



**HAL**  
open science

## CD146 en gynécologie obstétrique et en assistance médicale à la procréation

Thomas Laffont

► **To cite this version:**

Thomas Laffont. CD146 en gynécologie obstétrique et en assistance médicale à la procréation. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03707199

**HAL Id: dumas-03707199**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03707199v1>**

Submitted on 28 Jun 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License

## THÈSE D'EXERCICE / DOCTEUR JUNIOR

Phase d'Approfondissement du DES de Biologie Médicale

Soutenue le 17 JUIN 2022

Par M. LAFFONT Thomas,  
Né(e) le 12/10/1994  
À Narbonne

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017  
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de  
Pharmacie

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN  
PHARMACIE

----oOo----

**TITRE : CD146 EN GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE ET EN  
ASSISTANCE MEDICALE À LA PROCREATION**

----oOo----

**JURY :**

Président :

Madame le Professeur Nathalie BARDIN

Membres :

Madame le Docteur Odile LACROIX-PAULMYER : Directrice de thèse

Madame le Docteur Charlotte GROSDIDIER

Monsieur le Docteur Nicolas PEZZOLI

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Chloé SIMON
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC M. François DEVRED
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

### MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE	Mme Odile RIMET-GASPARINI Mme Pascale BARBIER Mme Manon CARRE M. Gilles BREUZARD Mme Alessandra PAGANO
GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE	M. Eric SEREE-PACHA Mme Véronique REY-BOURGAREL
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Pierre REBOUILLON M. Emmanuel CAUTURE Mme Véronique ANDRIEU Mme Marie-Pierre SAVELLI
BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE	M. Jérémy MAGALON Mme Carole SIANI Mme Muriel MASI

### ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS	Mme Angélique GOODWIN
---------	-----------------------

### A.H.U.

PHARMACOTECHNIE	Mme Mélanie VELIER
-----------------	--------------------

### DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

### PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE	M. Jean-Paul BORG
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE Mme Laurence CAMOIN-JAU Mme Florence SABATIER-MALATERRE Mme Nathalie BARDIN M. Romaric LACROIX
MICROBIOLOGIE	M. Jean-Marc ROLAIN M. Philippe COLSON
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Nadine AZAS-KREDER

### MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN Mme Sandra GHAYAD
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU Mme Alexandra WALTON

### A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Amandine BONIFAY
----------------------------	----------------------

### MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE	Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG
---------------------	-----------------------------

### DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

### PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME

## MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOGRAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

## MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

**A.H.U.**

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON M. Vincent NAIL
-----------------------------	------------------------------------

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 13 décembre 2021



**LE DOYEN  
F. DIGNAT-GEORGE**

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »*

# ***REMERCIEMENTS***

**A mes parents,**

Évidemment, je vous dois tout, et les mots manquent pour vous exprimer toute ma gratitude. Maman, ton soutien sans faille depuis toujours, dans mon parcours scolaire, m'a permis d'en arriver là, je te suis tellement reconnaissant, cela aurait été impossible sans ta bienveillance et ta disponibilité, pour toujours me mettre dans les meilleures conditions possibles.

Papa, tu as donné un sens à mon travail, depuis l'école, puisque c'est en te voyant que j'ai voulu faire des études en santé, et ton aide précieuse m'a poussée jusqu'ici, et ce n'est pas fini !

Je vous aime tant.

**A mon frère, Dimitri, et à ma sœur, Ambre,**

Vous voir, si petit, m'a donné cette motivation supplémentaire, de vous montrer l'exemple.

Ces petits moments le week-end étaient un bol d'air pour moi et les études terminées pour moi, bientôt débutantes pour vous, j'ai hâte de vous soutenir et de vous voir grandir.

Je vous aime.

**A la mémoire de mémé, grand-mère et pépé,**

Vous n'êtes plus parmi nous, mais je sais à quel point vous auriez été fiers et heureux de ce moment. Je pense fort à vous.

**Grand-père,**

Tu es un véritable modèle pour moi, par ta gentillesse, ton humilité.

Je suis tellement heureux que tu puisses partager ce moment avec moi.

Je t'embrasse fort.

**Tonton Jean-Claude,**

Tu as été, tout comme mon papa, un moteur dans ma volonté de me lancer dans des études médicales, ta sympathie m'a également toujours fait du bien et cela a toujours été un moment agréable pour moi de te voir.

**A mes oncles et tantes,**

Votre attention constante et sincère sur mon parcours, ainsi que votre affection, m'ont fait beaucoup de bien, j'espère vous avoir rendu fier.

**A mes cousins, cousines,**

Nous avons grandi ensemble, j'ai tellement de bons souvenirs avec vous.

Vous avez toujours été là pour moi.

Je vous aime.

**A mes amis d'enfance narbonnais,**

Les amis, si je devais énumérer tous nos bons souvenirs, du CP jusqu'à la fac, je crois que ce serait plus long que ma thèse. Ces bons moments, m'ont porté et ont été indispensable à ma réussite.

Les romains, Jean Paul, Fabien, Louis, Aubin, Emmanuel, Thomas, Guillaume, nous nous voyons moins avec les impératifs et la dispersion de chacun, mais nos retrouvailles continueront de me ravir !

**A mes amis de fac,**

**Kevin,**

Je ne garderais que d'excellents souvenirs de nos années passées ensemble avant que nos chemins se séparent Mais je sais que l'on gardera contact, et que nous avons encore énormément de choses à faire ensemble.

**Emilio,**

Mon ami, tu as été vraiment une belle rencontre, on n'est jamais déçu de passer un moment avec toi , et je n'ai qu'un regret, c'est de ne pas avoir fait ta connaissance dès le début de la deuxième année.

**Thomas,**

J'ai évidemment une pensée pour toi, car nous avons été binômes pendant trois ans, ton soutien au moment de passer l'internat m'a fait chaud au cœur. A très vite.

**Louis,**

Nous nous sommes suivis depuis le lycée, et nous avons connu ces deux concours difficiles ensemble, je garde d'excellents souvenirs avec toi et j'ai hâte des moments que nous continuerons de partager ensemble.

**A mes co-internes de l'IHU,**

Un premier stage compliqué et hors du temps, je crois qu'on s'en souviendra tous ; Mais beaucoup de liens se sont créés dans ce stage et je garderais le souvenir d'une belle promotion.

**A mes co-internes du PTRR,**

Ce sont jusqu'à présent, mes meilleurs stages, l'atmosphère était très agréable, je n'en garderais que d'excellents souvenirs tant de vous.

**Antoine,**

Heureusement que tu étais là pour ces années internat mon ami !

On aura vraiment des souvenirs en commun dont on reparlera encore et encore pour se remémorer le bon vieux temps ! Je sais que de près ou de loin nous travaillerons ensemble, et le meilleur est à venir.

**A mon jury de thèse,**

**Professeur Bardin,**

C'est un honneur pour moi de vous avoir à la tête de mon jury.

J'ai pu découvrir tout au long de ce travail un potentiel marqueur liant l'immunologie et l'AMP dont vous êtes spécialiste, et j'espère l'utiliser un jour en routine.

Même si je ne suis pas directement passé dans votre service, j'ai pu acquérir des précieuses bases en immunologie pour l'avenir lors des ateliers. Je vous remercie encore pour votre présence.

**Odile,**

J'ai eu beaucoup de chance de t'avoir à mes côtés, tu as pris beaucoup de temps pour me former en AMP, et pour encadrer ma thèse.

Je te suis extrêmement reconnaissant pour toute la bienveillance dont tu as fait preuve.

**Charlotte,**

Je ne me voyais pas mon jury sans ta présence, tant les deux stages que j'ai passé au PTRR se sont bien passés. J'ai vraiment apprécié ces deux périodes de 6 mois tant au niveau de la formation que des bonnes relations que nous avons tous ensemble. Merci pour ta présence.

**Nicolas,**

Comme je l'ai dit avec Charlotte, j'ai particulièrement apprécié mes stages au PTRR, travailler avec vous et vos équipes m'a fait prendre conscience à quel point une atmosphère agréable et bienveillante au travail était importante, et ayant cela à l'esprit, mes décisions pour mon avenir professionnel seront bien moins difficiles à prendre. Je suis honoré par votre présence.

# Table des matières

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>LA REPRODUCTION .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1</b>	<b>Physiologie de la reproduction .....</b>	<b>8</b>
2.1.1	Gamètes et gamétogenèse .....	8
2.1.1.1	Spermatozoïde et spermatogenèse (3) (4).....	8
2.1.1.2	Ovocytes, ovogenèse et folliculogenèse (3) (5) .....	10
2.1.2	Cycle menstruel (3)(6) .....	14
2.1.3	La fécondation et les premiers stades du développement embryonnaire.....	18
2.1.3.1	Transit des spermatozoïdes dans les voies génitales féminines(5) (7) (8) .....	18
2.1.3.2	La fécondation (3) (5).....	19
2.1.3.3	Développement embryonnaire préimplantatoire (3) (5) .....	21
2.1.4	L'implantation.....	23
2.1.5	Développement du placenta : placentation(3)(9).....	25
2.1.5.1	Formation du placenta .....	25
2.1.5.2	Les principales fonctions placentaires .....	29
<b>2.2</b>	<b>Les pathologies obstétricales (20) .....</b>	<b>31</b>
2.2.1	Pertes fœtales .....	31
2.2.1.1	Les fausses couches spontanées (FCS) (20) .....	31
2.2.1.2	La mort fœtale in utero .....	36
2.2.2	Prééclampsie .....	36
2.2.2.1	Définition.....	36
2.2.2.2	Physiopathologie.....	37
2.2.2.3	Tableau clinique.....	38
2.2.2.4	Complications maternelles.....	38
2.2.2.5	Complications fœtales .....	39
<b>3</b>	<b>L'ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION : LA FECONDATION IN VITRO (FIV) .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1</b>	<b>Définition .....</b>	<b>41</b>
<b>3.2</b>	<b>Étapes .....</b>	<b>41</b>
<b>3.3</b>	<b>Taux de réussite (43)(44) .....</b>	<b>44</b>
<b>3.4</b>	<b>Échecs d'implantation.....</b>	<b>45</b>
<b>4</b>	<b>CD146 .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1</b>	<b>Structure de CD146.....</b>	<b>48</b>
<b>4.2</b>	<b>Isoformes de CD146 .....</b>	<b>49</b>
4.2.1	Formes membranaires .....	49
4.2.2	Forme soluble.....	50
<b>4.3</b>	<b>Partenaires et voies de signalisation .....</b>	<b>51</b>
<b>4.4</b>	<b>Localisation de CD146 .....</b>	<b>52</b>
<b>4.5</b>	<b>Fonctions de CD146 .....</b>	<b>55</b>

<b>4.6</b>	<b>Implication de CD146/CD146s en gynécologie obstétrique et en reproduction .....</b>	<b>59</b>
4.6.1	Rôle dans l'invasion trophoblastique .....	60
4.6.2	Rôle dans l'implantation embryonnaire .....	61
4.6.3	Rôle en pathologie obstétricale : prééclampsie et pertes fœtales.....	64
<b>5</b>	<b><i>INTERÊT DE CD146/CD146s EN AMP .....</i></b>	<b>67</b>
<b>5.1</b>	<b>Problématique.....</b>	<b>68</b>
<b>5.2</b>	<b>Apport de CD146 en AMP .....</b>	<b>70</b>
<b>6</b>	<b><i>CONCLUSION .....</i></b>	<b>74</b>
<b>7</b>	<b><i>ANNEXES .....</i></b>	<b>76</b>
<b>8</b>	<b><i>BIBLIOGRAPHIE.....</i></b>	<b>80</b>

# ***ABBREVIATIONS***

AMP : Assistance médicale à la procréation  
FIV : Fécondation in vitro  
ICSI : Intra cytoplasmic sperm injection  
NK : Natural killer  
PN : Pronuclei  
HCG: Hormone chorionique gonadotrophique  
LH : Luteizing hormone  
FSH : Follicle stimulating hormone  
ST: Syncytiotrophoblaste  
CT: Cytotrophoblaste  
SA: Semaine d'aménorrhée  
CD : Cluster differentiation  
CD146s : CD146 soluble  
ECPR : Recepteur endothélial de la protéine C  
TFPI : Inhibiteur voie facteur tissulaire  
RCIU : Retard croissance intra utérin  
CIVD : Coagulation vasculaire intra disséminée  
HLA : Human leukocyte antigen  
FC : Fausse couche  
FCS : Fausse couche spontanée  
NGS : Next generation sequencing  
DPI : Diagnostic génétique préimplantatoire  
eSET : Elective single embryo transfert (Transfert électif d'un seul embryon)

# ***1 INTRODUCTION***

Véritable problème de santé publique, l'infertilité concerne 15 à 25% des couples selon une étude de l'observatoire épidémiologique de la fertilité en France. Le recours à l'assistance médicale à la procréation (AMP) ne cesse et ne cessera d'augmenter.

Les équipes médicales des centres d'AMP cherchent en permanence à améliorer et optimiser les techniques d'AMP telles que l'insémination intra utérine (IIU) ou les techniques de fécondation in vitro (FIV).

Depuis de nombreuses années, l'évaluation de la qualité de l'embryon se fait par l'analyse de critères morphologiques (fragmentation, présence de vacuoles, homogénéité des cellules...) basées sur des classifications permettant de statuer sur la qualité du ou des embryons à transférer. Cette analyse morphologique est faite par des biologistes médicaux, et des systèmes d'imagerie accélérée se sont développés récemment afin d'optimiser l'analyse morphologique faite par le biologiste médical (Time lapse notamment).

Les stratégies de transfert embryonnaire sont de plus en plus orientées sur le transfert d'embryon unique, afin de limiter le risque de complication liée aux grossesses multiples (1). Afin d'augmenter les chances de succès des tentatives d'AMP, cette stratégie de transfert d'un embryon unique nécessite la découverte de nouveaux marqueurs, complémentaires à l'analyse morphologique classique, de préférence non invasifs.

Dans le cadre d'un projet commun avec les équipes des laboratoires du centre cardiovasculaire et nutrition (C2VN), d'Immunologie et d'AMP, l'intérêt d'une molécule d'adhésion, le CD146, a été montré en fécondation *in vitro* comme marqueur sélectionnant des embryons possédant le meilleur potentiel implantatoire.(2)

Dans ce travail, nous avons réalisé une revue bibliographique sur le CD146 en nous focalisant sur son aspect « grossesse et reproduction ».

Ce travail faisant l'objet de ma thèse, sera suivi d'un mémoire ayant pour but d'étudier l'expression de CD146 sur les gamètes mâles.

*2 LA*

***REPRODUCTION***

## 2.1 Physiologie de la reproduction

### 2.1.1 Gamètes et gamétogenèse

#### 2.1.1.1 Spermatozoïde et spermatogenèse (3) (4)

- Le spermatozoïde

Il s'agit d'une cellule hautement différenciée, mobile, qui transporte le génome haploïde paternel jusqu'à l'ovocyte lors de la fécondation.

Le spermatozoïde mesure entre 55 et 65 microns de longueur, et comporte 3 parties : la tête incluant l'acrosome et le noyau, le flagelle qui confère la mobilité aux spermatozoïdes et la pièce intermédiaire qui relie la tête au flagelle.

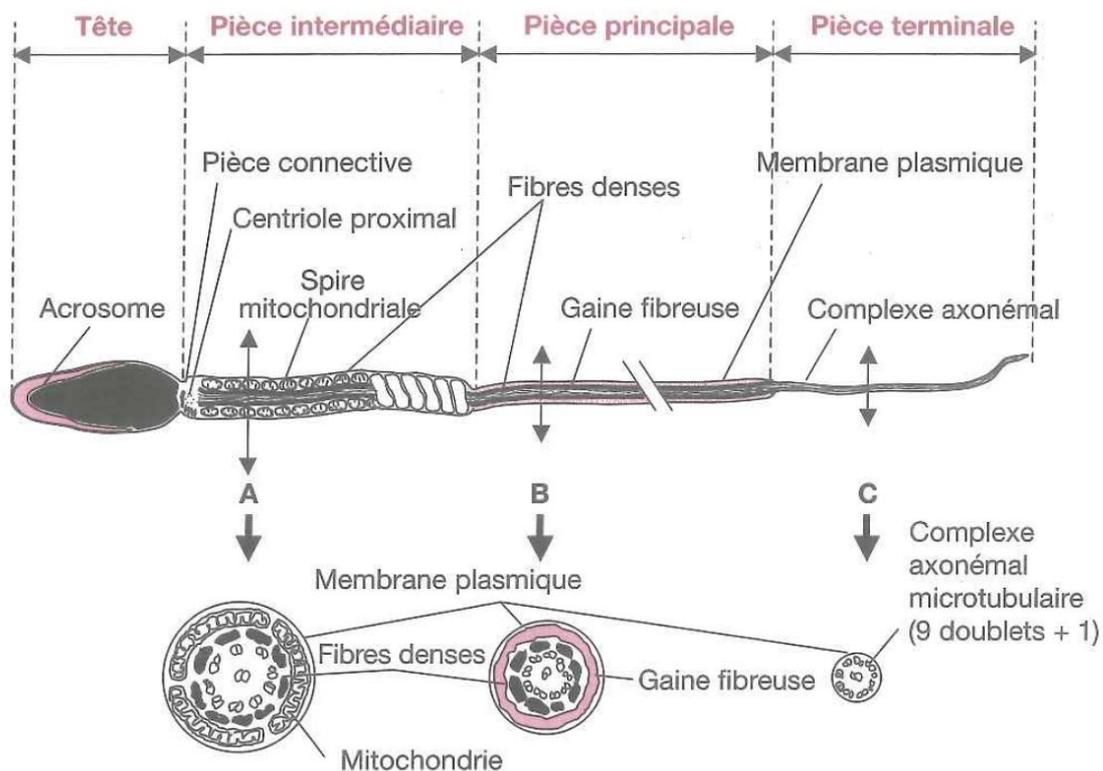


FIGURE 1- Schéma d'un spermatozoïde (3)

- La spermatogenèse

Elle correspond aux différents événements qui permettent à la cellule germinale initiale diploïde (spermatogonie souche) de donner naissance à une cellule haploïde de fonction spécialisée, le spermatozoïde, qui est le gamète mature mâle.

Elle se déroule dans les testicules, au sein des tubes séminifères, de la puberté jusqu'à un âge très avancé.

Elle comprend plusieurs étapes :

- Phase de multiplication des spermatogonies par mitose somatique, assurant le maintien d'un pool suffisant de spermatogonies souches.
- Phase de différenciation des spermatogonies en spermatocytes I qui entrent en méiose : ils subissent la première division méiotique pour donner les spermatocytes II. Les spermatocytes II vont connaître la deuxième division méiotique et donneront les spermatides, cellules haploïdes.
- Différenciation des spermatides en spermatozoïdes : c'est la spermiogénèse. Ce processus complexe implique des modifications morphologiques au niveau du cytoplasme (formation du flagelle et de l'acrosome qui va contenir des enzymes protéolytiques permettant aux spermatozoïdes l'interaction avec l'ovocyte) et nucléaire (compaction de la chromatine).
- En dernier lieu, la spermiation permet la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère.

La spermatogenèse dure 74 jours, et permet d'obtenir 16 spermatides haploïdes à partir d'une spermatogonie, à l'issue de divisions mitotiques et méiotiques.

Le spermatozoïde est non fécondant et immobile lorsqu'il sort des tubes séminifères, son pouvoir fécondant sera acquis par maturation fonctionnelle lors de son trajet dans les voies génitales masculines puis féminines.

- Le sperme

Le sperme éjaculé est constitué par une suspension de spermatozoïdes, mobiles ou non, et de cellules rondes, dans un liquide, appelé plasma séminal. Celui-ci résulte du mélange de différentes sécrétions : environ 5% du volume de l'éjaculat provient des sécrétions épидидymo-testiculaires, 5% des glandes de Cowper, 30% des sécrétions prostatiques et 60% des vésicules séminales

### 2.1.1.2 Ovocytes, ovogenèse et folliculogenèse (3) (5)

- Ovocytes et ovules

L'ovule (ovocyte mature, fécondable) est le gamète féminin. C'est une cellule haploïde obtenue à la suite de deux phénomènes étroitement liés, l'ovogenèse et la folliculogenèse, se déroulant au niveau de l'ovaire.

- Ovogenèse

L'ovogenèse est le processus biologique qui entraîne la transformation progressive de la cellule germinale initiale ou ovogonie (cellule diploïde), en une cellule germinale différenciée, l'ovule (cellule haploïde), prêt à être fécondé.

Ce processus, discontinu, débute lors de la 9<sup>ème</sup> semaine de la vie embryonnaire puis s'interrompt peu avant la naissance et reprendra au moment de l'ovulation pendant une période qui s'étend de la puberté jusqu'à la ménopause. La durée de l'ovogenèse sera donc différente pour chaque ovocyte en fonction du moment où se produira son ovulation.

Lors de la période prénatale, les ovogonies vont se multiplier puis débiter la première division méiotique qui sera bloquée au stade diplotène en prophase I (ovocyte I).

La reprise de la méiose n'aura lieu qu'à partir de la puberté, durant la période qui précède l'ovulation.

De la puberté à la ménopause, l'ovogenèse est étroitement liée à la folliculogénèse et se divise en deux parties :

- Une phase de croissance pendant laquelle le développement de l'ovocyte se déroule parallèlement à celui du follicule. Durant cette période le cytoplasme de l'ovocyte accumule des réserves et subit une forte augmentation de volume. Son noyau, que l'on appelle la vésicule germinative, est toujours bloqué au stade diplotène, en prophase de première division méiotique (ovocyte I).
- Une phase de maturation déclenchée par le pic ovulatoire de LH. La maturation est nucléaire avec la reprise de la méiose jusqu'au stade de métaphase de la deuxième division méiotique (ovocyte II) et émission du premier globule polaire. Cette maturation touche aussi le cytoplasme qui subit des modifications en vue d'une éventuelle fécondation. L'ovogenèse ne s'achève, avec la reprise de la méiose et émission du deuxième globule polaire, que si l'ovocyte est fécondé par un spermatozoïde.

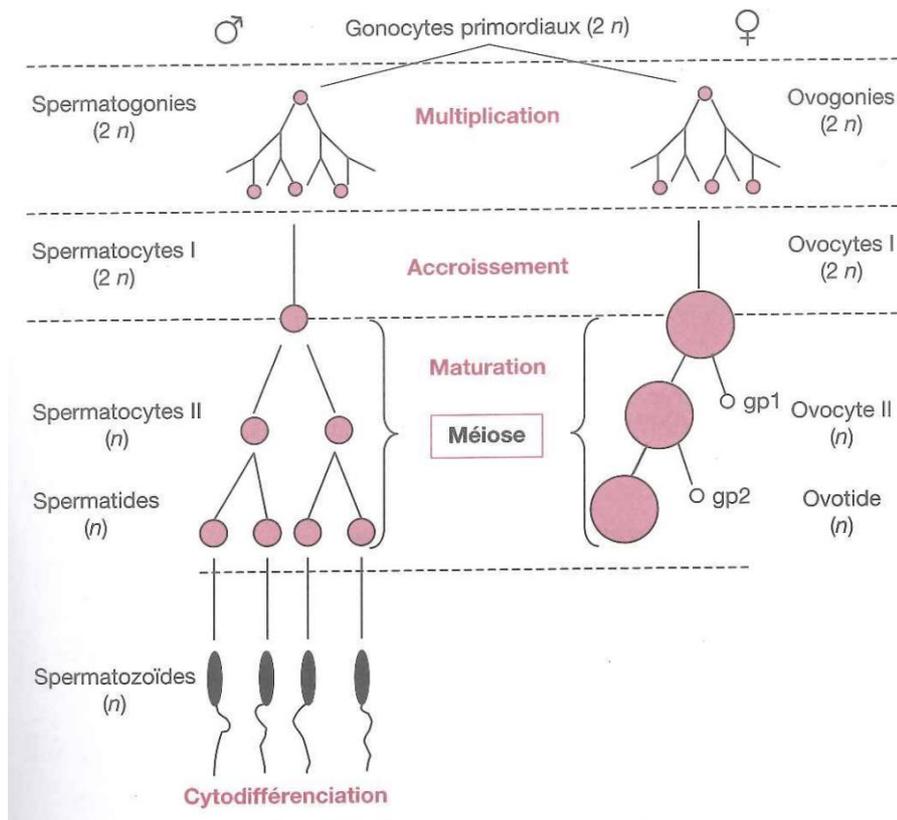


FIGURE 2- Spermatogénèse et Ovogenèse (3)

- La folliculogénèse

La folliculogénèse est l'ensemble des processus par lesquels un follicule primordial se développe pour donner un follicule mûr, ovulatoire. Seuls 1/1000 des follicules primordiaux atteindront ce stade. Les autres évolueront vers l'atrésie. Vers le 7<sup>ième</sup> mois de la vie embryonnaire l'ovaire contient un stock définitif de plusieurs millions de follicules primordiaux qui s'épuisera ensuite de manière progressive jusqu'à la ménopause.

Les follicules grandissent d'abord par la multiplication des cellules folliculaires péri-ovocytaires qui forment progressivement un tapis appelé granulosa. Les follicules primordiaux deviennent primaires puis secondaires. Ceci se produit pendant toute l'enfance et la période pré-pubertaire.

A partir de la puberté, certains follicules secondaires continueront leur évolution et atteindront le stade de follicule tertiaire (ou antral), passant d'un diamètre de 20 à 200 microns. Au stade de follicule tertiaire, une cavité (antrum) remplie de liquide folliculaire se forme au centre du follicule. L'ovocyte est entouré de plusieurs couches cellulaires qui sont de l'intérieur vers l'extérieur : la granulosa, la thèque interne qui secrète des hormones stéroïdes, et la thèque externe qui est une couche fibreuse. A partir de ce stade, les follicules synthétisent des estrogènes. Parmi ces follicules antraux, un seul sera sélectionné et permettra la formation d'un follicule mûr (ou de De Graaf). Celui-ci est caractérisé par une cavité liquidienne volumineuse et mesure environ 20 mm de diamètre. Au terme de sa croissance, le follicule mûr réagit à une décharge d'hormones gonadotropes (FSH et LH) par d'importantes transformations aboutissant à la rupture folliculaire qui va permettre la libération de l'ovocyte fécondable dans la trompe au moment de l'ovulation. Ainsi, de la puberté à la ménopause, 1 un follicule mûr se forme à chaque cycle.

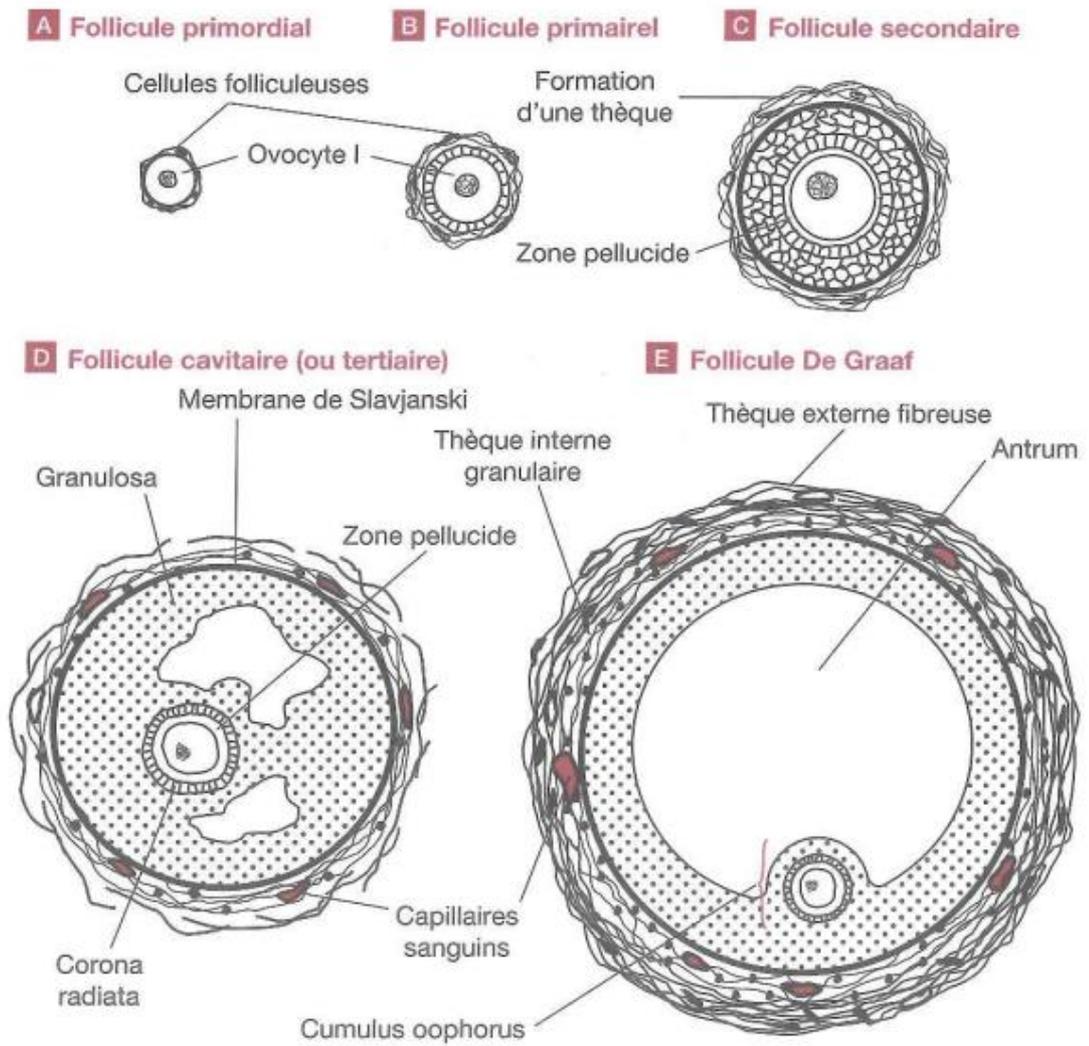


FIGURE 3- Structure des différents follicules (3)

La folliculogénèse est soumise à une régulation hormonale, par des hormones gonadotropes de l'axe hypothalamo-hypophysaire, FSH et LH, qui sont-elles mêmes régulées par la sécrétion hypothalamique pulsatile de GnRH ainsi que les hormones ovariennes sécrétées par les cellules folliculaires.

## 2.1.2 Cycle menstruel (3)(6)

De la puberté à la ménopause, l'ovaire présente une activité cyclique, responsable du cycle menstruel. Le cycle menstruel dure en général 28 jours. Ce cycle menstruel est sous contrôle hormonal.

Durant ce cycle, on distingue :

- Le **cycle ovarien** comportant 2 phases de 14 jours :
  - La première est la **phase folliculaire (J1-J14)**, correspondant à la croissance des follicules jusqu'au stade de follicule mûr ; les follicules en croissance synthétisent les estrogènes.  
A J14, l'ovulation se produit sous l'effet du pic de LH, permettant la fin de la maturation ovocytaire et la reprise de la méiose (ovocyte II) puis la libération de l'ovocyte mature dans la trompe à partir du follicule mûr ;
  - La deuxième est la **phase lutéale (J15-J28)** correspondant à la formation du corps jaune après l'ovulation. Le corps jaune synthétise estrogènes et progestérone.  
En l'absence de fécondation, le corps jaune régresse en 9 à 11 jours après l'ovulation. En cas de grossesse, il persiste et se transforme en corps jaune gravidique.

- **Le cycle utérin**

Durant le cycle menstruel, sous l'action des hormones ovariennes (œstrogènes synthétisés par les follicules en croissance puis par le corps jaune ; progestérone synthétisée par le corps jaune), la muqueuse utérine se modifie : C'est le cycle utérin, durant lequel on observe les 3 phases suivantes :

- La **phase de desquamation entre J1 et J4 du cycle** : c'est la période des règles. Elle est due à une chute brutale des taux d'œstrogènes et de progestérone due à la dégénérescence du corps jaune. Ceci provoque une ischémie due aux contractions rythmiques des artérioles, entraînant une nécrose hémorragique de la zone fonctionnelle de l'endomètre, responsable de la menstruation. Il ne reste plus que la zone résiduelle, épaisse d'environ 0,5 mm, avec quelques culs de sac glandulaires ouverts dans la cavité utérine et des petits vaisseaux.
- La **phase de régénération/ prolifération entre J5 et J14** : La sécrétion d'œstradiol stimule la croissance de l'endomètre à partir des culs de sac glandulaires ; l'épithélium de surface se reforme, les glandes et les artérioles se développent et l'activité mitotique est intense. A la fin de cette phase, l'endomètre a atteint son épaisseur maximale.
- La **phase de transformation/sécrétion glandulaire entre J15 et J28** : la phase de sécrétion du glycogène débute sous l'action combinée des œstrogènes et de la progestérone. Les glandes deviennent plus longues et plus sinueuses, la spiralisation des artérioles s'accroît. A partir du J22, le glycogène est excrété hors de la cellule, les glandes deviennent très contournées et la spiralisation des artérioles est maximale. La réaction déciduale apparaît, caractérisée par la présence dans le chorion de cellules déciduales (fibroblastes modifiés, contenant du glycogène).
- En l'absence de fécondation, le corps jaune régresse, il s'en suit une destruction tissulaire endométriale avec une desquamation hémorragique, un nouveau cycle commence.

En cas de grossesse, le maintien de la sécrétion hormonale par le corps jaune est responsable du maintien de l'intégrité de l'endomètre et par conséquent de l'absence de survenue des règles.

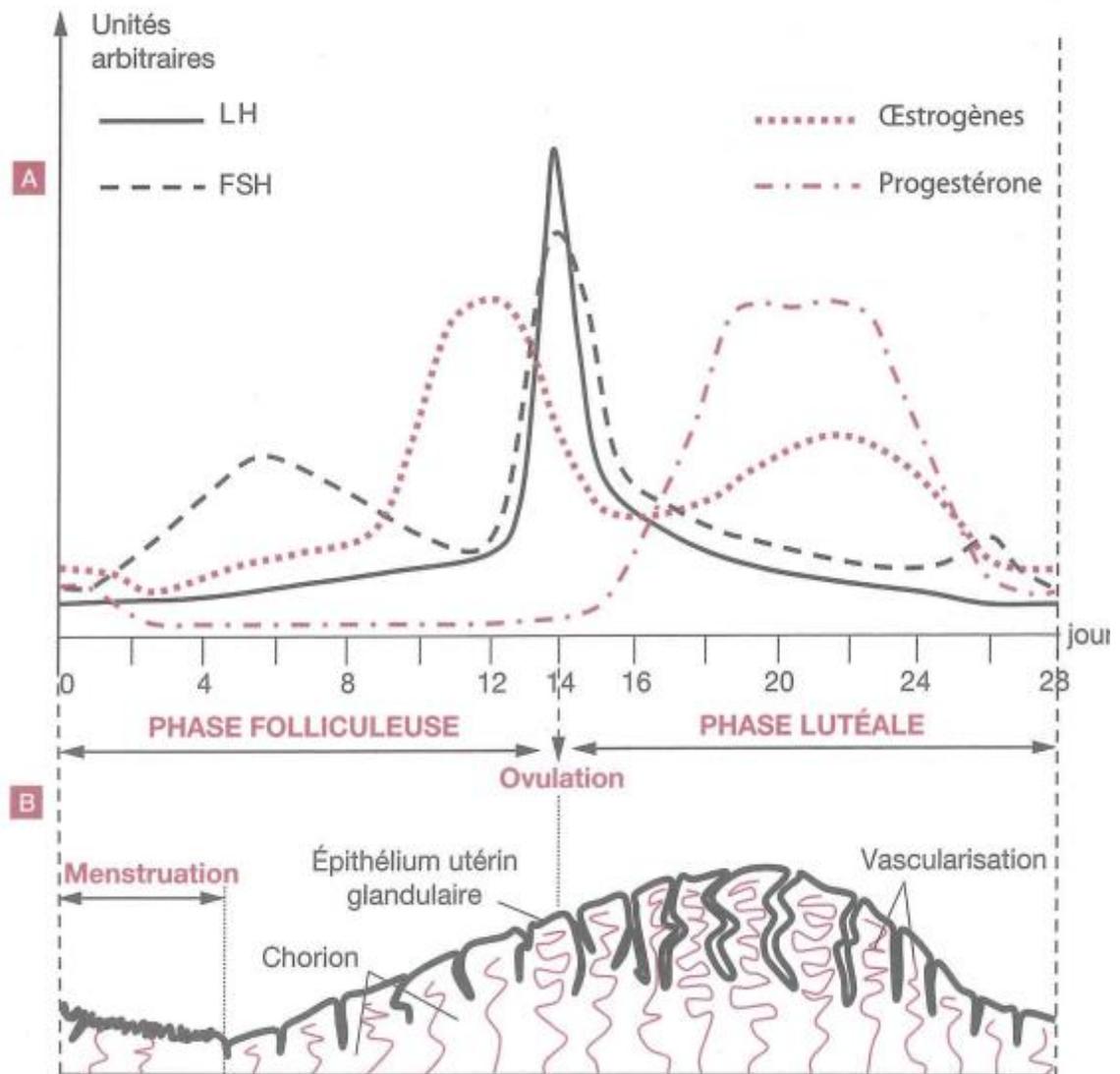


FIGURE 4- Variations hormonales et endométriales lors des phases folliculaire et lutéale (3)

Pendant le cycle utérin, on distingue une période particulière qui est la **fenêtre d'implantation**. C'est la période de réceptivité de l'endomètre pour l'embryon, qui est de brève durée, entre-le J19/20 et le J23 du cycle menstruel. Elle est présente à chaque cycle menstruel, indépendamment de la survenue d'une fécondation car elle dépend uniquement de la sécrétion des hormones ovariennes. Lors de cette période, l'endomètre présente certaines particularités :

- Au niveau de l'épithélium de surface : modification des dispositifs de jonction intercellulaires qui deviennent plus lâches et apparition de pinopodes
- Au niveau du chorion : présence d'un œdème à J20-J21, infiltration massive de cellules immunitaires (utérine natural killer), apparition des cellules déciduales qui vont synthétiser des cytokines

L'ensemble de ces modifications permet de faciliter l'adhésion et l'invasion de l'œuf dans l'endomètre.

D'autre part, le chorion contient des cellules lymphocytaires plus ou moins abondantes (20% des cellules du chorion en fin de cycle sans grossesse et 30% des cellules en début de grossesse). La majorité de ces cellules lymphocytaires est constituée par des cellules natural killer (NK) dont les cellules utérine NK (uNK, CD56+). Dans les cycles avec grossesse, elles sont abondantes, et joueront un rôle important dans le contrôle de la migration et de l'envahissement du trophoblaste ainsi que dans le processus d'angiogenèse.

## 2.1.3 La fécondation et les premiers stades du développement embryonnaire

### 2.1.3.1 Transit des spermatozoïdes dans les voies génitales féminines(5) (7) (8)

Environ 200 millions de spermatozoïdes sont déposés dans le vagin après l'éjaculation. Le liquide séminal alcalin qui les entoure va les protéger du milieu vaginal acide. Quelques centaines de milliers de spermatozoïde mobiles vont parvenir à remonter, à contre-courant, le mucus qui s'écoule du canal cervical.

Une première sélection se fait dans le mucus cervical où seuls les spermatozoïdes les plus mobiles progressent.

Après remontée rapide dans la cavité utérine, ces spermatozoïdes vont arriver à la jonction uterotubaire, où les sécrétions tubaires vont empêcher un retour en arrière.

Dans l'isthme de la trompe, où des milliers de spermatozoïdes s'accumulent, des contractions tubaires entraînent la libération de dizaines de spermatozoïdes par vagues successives, jusqu'à l'ampoule tubaire, lieu de la fécondation.

Au moment de la rencontre entre ovocyte et spermatozoïde, peu de spermatozoïdes sont présents autour de l'ovocyte et les spermatozoïdes fécondants ne sont pas nécessairement les premiers arrivés.

Durant leur trajet, les spermatozoïdes sont soumis à des environnements variés, qui leur confèrent une capacité à devenir fécondants par certaines modifications : il s'agit de la capacitation, ensemble de modifications structurales et fonctionnelles qui permettront plus tard la réaction acrosomique. Par exemple, le contact des spermatozoïdes avec la glaire cervicale, riche en albumine, va permettre l'élimination de facteurs décapacitants.

Les trompes vont assurer un environnement propice pour les spermatozoïdes pour leur capacitation (présence d'enzymes protéolytiques et lipolytiques qui vont permettre l'hyperactivité flagellaire du spermatozoïde, et plus tard, la réaction acrosomique).

### 2.1.3.2 La fécondation (3) (5)

Il s'agit de la fusion de deux cellules haploïdes, le spermatozoïde et l'ovocyte, en une cellule unique que l'on appelle le zygote. La rencontre entre les deux gamètes se fait dans la trompe, au niveau de l'ampoule tubaire.

Les cellules de la corona radiata et la zone pellucide entourent l'ovocyte. La spécificité d'espèce est assurée par la zone pellucide, composée de glycoprotéines. Les interactions entre les spermatozoïdes et l'ovocyte sont caractérisées par une alternance adhésion/progression. Les spermatozoïdes capotés vont ensuite déclencher la réaction acrosomique en s'accrochant à la zone pellucide.

La réaction acrosomique se définit par la fusion de la membrane plasmique du spermatozoïde avec la membrane acrosomique externe, ayant pour conséquence une libération des enzymes acrosomiques qui permettront la traversée de la zone pellucide par le spermatozoïde, facilitée par les battements de son flagelle hyperactivé.

Un seul spermatozoïde arrive à franchir la zone pellucide, pour ensuite pénétrer dans l'espace périvitellin puis fusionner avec la membrane ovocytaire grâce à la membrane plasmique de la cape post-acrosomique.

La pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte entraîne une augmentation du calcium responsable de l'activation métabolique ovocytaire.

Cette activation va provoquer la réaction corticale qui se traduit par la fusion des granules corticaux avec la membrane plasmique de l'ovocyte et permet la libération du contenu enzymatique des granules corticaux dans l'espace périvitellin.

Ces enzymes vont entraîner des modifications physico-chimiques au niveau de la zone pellucide pour la rendre imperméable à d'autres spermatozoïdes, empêchant ainsi la polyspermie.

L'activation cytoplasmique déclenche la reprise de la méiose de l'ovocyte, bloqué au stade de métaphase II. La méiose s'achève par l'émission du 2<sup>ème</sup> globule polaire et l'apparition dans l'œuf du pronucléus femelle (PN). Le PN mâle va apparaître conjointement. Une réplication d'ADN va avoir lieu dans chaque PN, ils migrent l'un vers l'autre au centre du zygote puis fusionnent. La première mitose commence alors et aboutira à la formation d'un embryon à 2 cellules.

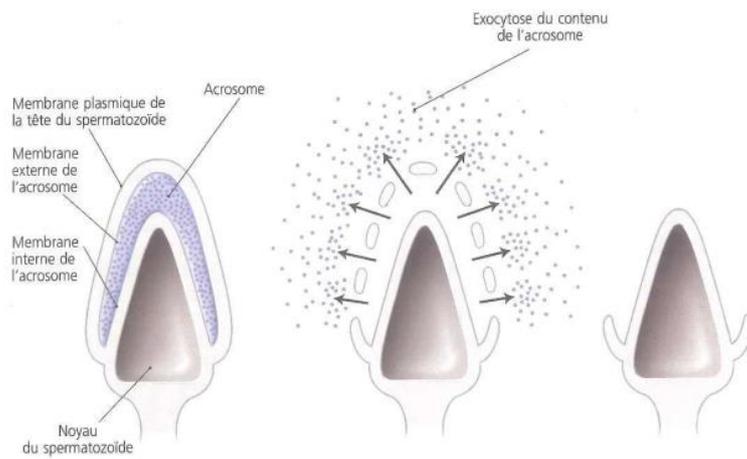


FIGURE 5- La réaction acrosomique (9)

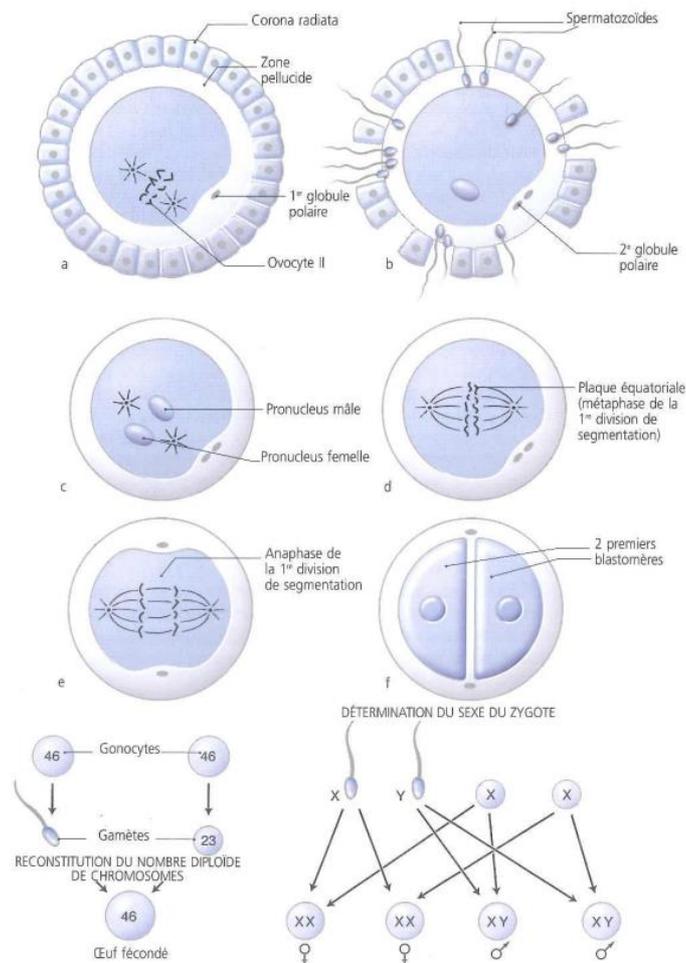


FIGURE 6- Différentes étapes de la fécondation (9)

### 2.1.3.3 Développement embryonnaire préimplantatoire (3) (5)

- Premières divisions

L'embryon va d'abord subir une segmentation (correspondant à une série de divisions mitotiques) qui va permettre le passage du stade de deux cellules (ou blastomères) au stade de blastocyste. Ces divisions permettent la formation de nouvelles cellules de plus en plus petites sans modification du diamètre de l'embryon, qui reste inclus dans la zone pellucide. L'embryon va être formé respectivement à 24,48 et 72 heures post-fécondation de 2,4 et 8 cellules. A 4 jours après la fécondation, l'embryon se nomme morula, et contient plus de 12 cellules. Puis, une compaction cellulaire se produit permettant le passage du stade morula au stade de blastocyste. Ainsi, le blastocyste se forme au 5<sup>ème</sup> jour. Les blastomères les plus périphériques vont établir entre eux des jonctions adhérentes, et s'aplatir, formant ainsi une couche continue se nommant trophoblaste (futur placenta).

Une cavité liquidienne se nommant blastocèle va se former et une pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase va y faire entrer eau et sodium, l'afflux de liquide dans la blastocèle va distendre la zone pellucide et amorcer une phase d'expansion du blastocyste.

Les blastomères internes sans contact direct avec le milieu externe, sont regroupés au pôle embryonnaire en un massif rattaché au trophoblaste pour constituer la masse cellulaire interne (aussi appelée bouton embryonnaire qui permettra la formation du futur fœtus), surplombant le blastocèle.

Au 6<sup>ème</sup> jour le phénomène d'éclosion a lieu quand le blastocyste va se dégager de la zone pellucide : cela est rendu possible par la formation d'un orifice dans la zone pellucide par lequel le blastocyste s'échappe et qui se constitue grâce à l'action des enzymes protéolytiques produites par le trophoblaste associé au phénomène de surpression.

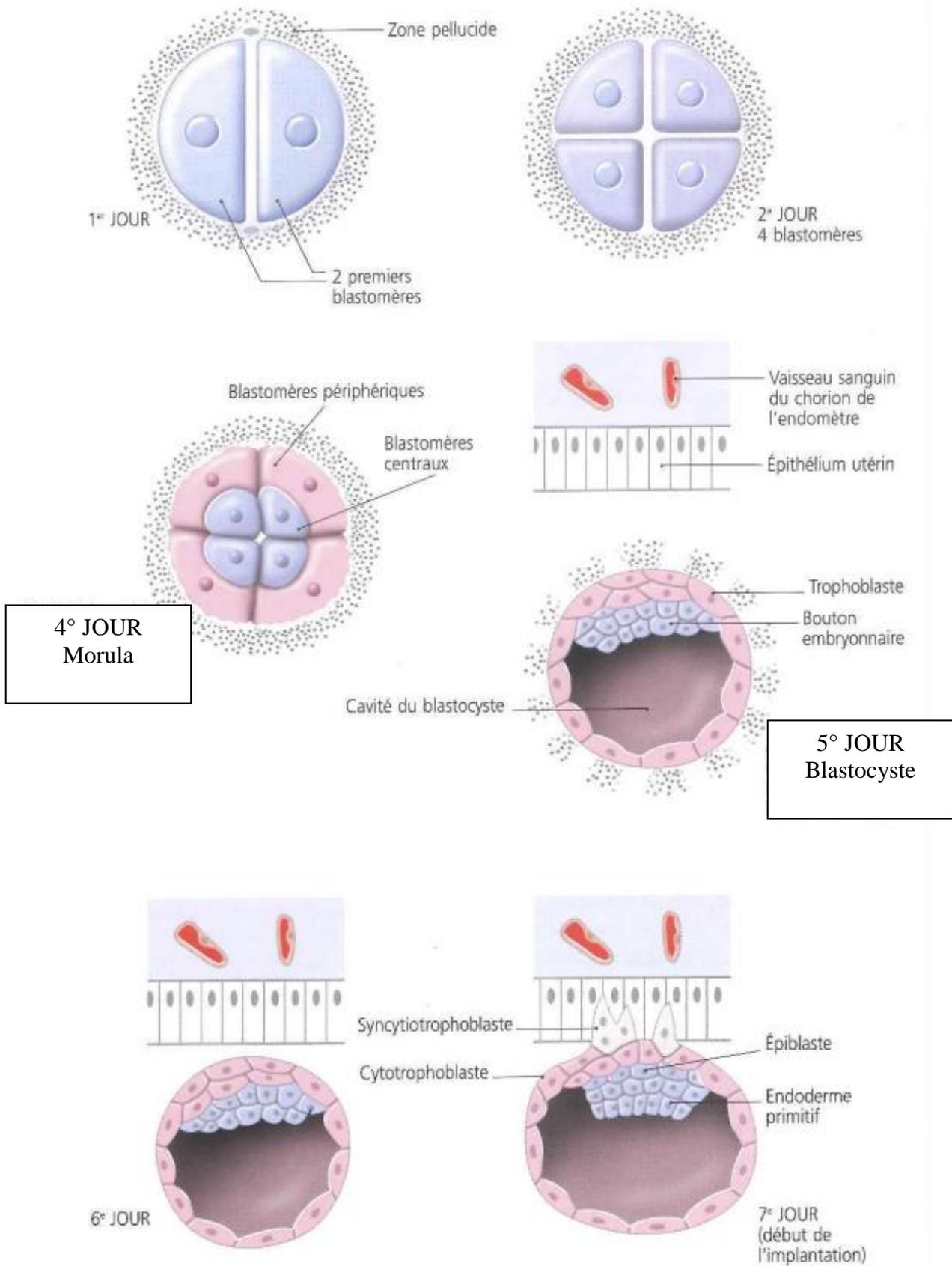


FIGURE 7- De l'œuf fécondé au blastocyste (9)

- Migration tubaire

L'embryon migre de la trompe vers la cavité utérine en vue de son implantation. Les contractions de la paroi musculaire tubaire assurent la progression tubaire tout comme le battement des cils des cellules de l'épithélium tubaire et le flux du liquide tubaire.

L'embryon parvient dans la cavité utérine au stade de blastocyste au 5<sup>ème</sup> jour de son développement.

## 2.1.4 L'implantation

Ce sont les différentes étapes qui permettent la pénétration totale de l'œuf dans l'endomètre réceptif.

L'implantation de l'embryon dans l'endomètre se déroule entre le 6<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour post-fécondation. Ce rapprochement entre l'organisme maternel et l'embryon permettra des échanges importants dans le cadre du développement de l'embryon.

Elle se réalise grâce à une cascade d'interactions entre l'endomètre et le blastocyste éclos, nécessitant une stricte synchronisation entre la maturation de l'endomètre et le développement embryonnaire. Sans sa zone pellucide, le blastocyste devient fortement adhérent au revêtement utérin. Dans la région du pôle embryonnaire, le trophoblaste rentre en contact avec l'épithélium utérin. Après cette adhérence, une partie des cellules trophoblastiques se modifient et forment le syncytiotrophoblaste (ST), et la partie non modifiée du trophoblaste prend le nom de cytotrophoblaste (CT). Le ST émet des expansions entre les cellules épithéliales, ceci a pour conséquence de les dissocier et de les détruire via la sécrétion d'enzymes protéolytiques : la pénétration de l'embryon dans l'endomètre débute au 7<sup>ème</sup> jour post-fécondation et se terminera le 12<sup>ème</sup> jour avec reconstitution de l'épithélium utérin au niveau de la brèche (caduque ovulaire). Le ST va également synthétiser des quantités de plus en plus grandes d'hormone chorionique gonadotrophique (HCG), qui pourra être détectée dans le sang maternel aux alentours du 10<sup>ème</sup> jour post-fécondation.

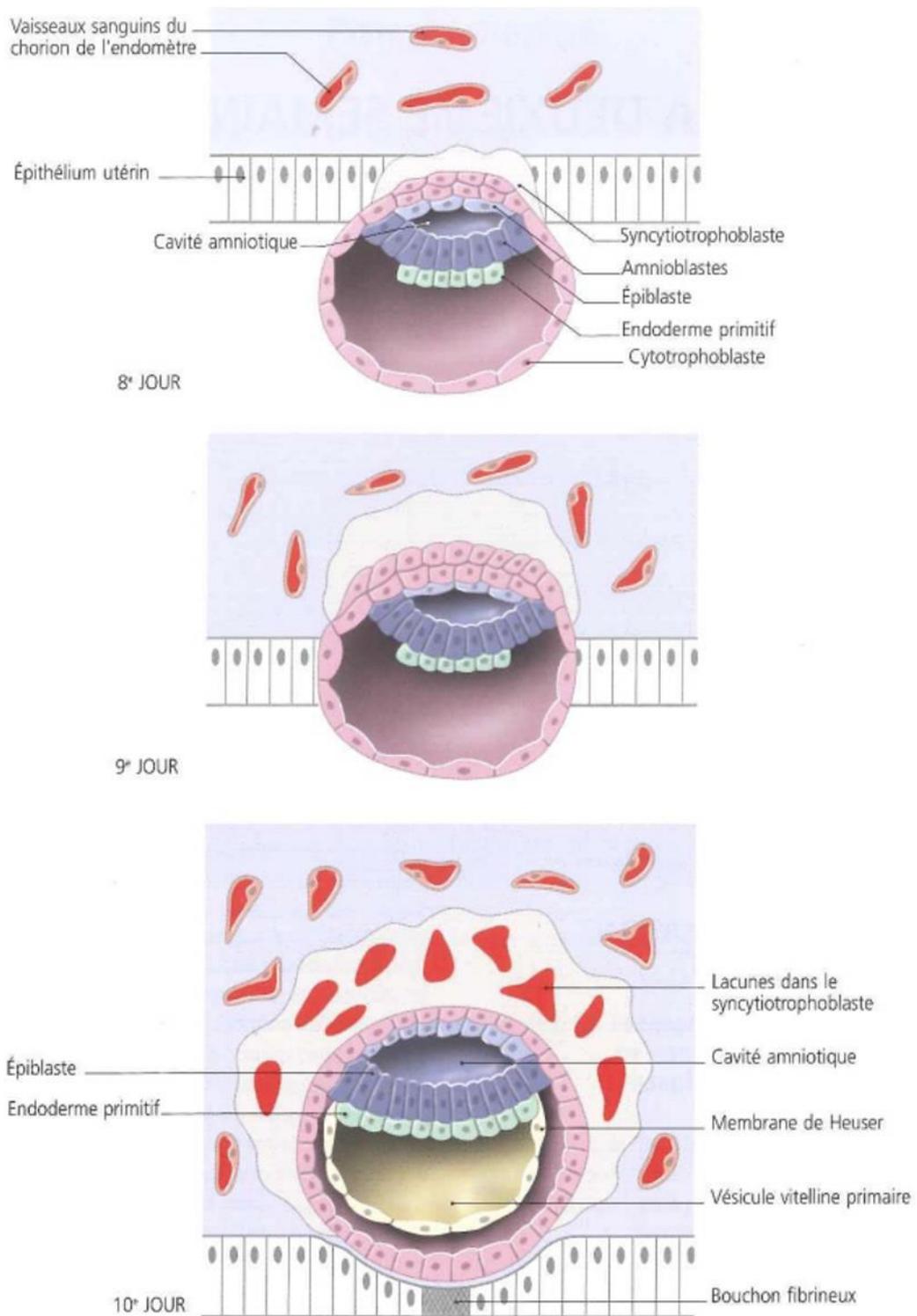


FIGURE 8- Début de la deuxième semaine de développement embryonnaire (9)

## 2.1.5 Développement du placenta : placentation(3)(9)

Le placenta est une annexe embryonnaire qui se situe en dehors du corps de l'embryon, sa circulation sanguine va être reliée à l'embryon/fœtus pour former la circulation foeto-placentaire. Il assure des fonctions multiples durant la gestation.

### 2.1.5.1 Formation du placenta

Le placenta est un organe complexe formé à la fois par du tissu maternel (Endomètre) et du tissu embryonnaire (éléments du trophoblaste).

- Organogenèse (1<sup>er</sup> trimestre)
  - Modifications de l'endomètre

L'implantation du blastocyste va amplifier la réaction déciduale qui va achever la transformation de l'endomètre en caduque (ou décidue).

On distingue 3 caduques :

- La caduque ovulaire séparant l'œuf de la cavité utérine,
  - La caduque basilaire située au point d'implantation embryonnaire qui participera à la formation du placenta
  - La caduque pariétale, sur le reste de la cavité utérine.
- Évolution des éléments embryonnaires

**Au cours du 1<sup>o</sup> Mois du développement** (3<sup>ième</sup> - 6<sup>ième</sup> semaine d'aménorrhée), des lacunes apparaissent dans le syncytiotrophoblaste lors de la 4<sup>ième</sup> semaine d'aménorrhée (SA). A la 5<sup>ième</sup> SA elles se remplissent de sang maternel qui provient de l'érosion des artères utérines ou spiralées ; c'est à partir de la 5<sup>ième</sup> SA, que vont se former les villosités choriales qui sont des expansions du trophoblaste. De plus des vaisseaux extra-embryonnaires vont également se mettre en place, et à la fin de la 5<sup>ième</sup> SA, les villosités choriales auront leur structure définitive, se composant du trophoblaste, du mésoblaste extra-embryonnaire et des vaisseaux villositaires extra-embryonnaires.

Lors de la 6<sup>ème</sup> SA, une extension des villosités se met en place sur tout le pourtour de l'œuf pour former le chorion vilieux, ce qui va générer une importante surface d'échange. Les lacunes vont communiquer entre elles pour former la chambre intervillieuse remplie de sang maternel provenant de l'érosion des artères utérines spiralées. A la fin du 1<sup>er</sup> mois, le cœur et les vaisseaux intra-embryonnaires se forment, et une connexion des circulations vasculaires extra et intra embryonnaire se met en place.

**A partir du 2<sup>o</sup> mois**, les villosités choriales situées en dehors de la caduque basilaire dégénèrent progressivement, formant ainsi le chorion lisse. La croissance et la maturation du placenta se poursuivent au niveau de la caduque basilaire.

Ainsi à la fin du 3<sup>o</sup> mois, le placenta est constitué.

Par ailleurs, au cours du 1<sup>o</sup> trimestre de grossesse, une partie des cellules trophoblastiques se différencient en trophoblastes extravilloux, situées en dehors des villosités choriales, et migrent dans l'endomètre. Ces cellules sont responsables de l'invasion profonde de l'endomètre et du myomètre, indispensable à la bonne insertion du placenta.

- Modifications du placenta du 4<sup>ème</sup> mois jusqu'au terme de la grossesse

Le placenta subit d'importantes modifications pour permettre la croissance fœtale.

La chambre intervillieuse est un espace rempli de sang maternel. Elle est bordée sur toutes ses faces par le syncytiotrophoblaste. La face maternelle du placenta constitue la plaque basale qui est d'origine mixte, formée de tissu maternel (caduque basilaire) et embryonnaire (cytotrophoblaste et syncytiotrophoblaste). Du côté fœtal, la plaque choriale est constituée de dérivés d'origine purement embryonnaire.

L'arborisation des villosités choriales s'organise de la manière suivante :

Les villosités se ramifient à partir des troncs villositaires de premier ordre implantés dans la plaque choriale et sont à l'origine de troncs villositaires de deuxième ordre puis de troisième ordre.

Certaines restent appendues dans la chambre intervillieuse : ce sont les villosités libres qui baignent dans la chambre intervillieuse remplie de sang maternel, elles sont le lieu de tous les échanges entre l'organisme maternel et l'organisme fœtal. D'autres sont en continuité avec la plaque basale et constituent les villosités crampons. Chaque cotylédon (entre 20 et 40 chez le

placenta humain) représente l'arborisation formée par l'ensemble des villosités issues d'un même tronc de premier ordre.

A partir du 4<sup>ième</sup> mois, le cytotrophoblaste régresse dans les villosités et au niveau de la coque cytotrophoblastique. La croissance des cotylédons, par prolifération villositaire, augmente considérablement la surface membranaire des échanges placentaires.

Des replis de tissu décidual progressent dans la chambre intervillieuse en direction de la plaque chorale sans toutefois atteindre cette dernière et forment les septa intercotylédonnaires. Ils séparent les groupes de villosités formant les cotylédons. Toutefois, l'absence de cloisonnement complet de la chambre intervillieuse permet au sang maternel des échanges avec l'ensemble des cotylédons.

Par ailleurs, un évènement très important va avoir lieu, à savoir la colonisation de la paroi des artères spiralées par les trophoblastes extravillieux : des cellules du trophoblaste extravillieux ayant migré dans l'endomètre vont envahir la paroi des artères endométriales spiralées. Elles vont remplacer les fibres musculaires lisses des vaisseaux, rendant leur paroi atone. Ainsi ces artères ne vont plus se contracter et la chambre intervillieuse sera perfusée en permanence avec un débit constant.

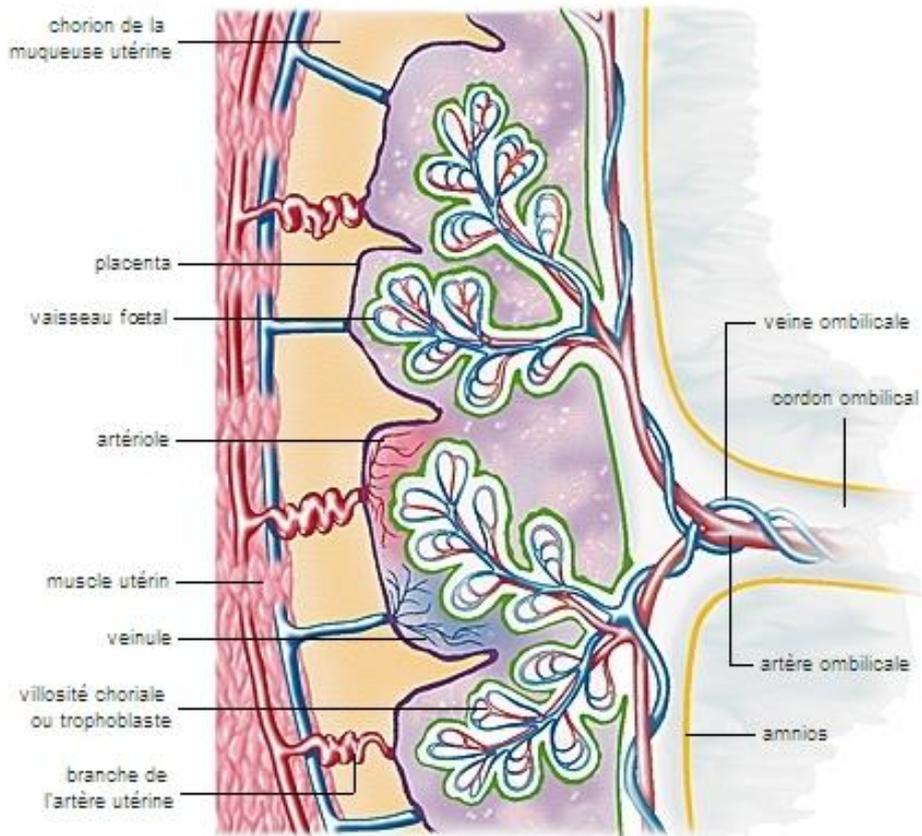


FIGURE 9- Coupe du placenta (10)

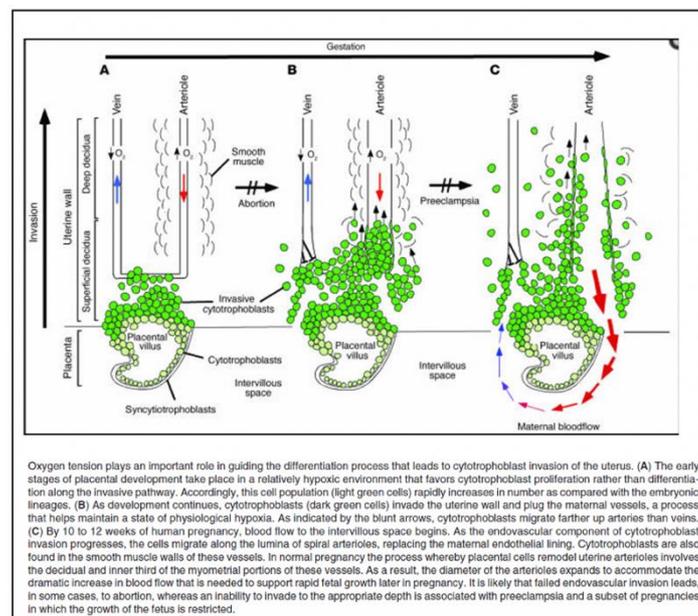


FIGURE 10- Différenciation et invasion trophoblastique (11)

## 2.1.5.2 Les principales fonctions placentaires

Le placenta regroupe en un unique organe de multiples fonctions basées sur les échanges entre les compartiments maternel et fœtal. Les circulations sanguines fœtale et maternelle, séparées par la paroi des villosités, restent constamment indépendantes au cours du développement.

La barrière placentaire gère de nombreux échanges materno-fœtaux qui se font à travers la paroi des villosités choriales sans contact direct entre circulation maternelle (chambre intervillieuse) et la circulation fœtale (vaisseaux villositaires) : Échanges gazeux, électrolytes, glucose et lipides, nutriments, vitamines...

Le placenta a une activité endocrine importante. Le syncytiotrophoblaste synthétise de nombreuses hormones telles que

- Des hormones stéroïdes (œstradiol et progestérone), assurant le relais du corps jaune après le premier trimestre de grossesse.
- Des hormones polypeptidiques, principalement l'hormone chorionique gonadotrophique (hCG), qui atteint un pic vers la 12<sup>ième</sup> semaine avant de décroître, qui permet le maintien du corps jaune favorisant la sécrétion de progestérone au premier trimestre.

Divers acteurs sont impliqués dans la régulation de la physiologie placentaire :

- La sécrétion de hCG joue un rôle dans l'invasion des trophoblastes extravillieux, les taux sériques chez la mère seraient corrélés à l'intensité de l'invasion (12)
- Lymphocytes NK : Dans des échecs d'implantation et des pertes fœtales, (13) le profil suivant des clusters de différenciation (ou CD) a été retrouvé une hausse des marqueurs CD69 et CD161 qui sont des marqueurs d'activation NK.

De plus, les cellules NK utérines produisent une cytokine qui joue un rôle prépondérant dans l'implantation embryonnaire et la décidualisation : le LIF.

Il est intéressant de noter qu'une antagonisation de la réponse cytotoxique des NK par administration d'immunoglobulines permet une meilleure fécondité (14)

- Lymphocytes T régulateurs : ils ont un rôle dans la tolérance materno-fœtale par leur présence au niveau de la décidue,(15) ils vont fluctuer au cours de la grossesse, avec un seuil augmenté jusqu'au 6<sup>ème</sup> mois environ pour revenir à des valeurs normales de manière progressive ensuite (16)

- HLA-G : Les trophoblastes, qui expriment HLA-G, jouent un rôle important dans le mécanisme d'implantation embryonnaire et la mise en place de la tolérance materno-fœtale. En effet, HLA-G permet aux cellules trophoblastiques de réaliser une invasion sans être rejetées par la muqueuse utérine.

Les polymorphismes HLA-G ont d'ailleurs un rôle dans certaines pathologies : lors d'une réduction de HLA-G, une corrélation a été établie avec des pathologies telles que les fausses couches, la naissance prématurée, les avortements spontanés et la prééclampsie.

Par ailleurs, le placenta synthétise des facteurs de la coagulation (17) et il a été décrit une activité pro coagulante liée aux trophoblastes. Cette activité est nécessaire à l'invasion trophoblastique et va également limiter le risque hémorragique. Une rupture d'équilibre de ce système peut être propice au développement de complications obstétricales avec la formation dans la circulation utéroplacentaire de micro-thrombi.

On note également que les cellules trophoblastiques synthétisent plusieurs acteurs de la régulation de l'hémostase : Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI), le récepteur endothélial à la protéine C (ECPR) qui joue un rôle préventif important quant à l'apparition de thromboses à l'interface materno-fœtale, et la thrombomoduline (18). De plus le système protéine C/thrombomoduline contrôle la survie et la croissance trophoblastique. (19)

## 2.2 Les pathologies obstétricales (20)

Nous aborderons ici uniquement les pathologies obstétricales de type « pertes fœtales » (précoces ou tardives) ou bien en lien avec un défaut d'implantation telle que la prééclampsie.

### 2.2.1 Pertes fœtales

#### 2.2.1.1 Les fausses couches spontanées (FCS) (20)

Une fausse couche spontanée (FCS) est une interruption naturelle et involontaire de grossesse. Elle survient dans les 5 premiers mois de grossesse avant la 22<sup>ème</sup> Semaine d'Aménorrhée (SA).

- La fausse couche est dite précoce quand elle se produit durant le premier trimestre (avant la 12<sup>ème</sup> SA) :
  - Préclinique (avant toute implantation ou après l'implantation jusqu'à 3 à 4 SA)
  - Ou clinique (après 4 SA et jusqu'à 11 SA).
- Elle est dite tardive lorsqu'elle est observée entre la 12<sup>ème</sup> et la 21<sup>ème</sup> SA.

Une étude (21) a permis de regrouper des données épidémiologiques :

- les FCS précliniques (22) représentent 60% des conceptions : 30% avant implantation et 30% après implantation jusqu'à la 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> SA.
- Les FCS cliniques représentent 15% des conceptions (23)
- Les FCS tardives sont moins fréquentes et représentent environ 4% des issues de grossesse .(24)

Si la perte de grossesse survient à partir de 22 SA, on parle d'accouchement et non plus d'une fausse couche (21). A noter que la durée normale d'une grossesse est de 40 SA, l'accouchement est considéré comme prématuré s'il survient entre 22 SA et 36 SA +6 jours.

Une fausse couche sera qualifiée d'isolée lorsque l'événement n'arrive qu'une fois. La fausse couche spontanée est dite à répétition lorsque 3 fausses couches consécutives surviennent avant 14 SA, avec le même partenaire et pour une femme de moins de 40 ans.

- FCS précoces

Au niveau clinique, les signes sont les suivants :

- Saignements par voie vaginale, légers ou abondants
- Douleurs pelviennes, lombalgies, crampes pelviennes
- Expulsion de caillots de sang ou de matières brunâtres

La plupart du temps, l'expulsion du produit de fausse-couche est spontanée et complète.

Néanmoins, un saignement en début de grossesse n'est pas forcément un signe de fausse couche. En effet, 25% des grossesses s'accompagnent de pertes de sang au cours du premier trimestre et se poursuivent sans encombre et c'est un ensemble de signes cliniques qui font évoquer un avortement spontané.

La physiopathologie des FCS précoces est variée en raison d'un nombre élevé d'étiologies possibles (21) .

L'étiologie la plus fréquente concerne une anomalie chromosomique de l'œuf (60% des cas), à type de trisomie, monosomie ou triploïdie par exemple. La FCS représente ici un mécanisme d'élimination spontanée d'un fœtus qui ne serait pas viable ou qui serait polymalformé.

Le plus souvent, une non-disjonction méiotique est à l'origine de cette anomalie chromosomique. Chez un couple, il s'agit d'un événement fortuit sauf si l'un des deux membres est porteur d'une anomalie chromosomique (ex : translocation).

D'autres causes d'origine maternelle peuvent être à l'origine des FCS précoces, telles que :

- Les malformations utérines (utérus bicorne, myomes...)
- L'âge maternel : on observe 10% de FCS cliniques chez les femmes de 20 à 24 ans contre 51% chez les femmes âgées de 40 à 44 ans.(23)
- La prise d'alcool / de certains médicaments
- La survenue d'une infection générale (ex : grippe, rubéole) ou locale (ex : infection cervicale/vaginale)

- Les pathologies maternelles suivantes :
  - o Diabète mal équilibré
  - o Obésité
  - o Maladies thyroïdiennes
  - o Maladies auto-immunes (Lupus, Auto-immunité thyroïdienne, ...)
  - o Thrombophilies (troubles de la coagulation, SAPL)

**La thrombophilie** (25) correspond à un état d'hypercoagulabilité, constitutionnel ou acquis, favorisant la survenue d'une maladie thromboembolique veineuse (MTEV).

La MTEV touche 1 à 2/1000 habitants (augmentation exponentielle avec l'âge) et serait responsable d'une mortalité déclarée en France de 7,2 pour 100 000 (26).

De multiples facteurs de risque ont été décrits(27).

Tout d'abord, on observe des situations à risque telles que : prise d'un traitement hormonal substitutif ; Immobilisation prolongée ; Grossesse et post-partum ; Chirurgie lourde ; Obésité, Tabac, antécédents de MTEV.

Dans certains cas, il s'agit de thrombophilies acquises suite à des pathologies augmentant le risque thrombotique, comme, par exemple, le Syndrome des anti phospholipides (SAPL), des hémopathies malignes, un syndrome Néphrotique, la maladie de Crohn.

Certaines thrombophilies sont constitutionnelles suite à :

- Des anomalies des facteurs de la coagulation : Mutation G20210A du gène de la prothrombine, facteur V leiden, augmentation plasmatique du facteur VIII
- Un déficit quantitatif ou qualitatif en antithrombine (AT), protéine S (PS), protéine C (PC)

La grossesse est une situation physiologique propice au développement d'une MTEV, en raison d'une stase veineuse occasionnée par la compression utérine et se manifestant par une réduction du flux d'environ 50% dès la 27<sup>ième</sup> SA (28).

Pendant la grossesse, ce risque de développer une MTEV augmente de 5 à 6 fois par rapport aux témoins du même âge et peut être augmenté de 8,5 fois en cas d'antécédents familiaux de MTEV et jusqu'à 34 fois en cas de thrombophilie héréditaire (29).

Concernant le **syndrome des anti phospholipides (SAPL)**(25), il s'agit d'une anomalie acquise de l'hémostase d'origine primitive ou secondaire à une pathologie de type auto-immune, associant la triade suivante : thrombose (veineuse ou artérielle) /complications obstétricales (avortements spontanés, éclampsie) /anticorps anti phospholipides persistants.

Les anticorps anti phospholipides sont une variété d'auto-anticorps dirigés contre des phospholipides (Cardiolipine, phosphatidyléthanolamine...) ou contre des protéines ayant un tropisme pour les phospholipides (Bêta2-glycoprotéine, prothrombine...).

Dans ce syndrome, trois types d'anticorps anti-phospholipides sont recherchés :

- Anticorps anti cardiolipine par ELISA (IgG ou M)
- Anticorps anti Bêta2 glycoprotéine par ELISA (IgG ou M)
- Recherche d'anticoagulant circulant de type lupique

Le diagnostic de SAPL n'est posé que si le délai entre la positivité des anticorps et les manifestations thrombotiques ne dépassent pas 60 mois et que la recherche d'anticorps anti phospholipides est positive 2 fois à au moins 3 mois d'intervalles.

Une synthèse de littérature (30) met en lumière le lien SAPL-fausses couches spontanées avec une découverte majoritaire après le premier épisode thrombotique. Le risque thromboembolique est différent selon le type d'anticorps, ce sont les anticoagulants circulants de type lupique qui sont le plus à risque, que ce soit au niveau de la maladie thromboembolique veineuse ou artérielle.

Un bilan de FCS précoces sera indiqué chez un couple après la survenue de 3 FCS. Il comprendra, en particulier, la recherche d'une anomalie chromosomique parentale avec réalisation d'un caryotype chez les 2 membres du couple, la recherche d'une malformation utérine par hystérocopie ou hystérosalpingographie, ou d'une pathologie maternelle (diabète, anomalie de la coagulation, pathologie auto-immune...)

D'après une étude, 3,6% à 10,9% des femmes faisant une fausse couche spontanée à répétition ont des anticorps anti phospholipides (31).

- FCS tardives

Beaucoup moins fréquentes que les FCS précoces et contrairement à celles-ci, elles sont rarement dues à une anomalie chromosomique de l'œuf.

Elles sont le plus souvent d'origine maternelle, liées :

- À une anomalie utérine :
  - Malformations de type utérus bicorne, hypoplasie utérine etc...
  - Présence de synéchies, fibromes,
  - Bécance cervicale (post-conisation par exemple)
- À une infection maternelle telle que :
  - Endométrite chronique
  - Chorioamniotite (infection à streptocoque B le plus souvent)
  - Inflammation vaginale/ cervicale : vaginose bactérienne (à streptocoque B, à gardnerella vaginalis,) ou parasitaire (trichomonas).
- À une consommation importante de toxiques (tabac, alcool...)
- À la présence du polymorphisme du facteur V leiden, du facteur II à l'état hétérozygote, un déficit en protéine S et la présence d'anticorps anti-cardiolipides, prédisposant de manière significative au risque de fausses couches tardives(32)

Les FCS tardives peuvent être liées à des causes fœtales, en particulier dans les cas de grossesses multiples ou d'hydramnios.

Elles peuvent aussi survenir après un traumatisme (ex : choc violent, accident) ou après amniocentèse.

### 2.2.1.2 La mort fœtale in utero

Il s'agit du décès du fœtus à partir de la 22<sup>ème</sup> SA, avant le début de travail, avec une prévalence globale mondiale de 2%, et de 0,5% dans les pays développés (33)

Le diagnostic repose sur l'échographie fœtale : absence d'activité cardiaque, signes de macération.

Les étiologies sont multiples et souvent intriquées (33) :

- Surexposition aux facteurs de risque : surpoids maternel, tabagisme, alcool
- Maladies pré-gestationnelles : hypertension, diabète
- Caryotype anormal, malformations congénitales
- Infections : Listériose, Toxoplasmose, CMV...
- Hématome rétro placentaire
- Retard de croissance intra-utérin

La prise en charge consiste en une extraction fœtale, afin d'éviter des complications infectieuses et des troubles de l'hémostase chez la mère.

## 2.2.2 Prééclampsie

### 2.2.2.1 Définition

Il s'agit à la base d'un défaut de placentation, en particulier d'un défaut de remodelage de la paroi des artères spiralées, aboutissant à une hypoxie/ischémie placentaire.

C'est une maladie maternelle systémique avec une baisse de la perfusion des organes secondaire à une perturbation de la fonction endothéliale, une réaction inflammatoire massive, une hausse du stress oxydatif ou bien à une thrombophilie.

Elle survient à partir de 20 semaines d'aménorrhée, souvent au 3<sup>ème</sup> trimestre et elle est d'autant plus grave pour le pronostic fœtal qu'elle survient tôt dans la grossesse.

Chez les femmes nullipares, en bonne santé et sans antécédents familiaux notables, l'incidence de la prééclampsie est de 7% .(34)

La présence d'antécédents de prééclampsie chez un parent du premier degré augmente le risque de faire une prééclampsie sévère de 2 à 4 fois .(35)

## 2.2.2.2 Physiopathologie

On retrouve plusieurs composantes dans la physiopathologie de la prééclampsie :

- **Défaut de remodelage vasculaire placentaire** : Dans la prééclampsie, l'invasion des artères spiralées par les trophoblastes extravilloux est incomplète : elle est limitée à la caduque superficielle et les segments du myomètre restent étroits et non dilatés. (36)
  - Dans la vasculogenèse placentaire normale, les trophoblastes invasifs entraînent un rétrocontrôle négatif sur les molécules d'adhésion de surface des cellules endothéliales .(38)
  - Dans la prééclampsie, les trophoblastes ne subissent pas cette commutation des intégrines de surface cellulaire et des molécules d'adhésion, et ne parviennent pas à envahir adéquatement les artères spiralées myométriales .(39).
  - De ce fait, dans la prééclampsie, une ischémie et une hypoperfusion placentaire existent, pouvant aller jusqu'à l'infarctus placentaire. La gravité des signes cliniques semble être corrélée à l'intensité de l'hypoxie .(40)
- **Dysfonctionnement endothélial maternel** : on retrouve également chez la femme une dysfonction endothéliale généralisée, de nombreux marqueurs sériques de l'activation endothéliale sont perturbés chez les femmes atteintes de prééclampsie : l'antigène von willebrand, la fibronectine cellulaire, le facteur tissulaire soluble, la sélectine E soluble, le facteur de croissance dérivé des plaquettes et de l'endothéline. (37)
- **Problèmes Hémodynamiques** : La diminution de la résistance vasculaire périphérique et de la pression artérielle qui se produit pendant la grossesse normale est généralement absente ou inversée dans la prééclampsie, et la sensibilité aux vasopresseurs tels que l'angiotensine II et la noradrénaline est exacerbée .(41)

### 2.2.2.3 Tableau clinique

On retrouve les critères clinico-biologiques suivants :

Triade habituelle associant hypertension artérielle, oedèmes et protéinurie > 0,3 g/L.

D'autres signes sont possibles : Hémolyse, hyperuricémie...

La prééclampsie peut être à l'origine de complications maternelles et fœtales.

### 2.2.2.4 Complications maternelles

- Prééclampsie sévère

Elle peut révéler une pré éclampsie ou résulter d'une aggravation de la triade habituelle.

En effet, on peut la définir par deux moyens :

- Hypertension artérielle majeure
- Hypertension artérielle gravidique comprenant : Hémolyse, thrombopénie  $\leq 90\text{G/L}$ , ASAT > 3 fois la normale du laboratoire, protéinurie > 3g/L, altération de l'état général avec troubles neurologiques et digestifs, créatininémie > 100 micromoles/L, oligurie...

- Eclampsie

Il s'agit d'une crise convulsive tonico-clinique généralisée (parfois inaugurale) avec également des signes de prééclampsie.

L'éclampsie survient dans environ 2% de cas des prééclampsies (37).

Elle survient une fois sur deux avant la 36<sup>ième</sup> SA et une fois sur trois dans le post partum.

On peut retrouver les prodromes suivants : réflexes ostéo-tendineux vifs, troubles digestifs à prédominance épigastrique, troubles ophtalmologiques et auditifs, céphalées...

Le tableau clinique consiste en une crise convulsive, débutant par des fasciculations. La crise tonico-clonique se met rapidement en place de manière généralisée et peut aller jusqu'au coma suite à une phase dite postcritique.

La crise est spontanément résolutive en moins de 5 minutes et il n'y a pas de signes de localisation neurologique.

- On peut également voir apparaître des complications majeures telles que : Un HELPP syndrome (Hemolyse, Elevated Liver enzymes, Low plaquettes), un hématome rétro placentaire, une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) ...

### 2.2.2.5 Complications fœtales

L'ischémie placentaire est à l'origine d'une hypoxie tissulaire chronique du fœtus, pouvant être à l'origine de 2 complications principales :

- Le retard de croissance intra-utérin

Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) est une anomalie dynamique de la croissance du fœtus, se traduisant in utero par un fœtus de taille insuffisante pour l'âge gestationnel.

La prise en charge du RCIU dépend du nombre de SA :

- Après 34 SA : Déclenchement de l'accouchement ou césarienne.
  - Avant 34 SA : Surveillance intensive associée à une corticothérapie, le risque de morbi-mortalité fœtale est évaluée sur plusieurs paramètres (Age gestationnel, immaturité pulmonaire, appréciation de la sévérité de l'hypotrophie).
- La mort fœtale in utero, complication la plus redoutée.

***3 L'ASSISTANCE  
MEDICALE A LA  
PROCREATION :  
LA  
FECONDEATION  
IN VITRO (FIV)***

## 3.1 Définition

C'est une technique d'AMP ayant pour but d'assurer la rencontre entre l'ovocyte et les spermatozoïdes en dehors de l'organisme. Elle reproduit au laboratoire la fécondation ainsi que les premières étapes du développement embryonnaire.

## 3.2 Étapes

- Tout d'abord, une étape de stimulation ovarienne a lieu, pendant environ 15 jours, elle a pour but de recruter un nombre d'ovocytes matures plus élevé qu'en cycle spontané. La stimulation est en général débutée à J1 du cycle ovarien et finit le jour de la ponction ovarienne qui définit le J0 du laboratoire.
- La ponction ovarienne des follicules permet de récupérer le liquide folliculaire dans lequel se trouvent les ovocytes, stocké dans des tubes, qui seront transmis au laboratoire.

- Au laboratoire :

**A J0** après recueil des ovocytes dans le liquide folliculaire et préparation du sperme (permettant de récupérer les spermatozoïdes les plus mobiles (= progressifs) et les plus normaux morphologiquement, donc les plus féconds), on effectue la mise en fécondation des gamètes soit par FIV classique soit par ICSI :

- En FIV classique, chaque ovocyte recueilli est placé dans le milieu de culture contenant environ 50 000 spermatozoïdes mobiles progressifs.
- L'ICSI a pour spécificité technique la micro-injection d'un seul spermatozoïde vivant directement dans un ovocyte mature (fécondable) grâce à un appareil micro-injecteur. Le spermatozoïde à injecter est choisi sur des critères morphologiques et par rapport à sa vitalité qui est estimée sur sa mobilité.

**A J1** (18h post-fécondation), il y a appréciation de la fécondation par l'observation au microscope de la présence de 2 pronucléi dans le cytoplasme ovocytaire (= stade de zygote).

**A J2**, il y a normalement obtention d'embryon (sauf si échec de fécondation).

Le transfert du (des) embryon(s) dans la cavité utérine est réalisé à J2, J3 ou à J5-J6.

L(es) embryon(s) choisi(s) pour le transfert est (sont) remplacés dans la cavité utérine à l'aide d'un cathéter par le gynécologue, après observation morphologique permettant le typage embryonnaire (classification d'Istanbul)(42). Cette classification tient compte du nombre et de la régularité des blastomères, du taux de fragmentation, de la cinétique de division ; elle permet de sélectionner les embryons ayant le meilleur potentiel implantatoire (Voir annexes 1,2 et 3). Selon cette classification (basée uniquement sur des critères morphologiques), le taux d'implantation embryonnaire est de 27,1% pour les embryons de grade A (top), de 15,6% pour les embryons de grade B/C (qualité bonne a moyenne) et de 5,9% pour les embryons de grade D (qualité médiocre). (2)

Le nombre d'embryons à transférer est décidé en collaboration avec le clinicien, le biologiste et le couple. Il sera proposé de ne transférer qu'un seul embryon si la qualité de la cohorte embryonnaire le permet (présence de plusieurs embryons de grade A ou B/C disponibles après le transfert pour une congélation), en tenant compte du contexte clinique (1<sup>ière</sup> ou 2<sup>ième</sup> tentative de FIV, patiente de moins de 38 ans, bilan de réserve ovarienne normal...). Dans les autres situations, 2 embryons seront transférés, exceptionnellement 3 (dernière tentative de FIV, âge de la patiente élevée, qualité embryonnaire peu satisfaisante...).

Après le transfert, des embryons surnuméraires peuvent être congelés en fonction de leur qualité



FIGURE 11- Embryon J2 de grade A (Qualité top) selon la classification d'Istanbul (43)



FIGURE 12- Embryon J2 de grade C (Qualité moyenne) selon la classification d'Istanbul (43)



FIGURE 13- Embryon J2 de grade D (Qualité médiocre) selon la classification d'Istanbul  
(43)



. FIGURE 14- Blastocyste de bonne qualité (43)

### 3.3 Taux de réussite (44)(45)

En France, selon le dernier bilan de l'agence de la biomédecine (44), près de 65 000 tentatives de FIV/ICSI ont été réalisées en 2019 pour 51 000 couples. Pour une tentative de FIV/ICSI, les chances d'obtenir une grossesse et la naissance d'au moins un enfant vivant sont respectivement de 23% et 19,5%. Les accouchements gémellaires en 2019 ont représenté 8,9% des accouchements (soit près de 10 fois plus qu'après grossesse spontanée), et les accouchements triples ou plus sont actuellement rares (0,1% des accouchements).

Ceci découle en grande partie de la mise en place par les centres d'AMP d'une politique de transfert d'un seul embryon. Le nombre moyen d'embryons transférés est en effet en baisse depuis quelques années (2 en 2010 vs 1.4 en 2019). En 2019, les équipes médicales ont choisi de transférer un seul embryon dans 60,6% des cas, deux embryons dans 36,9% des cas et trois embryons ou plus dans 2,5% des cas. Les accouchements multiples (gémellaires essentiellement) ont représenté cette année-là 21.8% des accouchements après transfert de 2 embryons et 6.9% après transfert de 3 embryons.

Par ailleurs, des chances de succès supplémentaires sont offertes aux couples dès qu'une congélation des embryons surnuméraires a été possible (31,3% des tentatives de FIV en 2019). Les couples pourront ainsi bénéficier d'un ou de plusieurs transferts embryonnaires supplémentaires (Transfert d'embryons congelés ou TEC) en cas d'échec du transfert réalisé sur le cycle de FIV. Par exemple, près de 46 000 TEC ont été réalisés en 2019. Les chances de réussite après TEC sont comparables actuellement aux chances obtenues après transfert d'embryons frais, avec un taux d'implantation moyen de 22,6% (vs 22.4% après transfert frais). Au total, en France, près de 12 000 enfants sont nés en 2019 après transfert immédiat d'embryons issus d'une FIV/ICSI et 10 000 enfants après TEC.

Les derniers résultats collectés par l'ESHRE (45), provenant de 40 pays européens, montrent des résultats comparables en termes de grossesse (28% par tentative) et d'accouchement (20.8% par tentative). La proportion d'un seul embryon transféré continue à diminuer (41.5% vs 37.7% l'année précédente). Les accouchements multiples concernent encore 15.2% des accouchements.

Avec le recours plus fréquent à l'AMP, la proportion d'enfants nés après AMP ne cesse d'augmenter depuis ces dernières années. Cependant, l'absence de survenue d'une grossesse après FIV reste encore fréquente.

### 3.4 Échecs d'implantation

En termes de pourcentage de grossesse, le taux de réussite en FIV est d'environ 25% par transfert (44), les échecs d'implantation en FIV sont donc observés dans la majorité des cas.

En FIV, l'efficacité repose sur trois paramètres principaux : la réceptivité endométriale, la qualité de l'embryon et une interaction embryon-endomètre bien équilibrée(46)(47).

La réceptivité endométriale, ou fenêtre d'implantation, est une période très limitée au cours de laquelle l'endomètre a acquis l'état morphologique et fonctionnel adéquat pour la fixation du blastocyste. Ainsi, la réceptivité endométriale est essentielle pour la conception. Elle est étroitement liée à un environnement hormono-immunologique. En effet, les œstrogènes stimulent la prolifération de l'endomètre, dont l'épaisseur est corrélée au succès de la procréation médicale assistée (plus il diminue, plus le taux de réussite baisse) (48). Ils augmentent également en parallèle le nombre de récepteurs à la progestérone, qui permettront par des mécanismes moléculaires l'induction de la production d'intégrines endométriales indispensables pour une bonne implantation.(49). Or, l'hyperstimulation ovarienne contrôlée a un effet néfaste sur la réceptivité endométriale (50). En effet, les taux élevés, supra physiologiques, d'estradiol (E2) et de progestérone (P) au cours de la phase folliculaire, vont entraîner des altérations morphologiques et biochimiques de l'endomètre qui sera dans un état plus « avancé » que dans les cycles naturels. En fin de compte, ces changements physiologiques peuvent affecter les taux de réussite en FIV et ces niveaux anormaux d'E2 et P peuvent entraîner un asynchronisme de maturation entre l'endomètre et les embryons transférés. Cet environnement endométrial pourrait donc être la cause de certains échecs d'implantation (51).

Par ailleurs, une dérégulation des lymphocytes NK et T a également été décrite comme liée à des défauts d'implantation (13) (52).

Concernant la qualité embryonnaire, celle-ci est définie par rapport à des critères morphologiques, tels que la bonne cinétique des premières divisions embryonnaires (53), le taux de fragmentation de l'embryon, la compaction et la formation du blastocyste. Dans ce contexte, il existe une recherche continue de critères de notation qui permettraient d'effectuer de manière fiable la sélection des embryons ayant le meilleur potentiel d'implantation, le plus tôt possible pendant la période de culture (se reporter à la partie 4.2 traitant de la qualité embryonnaire).

A l'heure actuelle, l'évaluation de la constitution chromosomique des embryons obtenus in vitro a démontré qu'une grande partie d'entre eux sont porteurs d'anomalies chromosomiques(54). En effet, une corrélation a été trouvée entre des embryons dysmorphiques et des anomalies chromosomiques tels que le mosaïcisme diploïde, la polyploïdie et l'aneuploïdie. (55)

Par ailleurs, l'embryon sécrète de nombreux facteurs immunologiques tels que des cytokines, chémokines mais aussi le HLA-G qui est impliqué dans l'implantation et le développement embryonnaire (56).

Néanmoins, ces études sont à interpréter avec prudence, car aucun marqueur biologique de l'implantation n'a été à ce jour validé pour la pratique de routine(57).

Le développement de tels marqueurs est actuellement une thématique de recherche qui prend toute son importance, en particulier au vu de l'augmentation des problèmes d'infertilité et du recours à l'AMP.

# ***4 CD146***

## 4.1 Structure de CD146

Dans la littérature, on retrouve CD146 sous plusieurs dénominations en raison de sa présence dans plusieurs tissus (MUC18, MCAM...). Il s'agit d'une glycoprotéine membranaire et fait partie de la superfamille des immunoglobulines.

Le gène MCAM qui code pour CD146, est localisé au niveau du bras long du chromosome 11. (58). Ce gène code pour une protéine de 110-120 KDa composée de 646 acides aminés. La protéine est constituée d'un peptide signal, d'un domaine extracellulaire (avec 5 boucles immunoglobuline-like), d'un domaine transmembranaire et d'un domaine intra cytoplasmique.

*(D'après Sers et al. 1993)*

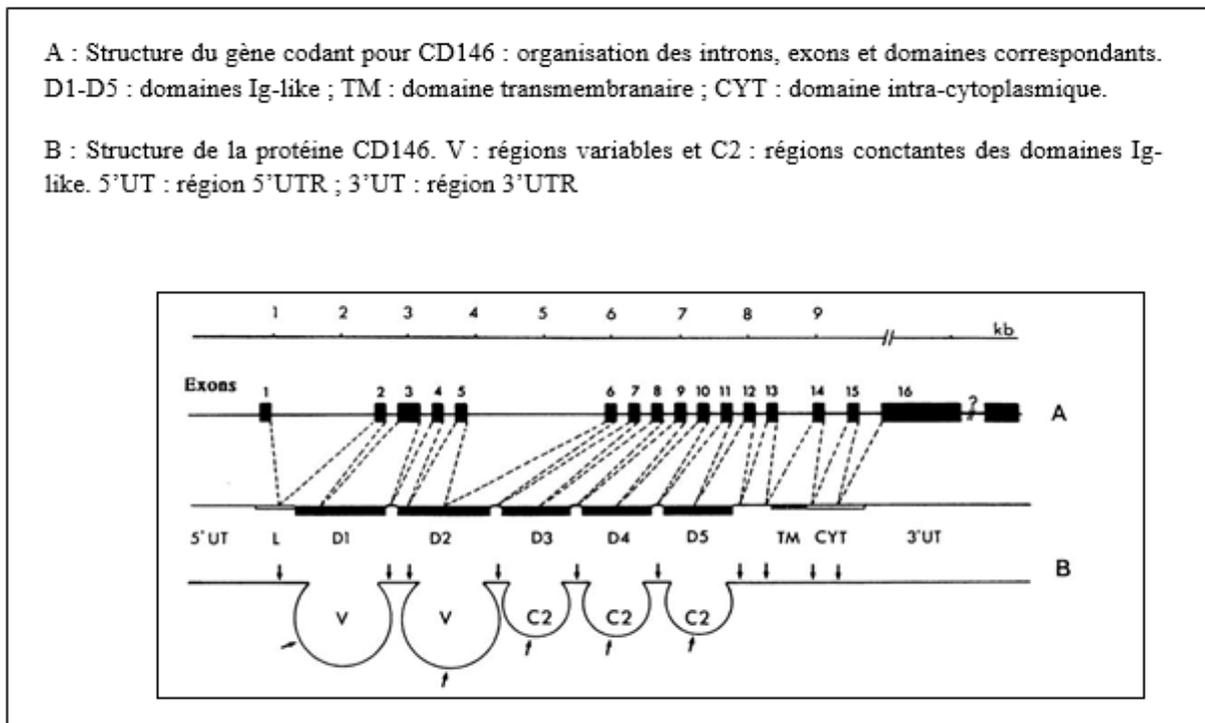


FIGURE 15- Structure du gène codant pour CD146 et structure de la protéine CD146 (58)

## 4.2 Isoformes de CD146

Le CD146, existe sous une forme membranaire (présente sous 2 isoformes), ainsi qu'une forme soluble.

### 4.2.1 Formes membranaires

On distingue 2 isoformes de CD146, CD146 long (CD146 -l) et CD146 short (CD146 -s) que l'on différencie par la longueur du domaine cytoplasmique (43 et 21 acides aminés). La différence provient d'un épissage alternatif de l'exon 15 (59).

La majorité des cellules exprimant CD146 ont les 2 isoformes, mais CD146 -l serait majoritaire à CD146 -s (60).

A/ Le domaine cytoplasmique de CD146, forme courte, est constitué de 3 sous-domaines : une séquence KKGK, interagissant avec les molécules ERM ; un sous-domaine de 12 acides aminés, comptant une séquence SGK représentant un site de phosphorylation par la PKC ; une séquence de 5 acides aminés, interagissant avec des protéines contenant un domaine PDZ.

B/ Cinq sous-domaines constituent le domaine cytoplasmique de la forme longue de CD146 : les 2 premiers sont identiques à ceux de la forme courte ; le 3<sup>ème</sup> contient un autre site de phosphorylation par la PKC, ainsi qu'une sérine en relation avec le cytosquelette d'actine ; le motif di-leucine (LL) intervient dans l'adressage de la protéine ; la séquence YIDL correspond à un motif d'endocytose.

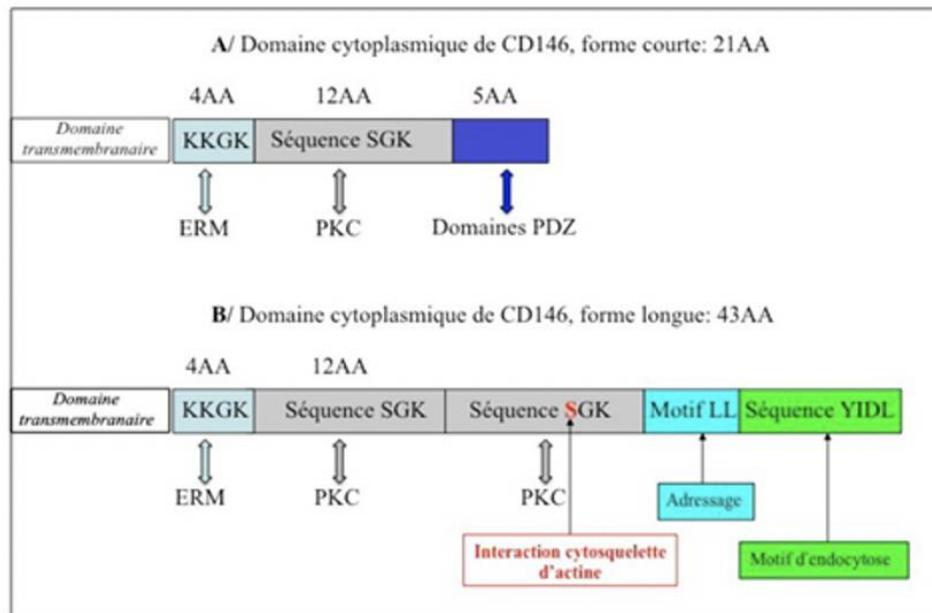


FIGURE 16- Différentes formes membranaires de CD146 (61)

CD146 -s est principalement retrouvé sur la membrane cellulaire (et en moindre proportion dans le cytoplasme) tandis que CD146 -l est localisé en intracellulaire.

## 4.2.2 Forme soluble

La protéolyse membranaire de CD146 par des métalloprotéases génère une forme soluble du CD146 (CD146s) de 100KDa. CD146s pourrait également être issu d'un phénomène d'épissage alternatif.(62).

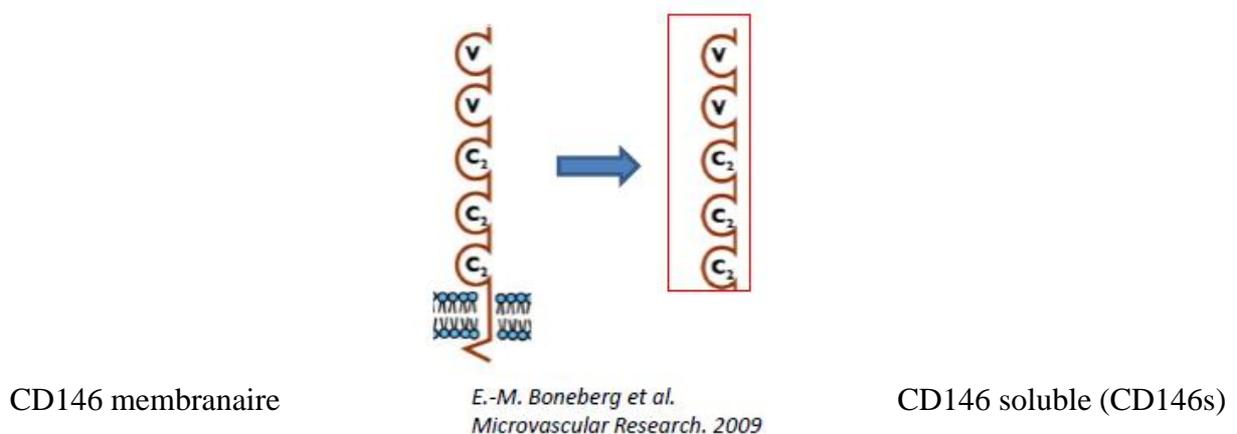


FIGURE-17- Représentation de la forme membranaire et de la forme soluble de CD146 (63)

Dans une étude,(64) CD146s a été décrit *in vivo* dans des prélèvements de sujets (sains et pathologiques) et *in vitro* dans des surnageants de culture endothéliale. *In vivo*, CD146s est reconnu comme un biomarqueur de la fonction endothéliale et dans l'étude précédente, des valeurs normales sériques ont été établies chez 300 sujets sains (260+/-60 ng/mL).

On retrouve des variations du taux de CD146s dans les prélèvements sériques :

- Soit physiologiques : le taux de CD146s est physiologiquement plus élevé chez les sujets de plus de 50 ans et chez les sujets masculins.
- Soit pathologiques : Le taux de CD146s connaît des fluctuations dans des contextes pathologiques variés (65), principalement dans les pathologies inflammatoires ou les atteintes vasculaires, mais aussi dans l'insuffisance rénale chronique où il est augmenté. Par ailleurs, au niveau obstétrical, une augmentation du CD146s a aussi été associée à des phénomènes de fausses couches répétées (66)

## 4.3 Partenaires et voies de signalisation

CD146 utilise différentes partenaires et voies de signalisation, qui lui permettent d'acquérir ses fonctions d'adhésion, de migration, d'invasion, de survie et de prolifération

- La laminine 411 : Au niveau endothélial, elle est un ligand de CD146 et a une co-liaison avec le CD146 impliquée dans l'adhésion des lymphocytes T (67).
- La galectine 1 : C'est un ligand de CD146 dont la co-liaison permet un contrôle de l'apoptose au niveau endothélial(68).
- L'angiomotine : Elle a une co-liaison avec le CD146s ayant un rôle dans la stimulation des voies de signalisation pro-angiogénique : en effet , dans une expérience, l'utilisation d'inhibiteurs de l'angiomotine a inhibé les effets pro-angiogéniques de CD146s (69).
- Voie VEGFR2 : Au niveau endothélial, il a une co-liaison avec le CD146 nécessaire pour la transduction du signal induite par le VEGF, avec un effet pro-angiogénique(70). Il a été montré en effet, que CD146 et VEGFR-2 présentent une interaction directe (par des expériences de co-immunoprécipitation sur des cellules endothéliales), et que cette interaction est indispensable pour permettre la transduction du signal induite par le VEGF (70) (71). Une étude a également mis en évidence que CD146 était essentiel au développement du système vasculaire rénal en association avec la voie de signalisation du VEGF(72)
- Voie Wnt : L'interaction de Wnt 5a avec le CD146 a un rôle dans la régulation de la migration cellulaire (73)(71).De plus, Le CD146 active la voie non canonique Wnt passant par la kinase JNK (c-jun amino-terminal kinase) et inhibe la voie canonique de Wnt entraînant la dégradation d'un des constituants des jonctions adhérentes, la Bêta-caténine (73).Cette interaction entre CD146 et la voie Wnt intervient dans la régulation du processus fibrotique . En effet, en l'absence de CD146, la voie canonique WNT n'est plus régulée entraînant une surexpression de la Bêta-caténine, activant la voie profibrotique du TGF (71)(74).
- Il a également été décrit que le CD146, dans les cellules endothéliales, intervenait dans les voies de signalisation MAPK (mitogen activated protein kinase)- p38/NFkB (Nuclear factor kappa B), qui activent la transcription de gènes codant pour la cascade de signalisation AKT, impliquée dans la survie et la prolifération cellulaire (75) (70)

- Des voies de signalisation sont impliquées dans la migration cellulaire régulée par CD146. En effet, le domaine cytoplasmique « KKGK » aurait des interactions avec des protéines de la famille ERM, qui sont liées à l'actine. Or, CD146 a un rôle de phosphorylation des protéines ERM ce qui va aboutir in fine à des mécanismes permettant une augmentation de RhoA qui permet entre autre la formation de villosités cytoplasmiques qui permettent la mobilité cellulaire (76).

## 4.4 Localisation de CD146

CD146 est principalement localisé sur l'endothélium(77) quel que soit le type ou le calibre des vaisseaux. Il n'est pas spécifique de l'endothélium car d'autres types cellulaires l'expriment comme les cellules cancéreuses et notamment celles du mélanome métastasant (78)(79) , ou les cellules musculaires lisses, ou les Lymphocytes T CD4 TH17 (sécrétant l'IL17) (80).

CD146 est exprimé par différentes cellules ou tissus impliqués dans la reproduction :

- **Les trophoblastes extravilleux :**

Le CD146 est exprimé sur le trophoblaste extravilleux invasif, qui va permettre de coloniser la paroi des artères utérines, ce qui contribuera plus tard à assurer une bonne vascularisation placentaire indispensable pour le développement embryonnaire et fœtal. (81)(82).

- **L'endomètre (83)**

Il a été montré que le CD146 est absent de l'endomètre des femmes non enceintes, et présent dans l'endomètre des femmes enceintes (84).

Il a également été montré que la concentration de CD146 est augmentée dans l'endomètre maternel réceptif (84).

De plus, les cellules souches progénitrices de l'endomètre, qui sont probablement impliquées dans la régénération cyclique de l'endomètre chaque mois, sont CD146+ entre autres. (85)

- **Les gamètes :**

- Le complexe cumulus-ovocyte :

CD146 est exprimée par les cellules lutéinisantes de la granulosa et cette expression est régulée par la LH et l'hCG pendant la lutéinisation(86).

Une étude s'est intéressée à la composition cellulaire du liquide folliculaire ovarien, avec isolement et caractérisation par immunohistochimie des cellules obtenues. Des cellules de type fibroblastes avec des caractéristiques de cellules souches ont été obtenues qui exprimaient CD146 (87)(88)

A notre connaissance, la présence de CD146 sur les ovocytes n'a jamais été décrite.

- Le spermatozoïde:

CD146 a été retrouvé à la surface des cellules souches spermatogoniales. Cette même étude a montré qu'en culture, l'inactivation de CD146 entraîne une diminution des cellules souches spermatogoniales, suggérant un rôle de CD146 dans la différenciation des spermatozoïdes (89). En accord avec cette hypothèse, il a été mis en évidence que CD146 représenterait un marqueur d'un sous ensemble de spermatogonies indifférenciées (90).

En revanche, aucune étude n'a recherché son expression sur les spermatozoïdes.

- **L'embryon du stade J2 au stade de blastocyste à J5**

Wang et al ont étudié par RT-PCR l'expression de l'ARN messager dans les embryons de souris et les embryons humains (ces derniers étant issus de FIV et ayant eu une fécondation anormale à 3 pronucleï donc non transférables et non congelables ou alors ayant eu une fécondation normale mais étant de qualité très médiocre). (91) Les résultats ont montré que le transcrit de CD146 est détecté dans toutes les morulas et tous les blastocystes murins et humains préimplantatoires. L'étude conclut que le CD146 pourrait avoir un rôle majeur dans l'implantation des embryons. L'étude confirme également la présence du CD146 sur les trophoblastes extravilleux.(91)

D'autre part, Bouvier et al ont également montré que CD146 est localisé au niveau de l'embryon humain par immunohistochimie au stade J2, J3, morula et blastocyste J5. Ici les embryons utilisés avaient été congelés après FIV. Il s'agissait d'embryons surnuméraires, de qualité satisfaisante (A,B voire C), ayant eu une fécondation normale, donnés à la recherche médicale par des couples qui n'avaient plus de projet parental , ils présentaient toutes les qualités requises pour être transférés) (2)

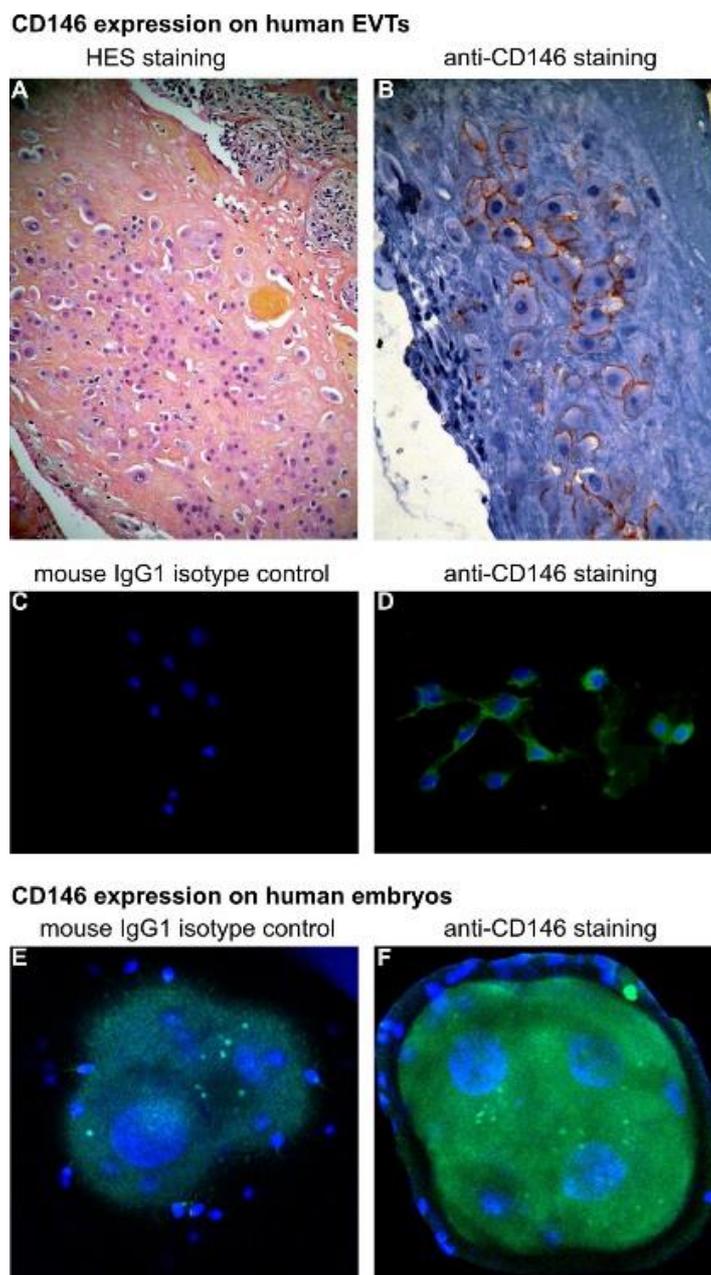


FIGURE 18- Schéma mettant en évidence l'expression du CD146 sur les trophoblastes extra-villeux et sur l'embryon (ici à J2) (2)

## 4.5 Fonctions de CD146

CD146 est une molécule d'adhésion impliquée principalement dans les fonctions suivantes :

- **L'adhérence et perméabilité cellulaires** : De façon indépendante du calcium, et de par sa localisation jonctionnelle et son interaction avec le cytosquelette d'actine, CD146 a un rôle dans la perméabilité de l'endothélium et dans l'adhésion cellule-cellule. Les 2 isoformes membranaires CD146 -s et CD146 -l ont a priori les mêmes capacités d'adhérence, même si CD146 -l serait un peu plus impliqué dans la transmigration leucocytaire endothéliale (60).
- **L'inflammation** : CD146 et CD146s sont impliqués dans l'inflammation (92). CD146 va participer au recrutement des cellules mononucléaires du compartiment vasculaire vers le site de l'inflammation (62).

De plus, il a été démontré que CD146 ainsi que sa forme soluble, interviennent dans la formation et la progression de la plaque d'athérosclérose en régulant l'infiltration des monocytes dans la paroi artérielle(93) et en favorisant la sécrétion d'IL8 par les cellules endothéliales, ce qui induit le recrutement des neutrophiles sur le site inflammatoire(94). L'augmentation de l'expression du CD146 par les Lymphocytes T (LT) CD4 dans la circulation sanguine a été décrite dans des maladies inflammatoires ou auto-immunes (80)

Une revue de la littérature (71) met en évidence que plusieurs études ont démontré que CD146 et sa forme soluble contribuent à la pathogenèse de nombreuses maladies auto-immunes inflammatoires, comme par exemple la sclérodémie systémique où CD146s est significativement plus élevé dans deux cohortes de patients atteints de sclérodémie systémique par rapport aux sujets sains et décroît en fonction de la gravité de la maladie(74).

- **L'Angiogenèse** : CD146 joue un rôle dans le développement vasculaire lors de l'embryogenèse. En effet une étude (95) montre que la diminution de l'expression de CD146 chez le poisson zèbre inhibe le développement des vaisseaux inter-somitiques et diminue le flux sanguin intravasculaire. Une étude (96) montre que dans un modèle murin d'ischémie de la patte, l'injection de CD146s réduit la nécrose et l'inflammation, tout en stimulant la néo-vascularisation du site ischémié.

- **Plusieurs études montrent que CD146/CD146 soluble sont impliquées dans la physiopathologie tumorale :**

- Une surexpression de CD146 sur les cellules cancéreuses a été décrite, comme par exemple sur le mélanome métastasant (78)(79) ou dans le cancer de la thyroïde. (97)
- Dans les cancers de l'endomètre et du col de l'utérus (98) : Le taux de CD146 était plus élevé dans les cellules cancéreuses et était corrélé au grade histologique de malignité.

Mais CD146 était également présent dans la circulation vasculaire ce qui confirme le rôle de CD146 dans la propagation de métastases.

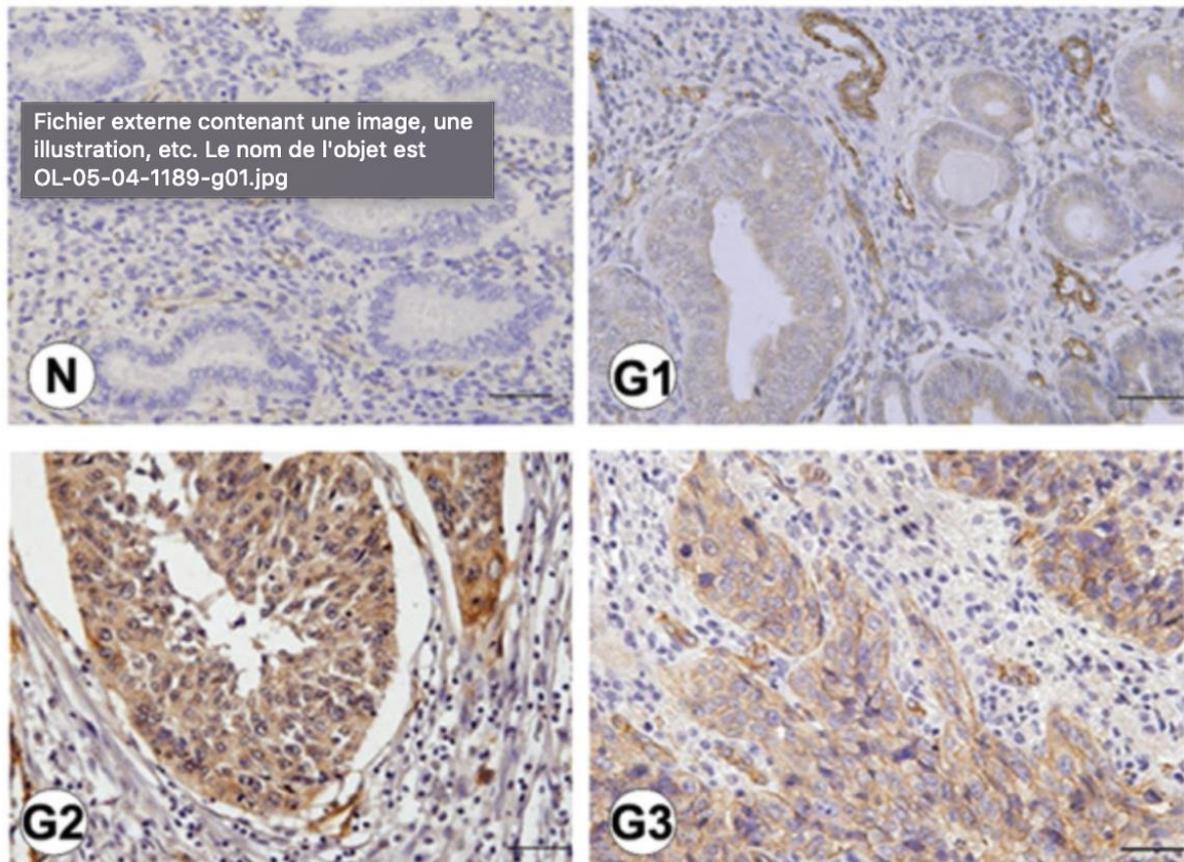


FIGURE 19- Expression de CD146 dans les échantillons cliniques de tissu endométrial normal (N) et cancéreux(G1,G2,G3) (98)

- Dans le cancer du poumon, une augmentation du CD146s plasmatique a également été décrite, et cette augmentation était de mauvais pronostic et corrélée à l'activation angiogénique reflétée par une augmentation des cellules endothéliales circulantes(99)
- Une surexpression membranaire de CD146 a également été observée sur diverses lignées cellulaires cancéreuses telles que les cancers du sein, du rein, de l'estomac, de l'ovaire et de la prostate (100)(101)(79)
- De manière générale, une expression élevée de CD146 membranaire et une concentration élevée de CD146s dans le plasma sont associées à une augmentation de la prolifération, de la mobilité, de la dissémination métastatique et de l'angiogenèse tumorale des cellules cancéreuses, ainsi qu'à une diminution de la survie globale des patients (102)(103)

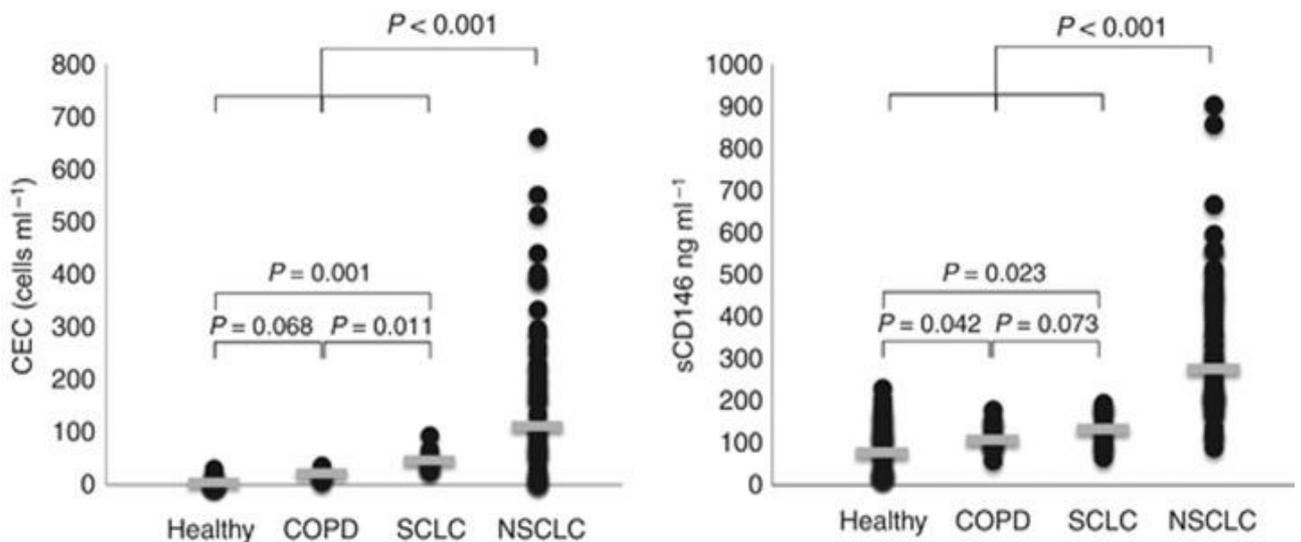


FIGURE 20- Schéma reflétant la concentration en cellules circulantes endothéliales ( à gauche) et la concentration plasmatique en CD146s (à droite) (99)

- *In vivo*, une réduction de la croissance tumorale et de la densité de la vascularisation tumorale a été observée après l'injection d'un anticorps monoclonal anti-CD146 (AA98) chez la souris. (104)

Cela montre l'impact du CD146 sur le développement tumoral par ses propriétés pro-angiogéniques.

- Rôle dans la formation de métastases (105).

Dans l'étude de Luo et al(2012) (76), qui décrit l'interaction de CD146 avec les protéines ERM, il est également montré que l'expression de ces protéines est corrélée avec la mobilité cellulaire des cellules de mélanome, ce qui suggère que CD146 peut être indirectement impliqué dans la formation de métastases.

Une autre étude a montré que la surexpression de CD146 sur les lignées cellulaires de cancer du sein était associé à un risque plus important de cancer métastatique(106).

Une étude a également montré que le CD146 favorisait la transition mésenchymateuse épithéliale et donc les métastases dans le carcinome hépatocellulaire et qu'une expression élevée de CD146 sur les lignées cellulaires de ce même type de cancer était de mauvais pronostic (107)

## 4.6 Implication de CD146/CD146s en gynécologie obstétrique et en reproduction

L'implantation embryonnaire, la placentation et le bon déroulement de la grossesse dépendent d'interactions complexes entre les tissus maternel et embryonnaire ou fœtal.

L'implantation embryonnaire fait appel à de nombreux mécanismes, nécessitant un dialogue permanent entre l'endomètre et l'embryon, contrôlé par de nombreux facteurs (108). A chaque étape, différents acteurs entrent en jeu. Par exemple, l'adhésion de l'œuf à l'endomètre fait intervenir différentes molécules d'adhésion (E-cadhérines, sélectines...) et de nombreux facteurs tels que des cytokines (LIF, IL-6, IL-1), HLA-G, et HB-EGF. Ce dernier va par la suite activer la différenciation du trophoblaste en syncytiotrophoblaste, ce qui permettra la fixation puis l'invasion de l'œuf dans l'endomètre (109) en particulier grâce à l'expression de différentes intégrines (110). L'implantation est totalement achevée avec la formation de la caduque ovulaire.

Par la suite, les trophoblastes villosités se développent, permettant un ancrage solide de l'œuf dans l'endomètre. Certaines cellules trophoblastiques vont migrer, devenir des trophoblastes extra-villosités, et coloniser la paroi des artères utérines. Ces étapes sont indispensables pour permettre la placentation et un bon développement fœtal.

Plusieurs études dans la littérature montrent le rôle de CD146 / CD146s dans ces processus.

## 4.6.1 Rôle dans l'invasion trophoblastique

L'invasion des trophoblastes extravilloux dans l'endomètre est nécessaire pour établir la vascularisation utéroplacentaire indispensable au bon développement embryonnaire et fœtal. CD146 est une molécule d'adhésion, jouant un rôle angiogénique important. De plus, pendant la placentation, il a été démontré que CD146 est exprimé de façon sélective dans les trophoblastes extravilloux et régule leur migration. (111)(82)

Les trophoblastes extravilloux ont, en envahissant la caduque et en remodelant les artères spiralées utérines, un rôle crucial dans l'établissement de la circulation materno-fœtale.

Des expériences, *in vivo* et *in vitro*, ont montré que des anticorps bloquant anti CD146 empêchaient l'implantation embryonnaire en inhibant l'activité des collagénases MMP 2 et 9, ce qui bloque la prolifération trophoblastique, l'angiogenèse et la vascularisation, et stimule l'apoptose. (84)

Lors des premières phases de la grossesse, CD146 soluble semble jouer un rôle majeur dans la régulation de l'invasion et de la migration des trophoblastes intermédiaires et extravilloux pour assurer une vascularisation et une implantation adéquate de l'embryon. (112) (84)

De plus, des expériences de migration cellulaire ont été réalisées pour étudier les effets de CD146s et/ou galectine 1 sur la migration des trophoblastes. Elles attestent les effets opposés de gal1 et CD146s sur la migration des trophoblastes puisque contrairement à gal1, CD146s inhibe la migration trophoblastique (113).

## 4.6.2 Rôle dans l'implantation embryonnaire

Dans une étude de Kaspi et al(111), chez un groupe de 50 femmes enceintes, le taux plasmatique de CD146 soluble a été étudié : les résultats montrent que le CD146s plasmatique diminue progressivement tout au long de la grossesse.

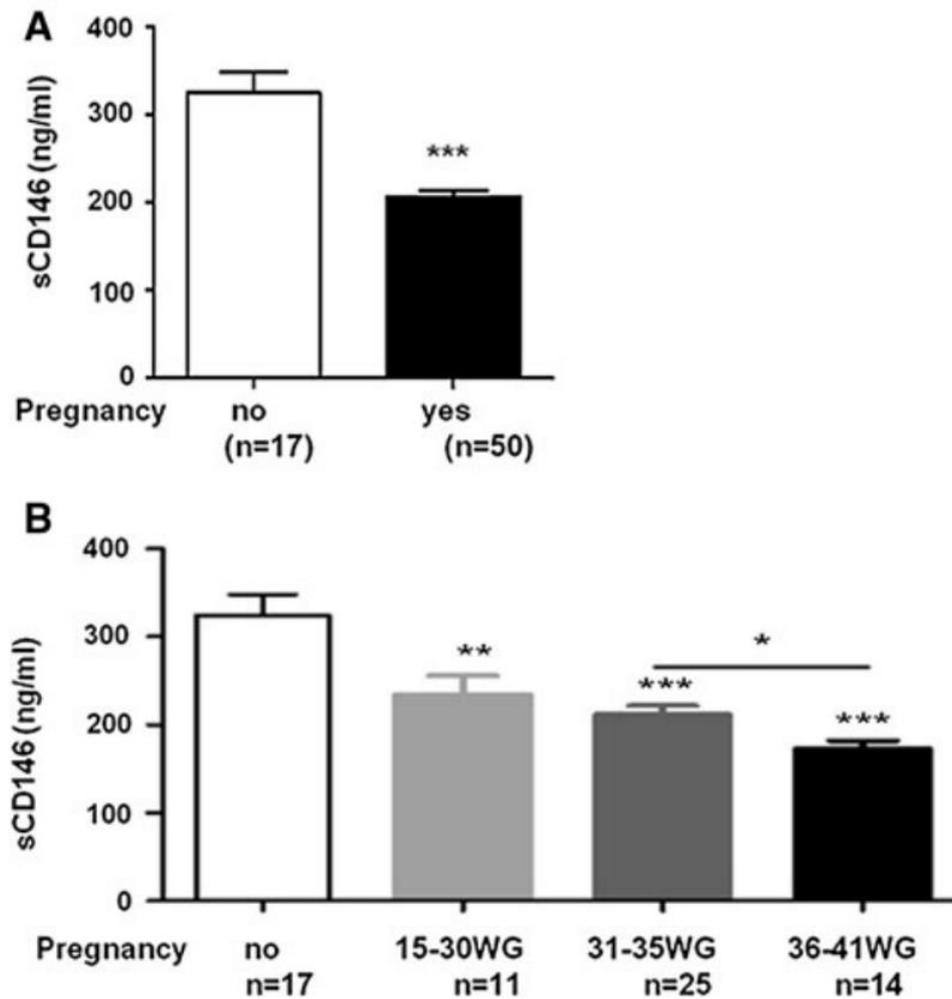


FIGURE 21- Étude de la concentration plasmatique en CD146s comparative entre femmes enceintes et femmes non enceintes (A) et en fonction du stade de la grossesse (B)(111)

WG = semaine de grossesse

Ainsi, les travaux de recherche de cette étude ont voulu explorer plus précisément le rôle du CD146s dans le développement embryonnaire.

*In vitro*, la stimulation par CD146 soluble diminue significativement la migration et l'invasion des trophoblastes (lignée HTR8/svneo).

*In vivo*, l'administration répétée de CD146 soluble chez le rat après l'accouplement a entraîné une diminution significative du taux de grossesse et du nombre d'embryons implantés. Dans ces conditions, des études histologiques réalisées sur le placenta ont mis en évidence une migration réduite de cellules équivalentes aux trophoblastes extra villosus humains chez le rat.

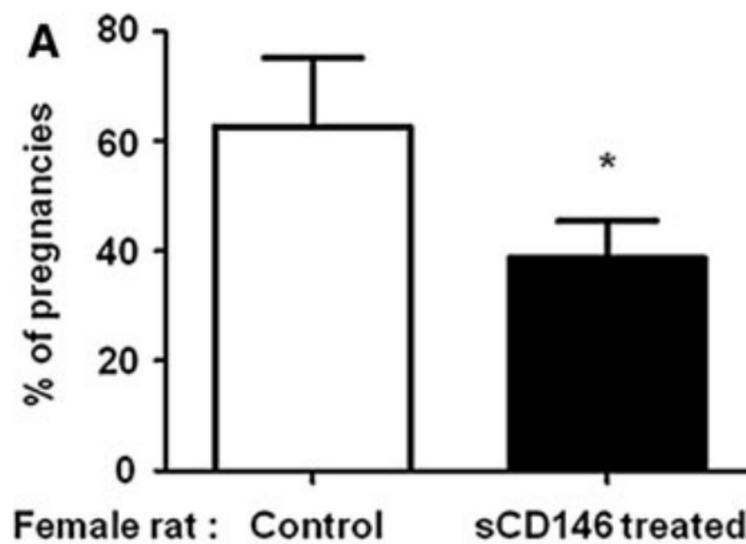


FIGURE 22-Comparaison du taux de grossesse entre les rats du groupe contrôle et les rats traités par CD146s (111)

Une étude sur un modèle murin (84) s'est intéressée à l'expression de CD146 au niveau de l'utérus de la femelle gravide pendant la fenêtre d'implantation, en réalisant une hybridation *in situ* et une immunohistochimie.

Les résultats de l'hybridation *in situ* ont montré que l'ARN messager de CD146 était exprimé sélectivement dans l'utérus des femelles gravides (Image B de la figure 21), mais était absent dans les utérus des femelles non gravides (Image A de la figure 21).

Au cours de la fenêtre d'implantation, le signal CD146 était largement distribué dans l'épithélium luminal, les glandes et les cellules stromales de l'utérus réceptif.

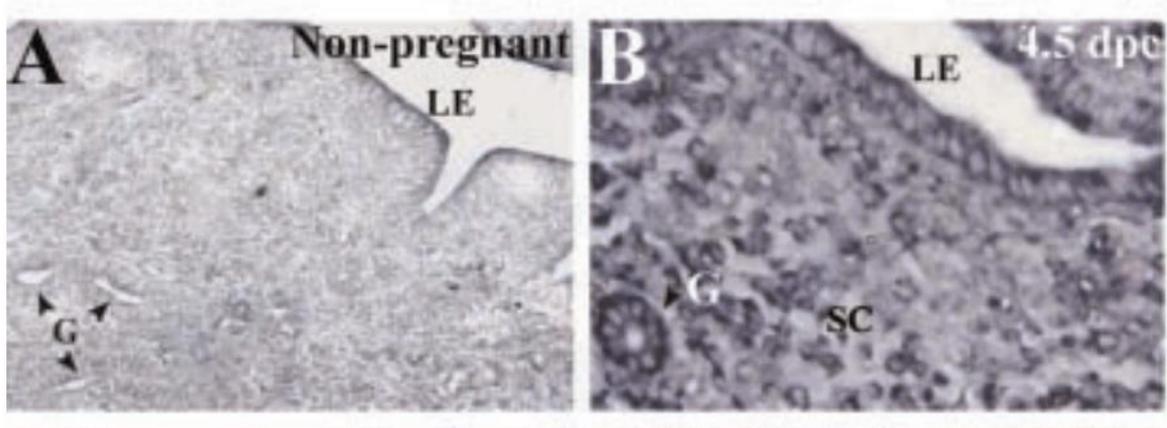


FIGURE 23-Comparaison de l'expression de CD146 au niveau de l'utérus de femelles non gravides et gravides (84)

Cependant, ce signal a progressivement disparu de l'épithélium luminal utérin et des glandes après la fenêtre d'implantation mais a persisté dans les cellules stromales.

Les résultats ci-dessus ont été confirmés par des études immunohistochimiques (84) utilisant des anticorps polyclonaux anti-CD146 de lapin : elles ont montré que le CD146 était spécifiquement exprimé sur l'utérus maternel réceptif au cours de la fenêtre d'implantation, mais que son expression diminuait considérablement une fois la fenêtre d'implantation terminée.

De plus, dans cette même étude, pour étudier si CD146 était impliqué dans l'implantation *in vivo*, un anticorps anti CD146 a été injecté dans la corne utérine gauche de souris gravides et a été comparé à la corne utérine droite des mêmes souris qui servait de témoin : 5 à 7 embryons implantés ont été retrouvés dans la cornes utérine droite contre aucun embryon (ou seulement 1 à 2 mal développés) dans la corne utérine gauche. Cela démontre que l'échec d'implantation a clairement été induit par le blocage de CD146.

### 4.6.3 Rôle en pathologie obstétricale : prééclampsie et pertes fœtales

L'expression de CD146 sur les cellules du trophoblaste au cours des prééclampsies, complications obstétricales associées au placenta, est fortement diminuée voire absente (bien que CD146 soit présent dans la circulation sanguine), en rapport avec une baisse des capacités invasives de ces trophoblastes (112). Le rôle de la galectine 1 a été particulièrement décrit dans deux études :

- Une étude (114), a permis de mettre en évidence que la galectine 1 est exprimée sur les embryons humains préimplantatoires au niveau du trophoblaste et de la masse cellulaire interne. Cette même étude a mis en évidence que les taux de galectine 1 sériques étaient significativement diminués chez les femmes ayant subi une fausse couche.
- Une autre étude (115) a mis en évidence que le blocage de la galectine 1 par des anticorps anti-galectine 1 diminuait l'invasion des cellules trophoblastiques humaines, tandis qu'une concentration sérique élevée de galectine augmentait l'invasion par les cellules trophoblastiques.

Dans une étude, Bouvier et al ont analysé l'expression conjointe de CD146s et de la galectine 1 (Gal 1). Cette étude (113) a été réalisée de manière prospective avec 115 femmes qui ont été réparties dans 3 groupes différents :

- 30 femmes en bonne santé, non enceintes
- 50 avec des grossesses normales
- 35 avec des complications de grossesse dont l'origine était le placenta

Chez les femmes ayant une grossesse normale par rapport aux femmes non enceintes, CD146s était abaissé et Gal 1 était augmentée. La cinétique des 2 marqueurs était donc opposée : le taux de gal 1 a régulièrement augmenté tout au long de la grossesse tandis que le taux de CD146s a régulièrement diminué au cours de la grossesse.

Chez les femmes atteintes de prééclampsie, CD146s était significativement plus élevé par rapport aux femmes ayant des grossesses normales, avec un taux de Gal 1 sans différence significative par rapport au groupe des femmes ayant eu une grossesse normale.

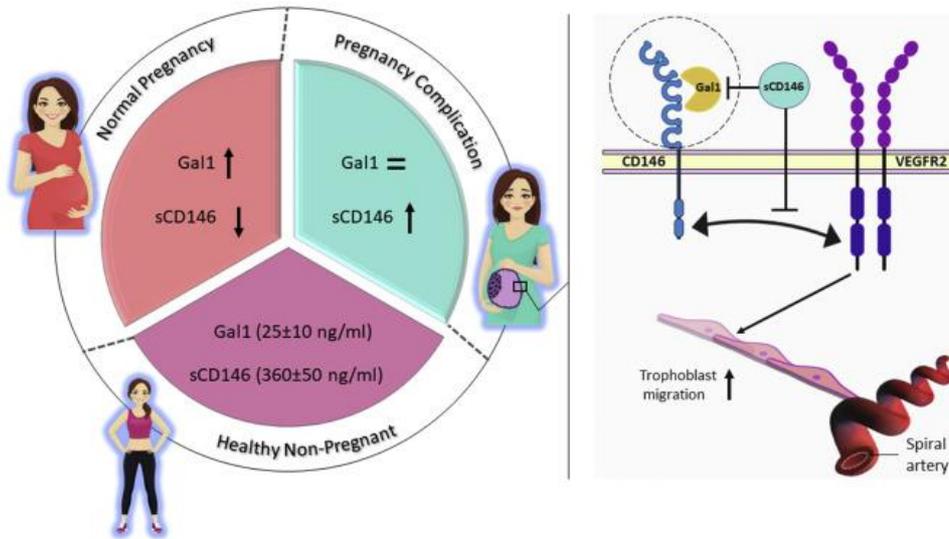


FIGURE 24– Variation des concentrations sériques de CD146s et Galectine 1 en fonction du statut gynécologique et obstétrical de la femme (113)

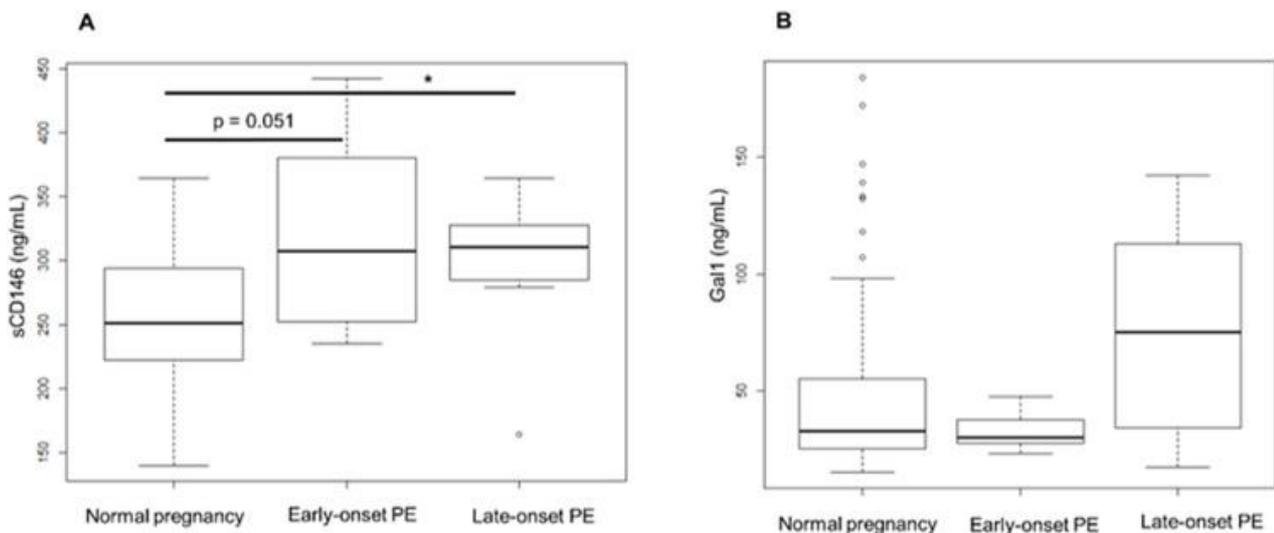


FIGURE 25- Variations des taux sériques de CD146s et Gal 1 dans la prééclampsie(113)

Concernant les pertes fœtales, dans une étude cas témoin appariée, une comparaison des concentrations plasmatiques de CD146s a été faite entre les 2 groupes suivants :

- 100 femmes constituant le groupe des patientes ayant eu des pertes de grossesse inexplicables (2 pertes consécutives ou plus avant 23 SA, ou bien au moins une perte à partir de 23 SA) ; parmi ce groupe de femme, 83 ont eu des FCS précoces et 22 une FCS tardive.
- 100 femmes témoins appariées selon l'âge (pas de perte de grossesse et au moins un enfant né)

L'étude a mis en évidence que la concentration plasmatique en CD146s était significativement plus élevée dans le groupe des patientes, en précisant que la concentration plasmatique en CD146s n'était pas corrélée avec le nombre de FCS, et qu'elle n'était pas liée avec le fait que la FCS soit précoce ou tardive(66).

Ainsi, ces multiples études ont permis de mettre en lumière l'implication de CD146/CD146s, tant au niveau de la physiologie de la reproduction, que de la physiopathologie obstétricale. C'est donc avec la mise en évidence du rôle important de CD146/CD146s dans le domaine de la gynécologie obstétrique et de la reproduction (116), que des travaux de recherche ont été réalisés afin d'étudier son intérêt en AMP.

***5 INTERÊT DE  
CD146/CD146s EN  
AMP***

## 5.1 Problématique

A l'heure actuelle, les équipes d'AMP tendent à augmenter le nombre de FIV avec transfert électif d'un embryon (eSET). L'eSET est de plus en plus couramment utilisé dans les protocoles de FIV afin de réduire les taux de grossesses multiples qui ont un risque plus important de complications médicales, périnatales et néonatales (117) (118). Des revues et méta-analyses montrent que les grossesses obtenues à partir eSET sont associées à une baisse des naissances prématurées par rapport au transfert de 2 embryons. (119).

Mais l'objectif de l'eSET est aussi de ne pas diminuer les chances de grossesse.

Ainsi, l'eSET doit sélectionner les embryons les plus évolutifs afin d'améliorer les taux de grossesses, tout en réduisant la survenue d'anomalies génétiques et de grossesses multiples. (120)

L'importance d'évoluer vers le transfert d'embryon unique (eSET) renforce la nécessité de critères de sélection efficaces.

Dans leur revue, Simopoulou et al (1) mettent en évidence les besoins de marqueurs prédictifs dans le domaine de la FIV afin d'améliorer la sélection d'un embryon unique avec le meilleur potentiel d'implantation.

Actuellement la tendance est au développement de nouvelles stratégies diagnostiques (53) afin d'identifier des marqueurs biologiques de viabilité embryonnaire, qui seraient un complément précieux à l'étude traditionnelle morphologique des embryons :

-Les approches dites « omiques » sont à l'étude en tant que méthodes non invasives : génomique, transcriptomique, protéomique et métabolomique (121)

-Le time lapse (imagerie accélérée) : L'imagerie time lapse a pour avantage de faire de multiples observations, tout en maintenant des conditions de culture stable grâce à un microscope intégré dans l'incubateur (122). Cela met à la disposition du corps médical des données plus complètes et de meilleure qualité sur la cinétique du développement embryonnaire. Des recherches sont faites pour améliorer l'analyse time-lapse en essayant d'identifier de nouveaux marqueurs dynamiques (123). Cela pourrait aboutir, à terme, à une sélection automatisée d'embryons avec les meilleures probabilités d'implantation (124).

-Le dépistage génétique préimplantatoire (DPI) en screening : Il est en plein développement et consiste à identifier les embryons porteurs d'anomalies chromosomiques afin de ne pas les proposer pour un transfert. Il n'y a pas encore de preuves significatives qu'il contribue à améliorer les taux de grossesse : il n'est a priori pas efficace lorsque les embryons sont au stade J2 mais il y a encore un débat quant à son efficacité au stade de blastocyste. Le DPI s'effectue actuellement grâce au système de micro puces d'ADN(125) , au next generation sequencing (NGS) et au caryomapping (126) (127).Il n'est actuellement pas autorisé en France.

Mais les méthodes « omiques », le time-lapse et le diagnostic préimplantatoire ne sont pas encore tous installés en routine ou sont encore chers.

Ainsi la recherche de marqueurs biologiques non invasifs permettant la sélection d'embryon avec le meilleur potentiel implantatoire est aujourd'hui une nécessité.

Parmi ces marqueurs et en tenant compte des différents rôles de la molécule, en particulier dans la migration des trophoblastes et l'implantation embryonnaire, CD146s représente un candidat intéressant.

## 5.2 Apport de CD146 en AMP

Une étude préliminaire a été réalisée au centre d'AMP de la Conception, portant sur 162 couples ayant bénéficié d'un transfert d'embryon après tentative de fécondation in vitro (FIV). (128) Elle a permis de mettre en évidence :

- La présence du CD146 soluble dans les milieux de culture embryonnaire, dosable dès le J2
- Des taux de CD146s plus élevés (de façon non significative) dans les milieux de culture des embryons transférés qui ne se sont pas implantés par rapport à ceux ayant conduit à une grossesse

Ainsi, cette étude a mis en perspective un rôle potentiel de CD146s dans la sélection embryonnaire.

Une deuxième étude rétrospective a été réalisée (2) sur 126 couples ayant eu une tentative de FIV. Le milieu de culture embryonnaire de chaque embryon transféré, au nombre total de 222, a été recueilli pour le dosage par technique ELISA du CD146s. Dans le groupe des embryons ne s'étant pas implantés, au nombre de 185, les concentrations de CD146s étaient significativement plus élevées que dans le groupe des embryons s'étant implantés (au nombre de 37). De plus le grade embryonnaire et la concentration de CD146s n'étaient pas corrélés ( $p=0,7$ ). Des analyses multivariées avec ajustement sur la classification d'Istanbul ont confirmé une association significative entre une faible concentration de CD146s et la survenue d'une implantation ( $p=0,024$ ) ou l'établissement d'une grossesse ( $p=0,007$ ).

Ainsi, le taux de CD146s dans le milieu de culture embryonnaire semble être indépendant de la qualité embryonnaire observée morphologiquement mais son augmentation est un facteur prédictif de mauvaise implantation embryonnaire. Son dosage permettrait donc d'obtenir une information complémentaire à l'étude morphologique actuelle.

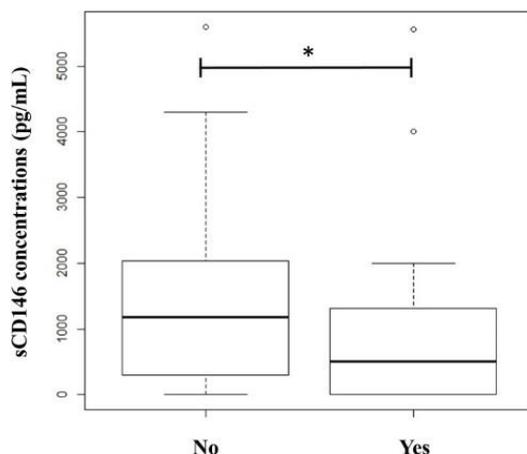


FIGURE 26- Concentration en CD146s entre les embryons implantés (YES, n=37) et les embryons non implantés (NO, n=185) (2)

L'analyse de sensibilité réalisée sur des transferts d'embryons uniques (n=71) a confirmé cette association. La courbe ROC calculée a établi que la concentration optimale de CD146s pour l'implantation d'embryons est inférieure à 1164 pg/mL avec une sensibilité de 76%, une spécificité de 48%, une valeur prédictive positive de 25% et une valeur prédictive négative de 92%. Au-delà de ce seuil de CD146s, le taux d'implantation était significativement plus faible (9% avec des taux de CD146s >1164 pg/mL vs 22% avec des taux de CD146s < 1164 pg/mL), p=0.01).

D'autre part, un marquage immunohistochimique de CD146 a été réalisé sur des embryons humains, au stade J2, J3, J4 et J5, cryoconservés à l'issue d'une FIV puis cédés à la recherche par les couples n'ayant plus de projet parental (2). Ce marquage a révélé la présence de CD146 dans la membrane et le cytoplasme des blastomères dès les premiers stades embryonnaires (J2 et J3).

CD146 a également été retrouvé dans le trophoblaste et la masse cellulaire interne du blastocyste.

Une analyse en western blot a été effectuée sur des milieux de culture embryonnaire de FIV récupérés après transfert d'embryon. Le western blot réalisé avec différentes concentrations de CD146s évaluées par ELISA a permis de confirmer la présence de CD146s dans ces milieux de culture embryonnaire : ce CD146s provient donc de l'embryon lui-même. Le dosage du CD146s dans les milieux de culture d'embryons a montré que la concentration de CD146s était plus élevée de façon significative à J5 ; il n'y avait en revanche pas de différence significative entre le J2 et le J3.(Figure 3C)(2)

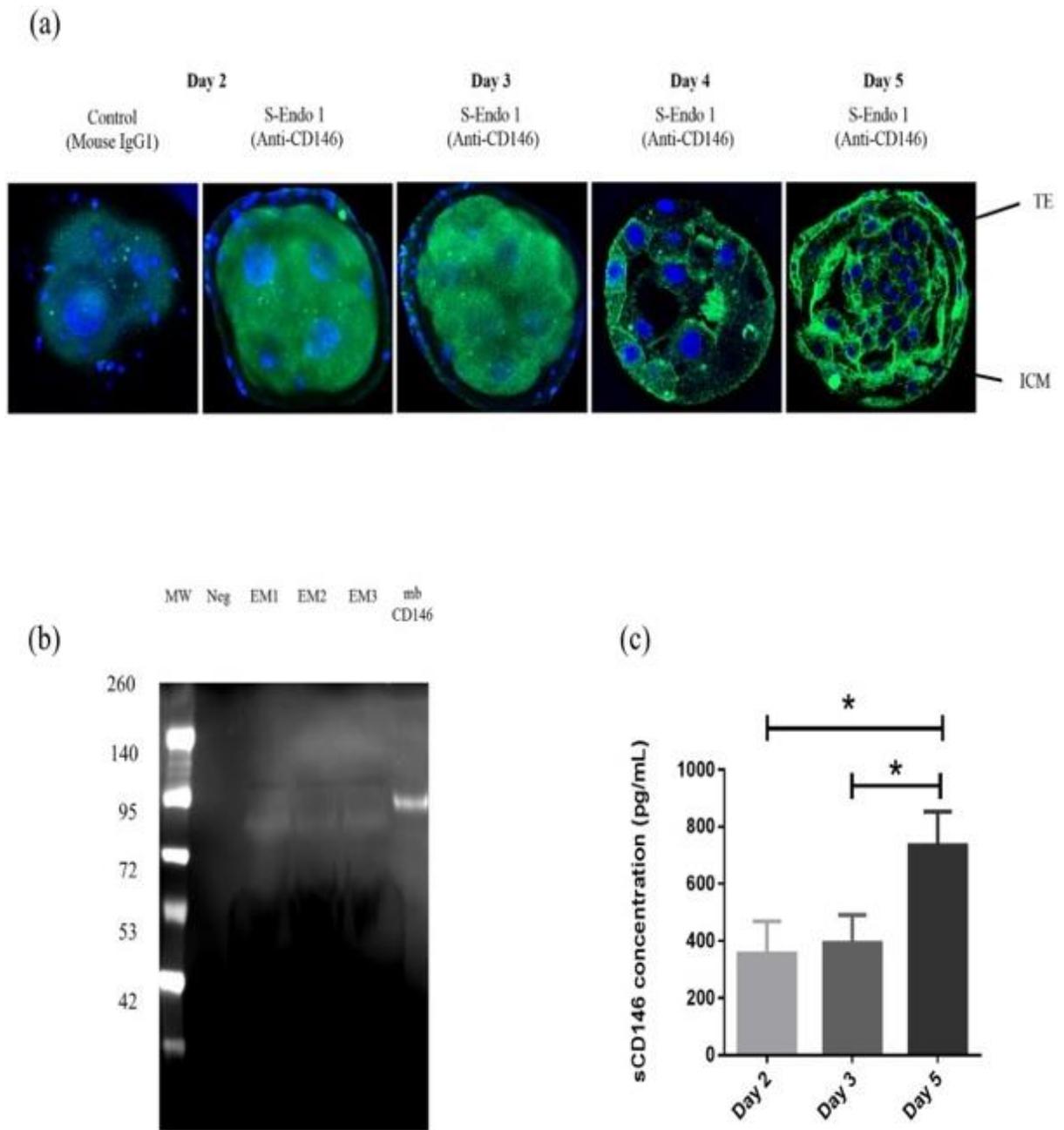


FIGURE 27- Présence de CD146 dans les embryons et milieux de culture d'embryons (2)

3a : Marquage immunohistochimique de CD146 aux premiers stades embryonnaires (J2 et J3), au stade morula (J4) et au stade blastocyste (J5)

3b : Analyse Western Blot des milieux de culture embryonnaires par ELISA

3c : Concentration de CD146 soluble du jour 2 au jour 5 dans les milieux de culture embryonnaires

Au total, cette étude a montré que :

- Les embryons expriment CD146 très précocement (J2)
- CD146s dosé dans les milieux de culture en FIV provient de l'embryon
- CD146s est dosable très précocement (J2 dans le milieu de culture embryonnaire en FIV).

Parmi les embryons présélectionnés par notation morphologique, la détermination de CD146s dans le milieu de culture de ces embryons pourrait permettre une meilleure sélection embryonnaire avant transfert, améliorant ainsi le succès de transfert électif d'un seul embryon.

Ainsi, CD146s pourrait être un biomarqueur en FIV en excluant l'embryon avec le niveau le plus élevé de CD146s. Une étude prospective multicentrique sera nécessaire pour valider l'utilisation en pratique clinique de CD146 soluble comme un nouveau biomarqueur de la sélection d'embryons.

Son caractère non invasif permettrait un développement plus aisé que des méthodes invasives, en particulier en raison de la difficulté à effectuer des recherches sur l'embryon préimplantatoire dans de nombreux pays. Il pourrait être, de ce fait, accessible plus facilement à tous les centres d'AMP.

# ***6 CONCLUSION***

L'infertilité est un problème de santé publique, touchant un nombre croissant de couples. La demande en AMP ne cesse d'augmenter et le développement de marqueurs non invasifs, en complément des techniques actuelles d'évaluation morphologique de l'embryon, pourrait être un atout majeur dans la sélection de l'embryon à transférer ayant le meilleur potentiel implantatoire. CD146/CD146s représentent un axe prometteur.

CD146 est exprimé en particulier sur les trophoblastes extravilloux, et sur l'embryon dès les stades précoces de son développement. Son rôle a été décrit dans l'invasion trophoblastique, et l'implantation embryonnaire.

Sa forme soluble est détectable dans les milieux de culture embryonnaires en FIV dès le 2<sup>ème</sup> jour (J2) du développement embryonnaire, avec un taux plus élevé plus élevé à J5 qu'à J2

De façon intéressante, il a été montré que les concentrations de CD146s dans ces milieux de culture embryonnaires étaient significativement plus élevées pour les embryons ne s'étant pas implantés que pour ceux qui s'étaient implantés, et sans corrélation avec le grade embryonnaire. La détection de CD146s dans les milieux de culture embryonnaire permettrait donc la sélection d'embryon présentant le meilleur potentiel implantatoire et ce de façon complémentaire aux critères morphologiques de la classification d'Istanbul.

Ainsi dans la pratique courante de la FIV, CD146 soluble représente un marqueur non invasif pour la sélection de l'embryon à transférer. Afin de valider cette proposition, une étude prospective et multicentrique est en cours dans le cadre d'un projet de recherche clinique (PHRC I N° : 2018-A02464-51 « AMIFIV » Lacroix/Bardin).

Enfin, CD146 est présent sur de nombreuses cellules impliquées dans la reproduction. L'étude de l'expression du CD146 sur des gamètes pourrait, si son expression était significativement différente au sein d'une même classe de gamètes, en amont de la formation embryonnaire, apporter des informations pour tenter d'améliorer le taux de succès des tentatives d'AMP.

En particulier, CD146 est exprimé sur des cellules souches de spermatogonies et son inactivation entraîne une diminution de ces cellules, suggérant un rôle de CD146 dans la différenciation des spermatozoïdes (89). Ainsi CD146 pourrait représenter un critère dans l'appréciation de la maturité et du potentiel fécondant des spermatozoïdes. Afin d'analyser cette hypothèse, je projette d'étudier dans le cadre de mon mémoire de DES de Biologie médicale, l'expression de CD146 sur différents types de spermatozoïdes sélectionnés en fonction de leur mobilité et de leur morphologie après centrifugation sur gradient de densité (technique utilisée en FIV pour sélectionner les spermatozoïdes qui serviront à la mise en fécondation des ovocytes).

# ***7 ANNEXES***

J2					
Grade	Paramètres morphologiques pris en compte				Décision préconisée
	Nombre de cellules	% fragments	Taille des cellules	Cellules multinucléés	Transfert (T)/ Congélation (C)
<b>A</b> embryon top	4	<10%	égale	absence	T en priorité C possible
<b>B</b> embryon de bonne qualité mais non top	2,3 ou 5	<26%	égale	absence	T en deuxième intention C possible
	4	11-25%	égale	absence	
<b>C</b> embryon de qualité moyenne	2-6	26-35%	inéegale	absence	T en troisième intention C+/- préconisée
	3 ou 6	<35%	3 cell égale 6 cell inéegale	absence	
<b>D</b> embryon de qualité médiocre	>6	>35%	égale ou inéegale	présence	T si et seulement si seul embryon disponible Pas de C
	3	>35%	inéegale	présence	

TABLEAU 1- Grade des embryons à J2 selon la classification d'Istanbul(42)

Stades chronologiques de développement		Aspect qualitatif	
Stade	Blastocèle	Qualité de la Masse Cellulaire Interne (MCI)*	Qualité du Trophoblaste **
B1 (B précoce)	< 50 % du volume du blastocyste		
B2	≥ 50 % du volume	[A, B ou C]	[A, B ou C]
B3	100 % volume	A, B ou C	A, B ou C
B4	100 % volume Zone Pellucide (ZP) amincie Expansion du volume (volume du blastocyste plus grand que celui du blastocyste précoce)	A, B ou C	A, B ou C
B5	Début d'éclosion (rupture ZP)	A, B ou C	A, B ou C
B6	Eclos (le blastocyste est complètement dégagé de sa zone pellucide)	A, B ou C	A, B ou C

<b>*Grade de la MCI</b>		<b>**Grade du trophoblaste</b>	
A	Nombreuses cellules regroupées densément (meilleur score)	A	Nombreuses cellules formant un épithélium cohésif (meilleur score)
B	Nombreuses cellules mais moins densément regroupées	B	Peu de cellules formant un épithélium fin, irrégulier
C	Très peu de cellules/ Dégénérative (aspect lysé)	C	Epithélium fin/ Très peu de cellules, larges/ Dégénératif (aspect lysé)

TABLEAU 2- Typage des blastocystes selon la classification de Gardner(129)

Typage des blastocystes	Classement	Décision préconisée
B3/B4		
AA	Top	T/C en priorité
AB/BB/BA	Non top mais qualité satisfaisante	T/C
AC/BC/CA/CB	Non top, qualité médiocre	T si pas d'autres choix possibles/ Pas de congélation sauf si contexte particulier (mauvais réserve ovarienne/dernière tentative)
CC	Non top, non satisfaisant	T en dernière intention si pas d'autre choix possible/Pas de Congélation

T = transfert C= congélation

TABLEAU 3- Evaluation des embryons à J5 selon le consensus de l'ASEBIR(42)

# ***8 BIBLIOGRAPHIE***

1. Simopoulou M, Nikolopoulou E, Dimakakos A, Charalabopoulos K, Koutsilieris M. Cell Adhesion Molecules and In Vitro Fertilization. *In Vivo*. 1 sept 2014;28(5):683-90.
2. Bouvier S, Paulmyer-Lacroix O, Molinari N, Bertaud A, Paci M, Leroyer A, et al. Soluble CD146, an innovative and non-invasive biomarker of embryo selection for in vitro fertilization. *PloS One*. 2017;12(3):e0173724.
3. Foucrier J, Bassez G. *Reproduction et embryologie*. 2010, EdiScience.
4. Dadoune JP, *Biologie de la reproduction humaine*. 2006, Ellipses.
5. Olivennes F, Hazout A, Frydman R. *Assistance médicale à la procréation*. 2003, Masson.
6. *College national des gynécologues et obstétriciens français*.
7. Patrat C, Serres C. La capacitation in vivo : influence de l'environnement féminin, *Gynécol Obstét Fertil*, 2009 Jun; 37(6): 536-9. Epub 2009 May 20.
8. Travert C, Carreau S, Galeraud-Denis I. La capacitation in vitro, *Gynécol Obstét Fertil*, 2009 Jun; 37(6): 523-8. Epub 2009 May 27.
9. Poirier J, Catala M, Poirier I, Baudet J. *Leçons d'embryologie humaine*. 2010, Maloine.
10. *Le Larousse médical*. 2012, Larousse.
11. Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, Prakobphol A, Foulk R, McMaster M, et al. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest*. sept 2004;114(6):744-54.
12. Chen JZJ, Sheehan PM, Brennecke SP, Keogh RJ. Vessel remodelling, pregnancy hormones and extravillous trophoblast function. *Mol Cell Endocrinol*. 26 févr 2012;349(2):138-44.
13. Coulam CB, Roussev RG. Correlation of NK cell activation and inhibition markers with NK cytotoxicity among women experiencing immunologic implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*. févr 2003;20(2):58-62.
14. Heilmann L, Schorsch M, Hahn T. CD3-CD56+CD16+ natural killer cells and improvement of pregnancy outcome in IVF/ICSI failure after additional IVIG-treatment. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 1 mars 2010;63(3):263-5.
15. Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol*. mars 2004;5(3):266-71.
16. Kwak-Kim J, Park JC, Ahn HK, Kim JW, Gilman-Sachs A. Immunological modes of pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. juin 2010;63(6):611-23.
17. Aharon A, Brenner B, Katz T, Miyagi Y, Lanir N. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor levels in trophoblast cells: implications for placental hemostasis. *Thromb Haemost*. oct 2004;92(4):776-86.
18. Fazel A, Vincenot A, Malassiné A, Soncin F, Gaussem P, Alsat E, et al. Increase in expression and activity of thrombomodulin in term human syncytiotrophoblast microvilli. *Placenta*. mai 1998;19(4):261-8.
19. Sood R, Zogg M, Westrick RJ, Guo YH, Kerschen EJ, Girardi G, et al. Fetal gene defects precipitate platelet-mediated pregnancy failure in factor V Leiden mothers. *J Exp Med*. 14 mai 2007;204(5):1049-56.
20. Courbière B, Carcopino X, *Gynécologie obstétrique*. 2022, Vernazobres grego.
21. Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med*. 26 juin 2013;11:154.
22. Macklon NS, Geraedts JPM, Fauser BCJM. Conception to ongoing pregnancy: the « black box » of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update*. août 2002;8(4):333-43.
23. Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ*. 24 juin 2000;320(7251):1708-12.

24. Ugwumadu A, Manyonda I, Reid F, Hay P. Effect of early oral clindamycin on late miscarriage and preterm delivery in asymptomatic women with abnormal vaginal flora and bacterial vaginosis: a randomised controlled trial. *Lancet* Mar 2003;6736(03):12823-1.
25. Duployez N, *Hématologie*. 2017, De Boeck.
26. Bénard E, Lafuma A, Ravaud P. [Epidemiology of venous thromboembolic disease]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 26 mars 2005;34(6):415-9.
27. Campello E, Spiezia L, Adamo A, Simioni P. Thrombophilia, risk factors and prevention. *Expert Rev Hematol*. mars 2019;12(3):147-58.
28. Marik PE, Plante LA. Venous Thromboembolic Disease and Pregnancy. *N Engl J Med*. 6 nov 2008;359(19):2025-33.
29. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GDO, et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*. janv 2006;132(2):171-96.
30. Chauleur C, Gris JC, Seffert P, Mismetti P. [Latest developments on risk factors and prophylaxis of thromboembolic disease in obstetrics]. *Gynecol Obstet Fertil*. mai 2012;40(5):301-7.
31. Al-Mishari AAA, Abdel Gader AGM, Al-Jabbari AW, Al-Momen AKM, Gad El Rab MO, Babay ZH, et al. The prevalence of lupus anticoagulant in normal pregnancy and in women with recurrent fetal loss—recommendations for laboratory testing for lupus anticoagulant. *Ann Saudi Med*. 2004;24(6):429-33.
32. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GDO, et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*. janv 2006;132(2):171-96.
33. Quibel T, Bultez T, Nizard J, Subtil D, Huchon C, Rozenberg P. [In utero fetal death]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. déc 2014;43(10):883-907.
34. Levine RJ, Hauth JC, Curet LB, Sibai BM, Catalano PM, Morris CD, et al. Trial of calcium to prevent preeclampsia. *N Engl J Med*. 10 juill 1997;337(2):69-76.
35. Carr DB, Epplein M, Johnson CO, Easterling TR, Critchlow CW. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. sept 2005;193(3 Pt 2):965-72.
36. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*. août 1994;101(8):669-74.
37. Maynard SE, Karumanchi SA. Angiogenic Factors and Preeclampsia. *Semin Nephrol*. janv 2011;31(1):33-46.
38. Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest*. 1 mai 1997;99(9):2139-51.
39. Zhou Y, McMaster M, Woo K, Janatpour M, Perry J, Karpanen T, et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol*. avr 2002;160(4):1405-23.
40. Salafia CM, Pezzullo JC, Ghidini A, Lopez-Zeno JA, Whittington SS. Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. *Placenta*. janv 1998;19(1):67-72.
41. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol*. nov 1989;161(5):1200-4.
42. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod Oxf Engl*. juin 2011;26(6):1270-83.
43. Boyer P, Assistance médicale à la procréation-une banque d'images au service d'une démarche d'assurance qualité. 2006, Rand.

44. Rapport annuel de l'agence de la biomédecine 2019.
45. European IVF-monitoring Consortium (EIM)‡ for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), Wyns C, Bergh C, Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Kupka MS, et al. ART in Europe, 2016: results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod Open*. 2020;2020(3):hoaa032.
46. Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, et al. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril*. janv 2011;95(1):50-60, 60.e1-15.
47. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*. déc 2006;12(6):731-46.
48. Liu KE, Hartman M, Hartman A, Luo ZC, Mahutte N. The impact of a thin endometrial lining on fresh and frozen-thaw IVF outcomes: an analysis of over 40 000 embryo transfers. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1 oct 2018;33(10):1883-8.
49. Lessey BA. Endometrial integrins and the establishment of uterine receptivity. *Hum Reprod Oxf Engl*. juin 1998;13 Suppl 3:247-58; discussion 259-261.
50. Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update*. déc 2003;9(6):515-22.
51. Nikas G, Develioglu OH, Toner JP, Jones HW. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod Oxf Engl*. mars 1999;14(3):787-92.
52. Ntrivalas EI, Kwak-Kim JY, Gilman-Sachs A, Chung-Bang H, Ng SC, Beaman KD, et al. Status of peripheral blood natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortions and infertility of unknown aetiology. *Hum Reprod Oxf Engl*. mai 2001;16(5):855-61.
53. Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Lappi M, Ruberti A, Farfalli V. Embryo morphology and development are dependent on the chromosomal complement. *Fertil Steril*. 1 mars 2007;87(3):534-41.
54. Márquez C, Sandalinas M, Bahçe M, Alikani M, Munné S. Chromosome abnormalities in 1255 cleavage-stage human embryos. *Reprod Biomed Online*. 2000;1(1):17-26.
55. Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities\*\*Presented at the 50th Annual Meeting of The American Fertility Society, San Antonio, Texas, November 4 to 9, 1994, where it was awarded the prize paper of the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertil Steril*. 1 août 1995;64(2):382-91.
56. Fuzzi B, Rizzo R, Criscuoli L, Noci I, Melchiorri L, Scarselli B, et al. HLA-G expression in early embryos is a fundamental prerequisite for the obtainment of pregnancy. *Eur J Immunol*. févr 2002;32(2):311-5.
57. Margalioth EJ, Ben-Chetrit A, Gal M, Eldar-Geva T. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. *Hum Reprod Oxf Engl*. déc 2006;21(12):3036-43.
58. Sers C, Kirsch K, Rothbacher U, Riethmüller G, Johnson JP. Genomic organization of the melanoma-associated glycoprotein MUC18: implications for the evolution of the immunoglobulin domains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 sept 1993;90(18):8514-8.
59. Guezguez B, Vigneron P, Alais S, Jaffredo T, Gavard J, Mège RM, et al. A dileucine motif targets MCAM-1 cell adhesion molecule to the basolateral membrane in MDCK cells. *FEBS Lett*. 26 juin 2006;580(15):3649-56.
60. Guezguez B, Vigneron P, Lamerant N, Kieda C, Jaffredo T, Dunon D. Dual role of melanoma cell adhesion molecule (MCAM)/CD146 in lymphocyte endothelium interaction: MCAM/CD146 promotes rolling via microvilli induction in lymphocyte and is an endothelial adhesion receptor. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 nov 2007;179(10):6673-85.

61. Kaspi E. Implication de CD146 soluble sur les capacités invasives des trophoblastes. CD146 soluble et auto-anticorps anti-CD146 dans la sclérodermie.
62. Bardin N, Blot-Chabaud M, Despoix N, Kebir A, Harhoury K, Arsanto JP, et al. CD146 and its soluble form regulate monocyte transendothelial migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* mai 2009;29(5):746-53.
63. Boneberg EM, Illges H, Legler DF, Fürstenberger G. Soluble CD146 is generated by ectodomain shedding of membrane CD146 in a calcium-induced, matrix metalloprotease-dependent process. *Microvasc Res.* déc 2009;78(3):325-31.
64. Bardin N, Francès V, Combes V, Sampol J, Dignat-George F. CD146: biosynthesis and production of a soluble form in human cultured endothelial cells. *FEBS Lett.* 2 janv 1998;421(1):12-4.
65. Bardin N, Moal V, Anfosso F, Daniel L, Brunet P, Sampol J, et al. Soluble CD146, a novel endothelial marker, is increased in physiopathological settings linked to endothelial junctional alteration. *Thromb Haemost.* nov 2003;90(5):915-20.
66. Pasquier E, Bardin N, De Saint Martin L, Le Martelot MT, Bohec C, Roche S, et al. The first assessment of soluble CD146 in women with unexplained pregnancy loss. A new insight? *Thromb Haemost.* déc 2005;94(6):1280-4.
67. Flanagan K, Fitzgerald K, Baker J, Regnstrom K, Gardai S, Bard F, et al. Laminin-411 is a vascular ligand for MCAM and facilitates TH17 cell entry into the CNS. *PloS One.* 2012;7(7):e40443.
68. Jouve N, Despoix N, Espeli M, Gauthier L, Cypowyj S, Fallague K, et al. The involvement of CD146 and its novel ligand Galectin-1 in apoptotic regulation of endothelial cells. *J Biol Chem.* 25 janv 2013;288(4):2571-9.
69. Stalin J, Harhoury K, Hubert L, Subrini C, Lafitte D, Lissitzky JC, et al. Soluble melanoma cell adhesion molecule (sMCAM/sCD146) promotes angiogenic effects on endothelial progenitor cells through angiomin. *J Biol Chem.* 29 mars 2013;288(13):8991-9000.
70. Jiang T, Zhuang J, Duan H, Luo Y, Zeng Q, Fan K, et al. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis. *Blood.* 13 sept 2012;120(11):2330-9.
71. Heim X, Joshkon A, Bermudez J, Bachelier R, Dubrou C, Boucraut J, et al. CD146/sCD146 in the Pathogenesis and Monitoring of Angiogenic and Inflammatory Diseases. *Biomedicines.* 10 déc 2020;8(12):592.
72. Halt KJ, Pärssinen HE, Junttila SM, Saarela U, Sims-Lucas S, Koivunen P, et al. CD146(+) cells are essential for kidney vasculature development. *Kidney Int.* août 2016;90(2):311-24.
73. Ye Z, Zhang C, Tu T, Sun M, Liu D, Lu D, et al. Wnt5a uses CD146 as a receptor to regulate cell motility and convergent extension. *Nat Commun.* 2013;4:2803.
74. Kaspi E, Heim X, Granel B, Guillet B, Stalin J, Nollet M, et al. Identification of CD146 as a novel molecular actor involved in systemic sclerosis. *J Allergy Clin Immunol.* nov 2017;140(5):1448-1451.e6.
75. Zheng C, Qiu Y, Zeng Q, Zhang Y, Lu D, Yang D, et al. Endothelial CD146 is required for in vitro tumor-induced angiogenesis: the role of a disulfide bond in signaling and dimerization. *Int J Biochem Cell Biol.* nov 2009;41(11):2163-72.
76. Luo Y, Zheng C, Zhang J, Lu D, Zhuang J, Xing S, et al. Recognition of CD146 as an ERM-binding protein offers novel mechanisms for melanoma cell migration. *Oncogene.* 19 janv 2012;31(3):306-21.
77. Bardin N, Anfosso F, Massé JM, Cramer E, Sabatier F, Le Bivic A, et al. Identification of CD146 as a component of the endothelial junction involved in the control of cell-cell cohesion. *Blood.* 15 déc 2001;98(13):3677-84.
78. Anfosso F, Bardin N, Vivier E, Sabatier F, Sampol J, Dignat-George F. Outside-in

- signaling pathway linked to CD146 engagement in human endothelial cells. *J Biol Chem.* 12 janv 2001;276(2):1564-9.
79. Lehmann JM, Riethmüller G, Johnson JP. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A.* déc 1989;86(24):9891-5.
  80. Dagur PK, Biancotto A, Wei L, Sen HN, Yao M, Strober W, et al. MCAM-expressing CD4(+) T cells in peripheral blood secrete IL-17A and are significantly elevated in inflammatory autoimmune diseases. *J Autoimmun.* déc 2011;37(4):319-27.
  81. Shih IM, Kurman RJ. Expression of melanoma cell adhesion molecule in intermediate trophoblast. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* sept 1996;75(3):377-88.
  82. Shih I, Wang T, Wu T, Kurman RJ, Gearhart JD. Expression of Mel-CAM in implantation site intermediate trophoblastic cell line, IST-1, limits its migration on uterine smooth muscle cells. *J Cell Sci.* sept 1998;111 ( Pt 17):2655-64.
  83. Schwab KE, Gargett CE. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium. *Hum Reprod Oxf Engl.* nov 2007;22(11):2903-11.
  84. Liu Q, Zhang B, Zhao X, Zhang Y, Liu Y, Yan X. Blockade of adhesion molecule CD146 causes pregnancy failure in mice. *J Cell Physiol.* juin 2008;215(3):621-6.
  85. Cousins FL, O DF, Gargett CE. Endometrial stem/progenitor cells and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* juill 2018;50:27-38.
  86. Yoshioka S, Fujiwara H, Higuchi T, Yamada S, Maeda M, Fujii S. Melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) is expressed on human luteinizing granulosa cells: enhancement of its expression by hCG, interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha. *Mol Hum Reprod.* juin 2003;9(6):311-9.
  87. Rungsiwiwut R, Numchaisrika P, Thuwanut P, Pruksananonda K. Characterization of stem cells from human ovarian follicular fluid; a potential source of autologous stem cell for cell-based therapy. *Hum Cell.* mars 2021;34(2):300-9.
  88. Dzafic E, Stimpfel M, Novakovic S, Cerkovnik P, Virant-Klun I. Expression of mesenchymal stem cells-related genes and plasticity of aspirated follicular cells obtained from infertile women. *BioMed Res Int.* 2014;2014:508216.
  89. Kanatsu-Shinohara M, Morimoto H, Shinohara T. Enrichment of mouse spermatogonial stem cells by melanoma cell adhesion molecule expression. *Biol Reprod.* juin 2012;87(6):139.
  90. Garbuzov A, Pech MF, Hasegawa K, Sukhwani M, Zhang RJ, Orwig KE, et al. Purification of GFR $\alpha$ 1+ and GFR $\alpha$ 1- Spermatogonial Stem Cells Reveals a Niche-Dependent Mechanism for Fate Determination. *Stem Cell Rep.* 13 févr 2018;10(2):553-67.
  91. Wang H bo, Du X, Xu Y hui, Wang Z hua. Identification of CD146 Expression in Human and Mouse Preimplantation Embryo. *J Reprod Contracept.* 1 mars 2008;19(1):17-26.
  92. So JH, Hong SK, Kim HT, Jung SH, Lee MS, Choi JH, et al. Gicerin/Cd146 is involved in zebrafish cardiovascular development and tumor angiogenesis. *Genes Cells Devoted Mol Cell Mech.* nov 2010;15(11):1099-110.
  93. Luo Y, Duan H, Qian Y, Feng L, Wu Z, Wang F, et al. Macrophagic CD146 promotes foam cell formation and retention during atherosclerosis. *Cell Res.* mars 2017;27(3):352-72.
  94. Kebir A, Harhour K, Guillet B, Liu JW, Foucault-Bertaud A, Lamy E, et al. CD146 short isoform increases the proangiogenic potential of endothelial progenitor cells in vitro and in vivo. *Circ Res.* 9 juill 2010;107(1):66-75.
  95. Chan B, Sinha S, Cho D, Ramchandran R, Sukhatme VP. Critical roles of CD146 in zebrafish vascular development. *Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat.* janv 2005;232(1):232-44.
  96. Harhour K, Kebir A, Guillet B, Foucault-Bertaud A, Voytenko S, Piercecchi-Marti

- MD, et al. Soluble CD146 displays angiogenic properties and promotes neovascularization in experimental hind-limb ischemia. *Blood*. 6 mai 2010;115(18):3843-51.
97. Abd Elmageed ZY, Moroz K, Kandil E. Clinical significance of CD146 and latexin during different stages of thyroid cancer. *Mol Cell Biochem*. sept 2013;381(1-2):95-103.
98. Zhang H, Zhang J, Wang Z, Lu DI, Feng J, Yang D, et al. CD146 is a potential marker for the diagnosis of malignancy in cervical and endometrial cancer. *Oncol Lett*. avr 2013;5(4):1189-94.
99. Ilie M, Long E, Hofman V, Selva E, Bonnetaud C, Boyer J, et al. Clinical value of circulating endothelial cells and of soluble CD146 levels in patients undergoing surgery for non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*. 4 mars 2014;110(5):1236-43.
100. Zeng P, Li H, Lu PH, Zhou LN, Tang M, Liu CY, et al. Prognostic value of CD146 in solid tumor: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sci Rep*. 26 juin 2017;7(1):4223.
101. Nollet M, Stalin J, Moyon A, Traboulsi W, Essaadi A, Robert S, et al. A novel anti-CD146 antibody specifically targets cancer cells by internalizing the molecule. *Oncotarget*. 22 déc 2017;8(68):112283-96.
102. Stalin J, Traboulsi W, Vivancos-Stalin L, Nollet M, Joshkon A, Bachelier R, et al. Therapeutic targeting of soluble CD146/MCAM with the M2J-1 monoclonal antibody prevents metastasis development and procoagulant activity in CD146-positive invasive tumors. *Int J Cancer*. 15 sept 2020;147(6):1666-79.
103. Joshkon A, Heim X, Dubrou C, Bachelier R, Traboulsi W, Stalin J, et al. Role of CD146 (MCAM) in Physiological and Pathological Angiogenesis—Contribution of New Antibodies for Therapy. *Biomedicines*. 19 déc 2020;8(12):633.
104. Lin Y, Wu X, Shen Y, Bu P, Yang D, Yan X. A novel antibody AA98 V(H)/L directed against CD146 efficiently inhibits angiogenesis. *Anticancer Res*. déc 2007;27(6B):4219-24.
105. Luo Y, Zheng C, Zhang J, Lu D, Zhuang J, Xing S, et al. Recognition of CD146 as an ERM-binding protein offers novel mechanisms for melanoma cell migration. *Oncogene*. 19 janv 2012;31(3):306-21.
106. Li C, Kang L, Fan K, Ferreira CA, Becker KV, Huo N, et al. ImmunoPET of CD146 in Orthotopic and Metastatic Breast Cancer Models. *Bioconjug Chem*. 21 juill 2021;32(7):1306-14.
107. Jiang G, Zhang L, Zhu Q, Bai D, Zhang C, Wang X. CD146 promotes metastasis and predicts poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res CR*. 29 févr 2016;35:38.
108. Zhang S, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H, Wang H, et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med*. oct 2013;34(5):939-80.
109. Wang J, Mayernik L, Schultz JF, Armant DR. Acceleration of trophoblast differentiation by heparin-binding EGF-like growth factor is dependent on the stage-specific activation of calcium influx by ErbB receptors in developing mouse blastocysts. *Dev Camb Engl*. janv 2000;127(1):33-44.
110. Aplin JD. Adhesion molecules in implantation. *Rev Reprod*. mai 1997;2(2):84-93.
111. Kaspi E, Guillet B, Piercecchi-Marti MD, Alfaidy N, Bretelle F, Bertaud-Foucault A, et al. Identification of soluble CD146 as a regulator of trophoblast migration: potential role in placental vascular development. *Angiogenesis*. avr 2013;16(2):329-42.
112. Liu Q, Yan X, Li Y, Zhang Y, Zhao X, Shen Y. Pre-eclampsia is associated with the failure of melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) expression by intermediate trophoblast. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. févr 2004;84(2):221-8.
113. Bouvier S, Traboulsi W, Blois SM, Demattei C, Joshkon A, Mousty E, et al. Soluble CD146 is increased in preeclampsia and interacts with galectin-1 to regulate trophoblast migration through VEGFR2 receptor. *FS Sci*. 1 févr 2022;3(1):84-94.

114. Tirado-González I, Freitag N, Barrientos G, Shaikly V, Nagaeva O, Strand M, et al. Galectin-1 influences trophoblast immune evasion and emerges as a predictive factor for the outcome of pregnancy. *Mol Hum Reprod.* janv 2013;19(1):43-53.
115. Kolundžić N, Bojić-Trbojević Ž, Kovačević T, Stefanoska I, Kadoya T, Vićovac L. Galectin-1 is part of human trophoblast invasion machinery--a functional study in vitro. *PLoS One.* 2011;6(12):e28514.
116. Bouvier S, Kaspi E, Joshkon A, Paulmyer-Lacroix O, Piercecchi-Marti MD, Sharma A, et al. The Role of the Adhesion Receptor CD146 and Its Soluble Form in Human Embryo Implantation and Pregnancy. *Front Immunol.* 26 août 2021;12:711394.
117. Gerris J. The near elimination of triplets in IVF. *Reprod Biomed Online.* 1 janv 2007;15:40-4.
118. Sunde A. Significant reduction of twins with single embryo transfer in IVF. *Reprod Biomed Online.* 2007;15 Suppl 3:28-34.
119. Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald SD. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* févr 2012;97(2):324-31.
120. Vela G, Luna M, Sandler B, Copperman AB. Advances and controversies in assisted reproductive technology. *Mt Sinai J Med N Y.* déc 2009;76(6):506-20.
121. Wong CC, Loewke KE, Bossert NL, Behr B, De Jonge CJ, Baer TM, et al. Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. *Nat Biotechnol.* oct 2010;28(10):1115-21.
122. Kirkegaard K, Agerholm IE, Ingerslev HJ. Time-lapse monitoring as a tool for clinical embryo assessment. *Hum Reprod.* 1 mai 2012;27(5):1277-85.
123. Chen AA, Tan L, Suraj V, Reijo Pera R, Shen S. Biomarkers identified with time-lapse imaging: discovery, validation, and practical application. *Fertil Steril.* 15 mars 2013;99(4):1035-43.
124. Conaghan J, Chen AA, Willman SP, Ivani K, Chenette PE, Boostanfar R, et al. Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial. *Fertil Steril.* août 2013;100(2):412-419.e5.
125. Harton GL, Munné S, Surrey M, Grifo J, Kaplan B, McCulloh DH, et al. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril.* déc 2013;100(6):1695-703.
126. Harper J, Coonen E, De Rycke M, Fiorentino F, Geraedts J, Goossens V, et al. What next for preimplantation genetic screening (PGS)? A position statement from the ESHRE PGD Consortium steering committee†. *Hum Reprod.* 1 avr 2010;25(4):821-3.
127. Van der Aa N, Esteki MZ, Vermeesch JR, Voet T. Preimplantation genetic diagnosis guided by single-cell genomics. *Genome Med.* 19 août 2013;5(8):71.
128. Dinelli L. Apport du dosage du CD146 soluble en fécondation in vitro.
129. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* Jun 2000.0282(00)00518-5.

## **SERMENT DE GALIEN**

**Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.**
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.**