

Activation assistée des ovocytes, une méthode pour pallier aux échecs de fécondation en ICSI ?

Les progrès technologiques et scientifiques de ces vingt dernières années ont bénéficié à l'évolution de l'Assistance Médicale à la Procréation par l'apparition de nouvelles techniques en routine au laboratoire. Le développement de milieux de culture séquentiels, la culture prolongée des embryons, le Test Génétique Préimplantatoire (PGT-A-SR-M), la maturation des ovocytes In Vitro (MIV), la vitrification et l'imagerie time-lapse en sont l'illustration parfaite.

Plus récemment une nouvelle application, l'Activation Assistée ou Artificielle de l'Ovocyte (AOA) s'est faite une place dans nos pratiques au laboratoire. En référence à un groupe d'experts internationaux (ESHRE et Alpha, 2017) les taux de fécondation pour une FIV classique sont compris entre 60 à 80 % et pour une ICSI entre 60 à 75%. Cependant la réalité est parfois différente et l'injection d'un spermatozoïde en apparence idéal ne garantit pas l'activation et la fécondation de l'ovocyte. En effet, 2 à 3% de l'ensemble des cycles d'ICSI sont en échec de fécondation et 10% en pauci-fécondation (< 30% d'ovocytes fécondés).

L'activation de l'ovocyte est orchestrée par différentes réactions biochimiques qui commencent par la pénétration du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte. Plus précisément, le gamète mâle apporte à l'ovocyte une enzyme appelée phospholipase C zeta (PLC ζ) qui réagit à une

protéine liée à la membrane pour former l'inositol triphosphate (IP $_3$). Cette molécule clé se lie à son tour à ses propres récepteurs qui sont localisés sur la membrane externe du Reticulum Endoplasmique lisse (sER). Il en résulte la libération du Ca $^{2+}$ du sER dans un laps de temps, formant ainsi des oscillations de Ca $^{2+}$ intra cellulaires caractéristiques. De ces pics de Ca $^{2+}$ découle l'activation ovocytaire qui cessent dès l'apparition des Pronuclei, gagent de la fécondation.

Toute absence ou manque d'efficacité de l'une de ces substances cruciales (ex. PLC ζ ou IP $_3$) entrainera automatiquement un changement radical du taux de Ca $^{2+}$ intra cellulaire se traduisant par l'absence ou la réduction des oscillations de Ca $^{2+}$ entraînant les conséquences précédemment évoquées. Cet inconvénient majeur peut être compensé par un apport artificiel de Calcium à l'ovocyte qui permettrait ainsi son activation.

L'AOA peut être obtenue de différentes manières. L'approche la plus évidente serait de réaliser une ICSI plus invasive entraînant une augmentation du ca $^{2+}$ par l'épuisement mécanique du sER mais néanmoins avec une survie ovocytaire désastreuse!

Une alternative serait une concentration des ions Ca $^{2+}$ dans le milieu de culture des ovocytes. Pour permettre au Ca $^{2+}$ extracellulaire une accumulation intracellulaire, il faudrait stimuler les c pores de



Univ.-Prof. Mag. Dr. Thomas Ebner
Hôpital universitaire Linz

la membrane externe de l'ovocyte par des courants directs/ alternatifs électriques (activation électrique de l'ovocyte) ou à l'aide d'une substance chimique.

Parmi les leaders des substances chimiques il y a l'ionomycine et la calcimycine (=A23187) (Heindryckx et al., 2008).

Au début il y eu beaucoup d'animosité autour de la « sécurité » de la procédure de l'AOA et plus précisément sur la nature non-physiologique des substances ionophores. En tout état de cause et qu'on se le dise, les ionophores ne provoquent pas des oscillations physiologiques de Ca $^{2+}$. Le traitement à l'ionophore résulte en une augmentation du Ca $^{2+}$ intracellulaire et une fois ce seuil critique dépassé, le processus de la fécondation s'enclenche. De même les différentes études faites autour de l'ionophore et notam-

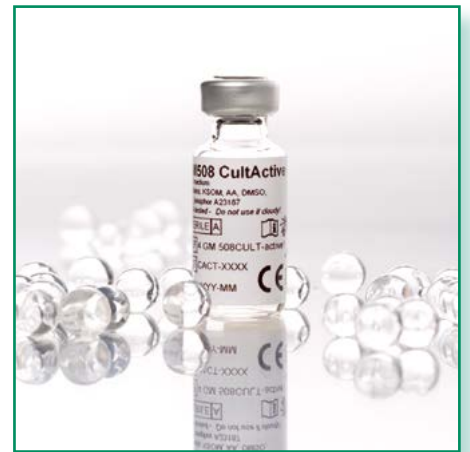
ment dans son application ((Vanden Meerschaut et al., 2014) n'ont pas été convaincantes. Les différences entre le type d'ionophore, leur concentration, le temps d'exposition et/ou le nombre de stimuli ont très largement entravé la standardisation du protocole d'AOA. L'une des premières étapes dans la standardisation de la technique de l'AOA (Ebner et al., 2012; 2015., fût le lancement de la calcimycine prête à l'emploi (GM508 CultActive, Gynemed).

A ce jour, le CultActive est le seul produit d'AOA disponible sur le marché et le nombre d'indications est en constante augmentation. Il s'avère très utile dans les cas d'échecs partiels ou complets de fécondation, représente une alternative pour les spermatozoïdes cryopréservés, les infer-

tilités masculines sévères et pour les retards de développements embryonnaires observés lors d'un précédent cycle de FIV.

Entre temps, on répertorie plus d'une centaine de naissances d'enfants en bonne santé avec l'utilisation du CultActive et autorise à considérer que l'utilisation de la calcimycine prête à l'emploi comme une technique sûre. Cette affirmation s'appuie sur des études de l'expression génétique, des analyses d'erreurs de la ségrégation chromosomique, l'annotation de la morpho-cinétique embryonnaire et le follow-up des enfants nés.

Bien que les taux de réussite et la sécurité de la technique de l'AOA soient rassurants, il ne faut pas perdre de vue que l'utilisation de l'ionophore n'est pas la solution



GM508 CultActive

miracle à tous les échecs de fécondation confondus (ex. si le Ca 2+ n'est pas le facteur causal). Il faut toujours considérer l'AOA et ce à juste titre comme expérimentale et l'employer dans le cadre d'une indication bien posée et où le consentement du patient devrait être obligatoire.

References

- Ebner T, Montag M, Oocyte Activation Group. Live birth after artificial oocyte activation using a ready-to-use ionophore: a prospective multicentre study. *Reprod Biomed Online* 2015; 30: 359-65.
- Ebner T, Köster M, Shebl O, Moser M, Van der Ven H, Tews G, Montag M. Application of a ready-to-use calcium ionophore increases rates of fertilization and pregnancy in severe male factor infertility. *Fertil Steril* 2012; 98: 1432-1437
- ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. 2017 Nov;35(5):494-510.
- Heindryckx B, De Gheselle S, Gerris J, Dhont M, De Sutter P. Efficiency of assisted oocyte activation as a solution for failed intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Biomed Online* 2008; 17: 662-668.
- Vanden Meerschaut F, Nikiforaki D, Heindryckx B, De Sutter P. Assisted oocyte activation following ICSI fertilization failure. *Reprod Biomed Online* 2014; 28,: 560-571.

Présentation du filtre GY-ML13 (HEPA) pour équipement Zandair 100C

Gynemed est heureux de présenter le nouveau filtre Gy-ML13 (exclusivement conçu et produit par Camfil I, Allemagne), permettant une capacité de filtre améliorée pour le système de filtre Zandair 100C.

Le Gy-ML13 s'intègre parfaitement dans le boîtier Zandair 100c et est classifié H13 (selon EN 1822: 2009) qui atteste d'une filtration efficacité d'au moins 99,95% (granulométrie la plus pénétrante). Le matériau du filtre était composé de fibres de verre protégées par une grille intégrées dans un profil en aluminium an-



GY-ML13 Filter



Zandair 100C

odisé. Le nouveau filtre GY-ML13 fait preuve d'une efficacité accrue

en particulier avec des particules plus petites (Fig. 1). Chaque filtre

est testé individuellement et un certificat de test déclarant que la

classification H13 (EN1822: 2009) est incluse.

Pour plus d'informations, veuillez nous contacter directement !

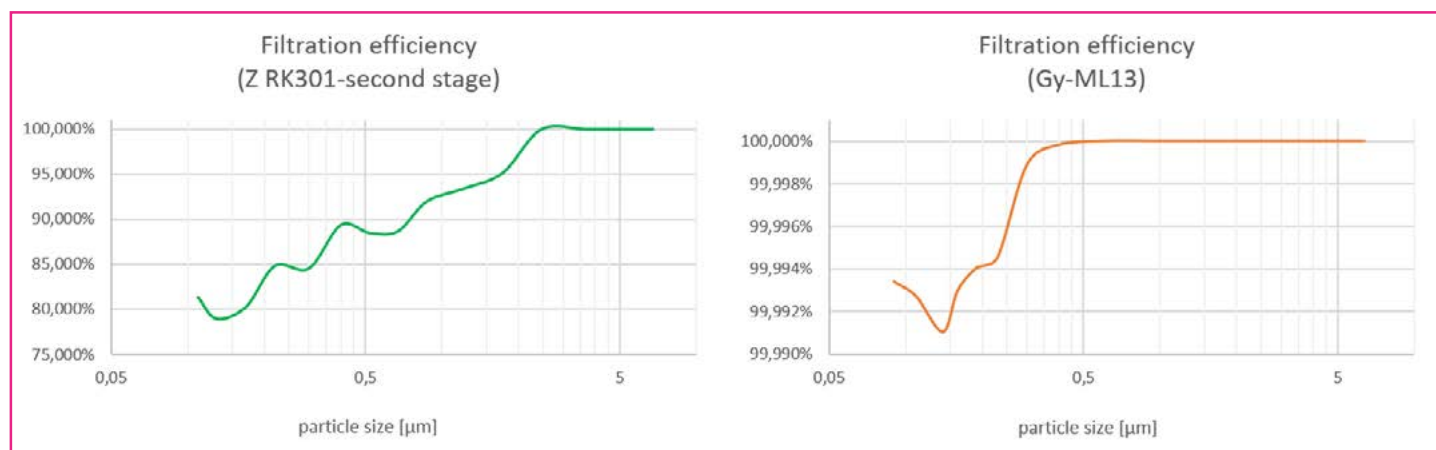


Figure 1: Direct comparison of Filtration efficiency between the Z RK301-second stage and the Gy-ML13 HEPA filter

Micropipettes de maintien, d'injection, de biopsie et d'éclosion de la marque Microtech

En plus de nos propres micropipettes GYNEMED nous pouvons également vous proposer une excellente alternative, les micropipettes Microtech - certifiées CE et testées MEA.

Micropipettes de maintien ou Holding

Les micropipettes de maintien sont utilisées pour la fixation des ovocytes, des embryons ou des blastocystes et sont donc essentiels pour toutes les procédures de micromanipulation en ART comme ICSI, éclosion assistée et globule polaire ou blastomère biopsie. Les micropipettes de maintien sont fabriquées à partir de tubes en verre borosilicaté (diamètre extérieur / diamètre intérieur 1,00 mm, diamètre intérieur / diamètre intérieur 0,75 mm) total longueur 5,50 cm avec longueur du bras 0,9 mm et ouverture polie. Les pipettes sont disponibles avec 3 diamètres extérieurs différents 80 µm (petit),



100 µm (moyen) et 120 µm (grand). Les pipettes de maintien sont disponibles droit (0 °) ou avec un angle de pliage allant de 20 ° à 40 °.

Micropipettes d'ICSI (injection intracytoplasmique de spermatozoïdes / spermatides)

Les micropipettes ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) sont utilisées pour immobiliser et aspirer les spermatozoïdes afin d'injecter directement le spermatozoïde dans le ovocyte. Les micropipettes

ICSI sont fabriquées à partir de tubes en verre borosilicaté (diamètre extérieur 1,00mm/ diamètre intérieur 0,78 mm) longueur totale 5,50 cm avec longueur du bras 0,5 mm, biseautée à 35 ° au bout et I.D. du 4,5-5 µm avec ou sans spike. Les pipettes d' ICSI sont disponibles droites (0 °) ou avec un angle d'injection allant de 20 ° à 40 °. Des micropipettes d' ICSI spéciales Spermatides, plus grandes sont utilisées pour l'aspiration et l'injection de spermatozoïdes immatures directe-

ment dans l'ovocyte. Les micropipettes d' ICSI-Spermatides ont un D.I. 7,00 - 8,00 μm , D.E. 9,00 -10,00 μm à la pointe.

Micropipettes de Hatching ou éclosion assistée ou de collapsing

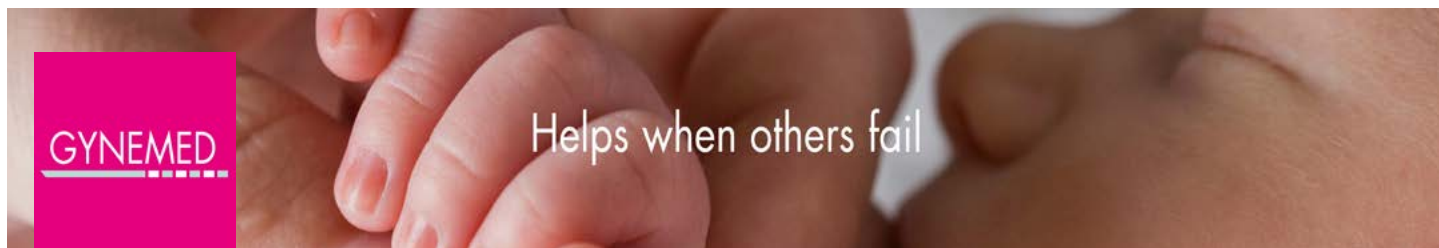
Ces micropipettes sont utilisées pour l'ouverture mécanique de la Zona pellucide des embryons ou des blastocystes en créant une brèche de part et d'autre de la zone pellucide (éclosion assistée mécanique / Partial Zona

Dissection). Elles sont préparées à partir de tiges de verre borosilicaté de diamètre extérieur 1,20 mm, longueur totale 5,50 cm et longueur du bras 2,00 mm avec au bout un cône fin et court (S) ou avec cône fin et long (L), la pointe est acérée. Elles existent droites ou avec un angle de courbure de 20 °, 30 ou 35 °.

Micropipettes de biopsie

Les micropipettes de biopsie sont utilisées pour réaliser des biopsies sur l'embryon (blastocyste) ou

l'ovocyte (globule polaire) pour le Diagnostique génétique pré-implantatoire - DPI. Les micropipettes de biopsie sont préparées à partir de tubes en verre borosilicaté (diamètre extérieur 1,00 mm, diamètre intérieur 0,78 mm) avec une longueur totale de 5,50 cm et 1,0 mm de longueur de bras. Les angles disponibles vont de 20 ° à 45 °. Selon l'utilisation prévue, les micropipettes de biopsie sont disponibles avec l'ouverture rodée (A) ou biseautée à 40 ° et ouverture polie (B) et diamètre intérieur de 10, 15, 20, 30 ou 35 μm .



Helps when others fail

GYNEMED is on



you are welcome to follow us ►

Mentions légales

Directeur de la publication :

GYNEMED GmbH & Co. KG

Téléphone : +49 4363/90329-0 Fax: +49 4363/90329-19 E-mail: info@gynemed.de

Rédaction : Dr. Julia Heinzmann (V.i.S.d.P.)

Mise en page : Julia Biegemann