

Année 2021/2022

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Christian Hermann LUMBU LUKUNTONDA

Né le 07/01/1989 à Beaumont-Sur-Oise (095)

TITRE

Identification des anomalies chromosomiques équilibrées dans les troubles de la reproduction – étude rétrospective et perspectives

Champ disciplinaire : Génétique – Biologie de la reproduction

Présentée et soutenue publiquement le **14/10/2022** devant un jury composé de :

Président du Jury :

Professeur Christian ANDRES, Biochimie et Biologie moléculaire, Faculté de Médecine -Tours

Membres du Jury :

Professeur Patrick VOURC'H, Biochimie et biologie moléculaire, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Philippe LANOTTE, Microbiologie – Immunologie – Bioépidémiologie, Faculté de Pharmacie – Tours

Docteur Noémie CELTON, Génétique, PH, CHU – Tours

Directeur de thèse : Docteur Thomas GUERY, Génétique, PH – CHR Orléans

Titre : Identification des anomalies chromosomiques équilibrées dans les troubles de la reproduction – étude rétrospective et perspectives

Résumé :

Les causes des troubles de la reproduction sont multiples ; nous nous intéresserons aux causes génétiques, dont les translocations réciproques équilibrées. Le caryotype est l'examen de référence pour l'identification des translocations, mais sa faible résolution ne permet pas de toutes les identifier. Nous avons réalisé une étude rétrospective dont le but est d'évaluer le rendement diagnostique du caryotype chez les patients de Tours et d'Orléans ayant consulté pour troubles de la reproduction entre janvier 2016 et décembre 2021, et de discuter des alternatives possibles au caryotype. 1483 patients ont été inclus, le rendement diagnostique a été estimé à 3,57% pour toutes les anomalies (dont 2,42% pour les dysgonosomies et moins d'un pourcent (0,74%) pour les translocations réciproques équilibrées). Le rendement diagnostique du caryotype est donc faible. Le séquençage de nouvelle génération (*Next Generation Sequencing*) serait une alternative possible ; il est moins onéreux mais limité par la longueur des *reads* et la nécessité d'une amplification par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et la difficulté pour détecter les variants dans les séquences répétées. Le séquençage de troisième génération (*long-read sequencing*) détecterait des anomalies de structure de plus grande taille, mais son prix reste élevé et un recours à la préparation des bibliothèques est nécessaire. La cartographie optique du génome (en particulier la technologie Bionano®) semble être une alternative intéressante : elle permet de déceler à la fois les anomalies de structure, avec une meilleure résolution, et les variations du nombre de copies, sans recours à une amplification ni à une préparation de bibliothèques. Le taux diagnostique attendu de cette technique est de 30 à 40%, ce qui fait de la cartographie un bon complément au caryotype.

Mots clés : reproduction, translocation, caryotype, cartographie, optique, génome, Bionano

Title : Identification of balanced chromosomal abnormalities in reproductive disorders - a retrospective study and perspectives.

Abstract :

There are many causes of reproductive disorders; we will focus on genetic causes, including balanced reciprocal translocations. Karyotype is the reference examination for the identification of translocations, but its low resolution does not allow to identify all of them. We conducted a retrospective study to evaluate the diagnostic yield of karyotype in patients from Tours and Orléans who consulted for reproductive disorders between January 2016 and December 2021, and to discuss possible alternatives to karyotype. 1483 patients were included, the diagnostic yield was estimated at 3.57% for all anomalies (including 2.42% for dysgonosomies and less than one percent (0.74%) for balanced reciprocal translocations). The diagnostic yield of karyotyping is therefore low. Next Generation Sequencing (NGS) would be a possible alternative; it is less expensive but limited by the length of the reads and the need for PCR amplification and the difficulty in detecting variants in repeated sequences. Third generation sequencing (long read sequencing) would detect larger structural anomalies, but its cost remains high and recourse to library preparation is necessary. Optical genome mapping (in particular Bionano® technology) seems to be an interesting alternative: it allows the detection of both structural anomalies, with a better resolution, and copy number variations, without recourse to amplification or library preparation. The expected diagnostic rate of this technique is 30-40%, which makes mapping a good complement to karyotyping.

Key words : reproduction, translocation, karyotype, mapping, optical, genome, Bionano

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr Henri MARRET

ASSESEURS

Pr Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*

Pr Mathias BUCHLER, *Relations internationales*

Pr Theodora BEJAN-ANGOULVANT, *Moyens – relations avec l'Université*

Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*

Pr François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*

Pr Patrick VOUREH, *Recherche*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Carole ACCOLAS

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (+) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr Georges DESBUQUOIS (+) – 1966-1972

Pr André GOUAZE (+) – 1972-1994

Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON

Pr Gilles BODY

Pr Philippe COLOMBAT

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Pascal DUMONT

Pr Bernard FOUQUET

Pr Yves GRUEL

Pr Gérard LORETTE

Pr Dominique PERROTIN

Pr Philippe ROSSET

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU – C. BERGER – J.C. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L. CASTELLANI – J. CHANDENIER – A. CHANTEPIE – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – D. GOGA – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – O. HAILLOT – N. HUTEN – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE – AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAIN – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – R. QUENTIN – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
APETOH Lionel.....	Immunologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BAKHOS David.....	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARBIER François.....	Médecine intensive et réanimation
BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora.....	Pharmacologie clinique
BERHOUEZ Julien.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BOURGUIGNON Thierry	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESMIDT Thomas.....	Psychiatrie
DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DI GUISTO Caroline	Gynécologie obstétrique
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Médecine intensive – réanimation
FAUCHIER Laurent.....	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GATAULT Philippe.....	Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GUERIF Fabrice.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUILLON Antoine.....	Médecine intensive – réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie.....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
IVANES Fabrice	Physiologie
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie
LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LEGRAS Antoine.....	Chirurgie thoracique
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie

MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophthalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clotilde
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs || ROBERT Jean | Médecine Générale |

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine Anglais |

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AUDEMARD-VERGER Alexandra	Médecine interne
BARBIER Louise	Chirurgie digestive
BINET Aurélien	Chirurgie infantile
BISSON Arnaud	Cardiologie (CHRO)
BRUNAUT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès	Biostat., informatique médical et technologies de communication
CARVAJAL-ALLEGRIA Guillermo	Rhumatologie (au 01/10/2021)
CLEMENTY Nicolas	Cardiologie
DENIS Frédéric	Odontologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
ELKRIEF Laure	Hépatologie – gastroentérologie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
HOARAU Cyrille	Immunologie

LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEMAIGNEN Adrien.....	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine.....	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste.....	Radiologie pédiatrique
PARE Arnaud.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
ROUMY Jérôme.....	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte.....	Thérapeutique
STANDLEY-MIQUELESTORENA Elodie.....	Anatomie et cytologie pathologiques
STEFIC Karl.....	Bactériologie
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VAYNE Caroline.....	Hématologie, transfusion
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
NICOGLOU Antonine.....	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile.....	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

AUMARECHAL Alain.....	Médecine Générale
BARBEAU Ludivine.....	Médecine Générale
CHAMANT Christelle.....	Médecine Générale
ETTORI-AJASSE Isabelle.....	Médecine Générale
PAUTRAT Maxime.....	Médecine Générale
RUIZ Christophe.....	Médecine Générale
SAMKO Boris.....	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRAE

BECKER Jérôme.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BOUAKAZ Ayache.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BRIARD Benoit.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
CHALON Sylvie.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
DE ROCQUIGNY Hugues.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
ESCOFFRE Jean-Michel.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GILOT Philippe.....	Chargé de Recherche Inrae – UMR Inrae 1282
GOUILLEUX Fabrice.....	Directeur de Recherche CNRS – EA 7501 - ERL CNRS 7001
GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GUEGUINOUE Maxime.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
LATINUS Marianne.....	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LAUMONNIER Frédéric.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LE MERREUR Julie.....	Directrice de Recherche CNRS – UMR Inserm 1253
MAMMANO Fabrizio.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
MEUNIER Jean-Christophe.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
PAGET Christophe.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
RAOUL William.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR CNRS 1069
SI TAHAR Mustapha.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SUREAU Camille.....	Directrice de Recherche émérite CNRS – UMR Inserm 1259
WARDAK Claire.....	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire.....	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie.....	Praticien Hospitalier

Pour l'Ecole d'Orthoptie

BOULNOIS Sandrine.....	Orthoptiste
------------------------	-------------

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice.....	Praticien Hospitalier
-----------------------	-----------------------

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

Remerciements

A mon jury,

Monsieur le Professeur Christian ANDRES

*Professeur des universités, Faculté de médecine de Tours
Praticien Hospitalier, Chef de service de Biochimie et Biologie Moléculaire au Centre
Hospitalier Universitaire de Tours,*

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce jury. Je vous remercie pour le stage que j'ai effectué dans votre service, j'ai appris beaucoup de choses,

Monsieur le Professeur Patrick VOUREC

*Professeur des universités, Faculté de médecine de Tours
Praticien Hospitalier, Chef de service de Génétique au Centre Hospitalier Universitaire de Tours,
Praticien Hospitalier, dans le service de Biochimie et Biologie Moléculaire au Centre Hospitalier
Universitaire de Tours,*

Je vous remercie d'avoir accepté de co-encadrer mon travail de thèse et d'avoir effectué des remarques très constructives.

Monsieur le Professeur Philippe LANOTTE

*Professeur des universités, Faculté de pharmacie de Tours
Praticien Hospitalier, dans le service de Bactériologie au Centre Hospitalier Universitaire de
Tours,*

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail.

Monsieur le docteur Thomas GUERY

*Praticien Hospitalier, dans la structure interne de Génétique au Centre Hospitalier Régional
d'Orléans,*

Je vous remercie de m'avoir transmis les connaissances de génétique somatique durant deux semestres, et d'avoir accepté d'encadrer ma thèse, ainsi d'avoir pris du temps pour me donner des conseils avisés pour améliorer mon travail.

Madame le docteur Noémie CELTON

Praticien Hospitalier, dans le service de Génétique Centre Hospitalier Universitaire de Tours,

Je te remercie d'avoir inspiré ce sujet et de m'avoir encadré un semestre dans le service de génétique.

A ceux qui ont contribué à ce travail :

Edith, qui a recueilli les données des patients,

Le docteur Nathalie LE DU, qui m'a aidé à préparer les topos préparatoires avant la rédaction de mon travail de thèse,

Les autres médecins qui ont écouté ces topos et qui y ont apporté des remarques constructives (Paul G., Médéric J., Stéphanie A., Marie-Laure V.W., Sophie B.)

Les techniciens du service de génétique de Tours, qui ont accepté d'écouter ces topos,

Mes co-internes **Antoine, Solène et Victoria**, qui ont également accepté d'écouter ces topos,

Les techniciens du service de génétique d'Orléans, qui ont également écouté ces topos.

Dédicaces

A mes co-internes des différents autres stages : Pauline C., Thomas M., Pierre, Emeline, Elodie, Romane, Raphael, Wayne et Anne-Laurine ; et à tous les internes de biologie médicale que je connais (Mathilde, Aurélien, en particulier).

Aux internes que j'ai connu à l'internat : Denis, Anne-Laurine, Jérémy, Marius, Stefan ; Heidi, Valentin, Charlotte, Sébastien.

Aux VP biologie et à toute la BIBIPHT

A mes colocataires Surendhar et Alexandre, les parties de FIFA et les séries « Ma famille d'abord », on a bien rigolé.

A ma famille :

Mes parents (Christian, Annie), merci pour toute l'éducation que vous m'avez transmise ; à tonton Kakou, à mes frères (Kévin, Sion, Cyvan, Jetos), à Sarah M. ma belle soeur, à mes tontons (Léonard, Pitchell) et tantes (Nkay, Solange) mes cousins et cousines (Merveille, Geremy, Miraldie, Nathan, Jordan, Kenan, Raphael et Eunice-Marie), mes nièces chéries Eliora et Eliakim, mon neveu Elyon. Merci pour tout votre soutien. Vous êtes une belle famille.

A mon père spirituel Pasteur Adrien G. : merci pour tout l'encadrement, les conseils de vie, les encouragements pour mes études, dans les hauts comme dans les bas. Et à toute l'église « La Bonne Nouvelle » dans laquelle j'ai grandi : merci pour vos encouragements.

Eglises « Espace Vie Chrétienne » et « Tours Métropole » : mes remerciements pour tout votre amour et votre soutien.

A mon ami et maître de médecine Didier L., et sa femme Carine : je vous ai connus alors que vous cherchiez quelqu'un pour s'occuper de Anna, je me suis fièrement occupé d'elle, qui actuellement, repose en paix. Vous m'avez encouragé durant toutes ces années de médecine, vous m'avez transmis le savoir médical et aussi l'éthique médicale.

A mes amis :

D'Orléans : Max, Teddy, Clovis, Florent, Mirabelle, Orphélia, Maéva (avec qui j'ai pas mal mangé le midi durant 3 mois), Fabienne, Sarah, Déborah, Cindy.

De Tours : Alban, Renelda, Samuel H., Dobonne, Salem, Alizée, Bonheur, Jossy, Emmanuelle.

De Paris : Stéphanie F., Valmont D., Emmanuel O., Salomon G., Glody T., Mireille et Francine K, Polyanne T., Irène Y., Stéphanie L., Rebecca D., Jeanne D., Olivier F.

De médecine : Denis, Anne-Laurine, Stefan, Jérémy, Ananthy,

De Bordeaux : Myriam C.

Des Terriers : José A., Laure A., Axel M., Anthony M., Marouane et Majid B., Djamel B., Mounir et Chafik B., Mohammed D., Mohammed L.

Chloé W. : depuis le lycée qu'on se connaît ! Merci pour tes encouragements, bravo tu as maintenant fini, malgré les dures labeurs tu as tenu ferme, bientôt c'est mon tour :).

Et à tous ceux que je connais que j'ai pu oublier : merci pour vos encouragements.

Merci à DIEU pour tout.

I. Introduction**16**

A. Etat des connaissances des troubles de la reproduction.....	16
1. Infertilité.....	16
1.1. Définition.....	16
1.2. Epidémiologie.....	16
1.3. Facteurs pouvant influencer la fertilité spontanée des couples.....	16
1.3.1. Age du partenaire féminin/masculin.....	16
1.3.2. Infertilité pathologique.....	17
1.3.2.1. Infertilité mixte.....	17
1.3.2.1.1. Hypogonadisme hypogonadotrope.....	17
1.3.2.1.2. Hyperprolactinémie.....	18
1.3.2.1.3. Altération de la fonction ciliaire.....	18
1.3.2.1.4. Mucoviscidose.....	18
1.3.2.1.4.1. Généralités.....	18
1.3.2.1.4.2. Fonctions de la protéine CFTR.....	18
1.3.2.1.4.3. Mutations du gene CFTR.....	19
1.3.2.1.4.4. Signes cliniques.....	20
1.3.2.1.4.5. Prise en charge diagnostique et thérapeutique.....	21
1.3.2.1.5. Infection.....	21
1.3.2.1.6. Maladies systémiques.....	21
1.3.2.1.7. Insuffisance en vitamine D.....	22
1.3.2.1.8. Facteurs liés au mode de vie.....	22
1.3.2.1.8.1. Fréquence des coûts.....	22
1.3.2.1.8.2. Régime alimentaire, exercice physique, obésité.....	22
1.3.2.1.8.3. Stress et fatigue.....	22
1.3.2.1.8.4. Tabagisme, alcool, drogues.....	23
1.3.2.2. Infertilité féminine.....	23
1.3.2.2.1. Insuffisance ovarienne prématurée.....	23
1.3.2.2.2. Syndrome des ovaires polykystiques.....	23
1.3.2.2.3. Endométriose.....	25
1.3.2.2.3.1. Définition et épidémiologie.....	25
1.3.2.2.3.2. Formes anatomo-cliniques.....	25
1.3.2.2.3.3. Physiopathologie.....	25
1.3.2.2.3.4. Endométriose et infertilité.....	26
1.3.2.2.4. Fibromes utérins et polypes endométriaux.....	26
1.3.2.3. Infertilité masculine.....	26
1.3.2.3.1. Généralités.....	26
1.3.2.3.2. Exemples de causes génétiques d'infertilité masculine.....	27
1.3.2.3.2.1. Syndrome de Klinefelter.....	27
1.3.2.3.2.2. Microdélétion du bras long du chromosome Y.....	28
1.3.2.3.3. Anomalies testiculaires congénitales.....	28
1.3.2.3.3.1. Anorchidie.....	28
1.3.2.3.3.2. Cryptorchidie.....	28
1.3.2.3.4. Varicocèle.....	29
2. Insuffisance ovarienne prématurée.....	29
2.1. Définition et épidémiologie.....	29
2.2. Description clinique.....	30

2.3. Physiopathologie.....	30
2.4. Etiologies.....	30
2.4.1. Causes génétiques.....	30
2.4.1.1. Dysgonosomies X.....	30
2.4.1.2. Anomalies de structure du chromosome X.....	31
2.4.1.3. Anomalies géniques identifiées sur le chromosome X.....	31
2.4.1.3.1. Gènes FMR1 et FMR2.....	31
2.4.1.3.2. Gène BMP15.....	31
2.4.1.4. Etiologies génétiques d'insuffisance ovarienne syndromique.....	32
2.4.1.4.1. Syndrome de blepharophimosis-ptosis-epicantus inversus (BPES)	32
2.4.1.4.2. Syndrome APECED.....	32
2.4.1.4.3. Syndrome de Perrault.....	33
2.4.1.4.4. Galactosémie.....	33
2.4.1.4.5. Ovarioleucodystrophie.....	33
2.4.1.4.6. Ophthalmoplégie progressive externe (POLG)	33
2.4.1.4.7. Syndrome de Nimègue (Nijmegen breakage syndrome).....	33
2.4.1.4.8. Association familiale à un désordre du développement sexuel (DSD).....	33
2.4.1.4.9. Syndrome de vieillissement prématuré.....	33
2.4.1.4.10. Association de l'IOP à une hyperandrogénie.....	34
2.4.1.4.11. Association entre IOP et insuffisance surrénalienne.....	34
2.4.1.4.12. Ataxie-télangiectasie.....	34
2.4.1.5. Etiologies génétiques d'insuffisance ovarienne non syndromique.....	34
2.4.1.5.1. Gène de l'inhibine A (INHA, Inhibin subunit alpha)	34
2.4.1.5.2. Gènes impliqués dans la méiose.....	34
2.4.1.5.3. CYP11A1 et CYP17A1.....	35
2.4.1.5.4. Gène de l'hormone thyroïdienne stimulante (TSH, thyroid-stimulating hormone)	35
2.4.1.5.5. Autres gènes.....	35
2.4.2. Causes non génétiques.....	37
2.4.2.1. Causes iatrogènes.....	37
2.4.2.2. Causes environnementales.....	37
2.4.2.3. Causes auto-immunes.....	38
2.4.2.4. Syndromes polyendocriniens et IOP.....	38
2.4.2.5. Causes virales.....	38
3. Fausses couches spontanées précoces.....	39
3.1. Définition.....	39
3.2. Etiologies.....	40
3.2.1. Etiologies communément établies.....	40
3.2.1.1. Causes utérines.....	40
3.2.1.2. Syndrome des antiphospholipides.....	42
3.2.1.3. Facteurs endocriniens.....	44
3.2.1.4. Facteurs environnementaux et psychologiques.....	44
3.2.1.5. Facteurs génétiques.....	44

3.2.2. <i>Etiologies controversées</i>	45
3.2.2.1. <i>Thrombophilies congénitales</i>	45
3.2.2.2. <i>Insuffisance lutéale</i>	46
3.2.2.3. <i>Endométrite chronique</i>	46
3.2.3. <i>Fausses couches à répétition inexplicées</i>	46
B. Caryotype.....	47
1. Définitions.....	47
2. Historique.....	47
3. Le chromosome métaphasique.....	48
4. Réalisation et indications du caryotype.....	49
5. Anomalies chromosomiques.....	52
C. Problématique et objectifs de la thèse.....	57
<u>II. Patients, matériels et méthodes</u>	57
<u>III. Résultats</u>	58
A. Résultats généraux.....	58
B. Anomalies chromosomiques.....	59
<u>IV. Discussion</u>	62
A. Rendement du caryotype.....	62
B. Alternatives possibles.....	64
1. Hybridation fluorescente in situ.....	64
2. Analyse chromosomique sur puces à ADN.....	64
3. Séquençage de nouvelle génération (NGS).....	65
3.1. Principes généraux.....	65
3.2. Séquençage de nouvelle génération et variants de structure.....	66
3.3. Avantages et limites.....	67
4. Séquençage de troisième génération.....	68
4.1. Principes généraux.....	68
4.2. Avantages et limites.....	69
5. Cartographie optique du génome (technologie Bionano®).....	70
5.1. Généralités.....	70
5.2. Etapes techniques.....	70
5.3. Performances du Bionano® rapportées dans certaines études.....	74
5.4. Avantages et limites de la cartographie optique du génome.....	76
<u>V. Conclusion et perspectives</u>	77
<u>VI. Bibliographie</u>	78
<u>VII. Table des tableaux</u>	98
<u>VIII. Table des figures</u>	99
<u>IX. Annexes</u>	100

Abréviations

ACPA : analyse chromosomique sur puce à ADN

ADN : Acide désoxyribonucléique

CFTR : *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*

CNV : *copy number variant*

DSD : désordres du développement sexuel

EDTA : acide éthylène-diamine-tétraacétique

FCS : fausse couche spontanée

FISH : hybridation par fluorescence in situ

FSH : hormone folliculo-stimulante

GnRH : *gonadotrophin released hormone* (hormone de libération des hormones hypophysaires)

GRCh38 : *Genome Reference Consortium Homo Sapiens (human) genome 38*

IMC : indice de masse corporelle

IOP : insuffisance ovarienne prématurée

ISCN : *International System for human Cytogenetic (Cytogenomic) Nomenclature*

LH : hormone lutéinisante

NGS : *Next-Generation Sequencing*

OATS : Oligo-asthéo-tératozoospermie

ONT : *Oxford Nanopore Technologies*

PMA : procréation médicalement assistée

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

SAPL : Syndrome des anti-phospholipides

SOPK : syndrome des ovaires polykystiques

SMRT : *Single molecule real-time*

SV : *structural variant*

TSH : hormone thyérostimulante

I. Introduction

A. Etat des connaissances des troubles de la reproduction

1. Infertilité.

1.1. Définitions

La fertilité est définie par la capacité d'obtenir une grossesse, selon *The international Glossary on Infertility and Fertility Care*(1).

L'**infertilité** est définie par l'incapacité d'obtenir une grossesse après 12 mois de rapports sexuels réguliers non protégés ou encore par une déficience de capacité pour une personne d'assurer une reproduction efficace(1,2). Selon la dernière définition de l'OMS, l'infertilité est une maladie qui génère un handicap en tant qu'altération d'une fonction(1,2). Alors que la définition de l'infertilité repose sur une période de temps limitée, la **stérilité** est un état permanent d'infertilité(1,2). L'infertilité est dite primaire lorsqu'une femme nullipare ne parvient pas à obtenir une grossesse dans le délai défini plus haut. Elle est dite secondaire lorsqu'après un antécédent de grossesse, un échec de grossesse se présente, ou encore lorsqu'une grossesse est survenue mais n'arrive pas à son terme. Cette catégorisation pourrait également s'appliquer à l'homme quant à son implication dans l'initiation d'une grossesse, reposant notamment sur la qualité du sperme. De ce fait l'infertilité masculine provient de l'altération des paramètres spermatiques : le volume (hypospermie), la concentration en spermatozoïdes (oligospermie, azoospermie), la mobilité des spermatozoïdes (asthénospermie, akinétospermie), leur vitalité (nécrospermie)(3).

1.2. Epidémiologie.(2)

La prévalence de l'infertilité chez les femmes en âge de procréer a été estimée à un couple sur sept en occident et à un couple sur quatre dans les pays en développement(4). Dans le monde, une étude estime que l'infertilité affecterait entre 8 et 12% des couples(5).

En France, selon les données de l'Enquête Nationale Périnatale et l'Observatoire épidémiologique de la Fertilité en France, 18 à 24% des couples sont concernés après un an de tentative, et 8 à 11% sont concernés après deux ans de tentative de grossesse(6).

L'infertilité féminine isolée représente 50% des infertilités(4). L'infertilité secondaire est la forme la plus courante d'infertilité féminine dans le monde. En particulier, elle prédomine dans les pays où les taux d'avortement à risque et les soins de mauvaise qualité sont élevés, ce qui entraîne un risque d'infections *post-abortionum* et *post-partum*(2).

L'infertilité masculine isolée représente 20 à 30% des infertilités, et l'infertilité mixte représente 20 à 30% des infertilités(4).

1.3. Facteurs pouvant influencer la fertilité spontanée des couples

1.3.1. Age du partenaire féminin/masculin

Depuis les années 1960, les mentalités concernant les projets de maternité ont évolué en Europe(7), dans le sens où les femmes ont tendance à poursuivre leurs études et à obtenir un emploi avant de penser conception, si bien qu'elles ont tendance à obtenir leur premier enfant à un âge tardif(8), généralement, selon une étude autour de 35 ans, avec un âge moyen maternel majoritairement autour de 30 ans en Occident. Or la fertilité a tendance à baisser, dans l'étude

de Van Noord Zaadstra, B.M. et al. (1991), autour de l'âge de 31 ans(9), et lorsque les moyens de contraceptions ne sont pas utilisés, l'âge médian des femmes à la naissance de leur dernier enfant est de 40-41 ans (10). Une étude a aussi mis en évidence une tendance chez l'homme à concevoir après l'âge de 30 ans. En effet, entre 1980 et 2014, le taux de naissances vivantes a décliné de plus de 27% chez les hommes âgés entre 25 et 29 ans, augmenté de 15 % chez les hommes entre 30 et 34 ans, et augmenté de plus de 50% chez les plus de 35 ans(11).

Eijkemans et al. (2014) ont analysé de la distribution de l'âge féminin à la première naissance dans une population à fécondité naturelle et ont montré une perte de fertilité assez lente, de 4,5% à 25 ans, 7% à 30 ans, 12% à 35 ans, 20% à 38 ans, et par la suite, une évolution rapide de 50% à 41 ans, environ 90% à 45%, et près de 100% à 50 ans(10).

Concernant le rapport entre l'âge masculin et son influence sur les paramètres spermatiques, une revue de la littérature réalisée par Johnson S.L. et al (2015) a montré une association entre l'âge et le déclin du volume du sperme, du pourcentage de la mobilité totale et de la mobilité progressive des spermatozoïdes, mais il n'y avait pas de lien entre l'âge et la concentration spermatique(12).

Tous ces éléments laissent à suggérer que l'âge des deux partenaires semble avoir une influence sur la fertilité.

1.3.2. Infertilité pathologique

Les causes d'infertilité d'origine médicale ont été réparties selon trois catégories : masculine, féminine, et commune aux deux sexes. Elles sont résumées dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : cause d'infertilité pathologique selon les sexes (adapté d'après(2)).	
Infertilité mixte	Hypogonadisme hypogonadotrope Hyperprolactinémie Désordres de la fonction ciliaire Mucoviscidose Infections Maladies systémiques Facteurs/maladies liées au mode de vie
Infertilité féminine	Insuffisance ovarienne prématurée Syndrome des ovaires polykystiques Endométriose Fibrose utérine Polypes endométriaux
Infertilité masculine	Déficiência testiculaire Incapacité post-testiculaire

1.3.2.1. Infertilité mixte.

1.3.2.1.1. Hypogonadisme hypogonadotrope.

L'hypogonadisme hypogonadotrope se traduit par une stimulation gonadique insuffisante par l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculo-stimulante (FSH), soit parce que la sécrétion de la GnRH (gonadotrophine hypothalamique) est insuffisante ou absente, soit

en raison d'une atteinte de l'hypophyse. L'hypogonadisme hypogonadotrope (HH) peut être d'origine congénitale ou acquise(2). L'HH d'origine congénitale peut être subdivisée en deux catégories, dépendantes de la présence d'une anosmie ou non. Dans le cadre d'une anosmie, il s'agit du syndrome de Kallmann ; en l'absence d'anosmie il s'agit d'un HH normosmique isolé (ou HH idiopathique). Les causes acquises d'hypogonadisme hypogonadotrope sont tumorales (adénomes hypophysaires,...), inflammatoires et infiltratives (hypophysite, sarcoïdose, histiocytose), traumatiques, iatrogènes (radiothérapie,...), carencielles (anorexie mentale,...) et endocriniennes (hypercortisolisme, bloc en 21-hydroxylase)(13).

1.3.2.1.2. *Hyperprolactinémie.*

Chez les femmes, l'hyperprolactinémie entraîne une inhibition de la sécrétion des hormones gonadotropes, conduisant à une anovulation. Chez les hommes, elle entraîne des concentrations de testostérone basses, une infertilité et une dysfonction sexuelle(2).

1.3.2.1.3. *Altération de la fonction ciliaire*

Les trompes de Fallope, jouent un rôle important dans le transport des spermatozoïdes et des embryons. Ce transport est influencé par les contractions musculaires, le flux des sécrétions tubaires et l'activité ciliaire(14). Cette activité ciliaire peut être altérée par l'environnement, notamment par des agents pathogènes, par une inflammation ; cependant un trouble primaire de la structure et de la fonction ciliaire peut aussi altérer cette activité, et induire un transport tubaire anormal et une prédisposition à une grossesse ectopique et à une infertilité. Ce désordre, appelé dyskinésie ciliaire primaire, est associé à des infections récurrentes de l'appareil respiratoire et potentiellement à des situs inversus(15). Il s'agit alors d'une affection très hétérogène, liée à des défauts génétiques pour lesquels une étude de 2015 a identifié 29 gènes impliqués(15,16), et d'autres gènes sont encore en cours de recherche.

1.3.2.1.4. *Mucoviscidose.*

1.3.2.1.4.1. *Généralités*

La mucoviscidose, est la plus fréquente des affections héréditaires létales, à transmission autosomique récessive, dans les populations d'origine caucasienne. Elle touche près de 6000 patients en France et 70 000 dans le monde et fait partie des maladies dépistées en période néonatales en France depuis 2002. Elle est liée à des mutations d'un gène codant pour le canal chlorure *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR)(17).

1.3.2.1.4.2. *Fonctions de la protéine CFTR*

La protéine CFTR est un canal chlorure exprimé à la membrane apicale de nombreux épithéliums glandulaires, en particulier ceux des voies aériennes, des canaux pancréatiques et des glandes sudoripares. Elle est fonctionnelle après plusieurs étapes de changement de conformation dans le réticulum endoplasmique, de glycosylation dans l'appareil de Golgi, et d'adressage à la membrane plasmique(18). La protéine CFTR appartient à la famille des protéines *ATP-binding cassette* (ABC) et est composée de 5 domaines (Figure 1). En plus de son action propre de canal chlorure, elle régule d'autres canaux ioniques, activant en particulier des canaux chlorures dits « accessoires » (*outward rectifying chloride channel* [ORCC]) et inhibant le canal sodium épithélial (*epithelial sodic channel* [ENaC])

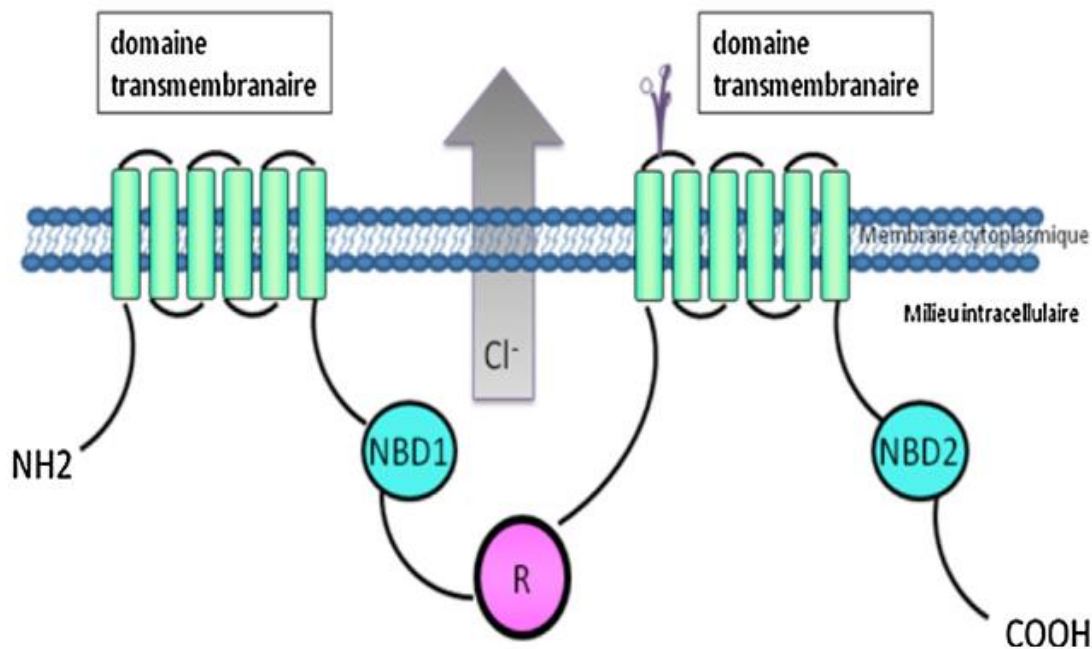


Figure 1 : Protéine CFTR(17). Elle est composée de 5 domaines : deux motifs transmembranaires composés chacun de 6 hélices α -hydrophobes ; deux domaines hydrophiles de fixation des nucléotides (NBD1 et NBD2) capables de fixer de l'ATP ; un domaine hydrophile cytoplasmique de régulation (domaine régulateur R) qui relie les domaines NBD1 et NBD2. Ce domaine R permet de contrôler l'ouverture et la fermeture du canal en exposant à sa surface des sérines phosphorylables par les protéines kinases A et C. NBD : *nucleotide binding domain* ; ATP : adénosine triphosphate ; R : domaine régulateur ; Cl⁻ : chlore ; CFTR : *cystic fibrosis conductance regulator*.

1.3.2.1.4.3. Mutations du gène CFTR

Le gène *CFTR* est localisé sur le bras long du chromosome 7, en position 7q31. Plus de 2000 mutations de ce gène sont actuellement décrites (<http://www.cftr2.org>), les plus retrouvées étant par ordre de fréquence les mutations faux-sens (40%), suivies des mutations par décalage du cadre de lecture (*frameshift*, 16%), des mutations sur le site d'épissage (12%), et des mutations non-sens (8%). Une classification de ces mutations a été établie selon les conséquences fonctionnelles de la protéine (figure 2) :

- classe I : mutations affectant la production de la protéine (par ex : la mutation G542X) ;
- classe II : mutations affectant le processus de maturation de la protéine et son adressage à la membrane plasmique (par exemple, la mutation F508del) ;
- classe III : mutations perturbant la « régulation » du canal chlorure (par exemple la mutation G551D, située dans le domaine NBD1 et entraînant un défaut d'ouverture du canal chlorure) ;
- classe IV : mutations altérant la conduction et les mécanismes d'ouverture et de fermeture du canal chlorure (par exemple, La mutation R117H)
- classe V : mutations altérant la stabilité de l'ARNm de CFTR (exemple du variant T5 de l'intron 8) ;
- Classe VI : mutations altérant la stabilité de la protéine mature.

En fonction de leurs répercussions sur la protéine, on parle alors de mutations de CFTR « sévères » (mutations de classe I, II et III) ou modérées (mutations de classe IV, V et VI).

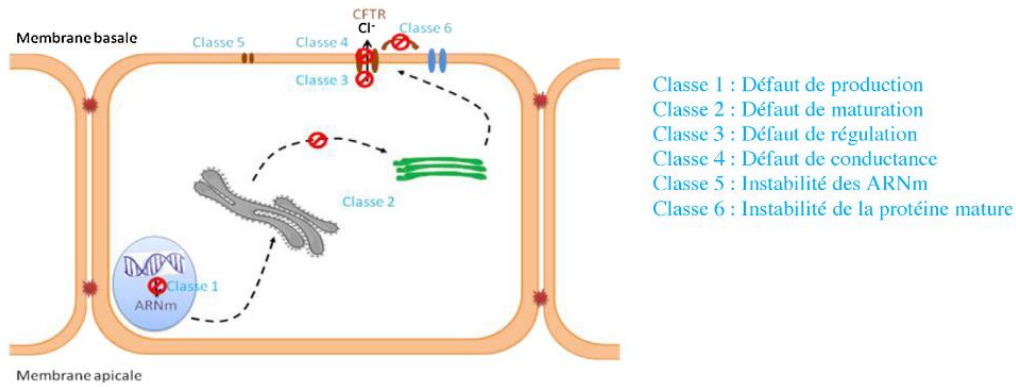


Figure 2 : Différentes classes de mutation du gène *CFTR*(17). CFTR : cystic fibrosis transmembrane conductance regulator ; ARNm : ARN messenger.

1.3.2.1.4.4. Signes cliniques

Le dysfonctionnement de la protéine CFTR conduit à un défaut d'hydratation des sécrétions et entraînent notamment des atteintes pulmonaires (bronchites récidivantes, insuffisance respiratoire), digestives (syndrome occlusif, reflux gastro-oesophagien, insuffisance pancréatique exocrine et endocrine, insuffisance hépatique), métaboliques (diabète), osseuses (démérialisation), glandulaires (excès de chlorure de sodium dans la sueur entraînant une déshydratation aiguë) et génitales.

Concernant les manifestations génitales, une infertilité peut être retrouvée chez la femme, avec plusieurs mécanismes intriqués. Le dysfonctionnement de la protéine CFTR dans l'hypothalamus pourrait aboutir à un défaut de pulsativité de l'hormone de libération des hormones gonadotropes hypophysaires (*GnRH* : gonadotrophin released hormon), une réduction de la fréquence de la pulsativité des hormones hypophysaires et donc une et une anovulation pouvant causer une infertilité. Le dysfonctionnement de la protéine CFTR dans l'épithélium cervical entraîne une altération du transport intracellaire des ions chlorure et bicarbonates, et de ce fait, une sécrétion de mucus épais qui bloque l'orifice cervical et empêche l'entrée du sperme. Dans l'endomètre cervical, ce dysfonctionnement pourrait entraîner une diminution de sécrétion de bicarbonates, réduire le volume du fluide intra-utérin et altérer la capacitation des spermatozoïdes (processus de maturation physiologique de la membrane des spermatozoïdes), étape essentielle à la poursuite de la fécondation(19).

Chez l'homme, le tableau clinique est celui d'une agénésie bilatérale des canaux déférents entraînant une azoospermie et une infertilité. Une protéine CFTR dysfonctionnelle entraînent un dysfonctionnement des voies de signalisation cellulaires dans les cellules de Sertoli, impliquant les bicarbonates, l'adénylate cyclase et l'adénosyl-monophosphate cyclique. Or ces voies permettent l'activation d'un facteur de transcription appelé CREB (*c-adenosylmonophosphate Response Element Binding protein*), impliqué dans la spermatogénèse(20). Ces voies permettent également la capacitation du spermatozoïdes(20).

1.3.2.1.4.5. Prise en charge diagnostique et thérapeutique.

Sur le plan diagnostique, le diagnostic biologique de mucoviscidose est fondé sur la mise en évidence d'une concentration sudorale de chlorure (Cl⁻) supérieure ou égale à 60 mmol/L au test de la sueur et/ou la présence de deux variants du gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*) associé à la mucoviscidose, un sur chaque chromosome parental.

Sur le plan thérapeutique, la prise en charge s'effectue par traitement symptomatique (opothérapie substitutive associée à supplémentation vitaminique, kinésithérapie respiratoire, traitement des infections, etc.) associé à une prise en charge standardisée dans des centres de ressources et de compétences pour la mucoviscidose (CRCM). Par ailleurs, actuellement des thérapies géniques ou protéiques ciblées sont développées, permettant d'envisager des thérapies personnalisées, ou encore individualisées. Selon Taylor-Cousar J.L (2020), les modulateurs de CFTR semblent améliorer le pH et la consistance du mucus cervical, et de ce fait possiblement la fertilité(21). Deux études ont rapporté un possible effet positif des thérapies ciblées sur la fertilité(22,23).

1.3.2.1.5. Infection(2)

Les agents infectieux ont pour conséquences chez l'homme, d'endommager les organes et les cellules via les médiateurs de l'inflammation, créer une obstruction ou se lier aux spermatozoïdes, et chez la femme, une maladie inflammatoire pelvienne et une obstruction tubaire. L'hydrosalpinx peut être responsable d'une diminution du potentiel d'implantation embryonnaire.

L'agent infectieux le plus fréquemment à l'origine de l'infertilité est *Chlamydia trachomatis*. Les études épidémiologiques suggèrent une association entre une infection antérieure à *Chlamydia trachomatis* et l'infertilité tant chez les hommes que chez les femmes, bien que l'influence de cette bactérie sur la fertilité masculine soit controversée(24), probablement en raison de problèmes méthodologiques dans les études rapportées (justesse des méthodes utilisées pour évaluer la qualité du sperme, pour détecter *Chlamydia trachomatis*, taille de la population étudiée, etc.).

Neisseria gonorrhoeae est un autre agent pathogène pouvant affecter la trompe de Fallope. En 2008, l'Organisation Mondiale de la Santé a estimé que l'incidence la plus élevée de la gonorrhée se situe en Occident (42 millions de cas). Après l'Occident, en termes d'incidence, l'OMS cite l'Asie du Sud-Est (25,4 millions de cas) et l'Afrique (21,1 millions de cas). La gonorrhée peut également altérer la fertilité masculine en provoquant des sténoses urétrales, phénomène qui ne semble pas important dans les pays européens(25,26).

1.3.2.1.6. Maladies systémiques(2,15)

Un certain nombre de maladies telles que le diabète non équilibré, la maladie cœliaque, les maladies auto-immunes actives et l'hypothyroïdie subclinique semblent être associées à une réduction des chances de conception. L'insuffisance rénale chronique est également connue pour son influence négative sur la fertilité.

1.3.2.1.7. Insuffisance en vitamine D.

L'insuffisance en vitamine D ne semble pas agir sur la fertilité(27,28), toutefois des concentrations ont été retrouvées basses chez des femmes ayant eu des fausses couches après 10 semaines de grossesse(27).

1.3.2.1.8. *Facteurs liés au mode de vie.*

1.3.2.1.8.1. *Fréquence des coïts*

Des rapports sexuels réguliers, deux à trois fois par semaine, commençant peu après les règles, durant la fenêtre fertile estimée à six jours, sont des déterminants importants de la survenue d'une grossesse(29,30).

1.3.2.1.8.2. *Régime alimentaire, exercice physique, obésité*

Selon R.J.Hart (2016) la restriction calorique et l'exercice excessif pourraient être associés à une réduction de la fréquence de l'ovulation, un mauvais développement de l'endomètre et une aménorrhée. Une subfertilité pourrait même être observée à des niveaux d'activité occasionnelle qui induisent des anomalies de la sécrétion d'hormones gonadotropes et des troubles ovulatoires sans induire d'aménorrhée(15).

La pratique sportive pourrait également affecter la qualité du sperme. Une revue de la littérature de Joskow P et al (2016) suggère une corrélation entre un entraînement intense, chez les sportifs de haut niveau, et le risque de survenue d'une oligo-asthéo-téatospermie, et une corrélation neutre ou inverse chez les sportifs occasionnels. Ces données sont toutefois prises avec précaution par les auteurs du fait de la variation des techniques au sein des différents laboratoires, de possibles biais notamment l'inclusion de patients potentiellement infertiles, et parfois l'absence de patients contrôles(31).

Selon l'étude de Ramlau-Hansen C.H. et al (2007) évaluant la relation entre l'indice de masse corporelle et le temps de conception supérieur à 12 mois, les femmes en surpoids ont un Odds Ratio (OR) égal à 1,27 (IC 95% = 1,18-1,36) et les femmes obèses un OR à 1,78 (IC 95% = 1,63-1,95)(32). Lors de la conception, elles présentent également un risque accru de fausses couches et sont prédisposées à une issue défavorable de la grossesse (hypertension artérielle gravidique, pré-éclampsie, complications du *post-partum*, etc.)(33). L'obésité peut affecter négativement la reproduction masculine par des mécanismes endocriniens (augmentation du tissu adipeux blanc ayant une forte activité aromatasase entraînant une conversion des androgènes en œstrogènes)(34), thermiques (du fait de l'épaisseur du tissu adipeux qui élève la température du scrotum)(34), et sexuels (dysfonction érectile, baisse de la libido, satisfaction sexuelle moindre, etc.)(34).

1.3.2.1.8.3. *Stress et fatigue(2)*

A.J Gaskin et al. (2015) ont décrit, dans une population d'infirmières, une association entre le temps de travail supérieur à 40h avec un port de charges lourdes plus de 15 fois par jour (donc potentiellement de la fatigue et du stress), et une fécondité réduite. Toutefois les auteurs ne sauraient se prononcer sur le caractère réversible lors de l'arrêt de l'exposition(35).

Chez l'homme, le stress psychologique pourrait également affecter la qualité du sperme. Une étude a montré chez des hommes réalisant une fécondation in vitro pour la première fois, une diminution des paramètres spermatiques(36). Certaines études ont souligné un impact du

stress psychologique intense sur la spermatogénèse chez des prisonniers attendant leur verdict, et sur les concentrations de testostérone, notamment dans des contextes de guerre (36–38).

1.3.2.1.8.4. *Tabagisme, alcool, drogues(2)*

Le tabagisme a un effet bien connu sur la fertilité tant chez l'homme que chez la femme. Chez la femme fumeuse de cigarettes, il a été décrit une altération de chaque stade de la fonction de la reproduction (la folliculogénèse, la stéroïdogénèse, le transport de l'embryon, la réceptivité et l'angiogénèse endométriales, le flux sanguin utérin et le myomètre utérin), du fait des composants du tabac (métaux lourds, hydrocarbures polycycliques, nitrosamines, amines aromatiques)(39). Chez les hommes, notamment ceux âgés de plus de 22 ans(40), les effets négatifs du tabagisme ont été constatés sur la production, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes(40,41), avec association à risque accru de dommages de l'ADN du sperme(42).

Chez les femmes, la consommation de cannabis pourrait entraîner des perturbations du cycle menstruel, un nombre réduit d'ovocytes récoltés lors de la fécondation *in vitro*, et être associé à un risque plus élevé de prématurité(43,44). Chez l'homme, elle pourrait si elle est consommée plusieurs fois par semaine pendant 5 ans entraîner une réduction du volume séminal éjaculé, du nombre de spermatozoïdes ainsi que des modifications de la morphologie et de la motilité avec une hyperactivité des spermatozoïdes et une réduction de leur capacité de fécondation(44,45).

Il est vrai que l'alcool est un tératogène connu et il est recommandé d'éviter sa consommation pendant la grossesse, toutefois, son effet sur la fertilité n'est pas clairement élucidé(46,47). Les mécanismes potentiels par lesquels l'alcool pourrait altérer la fertilité comprennent une augmentation des œstrogènes entraînant une diminution de la sécrétion de l'hormone folliculostimulante et une altération de l'ovulation(48).

Chez les hommes ayant une consommation modérée d'alcool, plusieurs études s'accordent à dire qu'il n'y a pas d'impact significatif de l'alcool sur le nombre de spermatozoïdes(49,50). En revanche, chez les consommateurs chroniques d'alcool, l'impact était significatif quant à l'altération de la spermatogénèse, la réduction de nombre de spermatozoïdes et de la concentration en testostérone(50,51).

1.3.2.2. *Causes d'infertilité féminine*

1.3.2.2.1. *Insuffisance ovarienne prématurée*

L'insuffisance ovarienne prématurée sera développée plus en détail dans le chapitre suivant : « A.2. Insuffisance ovarienne prématurée ».

1.3.2.2.2. *Syndrome des ovaires polykystiques*

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), décrit pour la première fois en 1935, est la cause la plus fréquente des troubles du cycle menstruel, d'infertilité féminine et d'hyperandrogénie. Selon les pays et les critères de définition employés, il toucherait 4 à 20% des femmes(52).

Contrairement à ce que son nom semble indiquer, le SOPK ne correspond pas à un excès de kystes ou de microkystes au niveau des ovaires, mais à un excès de follicules antraux, qui est observable à l'échographie. Le SOPK aurait donc dû s'appeler le syndrome des ovaires multifolliculaires, mais il en a été décidé autrement(52).

La physiopathologie du SOPK est très complexe, bien qu'une hyperandrogénie primitivement ovarienne semble être l'élément fondateur de ce syndrome. Cette hyperandrogénie induit secondairement un trouble de la folliculogénèse, caractérisé par un excès de follicules en croissance (follicules préantraux et petits follicules antraux) et une inhibition du recrutement folliculaire cyclique *Follicle Stimulating Hormone*-dépendant (appelé *follicle arrest*), qui contribuent alors à une accumulation de follicules antraux au sein du parenchyme ovarien(52,53).

Le diagnostic du SOPK repose sur l'utilisation des critères de Rotterdam (Tableau 2). Ces derniers ne sont appliqués qu'une fois que toutes les autres causes d'hyperandrogénie et/ou de troubles du cycle ont été éliminées. Le SOPK est donc fréquent, mais doit rester un diagnostic d'élimination(52).

Tableau 2. Critères de Rotterdam du syndrome des ovaires polykystiques(54)

1/ troubles des règles (spanioménorrhée, dysovulation ou troubles des règles associés à une anovulation)

2/ hyperandrogénie clinique (hirsutisme, acné...) ou biologique, établie sur :

- dosage de la testostérone libre,
- dosage de l'androsténédione et du sulfate de DHEA.

3/ aspect échographique d'ovaires polymicrokystiques (présence de 12 follicules de 2 à 9 mm de diamètre dans chaque ovaire et/ou augmentation du volume ovarien supérieur à 10 mL). Le seuil de 12 a été revu à 20 lors des recommandations de l'European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) en 2018

Deux critères sur trois sont suffisants pour retenir le diagnostic de syndrome des ovaires polymicrokystiques, après exclusion des autres étiologies d'hyperandrogénie et/ou de dysovulation.

Les éléments majeurs de la prise en charge du SOPK repose sur la prise en charge des troubles du cycle et de l'hirsutisme par contraception oestroprogestative, et la prise en charge de l'infertilité chez les patientes ayant une ovulation secondaire à un SOPK sans autre facteur d'infertilité associé : après bilan complet d'infertilité, ces patientes sont prises en charge par induction de l'ovulation par du citrate de clomiphène en première intention. Cependant, toute femme souffrant de SOPK ne doit pas être considérée comme stérile, des données indiquent même que plus de 50% d'entre elles concevraient spontanément au moins une fois au cours de leur vie(52).

1.3.2.2.3. Endométriose

1.3.2.2.3.1. Définition et épidémiologie

L'endométriase est définie par la présence de glandes et/ou de stroma endométrial en dehors de l'utérus. Lorsque les glandes et/ou le stroma endométrial se retrouvent dans le myomètre on parle d'adénomyose(55). Ces définitions sont purement histologiques et la présence de ces lésions n'est pas systématiquement à l'origine de symptômes(55). Il existe un consensus pour parler d'endométriase-maladie lorsqu'il s'y associe des douleurs et/ou une infertilité(56).

La prévalence et l'incidence de l'endométriase sont difficiles à évaluer de façon précise en population générale, leur estimation étant faussée par la nécessité d'un diagnostic chirurgical de la maladie. La prévalence de l'endométriase chez les patientes présentant des algies pelviennes chroniques varie de 2 à 74% dans 11 études, et la prévalence chez les patientes ayant des algies pelviennes chroniques serait supérieure à 33%. Une incidence annuelle autour de 0,1% a été rapportée parmi les femmes âgées de 15 à 49 ans.

1.3.2.2.3.2. Formes anatomo-cliniques

Les lésions d'endométriase prédominent dans la cavité pelvienne, elles existent aussi dans la cavité abdominale, dans le diaphragme et dans la plèvre. Les formes intra-parenchymateuses (foie, poumon, cerveau, etc.) sont exceptionnelles. Trois formes anatomo-cliniques d'endométriase pelvienne sont décrites(55):

- l'endométriase superficielle (ou péritonéale) qui désigne la présence d'implant d'endomètre ectopique localisés à la surface du péritoine ;
- l'endométriome ovarien, correspondant à un kyste de l'ovaire endométriosique, caractérisé par son contenu liquidien couleur chocolat ;
- l'endométriase pelvienne profonde (ou sous-péritonéale), caractérisé par des lésions qui s'infiltrent en profondeur à plus de 5 mm sous la surface du péritoine.

1.3.2.2.3.3. Physiopathologie

Le rôle du reflux menstruel dans la physiopathologie de l'endométriase a été retenue comme l'hypothèse la plus solide(55). Cette théorie envisage que des fragments d'endomètre viables puissent être reflusés, au moment des règles, au travers des trompes de Fallope, puis déversés dans la cavité péritonéale, où ils vont s'implanter selon le principe de la gravité (donc préférentiellement au niveau du cul de sac de Douglas), et selon des différences anatomiques facilitant l'implantation du côté gauche (ovaire gauche, sigmoïde, uretère gauche, ligament utérosacré gauche). Tous les facteurs favorisant le reflux menstruel (ménarche précoce, cycles courts, hyperménorrhée, ménorragie, etc.) augmentent le risque d'endométriase. Sur le plan moléculaire, la réponse inflammatoire (médiée par IL2, TNF, le stress oxydatif, etc.) et une biosynthèse anormale des stéroïde ont été retenus comme facteurs favorisant de l'implantation et de la croissance des lésions(55).

1.3.2.2.3.4. Endométriase et infertilité

L'endométriase n'est pas systématiquement responsable d'une infertilité, cela a bien été montré notamment dans l'endométriase superficielle et l'endométriome ovarien. L'infertilité associée à l'endométriase peut être expliquée par divers mécanismes souvent intriqués entre eux, de façon variable chez une même patiente : 1) par une inflammation du pelvis, médiée par les macrophages, la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires et angiogéniques, ce qui peut dégrader la qualité de l'interaction spermatozoïde-ovocyte ; 2) sur le plan utérin, par une activation du facteur stéroïdogénique 1 et l'aromatase, entraînant une production d'oestrogènes in situ et une résistance à la progestérone ; 3) par une extension aux ovaires avec formation de kystes et d'endométriomes, pouvant entraîner une diminution de la réserve folliculaire ; l'effet sur la qualité de l'ovocyte est controversé(55,57).

1.3.2.2.4. *Fibromes utérins et polypes endométriaux*

Les léiomyomes sont les tumeurs bénignes les plus courantes de l'appareil reproducteur féminin. Plusieurs mécanismes possibles ont été rapportés sur la façon dont les léiomyomes peuvent affecter la fertilité, tels qu'une distorsion anatomique de la cavité endométriale, une contractilité utérine anormale, un apport sanguin réduit à l'endomètre et une altération de la réceptivité endométriale(58).

Une diminution du potentiel d'implantation embryonnaire et une fausse couche précoce ont été signalés en présence de polypes endométriaux(15). Ils ont été associés à une diminution des concentrations d'IGFBP-1, de TNF-alpha et d'ostéopontine (marqueurs d'implantation) durant la phase sécrétoire. Ces marqueurs se sont avérés être inversés après polypectomie chirurgicale(59).

1.3.2.3. *Infertilité d'origine masculine*

1.3.2.3.1. *Généralités*

Les infertilités masculines sont définies par une altération des paramètres spermatiques. L'évaluation se fait en première intention par un spermogramme, recueilli par masturbation après deux à sept jours d'abstinence sexuelle, et réalisé dans un laboratoire ayant une activité de biologie de la reproduction(60). Les paramètres évalués et les anomalies sont décrits dans les tableaux 2 et 3. Si les paramètres sont normaux, un seul spermogramme peut être suffisant, mais un second peut être effectué en fonction du contexte clinique(60). En cas d'anomalies constatées sur le premier spermogramme, après avoir vérifié les conditions de recueil de celui-ci, un second spermogramme devra être effectué dans l'idéal à 2 mois et demi d'intervalle(60).

L'azoospermie est définie par l'absence de spermatozoïdes à l'examen direct et dans le culot après centrifugation à 3000g, constatée sur 2 prélèvements successifs(60). Elle est dite obstructive lorsqu'elle provient d'un obstacle sur les voies génitales, et sécrétoire lorsqu'elle provient d'un défaut de production testiculaire de spermatozoïdes(61).

Les causes d'azoospermie obstructive sont congénitales (agénésie bilatérale des canaux déférents) et acquises (obstruction épидидymaire ou des canaux déférents séquellaire des infections génitales, antécédent de vasectomie, kystes prostatiques). En cas d'agénésie bilatérale des canaux déférents il est recommandé d'effectuer une recherche de mutation du gène *CFTR*(61).

Les causes d'azoospermie sécrétoire sont centrales ou périphériques. Les causes centrales correspondent à l'hypogonadisme hypogonadotrope (les causes ont été détaillées dans le chapitre « infertilité commune aux deux sexes »). Les causes périphériques sont :

- Congénitales : cryptorchidie, anorchidie, causes génétiques (syndrome de Klinefelter (47,XXY), microdélétion de l'Y, testicule 46,XX)
- Acquises : par traumatisme testiculaire, torsion testiculaire, varicocèle(61). La varicocèle sera détaillée ci-dessous

Devant une azoospermie sécrétoire périphérique, après avoir éliminé les causes non génétiques, il est recommandé d'effectuer un caryotype et une recherche de microdélétion de l'Y par PCR(60).

L'oligoasthénotérazoospermie (OATS) est définie par une concentration en spermatozoïdes inférieure à 15 millions/ml, une mobilité progressive inférieure à 32% et des formes normales inférieurs à 4% selon les critères stricts, 23% selon les critères de David(60,62). Plusieurs auteurs qualifient l'OATS de sévère lorsque la concentration en spermatozoïdes est inférieure à 5 millions/ml(63–66). Les étiologies de l'OATS sont le style de vie (obésité, drogues, alcool), l'âge (altération des paramètres spermatiques comme cité précédemment), les cryptorchidies, les maladies systémiques, les obstructions des voies séminales et les anomalies génétiques(60).

Il est recommandé devant une OATS d'effectuer un caryotype et une recherche de microdélétion de l'Y par PCR(60).

1.3.2.3.2. Exemples de causes génétiques d'infertilité masculine

1.3.2.3.2.1. Syndrome de Klinefelter

Le syndrome de Klinefelter est l'anomalie gonosomique la plus fréquente, avec une prévalence estimée entre 1 et 2,5 pour 1000 individus mâles(67–69). Les manifestations cliniques apparaissent généralement à la puberté : gynécomastie, testicules de petite taille. Chez l'homme adulte, on observe une infertilité avec une azoospermie. Selon une étude, 11% des patients ayant une azoospermie présentent un syndrome de Klinefelter(70). Sur le plan biologique, la concentration de testostérone est basse, les concentrations de FSH et LH sont élevées(2). L'anomalie 47,XXY provient d'une non-disjonction durant l'anaphase I de la méiose chez le père (une non-disjonction en anaphase II conduisant à une anomalie 47,XXX ou 47,XYY), ou durant l'anaphase I ou II de la méiose chez la mère(70). Une étude conduite en 2009 par Yarali H. a porté sur l'efficacité de l'extraction testiculaire de sperme par biopsie testiculaire (*TESE : testicular sperm extraction*) associée à une injection intra-testiculaire de spermatozoïdes chez des patients atteints de Syndrome de Klinefelter (non-mosaïque) en comparaison avec des patients contrôles ayant une azoospermie non obstructive : les taux de fertilité étaient comparables entre les deux groupes (48% contre 54%) ainsi que les taux de grossesse (39% contre 33%), pouvant suggérer que les patients atteints de syndrome de Klinefelter ont la possibilité de devenir pères dans 1/3 des cas(71).

1.3.2.3.2.2. Microdélétion du bras long du chromosome Y.

Les microdélétions du chromosome Y représentent la deuxième cause génétique d'infertilité masculine, survenant chez 1 homme sur 4000 dans la population générale, avec une

fréquence plus élevée chez les hommes infertiles. La prévalence dans le monde varie de 2 à 10%, en France, elle est de 8,1% en 2008(72). Ces microdélétions concernent la bande Yq11 située sur le bras long du chromosome Y, au locus AZF (*azoospermia factor*), divisée en 3 régions AZFa, AZFb et AZFc. Par ordre de fréquence, les délétions d'intérêt sont les délétions AZFc (80%), AZFb (1-5%), AZFa (0,5-4%) et AZFbc (1-3%). Sur le plan phénotypique, les microdélétions AZFc conduisent à une oligospermie sévère ou une azoospermie ; les microdélétions AZFa conduisent sur à un aspect histologique d'absence de cellules de la lignée germinale (*SCOS : Sertoli cells only syndrome* – syndrome des cellules Sertoli seules), les microdélétions AZFb et AZFbc conduisent à un aspect histologique d'arrêt de maturation des cellules de la lignée spermatogénétique. Les délétions AZFa, b et bc sont toujours associées à une azoospermie(73–75).

1.3.2.3.3. Anomalies testiculaires congénitales

1.3.2.3.3.1. Anorchidie

L'anorchidie bilatérale congénitale (aussi appelée « syndrome de régression testiculaire ») est définie par l'absence totale de tissu testiculaire chez un individu de sexe masculin avec un caryotype 46,XY. Elle est secondaire à l'atrophie et la disparition durant la vie fœtale d'un testicule initialement normal. Sa prévalence est estimée entre 0,5 et 1 garçon sur 20 000. Le phénotype est variable en fonction du moment où la régression gonadique survient *in utero*. Lorsque la régression survient entre 8 et 12 semaines de grossesse, un phénotype féminin est constaté, avec ou sans ambiguïté des organes génitaux externes, une absence de gonade avec présence d'un utérus hypoplasique. Lorsque la régression survient après 12 semaines de grossesse, soit le phénotype est masculin avec une anorchidie ou des testicules hypoplasiques, soit des phénotypes intermédiaires peuvent être observés (ambiguïté sexuelle de type pseudohermaphrodisme masculin, associée à des anomalies variables de différenciation des organes génitaux internes et externes).

1.3.2.3.3.2. Cryptorchidie

La cryptorchidie correspond à l'arrêt de migration d'un ou des deux testicule(s) sur le trajet normal de migration, ce qui fait que le testicule n'arrive pas à son point final qui est le scrotum. Son incidence est estimée à 1,4 à 1,6% des enfants à la naissance tout terme confondu(76). Les causes d'infertilité liées à la cryptorchidie sont multiples : l'hyperthermie gonadique induite par la position abdominale prolongée, qui serait responsables d'anomalies de la spermatogénèse ; les anomalies congénitales des voies séminales associées à la cryptorchidie (atrésie segmentaire secondaire de l'épididyme) ; les lésions des voies séminales et la dissection des vaisseaux testiculaires dans les suites d'une orchidopexie ; des processus d'auto-immunisation anti-spermatozoïde dans le liquide séminal ; des lésions histologiques testiculaires et des anomalies spermatiques intrinsèques (fragmentation de l'ADN spermatique)(77). La cryptorchidie peut être associé à un risque de transformation maligne(76). Cet aspect ne sera pas détaillé ici.

1.3.2.3.4. Varicocèle

La varicocèle correspond à la dilatation variqueuse des veines du cordon spermatique. Son incidence est estimée à environ 11% des hommes dans la population générale et 25% des

hommes infertiles lorsqu'il existe une azoospermie(78). Le mécanisme exact par lequel la varicocèle peut causer l'infertilité n'est pas complètement élucidé à ce jour(2). Le stress oxydatif, les déséquilibres hormonaux, et la formation d'anticorps anti-spermatozoïdes pourraient jouer un rôle dans l'infertilité liée à la varicocèle(79).

2. Insuffisance ovarienne prématurée

2.1. Définition et épidémiologie

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est définie par l'association d'une aménorrhée depuis plus de 4 mois avant l'âge de 40 ans, avec un taux élevé d'hormones gonadotropes (Follicule Stimulating Hormone (FSH) supérieure à 40 UI/L) sur au moins deux prélèvements distincts faits à quelques semaines d'intervalle(80,81). Cette pathologie est aussi appelée « ménopause précoce », mais ce terme doit être évité pour deux raisons essentielles. Premièrement, l'évolution de l'insuffisance ovarienne est différente de celle de la ménopause physiologique, dans le sens où dans certains cas d'IOP, elle n'est pas définitive, contrairement à ce que les premières études pouvaient suggérer(82) ; certaines études ont rapporté une insuffisance ovarienne intermittente voire la survenue de grossesses spontanées dans le cadre d'une IOP(82–84). D'où l'utilisation courante et qui paraît plus appropriée, pour refléter cette nature réversible, du terme « insuffisance ovarienne prématurée » (comme le terme anglais *premature ovarian dysfunction* ou *premature ovarian insufficiency*(82).) Deuxièmement, l'annonce diagnostique du mot « ménopause » peut avoir un impact négatif sur le psychisme des patientes.

La moyenne d'âge de survenue de la ménopause physiologique dans les pays occidentaux est de 51 ans(80). L'âge de la ménopause est déterminé par des facteurs génétiques et modulé par des facteurs environnementaux(85,86), comme le tabac(87) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques(88). Chez 1 à 2 % des femmes, un blocage de la maturation folliculaire ou un épuisement folliculaire apparaît avant l'âge de 40 ans définissant l'insuffisance ovarienne prématurée. Il est à noter que le chiffre de 40 a été déterminé suite à des études épidémiologiques(80). La prévalence de l'IOP atteint 1/10 000 chez les femmes de moins de 20 ans, 1/1000 chez les femmes de moins de 30 ans, 1/ 200 à l'âge de 35 ans et 1% chez les femmes de moins de 40 ans(89). Cette prévalence est stable d'après les dernières études épidémiologiques réalisées en Grande-Bretagne, en Italie ou en France. Dans l'étude SWAN aux Etats-Unis, les chinoises ou les japonaises ont moins d'IOP que les caucasiennes ou les africaines avec des taux respectifs de 0,5%, 0,1%, 1% et 1,4%(80,90). En 2003, le consortium *Progretto Menopausa Italia Study group* a montré qu'il n'existait pas de corrélation entre la survenue d'une IOP et l'âge des premières règles, le niveau d'éducation ou la prise de contraception orale(80,91). Toutefois une étude plus récente en 2017, celle de Mishra et al. a identifié la ménarche précoce (apparition des premières règles avant 11 ans) et la nulliparité comme ayant un risque relatif cinq fois supérieur de développer une IOP(92,93).

2.2. Description clinique

Pour la majorité des patientes, il s'agit d'une aménorrhée qui s'installe après plusieurs années de cycles menstruels réguliers, voire même après une fertilité normale. Il n'y a pas ou peu de symptômes qui précèdent l'installation d'une IOP : quelques patientes décrivent une oligoaménorrhée ou des métrorragies. 25% des femmes ont une aménorrhée secondaire brutale, soit en post-partum, soit le plus souvent à l'arrêt de la contraception orale(80,94). L'IOP se manifeste parfois par un impubérisme avec une absence de développement mammaire et par une aménorrhée primaire, ou primo-secondaire.

Les signes cliniques sont essentiellement liés à la carence oestrogénique. Ils sont présents sous forme de bouffées de chaleur, d'une insomnie, d'une asthénie, d'une dyspareunie et de troubles de l'humeur. Leur intensité est très variable d'une patiente à l'autre. Il est à noter que l'aménorrhée primaire ne s'accompagne pas de symptômes d'hypoestrogénie. Au contraire, une castration bilatérale s'accompagne de signes intenses d'hypoestrogénie(80,95). Dans certains cas d'IOP, il existe une fluctuation de la fonction ovarienne avec reprise spontanée des cycles pour une durée variable avant l'arrêt définitif de la fonction ovarienne(80).

2.3. Physiopathologie

L'IOP peut s'expliquer par trois mécanismes : une anomalie de la formation du pool de follicules, un blocage de la maturation ou un épuisement anormalement rapide du stock folliculaire. Pour rappel, l'ovaire contient un stock d'ovocytes présent dès la vie intra-utérine. Ces ovocytes sont soumis à un phénomène d'apoptose(80,96). Le nombre maximal d'ovocytes est obtenu à 20 semaines de vie intra-utérine et il est d'environ 6 millions. A la naissance, le nombre d'ovocytes est de 1 à 2 millions ; à la puberté il y a 400 000 ovocytes. La déplétion folliculaire s'accélère vers l'âge de 37 ans et la ménopause survient lorsque le nombre de follicules est inférieur à 1000(80).

2.4. Etiologies(80,92)

2.4.1. Causes génétiques

Il existe à ce jour des anomalies chromosomiques et plus d'une soixantaine de gènes candidats décrits, impliqués dans l'IOP(97). Un gène candidat est un gène pouvant potentiellement être à l'origine d'une pathologie, par sa position dans une région chromosomique qui serait impliqué dans la pathologie, ou par l'implication de la protéine produite dans la survenue de cette pathologie(98). Dans ce chapitre, seront seulement décrits les principales altérations chromosomiques et les principaux gènes en lien avec l'IOP (tableau 3).

2.4.1.1. Dysgonosomies X

Le syndrome de Turner est l'étiologie d'IOP liée à l'X la plus fréquente. Il concerne une fille sur 2500 à 3000(99). Environ 50% d'entre elles présentent une monosomie X (45,X), 5 à 10% ont une duplication du bras long d'un chromosome X appelé isochromosome (46,X,i(Xq)), et les autres patientes présentent des caryotypes de type mosaïque (45,X/46,XX). Un taux de mosaïcisme X/XX, inférieur à 5% ne doit pas être considéré comme l'étiologie de l'IOP. La présence d'un segment de chromosome Y doit être recherchée car il est associé à un risque élevé de gonadoblastome indiquant la réalisation d'une ovariectomie bilatérale. Cliniquement, la variabilité du phénotype est importante. Dans la forme la plus caricaturale, il existe une petite

taille (<1,55m), une dysgénésie gonadique avec des ovaires en bandelettes fibreuses et un syndrome malformatif (lymphoedème, *pterygium colli*, implantation basse des cheveux, cubitus valgus, naevi, surdité, coarctation aortique, malformations rénales). A l'âge adulte, le diagnostic est posé en général dans le cadre d'un bilan de fausses couches, ou d'une infertilité primaire ou secondaire, ou d'une aménorrhée. La survenue d'une puberté spontanée est observée de façon complète chez 13% des patientes, et de façon incomplète avec uniquement un développement mammaire, chez 30%(100). Une étude récente a mis en évidence la possibilité d'une fertilité spontanée avec la survenue de grossesses spontanées chez 27 femmes porteuses d'un syndrome de Turner sur une cohorte de 480, soit 5,6%(101).

La trisomie X est relativement fréquente avec une prévalence d'environ 1/1000 nouveau-nés féminins dont seuls 10% sont diagnostiqués. Elle représente environ 3,8% des IOP(102). Le phénotype est classiquement peu marqué avec un syndrome dysmorphique (hypertélorisme, clinodactylie, hypotonie), des troubles dentaires, des malformations rénales et urogénitales, et une grande taille(103).

2.4.1.2. Anomalies de structure du chromosome X

Des études cytogénétiques ont permis d'identifier des « régions critiques » localisées sur le bras long du chromosome X, telles que POF1 et POF2, situées de la bande Xq13.3 à la bande Xq21 et de la bande Xq23 à la bande Xq27, respectivement. Une délétion isolée du bras long de l'X, située en aval de la région Xq23, n'est pas un syndrome de Turner.

Les translocations impliquées dans l'IOP sont le plus souvent des translocations X-autosome équilibrées dont 80% des points de cassure sur le chromosome X sont situés en Xq21(104). Plusieurs hypothèses ont été évoquées concernant le lien entre les translocations X-autosome et la survenue d'une IOP (105): 1) un groupe de gènes dans les régions critiques serait impliqué dans la fonction ovarienne, mais quelques gènes candidats seulement ont été retenus et Mumm et al, 2001 ont trouvé des points de cassure des translocation de l'autosome X dans des régions dépourvues de gènes (106); 2) la dynamique du chromosome X pendant la formation et le maintien des follicules ovariens pourrait être affectée. Il a été proposé que l'appariement incorrect issu des translocations pourrait affecter les points de contrôle entre les phases de méiose dans les cellules germinales et conduire à l'apoptose des ovocytes (105); 3) l'IOP par translocation X autosome serait liée à une dysrégulation de l'expression des gènes du fait du repositionnement des chromosomes, perturbant l'organisation chromatiniennne tridimensionnelle en territoires chromosomiques(105).

2.4.1.3. Anomalies géniques identifiées sur le chromosome X

2.4.1.3.1. Gènes *FMR1* et *FMR2*

Le syndrome de l'X fragile est une maladie héréditaire dominante liée à l'X, avec une pénétrance incomplète. C'est la cause la plus fréquente de retard mental héréditaire, en particulier chez le garçon, avec une prévalence de 1 pour 4000 garçons et 1 pour 8000 filles. Le gène en cause *FMR1* (*Fragile X mental ribonucleoprotein 1*) est localisé en Xq27.3 et il existe en 5' du gène de 6 à 50 répétitions d'une séquence nucléotidique CGG (cytosine-guanine-guanine). On parle de prémutation à partir de 55 à 200 triplets, qui peut s'étendre au-delà de 200 répétitions chez la génération suivante résultant en une mutation complète. La prémutation est retrouvée chez environ une femme sur 250, dont environ 15 à 24% présentent une IOP(107).

Il s'agit d'une étiologie relativement fréquente d'IOP d'origine génétique, à la fois dans les cas sporadiques avec une prévalence de 3%, et dans les cas familiaux avec une prévalence estimée à 13%(108). L'étude de Gleicher et al.(109) suggère qu'à partir de 30 triplets, le risque et la sévérité de l'IOP augmentent parallèlement au nombre de répétitions. 4 différentes classes d'allèle au locus FRAXA ont été définies (« normal » (6 à 44 répétitions), « zone grise » (45 à 54 répétitions), « prémutation » (55 à 200 répétitions) et « mutation complète » (plus de 200 répétitions). Une pathologie neurologique, appelée FXTAS (*fragile X associated tremor/ataxia syndrome*) peut être associée. Les femmes porteuses de la prémutation ont 5% de chance de concevoir spontanément, sa recherche est donc indispensable pour orienter le conseil génétique familial.

FMR2 est un gène homologue de *FMR1* localisé en Xq28, également porteur d'une séquence trinuécléotidique répétitive. Des microdélétions dans ce gène avec une fréquence de 1,5% chez les patientes IOP contre 0,04% chez les témoins ont été décrites(110).

2.4.1.3.2. Gène *BMP15*

BMP15 (*bone morphogenetic protein 15*) ou *GDF-9B* (*Growth/Differentiation Factor 9B*) est impliqué dans le développement folliculaire et la régulation des cellules de la granulosa. Les mutations du gène *BMP15* sont associées avec une IOP dans 1,5 à 15% des cas(111). La mutation p.Y235C a été la première identifiée par Persani et al. chez deux sœurs et leur père(112). La transmission est dominante, liée à l'X dans ce cas.

2.4.1.4. Etiologies génétiques d'insuffisance ovarienne syndromique.

2.4.1.4.1. Syndrome de blepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus (BPES)

Il existe deux types de BPES. Le type 1 associe une ptose de la paupière supérieure, une diminution des fentes palpébrales, un télécanthus et une IOP. Le type 2 est caractérisé par une anomalie oculaire isolée(113). Le BPES est une pathologie autosomique dominante rare, découverte dans les années 1990, qui comprend des réarrangements hétérozygotes de la région q23 du chromosome 3, altérant le facteur de transcription *forkhead FOXL2* dans 90% des cas(114). Plus de 150 mutations différentes du gène *FOXL2* ont été identifiées(115). Dans 50% des cas, la mutation est de novo ; dans 50% des cas, elle est transmise par le père.

2.4.1.4.2. Syndrome APECED

Le syndrome de polyendocrinopathie de type 1 (APS-1) ou *autoimmune polyendocrinopathy candidosis ectodermal dystrophy* (APECED) est très rare. Environ 50 mutations récessives du gène *AIRE* localisées sur le chromosome 21 ont été identifiées à ce jour. On retrouve le plus souvent deux des trois atteintes suivantes : la maladie d'Addison et/ou une hypoparathyroïdie et/ou une candidose cutanéomuqueuse chronique(113). L'IOP est retrouvée dans environ 41% des cas APECED(116).

2.4.1.4.3. Syndrome de Perrault

Il s'agit d'une pathologie rare caractérisée par une perte auditive sensorielle bilatérale et une IOP. A ce jour, six gènes de Perreault ont été identifiés(117).

2.4.1.4.4. Galactosémie

La galactose-1-phosphate uridylyltransférase (GALT) est une enzyme impliquée dans le métabolisme du galactose. Des pertes de fonction de cette enzyme induisent des troubles neurologiques, hépatiques, rénaux et un hypogonadisme hypergonadotrope chez 80-90% des filles atteintes(118). La prévalence est d'environ 1/35000 en Europe(113).

2.4.1.4.5. Ovarioleucodystrophie

Elle associe une IOP et des anomalies de la substance blanche du système nerveux central, à type de leucodystrophie(119). Une mutation du gène *eukaryotic initiation factor 2B (EIF2B)* a été identifiée(120).

2.4.1.4.6. Ophthalmoplégie progressive externe (POLG).

C'est une pathologie autosomique dominante ou récessive, fréquemment associée à une IOP avant l'âge de 35 ans ainsi qu'à un syndrome parkinsonien. Elle est caractérisée par une faiblesse des muscles oculaires et une myopathie(121)

2.4.1.4.7. Syndrome de Nimègue (NBS, Nijmegen breakage syndrome).

Il est lié à une mutation du gène *NBN/NBS1*, responsable d'une instabilité chromosomique. Il est caractérisé par une microcéphalie progressive, une dysmorphie faciale, un retard de croissance, une prédisposition aux cancers ainsi qu'une IOP(122). Chrzanowska et al. (2010) ont retrouvé une IOP chez 37 femmes présentant un NBS, homozygote pour la mutation la plus commune(123).

2.4.1.4.8. Association familiale à un désordre du développement sexuel.

Les mutations du gène *NR5A1* ou *SF1* sont responsables de désordre du développement sexuel (DSD) associés ou non à une insuffisance surrénalienne. Ces mutations ont été détectées dans quatre familles comprenant des sujets 46,XY DSD et des femmes 46,XX avec une IOP(124). Plusieurs équipes ont testé les mutations de *NR5A1* dans des cohortes de femmes avec IOP : la prévalence est d'environ 2%(125,126).

2.4.1.4.9. Syndrome de vieillissement prématuré.

Le syndrome de Bloom ou syndrome de Werner peuvent être associés avec une IOP(127). Il s'agit d'une forme adulte de progéria associant une sclérodermie, une artériosclérose prématurée, une prédisposition aux cancers et des gonades atrophiques. Des mutations du gène *LMNA* de la lamine ont été identifiées à l'origine d'un tableau similaire(128).

2.4.1.4.10. Association de l'IOP à une hyperandrogénie.

Les déficits en aromatasase par mutation du gène de l'aromatase *CYP19* sont exceptionnels. On observe chez ces patientes une aménorrhée avec des signes de virilisation, des kystes ovariens et un hypogonadisme hypergonadotrope(129).

2.4.1.4.11. Association entre IOP et insuffisance surrénalienne.

La mutation du gène codant pour la protéine *steroidogenic acute regulatory* (StAR) entraîne une pathologie autosomique récessive révélée dans l'enfance par un syndrome de perte de sel puis par un impubérisme et une aménorrhée hypergonadotrophique(130).

2.4.1.4.12. Ataxie-télangiectasie.

L'ataxie télangiectasie est une maladie autosomique récessive très rare (1 pour 100 000 enfants), associant un déficit immunitaire sévère, une ataxie cérébelleuse progressive, une dysfonction oculomotrice, une prédisposition aux cancers et des anomalies gonadiques(113).

2.4.1.5. Etiologies génétiques d'insuffisance ovarienne non syndromique.

2.4.1.5.1. Gène de l'inhibine A (INHA, Inhibin subunit alpha).

L'inhibine est une glycoprotéine hétérodimérique qui fait partie de la superfamille des TGF- β (*Transforming Growth Factor β*). Elle contient deux sous-unités β : une sous-unité α et une sous-unité β . Cette dernière peut être de deux types : la sous-unité β A qui associée avec la sous-unité α constitue l'inhibine A, et la sous-unité β B qui associée avec la sous-unité α constitue l'inhibine B. L'inhibine A, codée par le gène de l'inhibine A, exerce une action endocrine en régulant négativement la synthèse de l'hormone folliculo-stimulante par l'anté-hypophyse par inhibition de l'activine, elle a une action paracrine ovarienne, par stimulation de la synthèse d'androgènes dans les cellules de la thèque(131–133). L'association entre inhibine et IOP a été évoquée chez une patiente atteinte d'IOP et présentant une translocation responsable d'une cassure dans la sous-unité α de l'inhibine qui serait impliquée dans la régulation de la fonction ovarienne(131). Ces résultats restent controversés.

2.4.1.5.2. Gènes impliqués dans la méiose

En 2016, une étude de Hyon et al. a identifié une microdélétion hétérozygote en 15q25.2 du gène *CPEBI*, connu pour être impliqué dans la méiose ovocytaire. La mutation a été retrouvée chez 1,3% des femmes présentant des IOP sporadiques ou familiales(134). Cela reste toutefois controversé car une étude chinoise en 2020 stipule que la contribution de la délétion de *CPEBI* dans l'IOP est incertaine(135).

Plusieurs mutations du gène *STAG3* ont été découvertes en association avec une IOP. Ces résultats ont été confirmés par le modèle animal muté, chez qui le développement ovocytaire était interrompu, conduisant à une déplétion ovocytaire(136).

Une mutation du gène *HFMI*, impliquée dans la recombinaison homologue des chromosomes, a été découverte associée à une IOP avec transmission autosomique récessive chez deux sœurs chinoises et non retrouvée chez les 316 contrôles(137).

Des mutations hétérozygotes du gène *MSH5* ont été décrites, entraînant un déclin de la fonction ovarienne et conduisant à une IOP(138). *MCM8* et *MCM9* ont également été associés à des cas d'hypogonadismes hypergonadotropes(139).

2.4.1.5.3. *CYP11A1* et *CYP17A1*.

Des déficits enzymatiques, bien qu'exceptionnels, en cholestérol desmolase (par mutation du gène *CYP11A1* - *cytochrome P450 family 11 subfamily A*)(140), 17 α -hydroxylase et 17-20 desmolase (par mutation du gène *CYP17A1* - *cytochrome P450 family 17 subfamily A*)(141) peuvent être à l'origine d'IOP avec absence de développement pubertaire et aménorrhée. La fertilité peut être restaurée en cas de présence de follicules au niveau ovarien et de l'ajout de gonadotrophines exogènes(80).

2.4.1.5.4. Gène de l'hormone thyroïdostimulante (*TSH*, *thyroid-stimulating hormone*).

Quelques mutations récessives inactivatrices du gène de la TSH ont été décrites, se traduisant par une IOP avec blocage de la folliculogénèse. La première mutation par substitution p.A189V a été décrite en Finlande, entraînant une aménorrhée primaire, un hypogonadisme hypergonadotrope et des ovaires hypoplasiques. Les formes partielles sont caractérisées par une aménorrhée secondaire ainsi qu'une IOP(142).

2.4.1.5.5. Autres gènes

Le gène *newborn ovary homeobox (NOBOX)* est le plus souvent associé à une IOP non syndromique (6-9% des cas). Il code un facteur de transcription impliqué dans la régulation de la folliculogénèse(143). Chez la souris invalidée pour ce gène, il existe une infertilité due à une perte ovocytaire accélérée et un blocage dans la maturation folliculaire(144)

Le gène *GDF9* code la protéine *Growth différenciation factor 9*, un facteur de transcription de la famille des transforming growth factors β fortement exprimé dans l'ovocyte. D'après les modèles animaux, l'activité de GDF9 est cruciale pour la folliculogénèse(145). Chez la femme, les variants décrits sont présents avec une prévalence de 1,4%(146).

Tableau 3 : Etiologies génétiques de l'insuffisance ovarienne prématurée (d'après(92))^a.

Chromosome	Syndrome	Caryotype/Gènes impliqués	Articles	Fréquence
Chromosome X	Syndrome de Turner	45,X	Sybert et al.,2004 Bucerzan et al.,2017	1/2500-1/3000

		Isochromosome X : 46,X,i(Xq) 45,X/46,XX – 45,X/46,XY 45,X/46,XX/47,XXX 45,X/47,XXX 46,X,Xp/46,X,Xq		
	Syndrome de l’X Fragile	<i>FMR1,FMR2</i>	Hoyos et al., 2017 Murray et al., 1999	1/4000 garçons 1/4000 filles
	Triple X	47,XXX	Goswami et al., 2003	1/1000
	Délétion du chromosome X	<i>POF1/POF2</i>	Rossetti et al., 2017	
	Translocation X-autosome		Rizzolio et al., 2006	
	Gène impliqué dans la folliculogénèse situé sur le chromosome X	<i>BMP15</i>	Persani et al., 2010	<10 cas
Autosomes	<u>Formes syndromiques</u>			
	Syndrome BPES	<i>FOXL2</i>	Crisponi et al., 2001	<1/25 000
	Syndrome APECED	<i>AIRE</i>	Reato et al., 2011	1 à 9/1 000 000
	Syndrome de Perrault		Lerat et al., 2016	<1/1 000 000
	Galactosémie	<i>GALT</i>	Rubio-Gozalbo et al, 2010	1/40 000-1/60 000
	Ovarioleucodystrophie	<i>EIF2B</i>	Fogli et al., 2003	<1/1 000 000
	Ophthalmoplégie progressive externe	<i>POLG</i>	Luoma et al., 2004	
	Syndrome de Nimègue	<i>NBN/NBS1</i>	Chrzanowska et al., 2010	1/3000 à 1/5000
	Désordre du développement sexuel	<i>NR5A1/SF-1</i>	Lourenço et al., 2009	<1/1 000 000
	Syndrome de vieillissement prématuré	<i>LMNA</i>	McPherson et al., 2009	<1/1 000 000
	Déficit en aromatasase	<i>CYP19A1</i>	Belgorosky et al., 2009	
	Insuffisance surrénalienne	<i>CYP17A1</i>	King et al., 2011	
	<u>Formes non syndromiques</u>			
	Gènes impliqués dans la méiose	<i>CEBP1(?)</i> <i>STAG3</i> <i>MSH5</i> <i>HFM1</i> <i>MCM8/MCM9</i>	Hyon et al., 2016 Jiao et al., 2020 Caburet et al., 2014 Mandon-Pépin et al., 2008 Wand et al., 2014 Tenenbaum-Rakover et al., 2015	
	Gènes impliqués dans la folliculogénèse	<i>NOBOX</i> <i>GDF9</i> <i>FSHR</i> <i>TGF-β</i>	Bouilly et al., 2016 Shimasaki et al., 2004 Aittomäki et al., 1995 Chand et al., 2010	<10 cas <10 cas
BPES : blepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus syndrome APECED : autoimmune polyendocrinopathy candidosis ectodermal dystrophy. ^a Ces gènes représentent les gènes majoritaires. La liste n’est pas exhaustive.				

2.4.2. Causes non génétiques

2.4.2.1. Causes iatrogènes

La chimiothérapie induit une altération de la fonction ovarienne, réversible ou définitive, entraînant une déplétion du pool de follicules primordiaux(147). Les effets gonadotoxiques dépendent de la classe thérapeutique utilisée, de la dose, de la durée du traitement, du type de cancer mais aussi de l'âge de la patiente(148). Les agents alkylants, hautement gonadotoxiques, sont notamment utilisés dans le traitement des lymphomes de Hodgkin et associés à un risque d'IOP de 60% contre seulement 3% en cas de chimiothérapie sans agent alkylant(149). Dans sa méta-analyse, Overbeek relève un taux d'aménorrhée après traitement du cancer du sein par cyclophosphamide, d'environ 40 à 80%(148) bien que la définition d'aménorrhée soit variable selon les études (de 3 mois à 6 mois sans cycle).

L'irradiation corporelle totale, de l'axe craniospinal, de l'abdomen ou du pelvis expose potentiellement les ovaires aux radiations et peut entraîner une IOP par augmentation de l'atrésie des follicules primordiaux. L'apoptose d'environ la moitié des follicules est observée dès de faibles doses, de l'ordre de 2 Gray(150). Une dose d'irradiation de 16,5 Gy à l'âge de 20 ans entraînerait une IOP pour 97,5% des patientes(151).

L'ovariectomie unilatérale est associée à un risque multiplié par six de présenter une IOP et une avance de l'âge de la ménopause de sept ans environ(152). Dans le syndrome des ovaires polykystiques, on peut recourir au *drilling* ovarien qui permet une diminution de l'AMH par destruction d'une partie des follicules pré-antraux(153). Quelques cas d'IOP ont été rapportés après *drilling*, surtout avant la limitation du nombre d'impact de laser administré aux ovaires(154). Dans le traitement des endométrïomes, on observe un risque de lésion du parenchyme ovarien adjacent en cas de kystectomie et un risque de lésion thermique du cortex ovarien sous-jacent par l'énergie utilisée lors de l'électrocoagulation(155). La chirurgie bilatérale des ovaires pour endométrïomes entraîne une diminution du taux d'AMH d'environ 18% pour un endométrïome de moins de 5cm, et de 14 à 24% si l'endométrïome mesure plus de 5 cm selon la technique utilisée(156). Elle augmente de manière très significative de risque d'IOP.

2.4.2.2. Causes environnementales

Des contaminants environnementaux, reconnus comme perturbateurs endocriniens, peuvent entraîner une baisse de la réserve ovarienne. Les pathologies fréquemment associées sont les pubertés précoces, le syndrome des ovaires polykystiques et l'IOP(157). Les phtalates sont des composés chimiques dérivés d'acide phtalique comprenant un noyau benzénique et deux groupements ester (158); ils sont utilisés dans les matières plastiques de type chlorure de polyvinyle (PVC)(159) et exerceraient une toxicité gonadique(160). Une étude réalisée par Grindler et al. a analysé 111 perturbateurs endocriniens et met en évidence une avancée de l'âge de la ménopause de 1,9 à 3,8 ans chez les patientes exposées à de plus fortes doses de ces agents, ainsi qu'un risque d'IOP multiplié par six(161). Parmi les polluants, une étude a montré que les coiffeuses manipulant les colorants, alors qu'elles n'utilisent pas de gants, ont un risque multiplié par deux d'IOP(162). De plus, il a été montré qu'une exposition *in utero* au distilbène ou diéthylstilbestrol augmente le risque d'IOP(163). Ce produit n'est plus utilisé chez des femmes en âge de procréer sans contraception efficace.

2.4.2.3. Causes auto-immunes

L'IOP peut être une manifestation auto-immune isolée ou associée à des pathologies auto-immunes non endocrines telles que la maladie de Crohn, la myasthénie, ou le lupus. Elle s'associe également à des pathologies auto-immunes endocrines comme la maladie de Basedow, la maladie d'Addison, le diabète de type 1 ou encore les syndromes polyendocriniens auto-immuns. Selon les études, sa prévalence serait de 4 à 30% ; son mécanisme exact est toujours mal connu. On retrouve la présence d'anticorps anti-ovaires dans 3-66% des cas d'IOP(164), mais leur dosage n'est pas recommandé(165).

La maladie d'Addison est une pathologie rare de cause auto-immune. Une étude a été menée en 2006 chez 258 patients ayant une insuffisance surrénalienne sur trois aspects. Le premier aspect était la prévalence de l'IOP qui était de 52 sur 258 soit 20,2%. Le deuxième aspect était la mesure d'anticorps *steroid-cell antibodies* (StCA) qui a été effectué chez 241 patientes (43 patientes avec IOP et 198 sans IOP) ; ces anticorps étaient positifs chez 81 patientes (31 des 43 patientes avec IOP soit 72% contre 50 des 198 patientes sans IOP, soit 25%) (116). Le troisième aspect repose sur le fait que les StCA ciblent certaines enzymes comme la 17 α -hydroxylase, la P450scc et la 21-hydroxylase(166) et peuvent interagir au niveau de la production des stéroïdes. Une mesure des trois anticorps (StCA, anti-17 α -hydroxylase et anti-P450scc) a été effectuée chez 159 patientes avec insuffisance surrénalienne (31 avec IOP, 128 sans IOP). On retrouve au moins un des anticorps positifs parmi les StCA, anti-17 α -hydroxyprogestérone et anti-P450scc, chez 28 des 31 patients avec IOP (90%) contre 50 des 128 patientes sans IOP (39%). Cette étude a donc montré une forte association entre maladie d'Addison auto-immune et IOP. Par ailleurs, les cas d'IOP sont associés à une prévalence accrue de maladie d'Addison estimée de 2 à 10% contre 1 sur 10 000 dans la population générale(166).

2.4.2.4. Syndromes polyendocriniens et IOP

Le syndrome polyendocrinien de type 1 ou APECED a été préalablement détaillé dans la section génétique. Il existe d'autres sous-types de polyendocrinopathie (Tableau 4). Le plus fréquent est le type 2 ou syndrome de Schmidt. Les anticorps StCA sont également présents, leur prévalence est de 60% dans l'APS de type I et de 25-40% dans l'APS de type II(167).

2.4.2.5. Causes virales(92)

Très peu de données sont disponibles sur le lien de causalité entre infection virale et IOP, et notamment aucune étude récente n'a été réalisée précisément sur ce sujet. Les oreillons pourraient être à l'origine de quelques rares cas d'ovarites post-infectieuses, par lésions folliculaires induisant la synthèse d'anticorps anti-ovaires à l'origine d'une ovarite chez 2 à 8% des femmes.

Tableau 4. Caractéristiques des syndromes polyendocriniens auto-immuns (d'après (168)).

Type	Manifestations syndromiques
APS de type I (APECED)	Candidose chronique Hypoparathyroïdie Insuffisance surrénalienne auto-immune <i>(au moins deux parmi ces critères doivent être présents)</i>
APS de type II (syndrome de Schmidt)	Insuffisance surrénalienne auto-immune (doit toujours être présente) + dysthyroïdie auto-immune et/ou diabète de type I
APS de type III	Dysthyroïdie auto-immune + autre pathologie auto-immune (sauf insuffisance surrénalienne auto-immune, hypoparathyroïdie, candidose chronique)
APS de type IV	Au moins deux pathologies auto-immunes spécifiques d'organes n'entrant pas dans les 3 catégories précédentes
APS : autoimmune polyendocrine syndrome	

3. Fausses couches spontanées précoces à répétition.

3.1. Définitions

La fausse couche spontanée précoce est définie par la perte d'une grossesse clinique avant 20 semaines d'âge gestationnel (ou 18 semaines d'aménorrhée), ou si l'âge gestationnel est inconnu, perte d'un embryon ou d'un fœtus de poids inférieur à 400 grammes(169).

C'est un événement relativement fréquent, qui concerne 15-20% des grossesses et augmente en prévalence avec l'âge maternel(170,171). Le risque est entre 9 et 12% chez les femmes âgées de moins de 35 ans, mais augmente jusque 50% chez les femmes de plus de 40 ans(171).

Différentes nomenclatures sont utilisées par différentes sociétés(172,173).

Les fausses couches sont classées en fausses couches embryonnaires quand elles surviennent avant 10 semaines d'âge gestationnel (8SA) et fausses couches fœtales lorsqu'elles surviennent au-delà, car les facteurs associés à chaque entité peuvent différer(172,173).

La définition de fausses couches spontanées (FCS) précoces à répétition a été longtemps débattue et diffère en fonction des sociétés savantes internationales. Pour la Société Européenne de Reproduction et Embryologie Humaine (ESHRE)(172,174) et le Collège Royal des Obstétriciens et Gynécologues(175), les fausses couches précoces à répétition correspondent à trois FCS consécutives. Néanmoins selon la société Américaine de la Médecine de la Reproduction (ASRM)(170), la définition est un nombre de fausses couches spontanées cliniques supérieur ou égal à deux (documentées par échographie ou examen anatomopathologique), mais les fausses couches ne sont pas nécessairement consécutives.

Les fausses couches spontanées précoces à répétition concernent 2 à 5% des couples(170,175). Elles sont dites primaires lorsqu'elles ont lieu chez une femme sans enfants viables, secondaires lorsqu'elles surviennent chez une femme ayant déjà eu une grossesse au-delà de 20 semaines de grossesse (18 SA), tertiaires lorsqu'il s'agit de fausses couches multiples parmi les grossesses normales(172,173).

3.2. Etiologies

3.2.1. Etiologies communément établies

3.2.1.1. Causes utérines

Des anomalies ont été rapportées dans 19% des femmes avec FCS précoces à répétition(176) et sont acquises ou congénitales.

Les causes acquises sont représentées par les adhésions intra-utérines (synéchies), les myomes, les polypes endométriaux.

Les synéchies surviennent aux endroits dans lesquels la couche basale endométriale a été détruite, le plus souvent après un curetage, une chirurgie ou une infection utérine, ou une naissance difficile(177). La fréquence et la sévérité des adhésions augmente avec le nombre de curetages(178). Des études ont montré que l'adhésiolyse diminue significativement le taux de fausses couches, de ce fait elle constitue le traitement préférentiel pour les femmes ayant eu des FCS précoces à répétition. Toutefois, à ce jour il n'existe pas de consensus sur les méthodes chirurgicales utilisées pour empêcher la récurrence, ni sur le traitement hormonal utilisé pour la régénération de l'endomètre(177).

Les myomes sont classés selon leur position dans l'utérus (sous-muqueux, intramuraux ou sous-séreux)(179) et causent des FCS à répétition via des fonctions mécaniques et moléculaires(180)(Figure 3).

Les polypes endométriaux sont des tumeurs bénignes au sein de la muqueuse endométriale. Ils sont constitués d'un axe stromal entouré par un épithélium cylindrique contenant des quantités variables de glandes et de vaisseaux sanguins. Les polypes peuvent se présenter sous la forme d'une excroissance unique ou multiple, sous la forme sessile ou pédonculée, avec des dimensions et des couleurs variables selon le degré de vascularisation(181). La prévalence des polypes de l'endomètre varie de 7,8 à 34,9% selon la définition d'un polype, la méthode de diagnostic étudiée, la population étudiée, et semble augmenter avec l'âge(181–184). Dans le cadre de fausses couches à répétition les polypes endométriaux représentent 2 à 3%(185,186). Les polypes endométriaux peuvent être découverts de manière fortuite ou associés à des symptômes cliniques notamment saignements vaginaux anormaux et infertilité(181). Ils doivent être pris en charge chirurgicalement par résection sous hystéroscopie(186).

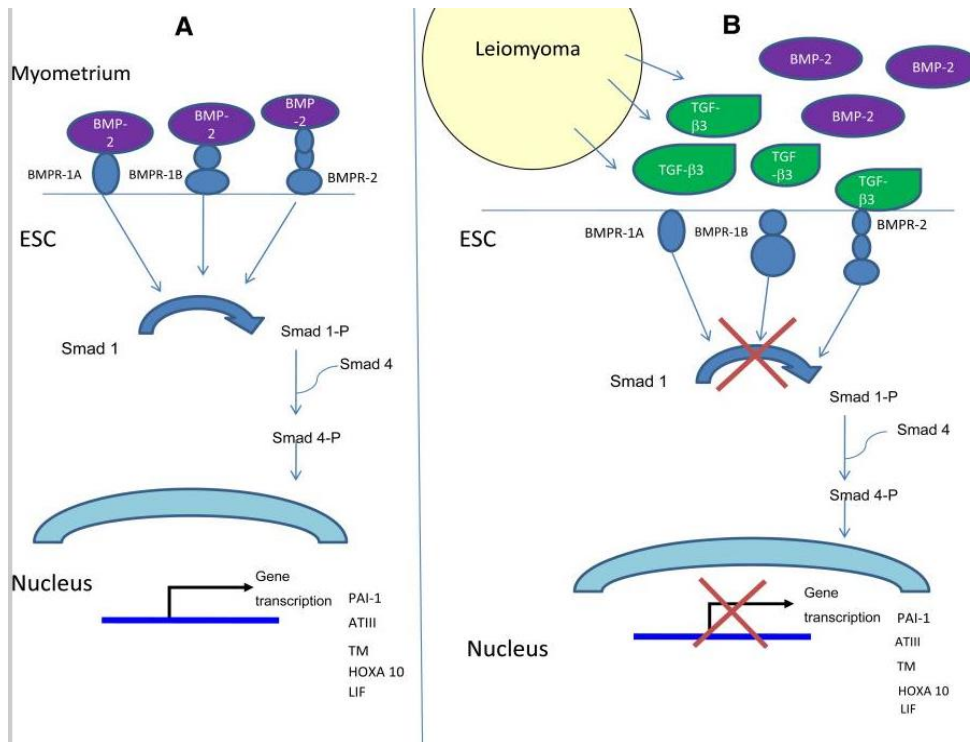


Figure 3. Représentation schématique des effets de TGF-β3 sur la décidalisation et l'hémostase. D'après (93).

Dans un utérus normal, les cellules stromales de l'endomètre sont sensibles à la stimulation de BMP-2 (*bone morphologic protein 2*), ce qui permet la décidalisation de l'endomètre. Pour permettre un flux menstruel normal, elles sécrètent également des protéines inhibitrices de la cascade de coagulation ; il s'agit de l'antithrombine III (ATIII, inhibitrice de la thrombine) , la thrombomoduline (TM, récepteur cellulaire qui catalyse l'activation de la protéine C par la thrombine, et donc l'inhibition des facteurs Va et VIIIa) et du PAI-1 (inhibiteur de l'activateur du plasminogène) qui régule l'activité de l'u-PA (activateur du plasminogène de type urokinase), agent fibrinolytique exprimé dans le tissu endométrial et en particulier fortement exprimé lors des phases prémenstruelle et menstruelle. Dans le cas du léiomyome, le TGF-β3 produit en excès se fixe sur le récepteur du BMP-2, entraînant une résistance au BMP-2 et une décidalisation anormale. De plus cet excès entraîne une baisse de production du PAI-1, de l'ATIII et de la TM, ce qui aboutit à des troubles de l'hémostase.

Les anomalies congénitales résultent d'un développement anormal des canaux de Müller, survenant entre la 8^{ème} et la 17^{ème} semaine de grossesse, et incluent l'agénésie müllérienne (absence d'utérus) et des utérus septés ou arqués, unicornes, bicornes, didelphiques.(187)(Figure 4). Ces anomalies représentent 8,4 à 12,6% des FCS à répétition (six à huit fois supérieur à la population générale)(187,188). Deux classifications sont les plus utilisées pour décrire ces anomalies : ce sont la classification de la Société Américaine de Fertilité/Société Américaine de la Médecine de la Reproduction(189), et celle de la Société Européenne de Reproduction humaine et Embryologie/Société européenne d'Endoscopie Gynécologique(190).

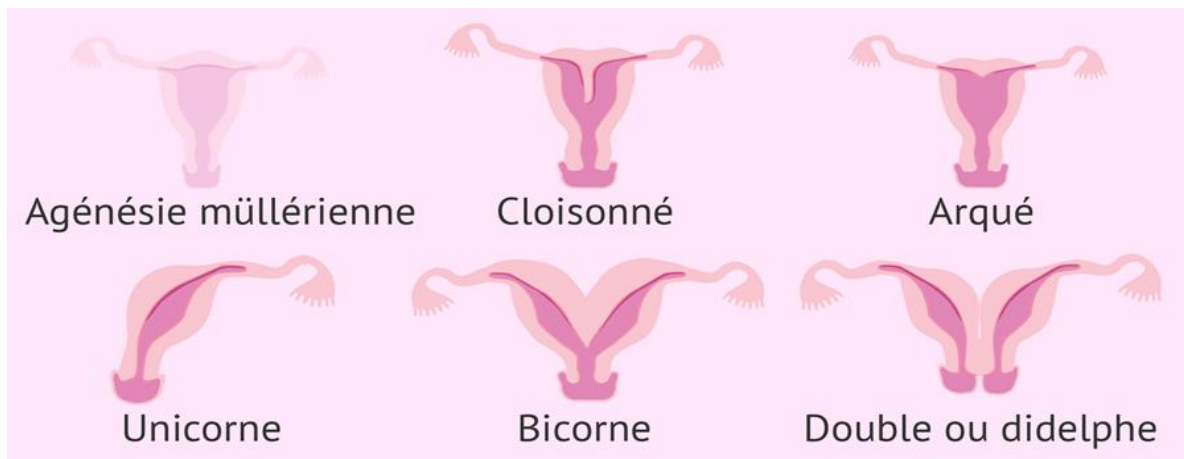


Figure 4. Anomalies congénitales de l'utérus, d'après (191).

- En haut à gauche : **l'agénésie müllérienne**, définie par l'absence d'utérus du fait de l'absence de développement des canaux de müller. On l'appelle également syndrome de *Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser*.
- En haut au milieu : **l'utérus cloisonné** (malformation la plus fréquente, avec une prévalence de 55%), dû à un défaut de résorption de la cloison centrale séparant les canaux de Müller. La cavité utérine est alors séparée par une paroi qui peut aller jusqu'à la moitié du col de l'utérus (septum partiel), voire jusqu'au col de l'utérus (septum complet).
- En haut à droite : **l'utérus arqué**, par altération de la fusion latérale des canaux de Müller
- En bas à gauche : **l'utérus unicorne**, du fait du développement d'un seul canal de Müller, l'utérus atteint la moitié de sa taille normale et a seulement une trompe de Fallope
- En bas au milieu : l'utérus bicorne, du fait de la fusion incomplète des canaux de Müller. Le résultat est un utérus en forme de cœur en raison de la fente qui se forme dans la partie supérieure et peut ne s'étendre que dans l'utérus (bicorne partiel) ou atteindre l'ouverture cervicale interne ou externe (bicorne complet). Seul l'utérus bicorne complet est représenté ici.
- En bas à droite : **l'utérus double ou didelphe**, du fait que les canaux de Müller se développent mais ne fusionnent pas. Deux sous-types possibles : bicervical (chaque cavité utérine a son propre col de l'utérus et son propre vagin) et univercal (les deux cavités utérines communiquent entre elles sur le col de l'utérus et il n'y a qu'un seul vagin). Seul l'utérus didelphe bicervical est représenté ici.

3.2.1.2. Syndrome des antiphospholipides

Il est caractérisé par l'association de manifestations cliniques thrombotiques (thromboses veineuses, artérielles, manifestations obstétricales, livedo, endocardite aseptique, thrombopénie...) et la présence persistante, à 12 semaines d'intervalle d'anticorps antiphospholipides (aPL), c'est un syndrome qui est depuis très longtemps associé aux fausses couches à répétition. Des critères clinico-biologiques ont été élaborés par un consensus international pour définir le syndrome des antiphospholipides (Tableau 5)(192,193). La prévalence de ce syndrome dans les fausses couches à répétition varie de 5 à 20%(194–196). Cette variabilité est probablement due à l'utilisation d'analyses non standardisées spécifique à chaque laboratoire. Toutefois, celles les plus couramment utilisées pour le diagnostic de SAPL sont la recherche de lupus anticoagulant, d'anticorps anticardiolipine et d'anticorps anti- β 2-glycoprotéine I(192,196). Le SAPL est qualifié de primaire chez les patients n'ayant pas de pathologie sous-jacente, de secondaire lorsqu'il est associé à un lupus systémique ou une autre maladie auto-immune systémique(193). Les anticorps antiphospholipides sont aussi associés à d'autres complications obstétricales telles que la prééclampsie, le retard de croissance intra utérin et la prématurité(192), et plusieurs mécanismes ont été décrits. Les anticorps

antiphospholipides sont dirigés contre les trophoblastes et entraînent une prolifération trophoblastique anormale et une sécrétion inappropriée de gonadotrophine chorionique humaine et de facteurs de croissance(197), une induction de l'apoptose du syncytiotrophoblaste(198), une réponse inflammatoire via l'activation du complément au niveau de la barrière foeto-maternelle(199). Ces anticorps sont également dirigés contre l'endothélium vasculaire et entraînent une formation anormale d'artères spirales(198). Bien que les trois types d'anticorps soient associés aux fausses couches spontanées à répétition et aux complications obstétricales, des études ont décrit que le risque et la sévérité varient selon les types et les associations d'anticorps. La recherche des anticorps antiphospholipides fait partie du bilan initial de fausses couches spontanées à répétition(170,175).

Tableau 5. Critères diagnostiques du syndrome des antiphospholipides (critères révisés de 2004)(193).

Le diagnostic de SAPL est défini si au moins un critère clinique et un critère biologique sont présents	
Critères cliniques	
Thrombose vasculaire	Au moins un épisode thrombotique artériel, veineux ou des petits vaisseaux, touchant tout tissu ou organe. La thrombose doit être confirmé par un critère objectif et validé (aspect typique à l'imagerie ou, pour l'examen anatomopathologique, la thrombose doit être présente sans qu'il y ait présence d'une inflammation vasculaire sous-jacente
Morbidité obstétricale	<ul style="list-style-type: none"> a. Survenue d'au moins une mort fœtale inexpliquée, après la 10^{ème} semaine d'aménorrhée, avec morphologie fœtale normale documentée par une échographie ou par examen macroscopique ; b. Survenue d'au moins une naissance prématurée avant la 34^{ème} semaine de grossesse, d'un fœtus morphologiquement normal, en rapport avec la survenue d'une éclampsie ou d'une prééclampsie sévère, ou avec démonstration d'une insuffisance placentaire c. Survenue d'au moins 3 fausses couches consécutives et inexpliquées avant la 10^{ème} semaine d'aménorrhée, après exclusion d'une anomalie anatomique ou hormonale maternelle, et d'une anomalie chromosomique maternelle ou paternelle.
Critères biologiques	
Lupus anticoagulant	Présent à au moins deux reprises, à 12 semaines d'intervalle, détection selon les recommandations de l'ISTH (International Society of Thrombosis and Haemostasis).
Anticorps anticardiopines (IgG et/ou IgM)	Présents à au moins deux reprises, à un titre intermédiaire ou élevé (>40 UGPL ou MPL, ou 99 ^{ème} percentile), mesuré par une technique ELISA standardisée.
Anticorps anti-bêta 2 glycoprotéine 1 (IgG ou IgM)	Présents à un titre supérieur au 99 ^{ème} percentile, à au moins deux reprises, à 12 semaines d'intervalle selon une technique ELISA standardisée.

3.2.1.3. Facteurs endocriniens

L'hypoprolactinémie est associée à l'infertilité et aux avortements spontanés, du fait de l'altération de l'axe hypothalamo-pituitaire-ovarien, ce qui aboutit à une folliculogénèse inefficace et à une anovulation(200). Le traitement de la cause sous-jacente restaure une fertilité normale.

Les dysthyroïdies, notamment l'hypothyroïdie, sont associées à l'infertilité, une fin de grossesse défavorable, et des fausses couches précoces à répétition(201). L'hypothyroïdie franche est facilement diagnostiquée et traitée. Cependant, les données sont conflictuelles concernant l'association entre l'hypothyroïdie subclinique et les avortements spontanés(201–203).

Le syndrome des ovaires polykystiques est associé à un risque élevé de fausses couches(204). Plusieurs mécanismes sont probablement impliqués, notamment la résistance à l'insuline et l'hyperinsulinémie, l'hyperandrogénémie, l'augmentation de l'activité de du PAI-1 (inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1)(204).

3.2.1.4. Facteurs environnementaux et psychologiques

Plusieurs facteurs environnementaux ont été associés à un risque élevé de fausses couches : l'obésité ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$)(205,206), le tabagisme(207), la consommation excessive de café ($> 300 \text{ mg/jour}$, ou l'équivalent de deux tasses)(207,208), la prise excessive d'alcool(207,208), et la consommation de cocaïne(209). La consommation légère à modérée d'alcool n'est pas associée à un risque élevé de fausses couches(210).

Les fausses couches peuvent avoir un impact psychologique significatif dans la vie personnelle et professionnelle des couples concernés. Il peut s'agir de la dépression, de la sensation de culpabilité, de l'anxiété, de la colère envers le conjoint, les amis, le médecin traitant(211). En ce qui concerne l'hypothèse d'une étiologie psychologique aux fausses couches, plusieurs études ont montré une association possible, mais difficile à prouver du fait de la présence de facteurs confondants. Une étude a montré que parmi les paramètres psychologiques mesurés, seule la dépression pouvait influencer de manière significative le risque de fausse couche précoce(212).

3.2.1.5. Facteurs génétiques

Les anomalies chromosomiques représentent entre 50 et 60% des fausses couches précoces. Elles peuvent être d'origine parentale, ou peuvent survenir *de novo* chez l'embryon avec des caryotypes normaux chez les parents(213,214).

Les anomalies les plus fréquemment retrouvées chez le couple sont les translocations équilibrées, retrouvées dans 2 à 4% des cas de fausses couches à répétition, comparées à 0,7% dans la population générale. Elles peuvent être réciproques (environ 60%), impliquant l'échange de deux segments chromosomiques l'un envers l'autre, ou robertsoniennes (environ 40%), qui se produisent entre deux chromosomes acrocentriques (13, 14, 15, 21 et 22) ce qui aboutit à un chromosome ayant deux bras longs et un centromère(215,216). Selon une étude menée en 1990 par M.De Braekeleer and T.-N.Dao, sur 33 442 individus, une analyse statistique de la distribution des bras des chromosomes a montré que les segments

préférentiellement impliqués étaient 2p, 5q, 7p, 7q, 12q, 13q, 17q, 18p et 22q, et les translocation robertsoniennes les plus fréquentes étaient les t(13;14)(64,3%) et les t(14;21)(7,7%)(215). Les inversions péricentriques et paracentriques sont plus rares mais peuvent également être associés à un risque élevé de fausses couches à répétition. Selon la même étude, presque tous les chromosomes étaient impliqués dans les inversions péricentriques (sauf les chromosomes 18, 21 et 22), et l'analyse statistique avait montré que les chromosomes 2, 5, 7 et 10 étaient plus impliqués que prévu, alors que les inversions péricentriques conduisant à la naissance d'un enfant avec malformations étaient rarement reportés(215). Selon une étude en 2019 de Nonaka T. et al, l'inversion péricentrique du chromosome 9 n'a pas d'influence sur le risque de fausses couches à répétition(217). Les inversions paracentriques selon M. De Braekeleer et T.-N. Dao impliquaient les segments 1p,3q,5q,7p,7q,11q,13q et 14q(215).

Les translocations équilibrées peuvent être détectées en effectuant un caryotype sur sang périphérique des parents ; les parents porteurs de ces translocations sont généralement asymptomatiques. Un caryotype sur produits de conception peut être également effectué : il peut être entièrement normal ou montrer une translocation équilibrée ou déséquilibrée. Les grossesses avec translocations déséquilibrées aboutissent généralement à une fausse couche (ce qui est souvent vu comme un mécanisme de sélection naturelle), mais peut également aboutir à un accouchement d'un enfant mort-né ou des naissances vivantes avec malformations congénitales(213–216). Il est difficile d'estimer le pourcentage de chaque possibilité car les caryotypes sur produits de fausses couches ne sont pas effectués en routine, mais des études ont estimé la fréquence des translocations équilibrées entre 25 et 39%(218,219). Aussi, les données de biopsies embryonnaires ont montré 25% de caryotypes normaux, confirmant le niveau élevé d'anomalies chromosomiques chez ces embryons(220). Globalement, malgré le risque élevé de fausses couches, la plupart des couples avec translocations équilibrées obtiennent des naissances vivantes normales(219).

Les aneuploïdies embryonnaires sont les causes les plus fréquentes de fausses couches précoces ; jusque 90% des embryons chromosomiquement anormaux peuvent être avortés spontanément. Les aneuploïdies retrouvées sont notamment les trisomies, les polyploïdies, la monosomie X. Le risque d'aneuploïdie augmente significativement avec l'âge maternel(170,171,213). La plupart des cas étant des erreurs survenant de novo, le risque d'aneuploïdie embryonnaire au cours d'une grossesse est faible, et plus le nombre d'avortements spontanés est élevé, moins il est probable qu'ils soient dus à des anomalies chromosomiques de novo(221). L'incidence des anomalies chromosomiques embryonnaires est ainsi plus faible chez une femme avec FCS à répétition que chez une femme avec FCS sporadique(222).

3.2.2. *Etiologies controversées*

3.2.2.1. *Thrombophilies congénitales*

Les thrombophilies congénitales résultent d'altérations génétiques d'une protéine fonctionnelle dans la cascade de coagulation, et elles augmentent le risque de maladie thromboembolique veineuse. Ces altérations incluent la mutation du facteur V Leiden, la mutation du gène de la prothrombine (G20210A), les déficiences en protéines C et S, et la mutation de la méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR)(223). La recherche de thrombophilie congénitale est recommandé chez une femme enceinte avec une histoire de

maladie thrombo-embolique veineuse, mais l'association avec les fausses couches à répétition étant controversée, cette recherche n'est pas recommandée dans le cadre de fausses couches à répétition(223,224).

3.2.2.2. *Insuffisance lutéale*

L'insuffisance lutéale, pour la première fois décrite en 1949(225), a été proposée comme étant cause de FCS précoce et de FCS à répétition, mais sa définition et son impact sur le taux de grossesses demeure fortement controversé. L'insuffisance lutéale est définie par le déficit de progestérone endogène ou encore de déficit de l'action de la progestérone sur l'endomètre durant la phase lutéale, ce qui altère l'implantation embryonnaire. Plusieurs mécanismes ont été proposés, tels qu'une croissance folliculaire inadéquate, une dysovulation, une mauvaise fonction du corps lutéal, et une réponse et réceptivité anormales de l'endomètre(226,227). Les pathologies affectant l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien et la sécrétion de gonadotrophine, telles que les pathologies thyroïdiennes et l'hyperprolactinémie, peuvent également être à l'origine d'une insuffisance lutéale(200,203). Plusieurs critères diagnostiques ont été utilisés au cours des années : biopsies de l'endomètre pour étude histologique, mesure de la concentration de progestérone durant la phase lutéale, durée de la phase lutéale (<11 jours), et température basale du corps. Cela a conduit à des incidences discordantes chez les femmes dans le cadre de FCS à répétition (12 à 28% selon les études)(226–229). De ce fait, les tests diagnostiques pour l'insuffisance lutéale ne sont ni reproductibles ni fiables, et n'ont pas été validés dans de larges cohortes, ainsi ils ne sont pas recommandés en pratique clinique(170,175,228,229).

3.2.2.3. *Endométrite chronique*

Il s'agit d'une inflammation chronique de la muqueuse endométriale, et des études ont montré une augmentation de la prévalence chez les femmes ayant eu des FCS à répétition(230–232). La réceptivité endométriale est réputée détériorée par l'infiltration du stroma par les plasmocytes et l'altération de l'expression des gènes impliqués dans l'implantation, ce qui conduit à des fausses couches à répétition, à l'infertilité et aux échecs d'implantation de FIV(232). Plusieurs méthodes sont utilisées pour confirmer le diagnostic d'endométrite chronique, mais le gold standard est l'identification des plasmocytes par immunohistochimie avec le marqueur CD138 sur biopsie endométriale(232).

3.2.3. *Fausses couches à répétition inexplicées*

Même avec un bilan complet, une étiologie de fausses couches à répétition est en général retrouvée dans moins de 50% des couples(170,233). On parle de fausse couche à répétition inexplicée lorsqu'un bilan complet génétique, anatomique, endocrinien et immunologique est a été réalisé et n'a retrouvé aucune anomalie(185).

B. Carvotype

1. Définitions

Le caryotype correspond à l'arrangement standard des chromosomes du noyau d'une cellule, à partir d'une prise de vue microscopique. L'étude du caryotype s'inscrit dans le champ disciplinaire appelé « cytogénétique ». La cytogénétique est la discipline qui permet d'étudier la structure, la fonction et les anomalies des chromosomes(234). La cytogénétique comprend deux technologies : la cytogénétique conventionnelle qui permet d'analyser l'ensemble des chromosomes et d'établir un caryotype, et la cytogénétique moléculaire (analyse ciblée), qui comprend l'hybridation par fluorescence in situ et l'hybridation comparative du génome sur puce à ADN. Ces deux technologies seront brièvement détaillées par la suite. La cytogénétique comprend deux versants : constitutionnel et onco-hématologique. Le versant constitutionnel permet l'étude des anomalies congénitales. Ces anomalies sont héritées par l'un des parents ou elles peuvent survenir de novo (lors d'un accident méiotique ou post-méiotique)(235). Dans ce versant on y étudie le caryotype post-natal, par prélèvement de sang total sur les lymphocytes circulants, et le caryotype pré-natal, par prélèvement sur cellules fœtales (liquide amniotique, villosités choriales, sang fœtal)(236). Le versant onco-hématologique permet l'étude des anomalies acquises dans le cadre de tumeurs solides ou d'hémopathies malignes(237).

2. Historique(234)

Le terme « chromosome » introduit en 1888 par le biologiste allemand Wilhelm von Waldeyer-Hartz, a pour étymologie deux mots grecs : *chroma*, qui signifie coloré et *soma*, qui signifie le corps.

Le concept de culture cellulaire a été découvert en 1885 Wilhem Roux, et son application a été mise en place en 1907 par les docteurs Ross Harrison et Alexis Carrel.

En 1937, les botanistes américains Albert Francis Blakeslee et Georges S. Avery ont découvert le rôle de la colchicine comme bloqueur des cellules des plantes au stade de métaphase.

En 1952, le Dr T.C. Hsu a découvert le rôle du choc hypotonique(238) : les cellules étaient placées avant leur fixation quelques minutes dans une solution hypotonique à la place d'une solution isotonique, ce qui entraînait un meilleur étalement des métaphases.

En ce qui concerne le dénombrement des chromosomes, avant 1956, le nombre de chromosomes était estimé à 48 car les technologies étaient limitées, les chromosomes étant représentés par peinture. En 1956, Joe-Hin Tjio et Albert Levan ont introduit la photographie des métaphases, ce qui a permis un dénombrement correct des chromosomes normaux à 46(239). Ce dénombrement a été rendu officiel à l'institut de Génétique de Lund, en Suède, (240). C'est alors le point de départ de la cytogénétique conventionnelle.

Des découvertes d'anomalies se succèdent : en 1959, la découverte de la trisomie 21 par Jérôme Lejeune, Marthe Gauthier et Raymond Turpin, ainsi que du syndrome de Turner (45,X) et de Klinefelter (47,XXY) ; en 1960, la découverte de la trisomie 13 par *Patau et al.* et de la trisomie 18 par *Edwards et al.* D'autres anomalies ont été publiées mais chacun utilisait son propre langage et ses propres codes. Alors en 1960, la conférence de Denver a été organisée et a mis en place un rapport dénommé «*A Proposed Standard System of Nomenclature of Human Mitotic Chromosomes*» qui a servi de base pour toutes les autres nomenclatures maintenant

publiées sous le terme ISCN (*an International System for human Cytogenetic Nomenclature* jusqu'en 2016 ; *an International System for human Cytogenomic Nomenclature* après 2016).

3. Le chromosome métaphasique(241–243)

Pour rappels, les chromosomes sont des structures nucléoprotéiques constitués d'acide désoxyribonucléotidique (ADN) et de protéines au premier rang desquelles les histones. Cet ensemble forme la chromatine. En fonction du cycle cellulaire, la chromatine est condensée ou décondensée. La condensation extrême de chaque molécule d'ADN se déroule au moment du stade métaphase de la mitose. C'est à ce moment que chaque molécule d'ADN est visualisable sous formes de chromosomes, d'où le terme employé ici de « chromosome métaphasique ».

Le chromosome métaphasique (Figure 5) est constitué de deux chromatides, chaque chromatide représentant une des deux molécules d'ADN identiques issues de la réplication en phase S. Ces deux chromatides sont étroitement associés au niveau du centromère, qui constitue la constriction primaire du chromosome et correspond à la zone de fixation sur les fibres du fuseau de division.

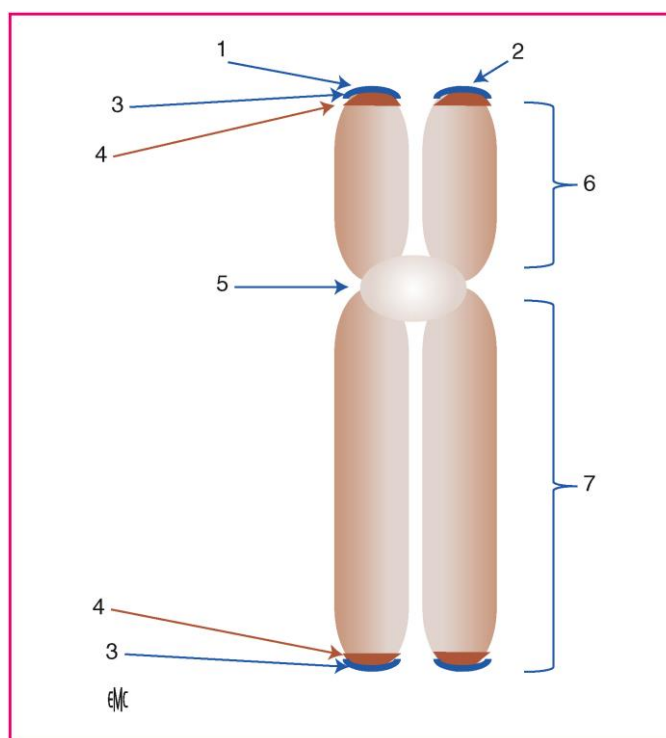


Figure 5. Anatomie d'un chromosome, d'après(243). 1 et 2 : chromatides sœurs ; 3 : télomère ; 4 : subtélomère ; 5 : centromère ; 6 : bras court p ; 7 : bras long q.

Ainsi, une cellule humaine normale en métaphase contient 46 chromosomes. Le classement de ces chromosomes est détaillé dans le chapitre suivant.

4. Réalisation et indications du caryotype

La réalisation du caryotype répond à des dispositions réglementaires précises. En particulier, les conditions de réalisation du caryotype postnatal ont été précisés par le décret n°

2003-462 du 21 mai 2003, article R. 1131-5, stipulant que l'attestation de consultation du prescripteur ainsi que le consentement de la personne ayant consulté le prescripteur sont obligatoires(244).

Les prélèvements doivent être réalisés selon des conditions d'asepsie stricte, les prélèvements sanguins doivent être faits sur tube hépariné (tube vert). Ils doivent être transmis dans un délai compatible avec la survie des cellules et transporté à température ambiante au laboratoire réalisant l'analyse du caryotype. Ce délai est défini au préalable par chaque laboratoire et doit être renseigné dans le manuel de prélèvement(244).

La mise en culture se fait sur cellules vivantes capables de se diviser in vitro. En cytogénétique constitutionnelle post-natale il s'agit le plus souvent de culture de lymphocytes T en phytohémagglutinine sur prise de sang. La mise en culture se fait dans une étuve à une température de 37°C et contenant 5% de dioxyde de carbone (CO₂) et la durée d'incubation est de l'ordre de 24 à 72 heures(242). Il existe d'autres types de culture tels que celle de fibroblastes sur biopsie cutanée(242). Une synchronisation est possible pendant la mise en culture afin d'obtenir un nombre suffisant de cellules en métaphase. Ensuite les cellules sont bloquées en métaphase par de la colchicine, un poison du fuseau qui se fixe à la tubuline et bloque sa polymérisation. Un choc hypotonique est ensuite effectué pour fragiliser les membranes cytoplasmiques et nucléaires afin de disperser les chromosomes.

S'ensuit une étape de fixation des constituants cellulaires avec du méthanol et de l'acide acétique ; cela permet de préserver la morphologie de la cellule, de durcir la chromatine, d'arrêter les fonctions cellulaires et cela va entraîner une perte d'une partie des protéines et des organites cytoplasmiques. Cette étape est répétée deux à trois fois séparées par des centrifugations. Cela permet l'obtention d'un culot cellulaire fixé qui peut être conservé 1 mois à 4°C, sinon à plus long terme à -20°C.

Le culot est ensuite remis en suspension dans le fixateur et une goutte de ce mélange est étalée sur des lames de verre à température et hygrométrie contrôlée. La qualité de l'étalement est ensuite contrôlée au microscope.

Le lendemain une étape de dénaturation est réalisée, suivi d'une coloration au Giemsa, ce qui permet d'obtenir des bandes chromosomiques. Deux principaux types de dénaturation peuvent être réalisées, il s'agit de la dénaturation à la trypsine (suivie de la coloration au Giemsa), afin d'obtenir des bandes GTG (*G-banding by using trypsin and Giemsa*) aussi appelées bandes G, et de la dénaturation à la chaleur, par utilisation du tampon Earle, afin d'obtenir des bandes RHG (*Reverse banding by using heat and Giemsa*) aussi appelées bandes R. Les bandes G marquent les régions riches en AT, les bandes R marquent les régions riches en GC(245). D'autres techniques de marquage existent mais sont beaucoup moins utilisées : les bandes C qui marquent les régions centromériques, les bandes T qui marquent les régions télomériques, les bandes NOR qui marquent l'ARN ribosomique, etc.

Puis, les métaphases seront recherchées soit au microscope optique, soit avec un chercheur de métaphases, puis capturées, et classées à l'aide d'un logiciel de classement de chromosomes. Le classement des chromosomes se fait en fonction de la taille, c'est-à-dire du plus grand au plus petit en dehors des chromosomes X et Y (à noter qu'historiquement le

chromosome 21, plus petit que le chromosome 22, a été classé avant ce dernier) ; également en fonction de l'indice centrométrique, défini par le rapport $p/p+q$ (p signifiant la longueur du bras court et q signifiant la longueur du bras long) (Figure xx) et des bandes chromosomiques caractéristiques de chacune des paires. Les critères d'évaluation de la résolution du caryotype sont détaillés dans l'annexe 1.

Selon l'indice centromérique les chromosomes sont répartis en :

- 1) **Chromosomes métacentriques**, avec un bras p de taille semblable au bras q (indice centromérique = 0,5) ;
- 2) **Chromosomes submétacentriques**, avec un bras p de taille inférieure à celle du bras q (indice centromérique <0,5) ;
- 3) **Chromosomes acrocentriques**, dont le bras court est peu ou pas visible (indice centromérique proche de 0). La figure 6 récapitule ces différents chromosomes.

Lorsque le caryotype est analysé en post-natal, la résolution minimale nécessaire est de 400 bplh, au moins 15 métaphases doivent être analysées et au moins 3 caryogrammes doivent être établis.

Suite à cette analyse l'écriture du caryotype se fait selon l'ISCN (*International Standard of Cytogenomic Nomenclature*). Un compte-rendu est alors rédigé dans lequel figureront les informations suivantes (dans l'exemple du caryotype post-natal ici) :

- Le nombre total de métaphases analysées
- Le nombre de caryogrammes établis
- La résolution globale obtenue
- Si la qualité de l'examen est en dessous des standards fixés, cela doit être signalé et les limites du résultat expliquées.

Le délai attendu de rendu du résultat est fixé à 21 jours pour le caryotype constitutionnel post-natal, à 14 jours pour le caryotype constitutionnel pré-natal.(244).

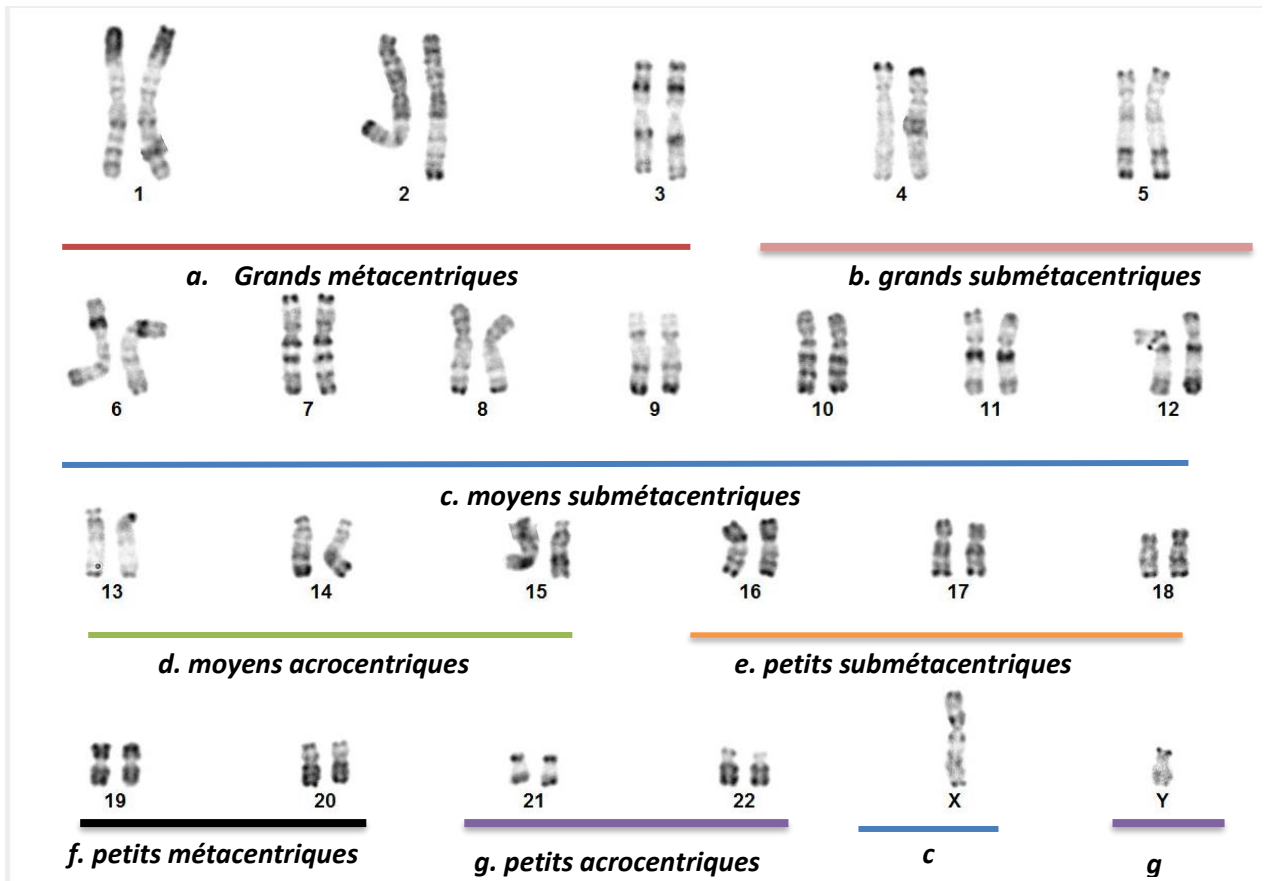


Figure 6 : Caryotype d'un patient en bande R, effectué au CHRO. Classement des chromosomes en fonction de la taille et de l'indice centromérique.

Seules les indications du caryotype en cytogénétique constitutionnelle post-natale sont détaillées. Elles sont représentées dans le tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6 : indications du caryotype en cytogénétique constitutionnelle postnatale(244)

Patient avec :

- **Phénotype évocateur d'un syndrome chromosomique connu : trisomies 13, 18, 21, délétions 4p, 5p, syndromes de Turner (45,X), de Klinefelter (47,XXY), désordres du développement sexuel (DSD)**
- **Petite taille chez la fille**
- **Retard ou absence de puberté**
- **Suspicion de syndrome de l'instabilité chromosomique**
- **Maladie récessive liée à l'X chez la fille**
- **Aménorrhée primaire ou secondaire, insuffisance ovarienne précoce**
- **Azoospermie ou oligospermie sévère**

Couple avec :

- **Diagnostic prénatal d'une anomalie chromosomique ou d'un variant inhabituel**
- **Fausses couches spontanées à répétition, échecs d'implantation à répétition**
- **Enfant décédé suspect d'anomalie chromosomique**
- **Stérilité du couple – bilan avant assistance médicale à la procréation**

Antécédents familiaux :

- **D'anomalie chromosomique connue**
- **D'apparenté suspect d'anomalie chromosomique, mais non disponible pour l'analyse**
- **Récurrence d'une association mort fœtale/malformations dans des branches collatérales**

Divers :

- **Vérification ou complément d'un diagnostic prénatal**
- **Vérification ou complément d'un diagnostic postnatal**
- **Recherche d'anomalie chromosomique limitée aux fibroblastes**

5. Anomalies chromosomiques(243).

Les anomalies chromosomiques sont diverses. D'après Dimassi S et al. (2017), elles sont réparties en trois grandes classes : les deux premières qui seront exposées ci-dessous sont les anomalies de nombre et de structure ; la troisième classe est constituée d'autres anomalies plus rares (remaniements complexes, disomie uniparentale, etc.) qui ne seront pas détaillées ici.

Les anomalies traitées dans ce volet seront les anomalies chromosomiques constitutionnelles, notamment les anomalies de nombre, qui seront brièvement décrites, et les anomalies de structure, notamment les translocations qui sont impliquées dans le cadre des troubles de la reproduction, et dont les mécanismes seront détaillés.

Les anomalies de nombre sont de deux types, aneuploïdie et polyploïdie. L'aneuploïdie est définie par un nombre anormal de chromosomes, à savoir un chromosome en plus (on parle de trisomie) ou en moins (monosomie) du nombre normal défini dans une cellule diploïde. Elle peut être autosomique : parmi les trisomies autosomiques, seules trois sont viables dans l'espèce humaine ; ce sont les trisomies 13, 18 et 21 ; parmi les monosomies autosomiques, aucune n'est viable. Elle peut également être gonosomique : les trisomies retrouvées sont

notamment le Syndrome de Klinefelter (47,XXY, détaillé dans la section « Infertilité») et la trisomie 47,XYY chez l'homme, et la trisomie 47,XXX chez la femme ; la monosomie X (syndrome de Turner, 45,X, également détaillé dans la section « Infertilité ») est la seule variable dans l'espèce humaine. La polyploïdie est définie par un nombre anormal de lots haploïdes. Une cellule humaine normale étant constituée de deux lots haploïdes, la polyploïdie correspond donc à un nombre de lots supérieur à 2. On parle ainsi de triploïdie ($n=3$), et de tétraploïdie ($n=4$).

Les anomalies de structure découlent de réarrangements de matériel chromosomique. Elles peuvent être équilibrées, c'est-à-dire n'entraînant ni gain ni perte de matériel, et déséquilibrées dans le cas contraire. Elles peuvent impliquer un seul chromosome (dans le cas des délétions, des microdélétions, des duplications, des inversions, des chromosomes en anneau, des isochromosomes et des marqueurs) ou deux ou plusieurs chromosomes (dans le cas des translocations, des insertions).

Les délétions correspondent à une perte de matériel chromosomique. Elles sont interstitielles si elles surviennent à l'intérieur d'un bras chromosomique, et terminales si elles surviennent à l'extrémité du chromosome. Certaines délétions de très petite taille peuvent ne pas se voir au caryotype, on parle de microdélétions ; elles se voient par d'autres techniques telles que l'hybridation par fluorescence in situ (FISH) ou l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA). Les duplications correspondent à un gain de matériel chromosomique.

Les inversions résultent d'une cassure d'un fragment survenant entre deux segments situés sur le même chromosome, et entraînant un retournement de ce fragment. On parle d'inversion péricentrique si elle survient autour du centromère, et paracentrique si elle survient en dehors du centromère.

Les chromosomes en anneau résultent du type de cassure défini dans les inversions, mais entraînant un enroulement du fragment cassé sur lui-même et une perte des extrémités cassées.

L'isochromosome résulte d'une perte d'un des bras du chromosome, et de la duplication du bras restant. Le chromosome se retrouve donc avec deux bras longs ou deux bras courts situés de part et d'autre du centromère.

Le marqueur correspond à un chromosome surnuméraire résultant d'une trisomie partielle. Il est difficile de dire au caryotype de quels chromosomes ce marqueur est constitué. En fonction du contexte clinique, une FISH ou une ACPA peuvent être réalisées pour identifier les gènes ayant des conséquences cliniques.

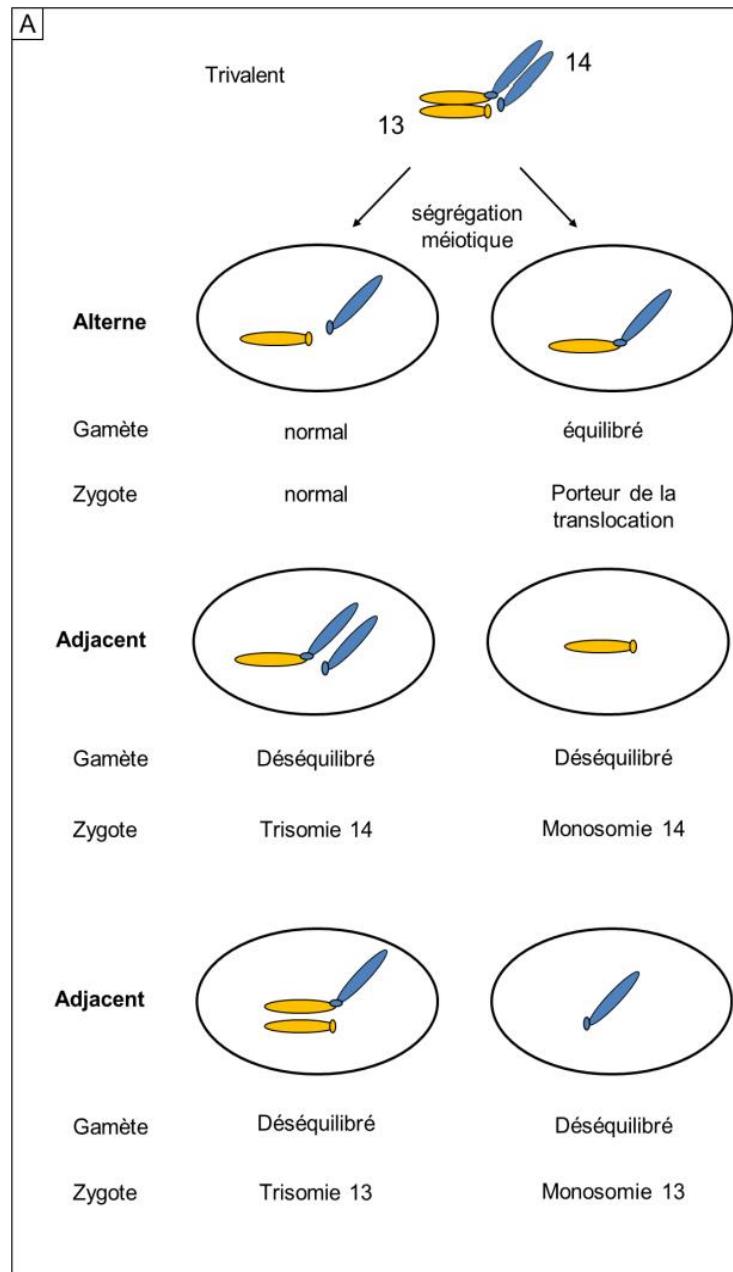
Les insertions sont liées à la présence d'une portion d'un chromosome insérée dans un autre chromosome.

Les translocations correspondent à un échange de segments entre deux chromosomes. Deux types de translocations sont décrits : ce sont les translocations robertsoniennes et les translocations réciproques.

Les translocations robertsoniennes correspondant à des réarrangements résultant de la fusion de bras longs entiers de deux chromosomes acrocentriques (13, 14, 15, 21 et 22). Les bras courts sont perdus et il en résulte des mitoses à 45 chromosomes dont un avec les deux

bras réarrangés. Son incidence est estimée à 1/1000 naissances vivantes(246). Les translocations robertsoniennes peuvent être homologues (concernant la fusion des bras longs d'un chromosome acrocentrique avec celui de son homologue), ou hétérologue (fusion concernant deux chromosomes acrocentriques différents)(246). 85 % des translocations robertsoniennes sont représentées par les anomalies der(13;14)(q10;q10) et der(14;21)(q10;q10). La découverte d'une translocation robertsonienne chez l'individu est fortuite, lors d'un bilan réalisé dans le cadre de troubles de la reproduction. Cette anomalie peut engendrer des conséquences chez les zygotes en fonction du mode de ségrégation lors de la méiose (Fig 7). En effet chez les individus normaux, l'appariement des chromosomes homologues se fait sur toute la longueur grâce à un complexe appelé complexe synaptonémal, si bien que chaque chromosome forme un appariement bivalent au stade pachytène(247,248). Chez le patient porteur d'une translocation robertsonienne, par exemple, le der(13;14)(q10;q10), le chromosome transloqué s'apparie d'une part avec le chromosome 13 homologue, d'autre part avec le chromosome 14 homologue, si bien que l'appariement formé est trivalent. Cela aboutit à une ségrégation 2:1 selon deux modes : la ségrégation alterne de laquelle en résulteront des gamètes normaux ou équilibrés conduisant lors de la fécondation à des zygotes porteurs de la translocation, et la ségrégation adjacente 1 ou 2 qui conduira à des gamètes déséquilibrés aboutissant à des trisomies 13 ou 14, ou des monosomies 13 ou 14(249).

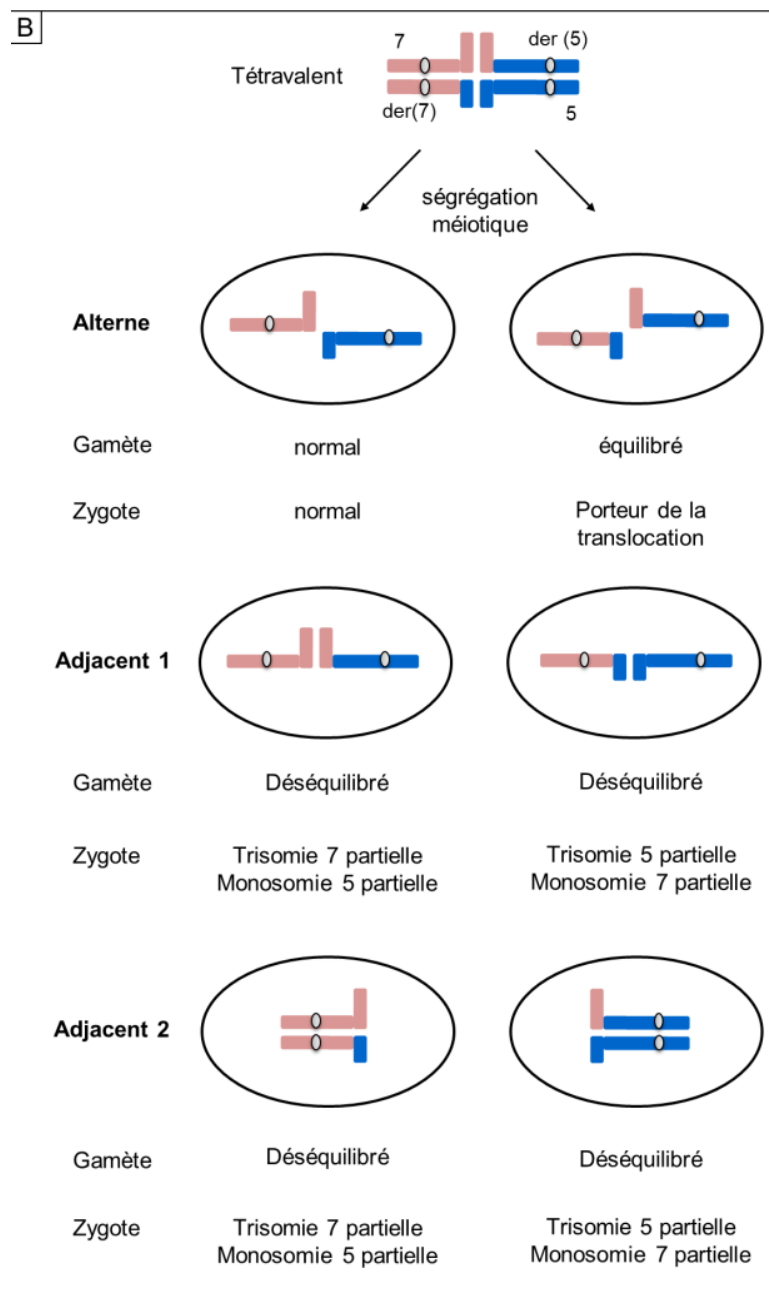
Figure 7 : modes de ségrégations lors d'une translocation robertsonienne entre 2 chromosomes hétérologues (13 et 14 ici) d'après(249)



Les translocations réciproques résultent d'un échange de segments entre deux chromosomes. Leur incidence est estimée à 1/1000 naissance vivantes(243). Elles peuvent être équilibrées ou déséquilibrées(250,251). Seules les translocations réciproques équilibrées seront évoquées. Celles-ci sont découvertes fortuitement chez le sujet porteur dans le cadre d'un bilan de troubles de la reproduction, mais peuvent induire l'apparition d'une anomalie dans sa descendance. Dans l'exemple ci-dessous de la translocation réciproque équilibrée t(7;5) (Fig 8), le chromosome 7 normal va s'apparier avec ses segments homologues, situés d'une part sur le dérivé du chromosome 7 et d'autre part sur le dérivé du chromosome 5 ; il en sera de même pour le chromosome 5. L'appariement formé sera tétravalent. Ceci va aboutir à 3 modes de ségrégation possibles (type 2:2 le plus fréquent, types 3:1 et 4:0 plus rares)(243,250,251). La ségrégation 2:2 peut être de type alterne et génère des gamètes normaux ou équilibrés. Elle peut également être de type adjacent 1 (l'un des chromosomes remaniés est transmis avec l'homologue de l'autre paire) ou adjacent 2 (l'un des chromosomes remaniés est transmis avec son homologue), aboutissant à des gamètes déséquilibrés et donc des zygotes porteurs de

trisomies et de monosomies partielles(249,251). Les ségrégations 3:1 donnent des gamètes équilibrés à l'origine de trisomies et de monosomies(249,251,252).

Figure 8 : ségrégation 2:2 lors d'une translocation réciproque équilibrée entre les chromosomes 5 et 7(249).



C. Problématique et objectif de la thèse

Le caryotype permet une approche pangénomique, elle permet la détection des anomalies de nombre et reste la technique de référence en cytogénétique, pour la détection des anomalies de structure équilibrées. Cependant c'est une technique longue, opérateur-dépendante, nécessitant une mise en culture pour obtenir des métaphases, il existe un risque d'échec de culture si le prélèvement est de faible volume. De plus la résolution est faible (5-10Mb)(242), ce qui peut poser problème dans la détection des translocations chromosomiques équilibrées en dessous de cette résolution, et le rendement diagnostique théorique est faible, de l'ordre de 3-10%(253,254).

Ainsi, l'objectif de cette thèse est d'évaluer le rendement diagnostique du caryotype des patients du CHU de Tours et du CHR d'Orléans dans le cadre des troubles de la reproduction et de discuter des alternatives possibles au caryotype pouvant apporter un meilleur rendement diagnostique, à l'ère où les nouvelles technologies sont mises au point.

II. Patients, matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective multicentrique sur 2 sites : le Centre Hospitalier Universitaire de Tours et le Centre Hospitalier Régional d'Orléans.

Concernant le Centre Hospitalier Universitaire de Tours : l'étude a été menée dans le laboratoire de cytogénétique Constitutionnelle sous la forme d'un recueil de données portant sur 790 patients ayant consulté pour troubles de la reproduction et pour dons de gamètes, de janvier 2017 à décembre 2021. Pour chaque patient, un prélèvement sanguin a été effectué et acheminé au laboratoire. 0,6 ml de sang ont mis dans le milieu de culture contenant de la phytohémagglutinine et placés dans une étuve à 37°C et 5% de CO₂, pour une durée de 72 heures. Une synchronisation a été effectuée avec 100µl de solution de synchronisation A la veille de la technique, et 100µl de solution B le jour de la technique. Ensuite les cellules ont été bloquées en métaphase par de la colcémide (50µl), un choc hypotonique a été effectué et les cellules ont été fixées à un mélange alcool-acide acétique, et étalées sur lame, dans le Thermothron à 22°Celsius et 45% d'hygrométrie. Un traitement par la chaleur a été effectué avec coloration Giemsa afin d'obtenir des bandes R ; un traitement par la trypsine a été effectué avec coloration Giemsa afin d'obtenir des bandes G. Le caryotype était constitué au minimum de 3 métaphases caryotypées et 15 métaphases comptées. Les formules chromosomiques ont été établies pour chaque patient conformément à l'ISCN (*International System for Human Cytogenomic Nomenclature*) 2016 et 2020. Les données ont été extraites à partir des logiciels METASYSTEMS (logiciel de lecture et de classement de métaphases), GENNO (logiciel d'enregistrement de dossiers patients et de validation biologique), du Dossier Patient Partagé (DPP) ainsi que du logiciel Medifirst (dossier patient spécifique au laboratoire de biologie de la reproduction)

Concernant le Centre Hospitalier Régional d'Orléans : l'étude a été menée dans le laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle sous la forme d'un recueil de données portant sur 703 patients ayant consulté pour troubles de la reproduction et pour dons de gamètes, de janvier 2016 à décembre 2021. Pour chaque patient, un prélèvement sanguin a été effectué et acheminé au laboratoire ; 15 gouttes de sang ont mis dans le milieu de culture contenant de la phytohémagglutinine et placés dans une étuve à 37°C et 5% de CO₂, pour une durée de 72 heures. Ensuite les cellules ont été bloquées en métaphase par de la colcémide à 10µg/ml, et une incubation a été réalisée pendant 1h15 à 37°C. Un choc hypotonique a été réalisé avec du chlorure de potassium à une concentration de 0,075M. Une étape de fixation a été réalisée grâce à un mélange alcool-acide acétique, et par la suite une étape d'étalement sur lame a été effectuée sous le Thermotron à 23°Celsius et à 45% d'hygrométrie. Un traitement par la chaleur a été effectué ainsi qu'une coloration Giemsa afin d'obtenir des bandes R. Le caryotype était constitué au minimum de 15 métaphases caryotypées. Les formules chromosomiques ont été établies pour chaque patient conformément à l'ISCN (*International System for Human Cytogenomic Nomenclature*) 2016 et 2020. Les données ont été extraites à partir des logiciels CYTOVISION (logiciel de lecture et de classement de métaphases), et TD-GENET (logiciel de validation biologique).

Les données portaient notamment sur le motif de consultation, le résultat du caryotype et la conclusion du caryotype.

Les données ont été extraites sous la forme d'un fichier Excel, un filtre de données a été effectué puis un classement a été effectué de la manière suivante : 1) classement des anomalies chromosomiques par type (anomalies de nombre, anomalies de structure dont les translocations), 2) classement des anomalies par indication (oligo-astheno-tératozoospermie, insuffisance ovarienne précoce, fausses couches spontanées précoces, dons de gamètes, autres indications). Les anomalies ont été exprimées en valeur brute (nombre d'anomalies) puis sous la forme de pourcentage, c'est à-dire, par exemple pour les translocations, le nombre de caryotypes avec translocations sur le nombre total de caryotypes, et pour les indications, le nombre de caryotype réalisés par telle indication sur le nombre total de caryotypes.

III. Résultats

A. Population à l'inclusion

La population d'étude a été constituée de 1493 patients au total (703 patients du CHRO et 790 du CHU de Tours), dont 690 femmes et 803 hommes.

Parmi ces patients, un quart des patients a consulté pour bilan avant PMA (procréation médicalement assistée) (25,72%, 384 patients), un quart des patients a consulté pour dons (25,52%, 381 patients), environ un patient sur cinq a consulté pour bilan de fausses couches spontanées (19,22%, 287 patients), environ un patient sur 10 respectivement pour oligo-asthénospermie (11,52%, 172 patients) et insuffisance ovarienne précoce (9,38%, 140 patients). Les détails de ces indications sont donnés dans le tableau 7.

Tableau 7. Répartition des indications chez les patients du CHU de Tours et du CHRO.

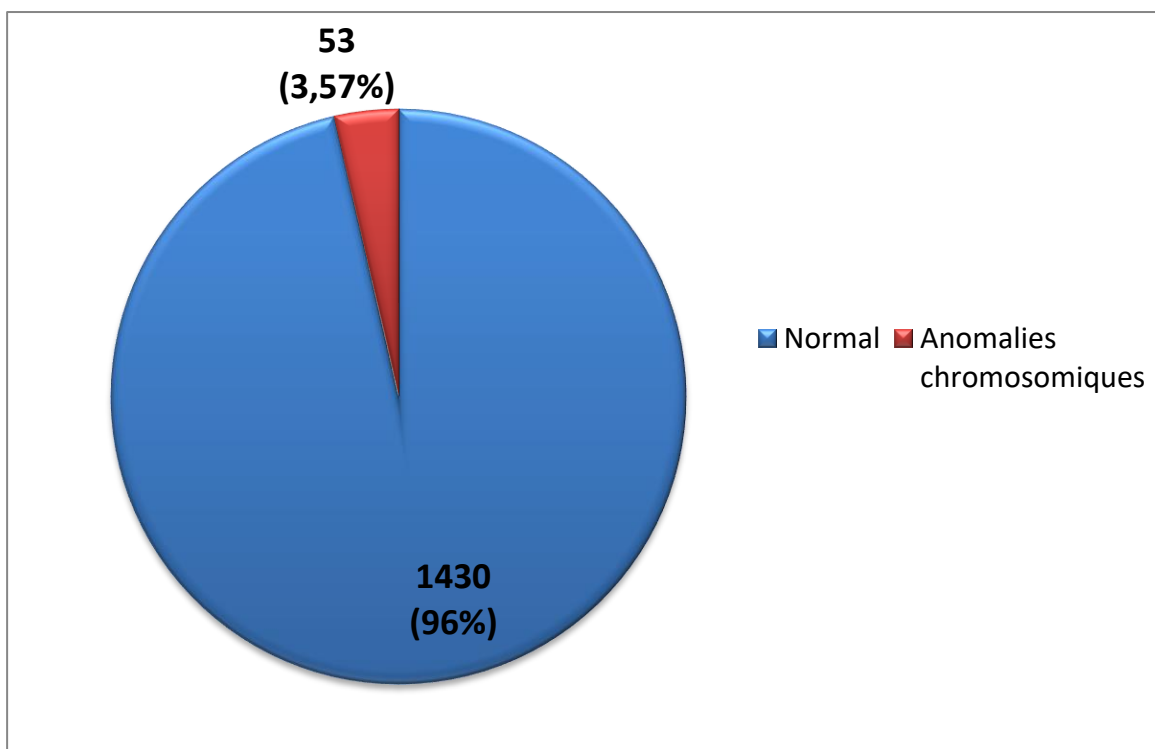
Indications	Nombre	Pourcentage
Bilan avant PMA	384	25,72%
Don	381	25,52%
FCS	287	19,22%
OATS	172	11,52%
IOP	140	9,38%
Autres (<i>varicocèle, endométriose, infertilité tubaire...</i>)	92	6,16%
Suspicion dysgonosomies	20	1,34%
Echec de FIV (implantation, FCS, MFIU)	17	1,14%
Total	1493	100%

Parmi ces 1493 patients, 10 ont été exclus pour les raisons suivantes : des échecs de culture ont été constatés pour 6 patients ; 2 analyses ont été abandonnées (une analyse qui était un doublon, une autre pour laquelle seule la recherche de la microdélétion du chromosome Y a été demandée) ; pour 2 patients il manquait des données sur le résultat du caryotype. Donc au final 1483 patients ont été inclus.

B. Anomalies chromosomiques

Parmi les 1483 patients, 53 présentent un caryotype pathologique, ce qui représente un rendement diagnostique de 3,57% (Figure 9).

Figure 9. Répartition des caryotypes.

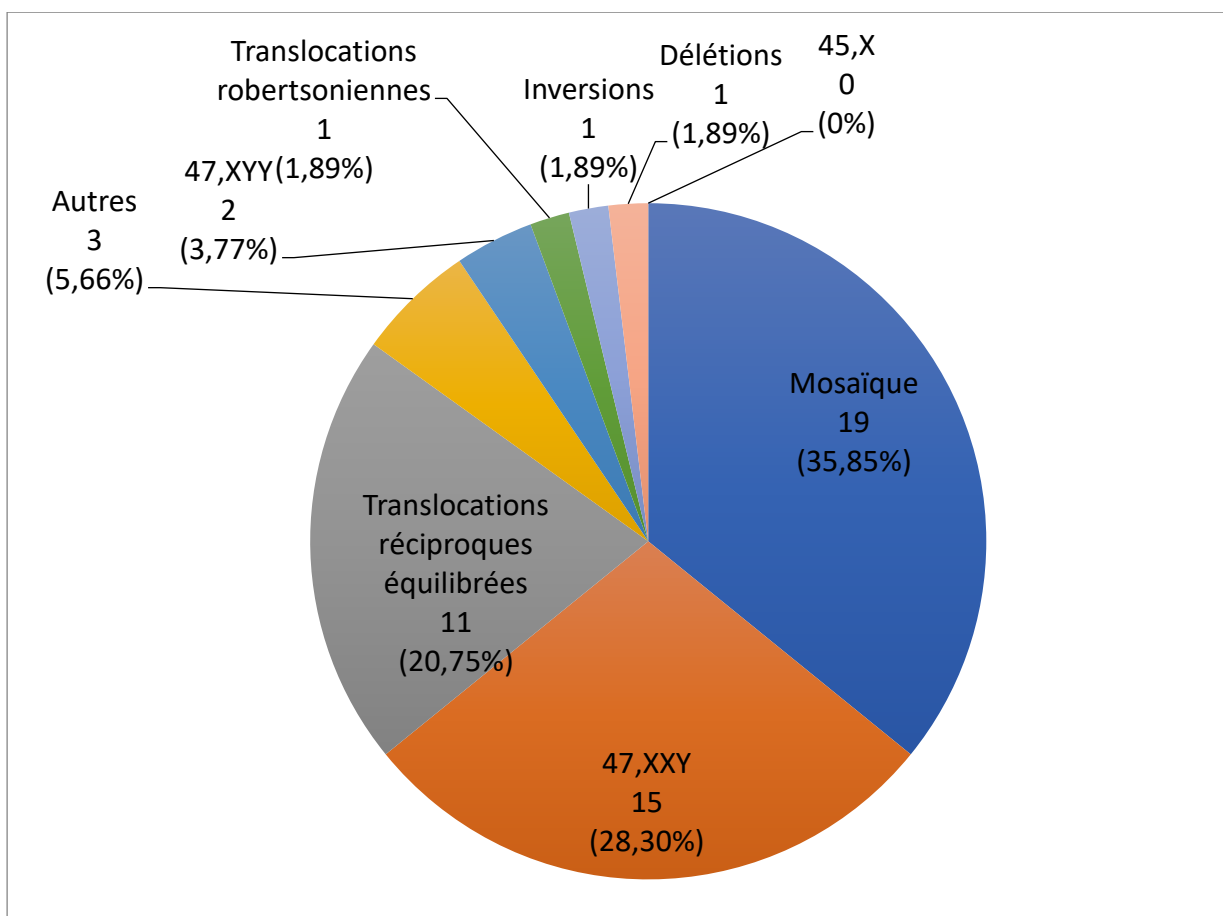


Si l'on considère les anomalies chromosomiques par type, les anomalies majoritaires sont les dysgonosomies représentant 2,42% (N=36) de tous les caryotypes. Les translocations réciproques équilibrées représentent moins d'un pourcent (0,74%, N=11) de tous les caryotypes (dont 7 chez les femmes et 4 chez les hommes), et les translocations robertsoniennes également (0,07%, N=1) chez un homme. Le détail des anomalies est donné dans le tableau 8 et la figure 10.

Tableau 8. Nombre et pourcentage d'anomalies chromosomiques par type

Anomalies chromosomiques par type	Nombre	Pourcentage
Dysgonosomies en mosaïque	19	1,28%
47,XXY	15	1,01%
Translocations réciproques équilibrées	11	0,74%
Autres	3	0,20%
47,XYY	2	0,13%
Translocations robertsoniennes	1	0,07%
Inversions	1	0,07%
Délétions	1	0,07%
Total	53	3,57%

Figure 10. Répartition des anomalies chromosomiques par type

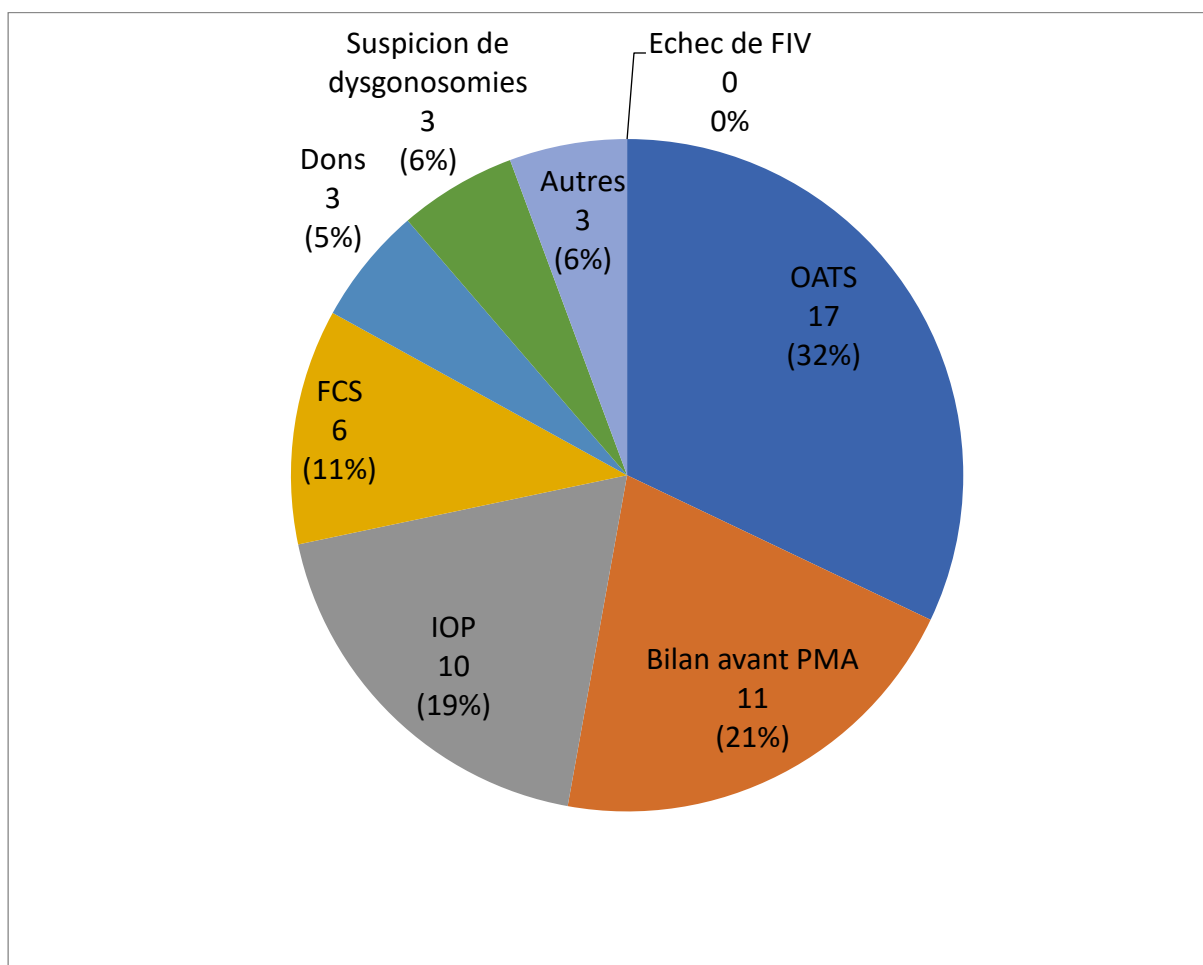


Si l'on considère les anomalies chromosomiques par type, les oligo-asthénospermies sont les indications les plus pourvoyeuses d'anomalies chromosomiques avec 1,15% (N=17) de tous les caryotypes. 11 caryotypes pathologiques (0,74%) ont été constatés chez les patients venant pour bilan avant PMA, 10 (0,67%) chez les patients venant pour insuffisance ovarienne précoce, 6 (0,4%) chez les patients venant pour bilan de fausses couches spontanées précoces et 3 (0,2%) chez les patients venant pour dons. Aucune anomalie chromosomique n'a été constatée chez les patients venant pour échec de FIV. Le détail de cette répartition est donné dans le tableau 9 et la figure 11. Le détail de ces anomalies chromosomiques est donné pour information dans l'annexe. Enfin, parmi les 172 patients ayant consulté pour OATS, il y avait 17 anomalies chromosomiques soit 9,8% ; chez les patientes ayant consulté pour IOP, 10 anomalies chromosomiques (7,1%), et chez les patients ayant consulté pour fausses couches spontanées, 6 anomalies chromosomiques (2%)

Tableau 9. Nombre et pourcentage d'anomalies chromosomiques par indication

Indications	Nombre d'anomalies chromosomiques	Pourcentage
OATS	17	1,15%
Bilan avant PMA	11	0,74%
IOP	10	0,67%
FCS	6	0,40%
Dons	3	0,20%
Suspicion de dysgonosomies	3	0,20%
Autres	3	0,20%
Echec de FIV	0	0,00%
Total	53	3,57%

Figure 11. Répartition des anomalies chromosomiques par indication.



IV. Discussion

A. Rendement du caryotype.

Nous avons donc observé 53 anomalies chromosomiques parmi les 1483 patients analysés, soit un rendement diagnostique de 3,55% (les translocations toutes confondues représentant moins d'un pourcent et les dysgonosomies étant en tête avec 2,42%). Le rendement diagnostique obtenu est inférieur au rendement diagnostique théorique estimé entre 3 et 10% toutes indications confondues(253,254). De plus nous avons dû ajouter les dons de sperme et d'ovocytes comme indications afin d'augmenter le rendement diagnostique. La résolution du caryotype étant de 5 à 10 mégabases, les anomalies de structures inférieures à cette résolution peuvent passer inaperçues.

Si l'on compare nos données à celles de la littérature, en ce qui concerne les anomalies chromosomiques dans chaque indication, parmi les 172 patients ayant consulté pour OATS, il y avait 17 anomalies chromosomiques soit 9,8% ; parmi les 140 patientes ayant consulté pour IOP, 10 anomalies chromosomiques (7,1%), et parmi les 287 patients ayant consulté pour fausses couches spontanées, 6 anomalies chromosomiques (2%). Dans l'étude de Düczan et al (2003)(255), 354 patients ont été inclus, dont 226 couples avec fausses couches précoces à répétition, 65 femmes avec infertilité féminine et 63 hommes avec infertilité masculine. Le

rendement diagnostique était de 4,9% dans le cadre de fausses couches précoces à répétition, 21,5% dans l'infertilité féminine et 5% dans l'infertilité masculine. Sur les 30 femmes ayant consulté pour aménorrhée primaire et oligoménorrhée, il y avait 7 anomalies chromosomiques, soit 23%. Sur les hommes ayant consulté pour azoospermie et oligozoospermie, il y avait deux anomalies chromosomiques soit 4,6%.

Ainsi comparativement à cette étude, notre rendement pour les OATS est supérieur (sachant que dans les OATS, étaient aussi incluses les azoospermies dans notre étude), notre rendement pour les IOP et pour les fausses couches est inférieur. Les rendements restent globalement faibles dans chaque indication.

L'étude de Badovinac AR et al (2003)(256), a évalué le rendement diagnostique du caryotype dans le cadre de troubles de la reproduction chez 782 personnes (259 couples, 158 hommes et 106 femmes). 259 couples ont été évalués dans le cadre de troubles de la reproduction. Parmi eux, si l'on prend toutes les fausses couches et les syndromes malformatifs (au nombre de 183), le pourcentage d'anomalies chromosomiques est évalué à 18%. Si l'on prend les fausses couches spontanées précoces à répétition (au nombre de 37), le pourcentage d'anomalies chromosomiques est évalué à 21,6%. Cette étude a été menée en Croatie. Probablement un biais de population pourrait expliquer cette différence de pourcentage.

Toujours dans cette étude, parmi les 158 hommes ayant été évalués, dans le cadre de l'azoospermie il y avait 6 anomalies chromosomiques sur 14, soit 42% ; dans le cadre de l'oligozoospermie il y avait 2 anomalies chromosomiques sur 12, soit 16%, et dans le cadre de l'oligoasthénozoospermie, 4 sur 11 soit 36% ; et si l'on prend les trois catégories, 6 anomalies sur 37, soit 16%. Parmi les 106 femmes ayant été évaluées, dans le cadre de l'aménorrhée il y avait 8 anomalies sur 37 soit 21% ; dans le cadre de l'oligoménorrhée, aucune anomalie sur les 5 ; et si l'on prend les deux indications ensemble, le rendement est de 19%. En somme, le rendement diagnostique chez les 158 hommes était de 17,7% et celui chez les 106 femmes était de 26,4%

Globalement dans leur étude, le taux diagnostique était de 13,1%, dans notre étude il était de 3,55%. Leur population est celle de la Croatie et il y avait 782 patients inclus dans un seul centre contre 1493 dans notre étude sur deux centres. Cela pourrait expliquer la différence de rendement diagnostique.

Si l'on regarde le taux diagnostique global dans d'autres études réalisées chez des patients dans le cadre de troubles de la reproduction, celui-ci varie d'environ 3 à 15% ; et le taux global de translocations réciproques équilibrés est inférieur à 1%. (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Taux diagnostiques globaux et des translocations réciproques équilibrées dans les différentes études.

Auteur et date	Pays	Taux diagnostique global	Taux diagnostique des translocations réciproques équilibrées
<i>Peschka et al. (1999)(257)</i>	Allemagne	15,68% (245/1562)	0,89% (14/1562)
<i>Clementini et al. (2005)(258)</i>	Italie	1,97% (82/4156)	0,67% (28/4156)
<i>Kayed et al. (2006)(259)</i>	Egypte	1,18% (64/1218)	0,98% (12/1218)
<i>Riccaboni et al. (2008)(260)</i>	Italie	1,37% (74/5420)	0,2% (11/5420)
<i>Butnariu et al. (2010)(261)</i>	Roumanie	8,08% (43/532)	0,37% (2/532)
<i>Liu et al. (2013)(262)</i>	Chine	3,84% (1150/22930)	Non renseigné
Notre étude	France	3,55% (53/1483)	0,74% (11/1483)

Le caryotype est l'examen de référence pour détecter les translocations chromosomiques, mais toutes ces études ont montré un rendement diagnostique qui reste faible. Des techniques complémentaires peuvent aider à repérer les anomalies non détectées, ou encore à mieux préciser les anomalies déjà retrouvées au caryotype.

B. Alternatives au caryotype

1. Hybridation fluorescente *in situ*.

L'hybridation par fluorescence *in situ* consiste en l'incorporation, par dénaturation thermique, de sondes d'ADN complémentaire marquées par un fluorochrome au niveau d'une séquence d'intérêt. On peut soit analyser les métaphases, soit analyser les noyaux en interphase. Cette technique permet de détecter les aneuploïdies et les translocations cryptiques, mais elle nécessite de connaître les *loci* a priori et d'utiliser des sondes fluorescentes spécifiques de ces *loci*. De plus la FISH métaphasique peut être longue à réaliser car elle nécessite une mise en culture au préalable(263,264). Ainsi, la FISH peut être un complément au caryotype plutôt qu'une alternative.

2. Analyse Chromosomique sur puces à ADN (ACPA)

L'analyse chromosomique sur puces à ADN (ACPA) compare l'ADN du patient à un ADN de référence (témoin normal ou standard). C'est une technique qui permet d'identifier des différences entre les deux génomes et de localiser des régions de déséquilibres génomique (variations du nombre de copies) chez le patient(253). L'ACPA présente une meilleure résolution que le caryotype (30 à 100 kilobases)(265), cependant elle ne permet pas de déterminer l'orientation des duplications (en tandem ou inversée), ni de détecter les triploïdies, ni les mosaïques faibles (inférieures à 10%). De plus, elle ne permet pas d'identifier les anomalies chromosomiques équilibrées(266), elle ne peut donc pas être une alternative au caryotype dans les troubles de la reproduction.

3. Séquençage de nouvelle génération (NGS).

3.1. Principes généraux

Le séquençage de nouvelle génération, aussi appelé séquençage de seconde génération, a été une vraie avancée technologique. Cette technologie repose sur la génération massive de données obtenues par cycles successifs d'incorporation de nucléotides, et l'émission de signaux (fluorescence, libération de protons, par exemple) qui sont ensuite convertis en information de séquence (267,268). Cette technologie permet le séquençage de molécules d'ADN ayant une taille de l'ordre de 250 à 800 paires de bases, d'où la terminologie de « séquençage *short-read* »(267). Trois types de séquençage de nouvelle génération peuvent être utilisés : le séquençage de génome entier (*WGS : whole genome sequencing*), le séquençage d'exome entier (*WES : whole exome sequencing*), et le séquençage ciblé sur un panel de gènes. Les deux derniers permettent le séquençage de la partie codante de l'ADN et sont ceux effectués en routine(269). Les technologies de séquençage d'ARN existent également mais elles ne seront pas abordées dans ce chapitre.

Les étapes principales sont les suivantes(268,270) :

- extraction d'ADN génomique ;
- préparation des librairies (c'est-à-dire l'ensemble des fragments d'ADN que l'on veut séquencer), par fragmentation suivie d'un enrichissement par capture (par hybridation des séquences de l'ADN cible avec des sondes de capture couplées à une molécule de biotine ; ces hybrides se fixent sur des billes magnétiques recouverte de streptavidine, et l'ADN non hybridé est éliminé par lavage), ou par amplification des régions d'intérêt par PCR, suivi d'une étape de digestion des amorces et de ligation des adaptateurs sur les amorces, ce qui va donner des librairies marquées par des « *barcodes* » ;
- amplification clonale. Elle peut s'effectuer en émulsion dans un mélange huile-eau (utilisée par les technologies Ion Torrent, SOLID (« *Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection* ») et Roche), ou par formation de ponts sur support solide (utilisée par la technologie Illumina) ;
- séquençage des produits d'amplification. Le séquençage peut se faire :
 - par pyroséquençage (technologie Roche) : chaque base incorporée est révélée par une réaction chimique luminescente détectée par un capteur photographique basé sur un dispositif à transfert de charges) ;
 - par terminateur réversible (technologie Illumina) : le séquençage est effectué sur un support solide, par l'ajout d'un mélange contenant toutes les bases associées chacune à un fluorophore différent. La détection de la position de chaque base se fait par une lecture laser ;
 - par ligation (SOLID - Life Technologies) : cycle de ligation et de clivages
 - par mesure ionique (technologie Ion Torrent – Life technologies) : à chaque polymérisation de nucléotides, un proton est libéré, entraînant une variation de pH détectée par des semi-conducteurs(270,271) ;
- analyse des données grâce à des outils informatiques permettant de déterminer la séquence, d'aligner la séquence par rapport au génome de référence, d'annoter et d'interpréter les variants.

3.2. Séquençage de nouvelle génération et variants de structure

Les variants de structure sont des variants de taille supérieure à 50 paires de bases. Il s'agit des larges insertions, délétions et duplications (anomalies déséquilibrées), des inversions et des translocations (anomalies équilibrées)(272). Des outils informatiques ont été développés pour la détection des variants de structure par le séquençage de nouvelle génération. Le panel de gènes et le séquençage d'exome entier permet de détecter les larges insertions ; le séquençage de génome permet de détecter en plus les anomalies équilibrées (inversions, translocations)(254). La technologie la plus couramment utilisée pour le séquençage de génome entier est le séquençage en paires *short-read* (Illumina)(272). Il s'agit de la fragmentation de l'ADN à des tailles inférieures à 1kb, de la ligation à chaque extrémité par des adaptateurs complémentaires des amorces de séquençage, puis le séquençage à partir des deux extrémités(273).

Les variants de structures sont détectés par quatre méthodes (274–276) (**Figure 12**) : 1) La méthode *read-pair*(*RP*) (lecture en paires) évalue l'étendue et l'orientation des lectures en paires par rapport au génome de référence. Les paires collectées sont celles dont l'étendue et/ou l'orientation sont incompatibles avec la taille attendue de l'insert de la bibliothèque de séquençage. 2) La méthode *read-depth* (*RD*) (lecture en profondeur) recherche les changements dans la quantité du génome à un intervalle génomique donné par rapport à une couverture voisine ou à l'échelle du génome. Cette méthode ne permet de voir que les délétions et les duplications. 3) La méthode *split-read* (*SR*) (lecture scindées) permet d'identifier directement les lectures de séquences qui couvrent les points de cassure au niveau du nucléotide concerné. Les alignements discontinus et incomplets par rapport au génome de référence sont indicatifs de variants de structure. 4) La méthode *de novo assembly* (*AS*) (assemblage *de novo*) consiste à ordonner et fusionner les fragments courts afin de reconstruire la séquence originale (normale ou réarrangée) à partir de laquelle les fragments courts ont été échantillonnés. En pratique, ces méthodes sont combinées pour une meilleure détection des variants de structure.

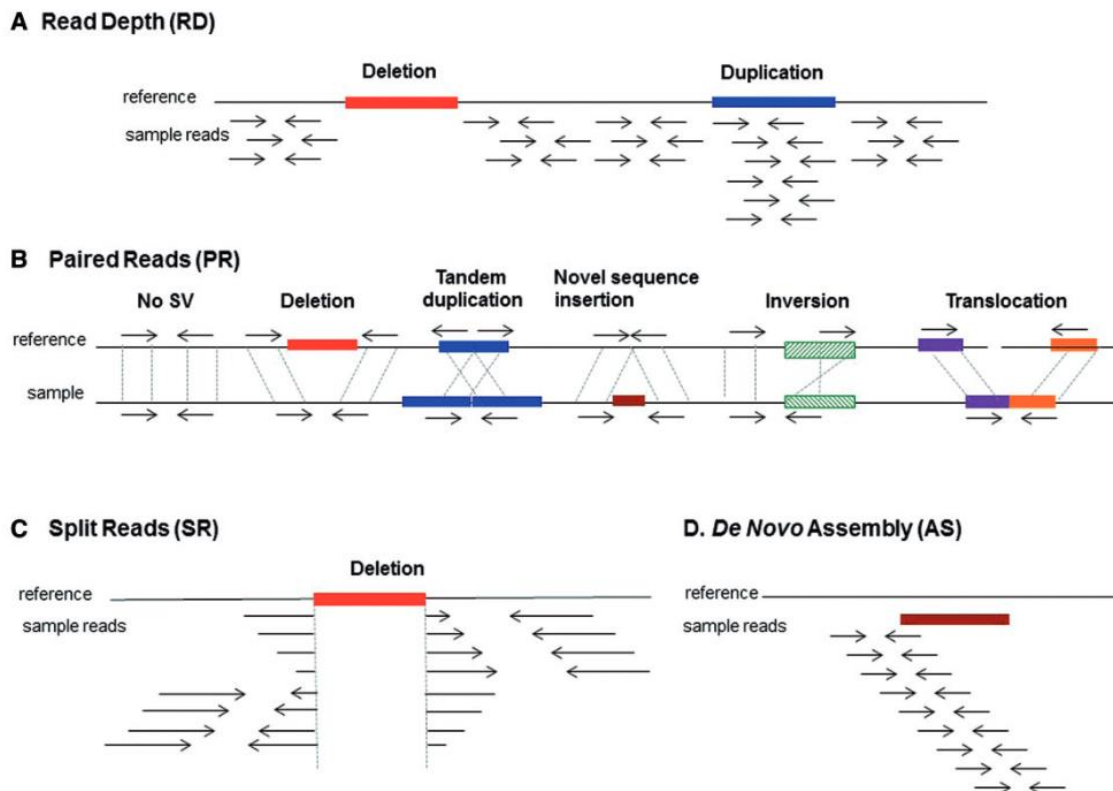


Figure 12. Méthode de détection des anomalies de structure pour le séquençage de nouvelle génération, d'après Geòrgia Escaramís et al (2015)(275).

A. Méthode *read-depth*. Permet de détecter les variants de copies (délétion, duplication). Les flèches noires représentent les *reads*. Dans le segment délété, il n'y a pas de *reads* par rapport au génome de référence ; dans le segment dupliqué, il y a des *reads* en excès.

B. Méthode *pair-reads*. (1) Echantillon normal : les paires sont bien orientées et bien étendues comme prévu sur l'insert de la bibliothèque. (2) Délétion : les paires sont bien orientées mais s'étendent plus loin que prévu sur l'insert. (3) Duplication en tandem : les paires sont bien orientées mais sont alignées dans un ordre inattendu (on s'attend à ce que la lecture la plus à gauche s'aligne sur le brin avant et la lecture la plus à droite dans le brin arrière). (4) Insertion d'une nouvelle séquence : les paires sont bien orientées mais s'étendent plus près que prévu sur l'insert. (5) Inversion : le premier *read* est bien orienté, le second est orienté en sens inverse et se rapproche du premier *read*. (6) Translocation : les paires de lectures sont mappées sur différents chromosomes

C. Méthode *split-reads*. Dans cet exemple, il s'agit d'une délétion ; les séquences lues indiquant le même point de cassure sont scindées au niveau du nucléotide où se produit le point de cassure.

D. Méthode de novo assembly. Dans cet exemple il s'agit de lecture d'échantillons provenant d'insertions de nouvelle séquence qui sont assemblés sans génome de référence séquencé.

3.3. Avantages et limites

Les coûts de ces technologies sont raisonnables, leur haut débit permet d'analyser plus de données que dans le séquençage Sanger, et le taux diagnostique pour les anomalies de structure varie de 10 à 70% selon les cohortes(254,277), cependant la taille des molécules séquencées reste limitée, il est difficile de séquencer les régions répétées de certains variants de structure, le taux de faux positifs varie de 10 à 89% selon les études pour la détection des variants de structure(277–279) et ces technologies nécessitent des étapes d'amplification et de préparation de libraires(264,278,280).

4. Séquençage de troisième génération (Long-Read Sequencing)

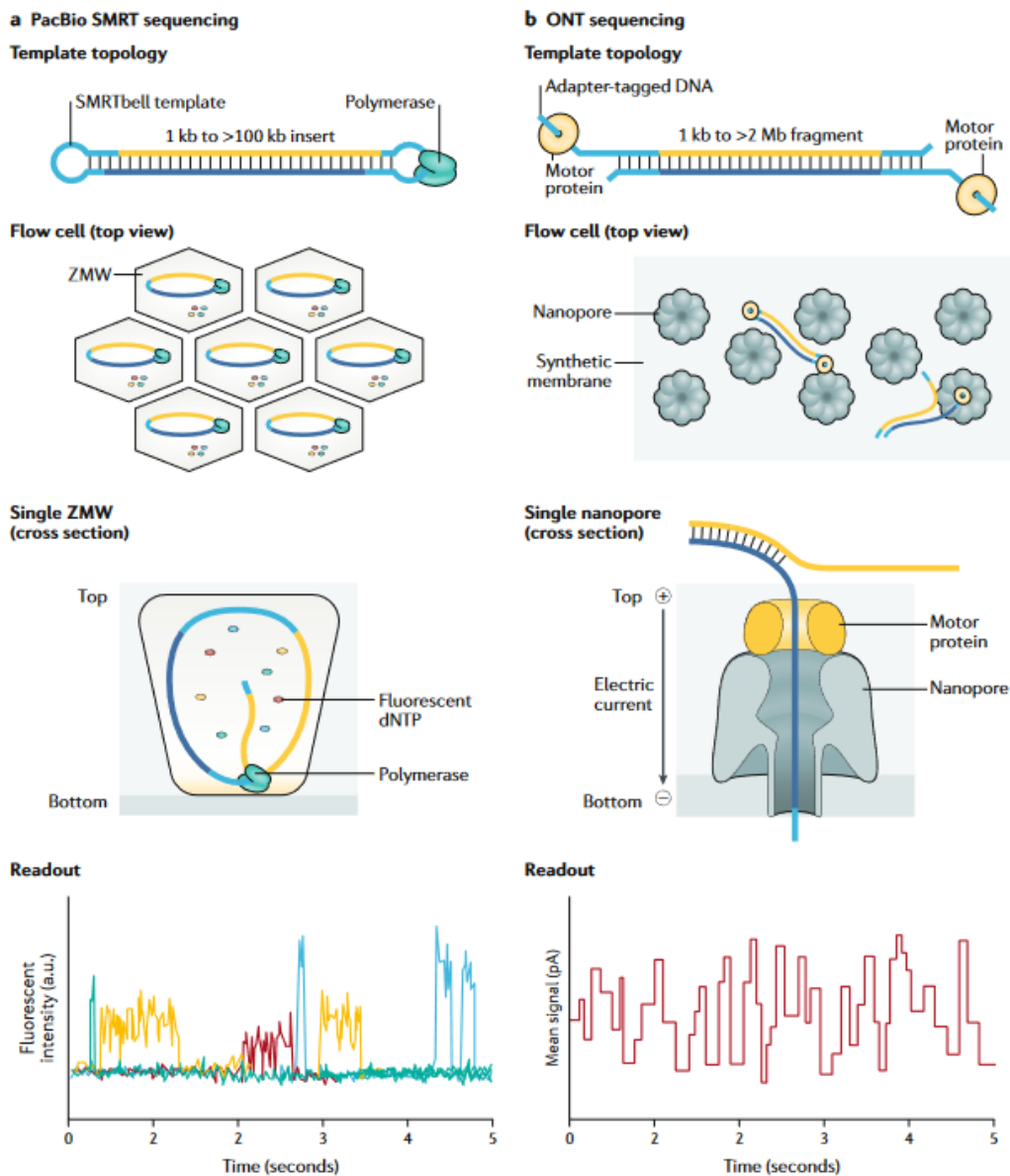
4.1. Principes généraux

Nous développerons ici deux technologies actuellement sur le marché : le séquençage mono-moléculaire en temps réel (*SMRT : Single-Molécule-Real-Time*) développé par *Pacific Biosciences (PacBio)*, et le séquençage de longues molécules développé par *Oxford Nanopore Technologies*. La **figure 13** représente ces deux technologies.

Dans le séquençage mono-moléculaire en temps réel, les étapes sont les suivantes : l'ADN est fragmenté puis lié à des adaptateurs de part et d'autre de ses extrémités, pour former une molécule appelée SMRTbell ; cette molécule est chargée sur une cellule SMRT et une étape de séquençage se fait grâce à la polymérase par incorporation des désoxynucléotides triphosphates marqués par fluorescence, un laser excite le fluorophore et une caméra enregistre l'émission. Cette technologie est capable de générer des lectures de plusieurs dizaines de kilobases(281).

Dans le séquençage développé par *Oxford Nanopore Technologies*, une molécule d'ADN linéaire double brin est fixée à un adaptateur de séquence, lui-même préchargé avec une molécule motrice. Ce mélange est chargé sur une cellule de flux contenant des nanopores intégrés dans une membrane synthétique. La protéine motrice déroule l'ADN chargé négativement et fait passer, grâce à un courant électrique, cet ADN à travers le pore à une vitesse contrôlée. Cela provoque des perturbations caractéristiques du courant qui sont analysées en temps réel pour déterminer la séquence des bases du brin d'ADN. Les lectures générées sont supérieures à une mégabase(281).

Figure 13. Représentation des technologies *PacBio* et *Oxford Nanopore Technologies* d'après Logsdon GA et al 2020. (281)



4.2. Avantages et limites




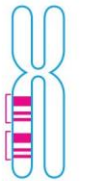
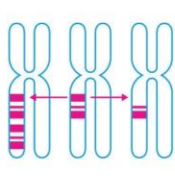
Le séquençage *long-read* permet de générer des lectures de plus grande taille que celles du *short-read* ; cette technologie ne nécessite pas d'étape de PCR. Cependant, malgré les prix raisonnables en termes d'analyse (de l'ordre de 65 à 200 dollars par gigabase pour le PacBio et de 22 à 90 dollars par gigabase pour l'ONT)(282), le prix de l'équipement est de l'ordre de 500 000 dollars(267), les outils informatiques sont plus complexes à utiliser que ceux du séquençage *short-read*, et les taux d'erreurs sont de l'ordre de 10 à 15% selon les études pour la détection des variants de structure(282).

5. Cartographie optique du génome (Technologie Bionano)

5.1. Généralités

La cartographie optique du génome est une technologie qui permet de détecter à la fois les aneuploïdies et les anomalies de structure équilibrées et non équilibrées, avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité. La technologie est basée sur la visualisation directe de très longues molécules d'ADN simple brin (ayant une taille de 250 kilobases jusque 2 mégabases). Cette technologie fait intervenir la microfluidique, la microscopie haute résolution et l'automatisation d'images. La résolution de cette technique est de 500 paires de bases pour la détection des délétions, insertions et duplications, de 30 kilobases pour la détection des inversions et 50 kilobases pour la détection des translocations (**Figure 14**)(264).

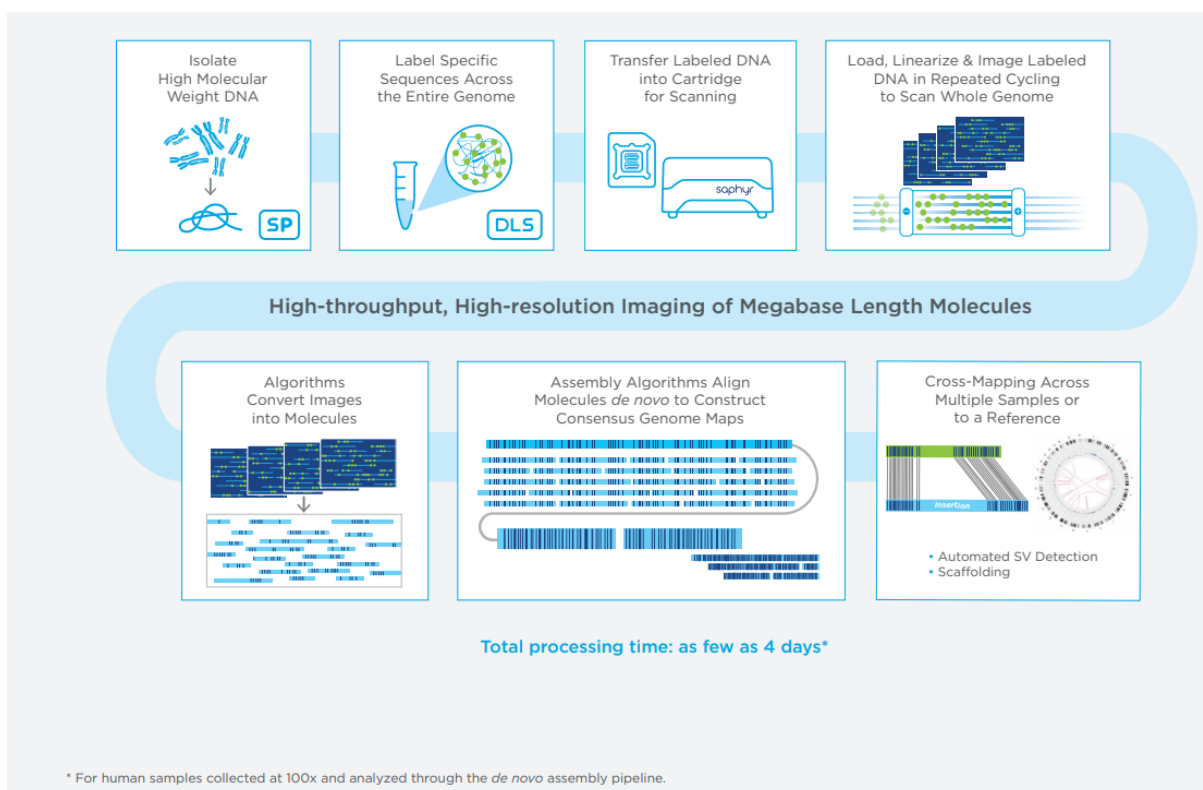
Figure 14. Performances analytiques annoncées du Bionano® pour la détection des anomalies d'après Bionano® Genomics(283).

				
Homozygous insertions/deletions larger than 500 bp	Balanced and unbalanced translocations larger than 50 kbp	Inversions larger than 30 kbp	Duplications larger than 30 kbp	Copy number variations larger than 500 kbp
99% sensitivity	95% sensitivity	99% sensitivity	97% sensitivity	97% sensitivity
False positives below 2%				

5.2. Etapes techniques(264,284,285).

Un tube EDTA est prélevé chez le patient, et adressé au laboratoire agréé (en général le laboratoire de biologie moléculaire). Une extraction d'ADN génomique de haut poids moléculaire est effectuée grâce au kit d'extraction appelé *Bionano® Prep™ Blood and Cell Culture DNA Isolation Kit*. Cet ADN génomique est ensuite marqué par fluorescence verte à des sites spécifiques, grâce au kit *DNA Labeling Kit- NLR5* et l'enzyme DLE (*Direct Label Enzyme*). Un lavage est effectué pour éliminer l'excès de fluorophore, suivi d'une contre-coloration de l'ADN pendant une nuit. L'ADN génomique marqué est ensuite chargé sur une puce Saphyr et analysé sur un instrument Saphyr. L'ADN génomique migre par électrophorèse à travers les nanocanaux de la puce Saphyr, puis les images sont capturées grâce à un microscope à fluorescence contenu dans l'instrument Saphyr, et converties en images électroniques de molécules d'ADN. Ces molécules sont par la suite filtrées et assemblées de novo en carte consensus selon un algorithme précis. Après cela, ces cartes consensus alignées par rapport au génome de référence humain GRCh38. La **figure 15** représente ces différentes étapes.

Figure 15. Etapes d'obtention des cartes consensus du génome d'un patient avec la technologie Bionano® d'après Bionano Genomics, 2022(286).



Les variants sont alors détectés grâce à deux modules : le module « *SV (structural variant) pipeline* » (**Figure 16**) qui compare les motifs générés au génome de référence, et le module « *CNV (copy number variant) pipeline* » (**Figure 17**) qui quantifie les molécules cartographiées et peut donc détecter des gains et/ou des pertes de plusieurs centaines de kilobases. La **figure 18** montre une représentation visuelle de la cartographie optique du génome. La **figure 19** montre un exemple de découverte d'un dérivé du chromosome 22 (comportant une translocation $t(11;22)$ déséquilibrée) chez un enfant, provenant d'une translocation $t(11;22)(q23.3;q11.2)$ équilibrée chez sa mère décrit par Sahajpal et al. 2021.

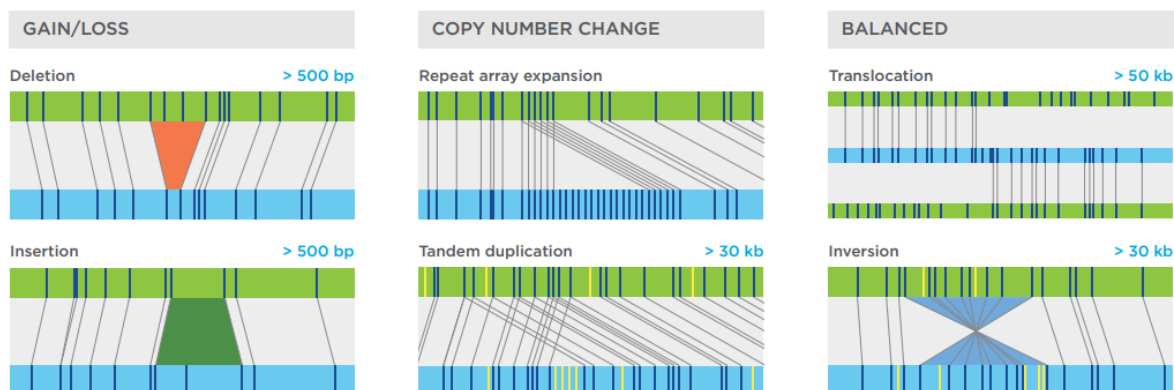


Figure 16. Représentation visuelle du module « *SV pipeline* » d’après Bionano Genomics, 2022 (286).

L’identification des anomalies de structure se fait par comparaison des motifs de marquage dans l’échantillon d’intérêt (couleur bleue) avec ceux du génome de référence (couleur verte).

Une délétion est caractérisée par la réduction de l’espace entre deux motifs de marquage (avec ou sans perte de certains motifs entre cet espace). De même une insertion est caractérisée par l’augmentation de cet espace.

Une expansion de certains motifs peut être observée (image en haut au milieu). Des duplications peuvent aussi être constatées et ce module donne l’orientation sur le sens de duplication, en tandem ou inversée (dans cet exemple, en tandem, car dans le même sens que celui du génome de référence).

Les translocations sont caractérisées par l’alignement partiel des cartes génomiques sur deux ou plusieurs emplacements génomiques de référence différents. Les inversions sont caractérisées par l’inversion des motifs de marquage de l’échantillon d’intérêt à un endroit donné par rapport à ceux du génome de référence.

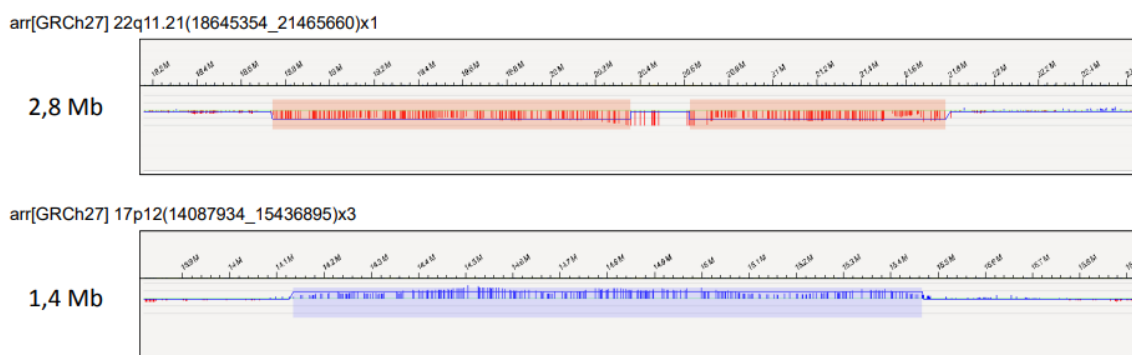


Figure 17. Représentation visuelle du module « *CNV pipeline* » d’après El Khattabi L. 2021(287).

Ce module permet de détecter les variants de copies. En haut les pertes représentées en rouge (perte 22q11.21), en bas les gains sont représentés en bleu (gain 17p12)

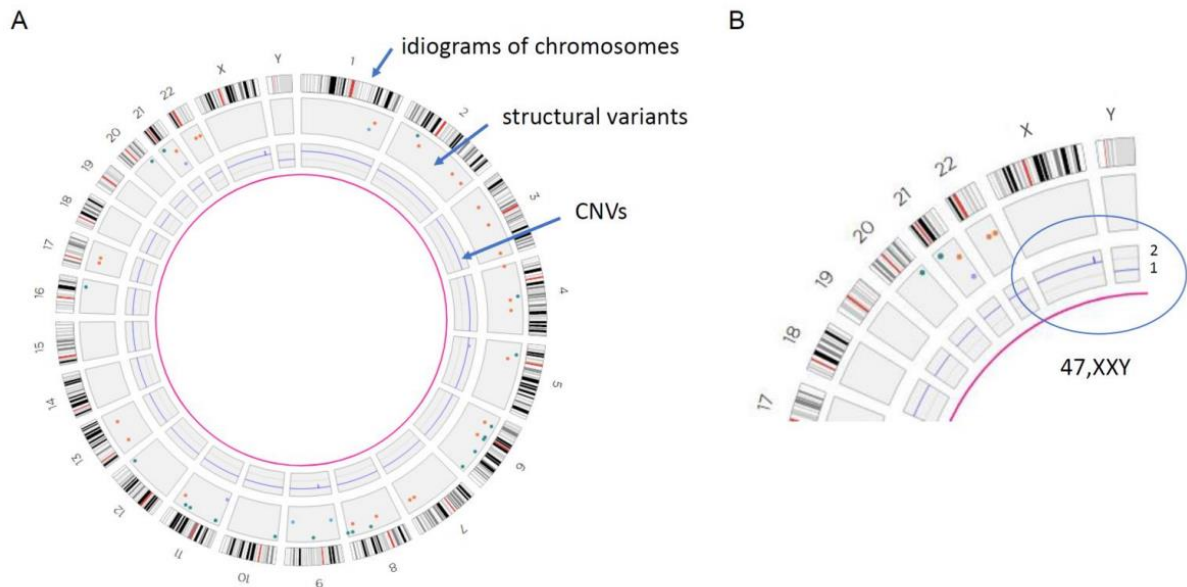


Figure 18. Représentation visuelle de la cartographie optique du génome(284).

A) Tracé circulaire à l'échelle du génome, représentant les 24 chromosomes (1 à 22, X et Y). La partie la plus extérieure du cercle représente les idéogrammes des chromosomes. Chaque chromosome contient, dans le sens des aiguilles d'une montre, le bras p, puis le centromère en rouge, puis le bras q. En dessous des idéogrammes, les anomalies de structure qui ont été détectées, et qui sont représentées par des points de différente couleur. Plus en dessous, les variants de copies sont représentées par des lignes de couleur bleue.

B) Un zoom est effectué pour visualiser les chromosomes sexuels. Dans la ligne bleu des variants de copies montre 1 copie du chromosome Y et 2 copies du chromosome X, ce qui correspond à une aneuploïdie gonosomique 47,XXY (Syndrome de Klinefelter).

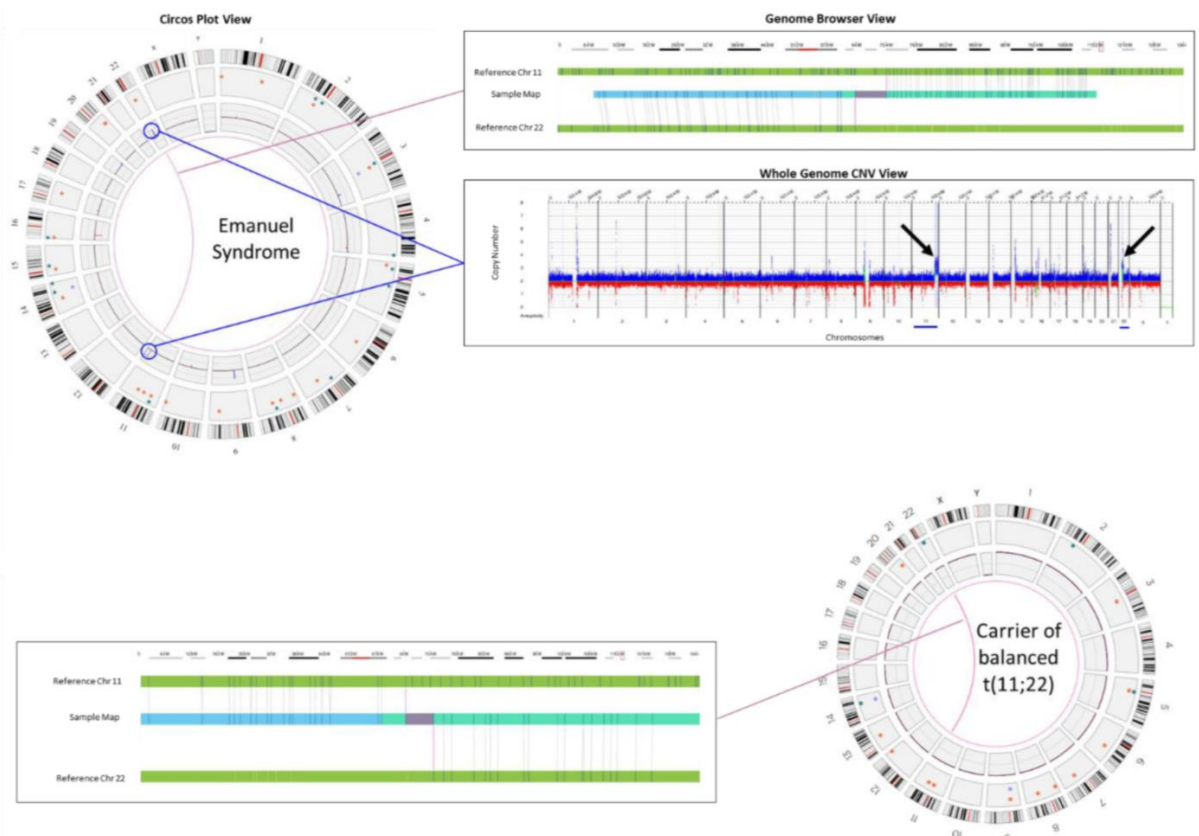


Figure 19. Représentation schématique de la translocation réciproque équilibrée t(11;22), adapté d'après Sahajpal et al. 2021(288).

En haut à gauche, le diagramme de la cartographie optique du génome d'un enfant est représenté. Les lignes bleues représentent les gains des chromosomes 11 et 22, La ligne violette reliant les chromosomes 11 et 22 représente la translocation t(11;22). En haut à droite, le module « *SV pipeline* » est représenté : l'échantillon du patient est aligné à la fois sur le chromosome 11 et le chromosome 22 du génome de référence, suggérant une translocation t(11;22) ; le module « *CNV pipeline* » montre des gains 11q et 22q, suggérant des trisomies partielles 11q et 22q, et donc suggérant que cet enfant porte une translocation t(11 ;22) déséquilibrée.

En bas, le graphe représenté est celui de la mère, porteuse de la translocation t(11;22)(q23.3;q11.2) mais sans gains 11 ni 22, car sa translocation est équilibrée.

Intégrant le tableau complet, l'enfant en question présente un syndrome d'Emanuel dans lequel il y a un dérivé du chromosome 22 survenant de la translocation t(11;22)(q23.3;q11.2) de la mère par un mécanisme de ségrégation 3:1(289).

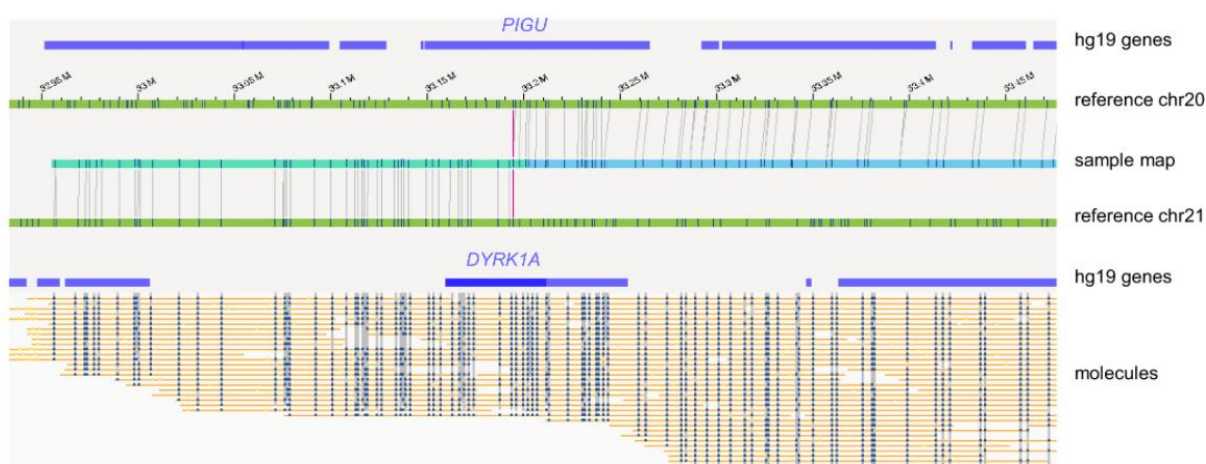
5.3. Performances du Bionano® rapportées dans certaines études.

L'étude de Mantere T. et al (2021) a porté sur la validation de la technique Bionano pour la détection des anomalies constitutionnelles. Il s'agissait d'une étude multicentrique (Pays-Bas, hôpital Cochin à Paris, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) des Hospices Civils de Lyon, et CHU de Clermont-Ferrand) portant sur 85 patients. Les motifs de consultation étaient : diagnostic prénatal, déficience intellectuelle et troubles du développement, malformations congénitales, troubles de la reproduction, antécédents familiaux d'anomalies chromosomiques. Les techniques standards (caryotype, hybridation fluorescente in situ et analyse chromosomique sur puce à ADN) ont été effectuées au préalable, et 100 anomalies ont été détectées au total (sept aneuploïdies, vingt délétions, dix-neuf duplications, trente-cinq translocations, six inversions, deux insertions, six isochromosomes, un chromosome en anneau

et quatre réarrangements complexes). La cartographie optique du génome a pu détecter toutes ces anomalies, ainsi le taux de concordance avec les autres techniques était de 100% (284).

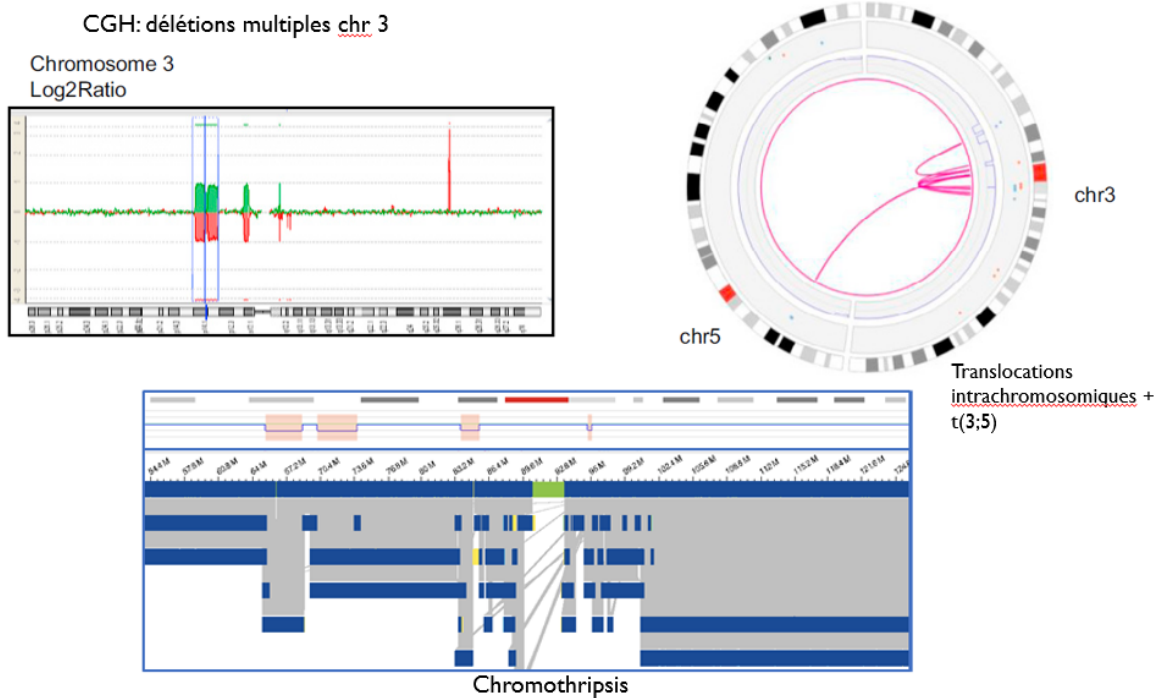
De plus, dans cette même étude la cartographie optique du génome a démontré sa capacité de redéfinir les points de cassure. Chez un individu ayant des troubles du spectre de l'autisme et une microcéphalie, le caryotype était 46,XY,t(20;21)(q11,2;q21). La cartographie optique du génome a redéfini le point de cassure q21 du chromosome 21 au point de cassure q22.3, et cette translocation équilibrée interrompait le gène *DYRK1A* (*dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A*) (**Figure 20**). Cela était concordant selon les auteurs puisque l'haploinsuffisance de *DYRK1A* est connue pour être associée à des troubles du spectre de l'autisme, une microcéphalie et une déficience intellectuelle(284,290–292).

Figure 20. Cartographie optique du génome chez un individu ayant des troubles du spectre de l'autisme avec microcéphalie, adaptée d'après (284).



Dans cette même étude, la cartographie du génome a révélé des réarrangements complexes additionnels chez un patient qui présentait au caryotype une translocation à 3 chromosomes [46,XY,t(3;13;5)(p11.1;p12;p14)], et des multiples délétions du chromosome 3 lors de l'analyse chromosomique sur puce à ADN. Ces réarrangements complexes faisaient suggérer un chromotripsis selon les auteurs (**Figure 21**)(280). Il s'agit d'un phénomène dans lequel de multiples réarrangements peuvent se produire au cours d'un seul événement cellulaire pour aboutir à la formation d'un ou de plusieurs chromosomes fortement remaniés. Cet événement surviendrait au cours de la période périconceptionnelle(293).

Figure 21. Réarrangements complexes chez un patient 46,XY,t(3;13;5)(p11.1;p12;p14) d'après Mantere T. et al. 2021(280).



Une étude de Zhang S. et al (2022), conduite à Shanghai, a été menée sur 11 couples ayant un caryotype normal et des produits de fausses couches présentant des réarrangements déséquilibrés incluant une délétion terminale et une duplication terminale. La cartographie du génome a retrouvé des anomalies de structure cryptiques, incluant 10 translocations équilibrées et 1 translocation déséquilibrée. Ces anomalies ont été confirmées par la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pour long fragments, le séquençage de nouvelle génération et le séquençage Sanger, ainsi que l'hybridation par fluorescence in situ. De plus, pour trois cas, des réarrangements complexes supplémentaires, se trouvant au sein des séquences répétées, ont été décelés par la cartographie optique du génome, ces réarrangements étaient difficiles à détecter par PCR long fragment. La cartographie du génome a donc la capacité d'identifier avec précision les réarrangements cryptiques(264).

5.4. Avantages et limites de la cartographie optique du génome.

La cartographie optique du génome présente plusieurs avantages. Elle permet la détection de réarrangements avec une résolution de base à 500 paires de bases. C'est une technique assez rapide, nécessitant trois jours entre l'extraction de l'ADN et la génération des cartes consensus et 1 à 2 jours pour l'analyse automatisée et manuelle des données. C'est une technique qui ne nécessite pas d'étapes d'amplification ni de préparation de bibliothèques au préalable. Les outils informatiques paraissent simples d'utilisation selon la société Bionano Genomics®. Elle réunit trois informations en un seul examen (variants de structure, variants de copies et analyse des contractions/expansions). En effet, deux études ont montré la capacité de la cartographie du génome à repérer la contraction d'une séquence d'ADN répétée constituée d'unités macrosatellites appelées D4Z4. Cette contraction est à l'origine d'une pathologie appelée dystrophie musculaire fascio-scapulo-humérale(294–296). Elle permet de détecter des réarrangements cryptiques avec une meilleure précision que les autres techniques, et de détecter

ou mieux préciser les réarrangements complexes(264). Sa résolution est 10 000 fois supérieure à celle du caryotype(287,297), et comparable à celle de l'ACPA(285). Le prix de l'analyse est raisonnable : en 2019, il était d'environ 500 dollars par échantillon(297). Le taux diagnostique attendu est de 30 à 40%(298).

Cependant, cette technique présente certaines limites. Lorsqu'elle doit détecter des anomalies de nombre, cela se fait uniquement par le module « *CNV pipeline* », basé sur une détection quantitative du génome. Ainsi la cartographie du génome ne peut pas détecter les triploïdies(285). De plus cette technologie présente des difficultés pour déceler les points de cassure des translocations situés dans les bras courts des chromosomes acrocentriques, ou dans l'hétérochromatine constitutive(284). En outre, elle nécessite la capture de très longues molécules d'ADN de plusieurs millions de bases. Sur le plan préanalytique cela se traduit par la nécessité de travailler à partir d'un prélèvement frais, ainsi, un prélèvement qui a été utilisé pour une technique de biologie moléculaire dont l'ADN a été congelé ne peut pas être utilisé, il faudrait prélever à nouveau le patient.

V. Conclusion et perspectives.

Le caryotype est l'examen de référence dans le cadre de troubles de la reproduction pour la détection des anomalies de structure, en particulier les translocations chromosomiques équilibrées, mais plusieurs études ont montré un taux diagnostique de l'ordre de 1%. L'ACPA ne permet pas de détecter les anomalies équilibrées. La FISH nécessite la connaissance au préalable des *loci* et ne peut donc être utilisée qu'en complément du caryotype. Le séquençage de nouvelle génération *short-read* est limité par la longueur des *reads* et par la nécessité d'une étape d'amplification par PCR et le séquençage long-read ne peut pas être utilisé en routine car les prix sont chers et les outils informatiques sont fastidieux d'utilisation. La cartographie optique du génome est une technologie qui peut être un bon complément au caryotype dans le cadre des troubles de la reproduction pour préciser les points de cassure et détecter les translocations chromosomiques équilibrés en dessous de la résolution de celle du caryotype. Elle peut apporter des informations complémentaires comme la détection des réarrangements complexes. Toutefois elle ne peut pas remplacer le caryotype pour ce qui est de la détection des triploïdies ou des translocations robertsoniennes. L'investissement peut être important au départ (150 000 dollars)(299), mais une fois le matériel acheté, les prix d'analyses semblent raisonnables. Certains auteurs travaillent sur des algorithmes qui permettraient, d'après eux, d'obtenir une résolution plus précise, à partir de 10 paires de bases(264,300). En somme, aucune technique n'est parfaite et ne peut se suffire à elle-même pour détecter avec un bon rendement les anomalies chromosomiques équilibrées. Une étude est en cours à l'hôpital Cochin dans le cadre du projet CHROMAPS pour évaluer le rendement diagnostique du caryotype, du séquençage de nouvelle génération *short-read* et du séquençage *long-read*, et de la cartographie optique du génome, mais aussi pour déterminer les limites de chaque technique, en particulier de la cartographie optique du génome.

VI. Bibliographie.

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertil Steril*. 2017 Sep;108(3):393–406.
2. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018 Dec 1;62:2–10.
3. Montpellier CHU de. Les différents types d'infertilité [Internet]. CHU de Montpellier : Site Internet. [cited 2022 Aug 22]. Available from: <https://www.chu-montpellier.fr/fr/fiv/les-differents-types-dinfertilite>
4. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2015 Apr 26;13:37.
5. Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2007 Jun;22(6):1506–12.
6. Slama R, Hansen O, Bohet A, Ducot B, Eijkemans M, Rosetta L, et al. L'Observatoire épidémiologique de la Fertilité en France : Un Outil de Description de la Fertilité de la Population Générale et de sa Sensibilité aux Facteurs Environnementaux. :15.
7. Van De Kaa DJ. Europe's second demographic transition. *Popul Bull*. 1987 Mar;42(1):1–59.
8. Lutz W, O'Neill BC, Scherbov S. Europe's Population at a Turning Point. *Science*. 2003 Mar 28;299(5615):1991–2.
9. van Noord-Zaadstra BM, Looman CW, Alsbach H, Habbema JD, te Velde ER, Karbaat J. Delaying childbearing: effect of age on fecundity and outcome of pregnancy. *BMJ*. 1991 Jun 8;302(6789):1361–5.
10. Eijkemans MJC, van Poppel F, Habbema DF, Smith KR, Leridon H, te Velde ER. Too old to have children? Lessons from natural fertility populations. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2014 Jun;29(6):1304–12.
11. Eisenberg ML, Meldrum D. Effects of age on fertility and sexual function. *Fertil Steril*. 2017 Feb;107(2):301–4.
12. Johnson SL, Dunleavy J, Gemmell NJ, Nakagawa S. Consistent age-dependent declines in human semen quality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2015 Jan 1;19:22–33.
13. Young J. Infertilité masculine: mécanismes, causes et exploration. 2016;80:8.
14. Lyons RA, Saridogan E, Djahanbakhch O. The reproductive significance of human Fallopian tube cilia. *Hum Reprod Update*. 2006 Aug 1;12(4):363–72.
15. Hart RJ. Physiological Aspects of Female Fertility: Role of the Environment, Modern Lifestyle, and Genetics. *Physiol Rev*. 2016 Jul;96(3):873–909.
16. Kurkowiak M, Ziętkiewicz E, Witt M. Recent advances in primary ciliary dyskinesia genetics. *J Med Genet*. 2015 Jan 1;52(1):1–9.

17. Corvol H, Taytard J, Tabary O, Le Rouzic P, Guillot L, Clement A. Les enjeux de la médecine personnalisée appliquée à la mucoviscidose. *Arch Pédiatrie*. 2015 Jul 1;22(7):778–86.
18. Gething MJ, Sambrook J. Protein folding in the cell. *Nature*. 1992 Jan;355(6355):33–45.
19. Hughan KS, Daley T, Rayas MS, Kelly A, Roe A. Female reproductive health in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2019 Oct 1;18:S95–104.
20. Chen H, Ruan YC, Xu WM, Chen J, Chan HC. Regulation of male fertility by CFTR and implications in male infertility. *Hum Reprod Update*. 2012 Nov 1;18(6):703–13.
21. Jones GH, Walshaw MJ. Potential impact on fertility of new systemic therapies for cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*. 2015 Oct;16 Suppl 1:25–7.
22. Ladores S, Bray LA, Brown J. Two Unanticipated Pregnancies While on Cystic Fibrosis Gene-Specific Drug Therapy. *J Patient Exp*. 2020 Feb 1;7(1):4–7.
23. Ladores S, Kazmerski TM, Rowe SM. A Case Report of Pregnancy During Use of Targeted Therapeutics for Cystic Fibrosis. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2017 Jan 1;46(1):72–7.
24. Eley A, Pacey AA, Galdiero M, Galdiero M, Galdiero F. Can Chlamydia trachomatis directly damage your sperm? *Lancet Infect Dis*. 2005 Jan 1;5(1):53–7.
25. Ochsendorf FR. Sexually transmitted infections: impact on male fertility. *Andrologia*. 2008;40(2):72–5.
26. McMillan A, Pakianathan M, Mao JH, Macintyre CC. Urethral stricture and urethritis in men in Scotland. *Genitourin Med*. 1994 Dec;70(6):403–5.
27. Møller UK, Streym S, Heickendorff L, Mosekilde L, Rejnmark L. Effects of 25OHD concentrations on chances of pregnancy and pregnancy outcomes: a cohort study in healthy Danish women. *Eur J Clin Nutr*. 2012 Jul;66(7):862–8.
28. Somigliana E, Paffoni A, Lattuada D, Colciaghi B, Filippi F, La Vecchia I, et al. Serum Levels of 25-Hydroxyvitamin D and Time to Natural Pregnancy. *Gynecol Obstet Invest*. 2016;81(5):468–71.
29. Stanford JB, Smith KR, Dunson DB. Vulvar mucus observations and the probability of pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2003 Jun;101(6):1285–93.
30. Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *N Engl J Med*. 1995 Dec 7;333(23):1517–21.
31. Jóźków P, Rossato M. The Impact of Intense Exercise on Semen Quality. *Am J Mens Health*. 2017 May 1;11(3):654–62.
32. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Nohr EA, Bonde JP, Sørensen TIA, Olsen J. Subfecundity in overweight and obese couples. *Hum Reprod*. 2007 Jun 1;22(6):1634–7.
33. Hamamah PS, Berlioux MS. Rapport sur les causes d'infertilité. :137.
34. Katib A. Mechanisms linking obesity to male infertility. *Cent Eur J Urol*. 2015;68(1):79–85.
35. Gaskins AJ, Rich-Edwards JW, Lawson CC, Schernhammer ES, Missmer SA, Chavarro JE. Work schedule and physical factors in relation to fecundity in nurses. *Occup Environ Med*. 2015 Nov 1;72(11):777–83.

36. Clarke RN, Klock SC, Geoghegan A, Travassos DE. Relationship between psychological stress and semen quality among in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod.* 1999 Mar 1;14(3):753–8.
37. Kreuz MLE, Rose RM, Jennings CJR. Suppression of Plasma Testosterone Levels and Psychological Stress: A Longitudinal Study of Young Men in Officer Candidate School. *Arch Gen Psychiatry.* 1972 May 1;26(5):479–82.
38. Abu-Musa AA, Kobeissi L, Hannoun AB, Inhorn MC. Effect of war on fertility: a review of the literature. *Reprod Biomed Online.* 2008 Jan 1;17:43–53.
39. Dechanet C, Anahory T, Mathieu Daude JC, Quantin X, Reyftmann L, Hamamah S, et al. Effects of cigarette smoking on reproduction. *Hum Reprod Update.* 2011 Feb;17(1):76–95.
40. Vine MF, Tse CKJ, Hu PC, Young Truong K. Cigarette smoking and semen quality. *Fertil Steril.* 1996 Apr 1;65(4):835–42.
41. Künzle R, Mueller MD, Hänggi W, Birkhäuser MH, Drescher H, Bersinger NA. Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples. *Fertil Steril.* 2003 Feb 1;79(2):287–91.
42. Zenzes MT, Bielecki R, Reed TE. Detection of benzo(a)pyrene diol epoxide–DNA adducts in sperm of men exposed to cigarette smoke. *Fertil Steril.* 1999 Aug 1;72(2):330–5.
43. Wang H, Dey SK, Maccarrone M. Jekyll and Hyde: Two Faces of Cannabinoid Signaling in Male and Female Fertility. *Endocr Rev.* 2006 Aug 1;27(5):427–48.
44. Alvarez S. Do some addictions interfere with fertility? *Fertil Steril.* 2015 Jan 1;103(1):22–6.
45. Park B, McPartland JM, Glass M. Cannabis, cannabinoids and reproduction. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2004 Feb 1;70(2):189–97.
46. Astley SJ, Bailey D, Talbot C, Clarren SK. Fetal alcohol syndrome (FAS) primary prevention through fas diagnosis: II. A comprehensive profile of 80 birth mothers of children with FAS. *Alcohol Alcohol Oxf Oxf.* 2000 Oct;35(5):509–19.
47. Day NL, Jasperse D, Richardson G, Robles N, Sambamoorthi U, Taylor P, et al. Prenatal exposure to alcohol: effect on infant growth and morphologic characteristics. *Pediatrics.* 1989 Sep;84(3):536–41.
48. Gill J. THE EFFECTS OF MODERATE ALCOHOL CONSUMPTION ON FEMALE HORMONE LEVELS AND REPRODUCTIVE FUNCTION. *Alcohol Alcohol.* 2000 Sep 1;35(5):417–23.
49. Marinelli D, Gaspari L, Pedotti P, Taioli E. Mini-review of studies on the effect of smoking and drinking habits on semen parameters. *Int J Hyg Environ Health.* 2004 Jan 1;207(3):185–92.
50. Martini AC, Molina RI, Estofán D, Senestrari D, Fiol de Cuneo M, Ruiz RD. Effects of alcohol and cigarette consumption on human seminal quality. *Fertil Steril.* 2004 Aug 1;82(2):374–7.
51. Villalta J, Ballecà JL, Nicolás JM, Martínez de Osaba MJ, Antúnez E, Pimentel C. Testicular Function in Asymptomatic Chronic Alcoholics: Relation to Ethanol Intake. *Alcohol Clin Exp Res.* 1997;21(1):128–34.
52. Robin G. Mieux comprendre le syndrome des ovaires polykystiques. *Sages-Femmes.* 2022 Mar 1;21(2):36–9.

53. Dewailly D, Robin G, Peigne M, Decanter C, Pigny P, Catteau-Jonard S. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Hum Reprod Update*. 2016 Nov;22(6):709–24.
54. Smet M, McLennan A. Rotterdam criteria, the end. *Australas J Ultrasound Med*. 2018 May 17;21(2):59–60.
55. Borghese B, Santulli P, Marcellin L, Chapron C. Définition, description, formes anatomo-cliniques, pathogénèse et histoire naturelle de l'endométriose, RPC Endométriose CNGOF-HAS. *Gynécologie Obstétrique Fertil Sénologie*. 2018 Mar 1;46(3):156–67.
56. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 May;10(5):261–75.
57. de Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *The Lancet*. 2010 Aug 28;376(9742):730–8.
58. Siristatidis C, Vaidakis D, Rigos I, Chrelias G, Papantoniou N. Leiomyomas and infertility. *Minerva Ginecol*. 2016 Jun;68(3):283–96.
59. Ben-Nagi J, Miell J, Yazbek J, Holland T, Jurkovic D. The effect of hysteroscopic polypectomy on the concentrations of endometrial implantation factors in uterine flushings. *Reprod Biomed Online*. 2009 Nov 1;19(5):737–44.
60. Huyghe E, Boitrelle F, Methorst C, Mieusset R, Ray PF, Akakpo W, et al. Recommandations de l'AFU et de la SALF concernant l'évaluation de l'homme infertile. *Prog En Urol*. 2021 Mar 1;31(3):131–44.
61. Robin G, Boitrelle F, Leroy X, Peers MC, Marcelli F, Rigot JM, et al. Bilan d'une azoospermie et évaluation histologique de la spermatogénèse. *Ann Pathol*. 2010 Jun 1;30(3):182–95.
62. Organisation mondiale de la Santé. Liste interinstitutions de dispositifs médicaux prioritaires pour des interventions essentielles en santé reproductive, maternelle, néonatale et infantile [Internet]. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2017 [cited 2022 Aug 26]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255208>
63. Colpi GM, Francavilla S, Haidl G, Link K, Behre HM, Goulis DG, et al. European Academy of Andrology guideline Management of oligo-astheno-teratozoospermia. *Andrology*. 2018;6(4):513–24.
64. Choy JT, Amory JK. Nonsurgical Management of Oligozoospermia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Jun 25;105(12):e4194–207.
65. Bhasin S. Approach to the Infertile Man. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jun 1;92(6):1995–2004.
66. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018 Feb 17;16(1):14.
67. Berglund A, Viuff MH, Skakkebaek A, Chang S, Stochholm K, Gravholt CH. Changes in the cohort composition of turner syndrome and severe non-diagnosis of Klinefelter, 47,XXX and 47,XYY syndrome: a nationwide cohort study. *Orphanet J Rare Dis*. 2019 Jan 14;14:16.
68. Groth KA, Skakkebaek A, Høst C, Gravholt CH, Bojesen A. Clinical review: Klinefelter syndrome--a clinical update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Jan;98(1):20–30.

69. Herlihy AS, Halliday JL, Cock ML, McLachlan RI. The prevalence and diagnosis rates of Klinefelter syndrome: an Australian comparison. *Med J Aust.* 2011;194(1):24–8.
70. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *The Lancet.* 2004 Jul 17;364(9430):273–83.
71. Plotton I, Brosse A, Cuzin B, Lejeune H. Klinefelter syndrome and TESE-ICSI. *Ann Endocrinol.* 2014 May 1;75(2):118–25.
72. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014 Jan;2(1):5–19.
73. Biancalana V, Glaeser D, McQuaid S, Steinbach P. EMQN best practice guidelines for the molecular genetic testing and reporting of fragile X syndrome and other fragile X-associated disorders. *Eur J Hum Genet.* 2015 Apr;23(4):417–25.
74. Eurofins Biomnis [Internet]. Eurofins Biomnis. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.eurofins-biomnis.com/services/referentiel-des-examens/page/DELY/#>
75. Ben Rhouma M, Okutman O, Muller J, Benkhalifa M, Bahri H, Ben Rhouma K, et al. Aspect génétique de l'infertilité masculine : de la recherche à la clinique. *Gynécologie Obstétrique Fertil Sénologie.* 2019 Jan 1;47(1):54–62.
76. F B. Cryptorchidie : quel bilan et quelle prise en charge ? [Internet]. *Réalités Pédiatriques.* 2013 [cited 2022 Sep 5]. Available from: <https://www.realites-pediatriques.com/cryptorchidie-quel-bilan-et-quelle-prise-en-charge/>
77. Robin G, Boitrelle F, Marcelli F, Colin P, Leroy-Martin B, Mitchell V, et al. Cryptorchidie : de la physiopathologie à l'infertilité. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2010 Oct 1;38(10):588–99.
78. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. European Association of Urology Guidelines on Male Infertility: The 2012 Update. *Eur Urol.* 2012 Aug 1;62(2):324–32.
79. Jensen CFS, Østergren P, Dupree JM, Ohl DA, Sønksen J, Fode M. Varicocele and male infertility. *Nat Rev Urol.* 2017 Sep;14(9):523–33.
80. Christin-Maitre S, Pasquier M, Donadille B, Bouchard P. L'insuffisance ovarienne prématurée. *Ann Endocrinol.* 2006 Dec;67(6):557–66.
81. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update.* 2005 Jul 1;11(4):391–410.
82. Ebrahimi M, Akbari Asbagh F. Pathogenesis and Causes of Premature Ovarian Failure: An Update. *Int J Fertil Steril.* 2011;5(2):54–65.
83. van Kasteren YM, Schoemaker J. Premature ovarian failure: a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. *Hum Reprod Update.* 1999 Oct;5(5):483–92.
84. Akbari Asbagh F, Ebrahimi M. A case report of spontaneous pregnancy during hormonal replacement therapy for premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med.* 2011;9(1):47–9.

85. Snieder H, MacGregor AJ, Spector TD. Genes control the cessation of a woman's reproductive life: a twin study of hysterectomy and age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Jun;83(6):1875–80.
86. Treloar SA, Do KA, Martin NG. Genetic influences on the age at menopause. *The Lancet.* 1998 Oct 3;352(9134):1084–5.
87. McKinlay SM. The normal menopause transition: an overview. *Maturitas.* 1996 Mar;23(2):137–45.
88. Matikainen TM, Moriyama T, Morita Y, Perez GI, Korsmeyer SJ, Sherr DH, et al. Ligand Activation of the Aromatic Hydrocarbon Receptor Transcription Factor Drives Bax-Dependent Apoptosis in Developing Fetal Ovarian Germ Cells. *Endocrinology.* 2002 Feb 1;143(2):615–20.
89. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol.* 1986 Apr;67(4):604–6.
90. Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Gold EB, Santoro N. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition*. *Hum Reprod.* 2003 Jan 1;18(1):199–206.
91. Progetto Menopausa Italia Study Group. Premature ovarian failure: frequency and risk factors among women attending a network of menopause clinics in Italy. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2003 Jan;110(1):59–63.
92. Graff A, Christin-Maitre S. Insuffisance ovarienne prématurée. *EMC - Gynécologie.* 2017;0(0):1–9.
93. Mishra GD, Pandeya N, Dobson AJ, Chung HF, Anderson D, Kuh D, et al. Early menarche, nulliparity and the risk for premature and early natural menopause. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2017 Mar 1;32(3):679–86.
94. Kalantaridou SN, Davis SR, Nelson LM. PREMATURE OVARIAN FAILURE. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998 Dec 1;27(4):989–1006.
95. Hendrix SL. Bilateral oophorectomy and premature menopause. *Am J Med.* 2005 Dec 19;118(12, Supplement 2):131–5.
96. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson S, Nelson J. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: Implications for forecasting menopause. *Hum Reprod Oxf Engl.* 1992 Dec 1;7:1342–6.
97. Qin Y, Jiao X, Simpson JL, Chen ZJ. Genetics of primary ovarian insufficiency: new developments and opportunities. *Hum Reprod Update.* 2015 Dec;21(6):787–808.
98. Candidate Gene - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cited 2022 Aug 25]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/candidate-gene>
99. Sybert VP, McCauley E. Turner's syndrome. *N Engl J Med.* 2004 Sep 16;351(12):1227–38.
100. Bucerzan S, Miclea D, Popp R, Alkhzouz C, Lazea C, Pop IV, et al. Clinical and genetic characteristics in a group of 45 patients with Turner syndrome (monocentric study). *Ther Clin Risk Manag.* 2017 May 4;13:613–22.

101. Bernard V, Donadille B, Zenaty D, Courtillot C, Salenave S, Brac de la Perrière A, et al. Spontaneous fertility and pregnancy outcomes amongst 480 women with Turner syndrome. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2016 Apr;31(4):782–8.
102. Goswami R, Goswami D, Kabra M, Gupta N, Dubey S, Dadhwal V. Prevalence of the triple X syndrome in phenotypically normal women with premature ovarian failure and its association with autoimmune thyroid disorders. *Fertil Steril*. 2003 Oct;80(4):1052–4.
103. Wigby K, D'Epagnier C, Howell S, Reicks A, Wilson R, Cordeiro L, et al. Expanding the phenotype of Triple X syndrome: A comparison of prenatal versus postnatal diagnosis. *Am J Med Genet A*. 2016 Nov;170(11):2870–81.
104. Rizzolio F, Bione S, Sala C, Goegan M, Gentile M, Gregato G, et al. Chromosomal rearrangements in Xq and premature ovarian failure: mapping of 25 new cases and review of the literature. *Hum Reprod*. 2006 Jun 1;21(6):1477–83.
105. Di-Battista A, Moysés-Oliveira M, Melaragno MI. Genetics of premature ovarian insufficiency and the association with X-autosome translocations. *Reproduction*. 2020 Oct 1;160(4):R55–64.
106. Mumm S, Herrera L, Waeltz PW, Scardovi A, Nagaraja R, Esposito T, et al. χ /Autosomal Translocations in the χ q Critical Region Associated with Premature Ovarian Failure Fall within and outside Genes. *Genomics*. 2001 Aug 1;76(1):30–6.
107. Hoyos LR, Thakur M. Fragile X premutation in women: recognizing the health challenges beyond primary ovarian insufficiency. *J Assist Reprod Genet*. 2017 Mar;34(3):315–23.
108. Wittenberger MD, Hagerman RJ, Sherman SL, McConkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW, et al. The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril*. 2007 Mar;87(3):456–65.
109. Rohr J, Allen EG, Charen K, Giles J, He W, Dominguez C, et al. Anti-Mullerian hormone indicates early ovarian decline in fragile X mental retardation (FMR1) premutation carriers: a preliminary study. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2008 May;23(5):1220–5.
110. Murray A, Webb J, Dennis N, Conway G, Morton N. Microdeletions in FMR2 may be a significant cause of premature ovarian failure. *J Med Genet*. 1999 Oct;36(10):767–70.
111. Persani L, Rossetti R, Cacciatore C. Genes involved in human premature ovarian failure. *J Mol Endocrinol*. 2010 Nov;45(5):257–79.
112. Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *Am J Hum Genet*. 2004 Jul;75(1):106–11.
113. Rossetti R, Ferrari I, Bonomi M, Persani L. Genetics of primary ovarian insufficiency. *Clin Genet*. 2017 Feb;91(2):183–98.
114. Crisponi L, Deiana M, Loi A, Chiappe F, Uda M, Amati P, et al. The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet*. 2001 Feb;27(2):159–66.
115. Elzaiat M, Todeschini AL, Caburet S, Veitia RA. The genetic make-up of ovarian development and function: the focus on the transcription factor FOXL2. *Clin Genet*. 2017 Feb;91(2):173–82.

116. Reato G, Morlin L, Chen S, Furmaniak J, Smith BR, Masiero S, et al. Premature ovarian failure in patients with autoimmune Addison's disease: clinical, genetic, and immunological evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;96(8):E1255-1261.
117. Newman WG, Friedman TB, Conway GS, Demain LA. Perrault Syndrome. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2022 Jul 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK242617/>
118. Rubio-Gozalbo ME, Gubbels CS, Bakker JA, Menheere PPCA, Wodzig WKWH, Land JA. Gonadal function in male and female patients with classic galactosemia. *Hum Reprod Update.* 2010 Apr;16(2):177-88.
119. Freeman SH, Hyman BT, Sims KB, Hedley-Whyte ET, Vossough A, Frosch MP, et al. Adult Onset Leukodystrophy with Neuroaxonal Spheroids: Clinical, Neuroimaging and Neuropathologic Observations. *Brain Pathol.* 2008 Apr 15;19(1):39-47.
120. Fogli A, Rodriguez D, Eymard-Pierre E, Bouhour F, Labauge P, Meaney BF, et al. Ovarian Failure Related to Eukaryotic Initiation Factor 2B Mutations. *Am J Hum Genet.* 2003 Jun;72(6):1544-50.
121. Luoma P, Melberg A, Rinne JO, Kaukonen JA, Nupponen NN, Chalmers RM, et al. Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase gamma mutations: clinical and molecular genetic study. *Lancet Lond Engl.* 2004 Sep 4;364(9437):875-82.
122. Varon R, Demuth I, Chrzanowska KH. Nijmegen Breakage Syndrome. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2022 Jul 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1176/>
123. Chrzanowska K, Szarras-Czapnik M, Gajdulewicz M, Kalina M, Gajtko-Metera M, Walewska-Wolf M, et al. High Prevalence of Primary Ovarian Insufficiency in Girls and Young Women with Nijmegen Breakage Syndrome: Evidence from a Longitudinal Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 May 1;95:3133-40.
124. Lourenço D, Brauner R, Lin L, De Perdigo A, Weryha G, Muresan M, et al. Mutations in NR5A1 Associated with Ovarian Insufficiency. *N Engl J Med.* 2009 Mar 19;360(12):1200-10.
125. Qin Y, Jiao X, Simpson JL, Chen ZJ. Genetics of primary ovarian insufficiency: new developments and opportunities. *Hum Reprod Update.* 2015 Nov;21(6):787-808.
126. Philibert P, Paris F, Lakhil B, Audran F, Gaspari L, Saâd A, et al. NR5A1 (SF-1) gene variants in a group of 26 young women with XX primary ovarian insufficiency. *Fertil Steril.* 2013 Feb;99(2):484-9.
127. Cunniff C, Bassetti JA, Ellis NA. Bloom's Syndrome: Clinical Spectrum, Molecular Pathogenesis, and Cancer Predisposition. *Mol Syndromol.* 2017 Jan;8(1):4-23.
128. McPherson E, Turner L, Zador I, Reynolds K, Macgregor D, Giampietro PF. Ovarian failure and dilated cardiomyopathy due to a novel lamin mutation. *Am J Med Genet A.* 2009 Feb 15;149A(4):567-72.
129. Belgorosky A, Guercio G, Pepe C, Saraco N, Rivarola MA. Genetic and clinical spectrum of aromatase deficiency in infancy, childhood and adolescence. *Horm Res.* 2009;72(6):321-30.

130. King SR, Bhangoo A, Stocco DM. Functional and physiological consequences of StAR deficiency: role in lipid congenital adrenal hyperplasia. *Endocr Dev.* 2011;20:47–53.
131. Chand AL, Harrison CA, Shelling AN. Inhibin and premature ovarian failure. *Hum Reprod Update.* 2010 Feb;16(1):39–50.
132. INHA inhibin subunit alpha [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [cited 2022 Aug 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3623#>
133. Deffieux X, Antoine JM. Inhibines, activines et hormone anti-müllérienne : structure, signalisation, rôles et valeur prédictive en médecine de la reproduction. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2003 Nov 1;31(11):900–11.
134. Hyon C, Mansour-Hendili L, Chantot-Bastaraud S, Donadille B, Kerlan V, Dodé C, et al. Deletion of CPEB1 Gene: A Rare but Recurrent Cause of Premature Ovarian Insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;
135. Jiao W, Zhao S, Liu R, Guo T, Qin Y. CPEB1 deletion is not a common explanation for premature ovarian insufficiency in a Chinese cohort. *J Ovarian Res.* 2020 Apr 30;13:49.
136. Caburet S, Arboleda VA, Llano E, Overbeek PA, Barbero JL, Oka K, et al. Mutant cohesin in premature ovarian failure. *N Engl J Med.* 2014 Mar 6;370(10):943–9.
137. Wang J, Zhang W, Jiang H, Wu BL, Primary Ovarian Insufficiency Collaboration. Mutations in HFM1 in recessive primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med.* 2014 Mar 6;370(10):972–4.
138. Mandon-Pépin B, Touraine P, Kuttann F, Derbois C, Rouxel A, Matsuda F, et al. Genetic investigation of four meiotic genes in women with premature ovarian failure. *Eur J Endocrinol.* 2008;
139. Tenenbaum-Rakover Y, Weinberg-Shukron A, Renbaum P, Lobel O, Eideh H, Gulsuner S, et al. Minichromosome maintenance complex component 8 (MCM8) gene mutations result in primary gonadal failure. *J Med Genet.* 2015 Jun;52(6):391–9.
140. RESERVES IUTD. Orphanet: Anomalie du développement sexuel 46,XY insuffisance surrénalienne par déficit en CYP11A1 [Internet]. [cited 2022 Aug 25]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=17771&MISSING%20CONTENT=Anomalie-du-developpement-sexuel-46-XY-insuffisance-surrenalienne-par-deficit-en-CYP11A1&search=Disease_Search_Simple&title=Anomalie%20du%20d%E9veloppement%20sexuel%2046,XY-insuffisance%20surr%E9nalienne%20par%20d%E9ficit%20en%20CYP11A1
141. Bosson D, Wolter R, Toppet M, Franckson JRM, de Peretti E, Forest MG. Partial 17, 20-desmolase and 17 α -hydroxylase deficiencies in a 16-year-old boy. *J Endocrinol Invest.* 1988 Jul 1;11(7):527–33.
142. Aittomäki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell.* 1995 Sep 22;82(6):959–68.
143. Bouilly J, Beau I, Barraud S, Bernard V, Azibi K, Fagart J, et al. Identification of Multiple Gene Mutations Accounts for a new Genetic Architecture of Primary Ovarian Insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Dec;101(12):4541–50.

144. Lechowska A, Bilinski S, Choi Y, Shin Y, Kloc M, Rajkovic A. Premature ovarian failure in nobox-deficient mice is caused by defects in somatic cell invasion and germ cell cyst breakdown. *J Assist Reprod Genet.* 2011 Jul;28(7):583–9.
145. Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr Rev.* 2004 Feb;25(1):72–101.
146. Kumar R, Alwani M, Kosta S, Kaur R, Agarwal S. BMP15 and GDF9 Gene Mutations in Premature Ovarian Failure. *J Reprod Infertil.* 2017;18(1):185–9.
147. Morgan S, Lopes F, Gourley C, Anderson RA, Spears N. Cisplatin and Doxorubicin Induce Distinct Mechanisms of Ovarian Follicle Loss; Imatinib Provides Selective Protection Only against Cisplatin. *PLOS ONE.* 2013 Jul 29;8(7):e70117.
148. Overbeek A, van den Berg MH, van Leeuwen FE, Kaspers GJL, Lambalk CB, van Dulmen-den Broeder E. Chemotherapy-related late adverse effects on ovarian function in female survivors of childhood and young adult cancer: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2017 Feb;53:10–24.
149. van der Kaaij MAE, Heutte N, Meijnders P, Abeilard-Lemoisson E, Spina M, Moser EC, et al. Premature ovarian failure and fertility in long-term survivors of Hodgkin’s lymphoma: a European Organisation for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Group and Groupe d’Etude des Lymphomes de l’Adulte Cohort Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2012 Jan 20;30(3):291–9.
150. Levine J, Canada A, Stern CJ. Fertility preservation in adolescents and young adults with cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2010 Nov 10;28(32):4831–41.
151. Wallace WHB, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005 Jul 1;62(3):738–44.
152. Thomas-Teinturier C, El Fayeck C, Oberlin O, Pacquement H, Haddy N, Labbé M, et al. Age at menopause and its influencing factors in a cohort of survivors of childhood cancer: earlier but rarely premature. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2013 Feb;28(2):488–95.
153. Giampaolino P, Morra I, Della Corte L, Sparice S, Di Carlo C, Nappi C, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels after ovarian drilling for the second-line treatment of polycystic ovary syndrome: a pilot-randomized study comparing laparoscopy and transvaginal hydrolaparoscopy. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol.* 2017 Jan;33(1):26–9.
154. Seyam EM, Mohamed TG, Hasan MM, Mawgood MHAA. Evaluation of ultrasonographic and Anti-Müllerian Hormone (AMH) changes as predictors for ovarian reserve after laparoscopic ovarian drilling for women with polycystic ovarian syndrome. *Middle East Fertil Soc J [Internet].* 2014 [cited 2022 Jul 4];19(4). Available from: <https://cyberleninka.org/article/n/741>
155. Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2011 Nov;26(11):3000–7.
156. Taniguchi F, Sakamoto Y, Yabuta Y, Azuma Y, Hirakawa E, Nagira K, et al. Analysis of pregnancy outcome and decline of anti-Müllerian hormone after laparoscopic cystectomy for ovarian endometriomas. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016 Nov;42(11):1534–40.

157. Costa EMF, Spritzer PM, Hohl A, Bachega TASS. Effects of endocrine disruptors in the development of the female reproductive tract. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Mar;58(2):153–61.
158. Phtalate. In: Wikipédia [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 25]. Available from: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Phtalate&oldid=192462404>
159. Larousse É. Définitions : phtalate - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cited 2022 Aug 25]. Available from: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/phtalate/10910246>
160. Frontiers | The Effects of Phthalates on the Ovary [Internet]. [cited 2022 Jul 4]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2015.00008/full>
161. Grindler NM, Allsworth JE, Macones GA, Kannan K, Roehl KA, Cooper AR. Persistent Organic Pollutants and Early Menopause in U.S. Women. *PLOS ONE*. 2015 Jan 28;10(1):e0116057.
162. Gallicchio L, Miller S, Greene T, Zacur H, Flaws JA. Premature ovarian failure among hairdressers. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2009 Oct;24(10):2636–41.
163. Hoover RN, Hyer M, Pfeiffer RM, Adam E, Bond B, Cheville AL, et al. Adverse health outcomes in women exposed in utero to diethylstilbestrol. *N Engl J Med*. 2011 Oct 6;365(14):1304–14.
164. Ebrahimi M, Akbari Asbagh F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med*. 2015 Aug;13(8):461–72.
165. Novosad JA, Kalantaridou SN, Tong ZB, Nelson LM. Ovarian antibodies as detected by indirect immunofluorescence are unreliable in the diagnosis of autoimmune premature ovarian failure: a controlled evaluation. *BMC Womens Health*. 2003 Mar 17;3(1):2.
166. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R. Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr Rev*. 2002 Jun;23(3):327–64.
167. Ebrahimi M, Akbari Asbagh F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med*. 2015 Aug;13(8):461–72.
168. Weiler FG, Dias-da-Silva MR, Lazaretti-Castro M. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1: case report and review of literature. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2012 Feb;56(1):54–66.
169. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009*. *Fertil Steril*. 2009 Nov 1;92(5):1520–4.
170. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012 Nov 1;98(5):1103–11.
171. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of Early Loss of Pregnancy. *N Engl J Med*. 1988 Jul 28;319(4):189–94.
172. Kolte AM, Bernardi LA, Christiansen OB, Quenby S, Farquharson RG, Goddijn M, et al. Terminology for pregnancy loss prior to viability: a consensus statement from the ESHRE early pregnancy special interest group. *Hum Reprod*. 2015 Mar 1;30(3):495–8.

173. Silver RM, Branch DW, Goldenberg R, Iams JD, Klebanoff MA. Nomenclature for Pregnancy Outcomes: Time for a Change. *Obstet Gynecol.* 2011 Dec;118(6):1402–8.
174. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N, On behalf of ESHRE Special Interest Group for Early Pregnancy (SIGEP). Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 2006 Sep 1;21(9):2216–22.
175. The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent Miscarriage (Green-top Guideline No. 17) [Internet]. RCOG. [cited 2022 Jun 24]. Available from: <https://www.rcog.org.uk/guidance/browse-all-guidance/green-top-guidelines/the-investigation-and-treatment-of-couples-with-recurrent-miscarriage-green-top-guideline-no-17/>
176. Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril.* 2010 Mar 1;93(4):1234–43.
177. Deans R, Abbott J. Review of Intrauterine Adhesions. *J Minim Invasive Gynecol.* 2010 Sep 1;17(5):555–69.
178. Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril.* 2010 Mar 1;93(4):1234–43.
179. Munro MG, Critchley HOD, Broder MS, Fraser IS. Disorders for the FIGO on M. FIGO classification system (PALM-COEIN) for causes of abnormal uterine bleeding in nonpregnant women of reproductive age. *Int J Gynecol Obstet.* 2011;113(1):3–13.
180. Sinclair DC, Mastroyannis A, Taylor HS. Leiomyoma simultaneously impair endometrial BMP-2-mediated decidualization and anticoagulant expression through secretion of TGF- β 3. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Feb;96(2):412–21.
181. Di Spiezio Sardo A, Calagna G, Guida M, Perino A, Nappi C. Hysteroscopy and treatment of uterine polyps. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015 Oct 1;29(7):908–19.
182. Dreisler E, Stampe Sorensen S, Ibsen PH, Lose G. Prevalence of endometrial polyps and abnormal uterine bleeding in a Danish population aged 20-74 years. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 Jan;33(1):102–8.
183. Haimov-Kochman R, Deri-Hasid R, Hamani Y, Voss E. The natural course of endometrial polyps: could they vanish when left untreated? *Fertil Steril.* 2009 Aug;92(2):828.e11-12.
184. Anastasiadis PG, Koutlaki NG, Skaphida PG, Galazios GC, Tsikouras PN, Liberis VA. Endometrial polyps: prevalence, detection, and malignant potential in women with abnormal uterine bleeding. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2000;21(2):180–3.
185. El Hachem H, Crepau V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health.* 2017 May;Volume 9:331–45.
186. Salim S, Won H, Nesbitt-Hawes E, Campbell N, Abbott J. Diagnosis and management of endometrial polyps: a critical review of the literature. *J Minim Invasive Gynecol.* 2011 Oct;18(5):569–81.
187. Jaslow CR. Uterine Factors. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2014 Mar 1;41(1):57–86.
188. Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update.* 2001 Apr;7(2):161–74.

189. The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, müllerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertil Steril*. 1988 Jun;49(6):944–55.
190. Grimbizis GF, Gordts S, Di Spiezio Sardo A, Brucker S, De Angelis C, Gergolet M, et al. The ESHRE/ESGE consensus on the classification of female genital tract congenital anomalies. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2013 Aug;28(8):2032–44.
191. Causes utérines d’infertilité: types et traitement [Internet]. *inviTRA*. 2018 [cited 2022 Jul 12]. Available from: <https://www.invitra.fr/facteur-uterin/>
192. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006;4(2):295–306.
193. SyndromeDesAntiphospholipides_FR_fr_EMG_ORPHA464343.pdf [Internet]. [cited 2022 Jun 20]. Available from: https://www.orpha.net/data/patho/Emg/Int/fr/SyndromeDesAntiphospholipides_FR_fr_EMG_ORPHA464343.pdf
194. Andreoli L, Chighizola CB, Banzato A, Pons-Estel GJ, Ramire de Jesus G, Erkan D. Estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis: a critical review of the literature. *Arthritis Care Res*. 2013 Nov;65(11):1869–73.
195. de Jesus GR, Agmon-Levin N, Andrade CA, Andreoli L, Chighizola CB, Porter TF, et al. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force report on obstetric antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2014 Aug;13(8):795–813.
196. Opatrny L, David M, Kahn SR, Shrier I, Rey E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol*. 2006 Nov;33(11):2214–21.
197. Di Simone N, Meroni PL, de Papa N, Raschi E, Caliandro D, De Carolis CS, et al. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta2-glycoprotein I. *Arthritis Rheum*. 2000 Jan;43(1):140–50.
198. Di Simone N, Castellani R, Caliandro D, Caruso A. Monoclonal Anti-Annexin V Antibody Inhibits Trophoblast Gonadotropin Secretion and Induces Syncytiotrophoblast Apoptosis. *Biol Reprod*. 2001 Dec 1;65(6):1766–70.
199. Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nat Rev Rheumatol*. 2011 Jun;7(6):330–9.
200. Bussen S, Sütterlin M, Steck T. Endocrine abnormalities during the follicular phase in women with recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1999 Jan;14(1):18–20.
201. Cleary-Goldman J, Malone FD, Lambert-Messerlian G, Sullivan L, Canick J, Porter TF, et al. Maternal thyroid hypofunction and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 2008 Jul;112(1):85–92.
202. Liu H, Shan Z, Li C, Mao J, Xie X, Wang W, et al. Maternal subclinical hypothyroidism, thyroid autoimmunity, and the risk of miscarriage: a prospective cohort study. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. 2014 Nov;24(11):1642–9.

203. Benhadi N, Wiersinga WM, Reitsma JB, Vrijkotte TGM, Bonsel GJ. Higher maternal TSH levels in pregnancy are associated with increased risk for miscarriage, fetal or neonatal death. *Eur J Endocrinol*. 2009 Jun;160(6):985–91.
204. Glueck CJ, Wang P, Bornovali S, Goldenberg N, Sieve L. Polycystic ovary syndrome, the G1691A factor V Leiden mutation, and plasminogen activator inhibitor activity: associations with recurrent pregnancy loss. *Metabolism*. 2003 Dec;52(12):1627–32.
205. Metwally M, Saravelos SH, Ledger WL, Li TC. Body mass index and risk of miscarriage in women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2010 Jun;94(1):290–5.
206. Moussa HN, Alrais MA, Leon MG, Abbas EL, Sibai BM. Obesity epidemic: impact from preconception to postpartum. *Future Sci OA*. 2016 Aug 19;2(3):FSO137.
207. Lassi ZS, Imam AM, Dean SV, Bhutta ZA. Preconception care: caffeine, smoking, alcohol, drugs and other environmental chemical/radiation exposure. *Reprod Health*. 2014 Sep 26;11(3):S6.
208. Tolstrup JS. Does caffeine and alcohol intake before pregnancy predict the occurrence of spontaneous abortion? *Hum Reprod*. 2003 Dec 1;18(12):2704–10.
209. Ness RB, Grisso JA, Hirschinger N, Markovic N, Shaw LM, Day NL, et al. Cocaine and tobacco use and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med*. 1999 Feb 4;340(5):333–9.
210. Gaskins AJ, Rich-Edwards JW, Williams PL, Toth TL, Missmer SA, Chavarro JE. Prepregnancy Low to Moderate Alcohol Intake Is Not Associated with Risk of Spontaneous Abortion or Stillbirth. *J Nutr*. 2016 Apr;146(4):799–805.
211. Kolte AM, Olsen LR, Mikkelsen EM, Christiansen OB, Nielsen HS. Depression and emotional stress is highly prevalent among women with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2015 Apr;30(4):777–82.
212. Sugiura-Ogasawara M, Furukawa TA, Nakano Y, Hori S, Aoki K, Kitamura T. Depression as a potential causal factor in subsequent miscarriage in recurrent spontaneous aborters. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2002 Oct;17(10):2580–4.
213. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Kitaori T, Mizutani E. Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2012 Aug;27(8):2297–303.
214. Werner M, Reh A, Grifo J, Perle MA. Characteristics of chromosomal abnormalities diagnosed after spontaneous abortions in an infertile population. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Aug 1;29(8):817–20.
215. Braekeleer MD, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod*. 1990 Jul 1;5(5):519–28.
216. Laurino MY, Bennett RL, Saraiya DS, Baumeister L, Doyle DL, Leppig K, et al. Genetic Evaluation and Counseling of Couples with Recurrent Miscarriage: Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*. 2005;14(3):165–81.
217. Nonaka T, Takahashi M, Nonaka C, Enomoto T, Takakuwa K. The analysis of chromosomal abnormalities in patients with recurrent pregnancy loss, focusing on the prognosis of patients with inversion of chromosome (9). *Reprod Med Biol*. 2019;18(3):296–301.

218. Carp H, Guetta E, Dorf H, Soriano D, Barkai G, Schiff E. Embryonic karyotype in recurrent miscarriage with parental karyotypic aberrations. *Fertil Steril*. 2006 Feb 1;85(2):446–50.
219. Stephenson MD, Sierra S. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. *Hum Reprod*. 2006 Apr 1;21(4):1076–82.
220. De Rycke M, Belva F, Goossens V, Moutou C, SenGupta SB, Traeger-Synodinos J, et al. ESHRE PGD Consortium data collection XIII: cycles from January to December 2010 with pregnancy follow-up to October 2011†. *Hum Reprod*. 2015 Aug 1;30(8):1763–89.
221. Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril*. 2000 Feb;73(2):300–4.
222. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2002 Feb;17(2):446–51.
223. Stevens SM, Woller SC, Bauer KA, Kasthuri R, Cushman M, Streiff M, et al. Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia. *J Thromb Thrombolysis*. 2016 Jan;41(1):154–64.
224. American College of Obstetricians and Gynecologists Women’s Health Care Physicians. ACOG Practice Bulletin No. 138: Inherited thrombophilias in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013 Sep;122(3):706–17.
225. Jones GES. Some newer aspects of the management of infertility. *J Am Med Assoc*. 1949 Dec 17;141(16):1123–9, illust.
226. Jones GS. The luteal phase defect. *Fertil Steril*. 1976 Apr;27(4):351–6.
227. Li TC, Spuijbroek MD, Tuckerman E, Anstie B, Loxley M, Laird S. Endocrinological and endometrial factors in recurrent miscarriage. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2000 Dec;107(12):1471–9.
228. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical relevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012 Nov;98(5):1112–7.
229. Ke RW. Endocrine basis for recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2014 Mar;41(1):103–12.
230. Kitaya K. Prevalence of chronic endometritis in recurrent miscarriages. *Fertil Steril*. 2011 Mar 1;95(3):1156–8.
231. McQueen DB, Perfetto CO, Hazard FK, Lathi RB. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2015 Oct;104(4):927–31.
232. Bouet PE, El Hachem H, Monceau E, Gariépy G, Kadoch IJ, Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril*. 2016 Jan;105(1):106–10.
233. Kutteh WH. Novel strategies for the management of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med*. 2015 May;33(3):161–8.

234. Chevret E. Cytogénétique : Introduction. 2022 Jan 17; Laboratoire de cytogénétique CHU Bordeaux.
235. la cytogénétique constitutionnelle [Internet]. doczz.fr. [cited 2022 Jul 28]. Available from: <http://doczz.fr/doc/2448843/la-cytog%C3%A9n%C3%A9tique-constitutionnelle>
236. Cytogénétique constitutionnelle [Internet]. Eurofins Biomnis. [cited 2022 Jul 28]. Available from: <https://www.eurofins-biomnis.com/specialites/cytogenetique-constitutionnelle/>
237. Cytogénétique acquise [Internet]. Eurofins Biomnis. [cited 2022 Jul 28]. Available from: <https://www.eurofins-biomnis.com/specialites/oncohematologie/cytogenetique-acquise/>
238. HSU TC. MAMMALIAN CHROMOSOMES IN VITRO: I. The Karyotype of Man. *J Hered.* 1952 Jul 1;43(4):167–72.
239. Tjio JH, Levan A. The Chromosome Number of Man. *Hereditas.* 1956;42(1–2):1–6.
240. Harper PS. The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955–1956. *Hum Genet.* 2006 Mar 1;119(1):226–32.
241. Polycopié de cytogénétique 3ème année.pdf [Internet]. [cited 2022 Jul 25]. Available from: http://dSPACE.univ-usto.dz/bitstream/123456789/511/1/CDL3G_ANMDJ.pdf
242. Vuillaume-Winter ML. Techniques de cytogénétique. 2019 Sep 20; CHU Tours.
243. Dimassi S, Tilla M, Sanlaville D. Anomalies chromosomiques. *J Pédiatrie Puériculture.* 2017 Nov 1;30(5):249–70.
244. Association des cytogénéticiens de langue française. Guide des bonnes pratiques en cytogénétique [Internet]. 2020. Available from: http://www.eaclf.org/docs/GBPCyto/GBPC-ACLF_15122021.pdf
245. Pedoutour F. Différents types d’anomalies chromosomiques. 2009;(49):7.
246. Zhao WW, Wu M, Chen F, Jiang S, Su H, Liang J, et al. Robertsonian Translocations: An Overview of 872 Robertsonian Translocations Identified in a Diagnostic Laboratory in China. *PLoS ONE.* 2015 May 1;10(5):e0122647.
247. Méiose et crossing overs : s’apparier pour mieux se séparer | INSB [Internet]. [cited 2022 Aug 29]. Available from: <https://www.insb.cnrs.fr/fr/cnrsinfo/meiose-et-crossing-overs-sapparker-pour-mieux-se-separer>
248. Guichaoua MR, Geoffroy-Siraudin C, Tassistro V, Ghalamoun-Slaimi R, Perrin J, Metzler-Guillemain C. Chromosomes sexuels et méiose. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2009 Nov 1;37(11):895–900.
249. Mouka A. Analyse des variations du nombre de copies d’ADN dans une cohorte d’hommes infertiles et génération de modèles génétiques d’étude de la méiose à partir de cellules iPS de patients infertiles [Internet] [phdthesis]. Université Paris Saclay (COMUE); 2017 [cited 2022 Aug 29]. Available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01781045>
250. Les principales anomalies chromosomiques et leurs conséquences cliniques [Internet]. [cited 2022 Aug 30]. Available from: <https://embryologie.medecine.parisdescartes.fr/cytogen/2-1.htm>
251. Sanlaville D, Turleau C. Types, fréquences et mécanismes de formation des anomalies chromosomiques. :23.

252. Beyer CE, Willats E. Natural selection between day 3 and day 5/6 PGD embryos in couples with reciprocal or Robertsonian translocations. *J Assist Reprod Genet.* 2017 Nov;34(11):1483–92.
253. Eurofins Biomnis. Cytogénétique et génétique moléculaire constitutionnelles Caryotypage, FISH et puce d'hybridation génomique comparative (aCGH).pdf [Internet]. 2016 [cited 2022 Sep 5]. Available from: https://www.eurofins-biomnis.com/wp-content/uploads/2016/04/56-Focus_Caryotypage_CGH.pdf
254. Taylor A, Alloub Z, Tayoun AA. A Simple Practical Guide to Genomic Diagnostics in a Pediatric Setting. *Genes.* 2021 Jun;12(6):818.
255. Düzcan F, Atmaca M, Çetin GO, Bağcı H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003;82(1):53–6.
256. Radojčić Badovinac A, Buretić-Tomljanović A, Starčević N, Kapović M, VlasTelić I, Randić L. Chromosome Studies in Patients with Defective Reproductive Success. *Am J Reprod Immunol.* 2000;44(5):279–83.
257. Peschka B, Leygraaf J, Van der Ven K, Montag M, Schartmann B, Schubert R, et al. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1999 Sep 1;14(9):2257–63.
258. Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2005 Feb;20(2):437–42.
259. Kayed HF, Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Amer AE, Abdrazik A. Screening for chromosomal abnormalities in 2650 infertile couples undergoing ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2006 Jan 1;12(3):359–70.
260. Riccaboni A, Lalatta F, Caliarı I, Bonetti S, Somigliana E, Ragni G. Genetic screening in 2,710 infertile candidate couples for assisted reproductive techniques: results of application of Italian guidelines for the appropriate use of genetic tests. *Fertil Steril.* 2008 Apr 1;89(4):800–8.
261. Butnariu L, Covic M, Onofriescu M, Grănescu M, Bujoran C, Caba L, et al. [Chromosomal evaluation in couples with reproductive disorders--retrospective study of a selected group of 266 couples]. *Rev Medico-Chir Soc Medici Şi Nat Din Iaşi.* 2010 Oct 1;114:1107–13.
262. Liu Y, Kong X dong, Wu Q hua, Li G, Song L, Sun YP. Karyotype analysis in large-sample infertile couples living in Central China: a study of 14965 couples. *J Assist Reprod Genet.* 2013 Apr;30(4):547–53.
263. Cui C, Shu W, Li P. Fluorescence In situ Hybridization: Cell-Based Genetic Diagnostic and Research Applications. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2016 [cited 2022 Sep 8];4. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2016.00089>
264. Zhang S, Pei Z, Lei C, Zhu S, Deng K, Zhou J, et al. Detection of cryptic balanced chromosomal rearrangements using high-resolution optical genome mapping. *J Med Genet.* 2022 Jun 16;jmedgenet-2022-108553.
265. Analyse chromosomique par Puce à ADN en SNP-array [Internet]. [cited 2022 Sep 22]. Available from: <https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/renseignements/DS21-CGH.pdf>

266. Zhang S, Pei Z, Lei C, Zhu S, Deng K, Zhou J, et al. Detection of cryptic balanced chromosomal rearrangements using high-resolution optical genome mapping. *J Med Genet*. 2022 Jun 16;jmedgenet-2022-108553.
267. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Hum Immunol*. 2021 Nov 1;82(11):801–11.
268. Krahn M, Lévy N, Bartoli M. Le séquençage de nouvelle génération (Next-Generation Sequencing, ou NGS) appliqué au diagnostic de maladies monogéniques hétérogènes - Notions essentielles pour le dialogue entre cliniciens et généticiens. *Cah Myol*. 2016 Jun 1;(13):31–3.
269. Jacob A. Apport du séquençage d'exome pour le diagnostic et le traitement des maladies complexes. :185.
270. Pinaudeau D. Séquenceurs haut débit. *IRBM News*. 2015 Dec 1;36(6):191–5.
271. Ilie M, Long É, Hofman V, Lespinet V, Bordone O, Washetine K, et al. Les méthodes de séquençage de « nouvelle génération » (NGS) et le cancer broncho-pulmonaire: principales technologies, applications et limites actuelles en pathologie. *Rev Francoph Lab*. 2014 Jan 1;2014(458):51–8.
272. K Y, G H. Structural Variation Detection from Next Generation Sequencing. *J Gener Seq Appl [Internet]*. 2015 [cited 2022 Sep 27];01(S1). Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/structural-variation-detection-from-next-generation-sequencing-2469-9853-S1-007.php?aid=69055>
273. Séquençage en paire [Internet]. France Génomique. [cited 2022 Sep 27]. Available from: <https://www.france-genomique.org/expertises-technologiques/genome-entier/sequencage-en-paire/>
274. Gong T, Hayes VM, Chan EKF. Detection of somatic structural variants from short-read next-generation sequencing data. *Brief Bioinform*. 2021 May 1;22(3):bbaa056.
275. Escaramís G, Docampo E, Rabionet R. A decade of structural variants: Description, history and methods to detect structural variation. *Brief Funct Genomics*. 2015 Apr 15;14.
276. Emde AK. Freien Universität Berlin. :158.
277. Sedlazeck FJ, Rescheneder P, Smolka M, Fang H, Nattestad M, von Haeseler A, et al. Accurate detection of complex structural variations using single molecule sequencing. *Nat Methods*. 2018 Jun;15(6):461–8.
278. Mantere T, Kersten S, Hoischen A. Long-Read Sequencing Emerging in Medical Genetics. *Front Genet [Internet]*. 2019 [cited 2022 Sep 10];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2019.00426>
279. Tattini L, D'Aurizio R, Magi A. Detection of Genomic Structural Variants from Next-Generation Sequencing Data. *Front Bioeng Biotechnol*. 2015 Jun 25;3:92.
280. Mantere T, Neveling K, Pebrel-Richard C, Benoist M, van der Zande G, Kater-Baats E, et al. Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection. *Am J Hum Genet*. 2021 Aug;108(8):1409–22.
281. Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nat Rev Genet*. 2020 Oct;21(10):597–614.

282. Midha MK, Wu M, Chiu KP. Long-read sequencing in deciphering human genetics to a greater depth. *Hum Genet.* 2019 Dec;138(11–12):1201–15.
283. Saphyr [Internet]. Bionano Genomics. [cited 2022 Sep 6]. Available from: <https://bionanogenomics.com/products/saphyr/>
284. Mantere T, Neveling K, Pebrel-Richard C, Benoist M, van der Zande G, Kater-Baats E, et al. Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection. *Am J Hum Genet.* 2021 Aug;108(8):1409–22.
285. Dremsek P, Schwarz T, Weil B, Malashka A, Laccone F, Neesen J. Optical Genome Mapping in Routine Human Genetic Diagnostics—Its Advantages and Limitations. *Genes.* 2021 Dec 8;12(12):1958.
286. Bionano Genomics. REVEAL MORE GENOMIC VARIATION THAT MATTERS WITH OPTICAL GENOME MAPPING [Internet]. 2022 [cited 2022 Sep 6]. Available from: https://bionanogenomics.com/wp-content/uploads/2022/05/30149-Rev-I_Saphyr-Brochure.pdf
287. Khattabi LE. Optical mapping for structural variation analysis by whole genome imaging. :46.
288. Sahajpal NS, Barseghyan H, Kolhe R, Hastie A, Chaubey A. Optical Genome Mapping as a Next-Generation Cytogenomic Tool for Detection of Structural and Copy Number Variations for Prenatal Genomic Analyses. *Genes.* 2021 Mar 11;12(3):398.
289. Carter MT, St. Pierre SA, Zackai EH, Emanuel BS, Boycott KM. Phenotypic delineation of Emanuel syndrome (supernumerary derivative 22 syndrome): Clinical features of 63 individuals. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(8):1712–21.
290. van Bon BWM, Coe BP, Bernier R, Green C, Gerdts J, Witherspoon K, et al. Disruptive de novo mutations of DYRK1A lead to a syndromic form of autism and ID. *Mol Psychiatry.* 2016 Jan;21(1):126–32.
291. Ji J, Lee H, Argiropoulos B, Dorrani N, Mann J, Martinez-Agosto JA, et al. DYRK1A haploinsufficiency causes a new recognizable syndrome with microcephaly, intellectual disability, speech impairment, and distinct facies. *Eur J Hum Genet.* 2015 Oct;23(11):1473–81.
292. Lee KS, Choi M, Kwon DW, Kim D, Choi JM, Kim AK, et al. A novel de novo heterozygous DYRK1A mutation causes complete loss of DYRK1A function and developmental delay. *Sci Rep.* 2020 Jun 17;10:9849.
293. Pellestor F. Chromothripsis et péri-conceptologie. *Morphologie.* 2016 Sep 1;100(330):161.
294. Zheng Y, Kong L, Xu H, Lu Y, Zhao X, Yang Y, et al. Rapid prenatal diagnosis of Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy 1 by combined Bionano optical mapping and karyomapping. *Prenat Diagn.* 2020 Feb;40(3):317–23.
295. FILNEMUS. Préparation au protocole national de diagnostic et de soins - dystrophie musculaire scapulo humérale [Internet]. [cited 2022 Sep 8]. Available from: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-01/2021.12.24_pnds_dmfsh.pdf
296. Dai Y, Li P, Wang Z, Liang F, Yang F, Fang L, et al. Single-molecule optical mapping enables quantitative measurement of D4Z4 repeats in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *J Med Genet.* 2020 Feb;57(2):109–20.

297. Hoischen A. Highly sensitive structural variant detection for medical genetics : a comparison to the standard of care. [Internet]. 2019 [cited 2022 Sep 7]. Available from: <https://bionanogenomics.com/wp-content/uploads/2019/10/Alex-Hoischen-GW-white-paper-web.pdf>
298. Bionano symposium 2022. 2022 Jan 13.
299. 30368_Rev_C__Cytogenomics_Case_Studies_1640103720259126.pdf [Internet]. [cited 2022 Sep 12]. Available from: https://cdn-aws.labroots.com//479/3603//30368_Rev_C__Cytogenomics_Case_Studies_1640103720259126.pdf
300. Sahajpal NS, Barseghyan H, Kolhe R, Hastie A, Chaubey A. Optical Genome Mapping as a Next-Generation Cytogenomic Tool for Detection of Structural and Copy Number Variations for Prenatal Genomic Analyses. *Genes*. 2021 Mar;12(3):398.

VII. Table des figures

Figure 1. Protéine CFTR.....	19
Figure 2. Différentes classes de mutation du gène <i>CFTR</i>	20
Figure 3. Représentation schématique des effets de TGF- β 3 sur la décidualisation et l'hémostase.....	41
Figure 4. Anomalies congénitales de l'utérus.....	42
Figure 5. Anatomie d'un chromosome.....	48
Figure 6. Caryotype d'un patient en bande R, effectué au CHRO. Classement des chromosomes en fonction de la taille et de l'indice centromérique.....	51
Figure 7. Modes de ségrégations lors d'une translocation robertsonienne entre 2 chromosomes hétérologues.....	55
Figure 8 : ségrégation 2:2 lors d'une translocation réciproque équilibrée entre les chromosomes 5 et 7.....	55
Figure 9. Répartition des caryotypes.....	59
Figure 10. Répartition des anomalies chromosomiques par type.....	60
Figure 11. Répartition des anomalies chromosomiques par indication.....	62
Figure 12. Méthode de détection des anomalies de structure pour le séquençage de nouvelle génération.....	67
Figure 13. Représentation des technologies <i>PacBio</i> et <i>Oxford Nanopore Technologies</i>	69
Figure 14. Performances analytiques du Bionano® pour la détection des anomalies.....	70
Figure 15. Etapes d'obtention des cartes consensus du génome d'un patient avec la technologie Bionano®.....	71
Figure 16. Représentation visuelle du module « <i>SV pipeline</i> ».....	72
Figure 17. Représentation visuelle du module « <i>CNV pipeline</i> »	72
Figure 18. Représentation visuelle de la cartographie optique du génome.....	73
Figure 19. Représentation schématique de la translocation réciproque équilibrée t(11 ;22)...	74
Figure 20. Cartographie optique du génome chez un individu ayant des troubles du spectre de l'autisme avec microcéphalie.....	75
Figure 21. Réarrangement complexe chez un patient 46,XY,t(3;13;5)(p11.1;p12;p14).....	76

VIII. Table des tableaux

Tableau 1 : cause d'infertilité pathologique selon les sexes.....	17
Tableau 2 : critères de Rotterdam du syndrome des ovaires polykystiques.....	24
Tableau 3 : étiologies génétiques de l'insuffisance ovarienne prématurée.....	36
Tableau 4 : caractéristiques des syndromes polyendocriniens auto-immuns.....	39
Tableau 5 : critères diagnostiques du syndrome des antiphospholipides (critères révisés de 2004).....	43
Tableau 6 : indications du caryotype en cytogénétique constitutionnelle postnatale.....	52
Tableau 7 : répartition des indications chez les patients du CHU de Tours et du CHRO.....	59
Tableau 8 : nombre et pourcentage d'anomalies chromosomiques par type.....	60
Tableau 9 : nombre et pourcentage d'anomalies chromosomiques par indication.....	61
Tableau 10 : Taux diagnostiques globaux et des translocations réciproques équilibrées dans les différentes études.	64

IX. Annexes.

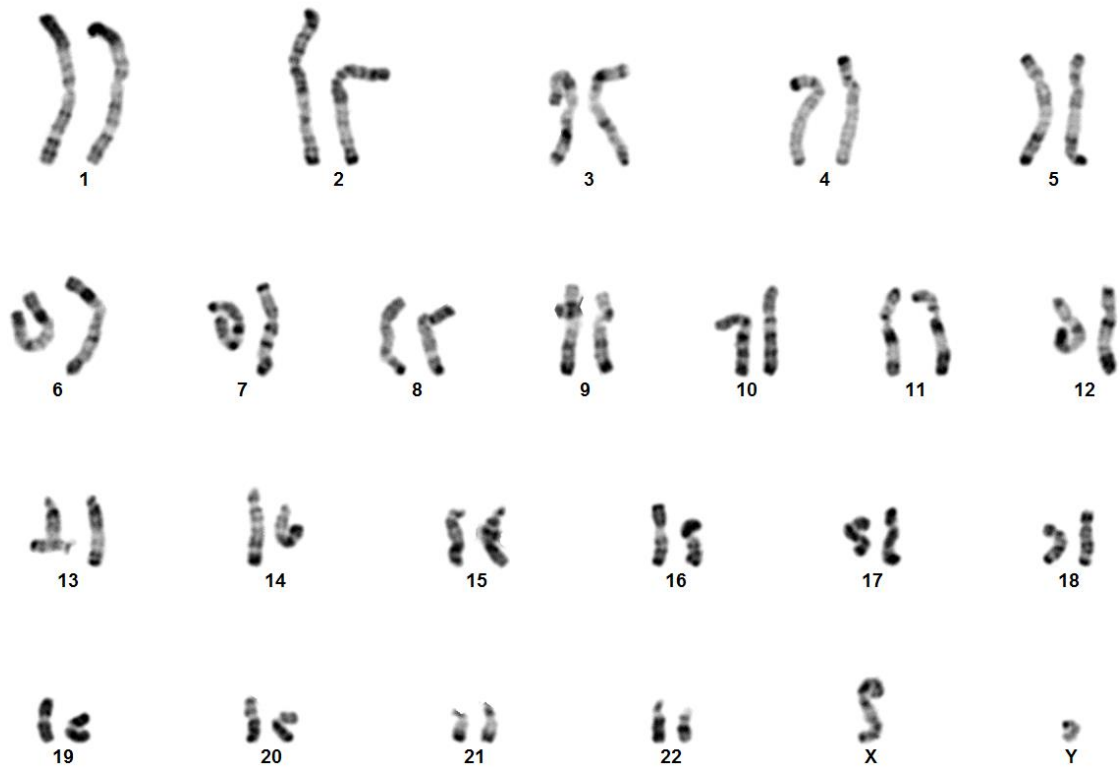
A. Anomalies chromosomiques au CHRU de TOURS.

<i>Anomalies de structure</i>	
Translocations réciproques équilibrées	46,X,t(X;14)(q22;p12)
	46,XX,t(11;22)(q23.3;q11.21)
Inversion	46,XX,inv(7)(p12q21)
Délétion	46,XY,del(18)(p11.21)
<i>Dysgonosomies</i>	
Klinefelter (47,XXY)	7 cas
Double Y (47,XYY)	2 cas
Mosaïques	45,X[7]/46,XX[23]
	45,X[18]/46,XY[12]
	46,X,i(X)(q10)[23]/45,X[7]
	45,X[5]/46,XY[26]/47,XXY[1]
	47,XXY[22]/46,XY[9]
	45,X[3]/46,X,idic(X)(p11)[17]/46,XX[12]
	45,X[5]/46,XX[11]

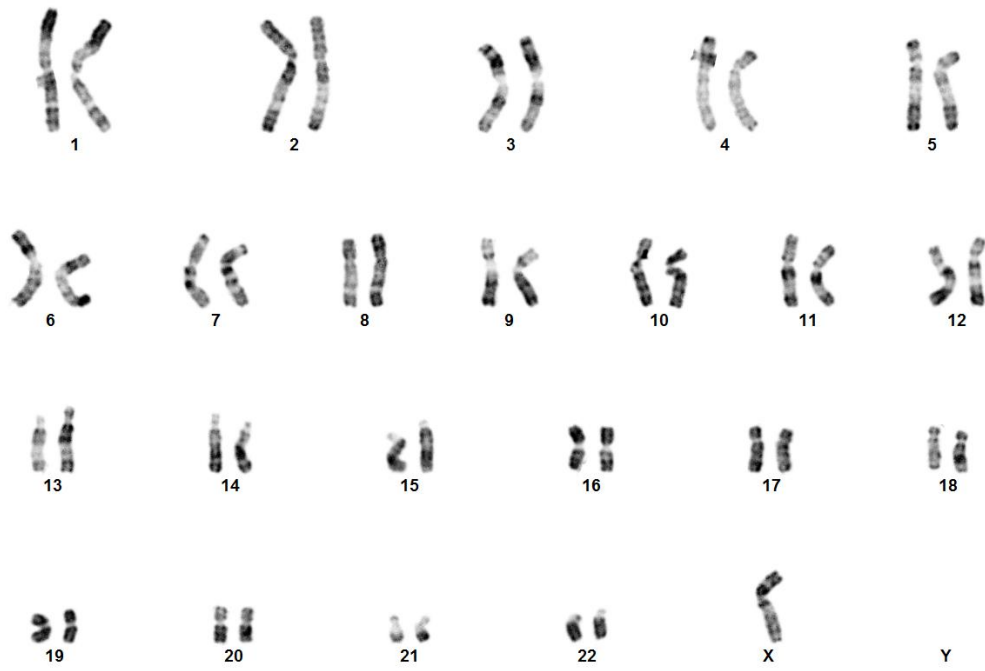
B. Anomalies chromosomiques au CHR d'Orléans.

<i>Anomalies de structure</i>	
Translocations réciproques équilibrées	46,XX, t(8;22)(q24;q12)
	46,XY,t(2;13)(q32.1;q33.2)
	46, XY,-20,t(15;20;22)
	46,XY,t(4;20)(p11;p11)
	46,XX,t(12;20)(p11;p13)
	46,XY,t(8;10)(q24;p15)
	46,XX,t(2;15)(q34;qter)
	46,XX,t(6;16)(p12;q12)
	46,XY,t(11;22)(q23;q11)
	46,XX,t(3;20)(q28;p12)
Translocation robertsonienne	45,XY,der(14;22)(q10;q10)
<i>Dysgonosomies</i>	
Klinefelter (47,XXY)	8 cas
Mosaïques	46,XX[95]/45,X[3]/47,XXX[2]
	47,XXX[2]/46,XX[51]
	45,X[22]/46,X,idic(Xq21)
	46,XX[47]/45,X [3]
	45,X [44]/46,X,+mar[6]
	46,XX[22]/45,X[3]
	46,XX [47]/45,X [3]
46,XY[10]/46,X[5]	

C. Illustrations des anomalies chromosomiques

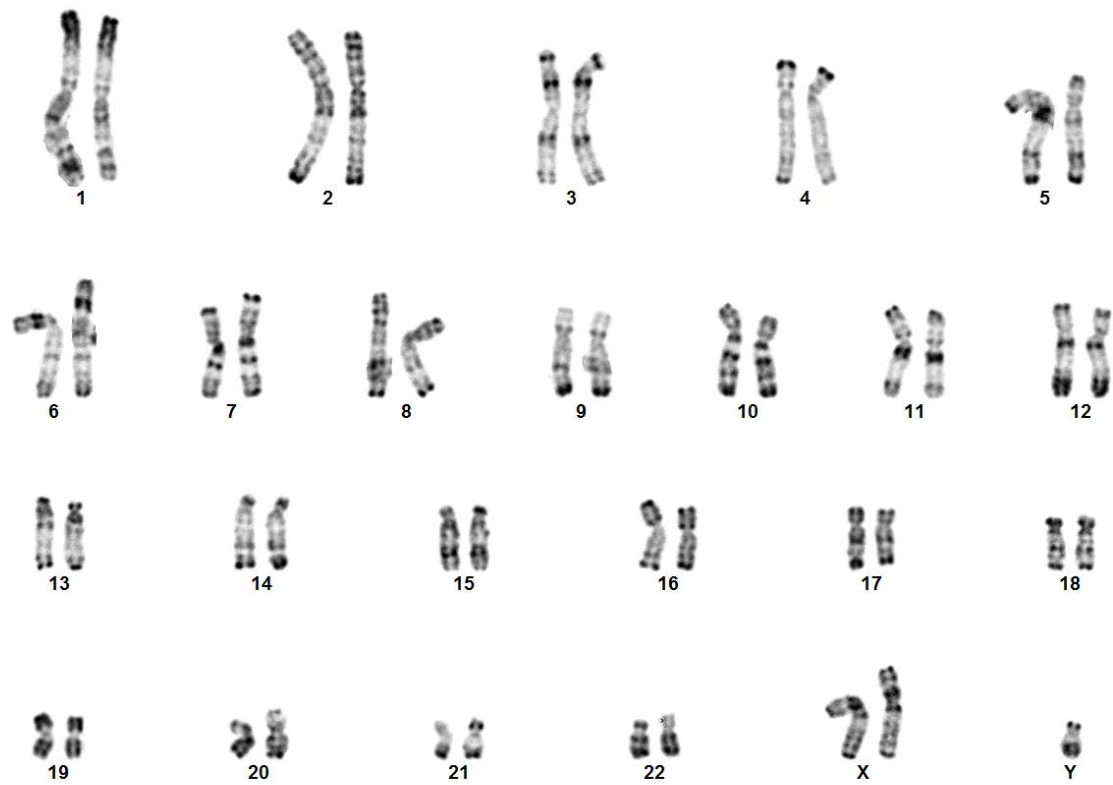


Caryotype en bandes R réalisé au CHR d'Orléans montrant une translocation réciproque équilibrée $t(11;22)$. $46,XY,t(11;22)(q23;q11)$

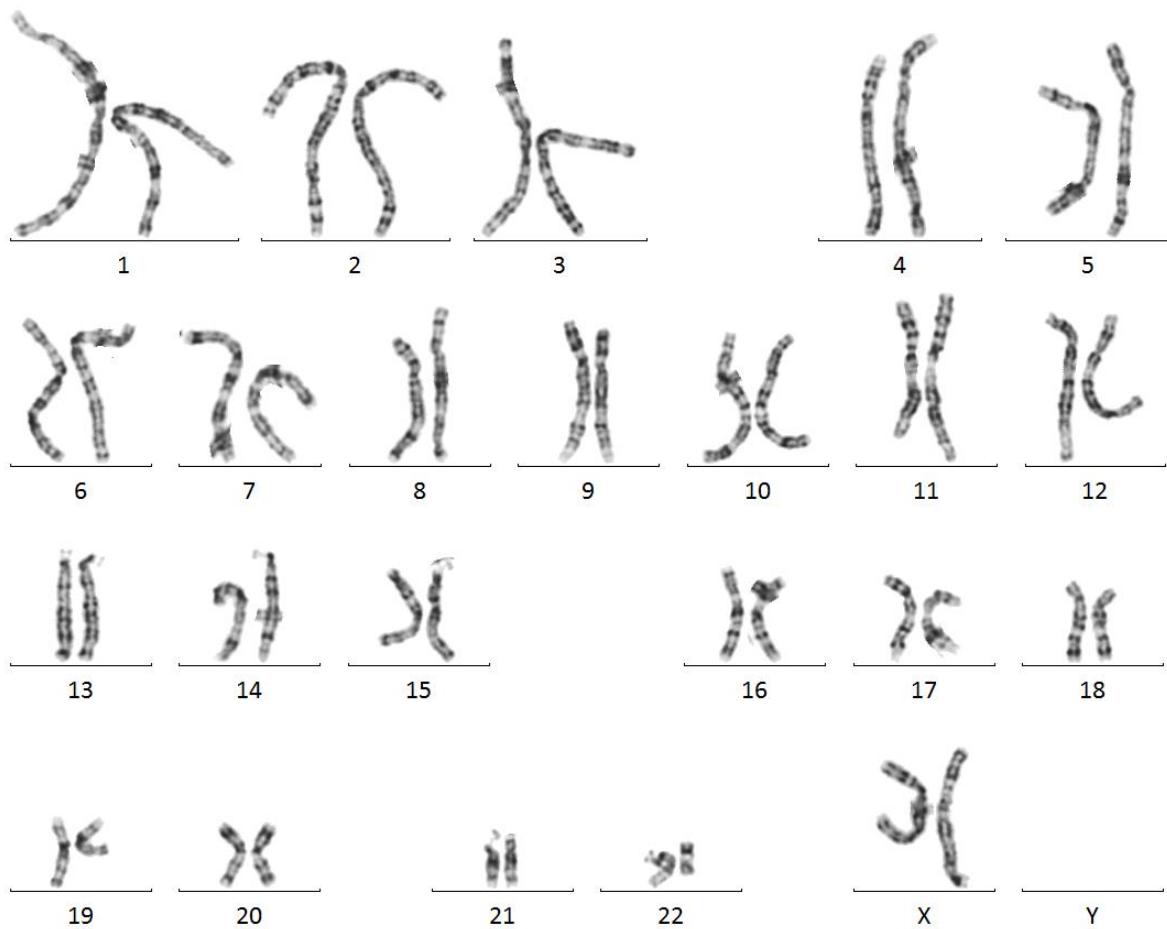


A

Caryotype en bandes R réalisé au CHR d'Orléans montrant une monosomie X avec un marqueur. Il s'agit d'une patiente ayant un Syndrome de Turner en mosaïque

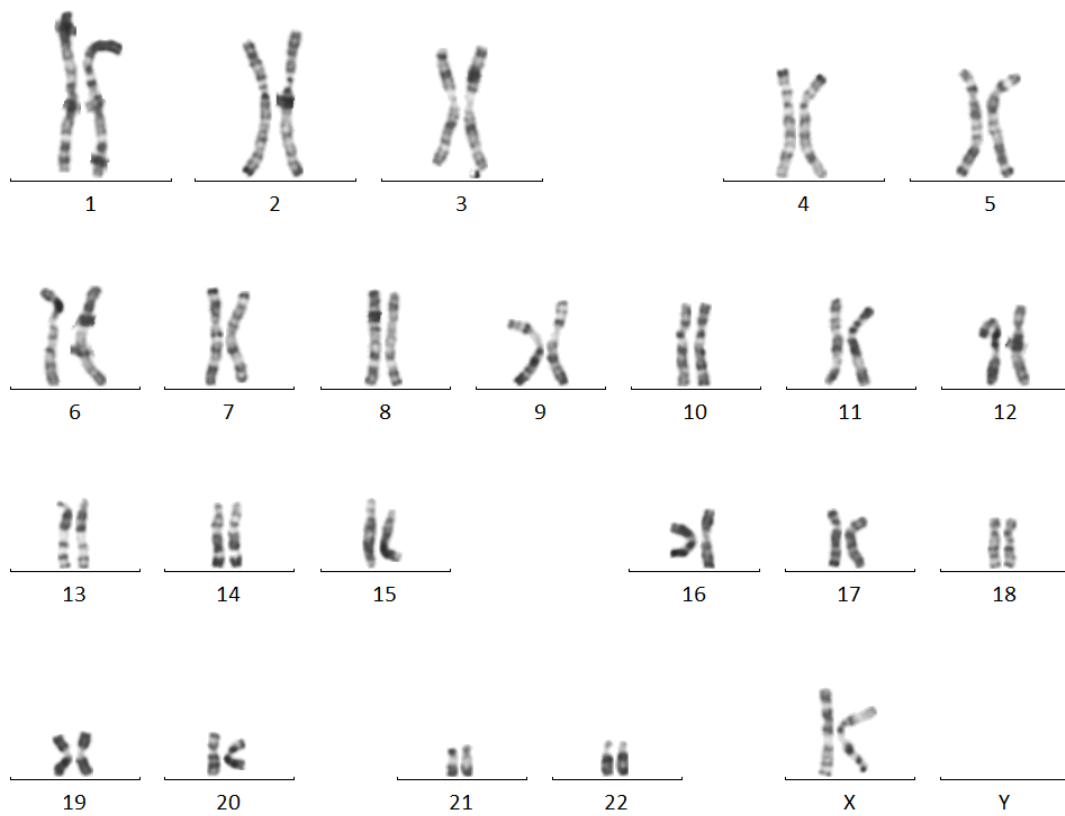


Caryotype en bandes R réalisé au CHR d'Orléans montrant une syndrome de Klinefelter (47,XXY) chez un patient ayant consulté dans le cadre d'une azoospermie.



Caryotype en bandes G réalisé au CHU de Tours montrant une translocation réciproque équilibré chez une patiente ayant consulté dans le cadre de dons d'ovocytes.

46,XX,t(11;22)(q23.3;q11.21) confirmée en FISH.



Caryotype en bandes R réalisé au CHU de Tours montrant une inversion péricentrique du chromosome 7 chez une patiente dont le compagnon avait une oligoasthénotérazoospermie.
 46,XX,inv(7)(p12q21)

Vu, le Directeur de Thèse



Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le

Lumbu Lukuntonda Christian Hermann

Nombre de pages : 108 – tableaux : 10 – figures : 21

Résumé :

Les causes des troubles de la reproduction sont multiples ; nous nous intéresserons aux causes génétiques, dont les translocations réciproques équilibrées. Le caryotype est l'examen de référence pour l'identification des translocations, mais sa faible résolution ne permet pas de toutes les identifier. Nous avons réalisé une étude rétrospective dont le but est d'évaluer le rendement diagnostique du caryotype chez les patients de Tours et d'Orléans ayant consulté pour troubles de la reproduction entre janvier 2016 et décembre 2021, et de discuter des alternatives possibles au caryotype. 1483 patients ont été inclus, le rendement diagnostique a été estimé à 3,57% pour toutes les anomalies (dont 2,42% pour les dysgonosomies et moins d'un pourcent (0,74%) pour les translocations réciproques équilibrées). Le rendement diagnostique du caryotype est donc faible. Le séquençage de nouvelle génération (Next Generation Sequencing) serait une alternative possible ; il est moins onéreux mais limité par la longueur des reads et la nécessité d'une amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) et la difficulté pour détecter les variants dans les séquences répétées. Le séquençage de troisième génération (long-read sequencing) détecterait des anomalies de structure de plus grande taille, mais son prix reste élevé et un recours à la préparation des bibliothèques est nécessaire. La cartographie optique du génome (en particulier la technologie Bionano®) semble être une alternative intéressante : elle permet de déceler à la fois les anomalies de structure, avec une meilleure résolution, et les variations du nombre de copies, sans recours à une amplification ni à une préparation de bibliothèques. Le taux diagnostique attendu de cette technique est de 30 à 40%, ce qui fait de la cartographie un bon complément au caryotype.

Mots clés : reproduction, translocation, caryotype, cartographie, optique, génome, bionano

Jury :

Président du Jury : Professeur Christian ANDRES

Directeur de thèse : Docteur Thomas GUERY

Membres du Jury : Professeur Patrick VOURC'H

: Professeur Philippe LANOTTE

: Docteur Noémie CELTON

Date de soutenance : 14/10/2022