GRECOT

Document
d'information

WOMN-1091533-0000/sticker - Août 2013

La préservation de la fertilité féminine

Pr Catherine POIROT – *Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris*
Dr Frédérique CARRE-PIGEON – *CHU Reims*
Pr Sophie CHRISTIN-MAITRE – *Hôpital Saint Antoine, Paris*
Dr Lise DURANTEAU – *Hôpital du Kremlin-Bicêtre*

MSD

MSD

Préambule

Depuis la fin des années 1990, des techniques de préservation de la fertilité sont proposées aux patientes avant un traitement altérant la fonction de reproduction, ou aux patientes qui vont présenter prématurément un arrêt de leur fonction ovarienne. Les moyens proposés font appel à des techniques déjà utilisées dans le cadre des hypofertilités de couple (Fécondation *in Vitro*) ou à des techniques nouvelles comme la congélation d'ovocytes (ou ovules) ou la congélation de tissu ovarien.

Le fonctionnement des ovaires 4

L'effet des traitements sur la fonction ovarienne 8

Les techniques de préservation de la fertilité féminine 12

- La congélation et la cryoconservation d'embryons
- La congélation et la cryoconservation d'ovocytes isolés
- La congélation et la cryoconservation du tissu ovarien

Glossaire 23

Le fonctionnement des ovaires

L'ovaire est l'organe qui contient les ovocytes ou ovules. La zone externe de l'ovaire s'appelle le cortex ovarien (figure 1).

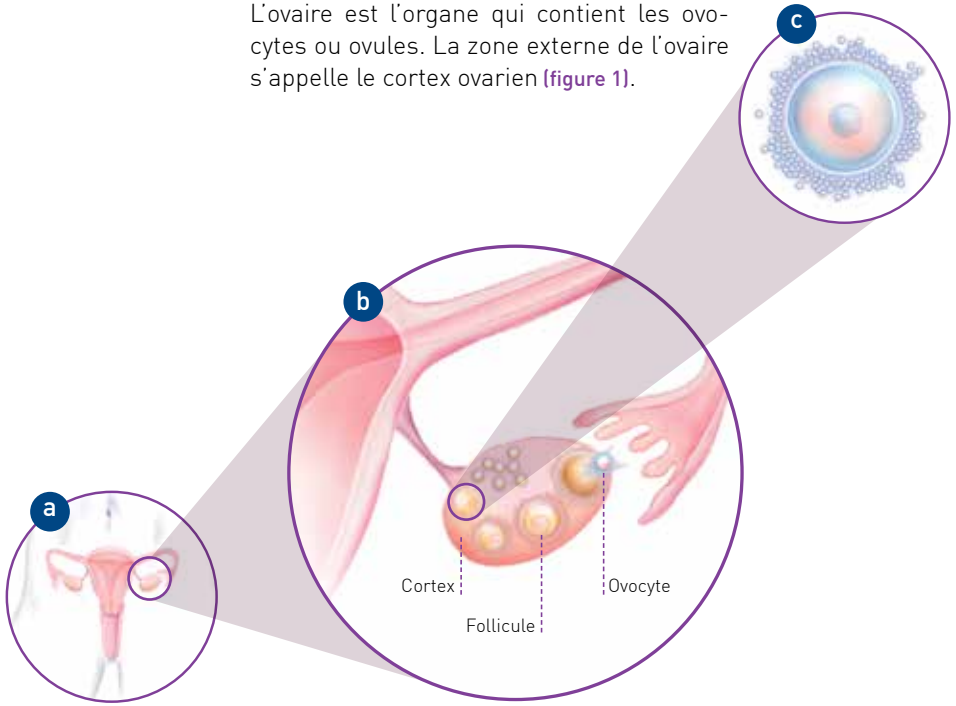


Figure 1 *Appareil génital féminin* a *, ovaire* b *, ovocyte au sein de l'ovaire* c

Les ovocytes sont les cellules de la reproduction qui vont donner naissance à l'embryon après leur fécondation par les spermatozoïdes. Dans l'ovaire, l'ovocyte est entouré de cellules et l'ensemble ainsi constitué est appelé "follicule" (figure 1). C'est au sein du follicule que se produit la maturation de l'ovocyte. Chaque follicule contient un seul ovocyte (figure 1).

Toutes les filles naissent avec un stock défini de follicules, donc d'ovocytes, qui diminue progressivement au cours de la vie, car les ovocytes ne se divisent pas.

Plus la patiente est jeune, plus le nombre de follicules dans ses ovaires est important (figure 2).

Le fonctionnement des ovaires est strictement lié à la présence des follicules dans les ovaires.

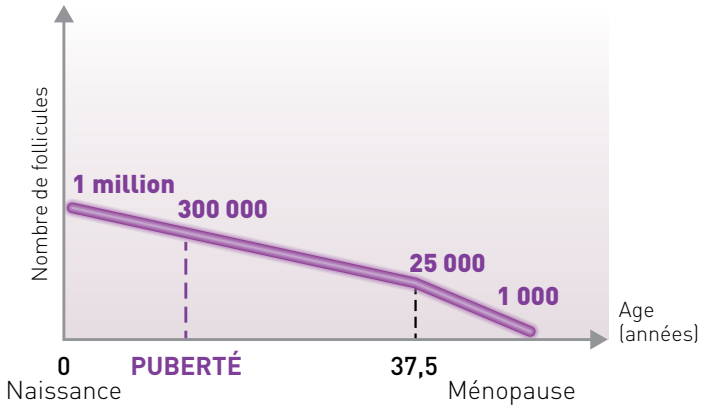


Figure 2 *Diminution du nombre de follicules chez la femme en fonction de l'âge.*

Le fonctionnement des ovaires

On peut considérer qu'il existe deux types de follicules dans les ovaires. Les plus petits, appelés "follicules primordiaux", constituent une réserve. À partir de cette réserve, en permanence, des groupes de follicules entament leur croissance.

Il existe différentes étapes dans leur développement et chacune d'entre elles correspond à un type particulier de follicules (primaire, secondaire, antral...) (figure 3).

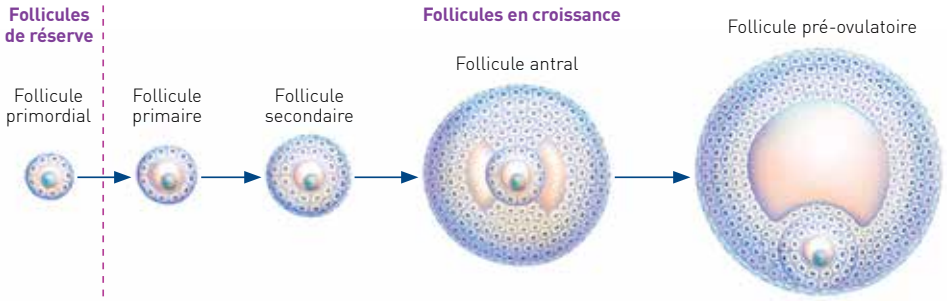


Figure 3 *Représentation schématique des différents stades de développement d'un follicule, du follicule primordial (de réserve) jusqu'au stade pré-ovulatoire.*

À la puberté, l'hypophyse, petite glande sous le cerveau, se met à agir sur les ovaires, par l'intermédiaire de deux hormones, la LH et la FSH (figure 4).

Ces hormones sont indispensables à la croissance du follicule (FSH) et à l'ovulation (LH).

À partir de la puberté, les différentes étapes de la croissance folliculaire permettent d'obtenir un follicule mature pré-ovulatoire qui expulsera un ovocyte mature, apte à être fécondé par un spermatozoïde.

Avec la puberté apparait aussi le début de la sécrétion des estrogènes par les follicules ovariens en croissance, sécrétion qui est responsable de l'apparition des caractères sexuels secondaires (développement des seins, croissance de l'utérus, règles...).

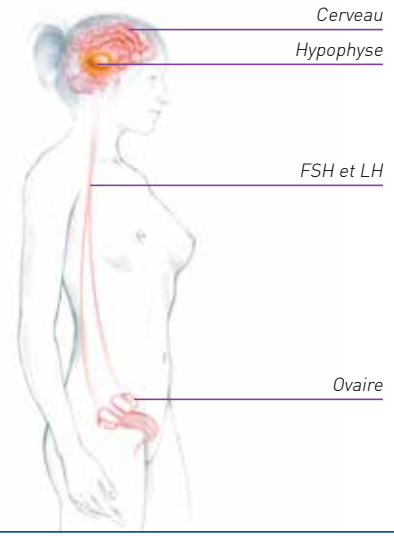


Figure 4. *Schéma simplifié de la régulation hormonale chez la femme.*

Ainsi, par l'intermédiaire des follicules, l'ovaire a deux fonctions : une fonction endocrine (sécrétion d'hormones) et une fonction de reproduction (ovocytes).

Effets des traitements sur la fonction ovarienne

Certains traitements médicamenteux, ou une radiothérapie dirigée sur la région des ovaires, peuvent altérer la fonction ovarienne. Deux situations sont possibles :

- Le traitement atteint spécifiquement les cellules en division, comme au sein des follicules en croissance. Ceci a pour conséquence immédiate une diminution ou un arrêt du fonctionnement des ovaires pendant la durée du traitement.

Après l'arrêt du traitement et une période plus ou moins longue, le fonctionnement des ovaires revient en général à la normale.

- Le traitement atteint non seulement les follicules en croissance mais aussi les follicules "primordiaux". Il a pour conséquence de diminuer, voire de détruire le stock de follicules de réserve pour le reste de la vie.
  - Si une partie des follicules est détruite par les traitements, la période permettant à la femme d'être enceinte sera plus courte. Le fonctionnement de ses ovaires va s'arrêter plus tôt que prévu : on appelle cela une insuffisance ovarienne prématurée.
  - Si tous, ou quasiment tous les follicules sont détruits, la patiente sera en insuffisance ovarienne définitive dès la fin des traitements et ne pourra, malheureusement, plus avoir d'enfant.

Pour certains médicaments, ainsi que pour la radiothérapie, le pourcentage de réserve ovarienne qui va être diminué en fonction de la dose du traitement n'est pas toujours connu de façon précise. Mais on manque encore de recul pour être sûr de l'effet de certains traitements plus récents ou utilisés à des doses plus faibles.

L'effet des traitements sur la fonction ovarienne dépend de l'âge (figure 5) :

L'âge au moment du traitement influence le degré de diminution de la réserve folliculaire : en effet, plus la patiente est jeune, plus le stock folliculaire est important. Les conséquences attendues du traitement sur l'ovaire sont donc en général moins graves.

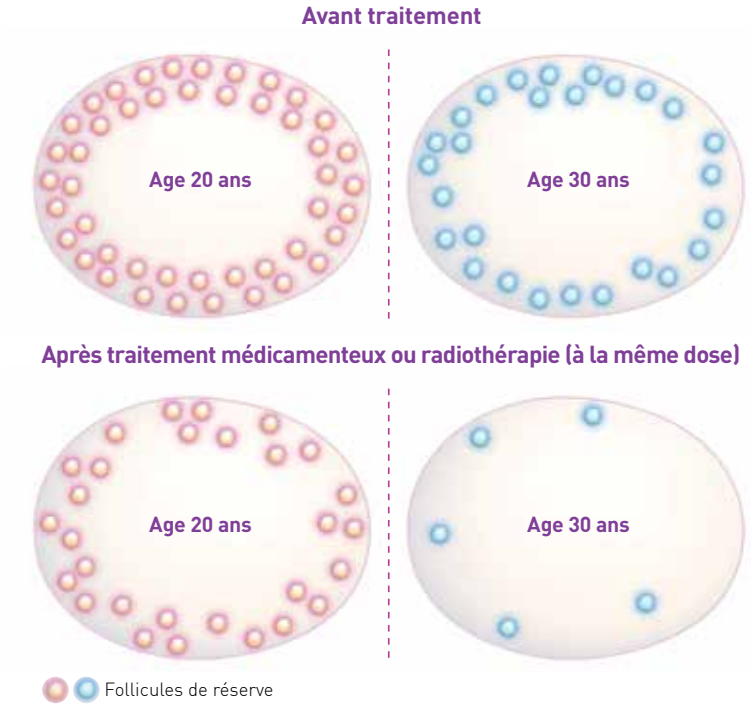


Figure 5 *Représentation schématique de l'effet de l'âge et des traitements médicamenteux (ou de la radiothérapie) sur la réserve folliculaire*

Effets des traitements sur la fonction ovarienne

En cas de traitement qui risque d'altérer de façon importante le nombre des follicules primordiaux, votre médecin vous proposera des méthodes de préservation de la fertilité que vous ayez ou non un désir immédiat de grossesse.

L'objectif est de vous permettre de conserver des chances de grossesse ultérieure.

Les techniques de préservation de la fertilité féminine

La faisabilité de ces techniques dépend de nombreux paramètres tels que l'âge de la patiente, son statut marital, le type de pathologie, le traitement prévu, son délai de mise en route et le choix de la patiente.

Il existe des techniques relevant de la chirurgie, comme la transposition ovarienne. Elle sera proposée dans le cas d'une radiothérapie sur la région ovarienne, excluant les ovaires de la zone irradiée.

Les autres procédés font partie des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) et sont régis par la loi de Bioéthique (Juillet 2011).

Les 3 principales techniques sont :
- la congélation et la cryoconservation embryonnaire
- la congélation et la cryoconservation des ovocytes isolés
- la congélation et la cryoconservation de tissu ovarien

LES MÉDECINS VOUS CONSEILLERONT SUR LA OU LES TECHNIQUES LES PLUS APPROPRIÉES À VOTRE CAS.

Des conditions générales sont communes aux techniques d'AMP : votre consentement, celui de votre conjoint en cas de cryoconservation embryonnaire et la réalisation de sérologies (VIH*1, VIH*2, VHC*, antigène HBs*, anticorps anti HBs*, anticorps anti HBc*, TPHA* et VDRL*) [1].

Chaque année, un questionnaire vous sera adressé pour connaître votre avis quant à la poursuite de la conservation vous concernant.

IL EST DONC INDISPENSABLE DE SIGNALER TOUT CHANGEMENT D'ADRESSE OU D'ÉTAT CIVIL.

* VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
HBs,HBc : Hépatite B
VHC : Virus de l'Hépatite C
TPHA : Treponema Pallidum Hemagglutinations Assay (test pour le diagnostic de la syphilis)
VDRL : Venereal Disease Research Laboratory (test pour le diagnostic de la syphilis)

1. Règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation. Arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008.

La congélation et la cryoconservation embryonnaire

Cette technique est réservée aux femmes adultes mariées ou vivant en couple (Loi Bioéthique 2011). Des examens sont réalisés au préalable, à la fois chez la femme et chez son conjoint. Les deux membres du couple doivent effectuer un dépistage de maladies virales (sérologies). Un prélèvement vaginal sera effectué chez la femme à la recherche d'une infection et le conjoint fera un recueil de sperme (par masturbation) en vue d'une analyse du sperme (spermogramme) et d'examens bactériologiques (spermoculture).

Pour congeler des embryons, un traitement hormonal est nécessaire (stimulation de l'ovulation). Il est identique à celui des couples infertiles dans le cadre de la fécondation *in Vitro*.

On peut envisager cette solution si la pathologie de la patiente ne doit pas être traitée dans l'urgence. Entre la consultation et le début du traitement, le délai doit être suffisant pour la mise en place et la réalisation de la stimulation de l'ovulation.

La stimulation de l'ovulation n'est possible que si la pathologie n'est pas dépendante du taux des hormones dans le sang (tumeur hormonosensible).

Le traitement de stimulation de l'ovulation a pour but d'obtenir plusieurs follicules matures en même temps. Cela permet d'obtenir plusieurs ovocytes après déclenchement de l'ovulation et ponction des follicules. Ce traitement est surveillé par des échographies (taille et nombre de follicules) et par le dosage des hormones sécrétées par les follicules (estradiol).

Les ovocytes matures recueillis sont mis en fécondation. La technique de fécondation est choisie principalement en fonction des paramètres spermatiques du conjoint de la patiente. On effectue soit une Fécondation *In Vitro* (FIV) conventionnelle, soit une microinjection intra-cytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI) dans chacun des ovocytes ponctionnés (figure 7).

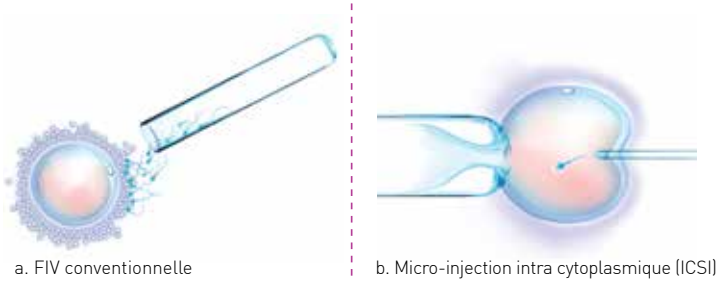


Figure 7 *Techniques de Fécondation* In Vitro *(FIV)*

Les embryons obtenus sont ensuite congelés dans des paillettes*, à différents stades de leur développement, selon les pratiques des équipes (figure 8) :
Stade Jour 1 : zygote
Stade Jour 2 – Jour 3 : embryon clivé
Stade Jour 5 – Jour 6 – Jour 7 : blastocyste.

a. Zygote b. Embryon clivé c. Blastocyste

Figure 8 *Différents stades de développement embryonnaire*

Les embryons sont ensuite conservés jusqu'au moment où la patiente et son compagnon souhaitent avoir un enfant.

Il est important de rappeler que les embryons ne peuvent être utilisés que dans le cadre d'un projet parental, ce qui implique la persistance du couple au moment de leur utilisation.

Chez les couples infertiles, les taux de grossesses échographiques par transfert d'embryons après décongélation sont de 18,1%[1].

* La paillette se présente sous forme d'un tube souple transparent et convient pour le conditionnement de tous types d'échantillons : sang, gamètes, embryons, etc.

1. Agence de Biomédecine. Rapport annuel 2010.

La congélation et la cryoconservation d'ovocytes isolés

Pour accéder à cette technique, il n'est pas nécessaire d'être mariée. Les ovocytes appartiennent à la femme et leur utilisation ne dépend que de son souhait.
Cette technique nécessite aussi une stimulation de l'ovulation. À la différence du chapitre précédent, il n'y a pas de fécondation *in Vitro* à cette étape. Les ovocytes sont congelés dès la ponction folliculaire.

Lorsque la patiente et son compagnon ont un désir d'enfant, les ovocytes seront décongelés et fécondés *in Vitro*. Le but étant d'obtenir des embryons qui seront ensuite replacés dans l'utérus de la patiente.

En 2010, dans le monde, au moins 1000 enfants sont nés de cette technique.

Il est parfois possible, sans stimulation de l'ovulation, de prélever des ovocytes immatures dans les petits follicules antraux. Ils peuvent être congelés immédiatement ou après maturation *in Vitro* (MIV).

La congélation et cryoconservation du tissu ovarien

La première cryoconservation d'ovaire dans le but de préserver la fertilité a été réalisée en 1996.
Il s'agit aujourd'hui de la technique de préservation de la fertilité la plus récente. Elle consiste à conserver par congélation et cryoconservation la partie périphérique de l'ovaire (cortex) qui contient les ovocytes au stade immature au sein des follicules primordiaux.

L'idée de la conservation d'ovaires est de préserver un grand nombre d'ovocytes immatures, très résistants à la congélation. Elle peut être effectuée quel que soit le statut marital et l'âge de la patiente. Mais actuellement, dans la pratique courante, elle est très peu proposée aux femmes de plus de 35 ans. Le nombre de follicules encore présents dans les ovaires ne semble alors plus suffisant pour aider de façon efficace une patiente à avoir des enfants après congélation-décongélation de cortex ovarien.

Une intervention chirurgicale est nécessaire pour prélever le tissu ovarien. Le prélèvement se fait le plus souvent sur un seul des deux ovaires et, généralement, par cœlioscopie.

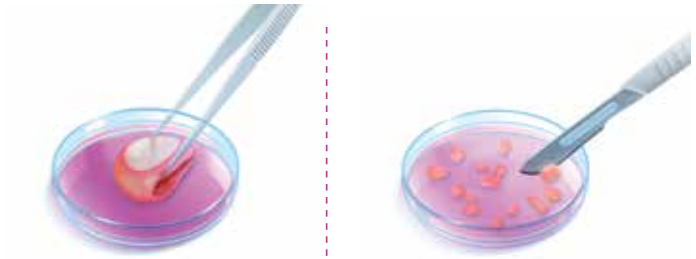
Le fragment d'ovaire ou l'ovaire est ensuite très rapidement acheminé, dans un milieu adapté, vers le laboratoire qui assure sa préparation, son conditionnement et sa conservation.

La cryoconservation se fait dans un gaz liquide (azote liquide) qui est à la température de -196°C. Les cellules et les tissus que l'on veut conserver sont protégés du froid par des molécules appelées "cryoprotecteurs".

Ces cryoprotecteurs ont un degré de pénétration limité dans les tissus, donc l'ovaire ne peut être congelé entièrement. La partie de l'ovaire où se trouvent les ovocytes (cortex ovarien) est la seule à être congelée et conservée.

Au laboratoire, le cortex ovarien est isolé et préparé en fragments. Chaque fragment est conservé dans un tube ou une paillette contenant la solution de congélation (figure 9).
Cette solution contient les agents cryoprotecteurs dont nous avons parlé précédemment, ainsi qu'une solution saline et du sérum de la patiente. Ce sérum provient d'un prélèvement de sang de la patiente fait au préalable.

Les fragments d'ovaires sont ensuite amenés à la température de l'azote liquide. Ils y seront conservés jusqu'à ce que la patiente désire avoir un enfant.



a. Isolement du cortex ovarien

b. Préparation en fragments

Figure 9 *Préparation du cortex ovarien en vue de sa congélation*

Comment utiliser les fragments ovariens pour aider une patiente à avoir des enfants?

Leur utilisation est envisagée quand la patiente souhaite avoir un enfant. Au sein des fragments d'ovaires, les follicules et donc les ovocytes sont encore très petits.
Pour pouvoir obtenir des ovocytes matures, il faut les faire maturer pour qu'ils arrivent à un stade où ils peuvent être fécondés par un spermatozoïde et ainsi donner un embryon.
Actuellement deux techniques sont à l'étude. À ce jour seule l'une d'entre elles a pu être à l'origine de la naissance d'enfants.

1. La 1re technique est le replacement chirurgical des fragments d'ovaires à l'endroit initial ou sur l'ovaire restant. Il s'agit de l'autogreffe de cortex ovarien (figure 10).
   Seule cette technique (autogreffe) a permis à ce jour la naissance de plusieurs enfants au monde. Les grossesses ont été obtenues soit naturellement, soit après fécondation *in Vitro*. Cette technique n'est pas réalisable dans tous les cas, en particulier si la patiente a souffert d'une maladie présentant un risque de métastases au niveau des ovaires.
2. La 2e technique est la culture des fragments d'ovaires en laboratoire pour reproduire la croissance folliculaire et obtenir des ovocytes matures.
   Cette technique est encore expérimentale et a permis d'obtenir des naissances uniquement chez la souris.

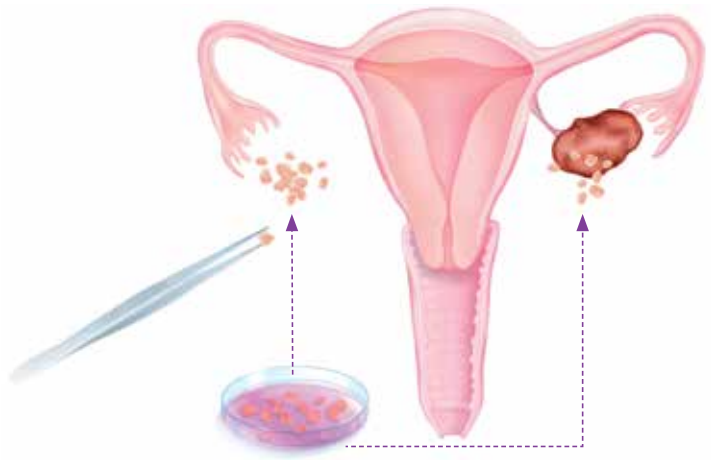


Figure 10. *Représentation schématique de l'autogreffe de fragments de cortex ovarien, soit à la place de l'ovaire manquant (à gauche), soit sur l'ovaire restant non fonctionnel (à droite).*

Le choix de cette technique est rediscuté ensuite au moment où la patiente demande l'utilisation de ses fragments d'ovaires, avec tous les médecins qui l'ont suivie pendant sa maladie, afin de lui offrir les meilleurs chances de grossesses sans risque de réintroduire la maladie.

Cette proposition sera discutée pour chaque cas. Il est impossible actuellement de généraliser et de dire quelle technique pourra vous être proposée dans l'avenir.

En résumé

Technique	A qui la technique s'adresse-t-elle ?	Gestes nécessaires	Délai de prise en charge	Comment avoir un enfant après le traitement?*
Cryoconservation embryonnaire	Femme vivant en couple	Stimulation de l'ovulation Ponction folliculaire Fécondation *in Vitro*	1 à 1,5 mois	Transfert embryonnaire
Cryoconservation d'ovocytes isolés	Femme célibataire ou vivant en couple	Stimulation de l'ovulation Ponction folliculaire	1 à 1,5 mois	Fécondation *in Vitro* et Transfert embryonnaire
Cryoconservation de tissu ovarien	Femme célibataire ou vivant en couple	Intervention chirurgicale sous anesthésie générale Coelioscopie	Le plus rapidement possible après la première consultation	Autogreffe du cortex ovarien ou Croissance folliculaire *in Vitro*

* La patiente doit être en couple au moment du désir de grossesse (Loi Bioéthique 2011)

Glossaire

Autogreffe de cortex ovarien
Replacement dans le corps de la patiente des fragments de son cortex ovarien, précédemment congelé et cryoconservé.

Blastocyste
Embryon âgé de 5 à 7 jours constitué d'une centaine de cellules.

Cortex ovarien
Partie périphérique de l'ovaire.

Cryoconservation
Conservation à très basse température.

Échographie
Méthode de visualisation des organes par réflexion d'ultrasons. Permet en particulier de visualiser le développement des follicules dans l'ovaire et du fœtus dans l'utérus.

Embryon
Résultat de la fécondation d'un ovocyte par un spermatozoïde. On parle d'embryon jusqu'au 3e mois de grossesse, de fœtus au-delà.

Embryon clivé
Embryon âgé de 2 à 3 jours constitué de 2 à 8 cellules.

Estradiol
Hormone sexuelle sécrétée par les ovaires.

Estrogènes
Classe d'hormones sexuelles féminines (dont l'œstradiol).

FIV
Fécondation *in Vitro*.

Glossaire

Fécondation
Pénétration d'un spermatozoïde (cellule reproductrice mâle) dans un ovocyte (cellule reproductrice féminine). La fusion des deux noyaux aboutit à la formation d'un embryon.

Follicule
Ensemble formé par un ovocyte et les cellules qui l'entourent au sein de l'ovaire.

Follicules en croissance
Follicules sortis de la réserve de follicules et ayant démarré leur croissance dans le but de produire un ovocyte mature.

Follicules primordiaux (follicules de réserve)
Capital de follicules présents dès la naissance chez les filles, et qui diminue avec l'âge.

FSH (Follicule-Stimulating Hormone)
Hormone hypophysaire responsable de la croissance folliculaire.

Hypophyse
Petite glande située à la base du cerveau qui sécrète plusieurs types d'hormones en particulier les gonadotrophines (FSH et LH) agissant sur l'appareil reproducteur.

Infertilité
Difficulté à concevoir un enfant.

In Vitro
(littéralement "dans un verre"). Se dit des techniques réalisées au laboratoire, en dehors de l'organisme humain.

LH (Luteinizing Hormone)
Hormone lutéinisante sécrétée par l'hypophyse responsable de l'ovulation.

Microinjection intra-cytoplasmique
Technique consistant à injecter directement un spermatozoïde dans un ovocyte.

Muqueuse utérine (ou endomètre)
Revêtement interne de la cavité utérine où va se faire la nidation (implantation de l'embryon).

Ovocyte (ou ovule)
Cellule reproductrice féminine.

Ovulation
Libération d'un ovocyte mature par l'ovaire.

Prélèvement vaginal
Recueil des sécrétions vaginales dans le but de déceler une infection par exemple.

Radiothérapie
Utilisation des rayonnements ionisants dans le traitement de certaines maladies, essentiellement des cancers.

Règles (ou menstruation)
Ecoulement périodique par le vagin de muqueuse utérine et de sang survenant chez la femme non enceinte entre la puberté et la ménopause.

Sérologies
Ensemble des techniques permettant de diagnostiquer une maladie infectieuse ou de révéler la présence de types particuliers d'anticorps.

Spermatozoïde
Cellule reproductrice masculine.

Spermoculture
Recherche d'agents infectieux dans le sperme.

Spermogramme
Analyse des caractéristiques de l'éjaculat (volume, mobilité, numération des spermatozoïdes,...).

Transposition ovarienne
Technique chirurgicale consistant à déplacer un ou deux ovaires en dehors du champ d'irradiation chez des patientes devant bénéficier d'une irradiation pelvienne.

Tumeur hormonosensible
Se dit d'une tumeur dont les cellules croissent plus rapidement sous l'influence d'une hormone spécifique.

Utérus
Organe musculaire creux de l'appareil génital féminin, destiné à accueillir l'œuf fécondé pendant son développement et à l'expulser quand il parvient à maturité.

Zygote
Cellule résultant de l'union du spermatozoïde et de l'ovocyte.

LOI SUR LA BIOÉTHIQUE

La loi sur la bioéthique réglementant les activités d'Assistance Médicale à la Procréation est parue au Journal Officiel le 8 juillet 2011.
Le texte complet de cette loi est à la disposition des couples, sur le site de l'Agence de la biomédecine :
http://www.agence-biomedecine.fr/
et sur le site de Legifrance :
http://www.legifrance.gouv.fr/