

Dixièmes journées nationales de la FFER (Deauville, 5–7 octobre 2005)

La fragmentation de l'ADN du spermatozoïde : impact en Assistance médicale à la procréation

Impact of sperm DNA fragmentation on ART outcome

P. Guérin ^a, C. Matillon ^b, G. Bleau ^c, R Lévy ^b, Y. Ménézou ^{d,*}

^a École nationale vétérinaire (ENV), 1, rue Bourgelat, 69280 Marcy-L'Étoile, France

^b Service de biologie de la reproduction, hôpital Nord, CHU de Saint-Étienne, 42055 Saint-Étienne, France

^c Département d'obstétrique et gynécologie, centre hospitalier de l'université de Montréal (CHUM), hôpital Saint-Luc, Montréal, Québec, Canada

^d Laboratoire Marcel-Merieux, institut Rhône-Alpin, 1, rue Laborde, 69500 Bron, France

Reçu le 1 juillet 2005 ; accepté le 7 juillet 2005

Disponible sur internet le 30 août 2005

Résumé

Nous avons, dans un premier temps, essayé de déterminer si certains paramètres du spermogramme pouvaient présenter des signes d'appel amenant à tester la fragmentation de l'ADN spermatique (*DNA fragmentation index* DFI). Seule la nécrospermie présente une corrélation très importante avec le DFI ($p < 10^{-4}$). Le pourcentage de fécondation des ovocytes n'est pas altéré par un DFI élevé. Le DFI supérieur à 30 %, classiquement estimé comme seuil limite au-delà duquel la fertilité est très pénalisée, ne diminue pas la formation de blastocystes. Cependant les blastocystes obtenus ont environ trois fois moins de chances de s'implanter que pour un DFI inférieur à 30 %. Aucune grossesse évolutive n'est obtenue lorsque le DFI est supérieur à 45 %. Les antioxydants classiques se sont révélés assez décevants pour réduire la fragmentation de l'ADN spermatique, bien que deux grossesses à terme aient pu être obtenues. D'autres stratégies pour combattre les effets négatifs de la fragmentation de l'ADN du sperme sont discutées.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

We have used the *sperm chromatin structure assay* (SCSA) test in order to determine if correlations can be found between sperm DNA fragmentation and spermogram parameters. Only necrospemia and DNA fragmentation index are strongly correlated ($P < 0.0001$). Neither fertilization rates for ICSI and IVF, nor blastocyst formation rates are impaired by a high DFI. However when the critical DFI $> 30\%$ is reached, the chances of having ongoing pregnancies after blastocyst transfer are reduced by three. Treatments with antioxidants are of limited efficacy even though we obtained 2 deliveries after DFI treatments with such treatments. New strategies in order to improve the pregnancy rates for these peculiar cases of reduced fertility are discussed.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Assistance médicale à la procréation (AMP) ; ADN spermatique, fragmentation ; Nécrospermie ; Blastocyte

Keywords: Assisted Reproductive Techniques (ART); Sperm DNA fragmentation; Necrospemia; Blastocyst

1. Introduction

Au tout début de la fécondation in vitro chez l'Homme, il était admis que la fertilité pouvait être définie comme la capa-

cité du sperme à féconder l'ovocyte et à permettre les premières segmentations embryonnaires : en l'occurrence obtenir un embryon à deux à quatre cellules à 48 heures postinsémination. Il était alors acquis que tous les embryons avaient le même potentiel de développement. Cela alors que l'on savait que le développement préimplantatoire précoce est presque strictement sous influence maternelle, dépendant de la qua-

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : ymenezou@lab-merieux.net (Y. Ménézou).

lité de l'ovocyte à savoir le contenu en protéines et en ARNs messagers dits de « house-keeping ».

Puis un certain nombre d'auteurs [1] a remarqué qu'à une faible qualité du sperme (morphologie, numération et mouvement) était généralement associée une morphologie embryonnaire défectueuse et des pourcentages de grossesses évolutives extrêmement limités. Nous avons pu observer [2] qu'à ces mêmes problèmes spermatiques étaient associés des taux de formations de blastocystes altérés. Depuis, il a été clairement décrit qu'à la faible qualité spermatique pouvaient être associées notamment des anomalies du centrosome affectant la première division, des insuffisances d'activation ovocytaire (liée à la phospholipase-zêta), des anomalies chromosomiques. Plus récemment a été mis en évidence l'impact négatif de la fragmentation de l'ADN spermatique [3–5]. Ces ruptures des brins d'ADN sont normalement réparées, à un niveau physiologique, dans l'ovocyte lors de la fécondation. Au-delà d'un certain seuil, qui dépendra certainement de la qualité de l'ovocyte et bien sûr de l'âge maternel, ces microfractures ne pourront être totalement réparées, ce qui affectera la qualité embryonnaire. Trois techniques sont maintenant reconnues. Le TUNEL : le Bromo deoxyuridyl triphosphate se fixe au niveau des cassures, puis est révélé par un anticorps spécifique fluorescent. La lecture peut alors être réalisée sur lame ou par cytométrie de flux. Le SCSA (*Sperm Chromatin Structure Assay*) qui utilise les capacités métagénétiques de l'acridine ; l'analyse est réalisée par cytométrie de flux. Ces deux tests analysent le niveau de cassure quelle qu'en soit l'origine. Enfin, il faut également mentionner le dosage de 8-oxo-déoxyguanosine qui provient des réactions d'auto-oxydation.

Dans cette étude, nous avons voulu déterminer d'une part s'il existe des signes d'appel amenant à prescrire la détermination du taux de fragmentation et d'autre part si la fragmentation de l'ADN spermatique interfère avec la formation des blastocystes afin d'éventuellement essayer de sélectionner les meilleurs embryons contre cet effet paternel.

2. Patientes et méthodes

L'étude a été réalisée à l'institut Rhône-Alpin pour l'étude de la reproduction humaine. Les 100 patientes entrant dans le protocole de transfert de blastocystes avaient déjà subi au moins deux échecs de transfert embryonnaire aux stades précoces avec des embryons de six à dix –cellules à j3. L'âge des patientes devait être strictement inférieur à 40 ans.

Sur un premier groupe de couples, au moment du recueil du sperme avant FIV–ICSI, une aliquote du sperme était immédiatement congelée dans l'azote liquide pour une analyse ultérieure par *Sperm Chromatin Structure Assay* (SCSA). Dans le but de tester la stabilité et la reproductibilité du dosage, notre dosage SCSA a été également évalué par la méthode du *Terminal Uridine Nick End-Labeling* (TUNEL) assay [6]. Une estimation des paramètres du sperme était réalisée immédiatement après liquéfaction. La limite d'entrée

dans le protocole était le fait qu'il ne devait pas entraîner une réduction des chances des patients du fait d'un nombre trop faible de spermatozoïdes efficaces (spermatozoïdes mobiles en trajets directs). Les pourcentages de fécondation, de formation de blastocystes et de grossesse évolutive ont été analysés. Le test du Chi2 a été utilisé dans une première approche. Quand la significativité a été établie nous avons alors utilisé le test de Spearman.

Pour les taux de grossesses évolutives, nous avons segmenté notre population en deux groupes avec un *cut-off* pour le DFI de 30 %.

3. Résultats

Pour toutes les déterminations, nous avons défini en X le DFI et en Y le paramètre correspondant étudié.

3.1. Paramètres du sperme et DFI

3.1.1. Numération et DFI (exprimé en %)

$$Y = 30,67X + 63,65. \text{ Pas de corrélation : } R^2 = 0,0018.$$

3.1.2. Mobilité et DFI (exprimé en %)

$Y = 0,55X + 0,52$. Il existe une faible corrélation négative entre mobilité et DFI : $R^2 = 0,196$.

3.1.3. Qualité du mouvement (trajets directs) et DFI (exprimé en %)

$$Y = 0,17X + 0,46. \text{ Pas de corrélation : } R^2 = 0,0112.$$

3.1.4. DFI et nécospermie (Fig. 1)

Nous obtenons une droite de régression $Y = 0,777X + 6,26$. La corrélation est significative à 10^{-4} . Dès que la nécospermie atteint un seuil de 30 %, la fragmentation de l'ADN spermatique est également susceptible d'atteindre le seuil de 30 %.

3.2. Paramètres de la FIV–ICSI et DFI

3.2.1. Taux de fécondation et DFI

$$Y = 0,0586X + 0,62. \text{ Pas de corrélation : } R^2 = 0,0008.$$

3.2.2. Formation de blastocystes et DFI

$$Y = 0,047X + 0,28. \text{ Pas de corrélation : } R^2 = 0,0004.$$

3.3. Grossesses évolutives et DFI

Pour 16 des 100 couples en échecs répétés entrant dans le programme, le DFI a été trouvé supérieur à 30 %. Pour le groupe (84 patientes) où le DFI est strictement inférieur à 30 %, le taux de grossesses évolutives a été de 19 % avec un nombre moyen d'embryons par transfert de 1,4. Nous n'avons obtenu qu'une seule grossesse pour les 16 couples (13 ICSI, trois FIV classiques) pour lesquels le DFI a été trouvé supérieur à 30 %. Les groupes sont trop déséquilibrés pour obtenir une significativité.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9329331>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9329331>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)