

**Comité de
rédaction :**

Jacques Buvat
(rédacteur en chef)
Silvia Alvarez
Alain Audebert
Bernard Charbonnel
Pierre Giacomini
Anne Gompel
André Hazout
Patrick Madelenat

**Comment
nous
contacter ?**

Bulletin :
Jacques Buvat
Centre ETPARP,
3 Rue Carolus,
59000 LILLE
Tél : 33 (0) 3 20 93 50 70
Fax : 33 (0) 3 20 93 98 46
E-mail :
jacques.buvat@vnumail.com

Société :
Alain Audebert
35 Rue Turenne,
33000 BORDEAUX
Tél : 33 (0) 5 56 01 01 96
Fax : 33 (0) 5 56 01 02 83
E-mail :
IGF1@wanadoo.fr
Site web :
http://www.s-m-r.org

Editorial

Endométriose : quelle approche thérapeutique pour le prochain millénium

Depuis son identification, l'endométriose a été l'objet de multiples approches thérapeutiques toujours porteuses d'espoirs... malheureusement souvent décevantes. Au gré des découvertes et des progrès techniques, chaque amélioration chirurgicale et, presque, chaque nouvelle molécule stéroïdienne ou apparentée ont été, tour à tour, utilisées. Ainsi après le tout chirurgical (c'était la seule modalité disponible !), on a connu une période dite " médicale " et aujourd'hui la suprématie semble revenir à la coeliochirurgie.

On perçoit les limites des traitements actuels qui ne sont que palliatifs face à une affection qui reprend son évolution dès la fin de l'action thérapeutique. Tant la chirurgie, certes indispensable en cas de lésions tumorale ou adhérentielles, que le traitement médical, basé sur une mise au repos des lésions, ont des effets temporaires, comme le démontrent les taux importants de récurrences. Enfin on ne dispose pas de traitement préventif validé, en dehors de la correction d'un obstacle congénital ou iatrogène à l'écoulement des règles.

Pourtant, la recherche fondamentale a enfin permis de mettre en lumière certaines étapes essentielles dans la constitution des lésions endométriosiques, dont certaines ne sont encore que purement spéculatives : anomalies de l'endomètre le rendant plus apte à générer des greffes, déficit des moyens de défense, rôles importants des facteurs de l'adhésion, de l'angiogénèse et de la matrice extra-cellulaire et enfin anomalies génétiques au moins chez certaines patientes.

On peut ainsi entrevoir diverses modalités thérapeutiques innovantes pour le futur, avec surtout de véritables traitements préventifs, au moins chez les patientes à risque. Les seuls facteurs de risque actuels, identifiés par des études épidémiologiques, sont les règles abondantes, fréquentes, douloureuses et précoces. On peut espérer dans l'avenir reconnaître les femmes porteuses d'une prédisposition génétique et éventuellement la corriger. Une meilleure compréhension des anomalies primitives de l'endomètre, qui paraissent de plus en plus associées à l'endométriose et dont la correction serait susceptible de prévenir la survenue des lésions, conduira peut-être à la mise en route de modalités thérapeutiques préventives... Enfin une meilleure connaissance des facteurs environnementaux permettra aussi de prendre des mesures adaptées aux populations exposées.

Le traitement médical est actuellement basé sur l'estrogène-dépendance du tissu endométriosique. La recherche concernant diverses classes d'agents, développés avant tout pour les cancers hormono-dépendants, peut permettre d'envisager leur utilisation pour le traitement de l'endométriose à condition qu'à efficacité égale ils offrent une meilleure tolérance clinique et biologique et que leur coût soit diminué. Ce cahier des charges n'est sûrement pas réaliste pour certains produits.

La stimulation ovarienne peut être inhibée par les antagonistes de la Gn-RH ; la synthèse de l'estradiol peut être diminuée avec les inhibiteurs de l'aromatase, et l'action des estrogènes au niveau des tissus cibles peut être inhibée par les anti-estrogènes purs. Enfin un agent antiprogéstérone s'avère efficace sans que son mécanisme d'action soit bien élucidé.

- Deux antagonistes de la Gn-RH (Cetrorelix et Abarelix) font actuellement l'objet d'essais thérapeutiques(1,2) : leur rapidité d'action attendue apparaît confirmée et il semble possible de moduler le niveau d'hypoestrogénie induit ; il reste à confirmer la fiabilité des formes retard.

- Les inhibiteurs de l'aromatase représentent une classe thérapeutiques comportant plusieurs molécules en cours d'évaluation surtout en oncologie. Le tissu endométriosique exprime l'aromatase P450(3). Expérimentalement chez la ratte il a été démontré qu'un inhibiteur de l'aromatase (fadrozole) était capable d'entraîner une atrophie non seulement au niveau de l'utérus mais aussi au niveau des transplants(4). Au plan clinique, une publication porte sur un cas d'endo-

dans ce numéro :

- | | | | | | |
|--|---|--|----|--|----|
| ■ Endométriose : quelle approche thérapeutique pour le prochain millénium (A. Audebert)..... | 1 | ■ Le blastocyste en AMP : Pourquoi et comment ? Quel Progrès ? (Y. Ménézo et P. Guérin)..... | 12 | ■ EN DIRECT DES CONGRES | |
| ■ La vie de la SMR (A. Audebert)..... | 3 | ■ Tumeurs du testicule chez les hommes infertiles : un risque méconnu (E. Amar)..... | 14 | ■ Prochains rendez-vous de la SMR..... | 27 |
| ■ Les groupes d'intérêt de la SMR..... | 4 | ■ Le diagnostic pré-implantatoire, enfin une réalité en France (S. Viville et P. Gerlinger)..... | 16 | ■ Cas cliniques (A. Gompel)..... | 28 |
| ■ Le dosage de la prolactine aujourd'hui (C. Coussieu)..... | 6 | | | ■ Petites annonces..... | 29 |
| | | | | ■ Nouvelles adhésions à la SMR..... | 30 |
| | | | | ■ Agenda des congrès..... | 31 |
| | | | | ■ Le Congrès 2000 de la SMR..... | 34 |

métriase sévère récidivant après hystérectomie et annexectomie bilatérale ainsi traitée par un inhibiteur de l'aromatase : une régression rapide des phénomènes douloureux fut constatée(5).

- Des antiestrogènes purs sont développés et évalués pour le traitement du cancer du sein. L'IC 182780 est un antiestrogène pur stéroïdien dénué d'activité estrogénique mais ayant une forte affinité pour le récepteur à l'estradiol(6). Une étude chez la femme réglée montre que cet agent est capable d'inhiber la croissance de l'endomètre malgré des taux élevés d'estradiol plasmatique(7). Une étude multicentrique réalisée chez des femmes porteuses de fibromes utérins est en voie d'achèvement(8). Une étude évaluant l'efficacité de cet agent sur l'endométriose est sur le point d'être entreprise.

- Un antiprogestérone (mifépristone ou RU 486) a été utilisé pour le traitement de l'endométriose à la dose de 100 mg par jour(9) ; les quelques patientes traitées ont vu leurs symptômes s'améliorer. Une deuxième étude avec une dose plus faible de 50 mg par jour permet d'obtenir les mêmes résultats sur la symptomatologie et une diminution de 55% des lésions, sans effet secondaire significatif(10) ; une demi-dose encore plus faible de 5 mg par jour reste efficace mais l'endomètre n'est pas stabilisé et plus de 50% des patientes ont présenté des saignements irréguliers(11). Une étude expérimentale conduite chez le primate montre que le RU486 est aussi efficace qu'un analogue de la Gn-RH sur une durée d'un an sans déminéralisation osseuse(12). Un autre antagoniste de la progestérone, l'onapristone, a montré des effets antiprolifératifs sur les implants de l'endométriose induite du rat (13). Les effets antigluco-corticoides, bien connus, sont néanmoins défavorables. C'est pourquoi l'avenir appartient probablement à des antiprogestérone dénués de ces effets.

A plus long terme, une meilleure connaissance des méca-

nismes intervenant dans la survenue de l'endométriose, en particulier ceux du domaine de l'immunologie et de l'adhésion cellulaire, permettra peut être de mettre au point une véritable thérapeutique préventive au moins chez les sujets à risque.

Il a été montré chez le singe que l'immunosuppression favorisait le développement des lésions d'endométriose spontanée(14) ; à l'inverse le blocage des canaux calciques, qui inhibe l'activation des macrophages, peut offrir des voies thérapeutiques nouvelles (15) ; sur un modèle animal le verapamil corrige ainsi l'action délétère des macrophages (15) ; cela suggère la possibilité d'utiliser des agents immunomodulateurs dans la période péri-ovulatoire chez les femmes hypofertiles présentant une endométriose légère. La pentoxifylline a aussi été utilisée chez l'animal(16). Une étude contre placebo réalisée chez 60 femmes présentant une hypofertilité associée à des endométrioses peu sévères, dont 30 traitées pendant 30 mois par la pentoxifylline à la dose de 800 mg par jour, n'a pas montré de différence entre les taux actuariels de conceptions obtenues (31% pour le groupe traité et 18,5% pour le groupe témoin)(17). Un autre immunomodulateur (loroxibine) a montré qu'il était capable d'entraîner la régression de l'endométriose induite dans le modèle du rat (18). On peut aussi imaginer l'utilisation d'agents comme l'interféron gamma.

D'autres voies d'administration offrent également des perspectives intéressantes. Le dispositif intra-utérin libérant du levonorgestrel a montré qu'il était capable chez 20 femmes de réduire la dysménorrhée associée à une endométriose (19).

Si des modalités thérapeutiques nouvelles vont probablement être disponibles dans un avenir assez proche, les réelles avancées, permettant de changer fondamentalement l'approche de l'endométriose, seront beaucoup plus longues à mettre au point.

références

1. Felberbaum R. Cetrorelix for the treatment of uterine myomas. Conjoint Annual Meeting ASMR/CFAS 99- September 25-30 1999, Toronto (Canada).
2. Martha P.M., Gray M.E., Huca B., Campion M., Garnick M.B. Prolonged suppression of circulating estrogen levels without an initial hormonal flare using Abarelix-Depot, a pure GnRH antagonist in women with endometriosis. Conjoint Annual Meeting ASMR/CFAS 99 - September 25-30 1999, Toronto (Canada).
3. Noble L.S., Simpson E.R., Johns A., Bulun S.E. : Aromatase expression in endometriosis. J.Clin. Endocrinol. Metab., 1998, 81:174-179.
4. Yano S., Ikegami Y., Nakao K. Studies on the effect of the new non-steroidal aromatase inhibitor fadrozole hydrochloride in an endometriosis model in rats. *Arzheimittelforschung* 1996, 46:192-195.
5. Takamaya K., Zeitoun K., Gunby R.T., Sasano H., Carr B.R., Bulun S.E. : Treatment of severe post-menopausal endometriosis with an aromatase inhibitor. *Fertil.Steril.*, 1998, 69:709-713.
6. Dowsett M., Howell R., Salter J., Thomas N.M., Thomas E.J. : Effects of the pure anti-oestrogen ICI 182,870 on oestrogen receptors, progesterone receptors and Ki67 antigen in human endometrium in vivo. *Hum.reprod.*, 1995, 10 :262-267.
7. Thomas E.J., Walton P.L.L., Thomas N.M., Dowsett M. : The effects of ICI 182,780, a pure antioestrogen on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and on endometrial proliferation in premenopausal women. *Hum.Reprod.*, 1994, 9:1991-1996.
8. Audebert A., Anderson K. : A randomized placebo-controlled, dose-ranging trial comparing ZM 182,780 with Zoladex in patients with uterine fibroids awaiting hysterectomy. Annual regional Meeting of the International Society for Gynecologic Endoscopy (ISGE) Amsterdam 27-29 Août 1998
9. Kettel L.M., Murphy A.A., Mortola J.F., Liu J.H., Ulmann A., Yen S.S. : Endocrine responses to long-term administration of the antiprogestosterone RU486 in patients with pelvic endometriosis. *Fertil.Steril.*, 1991, 56:402-407.
10. Kettel L.M., Murphy A.A., Morales A.J., Ulmann A., Baulieu E.E., Yen S.S. : Treatment of endometriosis with antiprogestosterone mifepristone. *Fertil.Steril.*, 1996, 65:23-28.
11. Kettel L.M., Murphy A.A., Morales A.J., Yen S.S.: Preliminary report on the treatment of endometriosis with low-dose mifepristone (RU 486). *Am.J.Obstet.Gynecol.*, 1998, 178:1151-1156.
12. Grow D/R., Willaims R., Hsiu J.G., Hodgen G.D. : Antiprogestin and/or gonado-tropin-releasing hormone agonist for endometriosis treatment and bone maintenance : a one year primate study. *J. Clin. Endocrinol.Metab.*, 1996, 81:1933-1939.
13. Effects of the progesterone antagonists onapristone (ZK 98 299) and ZK 136 799 on surgically induced endometriosis in intact rats. *Hum.Reprod.* 1995, 10 :326-327.
14. D'Hooghe T.M., de Jonge I., Bamba C.S., Hill J.A., Raeymaekers B.M., Koninckx P.R. : The effect of immunosuppression on development and progression of endometriosis in baboons. *Fertil.Steril.*, 1995, 64:172-178.
15. Steinleitner A., Lambert H., Suarez M., Serpa N., Robin B., Cantor B. : Periovalutary channel blockade enhances reproductive performance in an animal model for endometriosis-associated subfertility. *Am.J.Obstet.Gynecol.*, 1991, 164:949-952.
16. Steinleitner A., Lambert H., Roy S. : Immunomodulation with pentoxifylline abrogates macrophage-mediated infertility in an in vivo model: a paradigm for a novel approach to the treatment of endometriosis associated subfertility. *Fertil.Steril.*, 1991, 51:26-31.
17. Balasch J., Creus M., Fabregues F., Carmona E., Martinez-ramon S., Manau D., Vanrell J.A. : Pentoxifylline versus placebo in the treatment of infertility associated with minimal or mild endometriosis : a pilot randomized clinical trial. *Hum.Reprod.*, 1997, 12:2046-2050.
18. Keenan J.A., Williams-Boyce P.K., Massey P.J., Chen T.T., Caudle M.R., Bokovsky A. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loroxibine and levamisole. *Fertil.Steril.* 1999, 72 :135-141.
19. Vercellini P., Aimi G., Panazza S., De Giorgi O., Pesole A., Crosignani P.G. A levonorgestrel-releasing intrauterine system for the treatment of dysmenorrhea associated with endometriosis : a pilot study. *Fertil. Steril.* 1999, 72 :505-508.

La vie de la **SMR**

Société de Médecine de la Reproduction

Alain AUDEBERT

Assemblée extraordinaire du 19 septembre 1999

Une assemblée Générale extraordinaire s'est tenue à Bordeaux le 19 septembre 1999.

Le nombre de membres présents ou représentés a atteint 207.

Les deux motions présentées ont été adoptées à l'unanimité :

- la première a permis aux biologistes et aux autres acteurs dans le domaine de la reproduction de devenir membres de la SMR à part entière au même titre que les cliniciens.
- la deuxième permet au Conseil d'Administration d'atteindre le nombre de 40 membres.

Election du Conseil d'Administration

Au cours de cette même AG il a été procédé à l'élection d'administrateurs biologistes.

Les membres suivants ont été élus à l'unanimité :

M. Dumont (Paris)
P. Fenichel (Nice)
Cl. Humeau (Montpellier)
J. Montagut (Toulouse)
Y. Menezo (Lyon)
Ph. Velez de la Calle (Brest)
S. Viville (Strasbourg)

Les membres du bureau et ceux du Conseil d'Administration présents ont présenté leurs félicitations aux membres élus.

Effectif

Au 31 décembre 1999 la SMR comptait plus de 850 membres.

Les demandes d'adhésion provenant de l'étranger se poursuivent.

De plus amples détails sur la composition de l'effectif actuel de la SMR seront fournis sur le site Internet de la SMR dans la partie réservée aux membres.

Il est aussi envisagé de réaliser un annuaire des membres de la SMR dans le courant de l'année 2000.

La liste des dernières adhésions figure dans une rubrique spéciale du bulletin.

Réunions passées

1- Groupe d'Intérêt en

Endocrinologie gynécologique :

La réunion du 19 novembre 1999 a réuni plus de 80 participants, malgré un mailing effectué avec retard ; le programme organisé par A. Gompel, Ph. Bouchard et B. Charbonnel, a été très apprécié.

2- Groupe d'Intérêt en AMP :

La réunion des 17 et 18 décembre 1999, organisée en partenariat avec le Groupe ALPHA, avait pour thème "l'Implantation".

Le programme organisé principalement par A. Hazout et Y. Menezo a permis de confronter l'expérience d'experts français et étrangers et de faire le point sur diverses questions d'actualité. Elle a réuni plus de 220 participants biologistes et cliniciens.

Les comptes rendus de ces deux réunions seront publiés dans notre bulletin et figureront également sur le site Internet de la SMR.

Réunions à venir

Trois réunions sont déjà programmées pour l'année 2000, retenez bien les dates :

- **15 mars 2000** à Paris au carré des Sciences: "**Le DPI**"
- **19-20 mai 2000** à Paris (lieu à confirmer) : **Réunion annuelle de la SMR** avec la tenue de l'Assemblée Générale ordinaire.
- **9-10 juin 2000** à Clermont-Ferrand : **Réunion du Groupe d'Intérêt en Chirurgie de la Reproduction** en partenariat avec le CICE et la SFEG

Les programmes et plus de détails concernant ces réunions figurent dans les comptes rendus des divers Groupes d'Intérêt.

Il est aussi prévu d'organiser une Formation Approfondie sur l'Induction de l'Ovulation (hors FIV) vraisemblablement à Paris à l'automne prochain.

L'enquête IAC

Elle est en cours de réalisation et elle est détaillée dans les informations fournies par le Groupe d'Intérêt en AMP.

Site Internet de la SMR : ([http ://](http://WWW.s-m-r.org))

WWW.s-m-r.org
Le site attend votre visite et surtout votre participation active avec des informations pratiques, des cas cliniques... qui seront commentés par les membres de la SMR.

A bientôt...

A. Audebert
35, rue Turenne
33000 Bordeaux
Tél : 05 56 01 01 96
Fax : 05 56 01 02 83
E-mail : IGF1@wanadoo.fr

Groupe d'Intérêt Chirurgie de la Reproduction

A. Audebert

35, rue Turenne
33000 Bordeaux
Tél : 05 56 01 01 96
Fax : 05 56 01 02 83
E-mail : IGF1@wanadoo.fr

Ce groupe est en cours de structuration et attend que ceux qui parmi vous sont intéressés à participer aux divers travaux prévus contactent l'un des coordinateurs actuels.

La première réunion est prévue à Clermont Ferrand les 9 & 10 juin 2000 en partenariat avec le CICE et la SFEG.

Le programme préliminaire est le suivant :

Vendredi 9 juin 2000

Accueil : Pr M.A. Bruhat & J. Cohen

I- Place actuelle de la Chirurgie de la Reproduction (dans le monde) :

Lecture plénière : P. Devroey (Bruxelles)

II- Préalables généraux :

Modérateur : P. Madelénat (Paris)
- Evaluation de la chirurgie de la reproduction : D. Querleu (Lille)
- Les buts & les alternatives : J.L. Pouly (Clermont-Ferrand)
- Les enjeux majeurs de la chirurgie de la reproduction : A. Audebert (Bordeaux)

Lecture plénière :

- Les conditions de la "bonne" chirurgie dans la stérilité : G. Mage (Clermont-Ferrand)

Déjeuner

Renseignements - Inscriptions :

CICE :
65, Boulevard de Gergovie
63033 CLERMONT-FERRAND Cedex
Tél : 04 73 34 64 50
Fax : 04 73 34 64 79

III- Les grandes causes et leur responsabilité :

Modérateur : A. Audebert (Bordeaux)
- Quand doit-on opérer une altération tubaire ? B. Blanc (Marseille)
- Quand doit-on opérer un fibrome ? D. Dargent (Lyon)
- Quelle endométriose doit-on opérer ? M. Canis (Clermont-Ferrand)

IV- Les préalables techniques :

Modérateur : J. Bouquet de Jolinière (Paris)
- Les limites des explorations : H. Fernandez (Paris)
- Le concept de microchirurgie doit-il être abandonné ? M. Tran (Nice)
- La coelioscopie répond-elle aux critères micro chirurgicaux ? A. Wattiez (Clermont-Ferrand).
Dîner de travail des membres de la SMR

Samedi 10 juin 2000

V- Les techniques de références :

Modérateur : D. Dargent (Lyon)
- Les plasties tubaires distales : P. Madelénat (Paris)
- Les myomectomies : J.B. Dubuisson (Paris)
- Les malformations utérines : J. Hamou (Paris)
- Les anastomoses tubaires : J.L. Leroy (Lille)

VI- Les nouveautés techniques :

Modérateur : A. Wattiez (Clermont-Ferrand)
- L'endoscopie vaginale : A. Watrelot (Lyon)
- La prévention des adhérences et les biomatériaux : A. Audebert (Bordeaux)
- La technologie peut-elle améliorer les résultats de la chirurgie (robotique, instruments...) : orateur à confirmer.

Déjeuner

VII- Les grandes controverses :

Modérateur : H. Manhes (Vichy)
- Quand ne pas opérer les trompes pathologiques ? B. Hédon (Montpellier)
- Les myomectomies coelioscopiques : quel progrès ? J.B. Dubuisson (Paris)
- Jusqu'où ne pas aller dans les endométrioses sévères ? M. Canis (Clermont-Ferrand)
- Existe-il une place au second look ? J. Cohen (Paris)
- Le traitement chirurgical des PCOs : Ph. Bouchard (Paris)

VIII- Conclusions

L'avenir de la chirurgie de la reproduction & quelle formation : M.A. Bruhat (Clermont-Ferrand).

Groupe d'Intérêt Endocrinologie de la Reproduction

A. Gompel et B. Charbonnel

Le groupe de Gynéco-endocrinologie de la SMR a organisé une journée le 19/11/1999, sous la responsabilité scientifique de P. Bouchard, B. Charbonnel et A. Gompel.

Quatre-vingt-cinq des membres de la SMR ont participé à cette journée malgré un envoi tardif des programmes. Les échos que nous en avons eu ont été très favorables : interactivité des présentations, niveau

scientifique satisfaisant, aspects pratiques aussi abordés. Le mélange d'exposés scientifiques, cliniques de bon niveau et de cas cliniques a semblé convenir à la majorité des participants. Ce bulletin contient l'essentiel des résumés des exposés de cette journée dans la rubrique "en direct des congrès". Voir également l'article de C Coussieu "Le dosage de la prolactine aujourd'hui", écrit à partir de son intervention, et une partie des cas cliniques présentés.

Nous comptons sur vous pour les prochaines journées et attendons vos suggestions, commentaires.

Enfin nous remercions les laboratoires pharmaceutiques dont la liste suit pour leur soutien actif pour cette journée.

Liste des labos participants :

BESINS, CASSENNE, FERRING, ORGANO, SOLYMES, SERONO, THERAMEX, WYETH.

Groupe d'Intérêt Assistance Médicale à la Procréation : de bonnes nouvelles

A. Hazout

Notre premier "Workshop" des 17 et 18 décembre 1999 : "maturation ovocytaire et monitoring de l'implantation embryonnaire" a connu un franc suc-

ès. Nous avons réuni plus de deux cent cinquante personnes sur deux thèmes passionnants développés par des orateurs remarquables venus de toute part : Etats-Unis, Italie,

Hollande, Belgique, Suisse et France, dans l'enceinte de l'Hôtel Sofitel Saint-Jacques. Vous trouverez des comptes rendus de cette réunion dans la rubrique "en direct des congrès".



Le workshop du GI AMP de la SMR (décembre 1999) : vue de la salle pendant la discussion.

Le groupe AMP-SMR s'apprête à organiser des staffs télédiffusés par satellite. Le premier thème choisi sera le sperme "dans tous ses états". Vos dossiers difficiles pourront être discutés dans un staff d'experts réunissant six à sept villes dotées ici ou là de salles

de visio-conférence. Vous serez informés des villes choisies et conscients de la nécessité de hiérarchiser les interventions nous allons faire un premier essai fin février début mars. Nous comptons sur votre indulgence et votre discipline !

Notre réunion nationale aura lieu en mai et nous comptons vivement sur une assistance fournie pour faire la preuve de notre dynamisme et de notre volonté de progrès !

Le dosage de la Prolactine aujourd'hui

C. Coussieu

Laboratoire de Biochimie Médicale, Hôtel-Dieu, Paris.

RESUME

Le dosage de la prolactinémie est un élément clé du diagnostic étiologique d'un hypogonadisme acquis. Malgré les progrès accomplis dans la standardisation des conditions de prélèvement et dans l'uniformisation progressive des étalons de référence, des divergences importantes inter-laboratoires demeurent. Elles trouvent essentiellement leur origine dans l'hétérogénéité des formes circulantes de la Prolactine et doivent donc être considérées comme inhérentes à l'évaluation de ce paramètre. Deux éléments particulièrement importants en découlent. Le premier lié au fait que chaque immunodosage reconnaissant différemment les différentes formes circulantes de PLT, il est nécessaire de définir, pour chacun d'eux, une valeur seuil à partir de laquelle la prolactinémie ne peut plus être considérée comme "normale". Le deuxième concerne la détection de l'éventuelle présence d'une "big-big prolactine". Considérée pendant longtemps comme un forme particulière et relativement rare d'hyperprolactinémie, elle semble être beaucoup plus fréquemment présente qu'on ne le supposait initialement. Inactive biologiquement chez l'homme, elle est reconnue par certains immunodosages actuellement présents sur le marché au même titre que la Prolactine monomère ; elle peut donc être à l'origine de faux diagnostics d'hyperprolactinémie.

Mots Clés : Prolactine, big-big prolactine, macroprolactine, valeurs de référence, hyperprolactinémie

La mise en évidence d'une hyperprolactinémie est un élément clé du diagnostic étiologique d'un hypogonadisme acquis. Mais comment définir une "hyperprolactinémie" ? Est-on en mesure aujourd'hui de définir une valeur seuil commune à tous les laboratoires à partir de laquelle la prolactinémie ne pourrait plus être considérée comme "normale" ? Pour répondre par l'affirmative à cette question il serait nécessaire que tous les problèmes rencontrés au cours du dosage de la prolactinémie soient résolus. Certains d'entre eux trouvent progressivement des solutions : la standardisation des conditions de prélèvement et l'uniformisation des standards de référence mais, d'autres, découlant de la multiplicité des formes circulantes de prolactine, sont beaucoup plus difficiles à maîtriser.

Standardisation des conditions de prélèvement

La prolactinémie varie au cours du nyctémère et augmente de façon

significative sous l'effet du stress. Les conditions de prélèvement doivent donc être rigoureuses mais pas exagérément contraignantes et coûteuses de manière à être respectées. En première intention, un prélèvement à jeûn, entre J2 et J5 du cycle si la patiente est réglée, le matin entre 8h et 10h, après un repos de 20min permet un premier screening (tube sec ou sous anti-coagulant suivant le type d'immunodosage utilisé). Si la prolactinémie se situe dans la zone où il faut suspecter une hyperprolactinémie, le prélèvement doit être renouvelé en vérifiant une fois encore l'absence de toute thérapeutique hyperprolactinémisante. Il est alors nécessaire de poser un cathéter et, après repos, de faire deux prélèvements à 15 min d'intervalle et de doser la prolactine sur les deux prélèvements.

Uniformisation des étalons de référence

Il existe à l'heure actuelle 3 étalons internationaux de référence à la dis-

position des fabricants pour étalonner leur dosage de prolactine. La mesure de ces étalons de référence permet de définir un coefficient utilisé pour transposer en ng/mL des résultats calculés en mUI/L. Ce coefficient est spécifique à chaque immunoessai. Il peut varier de 17 à 36 suivant la technique utilisée. Tout laboratoire doit donc être en mesure de fournir au clinicien prescripteur le facteur de conversion adapté à la technique qu'il utilise.

Problèmes liés à la Multiplicité des formes circulantes de prolactine

Comme la plupart des hormones hypophysaires, la prolactine (PLT) circule sous de multiples formes moléculaires : la little prolactine, monomérique (mPLT) de 23kD (1), les prolactines glycosylées (PLT-Gs) de 25-27kD (2,3), la big prolactine (bPLT) (50-60kD) mélange de dimères et de trimères de PLT-Gs et la big-big prolactine (bbPLT) (>150kD) constituée d'une prolactine liée à une IgG (4).

Ces différentes formes de PLT circulent dans le plasma à des concentrations variables suivant la situation physiologique, que les patients présentent ou non une hyperprolactinémie. La mPLT représente 76 à 84% de la PLT totale chez le sujet sain (1). Le pourcentage de PLT-Gs varie au cours de la grossesse et au cours du test au TRH (5). La bPLT peut représenter de 0 à 22% de la prolactine totale (1). La proportion de bbPLT est comprise entre 1 et 96% de la PLT totale suivant les sujets (6,7).

La demi-vie de ces différentes formes circulantes n'est pas identique : la bbPLT a une clairance beaucoup plus élevée que la mPLT (8).

L'activité biologique de ces différentes formes varie suivant le modèle expérimental utilisé

Les PLT-Gs sont en général moins bioactives que la mPLT (2,9,10).

L'activité biologique de la bbPLT varie suivant le modèle expérimental utilisé. Sur les cellules Nb2, sa bioactivité diffère suivant les auteurs (1, 6, 11, 12) et n'est pas constante d'un sujet à l'autre (12) ; ce bioessai est pourtant couramment utilisé comme méthode de référence pour valider certains immunodosages (13,14). Mesurée par des radio-récepteurs essais sa bioactivité est inférieure à celle de la mPLT (15). Chez l'homme, il semblerait que la bbPLT soit beaucoup moins bioactive que la mPLT puisque la présence d'un fort pourcentage de bbPLT n'est pas nécessairement associée à une perturbation de la fonction ovarienne (6,7,12).

Il en ressort que l'on ne dispose pas de modèle expérimental idéal permettant d'évaluer la bioactivité de toutes les différents formes de prolactine (16). Les bioessais actuellement disponibles ne peuvent donc rendre compte que partiellement de la bioactivité de la Prolactine circulante. Ils ne peuvent donc pas servir de méthode de référence chez l'homme pour quantifier la Prolactine bioactive.

L'immunoréactivité de ces différentes formes n'est pas identique

Du choix du couple d'anti-corps monoclonaux utilisé pour réaliser un immuno-essai dépend la forme de PLT circulante reconnue. Il en résulte que, suivant le pourcentage de cha-

cune des formes, la prolactinémie varie en fonction de l'immunodosage utilisé. Ceci explique en partie la différence de résultats observée entre immunodosages et/ou entre laboratoires. Afin d'essayer de "quantifier" ces différences, il est possible d'entreprendre deux types d'études : d'une part faire mesurer un seul échantillon par un grand nombre de laboratoires utilisant des techniques différentes ou identiques, d'autre part comparer, sur un grand nombre d'échantillons, 2 techniques au sein d'un même laboratoire.

Les résultats présentés sur la figure 1 correspondent au premier type. Il s'agit des résultats de prolactinémie obtenus sur un des contrôles de qualité Probioqual de l'année 1999. Ce contrôle a été dosé par 376 laboratoires français. Nous avons sélectionné les 5 méthodologies les plus fréquemment utilisées (le % de laboratoires utilisateurs est indiqué entre parenthèses). La valeur moyenne et les percentiles obtenus pour chaque immunoessai représente la reproductibilité de l'immunodosage lui-même: on observe qu'un résultat peut varier de plus de 2,5 fois entre deux laboratoires utilisant un même automate (Vidas, Axsym). La différence consta-

tée entre immunoessais est liée au fait que chaque immuno-essai ne reconnaissant que certains épitopes de la PLT, suivant la répartition des différentes formes de PLT circulante, le résultat de prolactinémie est modifié (ex : la plus basse valeur obtenue est 33mUI/L avec Vidas, la plus haute 154mUI/L avec Axsym).

Le deuxième type d'étude a l'avantage d'étendre la comparaison à de larges échantillons de patients. Elle aboutit à calculer une équation qui tente d'établir une relation entre une méthode x et une méthode y. Pour exemple, la comparaison des données de prolactinémie portant sur 88 patientes dont 36 suivies au cours d'un test au TRH montre que la technique Axsym(x) donne systématiquement des résultats 1,22 fois plus élevés que la technique Dade Baxter-Stratus (y) : $y = 1,22x - 0,609$ (18).

Malheureusement, aucun critère analytique rigoureux ne permet actuellement de distinguer quel est parmi tous ces immunoessais celui qui reconnaît exclusivement la Prolactine bioactive puisqu'il n'existe pas de bioessai représentant vraiment la bioactivité de la Prolactine chez l'homme.

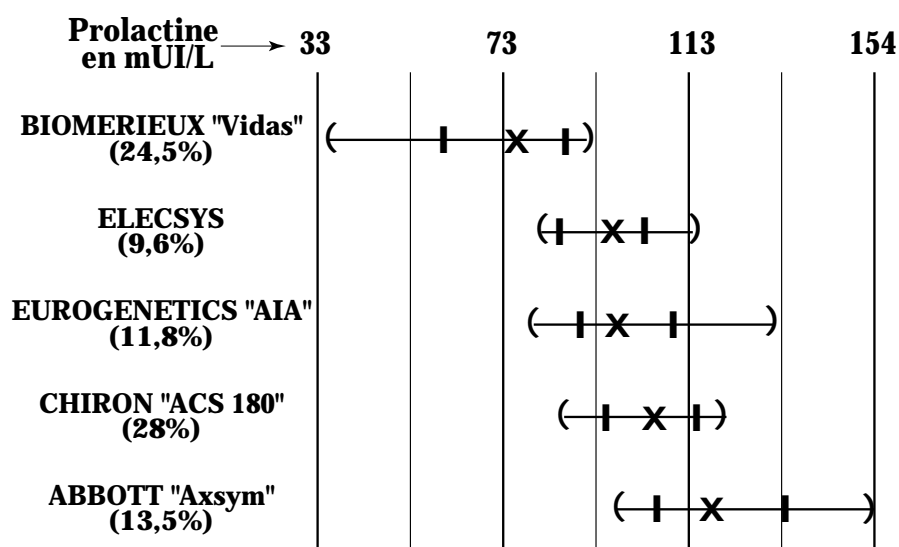


Figure 1 : Résultats de prolactinémie d'un contrôle de qualité (Probioqual) dosé par 376 laboratoires français : X moyenne ; | 16e et 84e percentiles ; () 2,5e et 97,5e percentiles. Résultats obtenus sur 5 automates d'immunoanalyses dont la fréquence d'utilisation figure entre parenthèse.

Cette hétérogénéité implique de définir un seuil d'hyperprolactinémie pour chaque immunodosage

Les études permettant de définir ce seuil sont en général entreprises sur un large échantillon de patients par la société qui développe l'immunodosage. Quelques exemples: l'étude menée par DPC (18) a déterminé pour l'automate Immulite les valeurs de référence des paramètres de la fertilité à partir d'une étude réalisée chez 54 volontaires "normales" étudiées tout au long du cycle : en phase folliculaire la PLT se situe toujours en dessous de 700mUI/L (soit 33ng/mL). Pour Moli, avec la technique Delfia, cette même PLT est dans ce cas toujours en dessous de 25 ng/mL(19). Badonnel (17) montre que le transfert dans son laboratoire de l'automate Stratus à l'automate AxSYM l'a conduit à modifier la limite supérieure de la normale de la prolactinémie de 20ng/mL à 25 ng/mL mais surtout de constater que malheureusement, dans 6 cas sur 36 (16,7%), la réponse au test au TRH était considérée comme excessive par AxSYM et normale par Stratus.

Il est donc impératif de déterminer pour chaque immunodosage la valeur seuil correspondant à une hyperprolactinémie.

Problème particulier lié à la présence d'une big-big-Prolactine.

Quelles sont les conséquences de la présence d'une bbPLT circulante?

La plupart des auteurs s'accordent aujourd'hui pour penser que la bbPLT n'est que faiblement bioactive chez l'homme. Vallette a confirmé dans une récente étude (20) que, sur 101 patientes présentant une bbPRL,

seules 64% d'entre elles présentaient les symptômes habituels d'une hyperprolactinémie.

Sa présence dans le sérum n'a donc pas de conséquence clinique directe. Par contre, sa clairance étant inférieure à celle de la mPLT, sa concentration sérique s'en trouve largement augmentée. Le problème posé par la présence d'une bbPLT serait donc réduit à un problème analytique : si l'immunodosage utilisé reconnaît la bbPLT au même titre que la mPLT, le résultat est entaché d'une erreur par excès.

Est-il fréquent de retrouver de la bb-PLT?

Cette forme circulante de Prolactine a été mise en évidence depuis plus de 20 ans (21). Elle a été longtemps considérée comme un cas particulier d'hyperprolactinémie. Or il convient peut-être de reconsidérer cette notion au vu d'études récentes qui tendent à montrer que la présence d'une bbPLT expliquerait jusqu'à 26% des cas d'hyperprolactinémie. Cette prévalence n'est pas identique suivant les auteurs. Plusieurs éléments peuvent en expliquer la raison :

La bbPLT est toujours recherchée sur une population de sujets sélectionnés pour présenter une hyperprolactinémie immunoréactive. Or les immunodosages ne reconnaissent pas tous les mêmes formes de prolactine circulante (*cf supra*). Si un laboratoire travaille avec un immunoessai qui reconnaît faiblement la bbPLT, il trouvera une prévalence faible et inversement. D'autre part, à immunoessai identique, tous les auteurs n'utilisent pas le même seuil pour définir une "hyperprolactinémie" : elle se situe, par exemple avec la technique Delfia, à 430, 700, 900, 1000 ou 1080 mUI/L pour, respectivement, Olukoga(7), Fahie (22), Cavaco (6), Bjoro (12) et Vieira (23). Enfin, sous le terme "absence" de bbPLT, certains incluent des sérums qui contiennent jusqu'à 40% de bbPLT (23), d'autres 30% (7) pour d'autres moins de 10% (22, 24, 25).

Suivant les critères de sélection choisis, la prévalence de la présence de bbPLT circulante est donc comprise entre 13% (26) et 26% (12) des patients présentant une hyperprolactinémie immunoréactive.

Quelques rares travaux permettent de montrer que, chez les sujets n'ayant pas une prolactinémie immunoréactive anormalement élevée, la PLT liée à une immunoglobuline n'excéderait pas 10% (25,27). Il serait toutefois souhaitable de disposer d'études réalisées sur de plus larges échantillons car, si la bbPP s'avérait être présente chez tous les "euprolactinémiques", il serait nécessaire de reconsidérer la valeur seuil d'hyperprolactinémie.

Comment mettre en évidence la présence d'une bbPLT ?

La chromatographie de gel-filtration

C'est actuellement la seule méthode disponible permettant de déceler la présence de bbPLT et d'en quantifier le pourcentage présent dans le sérum. C'est la méthode de référence. Elle est malheureusement coûteuse et longue et ne peut être réalisée que par un laboratoire spécialisé. Elle est le plus souvent utilisée lorsque les méthodes de screening (*cf infra*) ne peuvent exclure la présence d'une bbPLT.

Elle a permis de montrer que le pourcentage de bbPLT varie considérablement d'un sujet à l'autre et qu'elle n'est pas corrélée à la valeur de PLT immunoréactive. Pour Bjoro ce pourcentage varie de 21 à 97% (n=157) (12), pour Cavaco il peut également être compris entre 1 et 9% (n=11) (6).

Test de dépistage au PEG.

Ce test, décrit en 1997 par Fahie-Wilson (24), consiste à précipiter la bbPLT par du poly-éthylène glycol (PEG) et à doser la prolactinémie "libre" dans le surnageant. Si toute la bbPLT et rien que la bbPRL précipi-

taït, ce test permettrait de quantifier, dans le surnageant la mPLT et peut-être les PLT glycosylées et l'on obtiendrait par différence (PLT totale-PLT du surnageant), la concentration de bbPL circulante. Malheureusement, la spécificité de cette technique est modeste car il est probable que certaines formes de PLT coprécipitent avec la bbPLT. Ce test ne permet pas de quantifier la bbPLT : le test est simplement dit positif si le pourcentage de PLT précipitée dépasse un certain seuil. Or ce seuil varie suivant les auteurs (12, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29) suivant qu'ils privilégient la sensibilité ou la spécificité du test. Pour Fahie (22) ce test est très discriminant, pour Sapin (26) il l'est assez et pour Vieira (23) il l'est beaucoup moins.

Ce test semble peu reproductible d'un laboratoire à l'autre (22,23). Il n'est pas compatible avec l'utilisation de certains immunodosages (ex : AxSYM (30)).

Autres tests de dépistage

Dans l'avenir d'autres techniques seront peut-être disponibles. Fahie-Wilson a récemment mis au point un test utilisant l'ultrafiltration (30). Il poursuit actuellement ses travaux pour le valider sur de larges échantillons de patients (31).

Utiliser un immunodosage qui ne reconnaît pas la bbPLT

Ce serait, bien évidemment la solution la plus adaptée. Malheureusement, les travaux publiés aujourd'hui sont parcellaires. Ils permettent cependant une première approche intéressante.

Parmi les immunodosages automatisés les plus utilisés en France, les études portant sur plusieurs cohortes de patients sont concordantes pour montrer que de nombreux immunodosages reconnaissent tout ou partie de la bbPLT : Delfia (6, 7, 23, 24), Elecsys (26,29) et AxSYM (29, 31, 32), Amerlite (12, 29), IMX (12, 29), Immuno 1 (24, 29). D'autres études montrent que, par contre, l'ACS 180 ne reconnaît que

faiblement la bbPLT (6, 24, 29, 32,33).

Parmi ces études, le résultat le plus démonstratif est celui présenté en Juillet 1999 par l'équipe de Fahie-Wilson (29). Il s'agit des résultats de trois contrôles de qualité CTL 1, 2 et 3 (UK NEQAS) distribués en 1996,

97 et 98, titrant respectivement 5,8, 9,2 et 7,1ng/mL de mPLT et dont le pourcentage de bbPLT représentait respectivement 82, 82 et 93% de la PLT totale. Ce travail leur a permis de classer les immunoessais testés comme étant: High Relative Reactive with bbPLT (HRbbPLT): Amerlite, AxSYM, Immuno1, Delfia, IMx,

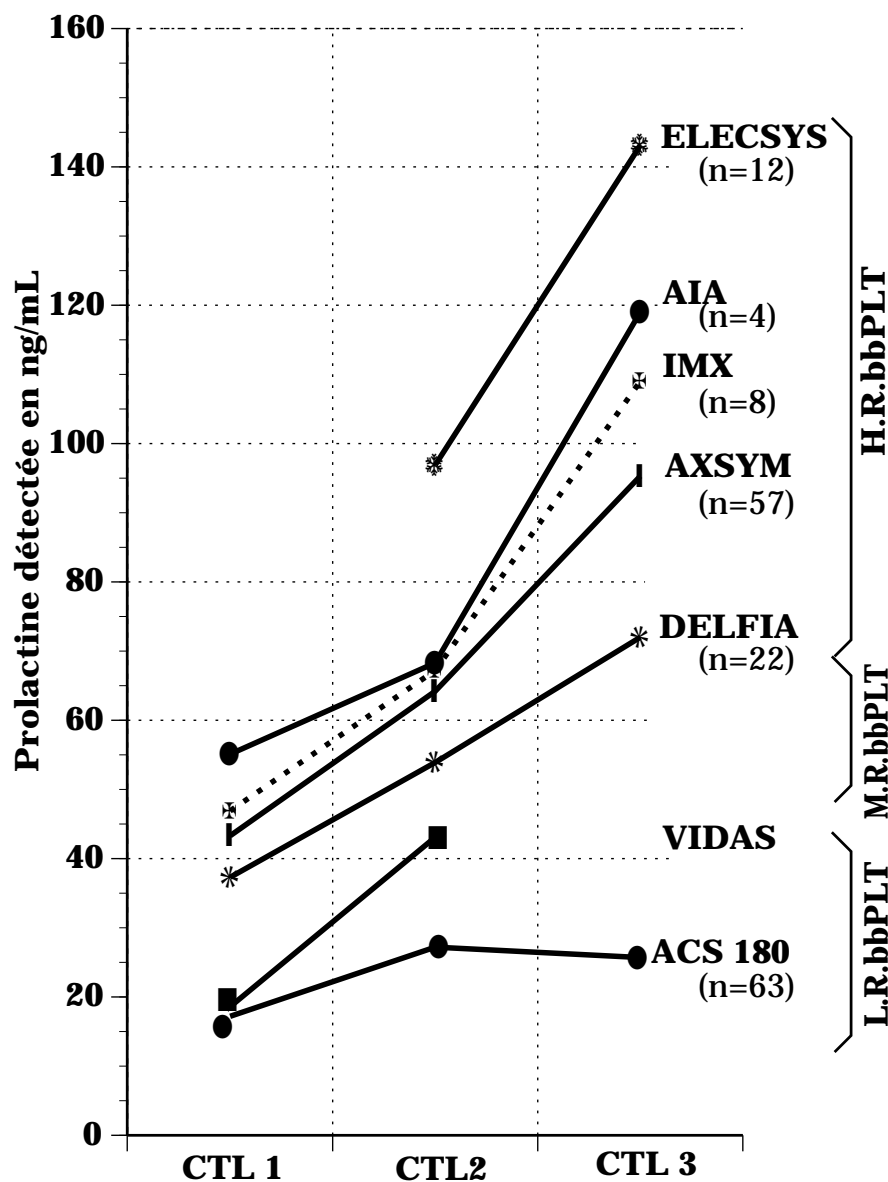


Figure 2 : Prolactinémie moyenne obtenue sur 3 contrôles de qualité contenant plus de 80% de bbPLT. Les CTL 1, 2 et 3 contiennent respectivement 5,8, 9,2 et 37,1ng/mL de mPLT (voir détail dans le texte). HRbbPLT, MRbbpl, LRbbPLT: Hight, Medium, Low Relative Reactivity with bbPLT. n = nombre de laboratoires ayant participé à l'enquête (selon Fahie-Wilson (29)).

Elecsys, AIA ; Medium Relative Reactive with bbPLT (MRbbPLT) : Vitros, DPCImmulate et Low Relative Reactive with bbPLT (LRbbPLT) : Access, ACS, Vidas. La figure 2 résume les résultats obtenus pour les automates les plus utilisés en France.

En tenant compte d'autres données de la littérature et en utilisant les critères de classement proposés par Fahie-Wilson, il semble possible de considérer certains immuno dosages comme étant :

- Very Low Relative Reactive with bbPLT : PROL-CTK IRMA de Sorin BioMedica, Italy (malheureusement retiré du commerce aujourd'hui !)(6).
- LRbbPLT : Enzymum-test Prolactin de Boehringer) (12), PRL IRMA-count de DPC (12).
- MRbbPLT : IRMA de Serono (32)
- HRbbPLT : ELSA-PROL de Cis France (6), RIA-gnost Prolactin de Cis France (6), Immuno 1 de Bayer (24,32), Amerlite (12), Stratus de Baxter (32), PROL-CTK4 (DiaSorin)(33).

EN CONCLUSION

Devant une hyperprolactinémie immunoréactive que le contexte cli-

nique ne permet pas d'expliquer, il nous semble donc possible de proposer la démarche suivante:

- Tout d'abord s'assurer auprès du biologiste d'être en possession de valeurs de référence qui soient en adéquation avec la technique utilisée.
- Puis confirmer ce résultat sur des prélèvements réalisés dans des conditions rigoureuses.
- Enfin penser à l'éventuelle présence d'une bbPLT. Le simple contrôle par un immunodosage ne reconnaissant que faiblement la bbPLT peut certainement servir de screening-test.
- Et ce n'est que devant la persistance d'une hyperprolactinémie subnormale qu'un test au PEG réalisé par un laboratoire spécialisé peut être prescrit suivi, si nécessaire, d'une chromatographie sur gel.

En tant que biologiste, nous nous permettrons de conclure avec Bjoro et al. : "Pour l'instant nous devons garder à l'esprit que l'hyperprolactinémie est le résultat d'un dosage et non un diagnostic."

SUMMARY

The assay of plasma Prolactin (PLT) concentration is a key element in the etiologic diagnosis of acquired hypogonadism. Despite the improvements accomplished in the standardization of blood sampling conditions and in the progressive uniformization of reference standards, important analytical questions still remain. Most of them result from the heterogeneity of circulating forms of PLT. As the immunoassays available differentially recognize these various circulating forms, a threshold value for hyperprolactinemia has to be defined for each assay. What makes the analysis most difficult is the potential presence of big-big prolactin which may distort the whole analysis. The big-big prolactin was considered for a long time as a rather rare and particular form of hyperprolactinemia. Nevertheless it seems to be much more frequently present than it was initially assessed. Big-big PLT is not bioactive in human. Its detection with several of the available immunoassays with same way as the monomeric PLT may therefore result in a false diagnosis of hyperprolactinemia.

Key words : Prolactin, big-big prolactin, macroprolactinemia, reference values, hyperprolactinemia

r

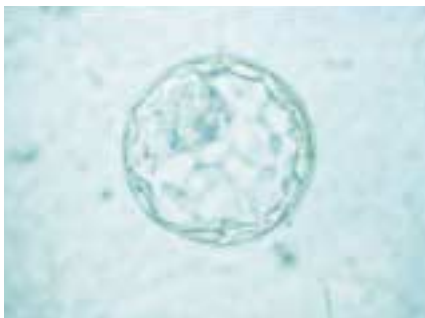
éférences

1. Demonstration of biological activity of prolactin molecular weight variants in human sera. Whitaker MD, Klee GG, Kao PC, Randall RV, Hesser DW. *J Clin Endocrinol Metab*, 58 (5) : 826-30, 1984
2. Two forms of glycosylated human prolactin have different pigeon crop sac-stimulating activities. Lewis UJ, Singh RN, Lewis LJ. *Endocrinology* Mar;124 (3) : 1558-63, 1989
3. Glycosylated prolactin is a major circulating variant in human serum. Markoff E, Lee DW. *J Clin Endocrinol Metab*, 65 (6) : 1102-6, 1987
4. Some forms of big big prolactin behave as a complex of monomeric prolactin with an immunoglobulin G in patients with macroprolactinemia or prolactinoma. Cavaco B, Leite V, Santos MA, Arranhado E, Sobrinho LG. *J Clin Endocrinol Metab*, 80 (8) : 2342-6, 1995
5. Immunoradiometric analysis of circulating human glycosylated and nonglycosylated prolactin forms: spontaneous and stimulated secretions. Brue T, Caruso E, Morange I, Hoffmann T, Evrin M, Gunz G, Benkirane M, Jaquet P. *J Clin Endocrinol Metab* 75 (5) : 1338-44, 1992
6. Hyperprolactinemia due to big big prolactin is differently detected by commercially available immunoassays. Cavaco B, Prazeres S, Santos MA, Sobrinho LG, Leite V. *J Endocrinol Invest*, 22 (3) : 203-8, 1999.
7. Macroprolactinaemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. Olukoga AO, Kane JW. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 51(1) : 119-126, 1999
8. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia : bioassay and clearance studies of PRL-immunoglobulin G complex. Hattori N, Inagaki C. *J Clin Endocrinol Metab* 82 (9) : 3107-10, 1997
9. Glycosylation selectively alters the biological activity of prolactin. Markoff E, Sigel MB, Lacour N, Seavey BK, Friesen HG, Lewis UJ. *Endocrinology* 123 (3) : 1303-6, 1988
10. Studies on the microheterogeneity and in vitro activity of glycosylated and nonglycosylated recombinant human prolactin separated using a novel purification process. Price AE, Logvinenko KB, Higgins EA, Cole ES, Richards SM. *Endocrinology* 136 (11) 4827-33, 1995
11. Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. Leite V, Cosby H, Sobrinho LG, Fresnoza MA, Santos MA, Friesen HG. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 37 (4) : 365-72, 1992
12. Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150-170 kD PRL). Bjoro T, Morkrid L, Wergeland R, Turter A, Kvistborg A, Sand T, Torjesen P. *Scand J Clin Lab Invest* Apr;55(2) : 139-47, 1995.
13. Correlation of Nb2 bioassay and radioimmunoassay values for human serum prolactin. Rowe RC, Cowden EA, Faiman C, Friesen HG. *J Clin Endocrinol Metab* 57 (5) : 942-6, 1983
14. Euprolactinemic Galactorrhea. Response of bioassayable prolactin to thyrotropin-releasing hormone. Ataya KM, Subramanian MG, Lawson DM, Gala RR. *J Reprod Med*, 41 (3) : 156-60, 1999
15. Large molecular size prolactin with reduced receptor activity in human serum: high proportion in basal state and reduction after thyrotropin-releasing hormone. Farkouh NH, Packer MG, Frantz AG. *J Clin Endocrinol Metab* 48 (6) : 1026-32, 1979.
16. Prolactin heterogeneity: a limitation on the evaluation of results from prolactin assays due to differences in immunoassays and the different bioactivities of prolactin forms. Lohrke B, Kunkel S, Kowitz J, Viergutz T, Tiemann U, Alm H, Kruger B. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 31 (12) : 815-27, 1993.
17. Problèmes d'interprétation des résultats de dosage de la prolactine par deux techniques immunochimiques. Badonnel Y., Barbé E, Legagneur H., Watrin V., Groussin M. *Immunoanal Biol Spéc*, 11, 126-134, 1996)
18. Etude multicentrique sur les valeurs de référence au cours des cycles menstruels des tests Immulite* de fertilité. Vankrieken L, Van der Horst E.A.L., Castracane V.D., Durham A.P., El Shami A.S. 16è Colloque en Immunoanalyse et Biologie Spécialisée (Communication affichée), 20-23 Octobre 1999
19. Establishment of reference values for endocrine tests II : Hyperprolactinemia. Le Moli R, Endert E, Fliers E, Mulder T, Prummel MF, Romijn JA, Wiersinga WM. *Neth J Med*, 55 (2) : 71-5, 1999
20. Vallette S., Morange I., Priou A., Martin P.M., Jaquet P., Brue T. *Annales d'endocrinologie*, 60, (4), F153 p361 Octobre 1999
21. Study on maternal, fetal, and amniotic human prolactin at term. Fang VS, Kim MH. *Clin Endocrinol Metab* 41 (06) : 1030-4, 1975
22. Polyethylene Glycol Precipitation as a screening method for macroprolactinemia. Fahie-Wilson MN. *Clinical Chemistry*, 45, 3, 436-437, 1999
23. Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. Vieira JG, Tachibana TT, Obara LH, Maciel RM. *Clin Chem Aug* ; 44 (8 Pt 1) : 1758-9, 1998 .
24. Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. Fahie-Wilson MN, Soule SG. *Ann Clin Biochem* 34 : 252-8, 1997
25. The frequency of macroprolactinemia in pregnant women and the heterogeneity of its etiologies. Hattori N. *J Clin Endocrinol Metab* 81 (2) : 586-90, 1996
26. Dépistage de la macroprolactine. Sapin R., Gasser E., Fishbach E., Grucker D. 16è Colloque en Immunoanalyse et Biologie Spécialisée (Communication affichée) 20-23 Octobre 1999
27. Correlation of the antibody titers with serum prolactin levels and their clinical course in patients with anti-prolactin autoantibody. Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T, Moridera K, Hino M, Kurahachi H. *Eur J Endocrinol* 130 (5) : 438-45, 1994.
28. Anti-prolactin autoantibodies and hyperprolactinaemia. Olukoga A.O., Kane J. *European Journal of Endocrinology*, 133, 463-464, 1995
29. Macroprolactin- A major problem in immunoassays for prolactin. Fahie-Wilson M.N., Ellis A.R., Seth J., Communication au congrès de l'AACC, New Orléans 27-29 juillet 1999.
30. Macroprolactin and the Abbott AxSYM prolactin assay : characteristics of the reaction and detection of macroprolactin by centrifugal ultrafiltration. Proceedings Association of Clinical Biochemists National Meeting, p35, 1998
31. Macroprolactin screening test : proposal for evaluation of an ultracentrifugation method with the Abbott AxSYM assay .Heys A.D., Craddock H., Fahie-Wilson M. (Communication personnelle, travaux en cours d'évaluation)
32. Macroprolactin in an asymptomatic woman was detected less efficiently by the CibaCorning ACS180 method than by several other immunoassays. Curtis J., Ellis G. *Clinical chemistry*, 42 : S6 (1996)
33. Communication personnelle, 17 décembre 1999. Leite V, Serviço de Endocrinologia, Instituto Português Oncologia, Lisboa, Portugal.

Le Blastocyste en AMP : pourquoi et comment, quels progrès ?

Y. Ménézou et P. Guérin

Le transfert au stade blastocyste après FIV n'est pas une nouveauté car les premiers enfants nés de cette technique ont chez nous maintenant 10 ans (mars 1989). Il a tout d'abord été fortement controversé mais il a maintenant montré son efficacité. Il est recommandé après échec de transfert aux stades précoces. L'une des raisons est d'abord qu'il existe parfois également une hypermotricité utérine 2 à 3 jours post ponction, qui est considérablement diminuée lorsque le transfert est réalisé au stade blastocyste.



Joli Blastocyste expansé.

Il existe une sélection permettant de dépasser les problèmes de blocage précoce d'origine paternelle et maternelle. Ceci a été montré clairement par une étude comparative des résultats du ZIFT et du transfert au stade blastocyste. Des problèmes cytogénétiques amènent in vivo ou in vitro, au blocage embryonnaire. La encore le transfert de blastocyste permet de réaliser la sélection in vitro. Nous avons d'ailleurs utilisé cette technique pour les couples porteurs de translocation. Sept enfants porteurs et non porteurs de la translocation parentale sont déjà nés. Les enfants

nés après transferts de blastocyste ne présentent apparemment pas d'anomalies. Cependant le sexe ratio est modifié en faveur des garçons.



Début d'éclosion.

La culture en milieu séquentiels a remplacé l'utilisation de la coculture pour obtenir des blastocystes en FIV humaine.

Le concept de base consiste à suivre les besoins de l'embryon. Lors de la première phase du développement préimplantatoire, l'embryon se divise sur les réserves (ARN et protéines) stockées pendant la maturation. La régulation du pool endogène est peu efficace. Durant cette période, il est recommandé d'avoir une concentration réduite de glucose et de phosphate pour contrebalancer la dysfonction mitochondriale. Il a été récemment publié que les acides aminés essentiels sont "toxiques" pendant cette première phase. Tout d'abord, il est difficile de déterminer ce qu'est un acide aminé essentiel pour l'embryon. En effet celui-ci possède des systèmes fossiles, que l'on ne retrouve plus ou que dans de rares organes chez l'adulte. De plus, la définition du terme indispensable est basée sur des expériences de nutri-

tion chez l'adulte. La méthionine est plutôt nécessaire : en effet, nous avons pu montrer qu'elle est incorporée, quelque soit l'espèce. Elle est utilisée, via la S-Adénosyl-méthionine, pour les méthylations. Ces méthylations impliquent notamment l'ADN (empreinte génomique ?). De plus les cultures séquentielles impliquant l'utilisation de milieux complets dans la première phase nous ont donné d'excellents résultats. Une protection efficace contre les radicaux libres est recommandée spécialement si l'on considère que l'ADN est très exposé durant cette période de transmission du patrimoine génétique. Cette protection peut être réalisée par l'EDTA et l'hypotaurine, fortement présente dans l'environnement tubaire. Par certains côtés, les cellules embryonnaires ont beaucoup de similarité avec les cellules nerveuses.



Morula en précompaction.

Après l'activation génomique, lors de la deuxième phase, les besoins sont quantitativement et qualitativement plus importants. Cependant, des modifications importantes de la composition du milieu ont des repercussions sur la formation des blasto-

cystes et sur leur qualité. Nous avons pu montrer que le S2 et le G2 ont des différences de composition très marquées. De plus la composition des milieux n'est pas toujours l'exact reflet de ce qui est publié dans la littérature scientifique.

Du fait de l'apparition du récepteur au stade 8 cellules, l'insuline doit être ajoutée. Nous avons pu montrer que l'insuline semble avoir un effet bénéfique sur la cinétique des segmentations dès le stade 2-cellules. L'addition d'un "cocktail" de facteurs de croissance reste sujet à controverse du fait de possibles dérégulations au début du développement embryonnaire. Il existe en effet une certaine redondance entre facteurs de crois-



Pseudo Blastocyste.
Noter l'absence de masse cellulaire interne.

sance. Cependant, il ne faut pas ignorer que les "réglages fins" du rapport entre les cellules du bouton embryonnaire et des cellules du trophoctoderme dépendent des facteurs de croissance. Certains de ces facteurs de croissance (bFGF) sont le

produit de l'expression de certains gènes embryonnaires (Oct 3/4).

En résumé la technologie des milieux séquentiels doit encore faire des progrès, surtout quant à sa reproductibilité. Des données de base manquent encore. Une amélioration des connaissances du métabolisme embryonnaire humain est un prérequis nécessaire, qui ne pourra être réalisé que par une recherche sur l'embryon humain. Toutes les autres voies, notamment celles des analogues d'une espèce à l'autre, ont définitivement montré leurs limites. En arrière plan, le futur thérapeutique des cellules est un élément moteur supplémentaire pour l'acquisition de ces informations.

références

- Bavister B.D., Boatman D. 1997 The neglected human blastocyst revisited. *Human Reprod.*, 12, 1607-1609
- Benkhalifa M., Ménéz Y., Janny L., Pouly J.L., Qumsiyeh M.B. 1996. Cytogenetics of uncleaved oocytes and arrested zygotes in IVF programs. *J. Assisted Reprod. Genetics*, 13: 140-148
- Chouteau J., Girard A., Sage J.C., Ménéz Y. 1998 The use of sequential media for Blastocyst transfers. *Proceedings Alpha meeting. Sorrento November 1997. Human Reprod. Suppl 4*
- Gardner D.K., Lane M. 1997 Culture and selection of viable blastocysts : a feasible proposition for human IVF. *Human Reprod. Update*, 3: 367-382
- Janny L. and Ménéz Y. 1996. Maternal age effect on early human embryonic development and blastocyst formation. *Mol. Reprod. Develop.* 45: 31-37.
- Jones G.M., Trounson A.O., Gardner D.K., Kausche A., Lolatgis N., Wood C. Evolution and culture protocol for successful blastocyst development and pregnancy. *Human Reprod.*, 13, 169-177, 1998
- Ménéz Y. J. R. and Dale B. 1995 Paternal contribution to successful embryogenesis. *Human Reprod.* ,10:1326-1327
- Ménéz Y. and Janny L. 1996 Is there a rationale for tubal transfer in human ART ? *Human Reprod.*, 11: 1818-1820
- Ménéz Y., Veiga A. 1997 Cryopreservation of Blastocyst. *In vitro fertilization and assisted reproduction. Proc. Xth World Congress on in vitro fertilization and assisted reproduction. Vancouver.* pp 49-53
- Ménéz Y., Bellec V., Zaroukian A., Benkhalifa M. 1997 Embryo selection by IVF coculture and transfer at the blastocyst stage in case of translocation. *Human Reprod.*, 12: 2802-2803
- Ménéz Y., Chouteau J., Torello M.J., Girard A., Veiga A. 1999 Birth weight and sex ratio after transfer at the blastocyst stage in human. *Fertil. Steril.*, 72: 221-224
- Olivennes E, Hazout A., Lelaidier Ch. Freitas S., Fanchin R., de Ziegler D., Frydman R. 1994 Four indications for embryo transfer at the blastocyst stage *Human Reprod.*, 9: 2367-2373

Tumeurs du testicule chez les hommes infertiles : un risque méconnu

E. Amar

17 avenue Victor Hugo - 75116 PARIS

L'apparition de l'ICSI et surtout la possibilité de faire des prélèvements testiculaires nombreux et itératifs a suscité de très nombreuses questions sur l'absence d'innocuité de ces actes traumatiques, d'autant qu'ils sont réalisés sur une population infertile, elle-même déjà à risque. Nous allons tenter de faire une courte mise au point pour actualiser toutes les données sur la fréquence et l'incidence des tumeurs du testicule chez les hommes infertiles à partir de données de la littérature et de celles d'une série personnelle d'environ 1 000 patients infertiles colligées entre 1994 et 1999.

A - Résultats et conclusions de la série personnelle :

995 patients infertiles ont été vus à notre consultation d'infertilité de juin 1994 à juin 1999, répartis en 526 patients azoospermes et 469 patients oligospermes.

22 patients avaient une tumeur du testicule et sur ces 22 patients, 8 patients avaient déjà des antécédents de tumeur du testicule opérée ou traitée et ce n'est que dans les suites de ce cancer du testicule que les patients ont consulté pour infertilité.

L'autre population qui nous intéresse se répartit en 14 patients qui ont eu une tumeur du testicule découverte simultanément à de la consultation de stérilité, soit un pourcentage de 1,4 %.

Sur ces 14 patients, on retrouve :

- 35,7 % de testicules cryptorchides,
- 35,7 % de testicules atrophiques (< 8 ml)
- 35,7 % de tumeurs qui ne sont pas palpables.

La nature histologique de la tumeur du testicule qui a été retrouvée sur les 10 patients opérés est la suivante :

- 5 tumeurs à cellules de Leydig, soit 50 % du total et ce qui est intéressant c'est que 60 % de ces tumeurs à cellules de Leydig n'ont pas été palpables et découvertes uniquement à l'échographie.
- 3 séminomes tous palpables.
- 1 carcinome embryonnaire palpable.
- 1 fibrose bénigne elle-aussi palpable sous forme tumorale.

On peut sur cette courte série, tirer plusieurs conclusions intermédiaires :

- 1°) La fréquence des tumeurs à cellules de Leydig (50%) est très élevée alors que dans la littérature les tumeurs à cellules de Leydig ne représentent qu'environ 6 % des tumeurs du testicule.
- 2°) 30 % de tumeurs testiculaires ne sont pas palpables mais ce qui est intéressant, c'est qu'elles sont toutes bénignes et il s'agit de tumeurs à cellules de Leydig.
- 3°) En cas de cryptorchidie, la fréquence de la tumeur testiculaire est multipliée par trois par rapport à l'ensemble de la population infertile.

B - Dans la littérature :

Plusieurs études vont dans le même sens que les chiffres retrouvés dans l'étude personnelle.

- a) Nieschlag (1997) retrouve 0,5 % de tumeurs du testicule sur 4 200 patients infertiles examinés.
- b) Rigot (1998) retrouve 1,5 % de tumeurs sur 609 patients examinés.
- c) Logavakisi (1998) retrouve 0,23 % de tumeurs sur 2 145 patients infertiles.

Bien entendu la différence est très significative avec la fréquence des tumeurs du testicule dans la population générale :

- 0,005 % (Moller 1993)
- 0,007 % (Logavakis 1998)
- 0,005% (Mc Kiernan 1999)

D'autres éléments trouvés dans la littérature doivent nous faire soulever plusieurs problèmes :

1°) Le risque relatif de cancer du testicule sur un testicule cryptorchide est multiplié par entre 7 et 30 environ selon les études.

L'étude de Swerdlow en 1997, sur plus de 1 000 enfants cryptorchides opérés, a permis de différencier les enfants qui au cours de l'orchidopexie ont subi une biopsie testiculaire diagnostique concomitante. Ces enfants ayant été biopsiés ont un risque relatif de cancer multiplié par 6,7 par rapport aux enfants cryptorchides opérés, non biopsiés.

Bien entendu, de nombreux biais peuvent exister dans cette étude, mais les faits restent troublants.

2°) La fréquence des cancers du testicule dans la population générale a augmenté au cours de ces 20 dernières années, comme en témoignent deux études récentes.

- a) Thompson (1999) a retrouvé dans le service de défense des Etats Unis une augmentation chiffrée à 78 % en 10 ans, entre 1988 et 1998.
- b) McKiernan (1999) a retrouvé une augmentation de la fréquence des tumeurs du testicule de 51 % en 22 ans, de 1973 à 1995.

Ce deuxième élément est lui aussi troublant : existe-t-il des facteurs endogènes, exogènes, environnementaux ?

3°) La troisième donnée vient de l'étude de Skakkebaek (1999) qui étudie 514 tumeurs du testicule contre 720 patients contrôlés sur le registre danois et dont les conclusions sont les suivantes :

- a) Le risque de cancer du testicule est réduit parallèlement à la paternité (risque relatif 0,63).

- b) Le risque de cancer est doublé chez les hommes à fertilité diminuée (risque relatif 1,98).

En conclusion :

- 1°) La fréquence des tumeurs du testicule est considérablement accrue chez les hommes infertiles.
- 2°) En cas de cryptorchidie, le risque est encore augmenté.
- 3°) Il faut être prudent quant aux prélèvements testiculaires répétés, car il faudra une surveillance à long terme de ces testicules.

En effet, le problème essentiel pratique est celui des prélèvements testiculaires (TESE), en cas d'azoospermie non obstructive avec des risques nombreux et multiples.

- a) Le risque traumatique.
- b) le risque de micro-lithiase testiculaire.
- c) Le risque accru de tumeur du testicule chez les patients infertiles surtout en cas de cryptorchidie.
- d) Le risque génétique :
 - Aneuploïdie

- Anomalies chromosomiques
- Instabilité génomique.

Il faut donc en tirer plusieurs recommandations.

A – Ne jamais se contenter d'un spermogramme pour évaluer un patient infertile. L'examen clinique uroandrologique est nécessaire et obligatoire.

B – L'échographie testiculaire doit être systématique et en particulier obligatoire avant tout prélèvement testiculaire chirurgical.

C – L'information du patient doit être claire et complète en cas de prélèvement testiculaire en exposant tous les risques, ainsi que les bénéfices et alternatives.

D – Après le prélèvement testiculaire, quelque soit l'issue de l'ICSI, la surveillance clinique et échographique du patient doit se faire tous les 12 à 18 mois, tant que le recul ne sera pas suffisant.

E – La collaboration entre l'Uro-Andrologue, le Gynécologue et le Biologiste de la reproduction reste encore une fois la base de tout traitement de l'infertilité masculine.

r éférences

- 1 Logavakis et coll. IFFS 1998 Abstract O31
- 2 H. Moller, N.E . Skakkebaek, BMJ 1999, 318 : 559-562
- 3 IM. Thompson, S. Optenberg, R. Byers, M. Dove Urology, 1999, 53 : 806 – 807
- 4 A.J Swerdlow, C.D Higgins, M.C Pike, BMJ, 1997, 314 : 1507-1511
- 5 JM Mc Kiernan, E.T. Goluboff, G.L. Liberson, R. Golden, H. Fisch, J. Urol, 1999, 162 : 361-363
- 6 E. Nieschlag, H.M Behre in "Andrology-Male reproductive health and dysfunction", Springer 1997
- 7 H. Moller, Eur. Urol. 1993, 23 : 8-13

Le diagnostic pré-implantatoire, enfin une réalité en France

Stéphane Viville et Pierre Gerlinger

SIHCUS-CMCO, Service de Biologie de la Reproduction, 19 rue Louis Pasteur
67300 SCHILTIGHEIN

Le diagnostic génétique pré-implantatoire (DPI) permet de détecter une anomalie génétique avant l'implantation de l'embryon. En effet, il consiste à réaliser une analyse génétique sur des embryons humains obtenus par fécondation in vitro (FIV) et de ne transférer chez la patiente que des embryons sains ou porteurs sains. Ceci présente l'avantage majeur de pouvoir proposer à un couple présentant une forte probabilité de transmettre une maladie génétique d'une particulière gravité de lui éviter l'épreuve d'interruptions médicales de grossesse (IMG).

L'analyse est faite sur une ou deux cellules prélevées au troisième jour de développement, au stade huit cellules, soit par amplification en chaîne par la polymérase (PCR), soit par hybridation in situ avec des sondes fluorescentes [1]. Cette technique est proposée pour les maladies récessives liées au chromosome X (myopathie de Duchenne, myopathie myotubulaire liée à l'X, etc...) par détermination du sexe des embryons, et pour certaines maladies autosomiques récessives ou dominantes par caractérisation des mutations impliquées (mucoviscidose, amyotrophie spinale, maladie de Huntington, myotonie dystrophique de Steinert, etc...).

Par arrêté du 20 juillet 1999 deux centres français sont autorisés à pratiquer le diagnostic pré-implantatoire (DPI). Il s'agit d'un centre parisien constitué de l'association entre le service du Prof. A. Munnich (hôpital Necker enfants malades) et le service du Prof. R. Frydman (hôpital Béchère), Le deuxième centre est à

Strasbourg dans les services des Prof. P. Gerlinger et I Nisand.

C'est avec près de dix ans de retard que nous avons débuté cette activité en France. En effet, l'annonce de la première grossesse obtenue après DPI fut faite en 1990 par Handyside et coll [2]. Le centre des Professeurs Liebaers et van Steirteghem a, quant à lui, débuté son activité DPI en 1993. Pourquoi un tel retard alors que la loi de bioéthique (Ln°94-654) du 29 juillet 1994 autorise cette pratique? Ce retard ne peut pas s'expliquer uniquement par des lenteurs administratives. Le DPI a ouvert en France un débat passionnel pas toujours très bien argumenté. Entre autre, il a été mis en avant les possibles dérives eugéniques d'une telle pratique. Nous souhaiterions répondre ici à ces propos. Il n'est pas dans notre intention de rappeler ce qu'est l'eugénisme, pour cela le lecteur est invité à lire un excellent article publié par le professeur J. Gayon [3]. Voici juste la définition qu'en donnait Sir Francis Galton en 1883 : "la science de l'amélioration des lignées, qui n'est aucunement confinée à des questions de croisement judicieux, mais qui, tout particulièrement dans le cas de l'homme, prend appui sur tous les facteurs (...) susceptibles de conférer aux races ou souches les plus convenables une plus grande chance de prévaloir rapidement sur celles qui le sont moins" [3]. Il est évident qu'un tel objectif de l'amélioration des espèces ne peut être atteint que s'il répond à une volonté politique et est réalisé à grande échelle. Or, certains ont mention-

né la possible utilisation du DPI comme l'instrument d'un "nouvel eugénisme", d'un "eugénisme individuel", voire de l'aboutissement ultime d'un "eugénisme médicalisé". Notons, dans un premier temps, qu'aucun pays où le DPI se pratique n'a cherché à multiplier le nombre de centres, bien au contraire, dans la majorité des pays ce nombre a volontairement été restreint. C'est particulièrement vrai en France où seul deux centres ont été autorisés, un troisième devant l'être prochainement puisque Montpellier a obtenu un avis favorable. Le DPI, dans aucun pays, n'entre dans une politique d'amélioration de l'espèce. Étant donné la lourdeur de sa mise en oeuvre on peut légitimement penser qu'il ne sera jamais un instrument permettant de modifier une population de manière eugénique.

En ce qui concerne la notion d'eugénisme individuel, il est difficile, sans faire de procès d'intention, de penser que les couples demandeur d'un DPI pour éviter la naissance d'un enfant handicapé se soucient, de près ou de loin, de l'avenir de l'"espèce humaine". leur première préoccupation est la naissance d'un enfant sain soulignant leur difficulté à assumer les souffrances liées à un tel handicap. Comme l'a souligné le professeur M. Pembrey, dans la majorité des cas les couples demandeurs de DPI sont des couples au vécu dramatique d'enfants atteints et/ou d'IMG à répétition ayant abandonné tout projet procréatif [4]. Le DPI leur évite l'IMG et leur permet de reprendre un tel projet. Nous nous trouvons donc dans une

situation opposée à celle que l'on voudrait nous présenter. En effet, ces couples par leur refus de procréer font, inconsciemment, de l'eugénisme puisqu'ainsi ils évitent la dissémination d'une tare. En revanche, lors du recours au DPI il serait inadmissible que, pour les maladies récessives, des embryons porteurs sains ne soient pas transférés. De plus, le biologiste ne se soucie pas de développer des diagnostics permettant de distinguer les embryons sains des porteurs sains.

Il est aussi avancé les possibilités de réaliser des DPI non plus pour des pathologies graves mais pour convenances personnelles. Or, la loi française est très bien faite : elle n'autorise le DPI que pour des pathologies d'une particulière gravité, reconnues comme incurables au moment du diagnostic. De plus, l'anomalie ou les anomalies impliquées doivent être caractérisées chez au moins un des deux parents et seule cette anomalie peut être mise en évidence chez l'embryon. Enfin, le DPI ne peut être réalisé qu'après avoir obtenu un avis favorable d'un centre pluridiscipli-

naire de diagnostic pré-natal. Même si de telles dérives sont techniquement possibles, on voit là qu'elles seront difficiles à mettre en oeuvre. Toutefois, il ne faut pas ce voiler la face. Il est vrai que certains centres, dans le monde, proposent, sous le terme anglais de "family balancing", de réaliser une détermination du sexe des embryons pour convenances personnelles. Certains considèrent comme acceptable, lorsqu'une famille a plusieurs enfants d'un même sexe, de leur offrir la possibilité d'en avoir un de sexe opposé. Cette proposition est inacceptable et il est important de lutter contre de telles dérives. La responsabilité des scientifiques d'aujourd'hui est de ne pas programmer un monde que nos enfants leur reprocheraient d'avoir créé. Mais c'est donner trop d'importance au DPI et à ses possibles dérives que de considérer qu'il puisse être un instrument voué à modifier l'espèce humaine.

Les critiques à formuler à l'encontre du DPI ne sont pas tant dans les possibles dérives que dans la technique elle-même. En effet, elle est et restera

extrêmement lourde et sans garantie complète du résultat. Avec des taux de réussite de l'ordre de 20 à 30%, la fécondation in vitro représente pour le couple, généralement fertile, la difficulté majeure. Enfin, les techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire appliquées à une seule cellule ont une fiabilité de 90 à 95%, ce qui signifie qu'il est toujours proposé un diagnostic pré-natal suite à un DPI afin de confirmer le diagnostic. Il reste donc un risque, minime, de faux diagnostic mettant le couple dans la situation difficile de décider ou non d'une IMG.

Il ne faut pas se réfugier derrière les difficultés techniques du DPI pour rassurer le public sur l'impossibilité des dérives. Ce qui impossible aujourd'hui ne l'ait pas nécessairement demain. C'est la raison pour laquelle les barrières légales dont la France s'est dotées sont plus convaincantes. Il faut tout faire pour maintenir ces restrictions sans pour autant entraver le bon fonctionnement du DPI.

références

1. Viville S, Ray P, Viville B, Handyside A, and Gerlinger P. Diagnostic génétique préimplantatoire : Techniques et résultats. *M S Med Sci* 1996; 12 : 1378-88.
2. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, and Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344 : 768-70.
3. Gayon J, Eugénisme, in *Principes de génétique humaine*, Feingold J, Fellous M, and Solignac M, Editors. 1998, Hermann, éditeurs des sciences et des arts: Paris. p. 459-83.
4. Pembrey ME. In the light of preimplantation genetic diagnosis: some ethical issues in medical genetics revisited. *Eur J Hum Genet* 1998; 6 : 4-11.

Journée du groupe d'intérêt en Endocrinologie Gynécologique (19 novembre 1999, Paris)

■ Session prolactine

B. Charbonnel

Cette matinée a été très intéressante et interactive consacrée pour partie à des actualités de physiologie et pour partie à des échanges extrêmement vivants sur des problèmes et des observations de clinique pratique.

Mme N. Binard

(Hôpital Necker – Paris) a présenté une mise au point particulièrement documentée sur le récepteur de la prolactine, le gène qui code pour ce récepteur et ses différentes fonctions. Des souris KO pour ce gène ubiquitaire ont un défaut dans le développement mammaire pour les souris hétérozygotes ; les souris KO homozygotes survivent mais sont stériles par incapacité d'implantation, réversible sous progestérone. Les souris KO pour le gène du récepteur de la prolactine ont d'autre part des anomalies de l'ostéogenèse et différentes anomalies immunologiques, d'ailleurs modestes.

Mme I. Morange

(Marseille) a fait état de l'expérience de son groupe (Pr Ph. Jaquet) sur l'emploi du gamma-knife dans les adénomes hypophysaires sécrétants résiduels après chirurgie. Cette technique stéréotaxique en une seule séance permet une irradiation maximale de la cible et minimale des tissus adjacents d'où son nom imagé de radiochirurgie. La proximité de la tumeur vis à vis des voies visuelles

demeure une contre-indication. Des antécédents de radiothérapie conventionnelle antérieure doivent rendre très prudent. Le résultat est en général positif et relativement rapide sur l'hypersécrétion hormonale et/ou sur le volume tumoral, mais ce résultat est loin d'être constant et il existe à distance un risque d'insuffisance hypophysaire. Dans la série marseillaise, 32 % des 34 acromégales ont vu une normalisation de la GH et 44 % des 18 Cushing une normalisation du cortisol libre urinaire, normalisation observée souvent les 2 premières années. Dix cas de prolactinomes résiduels ont été traités avec une normalisation de la prolactine chez 4 d'entre eux entre 1 et 4 ans. Une insuffisance hypophysaire généralement dissociée a été observée dans 10 % des cas à 18 mois. La bonne indication du gamma knife est le petit reliquat tumoral envahissant la partie médiale du sinus caverneux.

Dans la discussion, D. Dewailly (Lille) a confirmé par sa propre expérience celle de Marseille mais rappelé aussi les résultats corrects de la radiothérapie conventionnelle dans ses modalités actuelles.

D. Dewailly

(Lille) a traité ensuite du problème clinique très fréquent de la conduite à tenir devant une hyperprolactinémie observée chez une patiente par ailleurs sous neuroleptiques. Les taux peuvent dépasser 200 ng/ml. Le dia-

gnostic est facile si on a la notion d'une prolactine normale avant la prescription des neuroleptiques, ce qui devrait être fait plus souvent. Sinon, un scanner ou une IRM de précaution est généralement souhaitable. En théorie, il vaut mieux traiter par les oestrogènes pour protéger l'os que par les dopaminergiques car ceux-ci pourraient antagoniser en partie l'effet des neuroleptiques. En pratique, cette crainte apparaît généralement surfaite.

C. Coussieu

(Hôtel Dieu de Paris) a ensuite évoqué différents pièges du dosage de la prolactine. Elle les reprend en détails dans un autre article de cette revue. Des résultats différents de prolactine pour un même sérum peuvent être observés d'un kit à l'autre suivant l'anticorps (les anticorps monoclonaux reconnaissent plus ou moins telle ou telle forme de prolactine, petite prolactine bioactive, prolactine glycosylée, différentes macroprolactines...) et le standard utilisé (à cet égard, se méfier de la conversion unités → grammes ou vice versa).

Le plus nouveau dans les propos de C. Coussieu a concerné les croisements variables d'une trousse à l'autre vis à vis de la macroprolactine. Il s'agit d'une forme circulante particulière de la prolactine liée à une grosse protéine, typiquement une immunoglobuline. Le diagnostic est porté par la chromatographie gel fil-

tration qui démontre la normalité de la petite prolactine de poids moléculaire 23 KD mais qui démontre aussi qu'une proportion variable de la prolactine circule sans activité biologique sous une forme de poids moléculaire élevé. La clinique est donc typiquement muette mais des erreurs sont possibles vue la fréquence de la galactorrhée ou des troubles des règles plus ou moins idiopathiques... et la fréquence de cette anomalie qui concernerait plus de un individu sur 1000 et représenterait plus de 10 % de ce qu'on croit être des hyperprolactinémies pathologiques en gynécologie courante.

Certaines trouses reconnaissent peu la macroprolactine et d'autres beaucoup : en cas de macroprolactinémie, dont on rappelle que c'est une curiosité sans conséquence, "la prolactine" peut être mesurée normale à 10 ng/ml avec les premières trouses et "anormale" jusqu'à plus de 100 ng/ml avec les secondes... On voit les erreurs potentielles, par exemple s'il existe un incidentalome hypophysaire.

La matinée s'est terminée sur la discussion d'observations cliniques : il a été souligné l'inconsistance du diagnostic parfois proposé d'hyperpro-

lactinémie fonctionnelle sauf peut-être en cas d'OPK bien identifié. L'intérêt étiologique des tests de stimulation (TRH - Primpéran) est controversé, certains soulignant leur intérêt y compris pour orienter vers une macroprolactinémie (lorsqu'ils sont positifs), d'autres soulignant leurs limites pour un individu donné (certains adénomes répondent aux tests). Il a enfin été fait état de la possibilité de résistances hormonales et/ou tumorales primaires ou secondaires aux différents dopaminergiques.

■ Session diagnostic et traitement des métrorragies

Anne Gompel

Une conférence scientifique de M. Perrot-Applanat, a traité de

Angiogénèse endométriale et stéroïdes ovariens

Données physiologiques

L'angiogénèse est un phénomène complexe qui survient à certaines périodes du cycle menstruel en particulier au début de la phase folliculaire lors de la régénération de l'endomètre. Comme le reste de la croissance endométriale, elle est sous la dépendance de l'estradiol.

L'angiogénèse est sous la dépendance principale du VEGF. Cette protéine est présente tout au long du cycle menstruel mais est particulièrement abondante en phase folliculaire et en période péri implantatoire. Elle est exprimée dans les cellules glandulaires et stromales et se lie dans les cellules endothéliales à des récepteurs spécifiques. Sa sécrétion est stimulée par l'estradiol dans les fibroblastes endométriaux. Il contrôle aussi le chimiotactisme et la perméabilité capillaire.

Ses récepteurs (VEGF-R1 ou Flt-1

plus impliqué dans le chimiotactisme, VEGF-R2 ou Flk-1/KDR plus impliqué dans la prolifération et la migration, VEGF-R3 ou Flt-4) paraissent médier des effets différents: en phase proliférative expression du Flk-1 associée à une croissance capillaire rapide, en phase lutéale, expression élevée des deux récepteurs, R1 et R2. Angiogénèse et perméabilité vasculaire sont requises pour l'implantation. Le rôle de la progestérone, en concentration élevée à cette période, est possible mais non démontré sur le VEGF ni sur ses récepteurs.

Des altérations de la paroi vasculaire sont impliquées dans les saignements et le couple estradiol/progestérone intervient dans ce contrôle. La paroi vasculaire et le chorion cytogène contiennent des métalloprotéases (MPPs) dont la fonction est la dégradation de la matrice extracellulaire et de la membrane basale des cellules vasculaires. La conséquence en est la nécrose et l'hémorragie. Des cellules sanguines sont libérées qui contiennent des substances vasculotropes contribuant à aggraver le phénomène. La production des MPPs varie au cours du temps. Il est vraisemblable que l'estradiol induit la production

des MPPs, mais la progestérone inhibe l'activité et/ou l'expression de protéases, l'activateur du plasminogène (capable d'activer les MPPs) et la production de MPPs. Elle induit à l'inverse celle d'inhibiteurs des MPPs (TIMP). Elle s'oppose donc à la dégradation de la matrice extracellulaire, garant de la cohésion cellulaire. Enfin elle module la synthèse des prostaglandines par un effet négatif à l'opposé de l'estradiol. La PGE2 a un effet angiogénique et PGF2a antiangiogénique. Ces protéines sont aussi de puissants vasoconstricteurs impliqués dans la menstruation. Compte tenu des effets opposés des stéroïdes gonadiques sur le contrôle de la solidité vasculaire, on peut comprendre l'importance du rapport estro-progestatif dans la genèse des saignements.

L'aspect clinique a ensuite été abordé

Diagnostic des métrorragies

Pour parler de métrorragies fonctionnelles, il faut avoir éliminé les causes organiques de saignement. Cette affirmation a été reprise par L. Boubli, P. Driguez et moi-même. L'exploration est impérative quelques soient les

âges de la vie. Le choix des examens complémentaires est discuté.

Explorations :

L'échographie est certainement l'examen le moins invasif, mais sa sensibilité et spécificité restent insuffisantes : d'après Lingren et coll. (Br.J.Obstet.Gynecol,1999,106,421), la sensibilité de l'échographie est de 75%, sa spécificité est de 47%, la valeur prédictive positive de 2% et la valeur prédictive négative de 99%. Parmi les femmes ayant un THS séquentiel, 64% avaient une muqueuse > 4mm et parmi celles ayant un THS continu, 22%. De même, Archer et coll. (Menopause,1999,6,201) rapportent pour l'échographie une spécificité de 40-68%, une sensibilité ≤ 67%, une valeur prédictive positive de 10-18%. Enfin Garutti et coll. (Int.J.Gynecol.Obstet,1999,65,25) ont comparé échographie et hystérocopie et trouvent une spécificité de 55% et 93,6% respectivement, une sensibilité de 95,1 et de 96,5% et une valeur prédictive de 63,7% et 92,7%. Parmi les endomètres <4mm, il y avait 7 polypes, 2 hyperplasies et 1 cancer. Pour notre part nous préconisons en complément obligatoire chez une femme qui saigne, l'hystérocopie (supérieure pour l'adénomyose) ou l'hystérocopie, supérieure pour toutes les pathologies endocavitaires.

P. Driguez a démontré la supériorité de l'hystérocopie et sa simplicité : pratiquée en ambulatoire, par un praticien expérimenté, elle est peu douloureuse et permet un prélèvement dirigé et le traitement des anomalies minimales : polypes, synéchies, ablation d'un stérilet. Elle est plus rapide, plus sensible mais a un coût plus élevé que l'échographie (d'après Towbin et coll., Am.J.Obstet.Gynecol,1996). Il rappelle la bien meilleure spécificité de l'hystérocopie dans le diagnostic des métrorragies (92-93%) par rapport à l'échographie (67-90% pour Towbin, AmJ Obstet Gynec,1998 et Schwarzler, Ultrasound Obstet gynec,1998). Ses résultats personnels

éclairent les causes de métrorragies sous THS :

	Patientes avec métrorragies sous THS	Patientes asymptomatiques sous THS	Patientes sans THS
Nombre	1 175	193	185
Cavité normale	515 (43,8%)	109 (56,5%)	89 (48,1%)
Pathologie intracavitaire	660 (56,2%)	84 (43,5%)	96 (51,9%)
Cancer	1,7%	0,5%	11,4%

* Dont une majorité de polypes et myomes sous-muqueux

Enfin, quand l'échographie signale un endomètre hypertrophique et hétérogène (55), l'hystérocopie retrouve 4 fois une cavité normale, 28 fois un polype, 14 fois un fibrome et 2 cancers de l'endomètre. L'endomètre est atrophique dans 53 cas sur 55 cas.

Un des triomphes de l'hystérocopie est l'exploration endocavitaire au cours des métrorragies sous tamoxifène. Là encore davantage, les modifications de structures de l'endomètre rendent d'interprétation délicate voire complètement aléatoire les résultats de l'échographie.

Les résultats de l'exploration de 79 patientes ayant des métrorragies : 25,3% de cavités normales, pathologies intracavitaires : 74,4% dont 4% de cancers et 1,3% d'hyperplasies. Les pathologies sont en majorité les polypes (44,3%) et coexistent avec un endomètre atrophique dans 97,5% des cas

Métrorragies fonctionnelles : à tous les âges de la vie des métrorragies peuvent survenir, que ce soit sous pilule, sous THS, en dehors de tout traitement. Elles imposent une exploration aussi complète que possible, l'hystérocopie et l'hystérocopie restant les plus performantes.

Outre les causes organiques utérines, il faut rechercher un **trouble de l'hémostase** qui donne en fait plus volontiers des menorrhagies. Ce sujet a été traité par M. Samama qui a rappelé que la cause la plus fréquente est la maladie de Willebrandt, se révélant habituellement lors des premières règles qui sont hémorragiques. Cependant il existe des causes acquises et si l'étiologie des

hémorragies n'est pas retrouvée il faut faire un bilan d'hémostase comportant **plaquettes, TP, TCA** au minimum.

Allongement du TP :

- déficits constitutionnels en facteurs VII, V, X, II
- Dysfibrinogénémies (rares)
- Atteinte de plusieurs facteurs ; II, VII, X
 - Hypovitaminose K (maladie cœliaque)
 - Atteinte hépatique

Allongement du TCA

- Allongement modéré+diminution du facteur VIII : Willebrand (fréquente), conductrice d'hémophilie (rare)
- Allongement important+diminution du facteur VIII <5% : auto-Ac anti VIII (très rare, parfois en relation avec une grossesse récente), Willebrand homozygote sévère (exceptionnel).

Il faut aussi éliminer une **cause endocrinienne** de trouble du cycle : hypothyroïdie, hyperprolactinémie, hypercorticisme (plus souvent iatrogène qu'endogène), la prise de thérapeutiques favorisant.

Sous **pilule**, une cause fréquente sont les infections (fréquence 2 à 3 fois plus élevée chez les femmes sous CO des chlamydiae d'après Bontis et coll. Adv. Contr. 1994 et RR = 5 par rapport aux non utilisatrices d'après Krettek et coll. (Obstet.Gynecol.1993). Des polypes sont possibles chez les femmes jeunes.

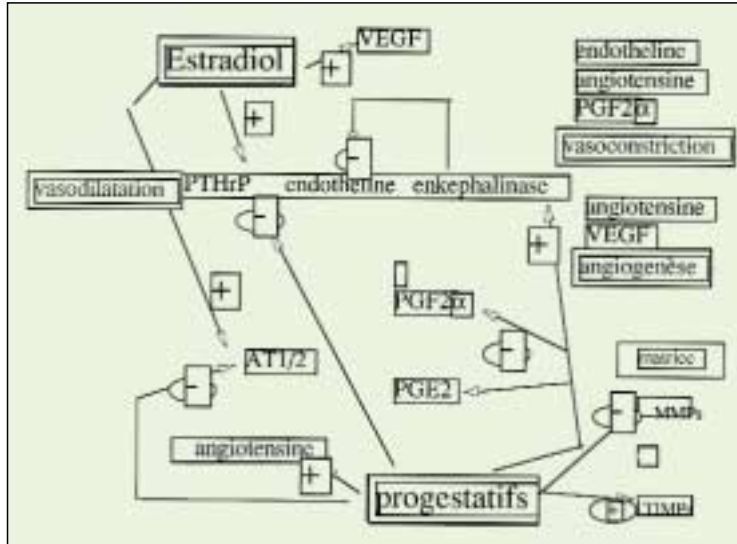
Une erreur souvent commise est d'associer stérilet et progestatifs ce qui ne peut que majorer les métrorragies.

Une fois éliminé les pathologies organiques, **les métrorragies "fonctionnelles"** peuvent être en rapport avec toute situation de déséquilibre estroprogestatif systémique endogène: dysovulation/anovulation ou thérapeutique : contraception, traitement progestatif ou THS et/ou local (fibrose du chorion), troubles vasculaires localisés.

Les estrogènes et la progestérone sont susceptibles d'agir sur les facteurs qui contrôlent l'hémostase, la qualité et l'état des vaisseaux endométriaux

L'endomètre contient des facteurs vasoconstricteurs (endothéline, angiotensine, PGF2a), vasodilatateur (PTh-rP). Les stéroïdes gonadiques ont une action souvent antagoniste sur les protéines d'origine endométriale :

En résumé :



Ainsi, ces actions complexes des stéroïdes peuvent permettre d'expliquer que le rapport estroprogestatif soit responsable de l'eutrophie endométriale et que toute rupture puisse entraîner des modifications vasculaires. De plus, les progestatifs ont des actions vasculaires directes, pas toujours bien comprises, mais éventuellement différentes sur les capillaires, les artérioles spiralées et le chorion, cytogène, facteur de "solidité ou de plasticité" endométriale. Ainsi, les norstéroïdes, au moins à doses antigonadotropes, développent le chorion, et atrophiant relativement les artérioles spiralées, semblent moins souvent responsables de métrorragies que les dérivés pre-

gnanes ou norpregnanes, qui n'atrophient pas les artérioles spiralées. Cependant le taux d'estradiol endogène est toujours susceptible de moduler les effets progestatifs, par son action angiogénétique

Traitement des métrorragies

Après avoir éliminé une cause organique aux métrorragies, il faut rétablir l'équilibre E2/progestatif au niveau endométrial : en préménopause, à distance de la ménopause, les saignements sont volontiers en rapport avec une croissance folliculaire anarchique, un excès d'estrogènes à des taux relativement élevés (dystrophies ovariennes), responsables de méno-métrorragies. L'endomètre est dystrophique, avec une augmentation glandes/chorion. Celui-ci est insuffisant en terme de décidualisation, siège d'hémorragies focales avec infiltrat inflammatoire. Les artérioles spiralées sont peu développées s'il existe une insuffisance en progestérone. En préménopause immédiate, la croissance folliculaire

est insuffisante, la sécrétion d'E2 plus faible et l'endomètre est souvent le siège de fibrose rendant la diffusion des stéroïdes inégale. De plus il existe des modifications vasculaires liées à la présence de fibromes, d'adénomyose. Au cours des traitements utilisant des progestatifs, il existe une modifications des vaisseaux avec éventuellement pétéchies, fragilité vasculaire, parfois des dilatations vasculaires importantes et une fragilité de l'épithélium de surface.

En pratique, il faut rétablir l'équilibre estroprogestatif quand c'est possible, traiter les hyperplasies et prévenir la récurrence, augmenter l'apport d'estradiol s'il est insuffisant, changer de progestatif ou en modifier la durée, faire des fenêtres thérapeutiques.

La place du traitement chirurgical des métrorragies a été exposée par E.Daraï. Il a présenté les techniques d'ablation endométriales en comparant la thermocoagulation et le rollerball dans la série de Meyer et coll. (Obstet Gynecol.1998). Le degré de satisfaction (85,6 et 86,7%) est équivalent, de même que l'amélioration de la dysménorrhée (70,5 et 75,4%), du syndrome prémenstruel (78,6 et 76,6% avant contre 32,8 et 29% après). Le Versapoint est supérieur pour les lésions localisées. Les échecs de cette technique dépendent de la pathologie initiale d'après Herman et col. (Revue Med Liège,1998) : 5,6% dans les hyperplasies, 4,6% pour les polypes, 17,2% pour les fibromes **et 63% pour les adénomyoses**. Le taux d'hystérectomies nécessaires a été respectivement pour toutes ces pathologies, 6,5%, 5,1%, 19,6%, 65%. L'orateur a conclu en soulignant que le moindre coût apparent des techniques conservatrices était à quantifier en tenant compte des échecs de la méthode et que le rapport coût/efficacité restait à mieux évaluer.

Il apparaît donc que l'existence d'une adénomyose n'est pas une indication de la résection endométriale. En ce qui concerne les hyperplasies, le traitement médical est efficace et nous ne connaissons pas la place logique de la résection endoscopique dans ces pathologies.

	Estrogènes	Progestatifs
fibrinolyse (tPA, facteur VIII)	+++	-
endothéline I	++	-
enkephalinase	-	+++
PTh-rP	+++	-
prostaglandines	++	-
MMPs	?	-
TIMP	?	+++
Angiotensine (AT1 et AT2)	?	+++
TF (thromboplastine)	+	-
	-	+++/-

Workshop "Monitoring de la maturation ovocytaire et de l'implantation"

Paris, 17 et 18 décembre 1999

■ maturation ovocytaire

Résumé par A. Hazout et J. Buvat

Pascal Mermillod a présenté les différents facteurs déterminants la différenciation et la maturation nucléaire membranaire et cytoplasmique de l'ovocyte. Après avoir mis en exergue le faible rendement en terme de fécondation, clivage et grossesse des ovocytes matures l'orateur a développé l'étape de compétence méiotique avant celle de l'acquisition de la fondamentale maturation cytoplasmique, plus tardive !

Sur un modèle bovin il y a une corrélation très nette entre maturation ovocytaire et taille du follicule pré-ovulatoire. Indéniablement, la LH intervient dans la différenciation ovocytaire en phase folliculaire et particulièrement en phase folliculaire tardive. La suppression de LH durant la phase folliculaire réduit le nombre d'ovocytes recueillis, le taux de clivage et la qualité du développement embryonnaire précoce. Tous ces éléments sont restaurés si l'on injecte de la LH en phase folliculaire chez le bovin.

FSH et LH sont impliquées dans la maturation ovocytaire : en effet FSH induit l'expansion du cumulus mais ni FSH ni LH ne sont nécessaires à la maturation nucléaire et à la maturation cytoplasmique alors que d'autres facteurs sont en cause !

L'hormone de croissance a un effet net et démontré sur la maturation des trois secteurs (nucléaire, membranaire et cytoplasmique). (Izadyar 1996, 1998 et 1999 ; *molecular development*).

Les activines ont également un effet démontré supprimé par l'inhibine (Stock 1997)

LEGF (*epithelial growth factor*) favorise l'extrusion du globule polaire, augmente les taux d'ovocytes matures même les ovocytes dénudés in vitro.

Ainsi les taux de fécondation et clivage et le taux de blastocystes obtenus sont largement augmentés. (Loneran 1996).

On aura pu conclure que

- la pulsativité de la LH est nécessaire à l'acquisition de la "compétence ovocytaire".
- Que d'autres facteurs peuvent stimuler la maturation ovocytaire
- Qu'enfin FSH et LH ne sont pas indispensables à la maturation in vitro.

E Loumaye, d'Ares-Serono, a ensuite développé les données disponibles sur le rôle de LH dans la maturation ovocytaire dans l'espèce humaine, à partir des bases de données Serono. Un minimum de LH semble nécessaire pour la fécondité de la femme. En cas d'hypogonadisme hypogonadotrope profond, l'administration isolée de FSH recombinante n'obtient pas de conception, alors que son association à LH recombinante en normalise le taux. L'insuffisance du développement de l'endomètre, liée au taux très faible de l'estradiol sous l'effet de la seule FSH rec, pourrait suffire à expliquer cet échec, mais on a également rapporté des taux de Fécondation In Vitro anormalement

faibles chez quelques femmes avec hypogonadisme hypogonadotrope profond stimulées par la seule FSH rec.

Le taux minimum de LH requis pour la fécondité de la femme est certainement très faible puisque FSH rec suffit à obtenir des taux de conception optimaux en cas d'hypogonadisme hypogonadotrope cette fois modéré, l'adjonction de LH rec n'apportant pas de bénéfice complémentaire. Dans leur système de dosage, ce taux minimal se situe à 1.2 mUI/ml, ce qui correspond à la limite inférieure de sa sensibilité.

La question de l'utilité d'associer de la LH au cours de stimulations en vue de FIV après desensibilisation hypophysaire par LHRH-agoniste a souvent été débattue. On y répond habituellement par la négative puisque chez ces femmes ni la croissance folliculaire, ni les taux de fécondation, ni ceux d'implantation ne sont corrélés aux taux résiduels de LH, suggérant que cette désensibilisation pharmacologique laisse toujours persister une sécrétion de LH supérieure au seuil nécessaire à la fécondité. E Loumaye a rapporté les résultats d'une étude récente réalisée par Serono. Il s'agissait d'une comparaison des résultats d'ICSI pratiqués après stimulation par FSH recombinante employée seule ou associée à diverses doses de LH recombinante chez des femmes préalablement désensibilisées par un LHRH-agoniste. Dans cette étude aucun bénéfice n'est apparu de l'adjonction de LH.

Au cours de la discussion qui suivit cet exposé, un intervenant devait cependant souligner le caractère modéré des doses de Lupron utilisées dans cette étude, peut-être à l'origine d'une désensibilisation seulement modeste, et rappelait les résultats d'une étude de Filicori concluant à la supériorité des hMG à activité FSH + LH sur la FSH pure dans des cas avec désensibilisation sévère et prolongée. La controverse sur l'existence d'un sous-groupe minoritaire de femmes présentant un authentique déficit en LH sous LHRH-agoniste n'est donc pas close. L'étude Serono déjà citée suggère par ailleurs un effet délétère de LH sur le développement des follicules secondaires. Leur nombre était en effet significativement réduit dans le groupe où la posologie de LH rec était la plus élevée. Dans l'avenir la posologie d'une éventuelle supplémentation en LH rec des stimulations par FSH rec pourra donc éventuellement être modulée selon qu'on souhaitera un développement multifolliculaire (pas de LH) ou paucifolliculaire (supplémentation significative en LH).

J. Van Blerkom a brillamment démontré l'effet des facteurs environnementaux intrafolliculaires sur la qualité de l'ovocyte : oxygénation et vascularisation interviennent sur le métabolisme ovocytaire et la fonction mitochondriale. Il a évoqué des travaux récents illustrant la relation entre anomalies chromosomiques (mosaïque), patrimoine mitochondrial et aptitude à générer l'ATP. Il nous engage à surveiller à l'aide du doppler pulsé l'énergie nos follicules induits afin de sélectionner les plus compétents. Malheureusement nous avons déploré l'absence d'Izadyar du fait d'une grève d'Air France... en Hollande ! Nous en attendons la confirmation de l'effet promoteur de la GH sur la maturation ovocytaire. Ses travaux sur la maturation in vitro d'ovocytes de bovins font aujourd'hui référence et nous ont incités à confirmer sur une large série randomisée nos résultats prometteurs de l'adjonction de GH aux traitements inducteurs de l'ovulation chez des femmes souffrant de dysmorphie ovocytaire majeure avec échecs répétés de FIV.

E. Tosti a démonté les différents aspects physiologiques de la maturation ovocytaire avec en particulier ces cascades de phosphorylations/déphosphorylations intracytoplasmiques induites moins par les gonadotrophines que par d'autres facteurs déjà décrits par P. Mermillod (voir plus loin le résumé détaillé qu'elle a fourni de sa communication).

J. Smitz a passé en revue les différents problèmes posés par la maturation in vitro des ovocytes humains en posant les bases théoriques d'un modèle de recueil ovocytaire et de milieux de culture ou la présence de facteurs de croissance (EGF, GH et autres TGF....) viendrait compléter l'action des gonadotrophines (peut être non indispensables).

E. Porcu en fin de soirée a présenté une série "confortable" de grossesses obtenues à partir d'ovocytes préalablement congelés. Le rendement reste faible mais les perspectives d'avenir sont intéressantes !

■ monitoring de l'implantation embryonnaire

A. Hazout

La matinée du Samedi 18 Décembre était consacrée au monitoring de l'implantation embryonnaire. Nous avons choisi le terme de monitoring à dessein tant le choix des patientes à traiter mais aussi des embryons à transférer est important.

R. Frydman a choisi de démontrer qu'il était aujourd'hui nécessaire de s'appliquer à sélectionner les candidates à l'AMP mais aussi de sélectionner avec soin les embryons. FSH, E2, LH et Inhibine B au tout début d'un cycle de base nous permettent de poser de meilleures indications à l'AMP mais aussi de mieux adapter nos traitements inducteurs. Nos biologistes sont incités à nous proposer dans la mesure du possible des embryons dont les pronucléi et les blastomères sont les plus réguliers,

avec un minimum de fragments et d'anomalies. Certains de ces embryons pourront être cultivés dans des milieux dits "séquentiels" ou..... réparés !

J. Cohen (USA) nous a présenté les différentes techniques de "réparation" de nos embryons : aspiration de fragments (pour des embryons présentant moins de 35% de fragmentation), assistance à l'éclosion avant transfert en fragilisant la zone pellucide au laser ou au tyrode acide au 3^e jour de culture ou au stade blastocyste, depellucidation à la pronase ou mécanique. Lorsqu'un ovocyte présente un cytoplasme dysmorphique, vacuolé, granuleux, impropre à la fécondation et au développement le transfert de 15% de cytoplasme emprunté à un ovocyte normal per-

mettrait de restaurer sa fécondabilité et ses capacités de développement. Une autre solution serait de transférer le noyau d'un ovocyte dysmorphique dans un ovocyte normal énucléé (solution élégante permettant de changer de cytoplasme en gardant les caractéristiques génétiques de la "receveuse"). Deux grandes questions : la faisabilité et surtout l'innocuité. Est-il anodin de transférer du cytoplasme "armé" d'un spermatozoïde dans un ovocyte dont le volume est limité et où le risque d'altération de l'ADN mitochondrial n'est pas nul ? Est-il suffisant de transférer seulement 15% de ce cytoplasme si le but est d'augmenter le nombre de transcrits nécessaire au bon déroulement des processus de fécondation et de développement embryonnaire précoce ? Je prends le risque de

répondre par la négative mais j'aimerais me tromper !

A. Requenna (Madrid) a tenté de nous convaincre que corrélation entre maturation folliculaire et aptitude de l'endomètre à nider allait de soi ! Sauf que la nature organise aussi des dysharmonies que l'on se doit de dépister et de traiter éventuellement.

Dans cette optique **R. Fanchin** (Clamart) a illustré y compris par des montages informatiques astucieux tous les aspects morphologiques et vasculaires d'un endomètre préimplantatoire, ainsi que de la dynamique myométriale, mettant ainsi l'accent sur l'intérêt d'une surveillance attentive pendant toute stimulation ovarienne.

Y. Menezo a développé les différents modèles de culture embryonnaire prolongée en mettant l'accent sur les besoins métaboliques de l'embryon. Ces besoins sont variables, ce qui

nécessite une séquence de milieux plus ou moins riches en glucose et en tout cas plus complexes en fin de culture qu'au début. Pour le moment seul **D. Gardner** publie des résultats dithyrambiques en utilisant sa propre séquence que les biologistes français utilisent avec moins de bonheur !.....à suivre

J.P. Renard (INRA), a tenté de nous exposer la problématique de l'expression du génome parental. L'empreinte parentale est en fait un remodelage de complexes protéiques. La régulation de l'expression des gènes se fait par acétylation et désacétylation des histones. Les histones de liaison sont présents au début du développement embryonnaire dès le stade de 1 cellule. **J.P. Renard** préfère utiliser le terme d'expression des génomes parentaux tant il est difficile de matérialiser l'un ou l'autre. Les complexes "Brama" et "Brgl" sont impliqués dans l'expression génomique. A partir de 4 à 8 cel-

lules le complexe Brama est absent. Il réapparaît dans le bouton embryonnaire .

En conclusion nous avons appris beaucoup lors de ces deux demi-journées. L'avenir nous paraît être à la sélection de nos patientes et de nos embryons mais aussi maintenant à une étape cruciale de "réparation" ovocytaire et embryonnaire qui demandera prudence et perspicacité. La qualité de la progéniture passe aussi par le contrôle de l'œuf (parfois par un diagnostic préimplantatoire en voie de développement dans notre pays) .Sans nul doute la problématique du DPI occupera le devant de la scène dans les mois qui viennent. Parce que tout couple ne peut engendrer que des œufs imprévisibles, il est logique que nous orientions nos recherches vers des technologies capables de sauvegarder les patrimoines les plus précieux.

INFORMATISATION DES CENTRES PMA : ENFIN DU NOUVEAU

L'informatisation des centres de PMA semble sur le bon chemin.

Le 28 janvier a eu lieu une réunion à Orly pour faire le point sur un prototype de logiciel.

L'avis a été très largement majoritaire pour reconnaître que celui ci répond aux attentes de la plupart des centres. En effet ce logiciel présente un certain nombre d'avantages : d'abord c'est un dossier patiente, ensuite il gère aussi bien les aspects cliniques que biologiques que bureautiques. Enfin le prototype a le mérite d'être opérationnel à Clermont Ferrand.

A la suite de cette présentation, près d'une vingtaine de centre se sont engagés à promouvoir son développement au niveau professionnel. Un prototype c'est bien, mais il est indispensable pour le proposer à tous de passer à un niveau d'écriture plus fiable et plus efficace. De plus une réécriture professionnelle permettra de lui intégrer des fonctionnalités nouvelles : transmission via internet, compatibilité Sesame vitale, comptabilité Hprim ...

Pour cela une association a été créée " Infofiv ". Il lui faut trouver 600 KF pour mener à bien ce projet. les Laboratoires Organon ont promis 200 KF, reste à trouver une trentaine de centres prêts à mettre chacun 15 KF pour finaliser. Or 20 centres ont déjà donné leur accord .. et tous n'ont pas été contactés ou informés de cette initiative. Une nouvelle campagne d'information aura lieu dans les prochains jours grâce aux laboratoires Organon. Ceux qui sont prêts à rejoindre INFOFIV peuvent contacter soit **B. Nicollet**, soit **F. Dubecq** soit **JL Pouly**. Car plus nous serons et plus nous irons loin et vite. Si les choses continuent au rythme actuel, en fin d'année un logiciel professionnelisé devrait être disponible.

Le projet Infofiv a été encouragé par la SMR. Il sera bâti en dehors de celle-ci pour des raisons juridiques et des raisons pratiques, mais la SMR le soutient complètement.

J L Pouly
B Nicollet
F Dubecq

Physiological and pharmacological aspects of oocyte maturation

Résumé fourni par *Elisabetta Tosti*
Cell Biology Department, Stazione Zoologica, Naples, Italie

Maturation is the last phase of oogenesis when the oocyte undergoes a series of modifications that prepare it to ovulation and sperm-interaction.

After the proliferation the ovogonium enters in meiosis blocking at the I prophase. This stage is characterized by a large nucleus, the GV and corresponds to the G₂ phase of the cell cycle before the meiosis entry checkpoint. At the GV stage the oocyte remains blocked for years or decades as it occurs in the woman.

At the time of puberty a stimulus resumes the meiosis leading the oocyte into G₂/M transition and then a new block occurs until the spermatozoon resumes it again inducing the metaphase II- anaphase II transition, and causing meiosis exit. This moment marks the start of the mitotic embryonic cycle.

This general scheme is not valid for all the species especially for what concern the second meiotic block which occurs at different stages depending on the species. Waiting for the interaction with the fertilizing spermatozoon some worms remain blocked at prophase I, ascidians block at MI, vertebrates at MII and sea urchin completes meiosis.

From the cell cycle point of view, maturation is considered the G₂/M transition and hence the passage bet-

ween the first and the second block, but actually notwithstanding the intensive research on gamete biology little is still known about the mechanism that govern the oocyte maturation and specifically :

i) the physiological mechanism underlying meiotic arrest, ii) the physiological mechanism underlying meiotic progression and iii) the signal transduction mechanism and the molecules involved in both processes.

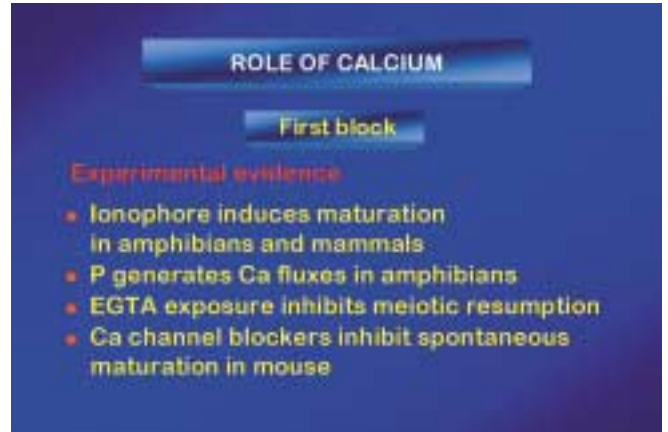
Meiotic arrest is different with respect to the 2 stages. The first block in prophase I (G₂) seems to be maintained by high AMPc levels, purines and factors supplied by the cumulus cells in amphibians and mammals.

Second meiotic block is due to two proteic complex, CSF and MPF. CSF discovered by Masui in 70' has been shown to maintain the meiotic block in amphibians oocytes. It is a complex formed by the product cMos proto-oncogene (a serine/threonine kinase) and by MAP kinase the regulatory proteins of the cell cycle. The supposed activity of CSF is to modulate the action of MPF; this is a complex formed by a catalytic subunit, Cdk1 and a regulatory subunit (cyclin B). MPF is maximally active in mitosis when Cdk1 binds cyclin B and the phosphorylation of a specific

residue occurs (thr 161 in humans). This state of activation drives the cell in metaphase triggering a cascade of phosphorylations. Meiotic arrest is maintained since CSF interacts with MPF and keeps its activity high. This mechanism is active during the second meiotic blocks in mammalian oocytes.

ii) the first meiotic block resumption is induced by hormonal signals, the most well known physiological inducers are 1-Methyl-Adenin in starfish, a Progesteron-like molecules in the amphibians, and LH in mammals. Actually there is also evidence that FSH, growth factors and some sterols are involved in the first meiotic resumption in mammals. The signal for the resumption of the second meiotic block for all species is the fertilizing spermatozoon.

iii) The mechanism by which the physiological inducers remove the first meiotic block is not clear, but it seems to be associated to two second messengers, AMPc and calcium. In amphibians and some rodents it has been demonstrated that when the stimulus arrives (LH, Progesterone) the calcium released by the mobilization of phosphoinositide cycle closes the gap junctions between the somatic



and germinal compartment, lowering the AMPc levels; this in turn lowers the PKA activity inducing MPF activation that drives the cell in metaphase where the cycle is blocked again by CSF. Since when the second block occurs at MII there is no arrest at MI, it is hypothesised that a new synthesized protein (not cyclin) is responsible for the block in MII.

It is known that calcium is the universal molecule involved in both meiotic arrest and resumption. The following experimental evidence demonstrates that meiotic maturation requires an elevation of calcium levels:

- 1) ionophore in amphibian and mammals induces maturation;
- 2) exposure to Pg, in amphibians generate Ca fluxes;
- 3) calcium chelators EGTA inhibit meiotic resumption in intact oocytes (IVM)
- 4) blocking Ca- channels inhibits spontaneous GVBD in mouse

What are the target molecules of Ca signal ?

Whereas in the first block it seems that calcium acts on the junctions and the decrease of AMPc level, the progression of the second block is induced by calcium released from spermatozoon. However it is not clear its effect on CSF. It has been hypothesized that it first degrades CSF and then probably activating a camKII induce cyclin and hence MPF degradation by an unknown mechanism.

We have studied bovine oocytes obtained from slaughtered bovine and matured and fertilized in vitro with standard techniques.

The following maturational stages have been examined for the presence of L- type calcium channels activity : germinal vesicle (GV), germinal vesicle breakdown (GVBD), MI MII and Meiosis exit. We have shown

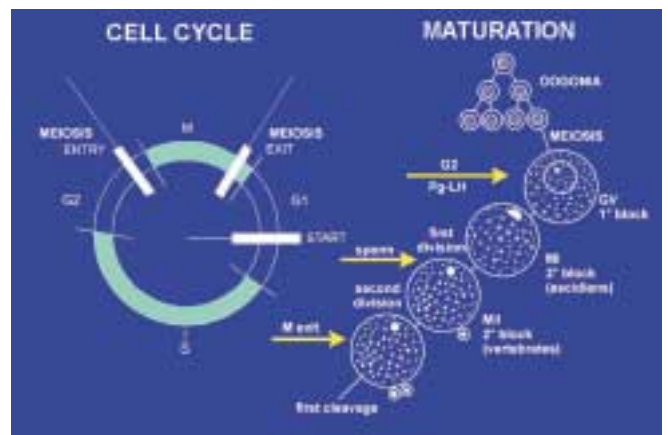
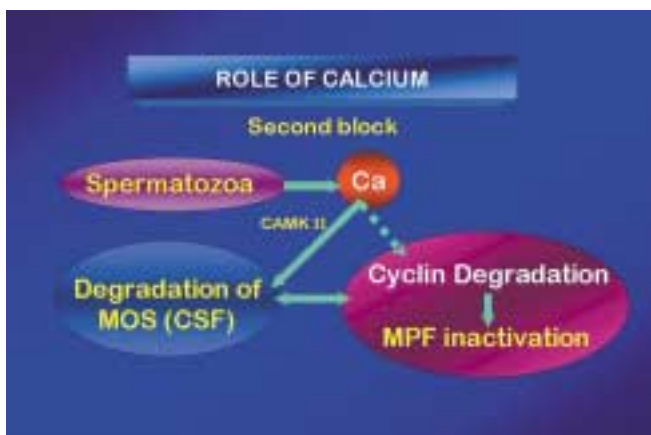
that a L- type calcium channels activity are high at GV and GVBD and decrease at subsequent stages.

On the contrary we have observed a progressive depolarization and decrease of steady state conductance from GV to MII and a newly decrease from MII stage.

We have used calcium channels blockers in the IVM and have demonstrated that only 50% of development is blocked.

In conclusion these data show that external calcium underlies the first meiotic resumption and that its action may be cooperative with a internal calcium release mechanism.

On the other hand the second meiotic resumption seems to not be gated by external calcium but to use a spermatozoon-induced calcium release to activate Calcium- activated Potassium channels, as it occurs in other mammals.



Treizièmes journées pyrénéennes de gynécologie de Tarbes (1 et 2 octobre 1999)

S. Alvarez (Paris)

Le point sur les IAD :

Les journées de Tarbes ont réuni plus de présentations qu'il n'est possible de rapporter ici. Parmi celles-ci j'ai choisi de rapporter la mise au point de B. Wainer (Poissy) sur les IAD. Il signale à juste titre que l'ICSI a fait diminuer en 10 ans le nombre des cycles d'IAD : 21.466 cycles/an en 1988 à 8.145 en 1998 ; cependant près de 1000 grossesses débuteront cette année grâce à la technique d'IAD. Il est évident que nous devons continuer d'optimiser cette pratique d'insémination.

LIAD a été réalisée depuis 1970 par voie intra cervicale (IICD), la voie intra-utérine (IIUD) étant pratiquée depuis 1980. Des études randomisées ont comparé l'efficacité de ces deux techniques, apportant des arguments en faveur de l'IIUD. Néanmoins le dernier bilan du CECOS montre que cette dernière représente moins d'un tiers des IAD en France.

Le méta analyse de Goldberg, l'étude de O'Brien ainsi que l'étude de B. Wainer montrent en toute évidence une supériorité de l'IIUD par rapport aux IICD. En effet l'efficacité de l'IIUD se traduit ainsi par la diminution de nombre des paillettes nécessaire pour obtenir une grossesse : 11 paillettes en moyenne versus 16 paillettes en IICD ; le taux de grossesse évolutive a été de 23.64% sur 423 cycles d'IIUD avec obtention de 100 grossesses dans l'étude de Wainer.

La stimulation de l'ovulation augmente les taux des grossesses obtenues. Néanmoins on peut s'interroger sur le bénéfice apporté par l'IIUD si celle-ci est accompagnée d'une augmentation de grossesses multiples avec leurs complications, il faut insister sur la nécessité d'un contrôle rigoureux de la stimulation, l'injection de l'hCG ne doit être pratiquée qu'en présence d'un ou deux follicules de 15 mm. Une réponse pluri-

folliculaire doit conduire à l'annulation du cycle.

L'efficacité de l'IIUD par rapport à l'IICD se traduit par :

- des taux de succès significativement plus élevés avec un délai de conception plus court
- une moindre consommation de paillettes par grossesse obtenue
- la possibilité d'utiliser des paillettes de qualité moyenne non sélectionnées

LIAD de l'an 2000 conclut l'auteur est l'IIUD avec stimulation ovarienne par FSH. En effet elle est 2 à 3 fois plus efficace que l'IICD, elle consomme moitié moins de paillettes, permet d'utiliser un sperme de qualité moyenne, sa réalisation est simple, elle n'entraîne pas de complication particulière à condition de savoir annuler un cycle, son rapport coût/efficacité est largement plus favorable, enfin elle répond mieux à l'attente psychologique des couples.

Prochains rendez-vous de la SMR

■ 15 mars 2000, Paris

DPI ou DPN ?

■ 19 et 20 Mai 2000, Paris

Deuxièmes journées annuelles de la SMR (voir programme dans ce numéro)

■ 9 et 10 Juin 2000, Clermont-Ferrand

1re réunion du groupe d'intérêt en chirurgie de la reproduction (voir programme dans "vie de société")

Renseignements

Secrétariat de la SMR, Mme Sylvie Couperie - 35, rue de Turenne - 33000 Bordeaux

Tél. 05 56 01 01 96 - Fax 05 56 01 02 83 - e-mail IGF1@wanadoo.fr

cas cliniques

Anne Gompel

Au cours de la séance du 19/11/1999, des observations cliniques, préparées par A.Gompel avec l'aide de gynécologues installées en ville ont été présentées. Voici ces observations, rédigées et commentées.

1^{ère} observation

Claire LES, âgée de 27 ans :
PR : 14 ans
Cycles 30-32 j/6-7 j

A 25 ans consultation car désir de contraception orale et découverte d'un écoulement mammaire provoqué multipore lactescent.

Janvier 1998 : prolactine 36 ng/ml (Hôpital Américain)

Avril 1998 : Test au TRH : prolactine de base à 58 ng/ml-158-133-86-57

Courbes de température en mai et juin 1998 ovulatoires

Juillet 1998 : IRM hypophyse de 7 mm avec aspect globuleux sans lésion localisée

Mars 1999 : prolactine 42 ng/ml et TSH 4 mU/ml (Hotel Dieu)

Patiente mise sous contraception progestative : lutényl 21/28 j

QCM :

Quels sont les arguments en faveur d'un adénome à prolactine

A- troubles du cycles

B- aspect de l'hypophyse à l'IRM

C- résultats du test au TRH

D- galactorrhée

E- aucun

Interprétation :

La qualité ovulatoire des cycles

n'évoque pas le diagnostic d'organocité.

Un taux modérément élevé de prolactine, après avoir éliminé une prise de médicaments hyperprolactinémisants (voir liste) doit faire pratiquer une IRM hypophysaire. Si elle est normale la pratique d'un test au TRH peut être intéressante ; s'il est bloqué il suggère l'existence d'un adénome. Cette observation ne comporte aucun argument en faveur de l'adénome. Il s'agit d'une hyperprolactinémie fonctionnelle ou peut être d'une "big-big-prolactine" (voir article de Mme Coussieu). Elle ne nécessite aucun traitement spécifique.

2^{ème} observation

Nathalie B.S. Née en 1973

PR : 12 ans

Cycles 8 semaines puis 6 à 8 semaines

Juin 1996 7^e jour du cycle : dosages hormonaux :

- FSH : 5,1 mUI/ml LH : 4,9 mUI/ml

- testostérone : 32 ng/100 ml, delta 4 androstènedione : 168 ng/ml

- PRL : 35,3 ng/ml

- Test au TRH : à -15 et 0 mn

Prolactine à 50,3 et 40,9 puis 101,6-79,6-40,9 ng/ml

- Septembre 1996 IRM: pas d'adénome d'après le compte rendu. Parlodel 1/j à partir d'octobre 1996 : cycles entre 28 j et 31 j

- Janvier 1997 : Prolactine 6,1 ng/ml

- Mars 1998 : 8,4 ng/ml

- Juillet 1998 : suspicion d'un micro adénome anté-hypophysaire postéro inférieur gauche de 2 à 3 mm

- Depuis juillet 1998 : Parlodel 2 comprimés par jour

Cycles de 28 jours

A partir de novembre 1998 : désir de contraception et mise sous Surgestone 21 jours/28

Mai 1999 : Prolactine : 0,8 ng/ml

Septembre 1999 : arrêt du Parlodel 3 semaines et Prolactine à 85 ng/ml

Parmi les items suivants lesquels vous paraissent vraisemblables ?

A- hyperprolactinémie fonctionnelle

A- adénome à prolactine évolutif

B- Big-Big prolactine

C- Dystrophie ovarienne

D- Poursuite du traitement par agoniste de la dopamine

Interprétation :

Les arguments sont en faveur d'un microadénome à prolactine (taux de prolactine, troubles du cycle, IRM et TRH)

Les options thérapeutiques sont au nombre de 2 : la chirurgie permet la guérison dans 70-80% des cas de microadénomes mais le risque opératoire et hypophysaire n'est pas nul. Le traitement médical permet la diminution progressive du volume tumoral et des taux de prolactine.

Les dystrophies ovariennes et ovaires polykystiques sont associés à des hyperprolactinémies modérées liées aux taux d'estradiol élevé. En faveur de ce diagnostic, la spanioménorrhée primaire. Le dernier taux de prolactine est trop élevé pour évoquer ce diagnostic. L'image d'adénome à l'IRM peut être non spécifique.

3^{ème} observation

Thérèse CS., 27 ans
 PR 13 ans, cycles 28/4j en 91 (19 ans)
 CO quelques mois en 1994
 94-95 : spanioménorrhée secondaire : 2 à 3 mois/4j
 Prolactine : 146ng/ml (12/94)
 Test au TRH bloqué (12/94) : 120,110,140,130,105,95 ng/ml
 Scanner (11/95) : normal
 Parlodel depuis 12/95 (+/- pris) : 1/2*2/j : Prolactine normale
 06/97 : 1 mois après arrêt : Prolactine : 117ng/ml
 Norprolac 75 : 07/1997 à 09/97 et depuis 12/97 : prolactine : 10 (02/98)
 Progestatif : Lutéran 5* 2/J 6^e-25^e j depuis 96
 04/98 : grossesse spontanée (le 1^{er} cycle après arrêt du Lutéran)
 1^{ère} Grossesse en 1998 (stop Norprolac). RCIU déclenchée à 8 mois 1/2
 03/99 : visite post-natale - galactorrhée spontanée
 Prolactine 106ng/ml : 04/99 (3 mois après accouchement)

Règles fin 03/99 après Duphaston puis Lutéran 20/28 j = règles régulières

IRM (09/99) : normale
 Norprolac 75, repris 04/99 - prolactine : 6.6 ng/ml (09/99)

Interprétation :

Les taux de prolactine et la réponse bloquée au TRH sont en faveur d'un microadénome. Le scanner pratiqué initialement n'a pu le mettre en évidence. L'évolution habituelle des adénomes est vers la diminution des taux de prolactine et la régression du volume tumoral sous traitement médical et à la suite des grossesses qui sont dans l'ensemble un événement favorable dans l'évolution de l'adénome. Il faut cependant surveiller le champ visuel au cours de la grossesse s'il s'agit d'un macroadénome. Et pratiquer une IRM en cas d'aggravation.

En résumé, le diagnostic d'adénome à prolactine repose sur :
 L'élimination d'hyperprolactinémies iatrogènes (voir liste) et d'une hypothyroïdie.

- Les taux de base de prolactine : 200ng/ml évoque un microadénome. Il existe une assez bonne concordance entre le taux de prolactine et la taille de l'adénome.

- L'imagerie hypophysaire : inutile de pratiquer une radio standard de la selle turcique. L'IRM est plus performante que le scanner et est indispensable si on envisage une chirurgie.

- Quand le taux de prolactine est dissocié par rapport à la taille de l'adénome (trop faible ex : 60-70ng/ml pour un macroadénome), cela constitue un syndrome d'interruption de tige du à un adénome d'autre nature justifiant alors une exploration complète de la fonction hypophysaire.

Elle est de toute façon indiquée en cas de macroadénome en raison de la fréquence des adénomes mixtes prolactine/hormone de croissance. Les indications thérapeutiques sont modifiées, la chirurgie étant alors indiquée en première intention.

- Le test au TRH peut être indiqué quand il existe des troubles du cycle avec un taux modérément élevé de prolactine et pas d'image visible à l'IRM, après avoir éliminé une hypothyroïdie.

- Il est inutile de doser la prolactine s'il n'existe pas de trouble de l'ovulation. Les dosages doivent être effectués dans un laboratoire référent et après repos en dehors de tout stress.

Centre spécialisé en médecine de la reproduction France Nord recherche collaborateur Gynécologue ou Endocrinologue.

Ecrire au rédacteur qui transmettra.

Centre AMP-CHU recherche praticien Hospitalier, ville agréable..

Transmettre au rédacteur.

Nouvelles adhésions à la SMR du 1^{er} septembre au 31 décembre 99

AMAR Orly: 92100 BOULOGNE BILLANCOURT
 ARNAL Françoise: 34395 MONTPELLIER Cedex 5
 BARRI RAGUE Pédro N.: 08017 BARCELONE ESPAGNE
 BELLAICHE ATTAL Dominique: 38000 GRENOBLE
 BENDAHAN Jacques-Michel: 49300 CHOLET
 BERTRAND Marie-Odile: 75011 PARIS
 BETTAHAR LEBUGLE Karima: 67303 SCHILTIGHEIM
 BIED DAMON Véronique: 69008 LYON
 BIAOUI Gérard: 75006 PARIS
 BILLAUD RIST Line: 75002 PARIS
 BOCCARA Patrick: 78150 LE CHESNAY
 BONNEAUD Françoise: 92400 COURBEVOIE
 BOSCHET Robert: 83000 TOULON
 BOUCLY Bernard: 62300 LENS
 BRIERE Alain: 72000 LE MANS
 BROUSSIN Bernard: 33000 BORDEAUX
 CASSUTO N-GUY: 75009 PARIS
 CHARPENTIER Gilles: 06000 NICE
 CHAVRIER Martine: 69003 LYON
 CLAVERE Jean-Louis: 64100 BAYONNE
 COHEN Emile: 75014 PARIS
 CONORD Caroline: 75017 PARIS
 CRISTOFARI Bernard: 06000 NICE
 DE BOUARD Véronique: 34980 MONTFERRIER SUR LEZ
 DEBEY Marie-Pascale: 75005 PARIS
 DELLEUR Gérard: 75007 PARIS
 DELVIGNE Annick: 1190 BRUXELLES BELGIQUE
 DEMAEGHT Marc: 59880 SAINT SAULVE
 DEMES Thierry: 06400 CANNES
 DESHORGUE Anne-Christine: 59650 VILLENEUVE D'ASQ
 DOSSOT Jean-Marc: 51100 REIMS
 DOUAY Nicole: 59650 VILLENEUVE D'ASQ
 DULUCQ Marie-Christine: 33600 PESSAC
 DUVERNOIS Jean-Pierre: 84000 AVIGNON
 EL MOUATASSIM Said: 69357 LYON Cedex
 EMORINE Marc: 29200 BREST
 FELDMANN Gérard: 75018 PARIS
 FONTY Bernard: 75006 PARIS
 FRYDMAN René: 92141 CLAMART
 GADEYNE Daniel: 59880 SAINT SAULVE
 GILLIOZ Pierre: 26000 VALENCE
 GUIVARCH Jocelyne: 94700 MAISON ALFORT
 HERBAUT Jean-Claude: 59800 LILLE
 HUGUES Jean-Noël: 93143 BONDY CEDEX
 HUMEAU Claude: 34395 MONTPELLIER Cedex 5
 JAMES Eric: 56800 PLOERMEL
 JUNCA Anne-Marie: 75116 PARIS
 KAMAL NGUYEN Check: 59360 LE CATEAU CAMBRESIS
 KEPPI Bertrand: 69003 LYON
 KERMANACH Michelle: 78000 VERSAILLES
 KERN Anne-Marie: 33000 BORDEAUX
 LABOURIER Patricia: 93270 SEVRAN
 LAROCHE Marie: 33701 MERIGNAC Cedex
 LAURENT Marie-Christine: 35000 RENNES
 LEFEBVRE Catherine: 59037 LILLE Cedex
 LEGOUX Yves: 24000 PERIGUEUX
 LEJEUNE Bernard: B-1180 BRUXELLES BELGIQUE
 L'EMEILLAT Yvon: 29200 BREST
 LEPELIER Catherine: 45100 ORLEANS
 LEROY BILLIARD Maryse: 59037 LILLE Cedex
 LEROY Jean-Louis: 59037 LILLE Cedex
 LEULIER Paul: 51100 REIMS
 MELONE GALICE Chantal: 13001 MARSEILLE
 MENARD Agnès: 75009 PARIS
 MOING Marie-Hélène: 75012 PARIS
 NAETT Marc: 78600 MAISONS LAFFITTE
 NATHAN Catherine: 75017 PARIS
 NDAYIZAMBA Gérard: 50100 CHERBOURG
 NEURAZ Annick: 75008 PARIS
 OHL Jeanine: 67303 SCHILTIGHEIM
 PACAUD Luc: 33000 BORDEAUX
 PAGANELLI Elisabeth: 37000 TOURS
 PAPAXANTHOS Aline: 33076 BORDEAUX
 PARIS Françoise: 34090 MONTPELLIER
 PAUCHET Henri: 62505 ST OMER Cedex
 PAULUS Jean-Marcel: 54100 NANCY
 PEREZ Ilana: 67000 STRASBOURG
 PEZ Jean-Pierre: 75016 PARIS
 PINTIAUX Axelle: 4000 LIEGE BELGIQUE
 PIVER Pascal: 87042 LIMOGES Cedex
 PUISSANT Françoise: 3080 TERVUEREN BELGIQUE
 RABIEY Galal: 28102 DREUX Cedex
 REIGNIER VIGOUROUX Gilles: 30900 NIMES
 RIO Michel: 35000 RENNES
 RODRIGUE Michel: 69130 ECULLY
 SAINT POL Pascale: 59037 LILLE Cedex
 SALAMA Gilbert: 75019 PARIS
 SARROT Gilbert: 75014 PARIS
 SAUDIN Jacques: 50120 EQUEURDREVILLE
 SCHIANO DE COLELLA Muriel: 77130 MONTEREAU
 SCHINDLER Claudine: 92821 PUTEAUX Cedex
 SCHLOUCH Philippe: 66000 PERPIGNAN
 SIMEON Sophie: 92300 LEVALLOIS PERRET
 SULTAN Brigitte: 75008 PARIS
 TAILLAND Marie-Laure: 30000 NIMES
 TARIN Philippe: 33701 MERIGNAC Cedex
 TEISSIER Marie-Pierre: 87042 LIMOGES Cedex
 THEBAULT Alain: 92202 NEUILLY SUR SEINE
 THOMAS Patricia: 59037 LILLE Cedex
 THOREL Jean: 92100 BOULOGNE BILLANCOURT
 TIBI Charles: 75017 PARIS
 TOURAINE Philippe: 75743 PARIS Cedex 5
 TOUS Jean-Guy: 73000 CHAMBERRY
 TRANQUART François: 37044 TOURS Cedex
 VAHDAT Christine: 75006 PARIS
 VELEZ DE LA CALLE Juan: 29200 BREST
 VIVILLE Stéphane: 67404 ILLKIRCH Cedex
 WACRENIER Alain: 75116 PARIS
 ZILLOX Luc: 67500 HAGUENEAU

A genda des Congrès 2000 (France)

■ 4 et 5 Février 2000, Mérignac

Progestatifs 2000
Espace culturel du Pin Glant

Rens : Mme Patricia CHABRAT - 81 bd Pierre 1^{er} Bordeaux - 33110 Le Bouscat - Tél : 05 56 42 44 05 - Fax : 05 56 42 44 12

■ 7 au 10 Février 2000, Paris

10^e Congrès International sur les traitements anticancéreux

Rens : Edith Benbrahim - Tél : 01 42 16 04 76 - Fax : 01 42 16 04 77 - e-mail : edith.benbrahim - @ psl.ap-hop-paris.fr

■ 7 Mars 2000, Paris

6^e Journée Éthique, religion droit et reproduction

Rens : GCO/JPEG - Ghislaine des Courtils - Maternité de Bichat - 170, bd Bey 75018 PARIS - Tél : 01 42 28 82 92 - Fax : 01 42 28 45 35

■ 9-10-11 Mars 2000, Marseille

Colpocèle antérieure, cystocèle et incontinence d'urine chez la femme
Hôpital de la Conception - Marseille

Rens : Gisèle Soula - Tél : 04 91 38 37 86

■ 15 Mars 2000, Paris

DPI ou DPN ?

Carré des Sciences - 1, rue Descartes - 75005 Paris

Rens : Mme Danielle Journo - Hôpital Beclère - Sce Gyneco-Obstétrique - 157, rue Porte Trivaux - 92141 CLAMART - Fax : 01 46 30 94 93

■ 16 et 17 Mars 2000, Montpellier

Les œstrogènes : de la recherche à la pratique médicale (cancers hormono-dépendants et ménopause)

Rens : Tél. 04 67 61 67 61 - Fax 04 67 61 66 89

Le Corum - Palais des Congrès - Montpellier

■ 16 et 17 Mars 2000, Villejuif

Séminaire de techniques chirurgicales Chirurgie plastique mammaire en cancérologie

Rens : I.G.R. - Secr. Dr Ph. Lasser - 94805 VILLEJUIF Cedex - Tél : 01 42 11 44 39 - Fax : 01 42 11 52 13 - e-mail : lasser@igr.fr

■ 15-16-17 Mars 2000, Paris

Espace Champerret - Porte de Champerret
10^e salon de Gynécologie Obstétrique Pratique

Rens : L.E.N. Médical - 15, rue des Sablons - 75116 PARIS - Tél : 01 47 55 31 31 - Fax: 01 47 04 28 64

■ 23 et 24 Mars 2000, Nimes

Journées de l'Association des utilisateurs de données informatisées en périnatalogie, obstétrique et gynécologie

Rens : Sylvain Roche AUDIPOG

Centre de recherche de l'INSERM - 151, cours Albert Thomas - 69242 LYON Cédex - Tél : 04 72 68 13 54 - Fax : 04 72 68 13 51 - sroche@lyon151.inserm.fr - www;audipog.inserm.fr

■ 23 au 26 Mars 2000, Morzine

5^e Journées de Médecine Foetale de Morzine

Rens : JP. COM.B - 11, quai Conti - 78430 Louveciennes - Tél et Fax : 01 34 51 91 31 - Tél : 02 31 44 88 01 - Fax : 02 31 44 88 02

■ **25 Mars 2000, Pau**

Cercle Pyrénéen de Gynécologie : Hypofertilité, Actualité 2000

Rens : Dr H. Tual - 8 cours Camou - 64000 Pau - Tél : 05 59 84 68 16 - Fax : 05 59 80 07 57 - cigognes@wanadoo.fr

■ **31 Mars - 2 Avril 2000, Chamonix**

14^e Journées Franco-Suisses de Gynécologie-Obstétrique

Rens : Secrétariat du Service de Gynécologie Obstétrique - Hôpitaux du Léman - - Site G. Planta 74203 THONON

■ **5 - 9 Avril 2000, Paris, Palais des Congrès**

Eurogin 2000

Prévention du cancer du col, infections génitales, papillomavirus et néoplasies génitales : nouvelles perspectives

Secrétariat scientifique : Dr J. Monsonogo - Tél : 01 44 40 01 20 - Fax : 01 47 66 74 70 - e-mail : eurogin@easynet.fr

Renseignements, inscriptions : Baxon, Noelle Duraincie - Tél : 01 55 20 23 83 - Fax : 01 55 20 23 93 - e-mail : duraincie.baxon@covos.fr

■ **8 Avril 2000, Marseille**

Les alternatives au T.H.S. de la ménopause

Novotel Vieux Port - Marseille

Rens : Gisèle Soula - Tél : 04 91 38 37 86

■ **9 - 10 Juin 2000, Clermont-Ferrand**

Place Actuelle de la Chirurgie dans le Traitement de la Stérilité

Clermont-Ferrand - CICE

Rens : Béatrice Jaffeux - Tél : 04 73 34 64 50 - E.Mail cice@nat.fr

Journées organisées par la S.M.R. et le CICE sous le parrainage de la SFEG

■ **21 - 23 Septembre 2000, Nice**

12^e Symposium de la Société Franco-Allemande de Gynécologie et d'Obstétrique

Rens : MED Congrès - 7, rue Paradis 06000 NICE - Tél : 04 93 82 13 73 - Fax : 04 93 82 21 72

■ **26 et 27 Octobre 2000, Reims**

Congrès de la Société Française de Médecine Périnatale

Centre des Congrès - REIMS

Rens : Sylvie GAMEIRO - Secrétariat du Professeur QUEREUX - Service de Gynécologie - Obstétrique - Hôpital Maison Blanche - 51092 REIMS Cedex - Tél : 03 26 78 35 17 - Fax : 03 26 78 38 39

■ **23 au 25 Novembre 2000, Cannes**

5^e Congrès de Médecine Foetale

Rens : Performances Médicales - 91, avenue de la République - 75001 PARIS - Tél : 01 47 00 67 14 - Fax : 01 47 00 69 99 - e-mail : infos@performances-médicales.com

■ **GYNECO ACTUALITE 2000,**

Journée Albert Netter

Rens : UIC 16, rue Jean Rey - 75016 PARIS - Information CFEE J C Lefranc - Tél : 42 86 55 93 - Fax : 42 60 45 35

A genda des Congrès 2000 (Etranger)

■ 26 - 29 Mars 2000, Tel Aviv, Israël

World Congress on Gynecologic Endoscopy

Renseignements : Kenes Limited - 29 Hamered street - PO Box 50006 - Tel Aviv 61500 - Israël - Tél : 00 972 3 514 0014
Fax : 00 972 3 517 5674 - E-mail : conventions@kenes.com

■ 4 - 7 Avril 2000, Jérusalem, Israël

International Symposium on Reproductive Medicine and ESHRE Winter Seminar

Renseignements : Kenes Limited - 29 Hamered street - PO Box 50006 - Tel Aviv 61500 - Israël - Tél : 00 972 3 514 0014 -
Fax : 00 972 3 517 5674 - E-mail : conventions@kenes.com

■ 25 - 27 Mai 2000, Liège, Belgique

Investigations et thérapeutiques Nouvelles en Gynécologie-Obstétrique

Renseignements : Yolande Piette Communication - 108, boulevard Kleyer - 4000 Liège - Belgique - Tél : 00 32 4 254 1225
Fax : 00 32 4 254 1290

■ 25 - 28 Juin 2000, Bologne, Italie

ESHRE 2000 - European Society of Human - Reproduction and Embryology :

Réunion annuelle - ESHRE Centra Office - B-1850 Grimbergen , Belgium - Tél : + 32 (0) 2 269 09 69 - Fax : + 32 (0) 2 269 56 00

■ 12 - 22 Septembre 2000, Washington, USA

Congrès International de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO)

Renseignements : Points cardinaux - 21 , rue Royale 75008 PARIS - Tél : 01 47 42 20 16 - Fax : 01 42 65 17 25

■ 25 - 29 Septembre 2000, Bruxelles, Belgique

European Breast Cancer Working Conference

Secrétariat Scientifique : Mrs Kris Vantogelen - Federation of European Cancer Societies - 83 , avenue Mounier - 1200 Bruxelles -
Belgique - Tel : 00 32 775 02 01

Le congrès 2000 de la SMR

II^e JOURNÉES ANNUELLES DE LA SMR

PARIS 19 et 20 mai 2000

Hôtel Sofitel -Paris Porte de Sèvres

Salon Meudon (niveau Hall) - 8-12 rue Louis-Armand - 75015 PARIS (métro Balard)

**CHIRURGIE DE LA REPRODUCTION - MÉNOPAUSE - ASSISTANCE MÉDICALE À LA PROCRÉATION -
ENDOCRINOLOGIE GYNÉCOLOGIQUE**

PRÉSIDENT : Ph. BOUCHARD

Comité d'Organisation : J.M. Antoine - A. Audebert - Ph. Bouchard - J. Buvat - A. Gompel
A. Hazout - B. Hedon - P. Madelenat - C. Ribot - Ch. Sultan

VENDREDI 19 MAI 2000

13h45 : Ouverture des Journées : *Ph. Bouchard*

14h : LECTURE PLEINIÈRE Folliculogénèse : Données biologiques récentes : *A.J. Hsueh (U.S.A.)*

14h45 : ENDOCRINOLOGIE GYNÉCOLOGIQUE

14h45-15h15 : Les modulateurs endocriniens de l'environnement : *V. Ezratty (Paris)*

15h15-15h45 : Nouvelles thérapeutiques des OPK : *B. Charbonnel (Nantes)*

15h45-16h15 : Nouveaux anti-androgènes et SARMS : *Ch. Sultan (Montpellier)*

Modérateurs : A. Gompel (Paris), B. Charbonnel (Nantes)

16h15 : Pause

16h45 : MENOPAUSE

16h45-17h15 : La densité osseuse en tant que marqueur des risques pathogéniques de la post-ménopause (pathologies cardio-vasculaires, cancer du sein, mortalité...) : *C. Ribot (Toulouse)*

17h15-17h45 : THS et Risque de cancer du sein (Etude rétrospective sur 3200 patientes suivies à Necker - avec ou sans THS - sur 20 ans) : *F. de Vathaire, B. de Lignières, M. Lè (Inserm IGR)*

17h45-18h30 : THS et Risque cardiovasculaire: Faisabilité de l'étude HERS européenne ? : *P.-Y. Scarabin (Paris), P. Jaillon (Pharmacologue Agence du Médicament)*

Modérateur : C. Ribot (Toulouse)

SAMEDI 20 MAI 2000

8h30 : LECTURE PLEINIÈRE Génétique et reproduction : *E.Y. Adashi (U.S.A.)*

9h : ASSISTANCE MÉDICALE À LA PROCRÉATION

9h-9h30 : DPI : gestion pratique : *S. Viville (Strasbourg)*

9h30-10h : Mise au point sur l'empreinte génomique : *S. Viville (Strasbourg)*

10-10h30 : Virus et sécurité sanitaire en AMP : *J. Montagut (Toulouse)*

10h30-10h45 : Discussion

Modérateurs : J.-M. Antoine (Paris), A. Hazout (Paris)

10h45 : Pause

11h-11h30 : Stimulation hors FIV : quel monitoring ? : *P. Barbarino (Nancy)*

11h30-12h : Monitoring pratique de l'implantation : *A. Hazout (Paris)*

12h-12h30 : Les enfants de l'ICSI : *F. Olivennes (Paris)*

12h30-12h45 : Discussion

12h45 : Déjeuner

14h : CHIRURGIE DE LA REPRODUCTION

14h-14h20 : Adhérences : enjeux et préventions : *M. Canis (Clermont-Ferrand)*

14h20-14h40 : Chirurgie andrologique à l'heure de l'ICSI : *E. Amar (Paris)*

14h40-15h : Evidence Based Medicine en chirurgie de la reproduction : *B. Hédon (Montpellier)*

Modérateur : J. Salat-Baroux (Paris) & A. Audebert (Bordeaux)

15h30 : LECTURE PLEINIÈRE

Perspectives de la prise en charge pharmacologique des dysfonctions sexuelles : *J. Buvat (Lille)*

16h : CLOTURE DES JOURNÉES SCIENTIFIQUES : *Ph. Bouchard*

16h15 : Pause

16h30 : ASSEMBLÉE GÉNÉRALE

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Comité Scientifique :

J.M. Antoine - A. Audebert - Ph. Bouchard - J. Buvat - A. Gompel - A. Hazout - B. Hédon - F. Kuttenn - P. Madelenat - C. Ribot - Ch. Sultan

Secrétariat Administratif SMR :

Mme S. Coupérie

35 Rue Turenne - 33000 Bordeaux.

Tel : 05 56 01 01 96 - Fax : 05 56 01 02 83

E mail : IGF1@wanadoo.fr

Frais de participation :

Membres de la SMR : **400 F**

Non membres de la SMR : **700 F**

Etudiants, Internes : **250 F**

Déjeuner : **250 F**

Hébergement- Fiches de réductions SNCF - AIR FRANCE :

Contactez le secrétariat de la SMR.

BULLETIN D'INSCRIPTION

Nom : Prénom :

Adresse :

Code Postal : Ville :

Téléphone : Fax :

Frais de participation : - Membres de la SMR : 400 F
- Non-membres de la SMR : 700 F
- Etudiants, Internes : 250 F
- Déjeuner : 250 F
TOTAL :F

- Je souhaite recevoir une fiche de réduction :
SNCF ► AIR FRANCE ►

Bulletin lisiblement rempli à retourner avec le règlement correct à l'ordre de la SMR

**Secrétariat SMR - Madame Coupérie - 35 rue Turenne
33000 BORDEAUX**

Chers amis,

Nous invitons tous les cliniciens de la Reproduction à soutenir un grand projet : le développement de la **Société de Médecine de la Reproduction (SMR)**.

Cette jeune société s'intéresse sans exclusive à tous les aspects de la Reproduction (fertilité, andrologie, endocrinologie de la reproduction, ménopause, contraception...).

L'adhésion à la SMR ne remet nullement en cause toute participation à une autre société ou fédération.

Les **principaux buts** de la SMR sont :

- d'être une **société de personnes** ;
- de créer une **structure interactive** entre tous les acteurs cliniciens et autres de la Reproduction humaine tout en favorisant la création et l'expression de groupes d'intérêts ;
- de **représenter** les cliniciens de la Reproduction dans toutes les instances appropriées ;
- d'organiser des **symposiums** cliniques et scientifiques du meilleur niveau ;
- de participer à l'élaboration de **guides de bonnes pratiques** ;
- de diffuser régulièrement toutes les **informations utiles** à l'exercice de notre profession (bulletin...) ;
- de participer aux discussions sur la nouvelle loi de bioéthique ;
- de financer la **recherche**...

Nous avons absolument besoin de votre participation active dès maintenant !

Plus de 850 spécialistes francophones ont déjà adhéré. Nous vous encourageons à les rejoindre grâce à une adhésion simplifiée, en nous adressant le formulaire ci-joint accompagné du règlement de la cotisation annuelle fixée à 350 francs.

A adresser avec un chèque de 350 F à

Pr. J.M. ANTOINE
Service de gynécologie Obstétrique - Hôpital Tenon
4, rue de la Chine - 75020 PARIS

Nom : Prénom :

Spécialité : Titres :

Adresse :

Téléphone : Fax : E-mail