

2014-2015

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etat de sage-femme et du
Master 1 S.I.M.S (Sciences Ingénierie et Management de la Santé)

**Rôle et implication de la PMA dans les
phénomènes de programmation fœtale: mise en
place d'une biocollection sur le CHU d'Angers.**

**Lucile EPAIN
Anne WILLI**

Sous la direction du Docteur Géraldine GASCOIN

Soutenu publiquement le :
27 mai 2015

ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Nous, soussignées Lucile EPAIN et Anne WILLI, déclarons être pleinement conscientes que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publié sur toutes formes de supports, y compris internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, nous nous engageons à citer toutes les sources que nous avons utilisées pour écrire ce mémoire.

Signatures :

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Au Professeur Sentilhes,

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger notre travail et de présider ce jury. Veuillez recevoir l'expression de notre sincère gratitude.

Au Docteur Gascoin,

Nous vous remercions tout d'abord de nous avoir proposé cette étude. Vous nous avez aidées et guidées durant cette année, toujours avec bonne humeur ! Nous avons aimé travailler à vos côtés et vous nous avez beaucoup appris.

Au Docteur Morinière,

Nous vous remercions de nous avoir permis d'accéder à des banques de données qui nous ont aidées à la réalisation de notre étude.

A madame Rouillard, directrice de l'école de sages-femmes d'Angers,

Nous vous remercions pour le temps et l'aide que vous nous avez apportés.

Aux professionnels de santé de la maternité,

Un grand merci à toutes les personnes (gynécologues-obstétriciens, cadres sages-femmes, sages-femmes, étudiants(es) sages-femmes) qui ont permis la réalisation et l'avancée de cette étude.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS de Lucile

A ma très chère Anne,

Merci à toi, collègue de mémoire, d'avoir partagé avec moi ces moments d'intense concentration, de rires et de stress. Je m'en souviendrais toujours. Tu es un peu comme moi.

A mon père,

Merci d'avoir été aidant, soutenant et aimant au quotidien durant toutes mes études. Merci d'avoir toujours cru en moi. Tu m'as transmis ta créativité, ta joie de vivre et tellement de choses encore. Je suis fière d'être ta fille.

A ma mère,

Tu es une femme pleine d'amour et de douceur. Je n'aurais jamais pu me passer de tout ce que tu m'as apporté dans ma vie. Je te ressemble d'ailleurs beaucoup et j'en suis fière. Merci de ta présence, je ne m'en passerai pas.

A mes frères,

Certes vous êtes un peu loin mais toujours présents et vous m'êtes indispensables.

A ma grand-mère, cette femme extraordinaire,

Merci d'être la plus adorable, amusante et passionnante des grands-mères. Tu donnes de ton énergie pour autrui au quotidien et c'est ce qui te rend admirable. Merci pour ta présence et tout l'amour que tu me donnes et merci d'être tout simplement toi.

A mon grand-père,

Merci d'être le patron de cette belle et grande famille, tu débordes d'amour et c'est ce qui fait de toi le plus merveilleux des grands-pères. Je suis fière d'être ta petite fille.

A ma Sophie, mon Amie,

Merci d'être toujours aussi folle et distayante. Te rencontrer dans ma jeunesse est certainement la chose la plus évidente que j'ai pu faire dans ma vie. Merci d'être toi et d'être toujours là.

A Andréa,

Merci de m'avoir supporté au quotidien et crois moi, tu as eu beaucoup de mérite. Merci pour ton enthousiasme et ta bêtise qui font de toi une fille extra. C'est un bonheur d'être ta coloc mais surtout ton amie.

A Béa,

Tu es celle qui a partagé mes peines, mes joies, mon stress et mes fous rires durant toutes mes études de sage-femme. Je te remercie de m'avoir supporté et aidé pendant chacune de nos périodes de révisions. Avec toi j'ai grandi. Tu es un vrai rayon de soleil !

A cette promotion,

Merci pour tous ces bons moments partagés. C'est ensemble qu'on a fait ce petit bout de chemin tellement important dans nos vies futures. Finalement, on ne se souviendra que de tous ces instants détentes passés ensemble, en soirées ou vacances, et c'est tout ce qui compte. J'espère vous revoir tout au long de ma vie et on va tout faire pour que ça ne se passe pas autrement !

REMERCIEMENTS

Remerciements d'Anne

A ma très chère Lucile,

Ma collègue de mémoire, avec qui j'ai partagé durant cette dernière année des moments de galère, de stress et de travail, mais surtout durant ces quatre années des moments de rire et de détente inoubliables.

A toi, Maman,

Merci d'être là, au quotidien, toujours aussi disponible, souriante et aimante que tu l'es. Tu m'aides à évoluer, à grandir, avec tes conseils et ta douceur. Tu es tellement importante pour moi. Je serais toujours à tes côtés.

A toi, Papa,

Qui m'a appris qu'à chaque problème, il y avait une solution. Je suis fière d'être la fille d'un grand homme comme toi. Tu m'as donné ta force, ta soif de voyager et de découvrir, une partie de ta culture. Tu me guides et m'accompagnes au quotidien. Je me reconnaiss de plus en plus à travers toi. « Le grand chêne protège à jamais le petit chêne ».

A ma sœur,

Malgré la distance, nos liens sont toujours aussi forts. Nos retrouvailles sont aussi précieuses qu'elles sont rares ! Tu es toujours présente quand il faut.

A mes tantes,

J'espère pouvoir prendre plus de temps pour vous voir.

A celles qui sont à mes côtés chaque jour, par la pensée.

Merci d'avoir fait partie de ma vie. Vous l'avez éclairée par votre amour et votre joie.

A mes copines Apolline, Mathilde, Perrine, Louise et Elodie,

Qui ont été toujours là pour moi, en me soutenant durant mes moments de stress, de fatigue. Merci pour tous ces moments de folie, de rire qui ne sont pas prêts de s'arrêter !

A mes amis de lycée, Ben, Guillaume, Clément, Anne-Laure,

Avec vous, j'ai tellement de souvenirs, de cours, de sport, d'internat, de vacances, de soirées, de rires, de pleurs... ! J'espère vous consacrer plus de temps, malgré la distance.

A Céline,

Un énorme merci pour ta précieuse aide de dernière minute, qui nous a, je pense, sauvé la vie !

A la promo,

Quatre années marquantes passées à vos côtés. Nous nous sommes construits ensemble, avec un parcours semé d'embûches (célèbre année de la réforme !) mais nous en sommes sortis grandis et remplis de souvenirs inoubliables, notamment au JJ ! A l'aube de se séparer pour tracer notre chemin, j'espère vous revoir aussi souvent que possible !

L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

Consulter la licence creative commons complète en français :
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr/>

Table des matières

INTRODUCTION	1
PARTIE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE	3
1. Matériel et méthode.....	3
2. Résultats.....	3
2.1. Morbi-mortalité maternelle, fœtale et néonatale.....	3
2.2. PMA et mécanismes épigénétiques.....	16
PARTIE 2 : BIO-COLLECTION PLACENTAIRE.....	30
1. Matériel et méthode.....	30
1.1. Phase 1 : Le recrutement.	30
1.2. Phase 2 : prélèvements de sang maternel et fœtal et de tissus placentaires.	31
1.3. Recueil de données cliniques et biologiques	32
2. Descriptif de la population.....	32
DISCUSSION	36
CONCLUSION.....	38
BIBLIOGRAPHIE.....	39
ANNEXES	43

Liste des abréviations

AP : accouchement prématuré
AS : syndrome d'Angelman
BWS : syndrome de Wiedemann-Beckwith
CHU : centre hospitalier universitaire
CIG : cholestase intra-hépatique gravidique
CRB : centre de ressources biologiques
DG : diabète gestationnel
FIV : fécondation-in-vitro
HAS : Haute Autorité de Santé
HDD : hémorragie de la délivrance
HRP : hématome rétro-placentaire
HTA : hypertension artérielle
IAC : insémination avec conjoint
IAD : insémination avec donneur
IC : index de confiance
ICSI : injection intra-cytoplasmique de sperme
IIU : insémination intra-utérine
NP : niveau de preuve
aOR : odds ratio ajusté
OR: odds ratio
PAG : petit pour l'âge gestationnel
PE : pré-éclampsie
PMA : procréation médicale assistée
PP : placenta praevia
RR : risque relatif
SA : semaine d'aménorrhée
SOPK : syndrome des ovaires polykystiques
SPW : syndrome de Prader-Willi
SRS : syndrome de Silver-Russell
TEC : transfert d'embryons congelés

Introduction

L'infertilité représente un problème majeur de santé publique puisqu'elle touche aujourd'hui 80 millions de couples dans le monde et que ce nombre ne cesse de croître (<http://faculty.ksu.edu.sa/drzeinab/PublishingImages/report.pdf>). Ce phénomène s'explique entre autres par un vieillissement de la population et une augmentation de l'âge pour concevoir.

La place que prend aujourd'hui la carrière professionnelle dans la société tend à retarder l'âge de la première maternité à 29.7 ans (http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Les_naissances_en_2010_et_leur_evolution_depuis_2003.pdf). On observe en conséquence une diminution du stock ovocytaire chez la femme et des ovules de moins bonne qualité ainsi qu'une diminution de la qualité du sperme chez l'homme.

La Procréation Médicale Assistée (PMA) est utilisée depuis plus de trente ans en traitement de l'infertilité. Elle regroupe des techniques in-vivo de stimulation ovarienne simple et d'insémination artificielle de sperme du conjoint (IAC) ou avec donneur (IAD), des techniques in-vitro de fécondation in-vitro (FIV) et de FIV avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (FIV/ICSI) ainsi que la congélation de gamètes et d'embryons. Toutes ces techniques apportent une solution à des couples infertiles ou porteurs d'une anomalie génétique dans le but d'éviter une transmission de cette anomalie à la descendance. Chaque année, on estime qu'un couple sur 10 est pris en charge par la PMA, représentant 2,7% des naissances en France (<http://www.inserm.fr/thematiques/biologie-cellulaire-developpement-et-evolution/dossiers-d-information/assistance-medicale-a-la-procreation>).

Depuis la naissance de Louise Brown, premier bébé issu de FIV en 1978, environ 3,75 millions d'enfants sont nés par PMA dans le monde(1). En France, en 2010, 22 401 enfants sont nés par PMA, soit une naissance sur 40 (<http://www.inserm.fr/thematiques/biologie-cellulaire-developpement-et-evolution/dossiers-d-information/assistance-medicale-a-la-procreation>). Plusieurs auteurs se sont interrogés sur l'augmentation possible de la morbi-mortalité maternelle, fœtale et néonatale dans ces grossesses, avec des effets potentiellement imputables à la technique elle-même voire à l'origine même de l'infertilité. En effet, le caractère invasif de la manipulation des gamètes et de l'embryon ainsi que le changement d'environnement embryonnaire lors d'une FIV/ICSI ou d'une cryoconservation pourraient être responsables de perturbations à l'échelle moléculaire, génétique voire épigénétique, entraîner un phénotype pathologique et perturber ainsi le fonctionnement physiologique de la grossesse. Cependant le rôle de ces différents profils épigénétiques sur le déroulement de la grossesse, le développement fœtal et le devenir à moyen et long terme de l'enfant à naître restent mal connus.

Plusieurs études suggèrent que le placenta, premier moyen de communication materno-fœtale et véritable « boîte noire de la grossesse », est impliqué dans les phénomènes de programmation fœtale. Ces adaptations secondaires à un « stress environnemental » peuvent entraîner des modifications d'implantation, de développement, de fonction placentaire avec des modifications d'expression de ses gènes et des processus d'adaptation épigénétiques (2;3;4;5). Ces modifications sont le témoin des changements qui pourront s'observer ultérieurement sur les organes de l'enfant à venir. Toutes ces modifications du placenta en réponse à des stimuli extérieurs interviennent dans une "fenêtre critique" en terme de développement et participent aux phénomènes de programmation fœtale.



Nos hypothèses de travail sont donc :

- 1- Qu'il existe une augmentation de la morbi-mortalité maternelle, fœtale, néonatale voire à plus long terme en cas de PMA (programmation fœtale).
- 2- Qu'il existe des modifications de structure et de fonction des placentas issus de grossesses induites par des techniques de PMA, génomiques et épigénétiques, pouvant participer aux phénomènes de programmation fœtale.

Pour répondre à ces 2 hypothèses, nous avons :

- 1- Réalisé une revue de la littérature des cas de grossesse post PMA rapportant des effets maternels, fœtaux, néonataux, voire à plus long terme, en ne considérant que les articles à niveau de preuve élevés.
- 2- Mis en place une bio-collection placentaire sur le CHU d'Angers.

Partie 1 : Revue de la littérature.

1. Matériel et méthode.

La recherche bibliographique a été réalisée sur Pubmed et ScienceDirect par consultation de leur banque de données. Les termes de la recherche étaient : Assisted Reproduction Technology, adverse perinatal outcomes, neonatal outcome, In Vitro Fertilization (IVF), Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI), Frozen-thawed Embryo Transfer (FET), low birthweight (LBW), preterm birth (PTB), spontaneous conception, birth defect, perinatal mortality, Small for Gestational Age (PAG), cryopreservation, cancer risk, subfertility/infertility, infertility treatment, singletons, obstetric complications, congenital malformations, congenital anomalies, hormonal treatment, reprogramming, epigenetic, methylation, imprinted genes, imprinting disorders. Les termes étaient ensuite associés entre eux. Les références des articles sélectionnés ont été analysées à la recherche d'études pertinentes supplémentaires. Seules les études prospectives et rétrospectives s'étendant de 2000 à 2015 sur larges cohortes et les méta-analyses de cohortes ont été retenues. Nous avons essayé de nous limiter aux études distinguant les grossesses singletons des multiples pour tenter d'isoler les effets propres de la PMA des effets liés aux grossesses multiples. Cependant, pour les études de larges cohortes avec niveau de preuve (NP) élevé, nous avons choisi de les faire apparaître en précisant cette information compte tenu de leur nombre limité. Les recommandations et publications des agences et sociétés savantes nationales (Haute Autorité de Santé, Agence de la Biomédecine, INSERM) et internationales ainsi que les organismes nationaux reconnus d'enquêtes épidémiologiques (INSEE, DREES) et les collectifs nationaux d'usagers ont également été consultés.

2. Résultats.

2.1. Morbi-mortalité maternelle, fœtale et néonatale.

2.1.1. Morbi-mortalité maternelle.

Notre hypothèse initiale était que les patientes avec un parcours PMA sont plus à risque de développer des complications pendant la grossesse telles que des pathologies hypertensives de la grossesse (pré-éclampsie (PE), hypertension artérielle (HTA)), un hématome rétro-placentaire (HRP), une cholestase gravidique (CIG), du diabète gestationnel (DG), une chorioamniotite, un placenta praevia (PP) ou accreta, des métrorragies, une rupture prématurée de la poche des eaux (RPM), une hémorragie de la délivrance (HDD) ou accoucher par césarienne par rapport à la population générale. Il a été choisi de les présenter sous forme de tableau pour chaque pathologie étudiée. Les comparaisons se sont faites principalement entre les grossesses spontanées et les grossesses par FIV/ICSI, car étant plus invasives qu'une simple stimulation ou insémination.

Les critères d'ajustements des différentes études analysées sont résumés ci-dessous:

- Xiaokui et al. (6): ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité), à la



consommation d'alcool, au tabagisme et au niveau d'éducation. Son OR brut ne fait pas la distinction entre grossesses singulaires et multiples, tandis que son OR ajusté est limité aux singulaires (tableaux 1, 2, 3 et 7).

- Schieve et al. (7) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité, origine ethnique), au niveau d'éducation, à l'hôpital, le mois et l'année de naissance de l'enfant (tableaux 1, 2, 3, 4, 5 et 7).
- Jackson et al. (8) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité) et à la date d'accouchement pour toutes les études. La moitié des études a ajusté à l'origine ethnique, le tabagisme, l'IMC et les ATCD obstétricaux et 4 études ont ajusté au lieu d'accouchement (tableaux 1, 2, 3, 5 et 8).
- Kallen et al. (9) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité), au tabagisme, à l'année de naissance de l'enfant et aux grossesses singulaires (tableaux 2, 4, 5 et 7).
- Hayashi et al. (10) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité, IMC), au tabagisme, à la consommation d'alcool et aux antécédents médicaux (tableaux 2, 3, 4, 5, 7 et 8).
- Pandey et al. (11) : ajustement à l'âge maternel et à la parité (tableaux 1, 3 et 5).
- Ochsenkühn et al. (12) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité) et à l'âge gestationnel.

a) Diabète gestationnel.

Peu d'études s'intéressent au risque de DG en cas de PMA, avec parfois des résultats assez contradictoires.

NP*	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	Xiaokui Yang et al.	2013	Rétrospective multicentrique chinoise	112 403	FIV/ICSI	3,05 (2,57-3,60)	3,10 (2,54-3,78)
4	Schieve et al.	2007	Rétrospective américaine	154 267	FIV	1,6 (1,3 – 2,0) (0,97 – 2,1)	1,4
2	Jackson et al.	2004	Méta-analyse de cohorte américaine	4 études (2291 sujets)	FIV	Non précisé	2,00 (1,36-2,99)
2	Pandey et al.	2012	Méta-analyse de cohorte écossaise	13 399	FIV/ICSI	Non précisé	1,48 (1,33-1,66)

* selon la classification de l'HAS 2013.

Tableau 1 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque de diabète gestationnel.

Xiaokui et al., la méta-analyse de Jackson et al. et celle de Pandey et al. montrent une incidence accrue de diabète gestationnel dans les grossesses par PMA tandis que l'étude de Schieve et al n'en montre pas (OR non significatif).

b) Placenta praevia.

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	Xiaokui Yang et al.	2013	Rétrospective chinoise	112 403	FIV/ICSI	2,18 (1,62-2,94)	2,78 (1,97-13,94)
4	Kallen et al.	2005	Rétrospective suédoise	13 261	FIV	3,65 (3,15-4,23)	3,8 (3,3-4,5)
4	Schieve et al.	2007	Rétrospective américaine	154 267	FIV	4,5 (3,00-6,7)	3,8 (1,6 – 9,4)
2	Jackson et al.	2004	Méta-analyse de cohorte américaine	6 études (3992 sujets)	FIV	Non précisé	2,87 (1,54-5,37)
4	Hayashi et al.	2012	Rétrospective de cohorte japonaise	242 715 (4570 FIV)	FIV	Non précisé	2,2 (1,68-2,87)

Tableau 2 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque de placenta praevia.

Les études analysées montrent chacune un risque accru de placenta praevia chez les patientes ayant une grossesse sous FIV. Hayashi et al. montrent également que les autres techniques (stimulation simple de l'ovulation et insémination intra-utérine) auraient un risque accru de placenta praevia, avec respectivement OR 1,77 (1,24-2,54) et OR 1,46 (1,03-2,08).

c) Pathologies hypertensives de la grossesse.

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	Xiaokui Yang et al.	2013	Rétrospective chinoise	112 403	FIV/ICSI	1,27 (1,04-1,60)	1,48 (1,16-1,87)
4	Schieve et al.	2007	Rétrospective américaine	154 267	FIV	1,8 (1,4 – 2,2)	1,5 (1,04-2,2)
4	Hayashi et al.	2012	Rétrospective de cohorte japonaise	242 715 (4570 FIV)	FIV	Non précisé	0,74 (0,62-0,89)
2	Pandey et al.	2012	Méta-analyse de cohorte écossaise	16923 (15 études)	FIV/ICSI	Non précisé	1,49 (1,39-1,59)
2	Jackson et al.	2004	Méta-analyse de cohorte américaine	219 382	FIV	Non précisé	1,55 (1,23-1,95)

Tableau 3 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque d'HTA gravidique, de pré-éclampsie et d'éclampsie.

Les résultats d'Hayashi et al. et de Schieve et al. concernent l'hypertension artérielle gravidique. Ils ont des résultats discordants, l'étude de Schieve et al. montrant une augmentation de la fréquence de l'hypertension artérielle gravidique en cas de grossesses par FIV, celle d'Hayashi et al. n'en montrant pas (OR non significatif).

Le reste des études citées dans ce tableau montre une incidence accrue de pathologies hypertensives de la grossesse en cas de grossesses par FIV. L'étude de Xiaokui Yang concerne les pathologies hypertensives de la grossesse dans leur globalité, Pandey et al. regroupent l'hypertension artérielle gravidique, la pré-éclampsie et l'éclampsie, et Jackson et al. ne parlent que de la pré-éclampsie.

d) Hémorragie du post-partum.

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	Schieve et al.	2007	Rétrospective américaine	154 267	FIV	4,8 (3,4 – 6,9)	3,2 (1,5 – 6,8)
4	Hayashi et al.	2012	Rétrospective de large cohorte japonaise	242 715 (4570 FIV)	FIV	Non précisé	1,46 (1,18-1,81)
4	Kallen et al.	2005	Rétrospective suédoise	13 261	FIV	1,40 (1,38-1,50)	1,2 (1,2-1,3)

Tableau 4 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque d'hémorragie du post-partum.

Les études révèlent une incidence accrue d'hémorragie du post-partum dans les cas des grossesses par PMA.

e) Césarienne (élective et en urgence).

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique PMA	Césariennes en urgence aOR (IC 95%)	Césariennes électives aOR (IC 95%)	Césariennes au total aOR (IC 95%)
2	Jackson et al.	2004	Méta-analyse de cohorte américaine	13 études 1 917 569	FIV	1,47 (1,09-1,98)	1,92 (1,49-2,48)	2,13 (1,72-2,63)
4	Hayashi et al.	2012	Rétrospective de large cohorte japonaise	242 715 (4570 FIV)	FIV	1,19 (1,07-1,32)	1,38 (1,23-1,55)	Non précisé
4	Schieve et al.	2007	Rétrospective américaine	154 267	FIV	Non précisé	Non précisé	1,7 (1,6-1,8)
2	Kallen et al.	2005	Rétrospective suédoise	10 087	FIV	Non précisé	Non précisé	1,4 (1,4-1,5)
2	Pandey et al.	2012	Méta-analyse de cohorte écossaise	17 études (12 950)	FIV/ICSI	Non précisé	Non précisé	1.56 (1.51-1.60)

Tableau 5 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque de césarienne.

On peut constater que le taux de césariennes est significativement plus élevé, quelle que soit l'indication de celle-ci (dans l'urgence en cours de travail ou élective), dans le groupe de grossesses par PMA comparé au groupe de grossesses spontanées.

f) Cholestase intra-hépatique gravidique.

Nous n'avons retrouvé aucune étude sur la comparaison du risque de CIG entre les grossesses par PMA et les grossesses spontanées.

g) Rupture prématuée des membranes.

Quelques rares études rapportent un risque accru de rupture prématuée de la poche des eaux survenant dans le cas de grossesses par PMA, notamment celle de Kallen et al, rétrospective multicentrique, qui s'est intéressée à toutes les femmes suédoises ayant eu une FIV entre 1982 et 2001 et qui rapporte, après appariement à l'âge maternel, à la parité, au tabagisme et à l'année de naissance de l'enfant, un OR significatif de 1,5 (1,3-1,7) pour les singulaires (9).

h) Métrorragies.

D'après la méta-analyse rétrospective multicentrique de Jackson et al. regroupant 15 études avec 12283 FIV et 1,9 million de grossesses spontanées, les métrorragies sont retrouvées augmentées dans le groupe FIV, avec un OR de 2,52 (1,93-2,39) (8).

Dans leur étude cas-témoin de 2003 menée sur la période de 1991 à 1996, avec 163 grossesses par FIV pour 322 grossesses spontanées, Ochsenkühn et al. retrouvaient également une incidence accrue des métrorragies en cas de grossesse par FIV avec un OR de 4,4 (IC 95% 1,2-2,00) (12).

i) Placenta accreta.

L'étude rétrospective multicentrique d'Hayashi et al. s'est intéressée à 242 715 femmes ayant conçu pour certaines spontanément et pour d'autres, à l'aide de différentes techniques de PMA et a montré une augmentation significative de placentas accretas dans les FIV (OR 2,67 IC 95% 1,42-5,03) (10).

j) Chorioamniotite.

Nous n'avons pas retrouvé d'études rapportant une augmentation de risque de chorioamniotite en cas de grossesse par PMA versus grossesse spontanée.

k) Hématome rétro-placentaire.

L'étude d'Hayashi et al. ne semble pas trouver d'incidence accrue d'hématome rétro-placentaire en cas de grossesses par PMA, quelle que soit la technique utilisée (stimulation simple de l'ovulation, insémination intra-utérine ou FIV), avec respectivement des OR non significatifs : OR 1,35 (0,88-2,08), OR 0,98 (0,59-1,62) et OR 1,21 (0,79-1,87)(10). L'étude de Kallen et al. de 2005 retrouve quant à elle un risque significativement augmenté d'hématome rétro-placentaire en cas de grossesse par FIV avec un OR de 1,9 (1,4-2,5) (9).

Au total, il existe en cas de grossesse post PMA, une augmentation de risque de placenta praevia et accreta, d'hémorragie du post-partum, de recours à la césarienne, de diabète gestationnel et de pathologie hypertensive pendant la grossesse.

2.1.2. Morbi-mortalité néonatale.

Des études de cohorte menées sur des enfants issus de la PMA ont été et sont pour certaines actuellement conduites en France et à l'étranger. L'objectif étant de savoir si les techniques d'AMP seraient associées à un sur-risque de malformations ou de maladies chez ces enfants.

Les critères d'ajustements des différentes études analysées sont résumés ci-dessous :

- Halliday et al. (13) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge maternel, gestité, parité), à l'année de naissance et au sexe de l'enfant.
- Kelley-Quon et al. (14) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité), à l'origine ethnique, aux grossesses multiples et à l'année de naissance de l'enfant (tableau 6).
- Kallen et al. (15) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité), au tabagisme et à l'année de naissance de l'enfant (tableau 6).
- Wen et al. (16) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité), au niveau d'études, au tabagisme, à l'année de naissance et au sexe de l'enfant (tableau 6).
- Davies et al. (17) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité), à l'origine ethnique, aux conditions de grossesse, au tabagisme, au niveau socio-économique, à l'année de naissance et au sexe de l'enfant (tableau 6).
- Klemetti et al. (18) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité) et au niveau socio-économique (tableau 6).
- Wisborg et al. (19) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité, IMC), à la consommation d'alcool, au tabagisme et au niveau d'éducation (tableaux 7 et 8).
- McDonald et al. (20) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité) (tableaux 7 et 8).

- D'Angelo et al. (21) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité, IMC), à la consommation d'alcool, au tabagisme, à l'origine ethnique, aux antécédents médicaux et au niveau d'éducation (tableau 8).
- Raatikainen et al. (22) : ajustement aux caractéristiques maternelles (âge, gestité, parité, IMC), à l'origine ethnique, aux antécédents obstétricaux et à l'âge gestationnel (tableau 8).

a) **Malformations congénitales chez les enfants issus de PMA.**

L'étude australienne d'Halliday et al. menée en 2010 a observé, entre 1991 et 2004, des défauts de la blastogénèse survenant dans les premières semaines de développement de l'embryon lors d'une grossesse par PMA. Des grossesses singulaires post PMA (toutes techniques confondues) ont été comparées à des grossesses singulaires spontanées et une augmentation significative de ces anomalies survenant avant l'organogénèse (OR 2,80 IC 95% 1,63 – 4,81) a été retrouvée.

Les défauts de la blastogénèse post PMA peuvent entraîner des malformations isolées ou multiples (anomalies du tube neural, atrésies de l'œsophage ou syndrome de Vacter, agénésies rénales, hernies diaphragmatiques congénitales, atrésies anales, omphalocèles, hypospadias) (OR 1,93 IC 95% 1,03-3,60) (13).

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	Kelley-Quon et al.	2013	Rétrospective américaine	50 820	FIV et FIV/ICSI	Non précisé	1,12 (0,93-1,36)
4	Kallen B et al.	2010	Rétrospective suédoise	689 157 (15 570 FIV)	FIV	Non précisé	1,15 (1,07 – 1,24)
2	Wen J et al.	2012	Méta-analyse chinoise	46 études (124 468 sujets)	FIV et FIV/ICSI	1,45 (1,33-1,59)	1,36 (1,25-1,47)
4	Davies J. et al.	2012	Rétrospective australienne	308 974	FIV/ICSI	1,52 (1,35-1,70)	1,32 (1,17-1,48)
4	Klemetti et al.	2005	Rétrospective finlandaise	31 637	FIV	1,52 (1,25-1,84)	1,30 (1,05-1,61)

Tableau 6 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque de malformations congénitales.

Kelley-Quon et al. ne constatent pas d'augmentation des malformations congénitales globales pour les singulaires issus de FIV. Cependant, l'étude retrouve une différence significative pour les malformations génito-urinaires OR de 1,57 (IC 1,06-1,31) et chromosomiques OR de 0,20 (IC 0,06-0,70). Une différence significative est retrouvée si l'on considère l'ensemble des grossesses PMA (singulaires et multiples) OR 1,25 (IC 1,12-1,39), les grossesses multiples présentant une

augmentation significative des malformations congénitales globales OR 1,35 (IC 1,18-1,54), en particulier pour les malformations cardiaques et oculaires (14).

Wen et al. retrouvent une incidence accrue des malformations congénitales globales chez les singleton issus de FIV et FIV/ICSI. Aucune significativité n'est retrouvée en comparant entre elles les techniques de PMA (FIV et FIV/ICSI) (16).

Klemetti et al retrouvent un risque accru de malformations urogénitales OR 2,05 (IC 95% 1,36-3,10) et musculo-squelettiques OR 1,55 (IC 95% 1,05-2,27) chez les enfants issus de FIV, comme Davies et al. qui montrent en plus une incidence accrue des anomalies cardio-vasculaires et cérébrales (17;18).

Kallen et al révèlent une incidence accrue des anomalies du système nerveux central dans le groupe FIV OR 2,06 (IC 95% 1,36-3,14), et en particulier des anomalies du tube neural OR 3,01 (IC 95% 1,65-5,05), cardio-vasculaires OR 1,30 (IC 95% 1,13 – 1,49), des agénésies rénales OR 2,83 (IC 95% 1,22 – 4,47) et des syndromes malformatifs congénitaux OR 2,06 (IC 95% 1,13-3,46). Il n'y a pas de précision sur le type de syndrome, notamment s'ils sont soumis à empreinte. Ces syndromes spécifiques seront traités plus loin (15).

L'étude de Kallen et al. ne retrouve cependant pas d'augmentation significative d'anomalies chromosomiques dans les groupes de PMA OR 0,98 (IC 95% 0,70 – 1,37).

Ainsi, le taux de malformations congénitales constaté chez les enfants issus de FIV/ICSI semble supérieur à celui observé chez les enfants issus de grossesses spontanées.

b) Prématurité chez les bébés issus de PMA.

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Techniques de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	Xiaokui Yang et al.	2013	Rétrospective chinoise	112 403	FIV/ICSI	4,53 (3,91–5,25)	2,21 (1,81-2,70)
4	Hayashi et al.	2012	Rétrospective japonaise	242 715 (4570 FIV)	FIV	Non précisé	1,29 (1,16-1,45)
4	Kallen et al.	2005	rétrospective suédoise	13 261	FIV	1,71 (1,60 – 1,82)	1,66 (1,52 – 1,81)
4	Schieve et al.	2007	Rétrospective américaine	154 267	FIV	1,8 (1,6-2,00)	2,4 (1,8-3,00)
2	Wisborg et al.	2010	Prospective danoise	20 080	FIV/ICSI	1,55 (1,17-2,05)	1,53 (1,15-2,04)
2	Mc Donald et al.	2009	Méta-analyse canadienne	16 études (12 270 FIV)	FIV et FIV/ICSI	1,89 (0,94-3,81)	1,84 (1,54-2,21)

Tableau 7 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque d'accouchement prématuré (AP) < 37 SA.



L'étude d'Hayashi et al. montre également une incidence accrue de la prématureté en cas de stimulation simple de l'ovulation par traitement inducteur et en cas d'insémination intra-utérine, avec respectivement des OR de 1.29 (IC 95% 1.15-1.45) et 1.16 (IC 95% 1.01-1.33) (10). L'étude de Wisborg et al. rapporte une incidence accrue des grands prématurés (accouchement < 32 SA) dans les grossesses par FIV/ICSI OR 2,33 (IC 95% 1,17-4,65) (19). La méta-analyse de Jackson et al. retrouve également un OR de 3,10 (IC 95% 2,00-4,80) en comparant le risque d'accouchement avant 32-33 SA des grossesses sous FIV avec celui de grossesses (8).

Ainsi, les enfants issus de FIV et FIV/ICSI présentent au vu de l'analyse des différentes études un risque accru de prématureté (< à 37 SA) ainsi que de grande prématureté (< à 32-33 SA).

Ce risque de prématureté et de grande prématureté augmenté dans les grossesses par FIV et FIV/ICSI entraîne une incidence accrue des hospitalisations en service de réanimation néonatale, comme le démontre la méta-analyse multicentrique rétrospective de 30 études de cohorte de Pandey et al. OR 1,58 (IC 95% 1,42-1,77), qui s'est intéressée au devenir obstétrical et périnatal des singletons nés après FIV/ICSI comparé à celui des singletons spontanés. Elle ne précise cependant ni la durée d'hospitalisation, ni le traitement dispensé (11).

c) Petit pour l'âge gestationnel (PAG).

NP	Auteur	Année	Type de cohorte	Nombre sujets	Technique de PMA	OR ou RR (IC 95%)	aOR (IC 95%)
4	D'Angelo et al.	2011	Rétrospective américaine	16 748	FIV/ICSI	1,72 (1,13-2,61)	1,98 (1,21-3,24)
2	Wisborg et al.	2010	Prospective danoise	20 080	FIV/ICSI	1.75 (0.99-3.09)	1.44 (0.78-2.66)
4	Raatikainen et al.	2012	Rétrospective finlandaise	19 412	FIV	Non précisé	1,19 (0,86-1,64)
4	Hayashi et al.	2012	Rétrospective japonaise	242 715 dont 4570 FIV	FIV	Non précisé	1,12 (0,94-1,33)
2	Jackson et al.	2004	Méta-analyse américaine	7 études (1889 FIV)	FIV	Non précisé	1,60 (1,25-2,04)
2	Mc Donald et al.	2009	Méta-analyse canadienne	8 études	FIV et FIV/ICSI	Non précisé	1,45 (1,04-2,00)

Tableau 8 : Grossesses PMA versus grossesses spontanées : risque de PAG.



Pour déterminer l'incidence de petit pour l'âge gestationnel, d'Angelo et al ont ajusté à l'origine ethnique, le sexe, l'âge gestationnel et le poids de naissance de l'enfant. Il trouve un OR significatif 2,20 (IC 95% 1,55-3,13) pour les poids de naissance compris entre 1500g et 2500g pour les enfants à terme issus de la PMA (21). Raatikainen et al ont ajusté à la primiparité, aux antécédents obstétricaux, à l'IMC, à l'âge gestationnel, à la consommation d'alcool et au tabagisme (22).

L'étude de Wisborg et al. ne montre pas d'effet de la PMA sur les poids de naissance inférieurs à 2500g (19).

L'étude d'Hayashi et al. rapporte également un risque accru ajusté à l'âge gestationnel des petits poids de naissance (<2500g) avec un OR de 1,27 (IC 95% 1,15-1,40) et de très petits poids de naissance dans les grossesses par FIV avec un OR de 1,3 (IC 95% 1,08-1,57) (10).

La méta-analyse de Mc Donald et al. retrouve un risque accru de poids de naissance inférieur à 2500g OR 1,60 (IC 95% 1,29-1,98) et inférieur à 1500g OR 2,65 (IC 95% 1,83-3,84) (20). Cependant, dans les méta-analyses de Jackson et al et de Mc Donald et al, la définition ainsi que les courbes de croissance utilisées ne sont pas précisées et peuvent varier d'un pays à l'autre. Les méta-analyses regroupant les études de différents pays, l'interprétation des incidences globales est donc difficile (8;20).

d) Réanimation néonatale.

Il existe selon l'étude d'Hayashi et al un risque accru de réanimation néonatale chez les nouveau-nés issus de FIV comparativement à ceux issus de grossesses spontanées OR 1,23 (IC 95% 1,12-1,35) (10).

e) Score d'Apgar.

L'étude d'Hayashi et al. a comparé l'incidence des scores d'Apgar inférieurs à 7 à 5 minutes de vie chez les nouveau-nés issus de FIV et les nouveau-nés issus de grossesses spontanées et rapporte un OR non significatif de 1.18 (IC 95% 0.93-1.49) (10). Raatikainen et al retrouvent également un OR non significatif du score d'Apgar faible à 5 minutes de vie OR 0.87 (IC 95% 0.38-1.99) chez les nouveau-nés issus de la PMA comparativement à ceux issus de grossesses spontanées (avec un temps de conception inférieur à 6 mois) (22).

f) Décès néonatal.

Les nouveau-nés issus de la PMA ne présentent pas de risque accru de décès néonatal



comparativement à ceux issus de grossesses spontanées, comme le montre notamment l'étude d'Hayashi et al. OR de 1,25 (IC 95% 0,89-1,78) (13).

Au total, il semble exister chez les nouveau-nés issus de la PMA un risque accru de prématurité et de grande prématurité, entraînant l'augmentation des hospitalisations en service de réanimation néonatale. L'incidence des malformations congénitales et des nouveau-nés petits pour l'âge gestationnel semble également augmentée selon certaines études.

Le risque d'un score d'Apgar faible à 5 minutes de vie, ou encore d'un décès néonatal ne semble pas majoré chez les nouveau-nés issus de la PMA.

2.1.3. Particularités des grossesses multiples.

Les grossesses multiples constituaient auparavant la complication majeure des traitements de l'infertilité (http://www.lesjta.com/article.php?ar_id=970). En effet, lors d'un parcours PMA, plusieurs embryons étaient implantés chez la mère pour augmenter les chances qu'au moins un embryon se développe, augmentant ainsi la probabilité de grossesse multiple. Ces grossesses multiples, iatrogènes, ont été et sont encore responsables d'une incidence accrue de la morbi-mortalité maternelle, périnatale et de la petite enfance. Pour tenter de remédier à ces grossesses multiples induites par les traitements, on assiste depuis quelques années à une évolution des pratiques avec la technique de réduction embryonnaire et depuis peu la stimulation monofolliculaire. On constate une augmentation des transferts monoembryonnaires en 3 ans, avec en 2012, 39,8% d'embryons uniques transférés vs 31,7% en 2009, quelle que soit la technique utilisée et l'origine des gamètes, et une diminution des transferts de 3 embryons et plus (de 9% à 6%) (<http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2013/donnees/procreation/01-amp/synthese.htm>).

On constate ainsi une diminution des accouchements multiples entre 2009 et 2012 de 16,7% à 14,5% (<http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2013/donnees/procreation/01-amp/synthese.htm>). Ces techniques de réduction embryonnaire ont cependant leurs limites, n'étant pas dénuées de risque médical (gestes invasifs, risque de perdre tous les embryons) et souvent accompagnées de complications émotionnelles nécessitant parfois un suivi psychologique (http://www.lesjta.com/article.php?ar_id=970).

2.1.4. Facteurs liés à l'infertilité.

Deux principaux facteurs influencent les issues de grossesse après PMA: les facteurs maternels, liés à l'infertilité elle-même et/ou à son étiologie, et les facteurs liés au traitement utilisé. Chaque type d'infertilité semble avoir ses complications propres, plus ou moins graves, pouvant avoir un impact différent sur la grossesse et sur la morbidité maternelle, obstétricale et néonatale.



Une méta-analyse de 15 études, réalisée en 2006, incluant 720 femmes souffrant d'un Syndrome des Ovaires Polykystiques et 4505 femmes n'ayant pas eu recours à la PMA, a montré qu'il existait un risque accru pour les femmes souffrant d'un SOPK de développer un diabète gestationnel au cours de leur grossesse OR 2,94 (IC 1,70-5,08) ainsi qu'une pré-éclampsie OR 3,47 (IC 1,95-6,17). L'étude a révélé que le risque accru de diabète gestationnel persistait dans le groupe SOPK même après exclusion des études où les patientes SOPK avaient un IMC supérieur à celui du groupe témoin. En revanche, il n'y a pas eu d'analyse possible sur l'influence du SOPK sur le risque de pré-éclampsie (23).

Une analyse rétrospective monocentrique menée en 2008 s'est intéressée à l'impact de la technique utilisée et des facteurs maternels sur les issues de grossesse. Elle a analysé au sein de 2 546 fratries de deux grossesses consécutives (l'une obtenue par FIV, l'autre obtenue spontanément), l'incidence de la prématurité. Celle-ci était supérieure dans le groupe FIV à celle dans le groupe spontané OR 1,69 (IC 1,55-1,85), mais cette augmentation n'était plus significative si l'on regardait l'incidence au travers d'une même fratrie OR 1;20 (IC 0,90-1,61). Cette disparition de significativité au sein d'une même fratrie a été retrouvée également dans les nouveau-nés petits poids de naissance (-2DS) OR 0,99 (IC 0,62-1,57) alors que l'incidence était augmentée et significative dans le groupe FIV OR 1,26 (IC 1,10-1,44). Ce résultat pose la question de l'origine qui serait soit génétique, soit liée à la cause de l'infertilité elle-même et qui interviendrait dans la morbidité néonatale (prématurité, petit poids de naissance). La technique utilisée dans la FIV elle-même semble ne pas avoir d'impact dans cette étude. Le caractère monocentrique, rétrospectif, descriptif et sans ajustement ne permet pas de conclure mais seulement de soulever des questions. (24).

Une étude finlandaise de 2012 a comparé, entre 1989 et 2007, 428 grossesses obtenues par PMA à 928 grossesses obtenues spontanément après un temps de conception de 2 ans ou plus, et s'est intéressée aux issues de grossesse des deux groupes. Elle a ainsi comparé deux types de population de femmes infertiles, l'une traitée, l'autre non, afin de savoir si les issues défavorables étaient dues à l'hypofertilité sous-jacente ou à la technique utilisée. Environ 40% des femmes ayant été traitées et environ 67% des femmes non traitées avaient 30 ans ou plus, alors que la proportion de femmes ayant plus de 35 ans était identique (25%). Aucune différence significative n'a été observée, entre les femmes infertiles traitées et celles non traitées avec un délai de conception de 2 ans ou plus, dans les taux de césariennes OR 1,21 (IC 0,89-1,64), les accouchements prématurés OR 1,28 (IC 0,81-2,03), les petits poids de naissance (OR 0,95 ;IC 0,65-1,39), les besoins de soins intensifs néonataux (OR 1,28 ;IC 0,88-1,88) ou les faibles scores d'Apgar (OR 1,19 ;IC 0,47-3,04).

Cependant, dans le sous groupe avec un délai de conception raccourci (0-6 mois), on observe une augmentation significative des risques de prématurité (< 37SA) ou de très grande prématurité (<

32SA), avec respectivement un OR 1,57 (IC 1,08-2,27) et 2,67 (IC 1,39-5,08), des nouveau-nés avec petits poids de naissance (< à 2500g) OR 1,92 (IC 1,31-2,81) et d'hospitalisation en unités de soins intensifs OR 1,38 (IC 1,02-1,87) dans le groupe traité. Le délai de conception semble donc avoir plus d'effet que le recours propre à la PMA (22).

Au total, non seulement le traitement de l'infertilité mais aussi les facteurs maternels relatifs à l'infertilité sont associés aux issues défavorables de la grossesse.

2.2. PMA et mécanismes épigénétiques.

2.2.1. Le concept de la programmation fœtale.

La programmation repose sur l'idée qu'un stress in-utero et dans les deux premières années de la vie, concept des mille jours, peut avoir un effet sur l'organisme à long terme et peut expliquer la survenue de pathologies chroniques à l'âge adulte telles que l'obésité, le diabète, l'hyper-tension artérielle, les cancers, etc. (25; www.thousanddays.org).

La période péri-conceptionnelle, la grossesse, la période périnatale et la petite enfance sont des moments clés où le développement de l'individu est fortement modulé par son environnement. Ce concept est né du travail du britannique David Barker qui en 1989 a mis en évidence le lien entre un faible poids de naissance et la survenue de maladie coronarienne à l'âge adulte. L'hypothèse de Barker, aussi appelée hypothèse de l'origine développementale des maladies de l'adulte (*Developmental Origins of Health and Diseases*, DOHaD) suppose que l'exposition à des toxiques (médicament, tabac, drogues, perturbateurs endocriniens), à des agents infectieux, à un déséquilibre alimentaire ou encore à un stress psychique créerait un environnement intra ou extra-utérin défavorable. Celui-ci aurait un impact sur le développement tissulaire et programmerait des maladies chroniques de l'enfant et de l'adulte. Un environnement nutritionnel défavorable ou un déséquilibre métabolique chez la mère au cours de la grossesse est responsable par exemple de petit poids de naissance. L'enfant peut ensuite avoir une phase de croissance trop rapide par rattrapage staturo-pondéral, pendant les 2 premières années de sa vie, période également critique en terme de reprogrammation, cumulant ainsi les risques de développer un syndrome métabolique à l'âge adulte. Le gain pondéral pendant les premiers mois de vie influencerait le poids à l'âge adulte et ces enfants présenteraient une susceptibilité accrue de développer, plus tard, des désordres métaboliques tels qu'une obésité, un diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires (25).

La programmation fœtale est sous-tendue par des mécanismes épigénétiques, touchant à la fois les cellules somatiques et germinales, et un défaut de programmation peut donc avoir des effets sur la santé dans l'enfance et à l'âge adulte et pourrait même être transmis à la génération suivante.

Pathologies liées à la programmation fœtale	Facteurs environnementaux responsables de la programmation fœtale
<ul style="list-style-type: none"> -Mortalité par accidents cardiovasculaires -maladies coronariennes -diabète (type I ou II) -Hypertension -Dyslipidémie -obésité -ostéoporose -schizophrénie -Cancers(sein, testicule, leucémie...) 	<ul style="list-style-type: none"> Restriction alimentaire maternelle <ul style="list-style-type: none"> -restriction calorique -restriction protéique -restriction en nutriments Substances exogènes <ul style="list-style-type: none"> -glucocorticoïdes -nicotine Perturbation de la circulation utéro-placentaire
<ul style="list-style-type: none"> Hypertension artérielle pulmonaire 	<ul style="list-style-type: none"> Hypoxie périnatale
<ul style="list-style-type: none"> Résistance au stress 	<ul style="list-style-type: none"> Pré-éclampsie Comportement maternel protecteur

Tableau 9 : Exemples d'associations entre des atteintes périnatales et des maladies de l'adulte. (Bloch, 2007) (26)

2.2.2. L'épigénétique.

Toutes les cellules du corps humain contiennent le même ADN, c'est à dire le même programme génétique. Cependant, ces cellules ne l'expriment pas toutes de la même façon, on parle d'épigénétique. Seulement 5 à 10% de l'information contenue dans le génome humain est exprimée. L'accès à l'information génétique portée par la séquence primaire de l'ADN dépend de phénomènes épigénétiques. Ceux-ci permettent la régulation de l'ADN dans le temps et dans l'espace, sans affecter la séquence nucléotidique. L'épigénétique a la spécificité d'être temporaire et réversible, à l'opposé de la génétique dont l'info est permanente et irréversible. Les modifications épigénétiques sont influencées par l'environnement et l'histoire individuelle. Elles sont potentiellement héréditaires si elles touchent les cellules germinales (2).

Les modifications épigénétiques sont un ensemble de marquages biochimiques apposés sur l'ADN (méthylation principalement), sur les histones (méthylation, acétylation, phosphorylation, etc.) et sur l'ARN (microARN). Ces marquages conditionnent l'accessibilité de régions ADN à des facteurs de transcription modulant ainsi l'expression des gènes concernés (3;27;28).

Ces marques sont transmises au cours des divisions cellulaires. On parle alors de « mémoire cellulaire ». Elles permettent, lors du développement de l'embryon, le passage de cellules pluripotentes à des cellules spécifiques du tissu auquel elles appartiennent (29). On sait aujourd'hui que des mécanismes épigénétiques sont impliqués dans la survenue de maladies chroniques comme le cancer, le diabète ou l'hypertension (25;30; www.dohad2015.org). Un défaut de marquage épigénétique dans les cellules germinales peut potentiellement entraîner une transmission à la génération suivante.

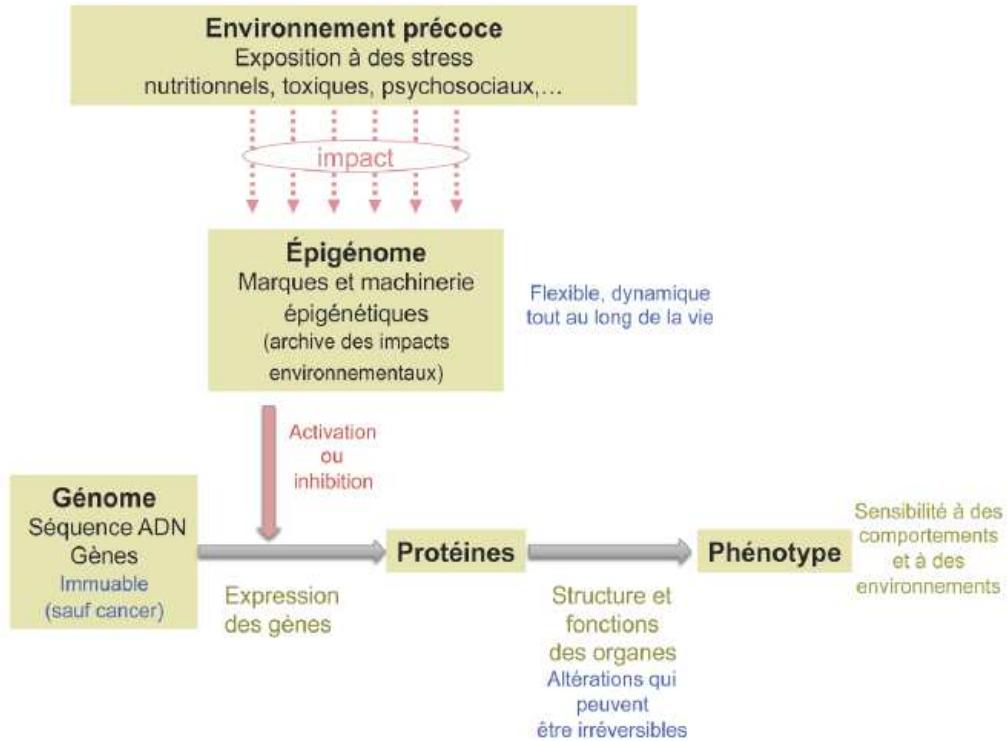


Schéma 1 : Représentation schématique de l'épigénétique (Charles, IReSP 2012)

a) La méthylation de l'ADN.

Il existe des régions ADN riches en dinucléotides CG (Cytosine-phosphate-guanine) appelés îlots CpG. Ces zones sont en général situées sur des régions régulatrices (promoteur) des gènes. La méthylation sur les résidus de cytosine de ces dinucléotides CG constitue une marque épigénétique. On considère habituellement qu'une hyperméthylation de l'ADN sur une zone promotrice entraîne une moindre accessibilité aux facteurs de transcription et donc une répression transcriptionnelle. Ce mécanisme intervient dans les phénomènes de différenciation cellulaire, d'inactivation d'un des deux chromosomes X (lyonisation) et les phénomènes d'empreinte parentale (4).

b) L'empreinte génomique.

L'empreinte génomique se caractérise par une méthylation sélective de l'allèle maternel ou paternel entraînant une expression uni-parentale de gènes spécifiques, gènes alors dits soumis à empreinte (4). Chez le mammifère, lors de la rencontre des gamètes, on observe pour certains gènes un marquage différentiel des génomes mâle et femelle par des phénomènes de méthylation de l'ADN. Ces allèles, lorsqu'ils sont méthylés, sont dits soumis à empreinte et restent silencieux. La méthylation survient sur des régions de contrôle d'empreinte DMR (differentially methylated regions) et a pour rôle la répression transcriptionnelle de gènes. Il en résulte alors chez l'embryon une expression mono-allélique de l'allèle homologue, d'origine maternelle ou paternelle (4;31;32;33). Un seul des allèles parentaux

s'exprime. La complexité du phénomène est qu'un domaine d'empreinte contient à la fois des gènes à expression maternelle et des gènes à expression paternelle (27).

En raison de leur fonctionnement haploïde, ces régions d'ADN sont particulièrement exposées à la survenue de mutations et d'épimutations (3).

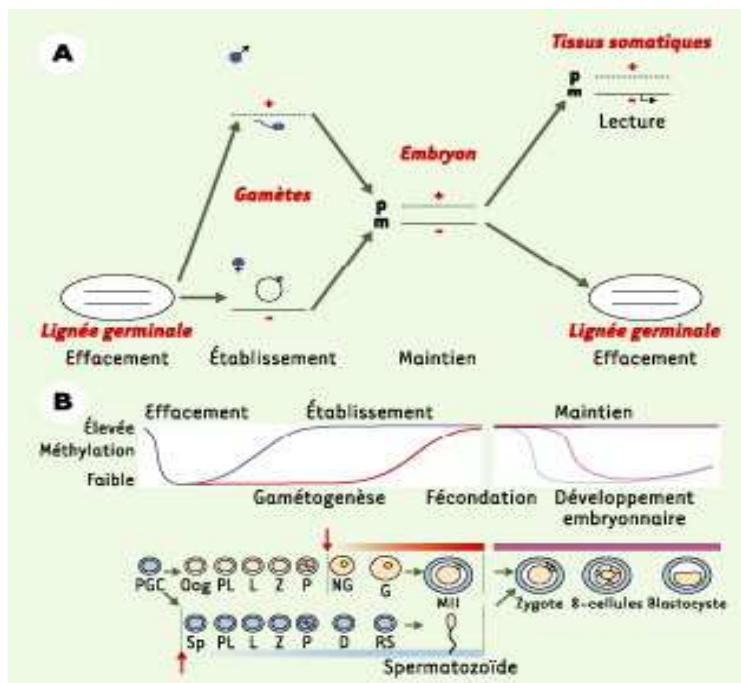


Schéma 2 : Le cycle de l'empreinte parentale (Gabory 2005) (32)

On observe chez les mammifères deux étapes physiologiques de méthylation et déméthylation. Les premières méthylation se font lors de la gaméto-génèse mâle et femelle. Une déméthylation massive du génome intervient après la fécondation pour permettre une re-méthylation avant l'implantation. Un nouveau profil zygote est alors créé. L'empreinte sera ensuite effacée par déméthylation dans les cellules germinales primordiales de l'embryon puis sera remarquée par une méthylation de novo, différemment selon le sexe de l'embryon (2;28;31;32;34;35). Ce sont des périodes où l'ADN est particulièrement vulnérable et un changement d'environnement peut entraîner des modifications épigénétiques, d'autant plus lorsque ces phénomènes de déméthylation et re-méthylation surviennent *in vitro*. Lorsque surviennent les déméthylations massives après la fécondation, les méthylation des gènes soumis à empreintes se maintiennent et sont protégées par des mécanismes encore mal connus à ce jour. Ce phénomène permet ainsi le maintien de l'expression mono-allélique de ces gènes spécifiques (5;31;32).

L'importance des gènes soumis à empreinte dans la régulation de la croissance et du développement fœtal est aujourd'hui connue (2;3;4;29;32). Un désordre d'empreinte peut avoir des conséquences à un stade ultérieur du

développement et entraîner un phénotype pathologique. La PMA intervient pendant cette fenêtre critique de déméthylation et reméthylation et peut donc affecter la régulation de l'expression des gènes.

Plusieurs maladies d'empreintes ont été répertoriées chez l'homme (31; www.orphanet.fr).

- Le syndrome de Wiedemann-Beckwith (BWS) se caractérise par un ensemble de malformations congénitales et une prédisposition à certains cancers. Sa prévalence dans la population générale est de 1 sur 13 700 naissances. Les gènes d'empreinte en jeu sont les gènes IGF2 et KCNQ1OT1 à expression paternelle et les gènes H19, CDKN1C à expression maternelle, tous localisés sur le chromosome 11.
- Le syndrome de Silver-Russell (SRS) associe un retard de croissance intra-utérin sévère sans rattrapage post-natal et un retard de développement psychomoteur. Sa prévalence est de 1/100 000. Des anomalies localisées sur les chromosomes 7 et 11 à type de disomie uniparentale et de défaut d'empreinte ont été décrites dans la littérature.
- Le syndrome d'Angelmann (AS) se traduit par un trouble sévère du développement neurologique avec retard mental. Sa prévalence est de 1 sur 20 000. A l'origine de ce syndrome, une anomalie localisée sur le chromosome 15 est retrouvée par délétion, disomie uniparentale paternelle ou un défaut d'empreinte.
- Le syndrome de Prader-Willi (SPW) se traduit par d'importants troubles du comportement, des difficultés d'apprentissage et une obésité sévère (liée à une hyperphagie) dus à des anomalies localisées sur le chromosome 15. Sa prévalence est de 1/25 000. Il est l'image en miroir du syndrome d'Angelmann car concerne les mêmes gènes, c'est une disomie uniparentale maternelle.

En 2013, on estime à 1000 le nombre de gènes soumis à empreinte chez la souris et 200 chez l'homme. Environ 150 d'entre eux ont été mis en évidence chez la souris et seulement 60 chez l'homme (36; <http://igc.otago.ac.nz> ; www.geneimprint.com ; www.mousebook.org/catalog.php?catalog%imprinting).

c) Les modifications post-transcriptionnelles des histones.

Les modifications des histones, par méthylation, acétylation ou encore phosphorylation, entraînent un changement de structure de la chromatine permettant ainsi le passage d'un ADN compacté à un ADN moins dense ou inversement, modifiant ainsi son accessibilité aux facteurs de transcription. Ces modifications des histones sont en lien étroit avec la méthylation de l'ADN et interviennent également dans la régulation des gènes soumis à empreinte (4;31;32).

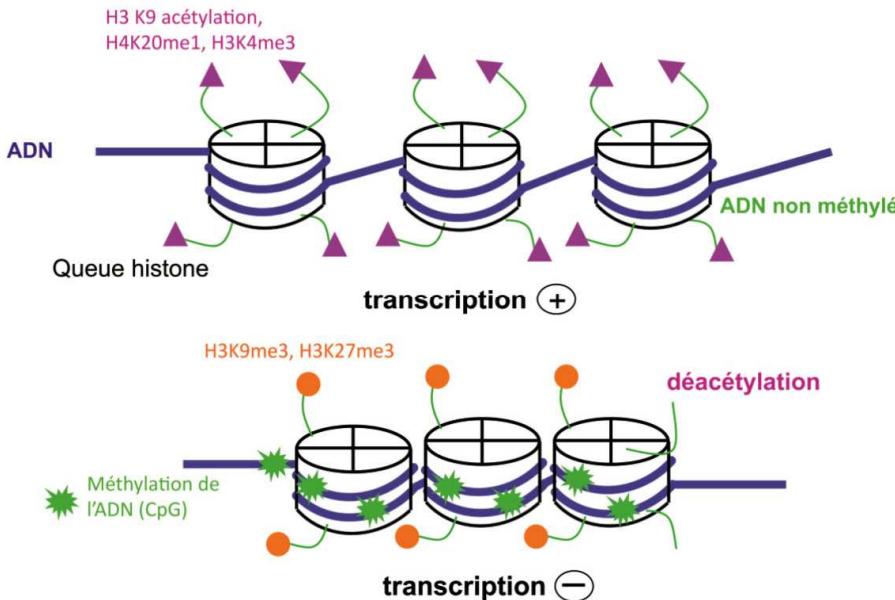


Figure 1. Exemples de marques épigénétiques.

De façon générale, lorsque les queues d'histone sont acétylées et l'ADN non méthylé au niveau des îlots CpG, la chromatine est sous forme non compacte et la régulation de la transcription possible. Dans le cas contraire, la méthylation de l'ADN, la désacétylation des queues histones et certaines de leurs méthylations sont associées à la compaction de la chromatine et à l'absence d'expression.

H3 : histone 3 ; H4 : histone 4 ; K9 et K27 : lysine 9 et 27 des queues d'histone, H4K20me1, lysine 20 de histone 4 présentant une seule méthylation, H3K4me3 avec 3 méthylations.

Ici est donc représenté un exemple de gène soumis à l'empreinte génomique avec un des allèles soumis à l'empreinte et donc sans expression alors que le gène de l'autre allèle est exprimé.

Schéma 3 : Journal International de Médecine (http://www.jim.fr/mon_compte/login.phtml)

d) Les micro-ARN (miR).

Les micro-ARN sont des petits ARN non codants capables de moduler l'expression de gènes et de protéines sans modifier leur séquence nucléotidique. En se fixant à des ARN messagers, ils inhibent leur traduction et réprimant ainsi l'expression de gènes cibles par une action post-transcriptionnelle. Ce sont d'importants régulateurs épigénétiques qui permettent le remodelage de la chromatine, en lien étroit avec la modification des histones et l'empreinte parentale. Ils sont importants dans la croissance, la différenciation cellulaire, l'apoptose et donc dans le développement embryonnaire mais aussi dans le développement de cellules cancéreuses. On les retrouve en grande quantité dans le placenta et circulant dans les liquides biologiques. Leur étude pourrait permettre le diagnostic et le suivi de certaines pathologies de la grossesse (pré-éclampsie, retards de croissance intra-utérin, placenta accreta, etc.) ainsi que le diagnostic et le suivi précoce de cancers (37;38).

2.2.3. Epigénétique et placenta.

Le placenta est un organe essentiel au développement et la croissance fœtale. Son activité est à fois respiratoire, nutritive, métabolique et endocrine. Il apporte au fœtus, via des connections vasculaires, l'oxygène, les hormones, et les nutriments qui lui sont nécessaires. Il joue aussi un rôle de protection immunitaire primitive en empêchant le passage trans-placentaire de nombreux microbes et toxiques. Son rôle d'interface materno-fœtale évolue en fonction des besoins du fœtus. C'est un organe éphémère qui croît et évolue de façon rapide pendant 9 mois. Il est considéré comme une « boîte noire » potentielle et son analyse pourrait permettre de « relire » les événements de la grossesse.

Le placenta est un des plus importants sites d'action des gènes soumis à empreinte (3;4). Ces gènes régulent la croissance placentaire, son développement et sa fonction (2;3;4;5). Ils influencent la réponse du placenta à

l'environnement (39). Le placenta intervient à son tour dans le développement des différents organes du fœtus. Ainsi, un désordre épigénétique peut entraîner un phénotype placentaire pathologique et donc avoir une incidence sur la survenue de pathologies métaboliques à l'âge adulte comme le diabète de type II ou l'hypertension (3).

2.2.4 Mécanismes épigénétiques potentiellement perturbés par PMA.

Des études récentes ont mis en évidence la survenue de modifications épigénétiques du placenta dans le cas de grossesses issues de PMA (40).

L'hypothèse de travail de nombreux chercheurs est que la manipulation des gamètes et le changement d'environnement embryonnaire seraient responsables d'un stress cellulaire potentiellement pourvoyeur de modifications épigénétiques (impact direct de la PMA). Cependant, l'origine même de l'infertilité est susceptible d'entraîner la survenue de profils épigénétiques aberrants (impact indirect).

Il est possible que des spermatozoïdes et ovules « immatures », potentiellement porteurs d'anomalies épigénétiques soient utilisés. La PMA permet la fécondation de gamètes qui n'auraient physiologiquement pas eu lieu et risque une transmission d'anomalies épigénétiques à la descendance (1;41). De plus, l'altération des méthylations s'accentue avec l'âge (36;27). L'augmentation de l'âge pour concevoir dans la société actuelle nous permet d'appuyer ainsi l'idée qu'il existe un plus fort risque de transmission d'anomalie à la descendance (<http://www.agence-biomedecine.fr/>).



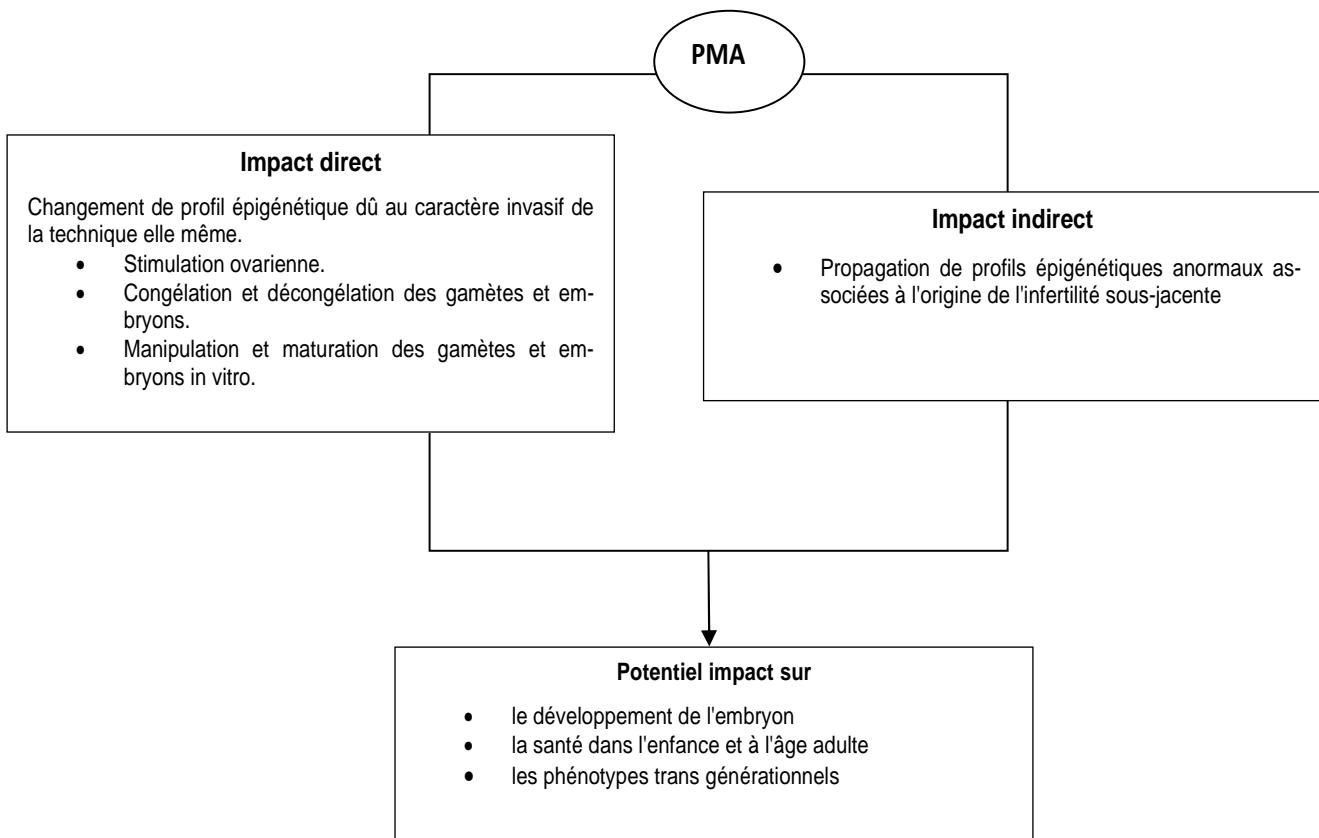


Schéma 4 : Adapté de Fauser, 2014 (1)

Pour des raisons éthiques et législatives, les travaux sur les tissus embryonnaires humains sont très limités. Cependant les expérimentations animales et les données épidémiologiques chez l'homme suggèrent un lien possible entre la survenue de troubles épigénétiques et la PMA.

2.2.5. Etudes expérimentales chez l'animal.

Une riche littérature chez l'animal a permis de comprendre les mécanismes physiopathologiques impliqués. Ces études présentent des résultats contradictoires. Une majorité d'entre elles suggèrent que la PMA ne perturbe pas le phénomène d'acquisition d'empreinte (1;42). En revanche, d'autres travaux, mettent en évidence un lien entre la PMA et les désordres d'empreinte génétique de l'ADN (1).

a) La stimulation ovarienne et la maturation ovocytaire in-vitro.

Le processus d'acquisition d'empreinte chez la femelle débute lors de l'apparition et la croissance des cellules germinales (ovocyte) et ne se termine qu'avant l'ovulation, à chaque cycle (schéma 2). Le marquage de l'ADN se fait de manière asynchrone tout au long de la maturation ovocytaire (28;31;37). L'ovulation induite par de fortes doses de gonadotrophines permet d'obtenir un grand nombre d'ovocytes matures. Ces ovocytes obtenus, ainsi que les ovocytes maturés in-vitro, ont

alors une phase de maturation plus rapide risquant la survenue d'un processus d'empreinte incomplet ou perturbé (28;31). Des ovocytes qui n'auraient physiologiquement pas été sélectionnés, avec une évolution naturelle vers l'atrézie, sont « sauvés ». De nombreuses études sur l'animal ont démontré que la superovulation provoquée était associée à une diminution de la qualité des ovules (34).

D'autres travaux ont montré qu'une forte imprégnation hormonale pouvait avoir un impact sur les conditions endométriales et ainsi perturber l'implantation et retarder le développement embryonnaire, fœtal et placentaire (34;36).

L'apparition d'un défaut d'empreinte serait fonction de la dose hormonale utilisée. Ces anomalies surviennent de façon plus marquée pour de plus fortes doses (36;43;44). Chez l'homme, la société actuelle est confrontée à un recul de l'âge de la première maternité et il existe une diminution du stock ovocytaire avec l'avancée de l'âge (<http://www.agence-biomedecine.fr/>). De plus fortes doses hormonales sont alors parfois nécessaires pour avoir une stimulation ovarienne efficace, augmentant ainsi le risque de survenue d'anomalies épigénétiques.

Bien que chez l'homme aucun problème médical majeur n'ait été recensé après une stimulation, elle pourrait jouer un rôle dans la programmation fœtale.

b) La FIV et FIV/ICSI.

L'apparition de profils épigénétiques aberrants lors de grossesses sous FIV/ICSI pourrait être expliquée par 2 raisons : la technique en elle-même invasive et potentiellement responsable de modifications épigénétiques et des anomalies parentales liées notamment à l'infertilité masculine. Celles-ci pourraient être transmises à la descendance, lorsque la barrière physiologique que constitue l'infertilité est franchie.

- La stimulation ovarienne :

Une première étape lors d'une FIV/ICSI consiste à stimuler les follicules par un traitement hormonal avec des doses de gonadotrophines (FSH +/- LH) plus importantes que pour une stimulation simple. Comme vu précédemment, des anomalies épigénétiques peuvent survenir de façon proportionnelle à la dose hormonale utilisée (44).

- La maturation des gamètes in vitro :

Une étude chez la souris détermine les effets de 2 types de cultures différents sur le gène d'empreinte H19 et son taux de méthylation. Un défaut d'expression de ce gène par perte de méthylation de l'allèle normalement silencieux apparaît dans une culture par Whitten et reste absent dans une culture par KSOM+acide-aminés (31;43). Les répercussions épigénétiques de la maturation des gamètes existent mais semblent dépendre des milieux de cultures utilisés.



- La FIV :

La FIV implique que les toutes premières étapes du développement embryonnaire aient lieu en dehors de l'organisme maternel avec une forte luminosité et des concentrations en oxygène importantes (1). Selon l'hypothèse de programmation fœtale, l'environnement pré-implantatoire orienterait la différentiation cellulaire via des mécanismes épigénétiques. L'environnement particulier de la fécondation et de la culture in-vitro risque d'entraîner des modifications épigénétiques programmant parfois chez l'embryon une susceptibilité à développer des pathologies métaboliques à l'âge adulte.

Une étude comparative des effets de la culture in-vitro et de la culture in-vivo montre une altération significative de l'expression de gènes placentaires à mi-gestation chez la souris, se traduisant essentiellement par une modification de l'expression de gènes soumis à empreinte (45). Angiolini et al. exposent l'influence des gènes d'empreintes sur le transport trans-placentaire de nutriments et éléments essentiels à la croissance fœtale (29;46). La culture in-vitro influence donc le profil épigénétique. L'expression génique peut ainsi à son tour affecter les échanges materno-fœtales et ainsi la croissance et la santé de l'enfant à venir.

- L'ICSI :

L'étape ICSI ne semble pas altérer les phénomènes de méthylation. Cependant des hommes avec un défaut de qualité et/ou de quantité de spermatozoïdes peuvent concevoir. Le statut épigénétique de ces spermatozoïdes est inconnu. Des études chez la souris nous apprennent que dans la lignée germinale mâle, la première re-méthylation intervient après l'arrêt de la mitose pré-natale et se termine la plupart du temps avant les gestes de PMA (elle se produit chez la femelle à un stade plus tardif du développement de l'ovocyte comme décrit précédemment) (32). Un défaut de méthylation en lien avec l'origine de l'infertilité risque donc d'être transmis à la descendance, transmission qui se ferait donc dans ce cas de façon indirecte (1;31;32).

- le transfert embryonnaire:

Le transfert embryonnaire semble augmenter le risque de survenue d'anomalies épigénétiques. Rivera et al. mettent en évidence des perturbations épigénétiques sur 3 gènes d'empreinte Igf2, Ascl2 et Kcq1ot1 lors du transfert à 9,5 jours de développement chez la souris (47).

c) La Cryoconservation et le transfert d'embryons congelés.

A ce jour, il n'existe pas d'étude menée sur la cryoconservation mais, selon l'hypothèse de la programmation fœtale, d'importantes variations de température des gamètes et embryons seraient susceptibles d'entraîner la création de profils épigénétiques anormaux.



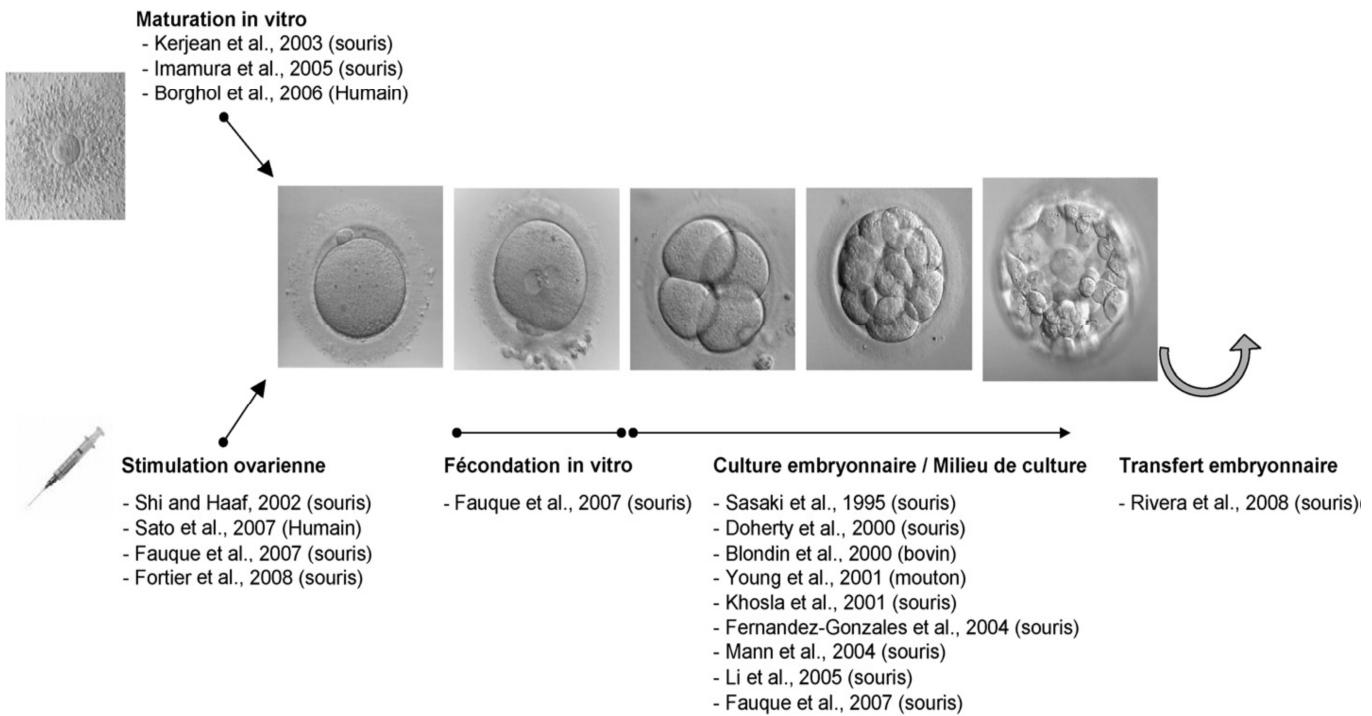


Schéma 5 : Revue bibliographique de l'analyse des dérégulations des gènes soumis à empreinte parentale en période périconceptionnelle (Fauque, 2008) (28)

2.2.6. Etudes épidémiologiques chez l'homme.

a) La PMA et les troubles d'empreinte.

Les modifications épigénétiques mises en évidence par expérimentations animales nous laissent supposer que chaque technique de PMA est potentiellement responsable de la survenue d'anomalies épigénétiques chez l'embryon humain. Pour des considérations principalement éthiques, l'accessibilité aux tissus biologiques chez l'homme reste difficile. Les connaissances des mécanismes en jeu se limitent à l'étude de tissus sanguins du cordon et du placenta. A ce jour, très peu de travaux ont pu être menés chez l'homme, d'où l'intérêt de notre approche au CHU d'Angers.

Certaines études épidémiologiques indiquent une augmentation de l'incidence des anomalies d'empreinte dans les populations ayant eu recours à la PMA (1). Une méta-analyse récente recense les différences de profil épigénétique observées entre des enfants de phénotype sain conçus par PMA et ceux conçus spontanément. L'analyse d'échantillons placentaires et de sang de cordon sur de petits effectifs de population révèle l'apparition de modifications de gènes soumis à empreinte essentiels à la croissance et au développement fœtal (40;tableau). Notons que certains de ces gènes étudiés sont impliqués dans la survenue de pathologies d'empreintes comme les gènes H19 et IGF2 dans le syndrome de Wiedmann-Beckwith. Cependant, une récente étude cas/témoin du niveau de méthylation des gènes IGF2/H19 chez 90 enfants phénotypiquement sains, par analyse d'échantillon de sang de cordon, n'a pas montré de différence significative de méthylation entre la population conçue par PMA et celle conçue spon-

tanément ($P>0,05$) (48). Les anomalies d'empreinte sont des phénomènes rares et des études plus approfondies, avec une population plus importante sont nécessaires pour mieux comprendre le phénomène. De plus, des études longitudinales avec un suivi à plus long terme de ces enfants atteints d'une anomalie d'empreinte seraient utiles pour connaître leur évolution clinique.

Comme suggéré par expérimentations animales, des données chez l'homme vont dans le sens qu'une transmission de défaut d'empreinte à la descendance pourrait aussi survenir de façon indirecte, en lien avec l'origine de l'infertilité. Une étude prospective révèle que les hommes atteints d'azoospermie présentent des profils de méthylation anormaux dans l'ADN des spermatozoïdes. L'étude du taux de méthylation globale des spermatozoïdes de 24 hommes atteints d'azoospermie montre une réduction significative des méthylations du gène H19 (4 avec une méthylation incomplète, 1 avec une absence totale de méthylation donnant lieu à un arrêt de la grossesse obtenue par ICSI) (41).

Authors	Patients tested	Approach	Gene(s) studied	Tissue studied	Difference ^a
Gomes et al. (45)	18 ART, 30 in vivo, 3 BWS (control)	MS-PCR	1 (KvDMR1)	Cord blood, placenta, peripheral blood	Yes
Katagiri et al. (42)	65 ART, 924 in vivo	RT PCR	4 (IGF2, H19, KCNQ1OT1, CDKN1C)	Placenta	Yes
Katari et al. (40)	10 ART, 13 in vivo	Platform array, RT PCR	736 genes 183 imprinted 23 mono-allelic	Cord blood Placenta	Yes
Kobayashi et al. (46)	78 ART, 38 in vivo	Bisulfite PCR	8 (H19, GTL2, PEG1, KCNQ1OT1, ZAC, PEG3, SNRPN, XIST)	Placenta (CVS)	Yes
Tierling et al. (48)	77 ICSI, 35 IVF, 73 in vivo	Bisulfite PCR	10 (KvDMR1, H19, SNRPN, MEST, GRB10, MEG3, IG-DMR, GNAS, NESP55, GNAS, NESPas, GNAS XL alpha-s, GNAS Exon1A)	Cord blood, peripheral blood, amnion/chorion	No
Turan et al. (44)	45 ART, 56 in vivo	RT PCR	2 (IGF2/H19, IGF2R)	Cord blood, placenta, peripheral blood	Yes
Zechner et al. (41)	42 ART, 29 in vivo	Bisulfite PCR	9 (H19, MEG3, LIT1, MEST, NESP55, PEG3, SNRPN, NANOG, APC)	Placenta (CVS)	Yes

Note: APC = adenomatous polyposis coli; ART = assisted reproductive technology; BWS = Beckwith-Wiedemann syndrome; CDKN1C = cyclin-dependent kinase inhibitor 1C; CVS = chorionic villus sampling; GNAS = guanine nucleotide-binding protein alpha-stimulating activity polypeptide; GRB10 = growth factor receptor-bound protein 10; GTL2 = gene trap locus 2; IGF2 = insulin-like growth factor; IGFR = insulin-like growth factor receptor; KCNQ1OT1 = KCNQ1 overlapping transcript 1; LIT1 = long QT intronic transcript 1; KvDMR1 = Kv differentially methylated region; MEG3 = maternally expressed imprinted gene; MEST = mesoderm specific transcript; MS = methylation-sensitive; NANOG = homeobox transcription factor; NESP = neuroendocrine secretory protein; PCR = polymerase chain reaction; PEG = paternally expressed gene; RT = real-time; SNRPN = small nuclear ribonucleoprotein-associated protein N; XIST = X (inactive)-specific transcript.

^a Between ART and in vivo.

Tableau 10 : Studies comparing imprinted genes between in vivo and in vitro-conceived normal offspring in humans.

(Batchelier, 2011) (40)



b) La PMA et les pathologies d'empreinte.

Dans des populations issues de PMA, plusieurs cas de pathologies en rapport avec des gènes soumis à empreinte ont été rapportés, principalement les syndromes de Wiedemann-Beckwith, d'Angelmann et de Silver-Russell. Certaines études épidémiologiques font craindre que l'incidence de ces pathologies soit plus importante chez les enfants conçus par PMA que dans la population générale (1).

De façon générale, plusieurs erreurs génétiques peuvent entraîner une pathologie d'empreinte comme une mutation, une délétion, une disomie uniparentale ou un défaut d'empreinte. Une revue bibliographique expose qu'en 2009, 90% des enfants atteints de BWS nés par PMA étaient porteurs d'un défaut d'empreinte présent chez seulement 40 à 50% des enfants atteints conçus naturellement. De plus, la majorité des enfants atteints d'AS nés par PMA étaient porteurs d'une perte de méthylation d'empreinte maternelle présente chez seulement 5% des enfants conçus naturellement (1;31). Cette observation va dans le sens de notre hypothèse de travail selon laquelle la PMA serait responsable de troubles épigénétiques entraînant parfois un phénotype pathologique. L'équipe de Shi et al., en revanche a retrouvé une hypométhylation des gènes *H19/IGF2* chez des enfants « phénotypiquement » sains conçus par PMA alors qu'une hypométhylation de ces gènes est responsable de 30% des SRS (48; www.orpha.net). Ces résultats suggèrent l'existence de puissants mécanismes de contrôle d'empreinte encore mal connus à ce jour et qu'il serait intéressant d'explorer.

Une méta-analyse menée par l'équipe de Fauque et al. rapporte des cas de pathologies d'empreinte observés dans une population issue de PMA (tableau 11). Ces pathologies sont des phénomènes rares et la responsabilité de la PMA dans leur survenue est difficile à confirmer.

Pathologies liées à l'empreinte parentale rapportées chez des enfants nés après AMP

Pathologies	Technique AMP	Nombre de cas	Localisation – empreinte	Références (Pays)
Syndrome de Wiedemann-Beckwith	FIV	3	<i>KCNQ1OT</i>	Halliday et al., 2004 (Australie)
	ICSI	1	3 analysés : 3 déméthylation de KvDMR1	De Baun et al., 2003 (États-Unis)
	FIV	2	<i>KCNQ1OT, H19</i>	
	ICSI	5	6 analysés : 5 déméthylation KvDMR1 1 hyperméthylation <i>H19</i>	
	FIV	4	<i>KCNQ1OT</i>	Gicquel et al., 2003 (France)
	ICSI	2	6 analysés : 6 déméthylation de KvDMR1	
		6	<i>KCNQ1OT</i>	
	FIV/ICSI	3/3	4 analysés : 4 déméthylation de KvDMR1	Maher et al., 2003 (Royaume-Uni)
		12	ND	Chang et al., 2005 (États-Unis)
	FIV/ICSI/TUI	5/5/2		
Syndrome d'Angelman	ICSI	1	ND	Bonduelle et al., 2002 (Belgique)
	ICSI	1	ND	Olivennes et al., 2001 (France)
	FIV	1	ND	Sutcliffe et al., 1995 (Royaume-Uni)
Syndrome de Silver-Russell	ICSI	1	<i>SNRPN</i>	Orstravik et al., 2003 (Norvège)
	ICSI	2	<i>SNRPN</i>	Cox et al., 2002 (Allemagne)
Syndrome de Prader-Willi	FIV	1	<i>PEG1/MEST</i> (hyperméthylation)	Kagami et al., 2007 (Japon)
	ICSI	1	<i>H19</i> (hypométhylation <i>H19</i>)	Blied et al., 2006 (Pays-Bas)
	ICSI	1	ND	Källén et al., 2005 (Suède)
	ICSI	1	ND	Svensson et al., 2005 (Suède)
Syndrome de Prader-Willi	ICSI	1	ND	Källén et al., 2005 (Suède)

Tableau 11 : Fauque, 2008 (28)



c) Les effets transgénérationnels.

Lorsque l'ensemble des cellules somatiques et germinales sont exposées à des modifications épigénétiques in-utero, il existe une possibilité de transmission de ces marques épigénétiques à la génération suivante par l'intermédiaire des cellules germinales. Lorsqu'il y a formation des gamètes et de l'embryon, des marques épigénétiques sont nécessairement effacées sur la totalité du génome pour redonner aux cellules leur totipotence et permettre par la suite de créer un nouveau profil zygote. Cependant certains gènes d'empreinte semblent échapper à cette déméthylation massive et certaines marques épigénétiques pourraient alors être transmises à la descendance. Cet effet n'a pas été démontré chez l'homme mais pourrait exister.

Partie 2 : Bio-collection placentaire.

1. Matériel et méthode.

Notre hypothèse de travail est que la PMA est potentiellement source de stress environnemental in-utéro et peut, par ce fait, exposer le futur enfant à un risque de reprogrammation fœtale et donc à un risque de développer des difficultés cognitives et comportementales à moyen terme et un syndrome métabolique (obésité, intolérance glucidique, diabète, maladies cardiovasculaires, HTA) à l'âge adulte.

L'objectif principal de notre travail de master 1 était de mettre en place une biocollection de sang de mère, sang de cordon et placenta afin de pouvoir analyser ultérieurement les modifications placentaires génomiques et épigénétiques potentiellement observées en cas de PMA et de corrélérer ces observations aux morbidités maternelles, fœtales et néonatales et au devenir à 2 ans des enfants issus de ces grossesses. L'identification de marqueurs potentiels placentaires passant la barrière placentaire et dosable dans le sang de mère et/ou de cordon pourrait permettre leur dosage. Ils pourraient alors constituer des biomarqueurs potentiels de pathologies maternelles, fœtales ou néonatales.

C'est une étude observationnelle, unicentrique, cas/temoin, translationnelle de recherche biomédicale avec constitution d'une biocollection.

1.1. Phase 1 : Le recrutement.

La première phase de recrutement consistait à identifier les patientes éligibles à l'étude, à recueillir leur consentement en cours de grossesse de façon libre et éclairé, après leur avoir fourni une information claire orale et écrite (cf Annexe).

Un exemplaire de la lettre d'information, signé par la personne recueillant le consentement, était destiné à être conservé par la patiente, 1 autre était à laisser dans son dossier. Quatre consentements devaient être signés par la patiente et la personne recueillant le consentement: 1 pour la patiente, 1 à conserver dans son dossier, 1 à envoyer au CRB avec les premiers échantillons, 1 à conservé dans un classeur biocollection regroupant l'ensemble les consentements des sujets de l'étude et conservé par le responsable scientifique du projet.

1.1.1. Critères d'inclusion :

Les patientes incluses étaient des patientes majeures ayant accepté de participer à l'étude de façon libre et éclairée. Le groupe témoin se composait de patientes enceintes dont la grossesse était spontanée, de déroulement normal, unique et se limitait aux accouchements à terme par césarienne programmée avant travail, au CHU d'Angers. Le groupe « PMA » se composait de patientes enceintes dont la grossesse était issue de PMA (stimulation simple, IIU, FIV, FIV /ICSI) et accouchant par voie basse ou par césarienne au CHU d'Angers.



1.1.2. Critères d'exclusion :

Les patientes exclues étaient celles refusant de participer à ce programme de recherche, les femmes mineures ou en incapacité de donner un consentement libre et éclairé (les patientes non francophones ou ayant des difficultés de compréhension), les placentas accreta ou percreta ainsi que les patientes positives au VIH, VHB et VHC.

1.2. Phase 2 : prélèvements de sang maternel et fœtal et de tissus placentaires.

1.2.1. Prélèvement d'échantillons sanguins.

Les échantillons sanguins permettront des analyses ultérieures (métaboliques et hormonales des interactions mato-fœtales, dosage de marqueurs potentiellement identifiés par approches globales d'analyse placentaire...).

Les échantillons de sang maternels ont été prélevés au plus proche de l'accouchement, de préférence à la pose du cathéter veineux périphérique ou lors du bilan pré-opératoire, ou si impossibilité en suites de couches à l'occasion d'un bilan de contrôle post césarienne, dans 4 tubes : 2 tubes EDTA et 2 tubes secs avec gélose.

Les échantillons de sang fœtal ont été récupérés à partir de sang de cordon, après la délivrance, avant coagulation sanguine, sur 1 tube EDTA et 1 tube sec avec gélose.

Ces échantillons de sang maternel et fœtal ont été ensuite acheminés au CRB (Centre de Ressources Biologiques) accompagnés d'une feuille de route adaptée (cf Annexe). Ils sont conservés à 4° au niveau de la centralisation des prélèvements si les prélèvements sont fait la nuit ou pendant le week-end, sinon, ils sont techniqués d'emblée au CRB avec la réalisation d'un buffy coat (tube EDTA) pour effectuer un isolement cellulaire (une extraction ultérieure d'ADN sera possible) et d'une centrifugation pour conserver le sérum (tubes secs).

1.2.2. La dissection et conservation de tissu placentaire.

Dans un premier temps, au moins 6 fragments de villosités choriales de 2 à 3 cm² ont été prélevés à partir de 6 cotylédon différents, en central et en périphérie. Ces prélèvements devaient être effectués sur un placenta frais dans les 30 minutes suivant la délivrance. Ce délai à ne pas dépasser permettait d'éviter une lyse tissulaire trop importante pour ne pas perdre en qualité de tissu lors des extractions ultérieures d'ARN et de protéines. Les fragments étaient prélevés dans la zone subchoriale après retrait de la partie déciduale. Les échantillons étaient ensuite lavés dans trois bains consécutifs de PBS (Phosphate Buffered Saline). Cette étape permettait le retrait de vaisseaux et caillots sanguins pouvant perturber l'extraction. 4 échantillons placentaires étaient ensuite séchés, placés directement dans des cryotubes et conservés dans de l'azote liquide. 2 d'entre eux étaient destinés à l'extraction d'ADN, les 2 autres à l'extraction ARN. Les 2 échantillons restants étaient baignés dans une solution de Tris HCL contenant un inhibiteur de protéases, avant d'être conservés dans l'azote liquide pour être destinés à l'extraction ultérieure de protéines. Les échantillons étaient enfin acheminés au CRB d'Angers où seront effectuées les extractions.

Les placentas ont été ensuite fixés dans du formol et envoyés en service d'anatomo-pathologie pour être analysés. Les échantillons s'ajoutaient à la collection intitulée « Gènes et Placenta » débutée au sein du Centre de Ressources Biologiques du CHU d'Angers, portant le numéro DC-2009-907 auprès du ministère de la recherche et après l'accord du Comité de Protection des Personnes. Cette biocollection permet également des collaborations



nationales et internationales sur des travaux de recherche portant sur les pathologies placentaires et la programmation foetale.



Figure 1 : Prélèvements de villosités choriales



Figure 2 : Prélèvement du sang du cordon.



Figure 3 : Prélèvements placés dans les cryotubes.



Figure 4 : Cryotubes et tubes de sang fœtal.



Figure 5 : Cryotubes placés dans l'azote liquide.

1.3. Recueil de données cliniques et biologiques

Les données cliniques et biologiques regroupant les antécédents, le suivi de grossesse, l'accouchement et la prise en charge néonatale sont recueillies de façon prospective et transférées dans un eCRF permettant la constitution d'une base de données (cf Annexe).

2. Descriptif de la population.

Dans le groupe PMA, il n'a pas été possible de disséquer le placenta pour toutes les patientes incluses, mais le sang de cordon et/ou maternel a été recueilli. Seulement 10 placentas ont été disséqués dans ce groupe. Deux grossesses bichoriale-biamniotiques et 1 grossesse triple bichoriale-triamniotique ont été incluses dans le groupe PMA. L'issue de ces grossesses PMA (n=18) a ainsi donné naissance à 22 enfants. Dans le groupe témoin, 33

placentas ont été disséqués. L'issu de ces grossesses a donné naissance à 33 enfants, tous nés par césarienne avant travail, conforme aux critères d'inclusion de la population contrôle.

Les données descriptives de femmes incluses, du suivi de la grossesse, de l'accouchement et de la prise en charge néoanatale sont résumées dans les 3 tableaux ci-dessous. Les données quantitatives sont représentées en médiane (min-max) et les données qualitatives sont représentées en pourcentage (nombre de cas/nombre total données disponibles).

Données maternelles		Groupe Témoins (n=33)	Groupe PMA (n=18)
Âge (années)	32(24-42)	32,5 (24-43)	
Poids avant la grossesse (kg)	60(42-129)	62,5(53-124)	
BMI avant la grossesse (kg/m²)	22,58(17,48-39,82)	22,49(18,78-47,83)	
Obésité	6,06%(2/34)	31,25%(5/16)	
Tabac avant la grossesse	12,12%(4/33)	31,25(5/16)	
Tabac pendant la grossesse	9,09%(3/33)	25%(4/16)	
Alcool avant/pendant la grossesse	3,03%(1/33)	0 %(0/16)	
Cannabis avant et pendant la grossesse	0%(0/33)	6,25 %(1/16)	
Hypothyroïdie	3,03(3/33)	25%(4/16)	

		Groupe Témoins	Groupe PMA
		(n=33)	(n=18)
Données obstétricales	Gestité	3(1-7)	2(1-5)
	Parité	2(0-5)	2(0-3)
	Stimulation ovarienne	0%(0/33)	5,55 %(1/18)
	IAC	0%(0/33)	22,22%(4/18)
	IAD	0%(0/33)	0%(0/18)
	FIV	0%(0/33)	55,56%(10/18)
	FIV/ICSI	0%(0/33)	16,67%(3/18)
	Grossesses multiples	0%(0/33)	16,67%(3-33)
	Prise de poids (kg)	13(7-21)	10(0-16)
	Diabète gestationnel	0%(0/33)	6,25 % (1/16)
	HTAG	0%(0/33)	13,33%(2/15)
	PE	0%(0/33)	22,22%(4/18)
	Corticothérapie anténatale	0%(0/33)	25%(4/16)
	MAP	0%(0/33)	0%(0/16)
	RPM	0%(0/33)	20%(3/15)
	• >12h	0%(0/33)	20%(3/15)
	• >37SA	0%(0/33)	13,33%(2/15)
	Oligoamnios	0 %(0 /33)	6,25%(1/16)
	Accouchement voie basse	0%(0/33)	44,44%(8/18)
	Césarienne total	100%(33/33)	55,56%(10/18)
	Césarienne avant travail	100 %	44,44%(8/18)
	Césarienne en urgence	0%(0/33)	11,11%(2/18)
	• arrêt de la croissance	0,00%	11,11%(2/18)
	• ARCF	0,00%	27,78%(5/18)
	• sauvetage maternel	0,00%	5,56%(1/18)



		Groupe Témoins	Groupe PMA
		(n=33)	(n=22)
Données nouveau-né	Sex ratio (garçon/fille)	1,1	0,7
	RCIU	0%(0/33)	28,57(4/14)
	Malformations	0%(0/33)	0%(0/21)
	Terme (SA)	39(37-40)	36(28-39)
	Prématuré	0%(0/33)	45,45%(10/22)
	Né vivant	100%(33/33)	100%(22/22)
	Poids de naissance (g)	3330(2700-5290)	2,1325(870-3735)
	Taille de naissance (cm)	49(45-55)	46,5(34-51)
	Périmètre crânien (cm)	34,5(31-38)	32,5(25-35,5)
	Apgar à 3 minutes	10(9-10)	10(8-10)
	PH au cordon	7,285(7,12-7,35)	7,28(7,17-7,36)
	Lactates au cordon	2,1(1,2-6)	3,35(1,7-7,1)
	Détresse respiratoire	3,03%(1/33)	4,55%(1/22)
	Nécessité d'une réanimation néonatale	0%(0/33)	18,18%(4/22)
	Hospitalisation en Réanimation néonatale	3,03%(1/33)	59,09%(13/22)

DISCUSSION

Le but de notre travail était, dans un premier temps, de déterminer si la PMA était associée à une augmentation du risque de morbi-mortalité maternelle, fœtale, néonatale et voire à plus long terme par l'intermédiaire de la programmation fœtale. Dans un second temps nous avons cherché à savoir s'il existait des modifications de structure et de fonction des placentas issus de grossesses induites par PMA, par l'intermédiaire de modifications génomiques et épigénétiques, pouvant participer aux phénomènes de programmation fœtale. Cette seconde partie a consisté à la mise en place d'une biocollection et fera l'objet d'un master 2 débutant en novembre 2015.

Nous avons montré, à partir de la revue de la littérature, qu'il existe en cas de grossesse post PMA, une augmentation du risque de placenta praevia et accreta, d'hémorragie du post-partum, de recours à une césarienne, de diabète gestationnel et de pathologie hypertensive pendant la grossesse. Il semble exister chez les nouveau-nés issus de la PMA un risque accru de prématurité, entraînant une augmentation des hospitalisations en service de réanimation néonatale. L'incidence des malformations congénitales et des nouveau-nés petits pour l'âge gestationnel semble également augmentée selon certaines études.

Nous avons aussi montré que les différentes techniques de PMA étaient parfois responsables de modifications épigénétiques à un stade précoce du développement embryonnaire, dans une période critique en terme de programmation fœtale. Ces modifications pourraient alors expliquer la survenue de pathologies chroniques à l'âge adulte. Nous avons vu que ces modifications épigénétiques, lorsqu'elles concernent le placenta, pouvaient être associées à un défaut de croissance et de développement placentaire et avoir pour conséquences un défaut de croissance et de développement fœtal.

Dans la littérature disponible, d'importants biais sont à souligner. Bien qu'il ait été souvent décrit une association entre PMA et anomalies congénitales ou entre PMA et survenue d'anomalies épigénétiques, la plupart de ces travaux de recherche se limitaient à de petites cohortes, leur attribuant une faible puissance. De plus, certaines études s'étendent sur plusieurs années, voire des décennies. Le facteur temps introduit un biais historique important face à l'amélioration de la technologie. La prise en charge de l'infertilité risque d'avoir été inhomogène dans la population PMA. Pour améliorer la fiabilité des études à venir, il faudrait étudier une cohorte suffisante d'enfants nés sur une courte période et contemporaine.

Un biais de confusion apparaît puisqu'il n'est pas possible d'isoler l'effet de l'origine de l'infertilité des parents, l'effet des différentes techniques, et l'effet des stimulations ovarielles seules (souvent associées aux autres techniques), sur la survenue d'anomalies d'empreinte (à l'échelle moléculaire) et d'anomalies congénitales (à l'échelle organique). L'infertilité semble elle-même être un facteur influençant la survenue de ces anomalies ainsi que les caractéristiques parentales (âge, gestité, parité), les pathologies endocrinianes (SOPK, qualité du sperme, etc.) et le mode de vie (tabagisme, IMC) qui seraient également des facteurs confondants importants.

Il faut souligner que malgré l'incidence accrue de malformations congénitales retrouvées dans les grossesses par PMA, la très grande majorité des enfants qui en sont issus sont strictement normaux et en bonne santé. De même, les défauts épigénétiques suite à la PMA sont des phénomènes rares, ainsi que leurs répercussions sur le phénotype, et des études supplémentaires seraient nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes en jeu.



Il existe de nombreux perdus de vu et le devenir clinique des enfants issus de PMA est difficile à évaluer dans la population générale. Un suivi au long court de ces enfants serait nécessaire pour mieux connaître les répercussions de la PMA à l'âge adulte. Le registre national de l'agence de la biomédecine permettrait de répondre à une telle question avec des données multicentriques et prospectives. Le recueil de données se résume malheureusement uniquement aux données obstétricales et néonatales ne permettant pas d'explorer le devenir à moyen et long terme de ces enfants.

La mise en place de notre étude « Bio-collection Placenta » est intéressante dans le sens où peu de travaux ont été menés autour des effets de la PMA chez l'homme et ceux-ci se limitaient à de petits effectifs de population. La perspective au CHU d'Angers, serait d'inclure une large cohorte de patientes cas. La présence d'un service de PMA nous a permis de repérer facilement les patientes éligibles à l'étude.

Notre travail était à la fois de diffuser l'information autour de l'étude auprès de tous les professionnels de santé concernés, de repérer, informer et inclure au cours de la grossesse les patientes éligibles et d'effectuer le recueil des échantillons tissulaires et sanguins lors de l'accouchement .

Nous avons commencé par limiter l'inclusion aux FIV et FIV/ICSI puisque ces techniques nous semblaient être les plus invasives. Aux vues des données de la littérature soulignant un potentiel impact épigénétique de chaque technique nous avons décidé d'élargir nos critères d'inclusion à toutes les techniques de PMA.

Le groupe témoin se limitait volontairement aux césariennes avant travail afin d'avoir la meilleure qualité de tissus placentaires possible et éviter une lyse cellulaire importante due aux contractions lors d'un travail long et par passage dans les voies génitales. En raison du faible nombre de cas de grossesses par PMA accouchant par césariennes programmées, et pour augmenter la puissance de notre étude, nous avons dû élargir notre groupe cas aux accouchements voie basse et césariennes en urgence. Une possible perte en qualité de tissu risque d'entraîner la survenue d'un biais dans les résultats par manque d'homogénéité entre nos 2 groupes.

Nous avons rencontré des difficultés pour disséquer la totalité des placentas de patientes incluses. Le facteur temps, limitant la dissection à 30 minutes après la délivrance, a posé problème puisque les femmes accouchaient parfois lorsque nous étions absentes du CHU. De plus certains professionnels ne nous prévenaient pas de la présence des patientes en salle de naissance avant l'accouchement, par méconnaissance de l'étude ou par oubli. En effet, il a été difficile d'informer et de sensibiliser l'ensemble des professionnels susceptibles de jouer un rôle dans le déroulement de l'étude.



CONCLUSION

Selon les données actuelles de la littérature, la PMA chez l'homme n'augmenterait pas de façon importante la morbi-mortalité maternelle, fœtale et néonatale mais un impact existe. L'expérimentation animale suggère l'existence d'un lien fort entre l'environnement péri-conceptionnel et le développement à court, moyen et long terme. La PMA intervient dans une période critique du développement de l'individu et des défauts épigénétiques peuvent survenir pour chacune des techniques (in-vitro mais aussi in-vivo). Selon l'hypothèse de la programmation fœtale les mécanismes épigénétiques programmeraient chez l'enfant la susceptibilité à développer des pathologies chroniques à l'âge adulte comme le diabète, l'obésité, l'hypertension et les pathologies cardio-vasculaires. Jusqu'à présent et pour des raisons éthiques, nos connaissances sur les effets de la PMA chez l'homme sont limitées. L'existence de nombreux facteurs confondants ne nous permet pas de conclure quand au rôle exclusif de la PMA dans la survenue de ces anomalies.

Avec l'ampleur que prend aujourd'hui la PMA dans notre société, connaître le rôle de l'environnement sur le développement dans les tous premiers stades de la vie devient nécessaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Fauser B, Devroey P, Diedrich K et al. Health outcomes of children born after FIV/ICSI : a review of current expert opinion and literature. *Reproduction Biomedicine Online* 2014;28:162-182.
2. Nelissen E, Montfoort A, Dumoulin J, Evers J. Epigenetics and the placenta. *Human Reproduction* 2011;17:397-417.
3. Fowden AL, Coan PM, Angioloni E, Burton G, Contancia M. Imprinted genes and the epigenetic regulation of placental phenotype. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2011;106:281-288.
4. Bressan FF, De Bem THC, Pecerin F, Lopes FL, Ambrosio CE, Meirelles FV, et al. Unearthing the Roles of Imprinted Genes in the Placenta. *Placenta* 2009;823-834.
5. Seisenberger S, Peat1 JR, Reik W. Conceptual links between DNA methylation reprogramming in the early embryo and primordial germ cells. *Current Opinion in Cell Biology* 2013;25:281–288.
6. Xiaokui Y, Ying L, Changdong L, Weiyuan Z. Current overview of pregnancy complications and livebirth outcome of assisted reproductive technology in mainland China. *Fertility and Sterility* 2013;0015-0282.
7. Schieve L, Cohen B, Nannini A, Ferre C, Reynolds M, Zhang Z, Jeng G, Macaluso M, Wright V. A population-based study of maternal and perinatal outcomes associated with assisted reproductive technology in Massachusetts. *Maternal Child Health J* 2007;11:517-525.
8. Jackson R, Gibson K, Wu Y, Croughan M. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization : a meta-analysis. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 2004;103,(3):0029-7844.
9. Källen B, Finnström O, Nygren K.G, Olausson P, Wennerholm U. In vitro fertilisation in Sweden: obstetric characteristics, maternal morbidity and mortality. *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005;112:1529–1535.
10. Hayashi M, Nakai A, Satoh S, Matsuda Y. Adverse obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies may be related to maternal factors associated with infertility rather than the type of assisted reproductive technology procedure used. *Fertility and Sterility* 2012;98,(4):0015-0282.
11. Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S, Maheshwari A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from FIV/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 2012;18,(5):485-503.
12. Ochsenkühn R, Strowitzki T, Gurtner M, Strauss A, Schulze A, Hepp H, Hillemanns P. Pregnancy complications, obstetric risks and neonatal outcome in singleton and twin pregnancies after GIFT and IVF. *Archive Gynecology Obstetric* 2003;268:256–261.
13. Halliday J.L, Ukoumunne O.C, Gordon Baker H.W, Breheny S, Jaques A.M, Garrett C, Healy D, Amor D. Increased risk of blastogenesis birth defects arising in the first 4 weeks of pregnancy, after assisted reproductive technologies. *Human Reproduction* 2010;25,(1):59–65.



14. Kelley-Quon L.I, Tseng C-H, Janzen C, Shew S.B. Congenital malformations associated with assisted reproductive technology: a California statewide analysis. *Journal of Pediatric Surgery* 2013;48:1218–1224.
15. Kallen B, Finnström O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Otterblad PO. Congenital malformations in infants born after in vitro fertilization in Sweden. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010;88(3):137-43.
16. Wen J, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y, Liu J, Hu Z. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection : a meta-analysis. *Fertility and Sterility* 2012;97,(6):0015-0282.
17. Davies M.J, Moore V.M, Willson K.J, Van Essen P, Priest K, Scott H, Mgmt B, Haan E.A, Chan A. Reproductive technologies and the risk of birth defects. *New England Journal of Medicine* 2012;366:1803-13.
18. Klemetti R, Gissler M, Phil D, Sevon T, Koivurova S, Ritvanen A, Hemminki E. Children born after assisted fertilization have an increased rate of major congenital anomalies. *Fertility and Sterility* 2005;84,(5):0015-0282.
19. Wisborg K, Ingerslev H.J, Henriksen T.B. In vitro fertilization and preterm delivery, low birth weight and admission to the neonatal intensive care unit: a prospective follow-up study. *Fertility and Sterility* 2010;94,(6):0015-0282.
20. Mc Donald S.D, Han Z, Mulla S, Murphy K.E, Beyenne J, Ohlsson A. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization singletons: a systematic review and meta-analyses. *Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2009;146:138–148.
21. D'Angelo D.V, Whitehead N, Helms K, Barfiel W, Ahluwalia I.B. Birth outcomes of intended pregnancies among women who used assisted reproductive technology, ovulation stimulation, or no treatment. *Fertility and Sterility* 2011;96,(2):0015-0282.
22. Raatikainen K, Kuivasaari-Pirinen, Hippela M, Heinonen S. Comparison of the pregnancy outcomes of subfertile women after infertility treatment and in naturally conceived pregnancies. *Human Reproduction* 2012;27,(4):1162–1169.
23. Boomsma C.M, Eijkemans M.J, Hughes E.G, Visser G.H, Fauser B.C, Macklon N.S. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction Update.* 2006;12(6):673-83.
24. Romundstad L.B, Romundstad P.R, Sunde A, Von During V, Skjaerven R, Gunnell D et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation: a population-based cohort study. *Lancet.* 2008;372(9640):737-43.
25. Turck D. Programmation foetal et maladie de l'âge adulte : une analyse critique. *Médecine et Nutrition.* 2009;44:73-76.



26. Bloch J, Scherrer U, Sartori C. Programmation foetale : un facteur de risque méconnu des maladies cardio-vasculaires et métaboliques. *Revue Médicale Suisse* 2007;131.
27. Julien C, Gallou-Kabani C, Vige A, Gross MS. Epigénomique nutritionnelle et syndromes métaboliques. *Médecine/Science* 2005;21:396-404.
28. Fauque P, Jouannet P, Jammes H. Empreinte parentale et assistance médicale à la procréation. *Gynéco-logic Obstétrique & Fertilité* 2008;36 :1139–1146.
29. Angiolini E, Fowden AL, Coan PM, Sandovici I, Smith P, Dean W, et al. Regulation of Placental Efficiency for Nutrient Transport by Imprinted Genes. *Placenta*.2006;26:98-102.
30. Deltour S, Chopin V, Leprince D. Modifications épigénétiques et cancers. *Medecine/Sciences* 2005;21:405-411.
31. Manipalviratn S, DeCherney A, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology :Original Research Article. *Fertility and Sterility* 2009;91:305-315.
32. Gabory A, Dandolo L. Epigénétique et développement : l'empreinte parentale. *Médecine/Science* 2005;21:390-395.
33. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *New England Journal of Medicine* 2003;349:2042–2054.
34. El Hajj N, Haaf T. Epigenetic disturbance in in vitro cultured gametes and embryos : impliations for human assisted reproduction. *Fertility and Sterility* 2013;99:632-641.
35. Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 2001;293:1089-1093.
36. Fauque P. Ovulation induction and epigenetic anomalies. *Fertility and Sterility* 2013;99:616-23.
37. Romdhane S. Les nouvelles technologies de l'assistance médicale à la procréation (AMP) et la qualité des gamètes et des embryons : évaluation de l'épigénome. *Agricultural sciences*. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010.
38. Gattoliat CH. Contribution de deux clusters de microARN soumis à empreinte parentale à la progression tumorale et au pronostic des neuroblastomes. *Human health and pathology*. Université Paris Sud - Paris XI, 2013.
39. Coan PM, Burton GJ, Ferguson-Smith AC. Imprimited Genes in the Placenta: a Review. *Placenta*. 2005;26:S10-S20.
40. Bacheller A, Cardozo E, Maguire M, DeCherney AH, Segars JH. Are the subtle genome-wide epigenetic alterations in normal offspring conceived by assisted reproductive technologies? *Fertility and Sterility* 2011;90:1306-1311.
41. Marques CJ, Francisco T, Sousa S, Carvalho P, Barros A, Sousa M. Methylation defects of imprinted genes in human testicular spermatozoa; *Fertility and Sterility* 2010;94:585-594.
42. Fauque P, Jouannet P, Lesaffre C, Ripoche MA, Dandolo L, Vaiman D, et al. Assisted reproductive technology affects developmental kinetics, H19 imprinting control region methylation and H19 gene expression in individual mouse embryos. *BMC Developmental Biology* 2007;7:116.



43. Iliadou AN, Janson PCJ, Cnattingius S. Epigenetics and assisted reproductive technology (Review). *Journal of Internal Medicine* 2011;270:414–420.
44. Market-Velker BA, Zhang L, Magri LS, Bonvissuto AC, Mann MR. Dual effect of superovulation: Loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner. *Human Molecular Genetic* 2010;19:36-51.
45. Fauque P, Ripoche MA, Tost J, Journot L, Gabory A, Busato F, et al. Modulation of imprinted gene network in placenta results in normal development of in vitro manipulated mouse embryos. *Human Molecular Genetic* 2010;19:1779-1790.
46. Lucas E. Epigenetic effects on the embryo as a result of the preconceptional environment and assisted reproductive technology. *Reproduction Biomedicine Online* 2013;27:477-485.
47. Rivera RM, Stein P, Weaver JR, Mager J, Schultz RM, Bartolomei MS. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. *Human Molecular Genetic* 2008;17:1-14.
48. Shi X, Ni Y, Zheng H, Chen S, Zhong M, et al. Abnormal methylation patterns at the IGF2/H19 imprinting control region in phenotypically normal babies conceived by assisted reproductive technologies. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2011;158:52-55.



ANNEXES

Annexe 1 : Lettre d'information.

PARTICIPATION A UN PROGRAMME DE RECHERCHE INTITULE

« RECHERCHE DE MARQUEURS BIOLOGIQUES DE LA GROSSESSE PATHOLOGIQUE »

AVEC CONSTITUTION D'UNE BIOCOPLECTION

Madame, Mademoiselle,

Vous êtes enceinte et suivie à la maternité d'Angers. Il vous est proposé de participer à un programme de recherche visant à mieux comprendre le déroulement normal d'une grossesse mais aussi les interactions entre la mère et l'enfant pour mieux aborder les pathologies de la grossesse. Cette lettre a pour objectif de vous délivrer toute l'information nécessaire sur votre rôle, les risques, les contraintes et les bénéfices liés à ce programme car votre participation ne peut se faire sans le recueil de votre consentement.

▪ Les objectifs de ce programme

La grossesse est un moment privilégié de la vie d'une femme. Dans la majorité des cas, cette période se passe de façon harmonieuse pour la mère et son futur bébé. Dans environ 20 % des cas, des complications peuvent mettre en péril la santé de la femme enceinte et de son enfant. Il peut s'agir de pathologies générales (diabète, infection, obésité, chirurgie de l'obésité) ou de pathologies plus spécifiques de la grossesse comme le retard de croissance intra-utérin (qui ralentit la croissance du fœtus), la pré-éclampsie (qui associe chez la mère une hypertension et une protéinurie) ou la rupture prématurée des membranes fœtales. De telles grossesses peuvent se compliquer d'accouchements prématurés et avoir des conséquences sur la santé future de l'enfant. Mieux comprendre le déroulement normal d'une grossesse ainsi que les mécanismes à l'origine des grossesses pathologiques est essentiel pour permettre une meilleure prise en charge de la grossesse, de l'enfant et de son devenir.

L'objectif de notre programme de recherche est d'identifier des marqueurs moléculaires, qui pourraient être dosés dans le sang de la mère au cours de sa grossesse et ainsi servir au diagnostic, pronostic et suivi des grossesses pathologiques. Pour identifier et valider de nouveaux marqueurs moléculaires, il est nécessaire de pouvoir travailler sur un grand nombre d'échantillons biologiques rassemblés au sein d'une collection destinée à ce programme de recherche.

▪ Description du déroulement de ce programme

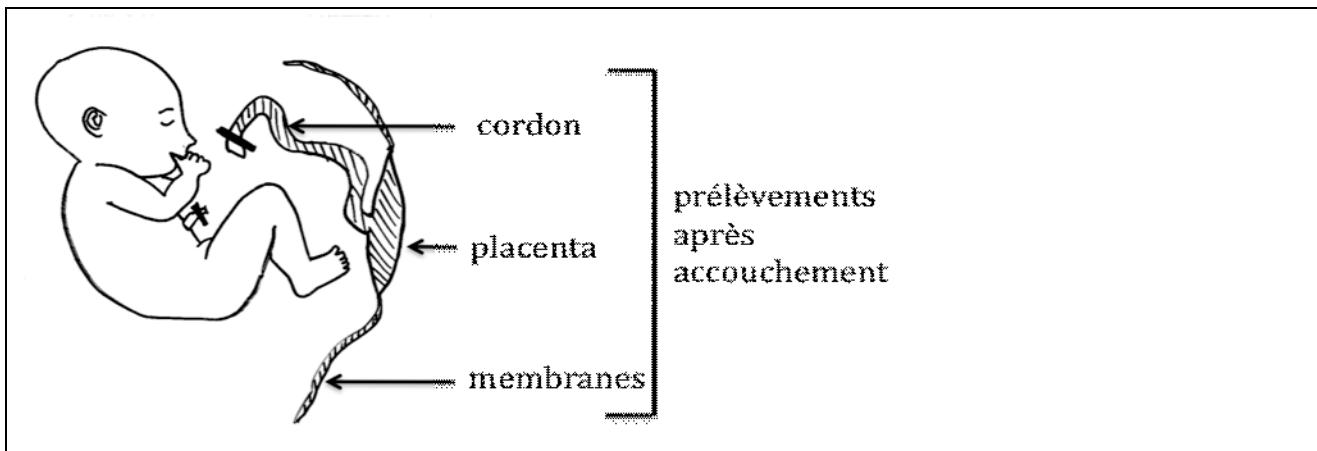
Vous pouvez, si vous êtes d'accord, nous aider à progresser dans cette connaissance. Nous vous proposons, à l'occasion de votre accouchement ou d'une éventuelle césarienne, et bien entendu, si vous donnez votre consentement, de participer à ce programme de recherche et de contribuer à la collection d'échantillons biologiques qui y est associée.

Votre participation à ce programme consiste à accepter:

1- une simple prise de sang (15 ml, soit 1 à 2 tubes classiques) au moment de votre accord et donc de votre recrutement dans cette étude en cours de grossesse ainsi que juste avant l'accouchement. Il pourra donc le plus souvent s'agir du simple prélèvement d'un tube supplémentaire lors d'un bilan sanguin programmé par votre médecin

2- un prélèvement des annexes fœtales après délivrance. Il s'agit du placenta, du cordon et des membranes fœtales. Ces prélèvements de tissus, considérés comme des déchets opératoires, ne présentent aucune contre-indication et ne peuvent entraîner aucune conséquence pour vous et bien sûr pour votre bébé.





L'utilisation des échantillons prélevés dans ce programme de recherche, l'interprétation des résultats qui en découlent, nécessitent de pouvoir recueillir et disposer des données médicales vous concernant y compris d'origine ethnique. La recherche pourra aussi nécessiter l'examen de vos caractéristiques génétiques portées par l'ADN à l'exclusion cependant de vos caractéristiques identifiantes. Conformément à la réglementation, les données recueillies et les prélèvements seront analysés et conservés de façon anonyme.

Vos échantillons seront conservés, pour une durée illimitée, sous forme codée, au sein du Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU d'Angers. Les travaux de recherche utilisant vos échantillons pourront être conduits par l'équipe du CHU d'Angers seule ou en collaboration avec d'autres partenaires publics ou privés, du territoire national ou international.

De même, le CRB, pourrait être amené à céder vos échantillons pour des projets de recherche dans le même domaine que celui de votre pathologie, sans pour autant participer directement à ces travaux de recherche.

Dans tous les cas, le transfert des données vous concernant se fera en toute confidentialité sous forme codée et votre identité ne sera jamais révélée.

Vous pouvez cependant, à tout moment demander à ce que les échantillons vous concernant soient détruits.

- **Les contraintes et les risques liés à ce programme**

L'utilisation de vos échantillons dans ces travaux de recherche scientifique n'a pas vocation à modifier votre prise en charge médicale. Ce programme n'entraîne pour vous et votre enfant aucune contrainte supplémentaire ni aucun risque particulier.

- **Les bénéfices attendus**

Les travaux de recherche qui seront conduits n'ont pas pour objectif immédiat de modifier votre prise en charge médicale, ni celle de votre enfant, ni d'apporter de nouvelles informations sur votre santé, mais de participer plus généralement au développement des connaissances dans le domaine des grossesses pathologiques. Ceci pouvant déboucher sur de nouvelles méthodes diagnostiques ou pronostiques mais aussi permettre l'amélioration de la prise en charge thérapeutique et participer au développement de recherche sur de nouveaux traitements.

- **Protection des personnes participant à ce programme**

Ce programme sera mené conformément à la loi de bioéthique du 6 août 2004, notamment l'article 1243-3 du CSP relatif à la déclaration des activités des conservations et préparation d'éléments du corps humain pour les besoins de ses propres programmes de recherche y compris la constitution de collections (6 août 2004) et l'article L1131-4 du CSP relatif aux collections génétiques (Loi 2004-800 du 6 août 2004) – Régies par les dispositions des articles L.1243-3 et L.1243-4.

Le Comité Protection des Personnes (CPP) pour la recherche Angers Ouest II a émis le 19 Juillet 2011 un avis favorable à la mise en œuvre de ce programme. Le Ministère de la Recherche, et l'ARS ont autorisé la constitution de la collection d'échantillons biologiques attenante à ce programme.

Une assurance spécifique a été souscrite par le gestionnaire de cette collection auprès de la SHAM pour couvrir les risques et dommages pouvant en résulter sous le N° 127051.

Toutes les informations que vous souhaiterez obtenir ultérieurement concernant ce programme, ou votre participation vous seront communiquées dans la mesure du possible par le médecin responsable de la recherche, le Dr Géraldine GASCOIN-LACHAMBRE (téléphone 02.41.35.44.07) ou toute personne désignée, par lui-même, pour le représenter. Toute nouvelle information disponible au cours de ce programme et pouvant éventuellement modifier votre décision de participation vous sera rapportée.

Votre consentement ne dégage ni le gestionnaire, ni les médecins associés à la recherche de leurs responsabilités. Tous les coûts inhérents à ce programme seront à la charge du gestionnaire.

- **Droit de refuser ou de se retirer de ce programme**

Votre participation est totalement volontaire et vous êtes libre de refuser de participer ou d'interrompre votre participation, à tout moment sans avoir à vous justifier et sans aucun préjudice quant à la qualité de votre prise en charge médicale.

La signature du formulaire de consentement n'affecte aucunement vos droits.

Le médecin responsable de la recherche et/ou le gestionnaire peuvent interrompre à tout moment votre participation s'ils estiment que les procédures de ce programme ne sont pas respectées, ou pour des raisons médicales, administratives ou autres.

Vous pouvez refuser que les échantillons biologiques qui vous concernent soient conservés. De même si vous avez accepté leur conservation, vous pouvez demander à tout moment que ces échantillons soient détruits.

- **Confidentialité et CNIL**

Les données enregistrées au cours de ce programme feront l'objet d'un traitement informatisé. Votre droit d'accès et de rectification, prévu par la loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (Loi 78-17, version consolidée au 7 août 2008), pourra s'exercer dans les conditions prévues par la réglementation à tout moment auprès des responsables du programme. Vous pourrez exercer ce droit directement ou par l'intermédiaire du médecin de votre choix.

La base de données associée à ce programme a fait l'objet d'une déclaration à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés.

Votre participation à ce programme et les données recueillies vous concernant resteront strictement confidentielles. Toutefois, les Autorités de Santé ainsi que les personnes mandatées par le gestionnaire auront un accès direct à votre dossier médical afin de vérifier que le programme est effectué en conformité avec la législation en vigueur et les réglementations des Autorités de Santé.

Les informations provenant des données enregistrées ne seront utilisées que pour la recherche et les publications qui en découlent, le seront sous une forme anonymisée. Votre identité ne sera jamais révélée.

Pour toute question relative à ce programme, vous pouvez contacter

Dr Géraldine GASCOIN-LACHAMBRE

📞 02-41-35-44-07

Médecin donnant l'information

Nom :

Prénom :

Date :

Signature :

*Ce document vous appartient et vous pouvez le communiquer à
votre médecin traitant ou à vos proches pour avis*

Fait en 2 exemplaires originaux, datés et signés

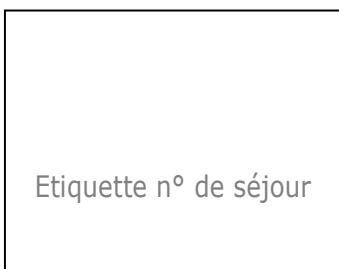
- Un exemplaire conservé par la personne donnant son consentement
- Un exemplaire conservé par le responsable de la recherche (dossier patient)



PARTICIPATION A UN PROGRAMME DE RECHERCHE INTITULE

« RECHERCHE DE MARQUEURS BIOLOGIQUES DE LA GROSSESSE PATHOLOGIQUE »

AVEC CONSTITUTION D'UNE BIOCOLLECTION



Etiquette n° de séjour

NOM du patient :
Prénom :
Date de naissance :/...../.....
Lieu de naissance :
Adresse :
.....

Le Docteur m'a proposé de participer à un programme intitulé

"Recherche de marqueurs biologiques de la grossesse pathologique"

Il m'a précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser de participer, et que ce choix n'aura aucune conséquence sur la qualité de ma prise en charge médicale habituelle.

Après avoir pris connaissance de la lettre d'information relative à ce programme, je déclare :

1°/ J'ai été informé(e) par le Dr..... conformément à la loi N°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique

- de la nature du projet de recherche et de ses buts, notamment pour sa partie d'étude de mes caractéristiques génétiques.
- de la proposition de conserver, les échantillons de mes prélèvements, au CRB du CHU d'Angers pour une durée illimitée.
- que les données personnelles (cliniques et/ou ethniques), associées à mes prélèvements seront conservées sous forme codée.
- que mes échantillons peuvent être cédés à d'autres chercheurs publics ou privés du territoire national ou international, pour des études dans le même domaine de recherche tout en garantissant la confidentialité de mes données

2°/ Avoir noté que ce programme et la conservation des échantillons qui y est associée, a reçu pour sa mise en œuvre, un avis favorable du Comité de Protection des Personnes Angers Ouest II le 19 Juillet 2011.

3°/ Avoir reçu toutes les réponses souhaitées à mes questions et avoir noté que ma participation à cette recherche est totalement libre. Si je le désire, je pourrai à tout moment arrêter ma participation.

4°/ Avoir noté que je suis libre à tout moment de demander la destruction de mes échantillons.

5°/ Avoir noté que les données cliniques et ethniques me concernant resteront strictement confidentielles. Je n'autorise leur consultation que par des personnes qui collaborent à la recherche, désignées par le Dr G. Gascoin et éventuellement



un représentant des Autorités de Santé. A aucun moment les données personnelles n'apparaîtront en cas de publication des résultats des travaux de recherche.

6°/ Avoir été informé (e) conformément à la loi que certaines données nominatives me concernant feront pour ce programme l'objet d'un traitement informatisé en vertu de la loi "Informatique et Libertés" du 6 janvier 1978 modifiée (notamment par la loi n°2004-801 de août 2004). J'ai été informé de la nature des informations transmises, de la finalité du traitement des données, de mon droit d'accès et de rectification par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix, de mon droit de m'opposer au traitement automatisé des données me concernant.

Compte tenu de toutes les informations reçues, j'accepte librement et volontairement :

▪ DE PARTICIPER A CE PROGRAMME

OUI

NON

▪ QUE MES ECHANTILLONS SOIENT CONSERVÉS AU CRB DU CHU D'ANGERS

OUI

NON

▪ QUE MES ECHANTILLONS ET LES DONNÉES ASSOCIEES PUISSENT ÊTRE CÉDÉS POUR ÊTRE UTILISÉS DANS D'AUTRES PROGRAMMES DE RECHERCHE

OUI

NON

Le participant au programme

Nom :

Prénom :

Date :

Signature

Le médecin associé à la recherche

Nom :

Prénom :

Date :

Signature

Un exemplaire original signé de ce formulaire de consentement et une copie de la lettre d'information m'ont été fournis
Fait en 3 exemplaires originaux, datés et signés.

- Un exemplaire conservé par la personne donnant son consentement
- Un exemplaire conservé par le Centre de Ressources Biologiques du CHU d'Angers
- Un exemplaire conservé par le médecin responsable de la recherche (dans le dossier patient).



Annexe 3 : Feuille de route des prélèvements sanguins.

	CENTRE DE RESSOURCES BIOLOGIQUES	CRB-0118-FO-0018
	Feuille de route des échantillons sanguins : Collection gènes	
	placentaires	
	Version 3 07/04/2014 Page 1 sur 1	

Centre : CHU d'Angers hospitalier : Dr. Géraldine Gascoin	Service : Réanimation et Médecine Néonatales Tél: 54953
Etiquette identification patient	Sérologie virale connue : non HIV + HBV + HBC + Autres :

N° de randomisation: |____|____|____|____|____|____|

ETAPE 1 (SERVICE CLINIQUE) : PRELEVEMENT SANGUIN		
<i>Remplir une feuille par patient</i>		
Initiales du préleveur ____	Fonction :	Signature :
Date de prélèvement : ____ ____ ____ ____		Heure : ____ h ____ min
Nombre et type de tubes à prélever		Nombre de tubes prélevés
Sang de la mère	2 Tubes sec avec gélose de 5 ml	____
	2 Tubes EDTA de 3 ou 6 ml	____
Sang de cordon	1 Tube sec avec gélose de 5 ml	____
	1 Tube EDTA de 3 ml	____
Température de transport :		T° C ambiante 4° C
Consentement signé		OUI NON

ENVOI DES TUBES AU CRB avec le CONSENTEMENT signé du patient

ETAPE 2 (AU CRB) : TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS-REALISATION DES ALIQUOTS		
Initiales du technicien ____		Signature :



Date de réception :	Heure : h min
Contrôle à réception :	Conforme Non Conforme

Centrifugation et aliquotage				
	Centrifugation	Aliquotage dans le cryotube	Identification des cryotubes	
Tubes sec avec gélose	3000g/10min/4 °c avec frein	Sang de la mère : 4x1mL de Sérum		
		Sang de cordon : X x 500µL de Sérum		
Tubes EDTA	1500g/10min/T °ambiante sans frein	Sang de la mère : 2 x 250 µL de Buffy-coat 4x 500µL Plasma		
		Sang de cordon: 1 x 250 µL de Buffy-coat X x 250µL Plasma Culot sanguin		

ETAPE 3 : CONSERVATION à -80°C (sérum, plasma et culot) et en Azote liquide (Buffy-coat)
Date: Heure : h min Nombre de cryotubes stockés :
Commentaires en cas d'anomalie:.....

Annexe 4 : Feuille de route des prélèvements placentaires.

	CENTRE DE RESSOURCES BIOLOGIQUES	CRB-0118-FO-0019
	Feuille de route des échantillons tissulaires: Collection gènes placentaires	Version 2
		07/04/2014
		Page 1 sur 1

Centre : CHU d'Angers Service : Réanimation et Médecine Néonatales Investigateur du centre
hospitalier : Dr. Géraldine Gascoin Tél: 54953

Etiquette identification patient	Sérologie virale connue : non oui (<i>si oui indiquer la sérologie ci-dessous</i>) HIV + HBV + HBC + Autres :
----------------------------------	---

N° de randomisation: |_____|_____|_____|_____|_____|_____|

ETAPE 1 (BLOC OPERATOIRE) : PRELEVEMENT DE TISSU		
Initiales du préleveur ____	Fonction :	Signature :
Date de prélèvement : ____ ____ ____ ____	Heure : ____ h ____ min	

ETAPE 2 (BLOC OPERATOIRE) : PREPARATION ET CONGELATION D'ECHANTILLONS		
Couper le tissu en petits fragments et mettre 3 à 4 morceaux dans chaque cryotube Identifier les cryotubes d'une manière anonyme (pas d'identité de la patiente)		
Initiales du préparateur ____		Signature :
Nombre d'échantillons préparés		Identification des cryotubes
Cryotubes de placenta : ____	ADN	_____ _____ _____ _____
	ARN	_____ _____ _____ _____
	PROT	_____ _____ _____ _____
Date de congélation en azote liquide: ____ ____ ____ ____		Heure : ____ h ____ min
Commentaires éventuels :		

ETAPE 3 (CRB) : TRANSFERT AU CRB : CONSERVATION

Initiales du technicien ____	Signature :
Date de réception : ____ ____ ____ ____	Heure : ____ h ____ min
Contrôle à réception : Conforme Non Conforme	
Enregistrement et stockage des échantillons	
Nombre d'échantillons reçus	Identification TD BIOBANK
Cryotubes de placenta: ____	____ ____ ____ à ____
Commentaires en cas d'anomalie:	



Annexe 5 : eCRF

----- Collection Placenta
Version 0.2 du 03/09/2013 - JMC (DRCI-CMBD)

FICHNUM 82 (automatique)

1-IDENTIFICATION DE LA PATIENTE

NIP Numéro Inclusion Patiente (année-ordre dans l'année)

Nom

Prenom

N° CRB Numéro CRB (1 lettre suivie de 10 chiffres)

2-INSERTION DANS LES DIFFERENTS GROUPES (0=N / 1=Y / 9=Non renseigné)

GTemoins (les témoins ne doivent pas être dans les groupes pré-é-)

GPE Pré-éclampsie

GSimple

GHELLP

GEclampsie

GHRP

GRCIU

GRCIUseul

GByPass

GObesite

GDiabG

3- CRITERES DE NON INCLUSION

mineure

gmultiple

malfofoet

VIH+

VHB+

VHC+

BW+

4- RENSEIGNEMENTS GENERAUX SUR LA MERE

DDN

Age

Origine ethnique

- 1=France Métropolitaine
- 2=DOM TOM
- 3=Europe du Nord
- 4=Europe du Sud
- 5=Afrique du Nord
- 6=Afrique Noire
- 7=Asie
- 8=Autre

Poids_i kg

taille cm

Consommation et grossesse: (0=N / 1=Y / 9=Non renseigné)

Tabac:

- tAvant
- tPendant

Alcool:

- aAvant
- aPendant

drogues :

- Cannabis
- Heroïne
- dr autres

GrpSg

Rh

5- RENSEIGNEMENTS GENERAUX SUR LE PERE

taille cm

6- ANTECEDENTS

MEDICAUX de la PATIENTE (0=N / 1=Y / 9=Non renseigné)

HTA

Thyroïde (0=aucun / 1=HypoThy / 2=HyperThy)

Diabète (0=N / 1=type 1 / 2=type 2)

IRenale
Lupus
pAutoImmun
autrepb (autres patho auto-immune)

Si groupe Bypass :
Anneechir
Poids (kg) (avant la chirurgie)
Pertepds (kg) (consécutive à la chirurgie)
Stbduree (en mois) (Durée de Stabilité du poids avant grossesse)

OBSTETRICAUX (0=N / 1=Y / 9=Non renseigné)

Annee1

Terme

SA1

Jours1

Issue1

Pathologies

pDiabete1

pHTA1

pPE1

pRCIU1

pHELLP1

pHRP1

pRPM1

Traitement

tInsuline1

tAspegic1

tLovenox1

tAnti-HTA1

tAutres1

Poids Nais.1

DevenirNN1

1=DC à naissance

2=DC néonatal

3=BP

4=Vivant avec séquelles

Parite

DDG

(date de début de grossesse)

Ddpchir

Durée en mois entre ByPASS et la grossesse

Induction de la grossesse?

0=aucune

1=Stimulation

2=IAC

3=IAD

4=FIV

5=ICSI

Sérologies pendant la grossesse:(0=N / 1=Y / 9=Non renseigné)

SERO CHU Faite au CHU

Dépistage HT21 si oui, Dépistage fait au CHU (1=oui, 0=non, 9=r)

A - Etat maternel

DeltaPds Prise de poids pdt la grossesse

Pathologies au cours de la grossesse:

gDiabete

0=non

1=Diabète type 1

2=Diabète type 2

3=Gestationnel/régime seul

4=Gestationnel/insuline

HTAG Hypertension gravidique PA sup ou = 140/90

si groupe pré-éclampsie

Terme d 'apparition:

peSA

pejours

Critères maternels de prééclampsie sévère :

PApatho

PAS = ou sup 160 ou PAD = ou sup 110

Eclampsiel

OAP

SFHTA

Céphalée persistante, troubles visuels, hyperr

BarreEpig

oligoanur Inf à 500 ml/24h

Creat	Créatinine sérique sup 100mol/l
TransA	Transaminases sériques sup 2N
HemoL	Hémolyse avec schizochytes ou LDH sup 600 u /l
ThromboP	Thrombopénie inf 100 000/l

TTT

Si oui :	
Heparine	
Aspirine	
Anti-HTA	si oui AHTAADM Administration (1=POS, 2=IV)
SulfateMg	
Autres	

MAP Menace d'accouchement prématuré

RPM Rupture prématurée des membranes

Si oui :

Av37sa	avant 37 SA
Sup12h	Supérieure à 12h

Cortico Corticoïdes anténataux

CC Cure complète

B- Etat fœtal

Qtela Quantité de liquide amniotique

1=Normale
2=Hydramnios
3=Oligoamnios
4=Anamnios

EpdsF Estimation de poids fœtal

1= Eutrophe
2= RCIU
3= Macrosome

si RCIU ou macrosome :

TechoPat Terme 1er echo patho (SA)

Dopplers :

- 2e trimestre

T2 Notch Notch (1=absent, 2=Unilatéral, 3=bilatéral, 9=non fait)

T2 DO Doppler Ombilical (1=normal, 2=diastole nulle, 3=reverse flo

T2 DoC	Doppler Cerebraux (1=normal, 2=diastole nulle, 3=reverse flow)
- 3e trimestre	
T3 Notch	Notch (1=absent, 2=Unilateral, 3=bilatéral, 9=non fait)
T3 DO	Doppler Ombilical (1=normal, 2=diastole nulle, 3=reverse flow)
T3 DoC	Doppler Cerebraux (1=normal, 2=diastole nulle, 3=reverse flow)

8- ACCOUCHEMENT

DA Date accouchement

Terme

aSA

ajou

aIssue

- 1=Voie basse
- 2=Césarienne avant travail
- 3=Césarienne en cours de travail

Indication(s) de la césarienne

ARCF	ARCF
ArretCroi	Arret croissance
SOSmat	Sauvetage maternel
DyspFP	Dysproportion foeto-pelvienne
Utcicat	Utérus cicatriciel
Malfout	Malformation utérine
ICAutres	

LA Liquide amniotique
1=Clair
2=Teinté
3=Méconial

Presentat Présentation
1=Céphalique
2=Siège
3=Transverse

HPP Hemo. du Post Partum

9- PLACENTA :

ExAnaP	Examen anatomo-pathologique
Si oui :	
PdsR	Poids réel (g)

PDST	Poids théorique (g)
Lesions	Lésions observées
InfPlac	Infarctus placentaires
ThromssCh	Thromboses sous-choriales
ThromIntV	Thromboses inter-villeuses
NIDF	nécrose ischémique avec dépôts de fibri
K.Cyto	Kystes cytotrophoblastiques
DepFibri	Dépôts fibrinoïdes périvillositaires
ExcTroph	Excès d'amas nucléaires trophoblastiques
HypoVillo	Hypotrophie villositaire
Calci	Calcifications
AspFibStr	Aspect fibrinoïde du stroma villositaire
AspFibTrc	Aspect fibrinoïde des troncs villositaires
ChorioA	Chorioangiose
LAutres	

Conclusion

- 1=Placenta Normotrophe
- 2=Placenta Hypertrophe
- 3=Placenta Hypotrophe

Conc1
Conc2
Conc3

10- ETAT DU NOUVEAU-NE en salle de naissance

Sexe	(1=mASCULIN, 2=fÉMININ)
PN	(g)
TailleN	(cm)
PC	(cm)
nv	né vivant
APGAR	à 5min
pHfait	
Si oui :	
PH	
PCO2	(mmHg)
Lactates	(mM/L)
ReaSdN	
Si oui :	
VentiMasq	Ventilation au masque
MassC	Massage cardiaque externe

Intub
KTV0
Adrenaline

Intubation

TransNN Transfert néonatal immédiat
0=non
1=Unité Mère-Enfant
2=Unité de néonatalogie
3=Unité de soins intensifs
4=Unité de réanimation néonatale

Motifs:

Prema

RCIU

DR

Détresse respiratoire

MAVEU

Mauvaise adaptation à la vie extra utérine

HypoG

Hypoglycémie

HypoCa^l

Hypocalcémie

TNNAutres

11- EVOLUTION DU NOUVEAU-NE en réanimation

DosLact (mM/L) Dosage Lactates à arrivée
Dur.Hosp (jours) Durée d'hospitalisation

Morbidité Néonatale:

MN DR	Détresse respiratoire néonatale
MN MMH	Maladie des membranes hyalines
MN DBP	Dysplasie broncho-pulmonaire
MN PCArt	Persistance du canal artériel
MN IMF	Infection materno foetale
MN EUN	Entérocolite ulcéro-nécrosante
MN HypoG	Hypoglycémie
MN HypoCal	Hypocalcémie
MN RCEU	
MN Autre	

ETF Echographie trans fontanellaire
ETFrés (1=anormal, 0=normal)

HemoIV Hémorragie intra-ventriculaire 1=stade
0=non
1= stade I ou II
2= stade III ou plus

LeucOPV

Leucomalacie péri-ventriculaire

HyperE

Hyperéchogénicité persistante (>15j)

DCNnHospt

Décès néonatal en cours d'hospitalisation

GrandEns

Inclusion dans le réseau « GRANDIR ENSEMBLE »

GrpByP

Inclusion dans le suivi « BY-PASS »

=====

RECDATE Date enregistrement (automatique)

EOF

ABSTRACT

RÉSUMÉ

Introduction : Chaque année, on estime qu'un couple sur 10 a recours à la procréation médicale assistée (PMA), soit 2,7% des naissances en France. Plusieurs auteurs se sont interrogés sur l'augmentation possible de morbi-mortalité maternelle, fœtale et néonatale dans ces grossesses avec des résultats parfois contradictoires. De plus, le caractère invasif de la manipulation des gamètes et de l'embryon pourrait être responsable de perturbations à l'échelle moléculaire avec des effets potentiels à moyen et long terme chez l'enfant.

Objectifs : L'objectif de ce travail était d'étudier les effets de la PMA chez la mère et l'enfant et de mettre en place une biocollection de placenta, sang de mère et sang de cordon.

Méthodes : Une revue de la littérature a été réalisée, en ciblant la recherche sur les articles récents et à niveau de preuve élevé. La mise en place de la biocollection sur le CHU d'Angers a consisté en l'identification et l'inclusion des patientes, le recueil des données et les prélèvements biologiques.

Résultats : Il existe un risque faible mais significativement augmenté de placenta praevia et accreta, d'hémorragie du post-partum, de recours à la césarienne, de diabète gestationnel, de pathologies hypertensives, de prématurité, de malformations congénitales et de nouveau-nés petits pour l'âge gestationnel. Les différentes techniques de PMA peuvent être responsables de modifications épigénétiques à un stade précoce du développement embryonnaire, dans une période critique en terme de programmation fœtale.

Conclusion : Les connaissances sur les effets cliniques et moléculaires de la PMA chez l'homme sont limitées. Avec l'ampleur que prend aujourd'hui la PMA dans notre société, connaître le rôle et l'implication de la PMA sur le développement dans les tous premiers stades de la vie reste nécessaire.

Mots clés : Procréation Médicale Assistée, épigénétique, placenta, morbi-mortalité maternelle et fœtale.

Background: Children conceived through assisted reproductive technologies (ART) now account for a noteworthy proportion (2.7%) of births in France. Considerable attention is being paid to the outcome of ART pregnancies, in term of maternal, fetal and neonatal morbidity. The vast majority of these children are apparently normal. In the context of potential epigenetic and developmental abnormalities and fetal reprogramming induced by both technologies and infertility by itself, studies are needed.

Objectives: The objective of this work was thus to study the effects of ART in maternal, fetal and neonatal morbidity and to establish a biocollection with placenta, maternal and cord blood.

Methods: A systematic review was conducted, targeting research on recent articles and large cohorts or metaanalysis. The establishment of biocollection consisted of the identification and inclusion of patients, collection of data and biological samples.

Results: There is a small but significantly increased risk of placenta previa and accreta, postpartum hemorrhage, caesarean section, gestational diabetes, hypertensive disorders, prematurity, birth defects and small for gestational age infants. ART may be responsible for epigenetic modifications at an early stage of embryonic development, which is a critical period in term of fetal programming.

Keywords: Assisted Reproductive Technology, epigenetic, placenta, maternal and perinatal outcomes.

