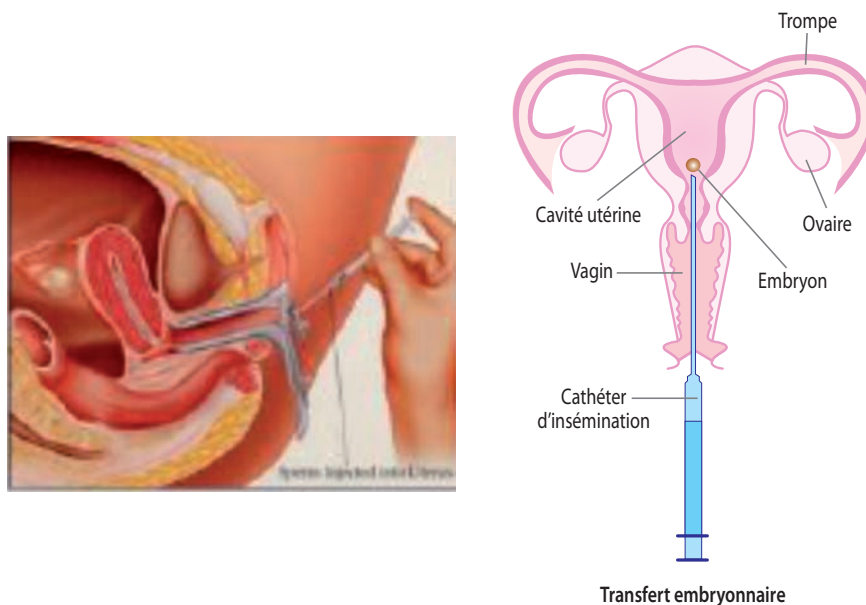


Figure 8. Transfert embryonnaire.

des chances de grossesse supplémentaires sur une même ponction d'ovocyte. Le traitement hormonal pour la réimplantation d'embryons congelés est nettement plus léger que lors d'un protocole de stimulation de FIV et vise principalement à préparer l'endomètre à la nidation.

Le couple est consulté chaque année sur le devenir des embryons congelés. En l'absence de poursuite du projet parental, le couple a la possibilité de demander la destruction des embryons cryoconservés, ou de faire don de ces embryons soit à la recherche, soit à un couple receveur.

Techniques de fécondation *in vitro* particulières

- La maturation *in vitro* ou MIV [15], consiste en la ponction d'ovocytes immatures, ne nécessitant pas ou peu l'usage de gonadotrophines. Les indications sont essentiellement les contre indications à l'hyperestrogénie (risque hématologique ou carcinologique) ou le risque d'hyperstimulation sévère pouvant mettre en jeu le pronostic vital, cas d'ovaires polykystiques très difficiles à stimuler. Dans ce dernier cas, on propose au préalable comme alternative un drilling ovarien qui consiste en la perforation à de multiples reprises des ovaires en coelioscopie et qui permet de réduire l'hyperandrogénie et le capital folliculaire, afin de simplifier la stimulation ovarienne [16].

La MIV est encore actuellement en cours d'évaluation. Elle est utile également dans le cadre de la préservation de la fertilité. Elle permet de maturer des ovocytes immatures prélevés avant chimiothérapie et de congeler les ovocytes ou les embryons obtenus (si la patiente est en couple) pour un projet parental ultérieur.

- Un diagnostic préimplantaire (DPI), peut être réalisé en cas de maladie génétique dont l'origine a été identifiée (maladie liée au sexe, anomalie caryotypique ou gène muté identifié) [15]. Le DPI est réalisé sur un embryon de 4 à 8 cellules, dont 1 ou 2 blastomères sont prélevés et analysés par FISH (fluorescence in situ hybridation) à la recherche de la pathologie cible (chromosomique ou génique). Les embryons sains et malades sont ainsi triés, afin d'effectuer le transfert et la conservation des seuls embryons sains.

Le DPI, réalisé seulement dans quelques centres agréés en France, est une alternative au diagnostic prénatal permettant de détecter une anomalie génétique avant même l'implantation embryonnaire. C'est l'article L.2131-4 du code de la santé publique qui précise que « *Le diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur*

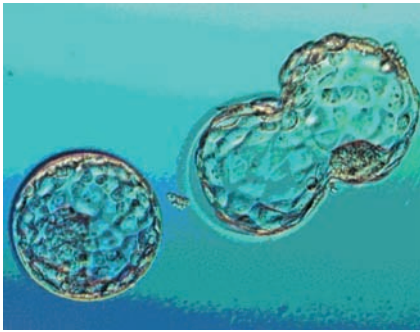


Figure 9. Lblastocyste et écloison.

l'embryon in vitro n'est autorisé qu'à titre exceptionnel » et dans le respect de certaines conditions.

Les conditions imposées au couple demandeur du DPI pour en bénéficier sont « *une forte probabilité de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic* ». A cet égard, devront être « *préalablement et précisément identifiée, chez l'un des parents ..., l'anomalie ou les anomalies responsables d'une telle maladie* ». Les deux parents doivent avoir consenti par écrit à la réalisation du diagnostic (article L. 2131-4 CSP).

Le don

En dernier recours, et en l'absence de possibilité de conception intra-conjugale, il peut être proposé au couple un don de gamètes, sperme ou ovocytes, ou un accueil d'embryon. Le couple est adressé dans un CECOS (Centre d'Etude et de Conservation des Œufs et du Sperme), les conditions légales sont identiques à une AMP classique. En revanche la démarche est validée par un entretien psychologique obligatoire et une reconnaissance anticipée de l'enfant établie devant le juge aux affaires familiales. En France, le don est gratuit et anonyme, et il existe une pénurie de gamètes, avec une demande nettement supérieure à l'offre, responsable de délais d'attente assez longs.

Les indications du don d'ovocytes sont l'insuffisance ovarienne prématurée, certaines anomalies chromoso-

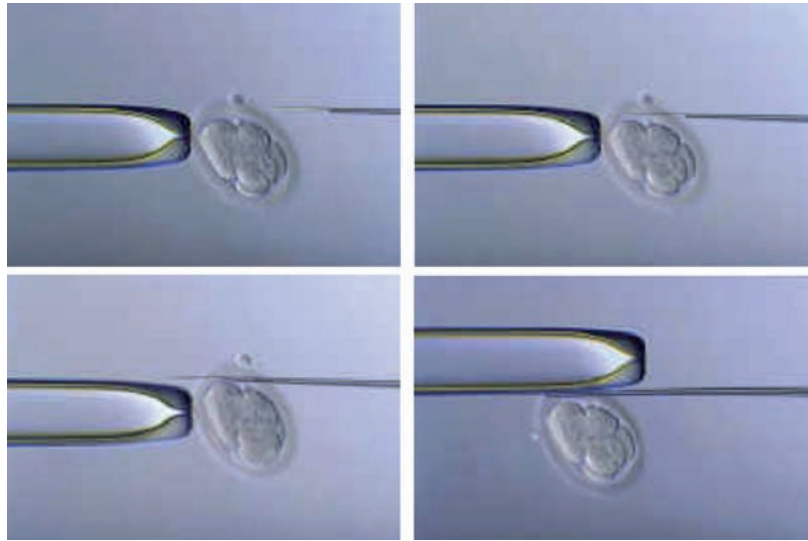


Figure 10. Ecloison assistée : Hatching.

miques ou génétiques, les échecs répétés de FIV/ICSI, une mauvaise qualité ovocytaire persistante. Les indications du don de sperme sont l'azoospermie sécrétoire (FSH élevée, atrophie testiculaire), les anomalies chromosomiques ou le risque de transmission d'une maladie génétique grave en cas d'impossibilité de réaliser un DPI ou de délai trop important. Le double don est interdit en France, dans ce cas il peut être proposé un accueil d'embryon.

Conclusion

Les techniques d'assistance médicale à la procréation évoluent et s'enrichissent grâce aux progrès scientifiques. Elles restent coûteuses et non dénuées d'effets secondaires et doivent être utilisées à bon escient par des équipes pluridisciplinaires compétentes et agréées. Ces techniques sont en France strictement encadrées par la loi de bioéthique révisée en 2004.

Les résultats restent médiocres dans certains cas, en particulier chez les femmes de plus de 38 ans, en cas d'insuffisance ovarienne prématurée ou encore dans certaines anomalies utérines responsables d'échecs d'implantation embryonnaire.

Il faut donc, malgré l'évolution de la société et de l'espérance de vie des femmes, continuer à informer les femmes afin qu'elles ne diffèrent pas trop tard leur désir d'enfant dans la mesure du possible ou qu'elles le fassent en connaissance de cause.

Références

1. de La Rochebrochard E, De la pilule au bébé éprouvette. Choix individuels ou stratégies médicales. Cahier INED, Paris, 2008, p. 264.
2. de la Rochebrochard E & Thonneau P, Hum Reprod 2002 ; 17:1649.
3. Leridon H & Slama R, Hum Reprod 2008 ; 23:1312.
4. Thonneau P, Contracept Fertil Sex 1993 ; 21:639.
5. Massin N et al, In :Traité d'Endocrinologie, P. Chanson et J. Young ed, Flammarion, Paris, 2008, chap 106
6. Brown J et al, Cochrane Database Syst Rev, 2009 ; 4:CD002249.
7. Cantineau AE et al, Cochrane Database Syst Rev 2007 ; 2:CD005356.
8. Hughes EG, Hum Reprod 1997 ; 12:1865.
9. Daya S & Gunby J, Cochrane Database Syst Rev 2006 ; 3:CD002810.
10. Bry-Gauillard H et al, Gynecol Obstet Fertil 2000 ; 28:820.
11. Forti G & Krausz C, J Clin Endocrinol Metab 1998 ; 83:4177.
12. Hargreave TB & Mills JA, BMJ 1998 ; 316:1438.
13. Mandelbaum J, In : Assistance médicale à la procréation. ESKA ed, Merviel, 2006, pp.145-171.
14. Aboulghar M, Reprod Biomed Online 2009 ; 19:33.
15. Ho PC, J Obstet Gynaecol Res 2009 ; 35:1.
16. Farquhar C et al, Cochrane Database Syst Rev, 2007 ; 3:CD001122.