



LA PRESERVATION DE FERTILITE CHEZ LA FEMME ET L'HOMME :

APPROCHES, DEFIS ET PERSPECTIVES

Mémoire présentée par

Docteur JALILA RAHMOUNI

Née le 12/06/1992 à Fès

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE

Option : GYNECOLOGIE- OBSTETRIQUE

Sous la direction du Professeur MAMOUNI Nisrine

Session Juin 2024

Résumé

La préservation de la fertilité représente un domaine crucial et en évolution rapide de la médecine reproductive, offrant des perspectives d'avenir prometteuses pour les individus confrontés au risque d'infertilité .

Le mémoire explore les techniques de préservation de la fertilité chez les femmes et les hommes, soulignant les progrès médicaux, les implications cliniques, et les enjeux éthiques.

Il examine en détail les méthodes de cryoconservation des ovocytes, spermatozoïdes, et tissus gonadiques, évaluant leur efficacité, limites, et perspectives futures.

L'étude met l'accent sur l'importance de la préservation de la fertilité face à des traitements médicaux impactant la fertilité, comme la chimiothérapie, et discute des défis éthiques et psychosociaux liés.

Des recommandations pour améliorer les stratégies de préservation sont proposées, visant à optimiser les protocoles et à contribuer à l'avancement de la recherche dans ce domaine essentiel de la santé reproductive.

Le mémoire fournit aussi une analyse approfondie des techniques et des implications de la préservation de la fertilité, couvrant divers aspects médicaux, psychosociaux, éthiques et légaux.

Voici un résumé détaillé des points clés abordés dans ce mémoire:

- Indications de préservation de la fertilité: Les indications comprennent des raisons oncologiques, médicales non oncologiques, et sociétales.

- Pour les femmes, cela englobe la gestion des cancers et d'autres conditions médicales risquant d'impacter la fertilité, ainsi que la préservation de la fertilité pour des raisons personnelles ou professionnelles.
- Les techniques de préservation de fertilité chez la femme qui incluent la cryoconservation des ovocytes et des embryons pour une utilisation future, la congélation du tissu ovarien pour une réimplantation potentielle, la maturation in vitro des ovocytes, la transposition ovarienne pour protéger les ovaires pendant la radiothérapie, et l'utilisation de médicaments pour tenter de protéger les ovaires pendant la chimiothérapie.
- Ces approches offrent aux des options précieuses pour maintenir la potentiel de fertilité, représentant des avancées significatives dans le domaine de la reproduction assistée.
- Les techniques de Préservation de fertilité chez l'Homme: La cryoconservation des spermatozoïdes est bien établie, tandis que la préservation du tissu testiculaire émerge comme une option pour les jeunes patients prépubères.
- Ces techniques visent à protéger la fertilité masculine contre les effets gonadotoxiques des traitements médicaux, notamment la chimiothérapie et la radiothérapie.
- Chez les hommes, cela inclut la préservation avant des traitements risquant d'affecter leur fertilité, ainsi que pour des raisons prépubères où la récolte de spermatozoïdes n'est pas possible.
- Enjeux Éthiques et Légaux: Le document aborde les implications

éthiques de la préservation de la fertilité, en particulier dans le contexte islamique, soulignant l'importance de la conformité avec les principes religieux et culturels.

- Il mentionne également l'adoption récente de lois relatives à la procréation médicalement assistée au Maroc, qui encadrent la conservation des gamètes et des tissus germinaux.
- Aspect Psychologique: L'impact psychologique de l'infertilité et la préservation de la fertilité est souligné, avec une attention particulière sur le besoin d'un soutien psychologique adéquat pour les patients.
- Les défis émotionnels liés à la prise de décision et au vécu de l'infertilité sont discutés.

Cette étude met en évidence la complexité et la multidimensionnalité de la préservation de la fertilité, indiquant la nécessité d'une approche globale qui englobe les avancées techniques, les soins psychologiques, l'éthique, et l'adaptation légale aux besoins des patients

Sommaire

Résume	1
Sommaire	4
I. Introduction	6
II. Objectifs de l'étude	11
III. Techniques de préservation de la fertilité chez la femme	13
A. Cryoconservation des ovocytes et des embryons.....	13
a. Comment vitrifier	20
b. Choisir le système de vitrification entre le système ouvert ou fermé ..	23
c. Sécurité lié à la manipulation de l'azote	25
d. Vitrification des ovocytes	27
e. Vitrification des embryons	32
f. Le recours à la MIV (maturation in vitro).....	41
B. Congélation du tissu ovarien	42
C. la transposition ovarienne	44
D. Analogues de la GnRH	46
IV. Techniques de préservation de fertilité chez l'homme	48
A. Cryoconservation des spermatozoïdes	48
B. Congélation du tissu testiculaire.....	49
a. Protocoles de Congélation	50
b. Vitrification du Tissu Testiculaire.....	50
A. Chez la femme	51
a. Oncologique	51
b. Médicale	52

c. Sociétale	54
B. Chez l'homme	55
a. Chez le garçon pré-pubère	56
b. Chez l'adolescent et l'adulte	57
V. Enjeux éthiques et légaux	61
VI. Le côté psychologique	64
VII. Conclusion	66
VIII. Reference	68

I. Introduction :

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit l'infertilité comme une maladie du système reproducteur défini par l'échec à réaliser une grossesse clinique après 12 mois ou plus de rapports sexuels réguliers non protégés.

Cette définition souligne que l'infertilité est une condition médicale et pas seulement une question de choix ou de style de vie.

Elle reconnaît également l'importance de considérer l'infertilité comme un problème de santé significatif qui nécessite une attention médicale et des soins appropriés.

Cette définition englobe à la fois l'infertilité primaire, qui concerne les couples qui n'ont jamais pu concevoir, et l'infertilité secondaire, qui se réfère aux couples qui ont conçu auparavant mais sont incapables de le faire à nouveau .

Ses causes sont multiples et peuvent être attribuées à des facteurs masculins, féminins ou une combinaison des deux.

Il est important de noter que dans de nombreux cas, l'infertilité peut être traitée avec succès grâce à des interventions médicales ou des techniques de reproduction assistée.

La préservation de la fertilité est un domaine médical en plein essor, offrant des solutions innovantes pour ceux qui souhaitent différer la parentalité ou qui font face à des traitements médicaux impactant leur fertilité.

Les techniques de pointe telles que la cryoconservation d'ovocytes, de spermatozoïdes, et de tissus ovariens ou testiculaires, sont des avancées remarquables. Ces méthodes permettent de stocker des gamètes ou des tissus à très basses températures, conservant ainsi leur viabilité pour une utilisation future.

Cette technologie est particulièrement bénéfique pour les patients subissant des traitements de chimiothérapie ou de radiothérapie, qui peuvent altérer de manière significative la fertilité.

En outre, la vitrification, une méthode de congélation rapide, a révolutionné la préservation des ovocytes, améliorant considérablement les taux de survie et de succès des ovocytes décongelés. De plus, les techniques de reproduction assistée, telles que la FIV (fécondation in vitro) et l'ICSI (injection intracytoplasmique de spermatozoïdes), complètent les options de préservation de la fertilité en permettant la fécondation en laboratoire et le transfert d'embryons.

Les progrès dans la compréhension des mécanismes de la fertilité et de l'endocrinologie reproductive ont également ouvert la voie à des traitements médicamenteux pour améliorer la qualité des gamètes et augmenter les chances de conception.

La recherche continue dans ce domaine vise à optimiser les protocoles de préservation et à développer de nouvelles stratégies pour aider ceux qui sont confrontés à des défis de fertilité. L'amélioration des traitements contre le cancer a significativement augmenté la survie et l'espérance de vie des enfants et jeunes adultes atteints de cette maladie.

Cependant, ces traitements peuvent souvent avoir un impact délétère sur la fertilité, en raison de l'altération de la fonction gonadique et/ou utérine due à la chimiothérapie, la radiothérapie, et la chirurgie.

Cette problématique soulève l'importance croissante de la préservation de la fertilité dans la prise en charge des patients en oncologie, particulièrement chez les femmes de moins de 40 ans susceptibles de recevoir des traitements pouvant altérer leur fertilité.

Il est difficile de prédire avec précision l'impact d'un traitement gonadotoxique sur la fertilité future d'une jeune femme.

Bien que l'âge, le statut folliculaire ovarien, et le type et les doses de chimiothérapie puissent donner une estimation du risque d'altération de la fonction ovarienne, de nombreux autres facteurs, encore indéterminés, peuvent influencer ce risque.

De plus, la perte folliculaire naturelle due au délai avant un projet de grossesse, généralement de 2 à 5 ans après un diagnostic de cancer, s'ajoute à la gonadotoxicité des traitements.

Face à ces enjeux, la majorité des équipes médicales s'accorde pour fixer une limite d'âge de 40 ans pour la préservation de la fertilité.

Ce seuil prend en compte à la fois les aspects biologiques de la fertilité et les implications des traitements gonadotoxiques.

La préservation de la fertilité est donc une composante essentielle du plan de traitement pour les jeunes patients atteints de cancer, nécessitant une approche personnalisée et multidisciplinaire pour optimiser les résultats et soutenir les projets de vie futurs.

La folliculogénèse ovarienne, processus complexe de maturation des follicules ovariens, rend la conservation des gamètes féminins plus compliquée que chez les hommes. Cette complexité réside dans plusieurs facteurs distinctifs de la biologie ovarienne et de la physiologie des ovocytes :

Réserve Ovarienne : Les follicules primordiaux, établis durant la vie intra-utérine, constituent la réserve ovarienne et représentent le stock initial de gamètes féminins, mais seuls une fraction infime atteindra le stade mature et sera ovulée.

Croissance folliculaire : La croissance du follicule dure environ 6 mois, amenant le follicule du stade primordial au petit antral. La croissance terminale, déclenchée à la puberté sous l'effet des hormones hypophysaires, conduit les follicules jusqu'à l'ovulation. La majorité des follicules subiront une atresie folliculaire.

Fragilité de l'Ovocyte : L'ovocyte, la plus grande cellule de l'organisme humain, contient une forte concentration en eau et présente une faible perméabilité aux cryoprotecteurs. Les structures internes de l'ovocyte, y compris l'arrangement de l'ADN autour du fuseau méiotique, le rendent particulièrement vulnérable aux dommages causés par la cryoconservation et le réchauffement.

Avancées en Cryobiologie : La vitrification ovocytaire, une avancée significative en cryobiologie, a amélioré les chances de survie des ovocytes après décongélation. Ce procédé de congélation ultra-rapide a permis d'optimiser les résultats en termes de survie et de qualité des ovocytes post-décongélation.

Ces éléments soulignent les défis inhérents à la préservation de la fertilité féminine et l'importance des avancées technologiques et scientifiques dans ce domaine. La compréhension approfondie de la folliculogenèse et des propriétés biologiques des ovocytes est essentielle pour développer des stratégies efficaces de conservation et d'utilisation des gamètes féminins dans la procréation médicalement assistée.

Enfin, il est crucial que les professionnels de la santé sensibilisent les patients sur ces options et les aident à prendre des décisions éclairées en matière de préservation de la fertilité, adaptées à leur situation personnelle et médicale.

La préservation de la fertilité est ainsi une combinaison de technologie de pointe, de connaissances médicales approfondies et d'une approche personnalisée pour répondre aux besoins uniques de chaque individu.

II. Objectifs de l'étude :

L'objectif principal de cette étude est d'explorer en profondeur les différentes techniques et approches actuelles de la préservation de la fertilité chez les femmes et les hommes, en mettant l'accent sur les avancées médicales, les implications cliniques et les enjeux éthiques associés.

Cette recherche vise à analyser les méthodes de cryoconservation ovocytaire et spermatique, ainsi que les techniques émergentes telles que la congélation du tissu ovarien et testiculaire, pour évaluer leur efficacité, leurs limites et leurs perspectives d'avenir.

Un autre objectif crucial est d'examiner les indications médicales et non médicales de ces pratiques, y compris les cas de traitements oncologiques et de choix personnels liés au mode de vie ou à l'âge.

De plus, cette étude vise à souligner les défis éthiques et légaux dans la préservation de la fertilité, tout en considérant l'impact psychosocial sur les patients.

Enfin, à travers une analyse critique des données actuelles, le mémoire vise à proposer des recommandations pour améliorer les stratégies de préservation de la fertilité, tout en contribuant à l'avancement de la recherche et des pratiques cliniques dans ce domaine crucial de la santé reproductive."

La méthode de travail adoptée pour cette étude repose sur une revue de la littérature, visant à collecter et analyser les données et recherches pertinentes dans le domaine de la préservation de la fertilité.

Cette revue englobe une analyse critique des articles scientifiques, des revues, des rapports de recherche et des études méthodologiques publiés dans des revues médicales et scientifiques reconnues.

Une attention particulière est portée aux études récentes afin d'assurer l'actualité et la pertinence des informations recueillies.

Des bases de données médicales telles que PubMed, ScienceDirect, et Cochrane Library sont consultées pour accéder à une vaste gamme de publications.

Des critères de sélection rigoureux sont appliqués pour inclure les études les plus pertinentes et les plus fiables, et une attention spécifique est accordée à l'analyse de ses résultats, et des conclusions des études examinées.

Cette approche méthodique permet de fournir une compréhension approfondie des techniques actuelles de préservation de la fertilité, tout en identifiant les tendances émergentes, les lacunes dans les connaissances existantes, et les opportunités de recherche future."

III. Techniques de préservation de la fertilité chez la femme:

A. Cryoconservation des ovocytes et des embryons:

En mars 1984, la naissance de Zoé en Australie, issue d'un embryon fécondé in vitro (FIV) et cryoconservé, a marqué une avancée significative dans le champ de la procréation médicalement assistée (PMA).

Cette réalisation a été suivie, en 1999 en Australie, par les premières naissances issues d'ovocytes vitrifiés, mettant en évidence les progrès dans les techniques de cryoconservation.

Depuis près de 20 ans, la vitrification embryonnaire est devenue une pratique courante dans les laboratoires de procréation médicalement assistée (PMA) à travers le monde.

Des pays précurseurs tels que le Japon ont adopté cette technique il y a environ deux décennies, suivis par d'autres nations telles que la Belgique et les États-Unis.

En France, l'adoption de la vitrification embryonnaire a été progressive, débutant principalement à partir de 2011.

Cette technique est désormais un élément standard des procédures de PMA dans de nombreux pays, reflétant son efficacité et sa fiabilité en tant que méthode de conservation des embryons.

La vitrification, une méthode de congélation ultra-rapide, a révolutionné la cryobiologie en permettant la suspension temporelle des processus biologiques cellulaires.

Ces avancées, conjuguées aux évolutions sociétales, ont joué un rôle crucial dans le développement et l'optimisation des protocoles au sein des centres de PMA, tout en soulevant des considérations éthiques complexes

liées à la conservation et à l'utilisation des gamètes et embryons.

La pratique clinique en procréation médicalement assistée (PMA) a évolué avec la maîtrise de la cryoconservation embryonnaire, permettant d'optimiser les stratégies de transfert mono-embryonnaire.

Les révisions des textes de loi autorisant ainsi la vitrification qui est une méthode de congélation ultrarapide pour les pour les gamètes et embryons.

Cette technique a significativement amélioré les taux de survie post-décongélation et les résultats cliniques, notamment en termes de taux de naissances vivantes suite au transfert d'embryons vitrifiés.

En outre, l'adoption de la stratégie du "freeze all" par plusieurs centres de PMA, consistant en la cryoconservation systématique de l'ensemble de la cohorte obtenue lors d'un cycle de stimulation a modifié les schémas thérapeutiques en PMA.

Dans ce chapitre, nous aborderons d'abord les principes fondamentaux de la cryoconservation incluant les aspects de sécurité liés à l'utilisation de l'azote liquide dans la vitrification.

Ensuite, nous examinerons les principaux résultats obtenus suite à la congélation d'embryons et d'ovocytes.

Cette analyse sera mise en contexte avec le développement de la vitrification d'ovocytes, une technique qui a considérablement amélioré les chances de succès de leur conservation.

Initialement utilisée pour la préservation de la fertilité face à des traitements gonadotoxiques, la vitrification est désormais autorisée, sous certaines conditions d'âge, dans des situations non médicales .

Dans le processus de vitrification, l'étape initiale implique l'imprégnation du matériel biologique, soit l'ovocyte ou l'embryon, avec des agents cryoprotecteurs; Cette phase prépare les cellules à un refroidissement extrême, nécessaire pour éviter la cristallisation de l'eau intracellulaire.

La phase suivante est un refroidissement rapide, abaissant la température du spécimen de la température ambiante à -196°C ; Cette transition rapide est cruciale pour induire un état vitreux, caractérisé par une augmentation marquée de la viscosité et une réduction conséquente de l'énergie interne cellulaire.

Pour une bonne vitrification :

- L'étape initiale implique l'exposition de l'ovocyte ou de l'embryon aux cryoprotecteurs, préparant le matériel biologique à la congélation.
- La seconde étape : refroidissement rapide, faisant chuter la température du matériel biologique de la température ambiante à -196°C . Cette étape est essentielle pour la préservation des structures cellulaires, membranaires et intracytoplasmiques.

La vitrification elle-même est un processus de solidification d'une solution (eau libre et solutés dissous) sans formation de cristaux.

L'état vitreux est obtenu par une augmentation considérable de la viscosité durant le refroidissement, conduisant à un ralentissement, voire à une cessation, de l'énergie interne cellulaire liée au refroidissement et au changement d'état.

Ces mécanismes jouent un rôle clé dans la préservation de l'intégrité cellulaire durant la cryoconservation.

Dans le contexte de la cryopréservation ovocytaire et embryonnaire, la survie cellulaire est intrinsèquement liée à la capacité à contrôler les phénomènes physiques et biologiques associés au refroidissement et au réchauffement.

Les dangers majeurs pour les ovocytes et les embryons durant ce processus incluent la cristallisation intracellulaire de l'eau, le choc thermique et la déshydratation excessive; Ces facteurs peuvent provoquer des dommages mécaniques aux organites cellulaires et compromettre la viabilité.

La cristallisation de l'eau intracellulaire, en particulier, est un processus critique.

Lorsque le refroidissement est trop rapide ou si la cellule n'est pas correctement préparée par des agents cryoprotecteurs (menant à une déshydratation suboptimale), l'eau se solidifie sous forme de petits foyers de nucléation.

Ces foyers, lors du réchauffement, peuvent évoluer en cristaux de glace de plus grande taille, ce qui est délétère pour la survie et la fonctionnalité de l'ovocyte ou de l'embryon.

Pour contrer ces risques, la technique de vitrification est mise en œuvre. Elle vise à obtenir un état vitreux intracellulaire rapidement, minimisant ainsi la formation de ces foyers de nucléation et la probabilité subséquente de croissance des cristaux de glace lors du réchauffement.

La vitrification, par sa capacité à augmenter la viscosité et à réduire drastiquement la mobilité moléculaire, évite la formation de cristaux de glace destructeurs, préservant ainsi l'intégrité structurale et fonctionnelle des ovocytes et embryons cryoconservés.

Pour réussir la vitrification, il est essentiel de créer un environnement qui empêche l'arrangement ordonné des molécules d'eau, typique de la cristallisation en glace. Cet état, qualifié d'amorphe ou vitreux, est atteint en abaissant la température de la solution en dessous de sa température de transition vitreuse .

Pour minimiser les dommages, l'utilisation combinée de cryoprotecteurs perméables et non perméables est nécessaire.

Ces derniers ont la particularité de ne pas cristalliser facilement à basse température, ainsi leur action protectrice est due à leur capacité à former des ponts hydrogène avec les molécules d'eau, empêchant ainsi la formation d'une structure cristalline ordonnée et augmentant la viscosité de la solution.

Lorsqu'ils sont utilisés à de fortes concentrations et en faible volume, ces cryoprotecteurs peuvent induire un état solide amorphe, sans cristallisation en glace, surtout lorsqu'ils sont soumis à un refroidissement extrêmement rapide, comme la plongée dans l'azote liquide à -196°C .

Dans le contexte des cellules humaines, l'exposition aux cryoprotecteurs entraîne une phase de déshydratation, réduisant le volume cytoplasmique jusqu'à ce qu'un équilibre osmotique soit atteint.

Cette déshydratation est un élément clé pour éviter la formation de cristaux de glace à l'intérieur des cellules, contribuant ainsi à une meilleure préservation de la viabilité et de la fonctionnalité cellulaire après le processus de congélation et de décongélation.

Dans ce chapitre, nous aborderons les propriétés et le rôle des cryoprotecteurs dans la vitrification. Les cryoprotecteurs à faible poids moléculaire sont capables de traverser la membrane cellulaire.

Majoritairement composés d'alcools avec des fonctions hydroxyles, ces agents agissent en formant des ponts hydrogène, ce qui leur permet d'interférer avec ou de prévenir la réorganisation cristalline des molécules d'eau lors du refroidissement.

Par ailleurs, il existe des cryoprotecteurs strictement non pénétrants, caractérisés par des poids moléculaires soit faibles (comme le sucrose et le tréhalose) soit élevés (comme le dextran), qui agissent de manière hyperosmotique.

Ces deux catégories de cryoprotecteurs jouent un rôle crucial dans la prévention de la formation de cristaux de glace et dans le maintien de l'intégrité cellulaire lors du processus de cryoconservation.

L'efficacité de la vitrification réside dans la gestion soignée de l'équilibre entre les propriétés bénéfiques et les effets potentiellement délétères des cryoprotecteurs.

Bien que ces substances soient essentielles pour prévenir les dommages liés à la cristallisation de l'eau, elles peuvent également induire une toxicité cellulaire directe et des lésions osmotiques dues à la déshydratation intra- et extracellulaire.

La maîtrise de leur concentration et du temps d'exposition est donc cruciale pour minimiser ces risques.

En outre, l'issue de la technique de vitrification ne dépend pas seulement de ces facteurs, mais est également influencée par d'autres variables, rendant ce processus complexe et nécessitant une expertise spécialisée.

Pour assurer le succès de la vitrification, diverses variables doivent bien gérées :

1. **Compétences Techniques de l'Opérateur:** L'habileté et l'expérience de la personne réalisant la vitrification sont essentielles.
2. **Vitesse de Refroidissement et de Réchauffement:** Des vitesses optimales sont cruciales pour prévenir la formation de cristaux de glace.
3. **Perméabilité Cellulaire aux Cryoprotecteurs et à l'Eau:** Les cellules réagissent différemment aux cryoprotecteurs (glycérol < éthylène glycol < DMSO < propanediol).
4. **Variabilité de Perméabilité entre Différentes Stades Cellulaires:** Les ovocytes < zygotes < embryons < blastocystes
4. **Toxicité et Génotoxicité des Cryoprotecteurs:** Le type, la concentration et la température d'exposition des cryoprotecteurs sont des facteurs clés.
5. **Réactions Osmotiques dans les Solutions de Cryoprotecteurs:** Ces réactions peuvent affecter la stabilité cellulaire.
6. **Homéostasie Calcique:** La stabilité du calcium intracellulaire est affectée par la vitrification.
7. **Dispositif Utilisé pour la Vitrification:** Le choix entre dispositifs ouverts ou fermés peut impacter la qualité du processus.
8. **Risque de Cristallisation lors du Stockage et du Réchauffement:** Une gestion efficace de ce risque est vitale pour la viabilité des cellules cryoconservées.

Ces éléments, pris ensemble, déterminent l'efficacité de la vitrification et la préservation optimale des ovocytes et embryons.

a. Comment vitrifier ?

Pour maintenir un état vitreux lors des étapes de refroidissement et de réchauffement en vitrification, il est essentiel d'exposer les ovocytes ou les embryons à des concentrations élevées de cryoprotecteurs, qu'ils soient pénétrants ou non.

Cette exposition augmente la viscosité intracellulaire au-delà d'un seuil nécessaire, indépendamment de la méthode de vitrification employée.

Cela assure la transition vers un état vitreux et prévient les dommages cellulaires durant les phases critiques de la cryoconservation.

Dans le processus pratique de vitrification, la création d'un état vitreux intracellulaire avant le refroidissement dans l'azote liquide se fait en deux étapes :

Première Étape : Les ovocytes ou les embryons sont d'abord exposés à une solution contenant uniquement des cryoprotecteurs pénétrants, tels que l'éthylène glycol, le diméthylsulfoxyde (DMSO), le propanediol (PROH), ou le glycérol.

Cette étape induit une déshydratation rapide (moins de 30 secondes), permettant d'atteindre un équilibre osmotique caractérisé par une réduction significative du volume des ovocytes ou des embryons.

Ensuite, un rééquilibrage des concentrations se produit par l'entrée intracellulaire des cryoprotecteurs accompagnée d'eau, menant au retour vers le volume initial; Cette solution est communément appelée Solution d'Équilibration (Equilibration Solution ou ES) dans les kits de vitrification

commerciaux.

La vitesse et l'ampleur de l'expansion cellulaire dépendent de la durée d'exposition, ainsi que du type et de la concentration des cryoprotecteurs pénétrants.

Cette méthode permet de minimiser les risques de lésions cellulaires .

La 2eme phase : les ovocytes ou les embryons subissent une immersion dans une solution vitrifiante (SV), composée de cryoprotecteurs non pénétrants tels que le sucrose ou le dextran.

Cette immersion, d'une durée ne dépassant pas 60 secondes, précède le placement des cellules sur un support de cryoconservation, suivie de leur immersion rapide dans l'azote liquide.

L'objectif de cette solution est de préserver l'état vitreux à la fois lors du refroidissement et du réchauffement.

Durant cette étape, une seconde déshydratation se produit de manière quasi instantanée, permettant d'établir les conditions nécessaires pour un état vitrifiant intracellulaire. Cet état est atteint en concentrant les protéines, les sels intracellulaires, et les cryoprotecteurs qui ont pénétré dans les cellules pendant la première phase d'exposition.

Simultanément, l'état vitrifié extracellulaire est obtenu par l'enrobage des ovocytes ou des embryons dans la solution VS, formant ainsi une matrice protectrice qui contribue à la stabilité et à la viabilité des cellules pendant le processus de vitrification.

Pour une vitrification réussie, il est crucial de moduler soigneusement la durée d'exposition aux cryoprotecteurs en tenant compte du type et du stade des cellules concernées (ovocytes, zygotes, ou embryons) et du système de

cryopréservation utilisé (système ouvert ou fermé).

L'addition des cryoprotecteurs en une seule étape et unique peut induire une réaction osmotique immédiate, entraînant une déshydratation brutale et une augmentation potentiellement toxique de la concentration intracellulaire.

Cette réaction peut réduire le volume cellulaire de plus de 50 % et risquer de provoquer une lyse cellulaire dans les heures qui suivent la dévitrification, même si les cellules semblent normales immédiatement après le réchauffement.

La gestion précise de l'exposition aux cryoprotecteurs est donc essentielle pour prévenir ces effets néfastes et maintenir la viabilité cellulaire.

Pour minimiser les variations volumétriques abruptes des cellules lors de la vitrification, surtout pour les embryons au stade blastocyste, il est conseillé de les exposer graduellement à plusieurs solutions de cryoprotecteurs à concentrations progressives.

Cette technique, qui peut impliquer la création de ponts entre les gouttes d'Equilibration Solution (ES), est essentielle pour moduler la déshydratation cellulaire et la perméabilité membranaire.

Lorsque des vitesses de refroidissement élevées sont employées, un réchauffement tout aussi rapide est nécessaire pour prévenir la formation de cristaux de glace.

Pour cela, le support de cryopréservation est extrait de son contenant, en évitant tout contact avec l'azote liquide.

L'extrémité du support, portant l'ovocyte ou l'embryon dans sa goutte de cryoprotecteur, est immédiatement immergée dans une solution de saccharose à 37 °C (solution de dilution des cryoprotecteurs, aussi appelée

Thawing Solution ou TS).

Cette méthode assure une vitesse de réchauffement supérieure à 20 000°C/min, indépendamment du type de dispositif de contention utilisé.

Cette approche rapide et contrôlée est cruciale pour maintenir l'intégrité structurale et fonctionnelle des cellules vitrifiées lors de leur réchauffement.

b. Choisir le système de vitrification entre le système ouvert ou fermé :

Pour réaliser des vitesses de refroidissement ultrarapides (estimées à 20 000 °C/min) et ainsi éviter la formation de foyers de nucléation , le recours se fait à la conception de supports spécifiques pour la cryoconservation. Ces supports sont conçus pour assurer un contact direct et efficace entre la microgoutte de solution cryoprotectrice, contenant l'ovocyte ou l'embryon, et l'azote liquide.

Ce contact direct est crucial pour faciliter un refroidissement rapide et uniforme, élément clé pour prévenir la cristallisation et protéger l'intégrité des cellules lors de la vitrification.

La maîtrise de la technique de vitrification, en particulier dans ses étapes finales, est essentielle lors de l'utilisation de supports ouverts.

Ces derniers exigent une manipulation précise depuis le transit du matériel biologique dans la solution vitrifiante (VS) jusqu'à son montage et sa plongée dans l'azote liquide. L'avantage d'un support ouvert réside dans sa capacité à permettre un contact direct entre le matériel biologique et l'azote liquide, ce qui facilite l'induction efficace d'un état amorphe. Ce contact direct favorise non seulement une vitrification rapide, mais permet aussi de réduire la durée d'exposition et la concentration des cryoprotecteurs nécessaires, diminuant ainsi leur potentiel effet toxique.

L'utilisation d'un système de vitrification « fermé » crée une isolation entre l'échantillon et l'azote liquide, formant ainsi une barrière thermo-isolante.

Cette isolation augmente l'inertie thermique, entraînant une diminution significative de la vitesse de refroidissement, de 20 000 °C/min à moins de 2 000 °C/min.

Face à cette réduction de la vitesse de refroidissement, il devient nécessaire d'ajuster les paramètres de vitrification : augmenter la durée d'exposition aux cryoprotecteurs et leur concentration intracellulaire, tout en respectant le seuil de toxicité pour les cellules.

Cette adaptation est cruciale pour garantir l'efficacité de la vitrification en système fermé et maintenir la viabilité des cellules.

Dans certaines situations particulières le choix d'un système de vitrification fermé est particulièrement indiqué pour la conservation des ovocytes ou des embryons notamment chez patients présentant un risque de transmission d'une maladie virale. Cependant, diverses études n'ont pas démontré de différences significatives en termes de résultats clinico-biologiques entre les embryons vitrifiés en système ouvert ou fermé.

Néanmoins, compte tenu des caractéristiques spécifiques de l'ovocyte en métaphase II (MII), la vitrification en utilisant un système ouvert est souvent privilégiée.

Ce choix s'explique par les avantages offerts par le système ouvert, notamment une vitesse de refroidissement ultrarapide, un temps d'exposition réduit aux cryoprotecteurs et une moindre toxicité, ce qui en fait une méthode fortement recommandée pour la vitrification des ovocytes MII.

c. Sécurité liée à la manipulation de l'azote

La manipulation de l'azote liquide, essentielle pour la congélation et la conservation des gamètes et embryons, est soumise à des normes de sécurité strictes.

En effet, un litre d'azote liquide peut se convertir en 682,1 litres d'azote gazeux à température ambiante et pression atmosphérique normale.

Les principaux risques sanitaires associés à l'azote liquide incluent les brûlures cryogéniques et l'asphyxie due à l'anoxie.

L'azote, un gaz inerte, se transforme en liquide à -196°C . Il est incolore et inodore et, lorsqu'il se réchauffe, il se transforme rapidement en gaz, pouvant remplacer l'air respirable et augmenter significativement de volume.

Le local destiné à la conservation des gamètes et embryons doit avoir un volume supérieur à 20 m^3 et être exclusivement dédié à cette activité.

Pour garantir la sécurité, le local doit être équipé et sécurisé, notamment avec des dispositifs de surveillance et de contrôle de l'environnement pour prévenir et gérer les risques associés à l'utilisation de l'azote liquide.

Pour assurer une manipulation sûre de l'azote liquide, nécessaire pour la congélation et la conservation des gamètes et d' embryons, plusieurs mesures de sécurité sont mises en place :

1. **Signalisation des Dangers** : Des pictogrammes sont affichés pour informer les utilisateurs des risques associés à l'azote liquide.
2. **Équipements de Protection Individuelle** : Des équipements de sécurité tels que des lunettes, des gants et des chaussures fermées sont mis à disposition pour protéger les utilisateurs.

3. **Affichage des Risques et Procédures** : Les risques liés au taux d'oxygène ambiant et les procédures d'urgence sont clairement indiqués.
4. **Formation et Habilitation du Personnel** : Le personnel manipulant l'azote liquide doit être correctement formé aux gestes d'urgence et habilité pour cette manipulation.
5. **Suivi Métrologique du Matériel Critique** : Le matériel pouvant impacter les résultats, comme les cuves de conservation de gamètes et d'embryons, doit être suivi métrologiquement. Ces cuves doivent être équipées de sondes de température avec des alarmes téléportées pour une surveillance continue.

Ces mesures contribuent à minimiser les risques pour la santé du personnel et à garantir l'intégrité des échantillons conservés.

Pour garantir la sécurité dans un local où l'azote liquide est utilisé, plusieurs équipements et mesures sont nécessaires :

- **Oculus ou Partie Vitrée**: Une fenêtre ou une partie vitrée pour permettre l'observation et la surveillance constantes du local depuis l'extérieur.
- **Ventilation Mécanique Adaptée**: Un système d'extraction et d'entrée d'air neuf, fonctionnant à deux vitesses, avec des maintenances régulières pour assurer un renouvellement efficace de l'air.
- **Appareils de Détection et de Mesure du Taux d'Oxygène**: placé en partie basse du local, pour surveiller en continu le niveau d'oxygène.
- **Alarme Sonore et/ou Visuelle**: Un système d'alarme relié aux

utilisateurs et, si disponible, au poste de sécurité. L'alarme doit se déclencher en cas de baisse du taux d'oxygène en dessous de 19-18 %

- **Appareil Respiratoire Isolant:** Disposer d'un appareil respiratoire isolant à l'extérieur, à proximité de l'entrée, pour une utilisation en cas de besoin.
- **Porte avec Barre Antipanique:** Une porte équipée d'une barre antipanique qui s'ouvre vers l'extérieur, facilitant une évacuation rapide en cas d'urgence.

Ces mesures sont cruciales pour assurer la sécurité des utilisateurs et pour répondre aux risques potentiels liés à l'utilisation de l'azote liquide dans des espaces confinés.

d. Vitrification des ovocytes :

Les premiers travaux sur la technique de vitrification ont débuté dès la fin des années 1980 depuis, ses applications en clinique humaine n'ont cessé de se diversifier grâce aux améliorations techniques régulièrement apportées, à l'origine d'une amélioration constante des résultats.

La technique de vitrification ovocytaire et embryonnaire est ainsi considérée par certains comme étant la «dernière révolution dans le domaine de la biologie de la reproduction»

L'indication de cette technique en routine est surtout réservée aux patientes confrontées à des situations médicales particulières, sans alternative pour préserver leur fertilité.

L'introduction de la technique de vitrification a contribué à élargir les indications pour la cryopréservation ovocytaire.

Bien que récemment certaines étapes de la vitrification aient été automatisées, cette technique reste principalement manuelle et n'est pas encore adoptée en routine.

La vitrification nécessite une courbe d'apprentissage significative en raison de sa nature opérateur-dépendante.

Une pratique régulière est essentielle pour maintenir une haute efficacité. Les équipes expertes en vitrification recommandent souvent de vitrifier environ 200 ovocytes pour maîtriser pleinement la technique.

Pour atteindre un niveau élevé de performance, il est conseillé que l'opérateur pratique la vitrification au moins 3 à 4 fois par semaine.

Cette exigence de compétence et de régularité souligne la complexité et la précision requises pour la vitrification, une technique cruciale dans le domaine de la préservation de la fertilité et de la procréation médicalement assistée.

Pour assurer la qualité et l'efficacité en cryoconservation ovocytaire et embryonnaire, les laboratoires de procréation médicalement assistée (PMA) doivent régulièrement mesurer certains indicateurs de performance.

Selon un consensus édité par un groupe d'experts de l'ESHRE en 2012, ces indicateurs comprennent des seuils spécifiques pour le taux de survie après réchauffement et le taux de fécondation.

Pour la survie ovocytaire post-réchauffement, le seuil de compétence était fixé à $\geq 70\%$ et celui d'excellence à $\geq 85\%$ en intraconjugal, avec un seuil plus élevé ($\geq 95\%$) recommandé pour le don d'ovocytes de donneuses de moins de 30 ans.

Concernant les taux de fécondation, ils ne devraient pas être inférieurs de plus de 10 points par rapport à ceux obtenus avec des ovocytes frais.

Toutefois, compte tenu des avancées dans la technique de vitrification depuis 2012, il est probable que ces seuils aient besoin d'être révisés à la hausse.

Cette révision devrait prendre en compte non seulement le type de dispositif de vitrification utilisé (ouvert ou fermé) mais aussi les conditions et les spécificités propres à chaque laboratoire de PMA. Ces mesures sont cruciales pour maintenir et améliorer continuellement la qualité des traitements de fertilité offerts.

En termes de résultats, le succès de la première naissance issue d'ovocytes vitrifiés en 1999 a initié une ère nouvelle dans la cryoconservation ovocytaire, marquée par l'émergence de multiples études publiant des résultats prometteurs, majoritairement obtenus via le système de vitrification ouvert.

En Espagne, dans le contexte du don d'ovocytes, les résultats ont révélé des taux de survie ovocytaire remarquables de 97 %, avec des taux de fécondation, de blastulation, et de grossesse clinique alignés sur ceux des ovocytes frais.

Ces résultats initiaux ont été ultérieurement corroborés par des études prospectives randomisées, confirmant la robustesse de la technique de vitrification.

En parallèle, l'élaboration de banques d'ovocytes a permis une gestion optimisée et élargie, améliorant substantiellement la prise en charge des patientes en contexte d'infertilité.

La bonne qualité des ovocytes issus de donneuses a été mise en avant pour expliquer les résultats positifs dans le don d'ovocytes.

Rienzi et son équipe ont poursuivi dans cette voie en évaluant la vitrification ovocytaire en intraconjugal par une approche prospective et randomisée, confirmant ainsi l'efficacité transversale de la vitrification, tant dans le don d'ovocytes que dans les traitements intra conjugaux.

Ces avancées, attestant de l'efficacité de la vitrification ovocytaire, ont marqué une avancée majeure en cryobiologie et en PMA, soulignant l'impact considérable de cette technique sur l'amélioration des options de fertilité disponibles pour les patientes.

L'adoption généralisée de la technique, surtout en système ouvert, a conduit à de nombreuses naissances réussies, avec des études rapportant des taux de survie ovocytaire élevés, similaires à ceux obtenus avec des ovocytes frais dans le cadre du don d'ovocytes.

Toutefois, la préoccupation relative au risque théorique de contamination microbienne dans les systèmes ouverts, où les échantillons entrent en contact direct avec l'azote liquide, a orienté certaines équipes vers l'exploration de systèmes fermés.

Bien que les premiers résultats en système fermé aient montré des taux de survie inférieurs à ceux obtenus avec des systèmes ouverts, des améliorations successives ont permis d'égaliser, voire de surpasser, les performances des systèmes ouverts, malgré les possibles répercussions sur les taux de fécondation et la qualité embryonnaire.

Par ailleurs, la comparaison entre les ovocytes frais et vitrifiés demeure controversée. Certains travaux, comme ceux de Cornet-Bartolomé, ont mis en évidence des taux de naissances vivantes plus élevés avec des ovocytes frais.

Néanmoins, cette différence s'estompe lorsqu'on se concentre uniquement sur les ovocytes réchauffés avec un taux de survie de 100 %, suggérant que la méthode d'évaluation joue un rôle crucial dans l'interprétation des résultats.

Ces évolutions et discussions soulignent la complexité et l'évolution dynamique de la vitrification ovocytaire, influençant profondément les pratiques et les choix des techniques de préservation de fertilité .

L'évaluation des impacts à long terme de la vitrification ovocytaire est essentielle, en dépit des données actuelles rassurantes.

Des études comme celles menées par Cobo et ses collaborateurs n'ont pas montré d'augmentation des effets indésirables obstétricaux ou néonataux chez les enfants issus d'ovocytes vitrifiés comparativement à ceux nés de ovocytes frais.

De plus, des recherches récentes indiquent qu'il n'y a pas d'impact négatif sur la croissance et la santé post-néonatale des enfants nés d'ovocytes vitrifiés, et aucun effet délétère n'a été observé sur leur développement mental et physique jusqu'à l'âge de 6 ans.

Cependant, la principale préoccupation concernant les ovocytes vitrifiés réside dans le nombre inférieur d'embryons disponibles pour le transfert, dû à une perte d'ovocytes après le réchauffement.

Malgré cela, la compétence des ovocytes vitrifiés qui survivent au réchauffement est considérée comme équivalente à celle des ovocytes frais, comme l'ont souligné les travaux antérieurs de l'équipe de Chang.

En dépit de ces conclusions positives, il est impératif de continuer à surveiller les effets à long terme de la vitrification ovocytaire, notamment en termes de développement psychomoteur et de réussite scolaire, ainsi que la prévalence de pathologies chroniques chez les enfants issus de cette technique.

Ce suivi à long terme est vital pour comprendre pleinement l'impact de la vitrification ovocytaire sur les générations futures et pour assurer la sécurité et l'efficacité de cette technique dans le domaine de la procréation médicalement assistée.

e. Vitrification des embryons:

Dans le cadre avancé de la vitrification embryonnaire, les protocoles sont adaptés en fonction des besoins cliniques spécifiques et du potentiel de développement embryonnaire.

Pour les cas où le nombre d'ovocytes fécondés est restreint ou en présence d'un historique de développement embryonnaire suboptimal, la vitrification précoce au stade 2PN est souvent privilégiée.

Cette tactique vise à assurer un transfert embryonnaire viable, typiquement au stade clivé, le lendemain ou à J2 post-réchauffement.

Cette stratégie repose sur l'hypothèse que l'environnement utérin in vivo pourrait améliorer le développement d'embryons présentant initialement un faible potentiel, une considération cruciale pour les patientes avec un nombre réduit d'embryons viables.

La pratique de la vitrification s'étend à divers stades embryonnaires : du zygote 2PN aux stades clivés (J2 ou J3), occasionnellement au stade morula, et plus fréquemment au stade blastocyste (J5, J6, et parfois J7).

Les taux de survie post-décongélation des embryons vitrifiés restent exceptionnellement élevés, avoisinant les 95 %, indépendamment du stade de développement lors de la congélation.

Cette efficacité est renforcée par la conservation des taux d'implantation comparables à ceux observés avec les transferts d'embryons frais.

Il est à noter que les premières phases du développement embryonnaire sont particulièrement vulnérables aux variations des conditions de culture in vitro, ce qui souligne l'importance de l'individualisation des approches de vitrification en fonction des profils et des antécédents des patientes.

Les études comparatives entre la congélation/décongélation lente et la vitrification/réchauffement des embryons humains mettent en évidence une supériorité marquée de la vitrification, notamment en termes de taux de survie embryonnaire post-décongélation et de taux de grossesse évolutives (TGE).

Cette amélioration est constante pour les embryons à différents stades de développement, y compris les stades clivés et les blastocystes.

Une méta-analyse spécifique réalisée par Rienzi et collaborateurs a rigoureusement évalué l'efficacité comparative de la vitrification face à la méthode traditionnelle de congélation lente. Dans cette étude, la vitrification a été appliquée à des embryons au stade clivé précoce (J2 ou J3) et à des blastocystes (J5).

Les résultats de cette analyse ont démontré une amélioration significative des taux de naissances vivantes par cycle de PMA en faveur de la

vitrification, avec un risque relatif (RR) de 2,28 (intervalle de confiance à 95 % : 1,17 ; 4,44), atteignant une significativité statistique ($p = 0,016$). Ces résultats viennent corroborer la position de la vitrification comme technique de référence pour la cryoconservation embryonnaire en PMA, offrant des avantages significatifs en termes de survie et de potentiel de développement post-décongélation des embryons.

Dans le contexte spécialisé de la procréation médicalement assistée (PMA), la vitrification au stade blastocyste est considérée comme une stratégie optimale, surpassant les autres stades embryonnaires en termes d'efficacité et de bénéfices cliniques pour les couples. Cette préférence s'appuie sur des fondements embryologiques et cliniques solides.

Le stade blastocyste, atteint après environ cinq jours de culture in vitro, représente un point de sélection naturelle critique, où seuls les embryons les plus robustes et viables parviennent à se développer.

La vitrification à ce stade permet donc une sélection embryonnaire plus précise, favorisant la cryoconservation d'embryons de haute qualité.

Les transferts d'embryons au stade blastocyste affichent des taux d'implantation significativement supérieurs par rapport aux stades clivés précoces, en raison de la meilleure synchronisation entre l'embryon et l'endomètre au moment du transfert.

De plus, la culture prolongée jusqu'au stade blastocyste et la sélection subséquente réduisent le nombre d'embryons nécessitant une cryoconservation, tout en maintenant des chances élevées de réussite.

Cette approche favorise des transferts mono-embryonnaires, stratégie cruciale pour minimiser les risques de grossesses multiples et leurs

complications associées, tout en maximisant les chances de succès par transfert.

Ainsi, dans un contexte de PMA avancé, la vitrification au stade blastocyste est non seulement une méthode de choix pour la cryoconservation embryonnaire mais aussi un outil stratégique pour l'amélioration des résultats cliniques et la réduction des risques pour les patientes.

La cryoconservation des embryons en procréation médicalement assistée (PMA) s'oriente principalement vers deux indications :

1. **Embryons surnuméraires** : La première indication concerne la conservation des embryons excédentaires, non transférés lors du cycle initial, et qui présentent une morphologie suggérant de bonnes chances de réussite après une congélation-décongélation. Cette approche permet de maximiser les chances de naissance sans nécessiter des cycles de stimulation ovarienne supplémentaires.
2. **Stratégie de Freeze All** : La seconde indication majeure est le report du transfert embryonnaire (stratégie dite de "freeze all") pour des raisons médicales contre-indiquant un transfert en frais.

Ces raisons incluent notamment le syndrome d'hyperstimulation ovarienne (SHO) ou une baisse des chances d'implantation, comme en cas de taux élevé de progestérone en fin de stimulation ou un déclenchement de l'ovulation par agoniste de la GnRH.

Bien que ce déclenchement réduise le risque de SHO, il peut altérer la réceptivité endométriale.

La stratégie de freeze all est également envisagée, et encore débattue, pour les femmes normo-répondeuses, afin d'éviter le transfert frais dans le contexte de doses supra-physiologiques d'hormones administrées pour la stimulation ovarienne. La viabilité de cette approche repose sur les taux élevés de survie des embryons post-réchauffement, ce qui permet de considérer le freeze all comme une option viable, malgré les controverses et les nécessités de recherche supplémentaires dans ce domaine.

En plus des indications principales de cryoconservation des embryons en procréation médicalement assistée (PMA), d'autres motivations peuvent être envisagées par certains centres spécialisés :

1. **Préservation de la fertilité** : Certains centres proposent la cryoconservation des embryons pour préserver la fertilité des patientes ayant un projet parental à court terme. Cette approche est particulièrement pertinente en cas de faible réserve ovarienne, avant un traitement potentiellement stérilisant, ou pour les patientes souffrant d'endométriose.
2. **Cumul Embryonnaire** : Cette stratégie vise à accumuler plusieurs embryons issus de différents cycles de stimulation en vue d'augmenter les chances de grossesse, particulièrement pour les patientes avec une réserve ovarienne limitée.
3. **Diagnostic Préimplantatoire (DPI)** : La cryoconservation est également une option pour les embryons ayant subi un DPI pour des pathologies monogéniques ou des aneuploïdies embryonnaires.

Les embryons biopsiés sont conservés en attente des résultats d'analyses génétiques, permettant de sélectionner les embryons sains pour un transfert ultérieur.

Ces indications supplémentaires de cryoconservation démontrent la flexibilité et l'étendue des applications de cette technique dans le domaine de la PMA, offrant des options adaptées aux besoins spécifiques et aux circonstances individuelles des patientes .

Les données récentes de l'Agence de la Biomédecine (ABM) indiquent une progression annuelle significative des décongélations d'embryons, résultant des techniques de congélation lente et de vitrification.

Cette augmentation se chiffre à environ 10 % annuellement, avec une hausse de 9,9 % entre 2017 et 2018, et de 9,7 % entre 2018 et 2019.

Cependant, en 2020, il y a eu une diminution notable de 13,4 % dans les transferts d'embryons congelés (TEC), probablement due à la crise sanitaire du coronavirus et à la suspension temporaire des activités dans les centres de PMA en France lors du premier confinement.

En parallèle, on observe une amélioration des chances de grossesse suite à la décongélation d'embryons, accompagnée d'une baisse du taux de grossesses multiples.

Concrètement, le taux d'accouchement par décongélation a augmenté de 19,2 % en 2017 à 21,8 % en 2020, tandis que le taux de grossesses multiples a diminué de 7,2 % en 2017 à 4,7 % en 2020. De même, entre 2017 et 2020, le pourcentage d'embryons transférés après décongélation a grimpé de 3,8 points (de 87,3 % à 91,1 %), sans augmentation du nombre moyen d'embryons transférés par TEC (maintenu à 1,2 embryon en 2020).

Cette tendance positive s'explique en partie par une amélioration de la survie des embryons après la décongélation, en lien avec l'adoption croissante de la vitrification et de sa meilleure maîtrise.

Ces données reflètent les avancées technologiques et les optimisations dans les pratiques de PMA, qui contribuent à améliorer les issues des traitements pour les couples cherchant à concevoir. En France, la progression annuelle significative des décongelations d'embryons, résultant des techniques de congélation lente et de vitrification.

Cette augmentation se chiffre à environ 10 % annuellement, avec une hausse de 9,9 % entre 2017 et 2018, et de 9,7 % entre 2018 et 2019. Cependant, en 2020, il y a eu une diminution notable de 13,4 % dans les transferts d'embryons congelés (TEC), probablement due à la crise sanitaire du coronavirus et à la suspension temporaire des activités dans les centres de PMA en France lors du premier confinement.

En parallèle, on observe une amélioration des chances de grossesse suite à la décongélation d'embryons, accompagnée d'une baisse du taux de grossesses multiples.

Concrètement, le taux d'accouchement par décongélation a augmenté de 19,2 % en 2017 à 21,8 % en 2020, tandis que le taux de grossesses multiples a diminué de 7,2 % en 2017 à 4,7 % en 2020.

De même, entre 2017 et 2020, le pourcentage d'embryons transférés après décongélation a grimpé de 3,8 points (de 87,3 % à 91,1 %), sans augmentation du nombre moyen d'embryons transférés par TEC (maintenu à 1,2 embryon en 2020).

Cette tendance positive s'explique en partie par une amélioration de la survie des embryons après la décongélation, en lien avec l'adoption croissante de la vitrification et de sa meilleure maîtrise.

Ces données reflètent les avancées technologiques et les optimisations dans les pratiques de PMA, qui contribuent à améliorer les issues des traitements pour les couples cherchant à concevoir.

L'évaluation des blastocystes après réchauffement s'appuie principalement sur deux critères : leur capacité à survivre et à se réexpanser.

Les taux de survie embryonnaire sont évalués en considérant la présence et l'étendue des zones de dégénérescence cellulaire par rapport au volume total de l'embryon, tandis que la réexpansion examine si l'embryon retrouve sa taille et sa forme originales après réchauffement.

Une étude d'Oxford impliquant 2 129 blastocystes réchauffés a révélé que les facteurs tels que les différents kits de vitrification/réchauffement, l'opérateur et la biopsie du trophoctoderme n'influencent pas significativement les taux de survie embryonnaire; Toutefois, un facteur déterminant était la qualité morphologique de l'embryon avant la vitrification.

Les embryons de grade morphologique « médiocre » (AC, CA ou CC selon la classification de Gardner) avaient des taux de survie inférieurs, tout comme les blastocystes qui s'étaient expansés plus tard (J7 comparé à J5 ou J6).

Ces mêmes critères, y compris une morphologie embryonnaire « intermédiaire » (grades AC, CA ou BB), étaient également liés à des taux réduits de réexpansion post-réchauffement.

Ces observations mettent en évidence l'importance de la qualité morphologique initiale des embryons et le timing de leur expansion pour

prédire les issues post-réchauffement.

Dans l'étude mentionnée, plusieurs aspects importants de la vitrification et du réchauffement des blastocystes ont été mis en évidence :

1. Impact des Procédures de Vitrification/Réchauffement Itératives : Les procédures répétées de vitrification et de réchauffement ne semblent pas affecter les taux de survie et d'implantation par rapport aux embryons frais.

La pratique de la double vitrification, d'abord des ovocytes puis des blastocystes obtenus après culture, a été initiée en 2008 .

2. Impact du Hatching Artificiel sur la Survie : Le hatching artificiel (éclosion assistée de la zone pellucide, ZP) avant la vitrification a montré une augmentation des taux de survie des embryons à 99,4 %, supérieurs à ceux observés avec la vitrification de blastocystes expansés sans hatching préalable (97,2 %).

3. Influence de l'Aspect Post-Réchauffement sur les Taux de Naissance : L'aspect des embryons post-réchauffement (qu'ils aient réexpansé ou non, présence ou absence de dégénérescence cellulaire) n'influence pas les taux de naissance après ajustement pour les facteurs confondants.

4. Utilisation de Méthodes Adjuvantes : Des techniques comme le collapsus artificiel des embryons, réalisé avec un laser similaire à celui utilisé pour le hatching artificiel, ont été proposées pour améliorer les taux de survie au stade blastocyste.

Cette méthode entraîne une rétraction artificielle de l'embryon en interrompant les connexions intercellulaires du trophoctoderme, et semble améliorer la viabilité et les taux d'implantation pour les embryons vitrifiés à un stade expansé.

5. Sélection Post-Réchauffement Basée sur la Morphologie et le Jour d'Expansion : La morphologie des blastocystes et le jour de leur expansion avant la vitrification sont des paramètres clés influençant indépendamment le comportement post-vitrification des embryons.

f. Le recours à la MIV (maturation in vitro)

La maturation in vitro (MIV) est une technique de préservation de la fertilité qui implique la collecte d'ovocytes immatures au stade de vésicule germinative issus de follicules antraux.

Les complexes cumulus-ovocytes (CCO) sont recueillis par ponction transvaginale ou abdominale échoguidée, généralement sous sédation, et sont ensuite cultivés pendant 24 à 48 heures pour favoriser la maturation des ovocytes.

Une fois maturés in vitro, ces ovocytes peuvent soit être vitrifiés pour une utilisation ultérieure, soit être fécondés.

Toutefois, cette technique présente des limites. Notamment, le rendement du recueil ovocytaire est variable et peut être aléatoire en raison de la difficulté à ponctionner des follicules de petite taille.

De plus, environ 70 % des ovocytes parviennent à maturer jusqu'au stade métaphase II de la méiose.

Bien que les ovocytes et les embryons obtenus par MIV aient un potentiel de développement légèrement inférieur par rapport à ceux obtenus après une stimulation ovarienne classique, ils peuvent néanmoins mener à des naissances vivantes.

Si le temps avant le début de la chimiothérapie le permet, la réalisation de plusieurs cycles de recueil ovocytaire peut augmenter le nombre d'ovocytes matures obtenus par MIV, optimisant ainsi les chances de préservation de la fertilité.

Cette approche offre une option précieuse pour les patientes qui ne peuvent pas subir une stimulation ovarienne conventionnelle, notamment en raison de contraintes de temps ou de conditions médicales spécifiques.

À l'heure actuelle, les protocoles de maturation in vitro (MIV) ne sont pas standardisés, et diverses molécules et hormones sont en cours d'étude pour améliorer les conditions de culture ovocytaire.

Cette technique est en constante évolution, avec des recherches visant à optimiser la maturation des ovocytes en laboratoire.

B. Congélation du tissu ovarien

La technique de cryoconservation de tissu ovarien, basée sur la préservation des follicules de réserve, est une méthode cruciale pour sauvegarder la fertilité, en particulier chez les patientes prépubères qui n'ont pas d'autres options de préservation de fertilité.

Cette approche implique le prélèvement chirurgical d'un fragment de cortex ovarien, généralement effectué par coéloscopie sous anesthésie générale.

Le tissu ovarien prélevé est ensuite soumis à un processus de

congélation lente.

Les follicules primordiaux et primaires, présents dans le tissu, sont particulièrement résistants au processus de décongélation.

Une fois décongelés, ces follicules peuvent être réimplantés par autogreffe avasculaire, soit en position orthotopique (dans la cavité pelvienne), soit en sites hétérotopiques tels que l'avant-bras ou la paroi abdominale.

Avec plus de 400 naissances réussies suite à la greffe de cortex ovarien, cette technique a dépassé le stade expérimental et est devenue une méthode établie et reconnue pour la préservation de la fertilité.

Elle offre une option précieuse pour les patientes devant subir des traitements pouvant compromettre leur fertilité, notamment des traitements contre le cancer.

La technique de cryoconservation du tissu ovarien présente l'avantage significatif de restaurer la fonction endocrine chez la majorité des patientes qui ont subi une greffe.

Typiquement, la reprise des cycles menstruels est observée entre 60 et 240 jours après la greffe, avec une durée de fonctionnement ovarien pouvant aller jusqu'à 7 ans pour certaines patientes.

Environ deux tiers des patientes parviennent à concevoir spontanément après la greffe, tandis qu'un tiers nécessite une fécondation in vitro (FIV) pour devenir enceintes. Toutefois, il est à noter que les grossesses sont plus rares après des irradiations pelviennes.

La technique permet aussi le prélèvement de tissu ovarien après le début de la chimiothérapie chez certaines patientes atteintes de cancer hématologique qui requièrent un traitement urgent.

Cette démarche vise à minimiser le risque de réimplantation de cellules malignes après la greffe.

Cependant, la sécurité et l'efficacité de ce procédé dans de telles circonstances doivent encore être validées par des études plus larges.

Dans l'ensemble, la cryoconservation et la greffe de tissu ovarien sont des techniques prometteuses pour la préservation de la fertilité, offrant des opportunités de procréation et de restauration hormonale aux patientes dont la fertilité est menacée par des traitements médicaux ou des conditions pathologiques.

C. la transposition ovarienne :

La transposition ovarienne est une technique chirurgicale principalement destinée à préserver la fonction ovarienne endocrine avant une irradiation pelvienne pour des cancers .

Cette méthode est indiquée chez des femmes de moins de 40 ans possédant un utérus fonctionnel, et qui ne sont pas soumises à une chimiothérapie gonadotoxique associée, comme dans le cas du cancer du rectum, du sarcome du bassin ou de l'épendymome.

La procédure, réalisée par cœlioscopie, implique la fixation d'un ou des deux ovaires hors de leur héli-pelvis, à une distance d'au moins 3 cm au-dessus de la limite du champ d'irradiation.

Un clip métallique est placé sur la partie inférieure de l'ovaire pour marquer sa position et faciliter le repérage pendant la radiothérapie.

L'évaluation de l'efficacité de la transposition ovarienne est complexe. Bien que la production hormonale soit généralement restaurée après la procédure, la quantité et la qualité des ovocytes post-transposition peuvent être compromises.

Les grossesses peuvent être obtenues naturellement après le repositionnement des ovaires, ou par FIV avec un prélèvement ovocytaire réalisé par voie transabdominale.

Cette technique offre donc une option pour préserver la fonction endocrine et potentiellement la fertilité chez les femmes devant subir une irradiation pelvienne, tout en reconnaissant les limites et les défis associés à la qualité ovocytaire et aux possibilités de conception post-transposition. La transposition ovarienne, bien que constituant une option pour préserver la fonction ovarienne avant une irradiation pelvienne, présente certaines limitations et risques.

Une complication majeure est l'exposition de l'utérus à la radiothérapie, ce qui peut réduire les chances de grossesse ultérieure.

De plus, diverses complications peuvent être spécifiquement liées à la transposition ovarienne :

1. Défixation de l'ovaire : Il peut y avoir un risque que l'ovaire transposé revienne à sa position initiale ou bouge de sa nouvelle localisation, ce qui pourrait compromettre l'objectif de la procédure.
2. Douleurs Pelviennes Chroniques : Des douleurs continues dans la région pelvienne peuvent survenir après la chirurgie.

3. Infarctus de la Trompe : La trompe de Fallope, si elle est laissée en place, peut subir un infarctus due à une altération de son apport sanguin.
4. Kystes Ovariens : La formation de kystes ovariens est une complication fréquente, survenant chez 30 à 40 % des patientes.

Ces risques doivent être soigneusement évalués et discutés avec les patientes envisageant cette procédure. Les avantages et les inconvénients de la transposition ovarienne, ainsi que d'autres méthodes de préservation de la fertilité féminine.

Ces informations sont essentielles pour éclairer les patientes sur leurs options et les aider à prendre des décisions éclairées concernant la préservation de leur fertilité.

D. Analogues de la GnRH :

Dans le contexte de la chimiothérapie, l'administration d'agonistes de la GnRH (hormone de libération des gonadotrophines) a été étudiée comme moyen de préservation de la fertilité.

Le principe sous-jacent est la mise en repos de l'axe hypothalamo-hypophysaire pour protéger les follicules primordiaux grâce à une réduction des niveaux de FSH (hormone folliculo-stimulante).

Cependant, cette approche est encore considérée comme expérimentale selon les recommandations internationales et suscite des débats dans la communauté médicale.

Une revue systématique incluant trois essais contrôlés randomisés avec un total de 873 patientes a montré que l'utilisation concomitante d'agonistes de la GnRH lors de la chimiothérapie réduit le risque d'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) et augmente les chances de grossesse post-traitement.

Toutefois, il est conseillé d'associer les agonistes de la GnRH à d'autres méthodes de préservation de la fertilité pour optimiser les résultats pour les patientes.

L'intérêt des agonistes de la GnRH semble se limiter principalement à leur efficacité en tant que méthode contraceptive parentérale sans saignements vaginaux, plutôt qu'à une solution systématique de préservation de la fertilité.

Parallèlement, la recherche sur les mécanismes moléculaires de la déplétion folliculaire induite par la chimiothérapie et la radiothérapie progresse, avec l'objectif de développer des stratégies pour protéger la réserve ovarienne.

Plusieurs pistes sont actuellement en cours d'exploration pour identifier des molécules capables de préserver la fertilité pendant et après les traitements anticancéreux.

Cette recherche avancée est cruciale pour l'amélioration future des options de préservation de la fertilité chez les patientes subissant des traitements gonadotoxiques.

IV. Techniques de préservation de fertilité chez l'homme :

A. Cryoconservation des spermatozoïdes

La cryoconservation des spermatozoïdes humains s'appuie sur leur résistance naturelle à la congélation et à la décongélation, grâce à leur cytoplasme réduit et leur faible teneur en eau, contrairement aux cellules embryonnaires, aux ovocytes ou aux cellules souches spermatiques (CSS), qui sont riches en cytoplasme et en eau.

Cryoconservation Conventionnelle des Spermatozoïdes :

1. **Cryoprotecteurs** : Le glycérol est le cryoprotecteur pénétrant le plus couramment utilisé pour la congélation des spermatozoïdes. La composition du milieu de dilution varie et peut inclure un cryoprotecteur non pénétrant.
2. **Additifs** : L'ajout de lait, de fructose ou de jaune d'œuf est proposé pour limiter les altérations membranaires et améliorer la mobilité post-décongélation.
3. **Conditionnement** : Les spermatozoïdes mélangés avec le milieu cryoprotecteur sont conditionnés dans des paillettes en matière synthétique de haute sécurité pour éviter la contamination croisée pendant le stockage.
4. **Processus de Congélation** : La congélation peut être effectuée de manière non contrôlée et lente dans les vapeurs d'azote ou, plus fréquemment, de manière contrôlée et lente à une vitesse moyenne de 10 °C par minute avec un appareil de congélation programmable.
5. **Stockage** : Les paillettes sont stockées dans l'azote liquide.

Objectif : La vitrification des spermatozoïdes a été explorée pour améliorer leur survie post-décongélation, particulièrement pour la conservation de faibles quantités de spermatozoïdes (testiculaires, épididymaires, en cas de cryptozoospermie).

Méthode : La vitrification peut se faire avec ou sans l'utilisation de cryoprotecteurs à haute concentration et implique des vitesses de refroidissement élevées.

Utilisation Pratique : La vitrification des spermatozoïdes n'est actuellement pas largement utilisée en pratique courante.

Ces différentes méthodes offrent des options variées pour la cryoconservation des spermatozoïdes, chacune avec ses avantages et limites, adaptées aux besoins spécifiques des patients en procréation médicalement assistée.

B. Congélation du tissu testiculaire

La congélation du tissu testiculaire est une technique importante pour la préservation de la fertilité, particulièrement chez les hommes présentant une azoospermie.

Elle vise à conserver les cellules souches spermatiques (CSS) extraites du tissu testiculaire. Voici les principales étapes de ce processus :

1. **Procédure :** Le prélèvement peut être uni ou bilatéral et est effectué chirurgicalement, souvent dans le cadre des biopsies testiculaires chez les hommes adultes présentant une azoospermie.
2. **Transport:** Les échantillons biopsiques sont immédiatement placés dans un milieu de transport et maintenus à 4 °C, souvent dans la glace fondante, pour être acheminés rapidement au laboratoire.

3. **Délai** : Il est crucial de transporter le tissu vers le laboratoire pour la congélation dans un délai ne dépassant pas 30 minutes afin de minimiser les risques d'ischémie chaude.

4. **Préparation** : Chaque fragment de tissu est découpé en petits morceaux avant d'être placés dans des cryotubes contenant un milieu cryoprotecteur.

a. Protocoles de Congélation :

Absence de Standardisation : À l'heure actuelle, il n'existe pas de protocole de référence standardisé pour la congélation du tissu testiculaire humain.

Congélation Lente Contrôlée : Le protocole le plus souvent utilisé implique une congélation lente contrôlée avec seeding (initiation contrôlée de la formation de cristaux de glace).

Cryoprotecteurs : Le DMSO (diméthylsulfoxyde), un cryoprotecteur pénétrant, est souvent recommandé et a montré sa supériorité sur l'éthylène glycol. Le sucrose, un cryoprotecteur non pénétrant, est également utilisé dans de nombreux protocoles.

b. Vitrification du Tissu Testiculaire :

Recherche en Cours : Des études récentes explorent la vitrification du tissu testiculaire, bien que cette pratique soit encore limitée à un faible nombre de patients.

Cette approche de congélation du tissu testiculaire offre une option précieuse pour la préservation de la fertilité masculine, en particulier pour les patients azoospermes ou ceux devant subir des traitements médicaux susceptibles d'affecter leur fertilité.

Les recherches continues dans ce domaine visent à optimiser les techniques et les protocoles pour améliorer les chances de succès en matière de préservation et de restauration de la fertilité.

III–les indications de préservation de fertilité :

A. Chez la femme :

Oncologique – medicale non oncologique– societale

a. Oncologique :

L'oncofertilité, qui est la préservation de la fertilité chez les patients atteints de cancer, a gagné en importance grâce à son intégration dans les objectifs du traitement des cancers. La considération de la fertilité post-traitement est devenue essentielle pour la qualité de vie des survivants du cancer, elle est désormais systématiquement prise en compte dans la prise en charge des patients.

Cette évolution marque une reconnaissance importante de l'impact du cancer et de ses traitements sur la fertilité et la vie future des patients.

Au pays développé l'accès à une consultation de préservation de la fertilité se fait chez toute patiente âgée de moins de 40 ans devant recevoir un traitement anticancéreux de type chirurgie, chimiothérapie et/ou radiothérapie et qui fait partie intégrante de la prise en charge du cancer. Les principaux cancers observés chez ces patientes sont le cancer du sein, les hémopathies (leucémies aiguës, lymphomes), les cancers gynécologiques (ovaires, col de l'utérus, endomètre), les cancers colorectaux et les tumeurs solides de l'enfant (neuroblastomes , néphroblastomes, sarcomes).

Le risque d'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) après chimiothérapie dépend de plusieurs facteurs, notamment des molécules de

chimiothérapeutique utilisées et des dosages appliqués. Les chimiothérapies peuvent être classées selon leur niveau de gonadotoxicité, c'est-à-dire leur potentiel de dommage aux gonades.

Par ailleurs, la radiothérapie pelvienne est aussi incriminée dans les dommages au niveau des ovaires surtout les follicules primordiaux .

L'exposition à une dose unique de 2 Grays (Gy) en radiothérapie peut réduire de 50 % la réserve ovarienne.

En plus des effets sur les ovaires, la radiothérapie pelvienne présente des lésions utérines qui se manifestent par une fibrose radio-induite , cela entraîne une hypoperfusion utérine et une atrophie de l'endomètre et du myomètre, qui peut être responsables des échecs d'implantation, de fausses couches (précoces et tardives), des retards de croissance in utero, de morts fœtales in utero et des accouchements prématurés.

b. Médicale :

Non oncologique

La préservation de la fertilité est également envisageable dans le traitement de pathologies non oncologiques. Certaines maladies et leurs traitements peuvent entraîner une insuffisance ovarienne prématurée (PIO).

Par conséquent, la préservation de la fertilité est une option importante à considérer pour ces patients, afin de maintenir la possibilité d'une grossesse future.

Les indications médicales non oncologiques de préservation de la fertilité peut être repartit en

Indications Chirurgicales

- Tumeurs ovariennes bénignes
- Kystes dermoïdes récidivants
- Tératomes
- Ovariectomie bilatérale
- Infectieuse : pelvipéritonite, abcès
- Préventive : mutations BRCA1, BRCA2
- Endométriose avec prise en charge chirurgicale

Indications médicales

- Endométriose
- Insuffisance ovarienne iatrogène
- Maladies auto-immunes nécessitant un traitement immunosuppresseur : lupus érythémateux disséminé, maladie de Gougerot-Sjögren, sclérodermie, vascularites auto-immunes (périartérite noueuse, Wegener, Behçet, Churg et Strauss), glomérulonéphrites, MICI, polyarthrite rhumatoïde –
- Chimiothérapies à fortes doses :

Maladies auto-immunes résistantes aux immunosuppresseurs

Maladies hématologiques : thalassémie, drépanocytose, etc.

- Insuffisance ovarienne génétique : Syndrome de Turner ,Mutation FMR1, FOXL2, GDF9, BMP15 , Galactosémie congénitale
- Insuffisance ovarienne auto-immune
- Insuffisance ovarienne idiopathique
- Dysphorie de genre

c. Sociétale :

Les révisions des lois de bioéthique mondiale a introduit l'option de préservation de la fertilité pour des indications non pathologiques , notamment en réaction aux évolutions sociétales. Cette pratique, principalement la cryoconservation ovocytaire, est envisagée en prévention de la diminution de la fertilité liée à l'âge.

Cette modification légale reflète la tendance croissante à la maternité tardive, due à divers facteurs comme le parcours professionnel prolongé, l'absence de partenaire idéal pour la parentalité, ou les inquiétudes concernant l'impact de la grossesse sur la carrière avant l'âge de 35 ans .

L'âge au moment de la cryopréservation des ovocytes est un facteur clé pour le succès de leur réutilisation ultérieure.

En France, la pratique est autorisée pour les femmes de 29 à 37 ans, visant à minimiser le nombre de cycles de stimulation ovarienne nécessaires pour obtenir un nombre adéquat d'ovocytes. L'accroissement des données sur l'utilisation des ovocytes vitrifiés a facilité le développement de modèles mathématiques prédictifs, estimant la probabilité d'une naissance vivante selon l'âge de la patiente et le nombre d'ovocytes conservés.

Goldman et al. ont conclu que pour obtenir un taux de naissance vivante de 75%, une femme de 34 ans devrait cryoconserver 10 ovocytes, tandis qu'une femme de 37 ans en aurait besoin de 20. Cette technique, bien qu'efficace, engendre des coûts significatifs.

Une étude allemande a évalué différentes stratégies de conception pour les femmes de plus de 40 ans, concluant que la préservation de la fertilité sociétale est plus coûteuse mais offre des taux de naissances plus élevés.

Toutefois, pour les femmes de moins de 35 ans, cette méthode s'avère plus économique par rapport aux patientes plus âgées .

La cryopréservation ovocytaire pourrait réduire le besoin de don d'ovocytes chez les femmes dont la fertilité diminue avec l'âge, simplifiant ainsi leur parcours.

Cependant, cette méthode ne devrait pas être systématiquement encouragée en raison du faible taux de réutilisation des ovocytes.

Pour améliorer la prise en charge des patientes, une meilleure éducation sur la fertilité et ses changements avec l'âge est essentielle. De plus, promouvoir l'égalité professionnelle et changer les perceptions sur la maternité et la carrière pourrait aider les femmes à ne pas retarder inutilement leurs grossesses.

B. Chez l'homme :

Dans le domaine médical, la préservation de la fertilité masculine est une intervention essentielle avant l'administration de traitements gonadotoxiques.

Pour les hommes après la puberté, la congélation de spermatozoïdes est une pratique établie depuis plus de quarante ans.

Pour les garçons pré-pubères, où la récolte de spermatozoïdes n'est pas réalisable, la congélation de tissu testiculaire est une option innovante. Cette technique permet de conserver le potentiel reproductif face à des traitements ou des pathologies susceptibles de compromettre la fertilité.

a. Chez le garçon pré-pubère :

La cryoconservation du tissu testiculaire immature est une technique prometteuse pour la préservation des cellules souches spermatiques (CSS), surtout chez les jeunes patients prépubères ou chez ceux dont la spermatogenèse n'est pas encore établie.

L'objectif est de maintenir la capacité à produire des spermatozoïdes viables à l'avenir.

Cependant, il est crucial d'informer les patients que l'utilisation future du tissu testiculaire cryoconservé est actuellement expérimentale.

Les techniques telles que la spermatogenèse in vitro, la greffe de tissu testiculaire, et la transplantation de cellules germinales sont encore en phase de recherche et n'ont pas été pleinement établies ou validées pour une utilisation clinique standard.

En conséquence, bien que cette approche offre un espoir potentiel, elle doit être considérée avec prudence et dans le contexte d'une compréhension claire de ses limites et de son statut expérimental actuel.

La majorité des conservations de tissu testiculaire se réalise avant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) pour des indications oncologiques telles que les leucémies aiguës, mais également pour des pathologies hématologiques non malignes comme la drépanocytose ou l'aplasie médullaire.

Dans certains cas, cette conservation est également pratiquée avant une autogreffe de CSH dans le traitement de lymphomes ou de tumeurs du système nerveux central.

Ces traitements présentent une toxicité majeure sur les cellules souches spermatiques (CSS), entraînant un risque significatif de stérilité à l'âge adulte.

La conservation de tissu testiculaire avant ces traitements est donc une stratégie clé pour préserver la fertilité future des patients.

b. Chez l'adolescent et l'adulte :

La toxicité des traitements sur les testicules affecte à la fois les fonctions endocrine (synthèse des androgènes) et exocrine (spermatogenèse et production de spermatozoïdes).

L'impact dépend du type de traitement (chimiothérapie, radiothérapie, etc.), de la dose cumulée et de la durée du traitement.

La congélation de spermatozoïdes est possible dès le stade III de Tanner, avec un volume testiculaire supérieur à 5 mL.

Toutefois, pendant la période péri-pubertaire, il y a souvent une immaturité testiculaire, risquant l'oligozoospermie ou l'azoospermie non obstructive.

L'alternative est l'Onco-TESE (biopsie testiculaire avec extraction de spermatozoïdes) suivie de leur congélation, en cas de résultat négatif, la congélation d'une partie du tissu testiculaire peut être envisagée.

L'Onco-TESE est aussi indiquée en cas d'échec de recueil ou d'altérations spermatiques sévères.

La conservation de spermatozoïdes est une mesure préventive essentielle avant l'administration de tout traitement ayant un potentiel toxique pour la spermatogenèse, que ce soit dans le contexte du traitement du cancer ou d'autres affections.

Cette stratégie vise à préserver la fertilité masculine en anticipant les effets négatifs que de tels traitements peuvent avoir sur la capacité de production des spermatozoïdes viables.

En sauvegardant les spermatozoïdes avant le début du traitement, on augmente les chances de fertilité future pour les patients concernés :

1. **La chimiothérapie et certains autres traitements médicamenteux** ont le potentiel de détruire les cellules souches spermatiques (CSS) ou d'altérer le génome des spermatozoïdes, parfois avant même que ces derniers ne soient éliminés dans l'éjaculat.

Ces effets peuvent avoir des conséquences durables sur la fertilité masculine, d'où l'importance de la préservation des spermatozoïdes avant le début de ces traitements.

2. **La radiothérapie**, en particulier lorsque le champ d'irradiation est proche des testicules ou les cible directement, peut avoir une toxicité similaire à celle de la chimiothérapie sur les cellules germinales.

Cette exposition peut entraîner des dommages significatifs aux cellules productrices de spermatozoïdes, affectant ainsi la fertilité masculine.

3. **La chirurgie testiculaire**, nécessaire dans plusieurs contextes tels que le cancer du testicule, les tumeurs bénignes testiculaires, le traitement chirurgical de l'orchi-épididymite, la torsion testiculaire, la cryptorchidie tardive, le traumatisme testiculaire, et la cure de varicocèle, peut affecter la fertilité masculine.

- 4. La chirurgie des voies excrétrices spermatiques**, y compris la vasectomie qui est une méthode de stérilisation, peut également avoir un impact significatif sur la fertilité masculine.

Ces procédures chirurgicales, qu'elles soient effectuées pour des raisons médicales ou de contraception, altèrent le passage normal des spermatozoïdes, pouvant conduire à une infertilité temporaire ou permanente.

La préservation de spermatozoïdes avant de telles interventions peut être une option pour ceux qui pourraient envisager une paternité future.

- 5. Les chirurgies susceptibles de provoquer un dysfonctionnement irréversible de l'érection et de l'éjaculation**, telles que la prostatectomie radicale, certains curages ganglionnaires rétro-péritonéaux, la résection trans-urétrale de la prostate, et les interventions sur le col de la vessie, peuvent sérieusement affecter la fertilité masculine.

Ces interventions peuvent entraîner des conditions telles que l'anéjaculation ou l'éjaculation rétrograde, qui perturbent la capacité de l'homme à éjaculer normalement, impactant ainsi la possibilité de conception naturelle.

Dans de tels cas, la cryoconservation des spermatozoïdes avant l'opération est fortement conseillée pour préserver les options de fertilité du patient.

6. Les anomalies congénitales du testicule, souvent d'origine génétique, peuvent être à l'origine d'altérations spermatiques susceptibles de s'aggraver avec le temps et de mener à une azoospermie non obstructive.

Parmi ces anomalies, on retrouve l'oligozoospermie sévère, le syndrome de Klinefelter, les micro-délétions du chromosome Y, et d'autres pathologies génétiques. Ces pathologies peuvent progressivement réduire la quantité et la qualité des spermatozoïdes produits, augmentant ainsi le risque d'infertilité.

La préservation de spermatozoïdes est donc une option importante à considérer pour les hommes atteints de ces anomalies, afin de maintenir la possibilité d'une future procréation.

V. Enjeux éthiques et légaux :

L'éthique de la conservation de la fertilité dans le contexte de l'Islam doit être considérée à la lumière des principes et des enseignements islamiques. La religion islamique aborde les questions de santé et de reproduction avec des directives spécifiques qui visent à respecter la dignité humaine, la préservation de la famille et la protection de la descendance.

L'Islam accorde une grande importance à la préservation de la lignée et à la procréation. Les traitements de fertilité sont généralement acceptés si le mariage est respecté et que le sperme et les ovules proviennent du couple marié.

La conservation des gamètes ou des embryons est admissible dans certains contextes, particulièrement pour les couples mariés. Cependant, l'utilisation de gamètes ou d'embryons après la dissolution du mariage (divorce ou décès) est un sujet de débat.

Le consentement mutuel du couple est essentiel. Les deux partenaires doivent être pleinement informés et consentir à la procédure.

Les techniques de procréation médicalement assistée, comme l'insémination artificielle et la fécondation in vitro, sont généralement acceptées dans l'Islam, tant qu'elles impliquent les gamètes du couple marié et respectent l'intégrité du lien conjugal.

L'utilisation de donneurs de sperme ou d'ovules en dehors du mariage est considérée comme contraire aux principes islamiques, car elle pourrait mener à une confusion des lignées et à des

En résumé, l'éthique islamique en matière de conservation de la fertilité met l'accent sur la protection de la famille, la clarté des lignées génétiques et le respect des lois islamiques. Comme les interprétations peuvent varier, il est souvent recommandé de consulter des spécialistes en éthique islamique ou des autorités religieuses pour des conseils spécifiques adaptés à chaque situation.

L'adoption de la loi sur la procréation médicalement assistée (PMA) au Maroc en 2019 marque une étape importante dans le domaine de la santé reproductive et de la fertilité dans le pays. Voici les points clés de cette législation :

Promulgation de la Loi : Le Dahir (décret royal) n° 1-19-50 du 4 Rejeb 1440 (11 mars 2019) a promulgué la loi n° 47-14 relative à l'assistance médicale à la procréation.

Conservation des Gamètes pour Raisons Médicales : La loi autorise la conservation des gamètes pour des raisons médicales, dans des circonstances spécifiques.

Elle concerne toute personne subissant un traitement pouvant affecter sa capacité à procréer, se préparant à un tel traitement, ou dont la fertilité risque d'être prématurément altérée.

Procédure de Conservation : La personne souhaitant recourir à la conservation de ses gamètes ou de ses tissus germinaux pour une utilisation ultérieure dans le cadre de la PMA doit faire une demande écrite. Si la personne est mineure ou sous protection légale, la demande doit être rédigée par le représentant légal.

Durée de conservation : La durée de conservation des gamètes est fixée à 5 ans, avec possibilité de renouvellement.

Cette loi représente une avancée significative pour les couples mariés au Maroc cherchant à accéder à la PMA.

Elle offre des options de préservation de la fertilité pour les individus confrontés à des traitements médicaux susceptibles d'altérer leur capacité reproductive, leur permettant ainsi de planifier leur projet parental futur.

En outre, cette législation s'aligne sur les pratiques internationales en matière de santé reproductive, tout en tenant compte des spécificités culturelles et légales du Maroc.

VI. Le côté psychologique :

La psychologie joue un rôle primordial dans la préservation de la fertilité, un domaine où les enjeux émotionnels et psychosociaux sont aussi importants que les aspects médicaux et techniques.

Il faut souligner l'importance d'une approche intégrative qui prend en compte non seulement les aspects biomédicaux, mais aussi les implications psychologiques profondes de la préservation de la fertilité.

Impact Psychologique de l'Infertilité :

L'infertilité est souvent vécue comme une crise personnelle majeure, accompagnée de stress, d'anxiété et de sentiments d'impuissance.

Elle peut déclencher un deuil complexe, non seulement de la perte de la fertilité, mais aussi des espoirs et des attentes liés à la parentalité.

Besoins Psychologiques dans la Préservation de la Fertilité :

La décision de recourir à la préservation de la fertilité peut être source d'espoir, mais aussi de stress et d'anxiété.

Les patients peuvent éprouver de l'incertitude concernant l'efficacité des traitements, le timing optimal pour les utiliser, et les implications à long terme pour leur santé et celle de leurs futurs enfants.

Importance du Soutien Psychologique :

- **Accompagnement Émotionnel :** Un soutien psychologique doit être proposé dès le début du processus de préservation de la fertilité. Cela comprend le conseil individuel, les groupes de soutien et l'assistance dans la prise de décision éclairée.

- Gestion du Stress : Des stratégies pour gérer le stress et l'anxiété, telles que la méditation, la relaxation et la thérapie cognitivo-comportementale, peuvent être bénéfiques.

Considérations Spécifiques :

- Cancer et Préservation de la Fertilité : Chez les patients atteints de cancer, la préservation de la fertilité s'ajoute au stress du diagnostic et du traitement du cancer. Il est crucial d'aborder les préoccupations concernant les risques, le timing et les implications de la fertilité future dans le cadre global de la gestion du cancer.
- Prise de Décision : La prise de décision concernant la préservation de la fertilité peut être complexe et chargée émotionnellement, nécessitant un dialogue ouvert avec les professionnels de la santé.

VII. Conclusion :

En conclusion de ce mémoire sur la préservation de la fertilité, il est essentiel de reconnaître l'importance croissante de cette discipline dans le domaine de la santé reproductive et de la médecine moderne.

Les avancées technologiques en procréation médicalement assistée et les méthodes innovantes de conservation des gamètes et des tissus reproducteurs offrent de nouvelles possibilités pour les individus et les couples confrontés à des défis de fertilité, qu'ils soient d'origine médicale ou liés à des choix de vie.

Ce mémoire a mis en évidence les multiples facettes de la préservation de la fertilité, y compris les aspects médicaux, éthiques, psychosociaux et légaux.

De plus, les considérations éthiques, notamment dans le contexte de cultures et de religions spécifiques, jouent un rôle crucial dans la manière dont les individus et les sociétés perçoivent et abordent la préservation de la fertilité.

Les résultats des études examinées indiquent que, bien que des progrès significatifs aient été réalisés, des défis demeurent; Ces défis incluent la nécessité d'améliorer les techniques de préservation, de comprendre les conséquences à long terme des différentes méthodes, et d'aborder les disparités dans l'accès aux traitements.

Il est également crucial de continuer à explorer l'impact psychologique de la préservation de la fertilité sur les patients et de développer des stratégies de soutien adéquates.

En conclusion, la préservation de la fertilité est un domaine dynamique et en évolution qui nécessite une approche multidisciplinaire pour répondre efficacement aux besoins des patients.

Alors que la science continue de progresser, il est impératif que les considérations éthiques et les implications sociétales soient intégrées dans le développement futur des politiques et des pratiques cliniques.

Les efforts continus de recherche, d'éducation et de sensibilisation sont essentiels pour optimiser les résultats de santé reproductive et soutenir les individus dans leurs parcours de fertilité.

VIII. Reference :

- [1] Vercellini, P., Somigliana, E., Viganò, P., et al., 2009. Surgery for endometriosis-associated infertility: a pragmatic approach. *Hum Reprod* 24 (2), 254-269.
<https://doi.org/10.1093/humrep/den379>.
- [2] Sanchez, A.M., Vigano, P., Somigliana, E., et al., 2014. The distinguishing cellular and molecular features of the endometriotic ovarian cyst: from pathophysiology to the potential endometriomamediated damage to the ovary. *Hum Reprod Update* 20 (2), 217-230. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmt053>.
- [3] Raffi, F., Metwally, M., Amer, S., 2012. The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 97 (9), 3146-3154.
<https://doi.org/10.1210/jc.2012-1558>.
- [4] Bourdon, M., Raad, J., Dahan, Y., et al., 2018. Endometriosis and ART: A prior history of surgery for OMA is associated with a poor ovarian response to hyperstimulation. *PLoS One* 13 (8), e0202399.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202399>.
- [5] de Ziegler, D., Borghese, B., Chapron, C., 2010. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *Lancet* 376 (9742), 730-738. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60490-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60490-4).
- [6] Pocate-Cheriet, K., Santulli, P., Kateb, F., et al., 2020. The follicular fluid metabolome differs according to the endometriosis phenotype. *Reprod Biomed Online* 41 (6), 1023-1037.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.09.002>.

- [7] Giudice, L.C., Telles, T.L., Lobo, S., Kao, L., 2002. The molecular basis for implantation failure in endometriosis: on the road to discovery. *Ann N Y Acad Sci* 955, 252–264. Discussion 293–5, 396–406.
- [8] Kao, L.C., Germeyer, A., Tulac, S., et al., 2003. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 144 (7), 2870–2881. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0043>.
- [9] Xiaoyu, L., Weiyuan, Z., Ping, J., Anxia, W., Liane, Z., 2013. Comparative serum proteomic analysis of adenomyosis using the isobaric tags for relative and absolute quantitation technique. *Fertil Steril* 100 (2), 505–510. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.008>.
- [10] Ota, H., Igarashi, S., Hatazawa, J., Tanaka, T., 1999. Immunohistochemical assessment of superoxide dismutase expression in the endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril* 72 (1), 129–134. <https://doi.org/10.1016/s0015-0282>
- [11] Kitawaki, J., Koshiba, H., Ishihara, H., et al., 2000. Progesterone induction of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 during the secretory phase occurs in the endometrium of estrogen-dependent benign diseases but not in normal endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (9), 3292–3296. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.9.6829>.
- [12] Chen, Y.J., Li, H.Y., Huang, C.H., et al., 2010. Oestrogen-induced epithelial-mesenchymal transition of endometrial epithelial cells contributes to the development of adenomyosis. *J Pathol* 222 (3), 261–270. <https://doi.org/10.1002/path.2761>.

- [13] Somigliana, E., Vigano, P., Benaglia, L., et al., 2012. Adhesion prevention in endometriosis: a neglected critical challenge. *J Minim Invasive Gynecol* 19 (4), 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2012.03.004>.
- [14] Guo, S.W., 2009. Recurrence of endometriosis and its control. *Human Reprod Update* 15 (4), 441–461. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp007>.
- [16] Gandhi, A.R., Carvalho, L.F., Nutter, B., Falcone, T., 2014. Determining the fertility benefit of controlled ovarian hyperstimulation with intrauterine insemination after operative laparoscopy in patients with endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 21 (1), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2013.07.009>.
- [17] Bourdon, M., Santulli, P., de Ziegler, D., et al., 2017. Does GnRH Agonist Triggering Control Painful Symptom Scores During Assisted Reproductive Technology? A Retrospective Study. *Reprod Sci* 24 (9), 1325–1333. <https://doi.org/10.1177/1933719116687659>.
- [18] Bourdon, M., Santulli, P., Maignien, C., et al., 2018. The deferred embryo transfer strategy improves cumulative pregnancy rates in endometriosis-related infertility: A retrospective matched cohort study. *PLoS One* 13 (4), e0194800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194800>.
- [19] Maignien, C., Santulli, P., Gayet, V., et al., 2017. Prognostic factors for assisted reproductive technology in women with endometriosis-related infertility. *Am J Obstet Gynecol* 216 (3), 280.e1–280.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.11.1042>.

- [20] Roustan, A., Perrin, J., Debals-Gonthier, M., et al., 2015. Surgical diminished ovarian reserve after endometrioma cystectomy versus idiopathic DOR: comparison of in vitro fertilization outcome. Hum Reprod 30 (4), 840–847. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev029>
- [21] Somigliana, E., Benaglia, L., Paffoni, A., et al., 2015. Risks of conservative management in women with ovarian endometriomas undergoing IVF. Hum Reprod Update 21 (4), 486–499. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv012>
- [22] Guo, Y.H., Lu, N., Zhang, Y., et al., 2012. Comparative study on the pregnancy outcomes of in vitro fertilization–embryo transfer between long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist combined with transvaginal ultrasound-guided cyst aspiration and long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist alone. Contemp Clin Trials 33 (6), 1206–1210. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2012.07.009> .
- [23] Santulli, P., Bourdon, M., Koutchinsky, S., et al., 2021. Fertility preservation for patients affected by endometriosis should ideally be carried out before surgery. Reprod Biomed Online 43 (5), 853–863. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.08.023> .
- [24] Cobo, A., Giles, J., Paoletti, S., Pellicer, A., Remohí, J., García-Velasco, J.A., 2020. Oocyte vitrification for fertility preservation in women with endometriosis: an observational study. Fertil Steril 113 (4), 836–844. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.11.017> .
- [25] Kushnir, V.A., Kim, A., Gleicher, N., Barad, D.H., 2013. A pilot trial of large versus small diameter needles for oocyte retrieval. Reproductive Biology and Endocrinology 11, 22.

- [26] Bergh, C., Broden, H., Lundin, K., Hamberger, L.,
1998. Comparison of fertilization, cleavage and pregnancy rates of oocytes from large and small follicles. Hum Reprod 13, 1912–1915.
- [27] Dubey, A.K., Wang, H.A., Duffy, P., Penzias, A.S.,
1995. The correlation between follicular measurements, oocyte morphology, and fertilization rates in an in vitro fertilization program. Fertil Steril 64, 787–790.
- [28] Forman, R.G., Robinson, J., Yudkin, P., et al., 1991. What is the true follicular diameter – an assessment of the reproducibility of transvaginal ultrasound monitoring in stimulated cycles. Fertil Steril 56, 989–992.
- [29] Bjercke, S., Tanbo, T., Dale, P.O., Abyholm, T., 2000. Comparison between two hCG-to-oocyte aspiration intervals on the outcome of in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet 17, 319–322.
- [30] Reichman, D.E., Missmer, S.A., Berry, K.F., et al., 2011. Effect of time between human chorionic gonadotropin injection and egg retrieval is age dependent. Fertil Steril 95, 1990–1995.
- [31] Haut Conseil de la santé publique. Procédure de désinfection avant ponction ovocytaire dans le cadre de l'AMP – 28 septembre 2012.
- [32] Tsai, E.T., Lin, M.Y.S., Chen, S.H., et al., 2005.
Vaginal disinfection with povidone iodine immediately before oocyte retrieval is effective in preventing pelvic abscess formation without compromising the outcome of IVF. J Assist Reprod Genet 22.
- [33] Buisman, E.T.I.A., Wang, R.G.H., Bhattacharya, S., et al., 2022. Trends in research on pain relief during oocyte retrieval for IVF/ICSI: a systematic. methodological review Human Reproduction Open 2022 (1), 1–16.

- [34] Hill, M.J., Levens, E.D., 2010. Is there a benefit in follicular flushing in assisted reproductive technology ? *Curr Opin Obstet Gynecol* 22, 208–212.
- [35] Levens, E.D., Whitcomb, B.W., Payson, M.D., Larsen, F.W., 2009. Ovarian follicular flushing among low responding patients undergoing assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 91, 1381–1384.
- [36] Haydardedeoglu, B., Cok, T., Kilicdag, E.B., et al., 2011. In vitro fertilization–intracytoplasmic sperm injection outcomes in single– versus double–lumen oocyte retrieval needles in normally responding patients : a randomized trial. *Fertil Steril* 95, 812–814.
- [37] Georgiou, E.X., Melo, P., Brown, J., Granne, I.E., 2018. Follicular flushing during oocyte retrieval in assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev* 4 (4). CD004634.
- [38] Rongières–Bertrand, C., Olivennes, F., Righini, C., et al., 1999. Revival of the natural cycles in in–vitro fertilization with the use of a new gonadotropin releasing hormone antagonist (Cetrorelix) : a pilot study with minimal stimulation. *Hum Reprod* 14, 683–688.
- [39] Mendez Lozano, D.H., Brum Scheffer, J., Frydman, N., et al., 2008. Optimal reproductive competence of oocytes retrieved through follicular flushing in minimal stimulation IVF. *Reprod Biomed Online* 16, 119–123.
- [40] Von Wolff, M., Hua, Y.Z., Santi, A., et al., 2013. Follicle flushing in monofollicular in vitro fertilization almost doubles the number of transferable embryos. *Acta Obstet Gynecol Scand* 92, 346–348.

- [41] Mok-Lin, E., Brauer, A.A., Schattman, G., et al. 2013. Follicular flushing and in vitro fertilization outcomes in the poorest responders : a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 28, 2990–2995.
- [42] Bhandari, H., Agrawal, R., Weissman, A., et al., 2015. Minimizing the risk of infection and bleeding at trans-vaginal ultrasound-guided ovum pick-up: results of a prospective web-based world-wide survey. *J. Obstet. Gynaecol. India* 65 (6), 389–395.
- [43] Rose, B.I., 2014. Approaches to oocyte retrieval for advanced reproductive technology cycles planning to utilize in vitro maturation: a review of the many choices to be made. *J Assist Reprod Genet* 31 (11), 1409–1419.
- [44] Walls, M.L., Hart, R.J., 2018. In vitro maturation. *Best Pract Res Clinical Obstet Gynaecol* 53, 60–72.
- [45] Bartoov, B., Berkovitz, A., Eltes, F., et al., 2003. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril* 80 (6), 1413–1419.
- [46] Balaban, B., Yakin, K., Alatas, C., et al., 2011. Clinical outcome of intracytoplasmic injection of spermatozoa morphologically selected under high magnification : a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online* 22 (5), 472–476.
- [47] Berkovitz, A., Eltes, F., Paul, M., Adrian, E., Benjamin, B., 2007. The chance of having a healthy normal child following intracytoplasmic morphologically-selected sperm injection (IMSI) treatment is higher compared to conventional IVF-ICSI treatment. *Fertil Steril* 88, S20.

- [48] Setti, A.S., Braga, D.P., Figueira, R.C., Iaconelli, A., Borges, E., 2015. Poor-responder patients do not benefit from intracytoplasmic morphologically selected sperm injection. *J Assist Reprod Genet* 32 (3), 445–450.
- [49] Setti, A.S., Braga, D.P., Figueira, R.C., Iaconelli, A., Borges, E., 2014. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection results in improved clinical outcomes in couples with previous ICSI failures or male factor infertility : a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 183, 96–103.
- [50] Boediono, A., Handayani, N., Sari, H.N., et al., 2021. Morphokinetics of embryos after IMSI versus ICSI in couples with sub-optimal sperm quality: A time lapse study. *Andrologia*. 53 (4), e14002.
- [51] Duranthon, V., Watson, A.J., Lonergan, P., 2008. Preimplantation embryo programming : transcription, epigenetics, and culture environment. *Reproduction* 135 (2), 141–150.
- [52] Blake, D.A., Farquhar, C.M., Johnson, N., Proctor, M., 2007. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev* 17 (4), CD002118.
- [53] Higdon 3rd, H.L., Blackhurst, D.W., Boone, W.R., 2008. Incubator management in an assisted reproductive technology laboratory. *Fertil Steril* 89 (3), 703–710.
- [54] Petersen, B.M., Boel, M., Montag, M., Gardner, D.K., 2016. Development of a generally applicable morphokinetic algorithm capable of predicting the implantation potential of embryos transferred on Day 3. *Hum Reprod*. 31 (10), 2231–2244.

- [55] Balaban, B., Urman, B., Alatas, C., et al., 2002. A comparison of four different techniques of assisted hatching. *Hum Reprod* 17 (5), 1239–1243.
- [56] Lacey, L., Hassan, S., Franik, S., Seif, M.W., Akhtar, M.A., 2021. Assisted hatching on assisted conception (in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI)). *Cochrane Database Syst Rev*. 3 (3), CD001894 .
- [57] Rubio, C., García-Pascual, C.M., Valbuena, D., Simo, C., Department, D, 2019. Embryonic cell-free DNA versus trophoctoderm biopsy for aneuploidy testing: concordance rate and clinical implications. *Fertility and Sterility* 112 (3), 510–519.
- [58] Shapiro, B.S., Daneshmand, S.T., Garner, F.C., et al., 2011. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril* 96 (2), 344–348.
- [59] Chen, Z.J., Shi, Y., Sun, Y., et al., 2016. Fresh versus frozen embryos for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 375 (6), 523–533.
- [60] Van Landuyt, L., Polyzos, N.P., De Munck, N., et al., 2015. A prospective randomized controlled trial investigating the effect of artificial shrinkage (collapse) on the implantation potential of vitrified blastocysts. *Hum Reprod* 30 (11), 2509–2518..

- [61] Cobo, A., Bellver, J., Domingo, J., et al., 2008. New options in assisted reproduction technology: the Cryotop method of oocyte vitrification. *Reprod Biomed Online*. 17 (1), 68–72. Jul.
- [62] Cobo, A., Diaz, C., 2011. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril*. 96 (2), 277–285. Aug.
- [63] Rienzi L, Romano S, Albricci L, et al. Embryo development of fresh « versus » vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling–oocyte study. *Hum Reprod* 2010;25(1):66–73. DOI: 10.1093/humrep/dep346 .
- [64] Paffoni, A., Guarneri, C., Ferrari, S., et al., 2011. Effects of two vitrification protocols on the developmental potential of human mature oocytes. *Reprod Biomed Online*. 22 (3), 292–298. Mar.
- [65] Papatheodorou, A., Vanderzwalmen, P., Panagiotidis, Y., et al., 2013. Open versus closed oocyte vitrification system: a prospective randomized sibling–oocyte study. *Reprod Biomed Online*. 26 (6), 595–602. Jun.
- [66] Pujol, A., Zamora, M.J., Obradors, A., et al., 2019. Comparison of two different oocyte vitrification methods: a prospective, paired study on the same genetic background and stimulation protocol. *Hum Reprod*. 34 (6), 989–997. Jun 4.
- [67] Lopes, V.M., Barguil, J.P., Lacerda, T.S., et al., 2017. An overview of the results of hysterosonography prior to in vitro fertilization. *JBRA Assist Reprod*. 21 (4), 302.

- [68] Kroon, B., Hart, R.J., Wong, B.M., Ford, E., Yazdani, A., 2012. Antibiotics prior to embryo transfer in ART. *Cochrane Database Syst Rev.* 3, CD008995.
- [69] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Performing the embryo transfer: a guideline. *Fertil Steril.* 107 (4), 882–896.
- [70] Yao, Z., Vansteelandt, S., Van der Elst, J., et al., 2009. The efficacy of the embryo transfer catheter in IVF and ICSI is operator-dependent: a randomized clinical trial. *Hum Reprod.* 24 (4), 880–887.
- [71] Strickler, R.C., Christianson, C., Crane, J.P., et al., 1985. Ultrasound guidance for human embryo transfer. *Fertil Steril.* 43 (1), 54–61.
- [72] Teixeira, D.M., Dassunção, L.A., Vieira, C.V.R., et al., 2015. Ultrasound guidance during embryo transfer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 45 (2), 139–148.
- [73] Moreno, V., Balasch, J., Vidal, E., et al., 2004. Air in the transfer catheter does not affect the success of embryo transfer. *Fertil Steril.* 81 (5), 1366–1370.
- [74] Strom, D., Feinberg, E.C., 2022. Embryo transfer –the who, what, when, how, and why does it matter. *Fertil Steril.* 1 nov 118 (5), 813–814.
- [75] Matorras, R., Mendoza, R., Expósito, A., RodriguezEscudero, F., 2004. Influence of the time interval between embryo catheter loading and discharging on the success of IVF. *Hum Reprod.* 19 (9), 2027–2030.

- [76] Pope, C.S., Cook, E.K.D., Arny, M., Novak, A., Grow, D.R., 2004. Influence of embryo transfer depth on in vitro fertilization and embryo transfer outcomes. *Fertil Steril.* 81 (1), 51–58.
- [77] Purcell, K.J., Schembri, M., Telles, T.L., Fujimoto, V.Y.Cedars, M.I., 2007. Bed rest after embryo transfer: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 87 (6), 1322–1326.
- [78] Tremellen, K.P., Valbuena, D., Landeras, J., et al., 2000. The effect of intercourse on pregnancy rates during assisted human reproduction. *Hum Reprod.* 15 (12), 2653–2658.
- [79] Fanchin, R., Righini, C., de Ziegler, D., et al., 2001. Effects of vaginal progesterone administration on uterine contractility at the time of embryo transfer. *Fertil Steril.* 75 (6), 1136–1140.
- [80] Ayoubi, J.M., Fanchin, R., Kaddouz, D., Frydman, R., de Ziegler, D., 2001. Utero Relaxing effects of vaginal progesterone: comparison of two methodologies for assessing uterine contraction frequency on ultrasound scans. *Fertil Steril.* 76 (4), 736–740.
- [81] Le Plan cancer 2014–2019 – Les Plans cancer. Disponible sur : <https://www.e-cancer.fr/Institut-national-du-cancer/Strategie-de-lutte-contre-les-cancers-en-France/Les-Plans-cancer/Le-Plan-cancer-2014-2019>.
- [82] Assi, J., Santos, J., Bonetti, T., et al., 2018. Psychosocial benefits of fertility preservation for young cancer patients. *J Assist Reprod Genet.* 35 (4), 601–606.

- [83] Lambertini, M., Del Mastro, L., Pescio, M.C., et al. 2016. Cancer and fertility preservation : international recommendations from an expert meeting. BMC Med.
- [82] Critchley, H.O., 1999. Factors of importance for implantation and problems after treatment for childhood cancer. Med Pediatr Oncol. 33 (1), 9–14.
- [83] Martinez, F., 2017. International Society for Fertility Preservation–ESHRE–ASRM Expert Working Group. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation ESHRE–ASRM 2015 expert meeting : indications, results and future perspectives. Fertil Steril. 108 (3), 407–415.e11.
- [84] Varlas, V.N., Bors, R.G., Albu, D., et al., 2021. Social Freezing : Pressing Pause on Fertility. Int J Environ Res Public Health. 18 (15), 8088.
- [85] Mesen, T.B., Mersereau, J.E., Kane, J.B., Steiner, A.Z., 2015. Optimal timing for elective egg freezing. Fertil Steril. 103 (6), 1551–1556.e1–4.
- [85] İsrailova, G., Şükür, Y.E., Özkavukcu, S., et al., 2021. Comparison of Oocyte and Embryo Quality Between Random Start and Controlled Ovarian Stimulation Cycles in Cancer Patients Undergoing Fertility Preservation. Reprod Sci. 28 (8), 2200–2207.
- [86] Potdar, N., Gelbaya, T.A., Nardo, L.G., 2014. Oocyte vitrification in the 21st century and post-warming fertility outcomes : a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online. 29 (2), 159–176.

- [87] Letourneau, J., Juarez–Hernandez, F., Wald, K., et al., 2021. Concomitant tamoxifen or letrozole for optimal oocyte yield during fertility preservation for breast cancer : the TAMoxifen or Letrozole in Estrogen Sensitive tumors (TALES) randomized clinical trial. *J Assist Reprod Genet.* 38 (9), 2455–2463.
- [88] Balkenende, E.M.E., Dahhan, T., Beerendonk, C.C.M., et al., 2022. Fertility preservation for women with breast cancer : a multicentre randomized controlled trial on various ovarian stimulation protocols. *Hum Reprod.* 37 (8), 1786–1794.
- [89] Mayeur, A., Puy, V., Windal, V., et al., 2021. Live birth rate after use of cryopreserved oocytes or embryos at the time of cancer diagnosis in female survivors : a retrospective study of ten years of experience. *J Assist Reprod Genet.* 38 (7), 1767–1775.
- [90] De Vos, M., Grynberg, M., Ho, T.M., et al., 2021. Perspectives on the development and future of oocyte IVM in clinical practice. *J Assist Reprod Genet.* 38 (6), 1265–1280.
- [91] Kim, M.K., Lee, D.R., Han, J.E., et al., 2011. Live birth with vitrified–warmed oocytes of a chronic myeloid leukemia patient nine years after allogeneic bone marrow transplantation. *J Assist Reprod Genet.* 28 (12), 1167–1170.
- [92] Da Luz CM, Caetano MA, Berteli TS, Vireque AA, Navarro PA. The Impact of Oocyte Vitrification on Offspring : a Systematic Review. *Reprod Sci* [Internet]. 2022 [cité 11 févr 2022]; Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s43032-022-00868-4> .

- [93] Lambertini, M., Moore, H.C.F., Leonard, R.C.F., et al., 2018. Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists During Chemotherapy for Preservation of Ovarian Function and Fertility in Premenopausal Patients With Early Breast Cancer : A Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Patient-Level Data. *J Clin Oncol.* 36 (19), 1981-1990.
- [94] ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation, Anderson, R.A., Amant, F., et al., 2020. ESHRE guideline : female fertility preservation. *Hum Reprod Open.* 2020 (4), hoaa052.[31] Xiong, J., Xue, L., Li, Y., et al., 2021. THERAPY OF ENDOCRINE DISEASE : Novel protection and treatment strategies for chemotherapy-associated ovarian damage. *Eur J Endocrinol.* 184 (5), R177-R192.
- [95] Dolmans, M.M., von Wolff, M., Poirot, C., et al., 2021. Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women : a review of five leading European centers. *Fertil Steril.* 115 (5), 1102-11
- [96] Wen, L., Tang, F., 2019. Human germline cell development : from the perspective of single-cell sequencing. *Mol. Cell* 76 (2), 320-328. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.08.025> . PMID : 31563431.
- [97] Nakamura, T., Okamoto, I., Sasaki, K., et al., 2016. A developmental coordinate of pluripotency among mice, monkeys and humans. *Nature* 537 (7618), 57-62. <https://doi.org/10.1038/nature19096> . PMID : 27556940.

- [98] Wyns, C., Kanbar, M., Giudice, M.G., Poels, J., 2021. Fertility preservation for prepubertal boys : lessons learned from the past and update on remaining challenges towards clinical translation. Hum Reprod Update 27 (3), 433–459. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa050> . PMID : 33326572.
- [99] Picton, H.M., Wyns, C., Anderson, R.A., et al., 2015. A European perspective on testicular tissue cryopreservation for fertility preservation in prepubertal and adolescent boys. Hum. Reprod. 30 (11), 2463–2475. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev190> . PMID : 26358785.
- [100] Goossens, E., Jahnukainen, K., Mitchell, R.T., et al., 2020. Fertility preservation in boys : recent developments and new insights. Hum Reprod. Open. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa016> .
- [101] Arkoun, B., Dumont, L., Milazzo, J.P., et al., 2015. Retinol improves in vitro differentiation of prepubertal mouse spermatogonial stem cells into sperm during the first wave of spermatogenesis. PloS One. 10 (2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116660>. 25 . e0116660. PMID : 25714609.
- [102] Milazzo, J.P., Vaudreuil, L., Cauliez, B., et al., 2008. Comparison of conditions for cryopreservation of testicular tissue from immature mice. Hum. Reprod. 23 (1), 17–28. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem355>. PMID : 17989070.

- [102] Dumont, L., Arkoun, B., Jumeau, F., et al., 2015. Assessment of the optimal vitrification protocol for prepubertal mice testes leading to successful in vitro production of flagellated spermatozoa. *Andrology*. 3 (3), 611–625. <https://doi.org/10.1111/andr.12042>. PMID : 26013105.
- [103] Wang, P., Suo, L.J., Shang, H., et al., 2014. Differentiation of spermatogonial stem cell-like cells from murine testicular tissue into haploid male germ cells in vitro. *Cytotechnology* 66 (3), 365–372. <https://doi.org/10.1007/s10616-013-9584-0> . PMID : 23728854.
- [104] Trowell, O., 1959. The culture of mature organs in a synthetic medium. *Exp. Cell. Res.* 16 (1), 118–147. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(59\)90201-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(59)90201-0) . PMID : 13639945.
- [105] Steinberger, E., Steinberger, A., Perloff, W.H., 1964. Studies on growth in organ culture of testicular tissue from rats of various ages. *Anat. Rec.* 148, 581–590. <https://doi.org/10.1002/ar.1091480409> . PMID : 14138161