

► Les périodes pré- et/ou péri-conceptionnelles (avant et juste après la fécondation jusqu'au stade embryonnaire blastocyste) constituent des périodes critiques pour les origines développementales de la santé et des maladies (DOHaD). La gamétogenèse, la fécondation et les premières étapes du développement embryonnaire, périodes pendant lesquelles surviennent de profondes modifications épigénétiques, sont influencées par l'environnement *in vivo*, en particulier par la nutrition, et *in vitro*, notamment lors d'une procédure d'assistance médicale à la procréation. Les gamètes femelles, mais également mâles, interviennent en tant que cibles, mais également en tant que vecteurs de marques épigénétiques modifiées. Les effets physiologiques et épigénétiques observés varient selon le sexe du parent transmetteur, le sexe de l'individu et la génération. ◀

La période périconceptionnelle : pourquoi est-ce une période critique ?

Gamétogenèse et fécondation

La cinétique de développement des gamètes mâles et femelles diffère énormément, et cela aussi selon les espèces de mammifères. Chez la femelle, après la constitution d'un stock d'ovogonies *in utero*, cette cinétique se caractérise par une période de quiescence longue où les ovogonies sont dites « en réserve » jusqu'au processus de maturation ovocytaire. À l'inverse, la différenciation du gamète mâle est continue à partir de la puberté grâce à un mécanisme d'auto-renouvellement des spermatogonies. Les deux sexes partagent une période commune, celle de la mise en place des gonades suite à la colonisation des crêtes génitales par les cellules germinales primordiales et de la constitution du stock de gonies à l'origine des futurs gamètes. La constitution de ce stock est une période critique car elle va influencer la fertilité ultérieure d'un individu, qui sera fonction de la taille initiale de ce stock. Dans la plupart des espèces, il existe, chez la femelle, une vague importante d'apoptose des ovogonies (concernant plus de 75 % des

DOHaD et programmation pré- et péri-conceptionnelle

Pascale Chavatte-Palmer¹, François Vialard², Anne Tarrade¹, Charlotte Dupont^{1,3}, Véronique Duranthon¹, Rachel Lévy³



ovogonies) au cours de la vie utérine. Mais parfois, cette apoptose survient au cours de la période post-natale, comme chez les lagomorphes (lapins) (Figure 1) [1], suite à la mise en place des follicules primordiaux par assemblage des

ovocytes avec des cellules folliculaires. Une apoptose trop importante, associée à une diminution du stock des ovocytes, pourrait être à l'origine d'un épuisement ovarien prématuré. Une deuxième étape critique se déroule durant la phase de maturation folliculaire, après la puberté, une fois levée la quiescence ovocytaire. Cette étape est critique, car elle est à l'origine de l'apparition de très nombreuses aneuploïdies ovocytaires, première cause d'anomalies du développement embryonnaire ; 50 % des embryons sont porteurs de telles anomalies avec pour conséquence, dans la majorité des cas, un arrêt du développement embryonnaire. Ceci est à l'origine d'échecs d'implantation embryonnaire ou de fausses couches précoces (avant 14 semaines d'aménorrhée). Ce phénomène est probablement lié au vieillissement des ovocytes, puisque la fréquence des aneuploïdies augmente avec l'âge¹, ou fonction de la réserve ovarienne. En ce qui concerne le gamète mâle, les spermatogonies restent bloquées à ce stade jusqu'à la puberté. Un renouvellement continu des spermatogonies permettra la production constante d'un grand nombre de gamètes tout au long de la vie. La vulnérabilité du gamète mâle est liée au vieillissement lui-même et à l'accumulation de mutations ponctuelles au cours du temps, celles-ci étant à l'origine de l'apparition *de novo* de pathologies génétiques de transmission dominante, comme l'achondroplasie² (mutation du gène

¹ UMR BDR, INRA, ENVA, Université Paris Saclay, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France ;
² Unité Gamète-Implantation-Gestation, EA7404 Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines et Centre hospitalier intercommunal de Poissy St-Germain, laboratoire assistance médicale à la procréation-cytogénétique, France ;
³ APHP, hôpital Jean Verdier, 93140, Bondy, France.
pascale.chavatte@jouy.inra.fr

¹ Rappelons que, chez la femme, la fertilité diminue dès l'âge de 35 ans.

² Variété d'ostéochondropysplasie (terme générique désignant l'ensemble des maladies constitutionnelles responsables de désordres de la croissance ou du développement de l'os ou du cartilage) entraînant un nanisme micromélique sévère (la micromélie est une malformation caractérisée par une diminution des dimensions d'un ou de plusieurs membres), reconnu dès la naissance, se transmettant de façon autosomique dominante avec un taux de mutations élevé.

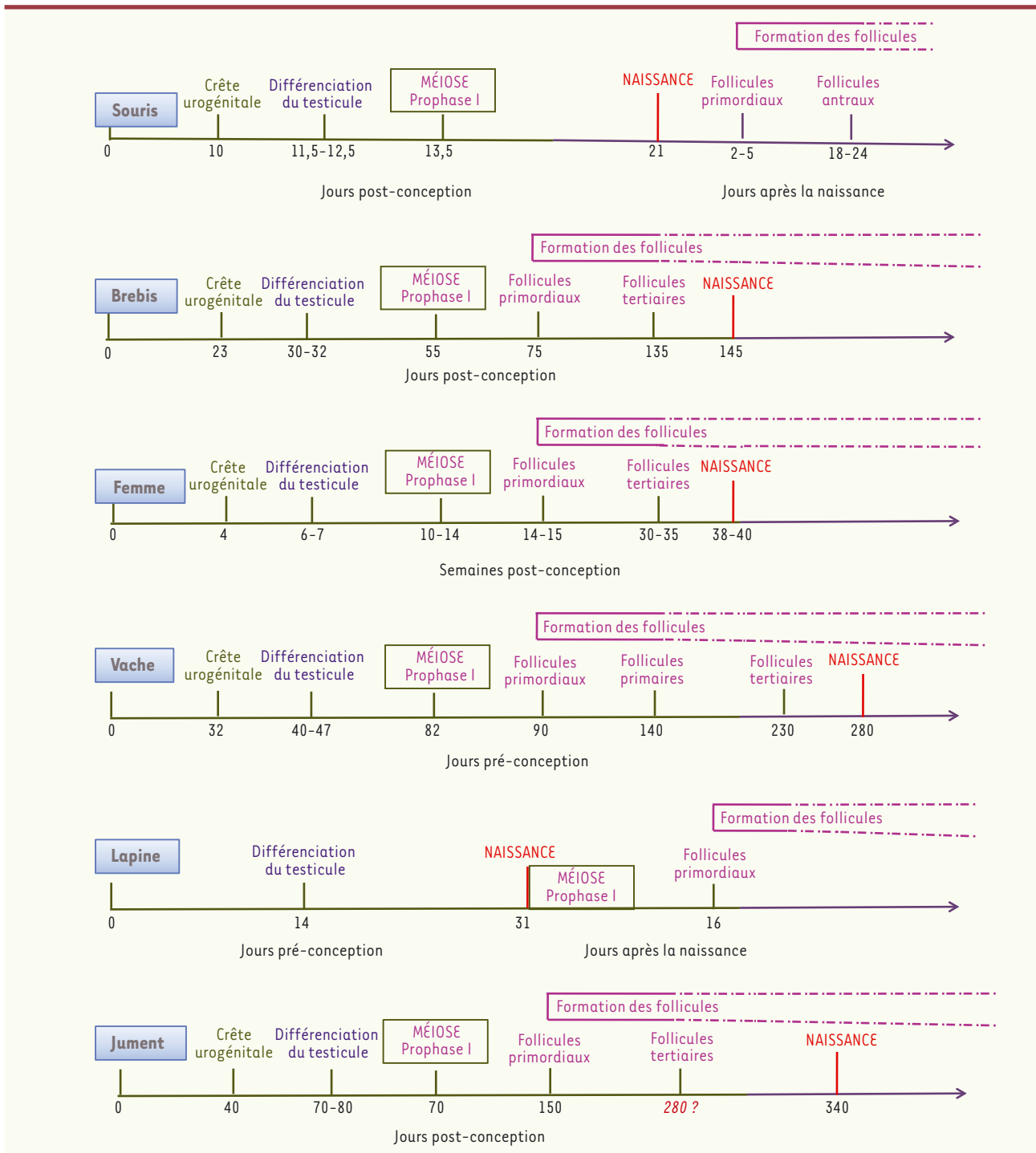


Figure 1. Représentation schématique des étapes de la différenciation sexuelle et de la maturation gonadique dans différentes espèces de mammifères (d'après [1]).

FGFR3 [fibroblast growth factor receptor 3]) ou certaines pathologies neurologiques (mutation du gène *SHANK2* [*SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 2*]) [2].

La gamétogenèse est également le siège de profondes modifications épigénétiques, en particulier des marques de méthylation de l'ADN. Durant cette période, il y a successivement une déméthylation globale,

puis une méthylation *de novo* avant la fécondation (Figure 2A) [3, 4]. La mise en place de l'empreinte est un mécanisme particulier avec une empreinte paternelle pour le spermatozoïde et maternelle pour l'ovocyte. Dans un premier temps, *in utero*, se produit l'effacement de l'empreinte parentale antérieure. En

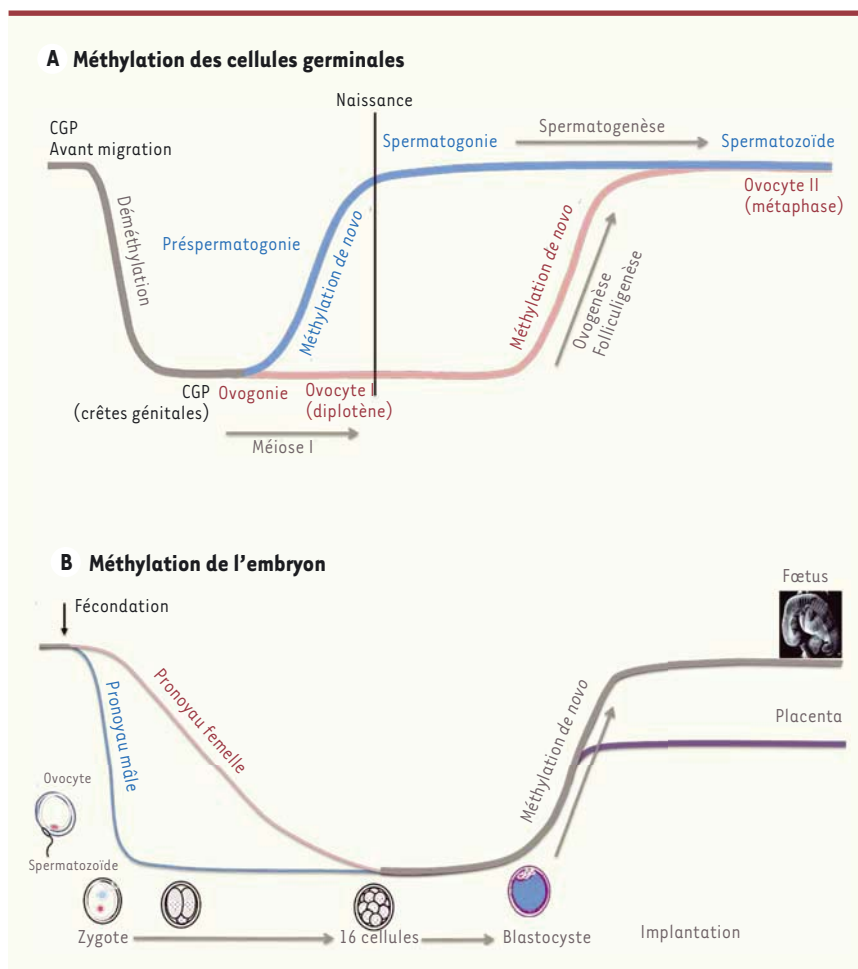


Figure 2. Modifications de la méthylation des gamètes au cours du temps. CGP : cellules germinales primordiales.

effet, les cellules somatiques portent un allèle avec une empreinte maternelle et un autre avec une empreinte paternelle. L'effacement de l'empreinte correspond à la mise en place de l'empreinte spécifique pour chaque type de gamètes (empreinte paternelle pour les spermatozoïdes et maternelle pour les ovocytes). Durant l'ovogenèse, l'effacement de l'empreinte se produit durant la vie fœtale. Le rétablissement s'effectue durant la maturation folliculaire, à l'âge adulte. En ce qui concerne la spermatogenèse, les deux étapes se déroulent durant la période embryo-fœtale.

La fécondation rassemble, dans un même cytoplasme ovocytaire, les génomes des deux gamètes. L'ovocyte termine alors sa méiose (la fécondation déclenchant la fin de la méiose II). L'embryon commence alors son premier cycle cellulaire pendant lequel les deux génomes parentaux évoluent séparément au sein de deux pronoyaux. Chacun des deux génomes parentaux est d'abord transcriptionnellement inactif. Ce sont donc les transcrits et les protéines maternelles, stockés au cours de l'ovogenèse dans le cytoplasme ovocytaire, qui assurent les premières étapes du développement, au moins jusqu'au stade où le génome embryonnaire est activé (8 cellules, 3 jours chez l'homme). La période préimplantatoire du développement embryonnaire est

caractérisée par une succession de divisions cellulaires (l'embryon gardant un volume total constant) avec un partage entre les différents blastomères des organites hérités de l'ovocyte. Les premières communications entre les cellules sont établies ensuite lors de la compaction au stade de morula³. Elles précèdent l'apparition des premières différenciations cellulaires et la mise en place des premiers lignages au stade blastocyste : masse cellulaire interne à partir de laquelle se développeront le fœtus et certaines annexes extra-embryonnaires et le trophoctoderme, qui participera exclusivement aux tissus extraembryonnaires.

Pour assurer les premières étapes du développement, l'utilisation de l'information ovocytaire est régulée par des modifications des ARN maternels pour permettre leur traduction ou modifier leur stabilité, ou par des modifications des protéines pour les rendre fonctionnelles ou modifier leur localisation cellulaire. La dégradation des facteurs maternels, tout comme l'activation du génome embryonnaire, sont progressifs : on parle alors de la transition materno-embryonnaire. Les génomes hérités des gamètes sont issus de cellules très différenciées. Une des premières fonctions du cytoplasme ovocytaire est de

« reprogrammer » ces génomes afin de constituer celui du zygote, une cellule totipotente, c'est-à-dire capable d'assurer le développement d'un organisme complet.

Les modifications épigénétiques associées à la reprogrammation du génome du zygote

La reprogrammation du génome du zygote repose sur d'intenses modifications épigénétiques (Figure 2B) [4]. Ces modifications commencent avec le remplacement des protamines du génome paternel par des histones, et se poursuivent tout au long des premiers cycles cellulaires. Les génomes parentaux, puis le génome embryonnaire, vont progressivement perdre les marques épigénétiques répressives (méthylation des histones et de l'ADN) et acquérir des marques permissives pour la transcription

³ À partir du stade 8 à 16 cellules, la compaction initie les premiers événements de la différenciation embryonnaire en générant une nouvelle répartition des cellules dans la morula.

(acétylation des histones notamment) [5]. Au cours du développement préimplantatoire, les modifications post-traductionnelles des histones sont particulièrement dynamiques, certaines d'entre elles persisteront jusqu'au stade blastocyste alors que d'autres sont plus transitoires [6]. Toutefois, l'état de la chromatine de chacun des deux génomes parentaux étant différent, les modifications épigénétiques qui les affectent sont asymétriques. Ainsi, lors du remplacement des protamines du génome spermatique par les histones, certains variants d'histones, d'origine maternelle, présentent une asymétrie d'allocation. C'est le cas chez la souris, pour le variant H3.3 qui présente un biais en faveur du génome paternel [7], alors que TH2B (*testis specific H2B*), préalablement présent sur le génome maternel, est rapidement incorporé dans le pronoyau paternel [8, 9]. Toujours chez la souris, les études montrent par ailleurs que, dès le remplacement des protamines, les histones associées au génome paternel sont hyperacétylées, alors que la méthylation persiste sur les histones associées au génome maternel [6].

La méthylation de l'ADN est également très dynamique au cours de cette période. Elle présente, elle aussi, une asymétrie parentale lors de la fécondation. Chez la souris comme chez l'homme, le génome du spermatozoïde est plus méthylé que celui de l'ovocyte [10-12]. La distribution de la méthylation n'est pas strictement identique dans les deux types de gamètes. Ainsi les ovocytes humains et murins présentent des méthylations en dehors des îlots CpG [10, 11]. Ces génomes gamétiques sont globalement déméthylés durant la période s'étendant entre la fécondation et les premiers stades de clivage selon des cinétiques qui peuvent varier selon l'espèce [12]. Toutes les régions du génome ne sont pas affectées de la même façon par cette déméthylation [11-14]. Toutefois, le génome embryonnaire reste globalement hypométhylé jusqu'au stade blastocyste inclus. À ce stade, une méthylation différentielle, entre la masse cellulaire interne et le trophoctoderme, est rapportée par certaines études chez l'homme [10] et chez la souris, comme dans plusieurs modèles de mammifères domestiques, où la différence entre lignages s'installe progressivement au cours du stade blastocyste. Chez la souris, la reméthylation du génome embryonnaire a lieu après l'implantation de l'embryon.

Malgré ces modifications importantes de la structure chromatinienne et de l'épigénome au cours de la période préimplantatoire, certains éléments structuraux de la chromatine et certaines marques épigénétiques sont transmis par les gamètes à l'embryon. Ainsi chez l'homme, les histones caractéristiques de l'hétérochromatine constitutive spermatique, héritées par le zygote, contribuent à la formation de l'hétérochromatine paternelle du génome embryonnaire [15]. De même, la méthylation de certains CpG spécifiques du sperme ou de l'ovocyte est maintenue dans la masse cellulaire interne et dans l'embryon post-implantatoire chez la souris [11]. Ce phénomène est rapporté également pour des méthylations spécifiques de l'ovocyte chez l'homme [12]. Le lien entre ces modifications épigénétiques et l'activation transcriptionnelle du génome embryonnaire n'est pas totalement élucidé. Toutefois, l'augmentation artificielle de l'acétylation des histones, comme l'inhibition de leur déméthylation, perturbent l'activation du génome embryonnaire, montrant que la dynamique des modifications épigénétiques participe à cette

activation. Or, cette dynamique est altérée par les modifications de l'environnement embryonnaire. En particulier, la dynamique de déméthylation progressive de l'ADN du génome embryonnaire est différente selon que l'embryon se développe *in vivo* ou *in vitro* et selon le milieu de culture *in vitro* utilisé [16] (Salvaing *et al.*, communication personnelle). À l'heure actuelle, on ne sait pas si certaines de ces différences de méthylation de l'ADN, induites précocement, sont susceptibles d'être corrigées lors de la phase de reméthylation post-implantatoire. Mais on sait que toutes ne sont pas corrigées puisque des différences de méthylation à l'âge adulte entre individus issus d'embryons développés *in vivo* ou *in vitro* ont été mises en évidence chez la souris [17, 18]. De plus, une différence de méthylation a été démontrée entre les enfants issus de techniques d'assistance médicale à la procréation et ceux issus de grossesse naturelle [18, 19]. Ces perturbations épigénétiques initiales, mémorisées par le génome embryonnaire, pourraient expliquer les effets de l'environnement de l'embryon préimplantatoire observés à long terme (voir plus loin). Elles peuvent aussi expliquer des différences d'expression génique précoce affectant le développement de l'embryon et l'allocation des cellules aux deux premiers lignages (trophoctoderme et masse cellulaire interne). En termes de perturbation de l'expression génique précoce, c'est précisément la période de l'activation majeure du génome embryonnaire qui est la plus sensible aux modifications de l'environnement embryonnaire [20]. Enfin, certaines marques épigénétiques échappent à la reprogrammation générale qui suit la fécondation, d'une part, et au début du développement reposant sur l'utilisation de l'information maternelle, d'autre part. L'altération épigénétique des génomes gamétiques et toute altération de la qualité des transcrits maternels, ou de la fonction des organites maternels, par l'environnement péri-conceptionnel au cours des gamétogenèses, peuvent altérer l'aptitude au développement de l'embryon.

Effets à long terme de l'environnement péri-conceptionnel : quelles évidences ?

Chez l'humain, la « programmation métabolique » ou « programmation fœtale » a été particulièrement bien étudiée dans un exemple de sous-nutrition maternelle pendant la grossesse, lors de la famine hollandaise de l'hiver 1944-1945 [21]. Les effets observés sont fortement corrélés à la période d'exposition des individus. Ainsi, les individus nés de mères exposées à la famine en début de grossesse n'étaient pas plus petits à la naissance, mais étaient plus susceptibles de développer



une obésité à l'âge adulte. Ces individus avaient également un risque trois fois plus important que ceux dont les mères n'avaient pas subi de famine, de développer des pathologies cardiovasculaires, et avaient un profil lipidique prédisposant à l'athérome. En revanche, les individus nés de mères exposées à la famine en milieu ou en fin de grossesse étaient plus petits à la naissance et avaient un risque augmenté de développer une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline [22]. Des travaux épidémiologiques récents ont montré que les variations du poids de la mère entre l'âge de 20 ans et celui de la maternité ont une incidence sur le développement fœtal : ainsi, le risque de retard de croissance intra-utérin s'observerait surtout chez les enfants de femmes en léger surpoids à 20 ans mais qui perdent du poids par la suite, avant la maternité [23]. Par ailleurs, la supplémentation en acide folique, recommandée pour prévenir les risques d'anomalies de développement du tube neural dans la période périconceptionnelle, peut induire une modification de la méthylation (hyperméthylation) du gène codant pour l'IGF-2 (*insulin growth factor*) chez l'enfant [24]. L'ensemble de ces données sont confirmées par de nombreuses approches expérimentales qui soulignent l'importance de la nutrition maternelle (obésité, sous-nutrition ou carence en vitamines B) [25]. Une hyperthermie et une inflammation maternelle provoquée par une injection de lipopolysaccharide (LPS) juste après la fécondation [26], une sous-nutrition protéique durant la période pré- et/ou périconceptionnelle, par exemple, peuvent perturber le développement chez la descendance, avec des différences en fonction du sexe [27, 28]. Chez le lapin, une alimentation maternelle enrichie en lipides est associée à des changements d'expression de gènes dans l'embryon et à une accumulation de gouttelettes lipidiques dans le trophoblaste du blastocyste, retrouvée, en fin de gestation, dans le placenta (d'origine trophoblastique) [29].

Récemment, la notion de transmission paternelle, non génétique, de pathologies à long terme a émergé [30]. Les premières observations ont été réalisées dans des modèles animaux. Chez le rat, une obésité paternelle, induite par un régime hyperlipidique, entraîne chez les descendantes femelles, une fois parvenues à l'âge adulte, une augmentation du poids corporel, de l'adiposité et un dysfonctionnement des cellules β du pancréas avec une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline. Chez ces animaux, le gène *Irf3ra2* codant le récepteur alpha2 de l'IL-13 (*interleukin 13 receptor alpha 2*) – qui module la croissance et l'invasion de différentes lignées cellulaires pancréatiques – est fortement déméthylé, ce qui affecte la fonction des cellules β du pancréas [31]. Chez les descendants de souris mâles soumis à un régime pauvre en protéines, le profil d'expression de nombreux gènes hépatiques, impliqués dans le métabolisme des lipides et du cholestérol, est altéré ; c'est le cas notamment de *PPAR γ* (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*) [32]. Toujours chez la souris, l'obésité paternelle induite par un régime hyperlipidique, altère chez les descendants les profils transcriptionnels testiculaire et spermatique – altération de microARN et diminution de méthylation globale de l'ADN [33, 34]. Les descendants mâles et femelles adultes présentent une intolérance au glucose, une résistance à l'insuline et une obésité [35]. Outre l'atteinte métabolique, la mobilité spermatique

est réduite et est associée à une augmentation des radicaux libres et de la fragmentation de l'ADN spermatique chez les descendants mâles, tandis que chez les femelles, on observe une réduction de l'aptitude des ovocytes à la méiose (réduction du nombre d'ovocytes maturés jusqu'au stade MII dans un milieu de maturation *in vitro*) et une altération du potentiel de membrane mitochondrial ovocytaire [35]. Chez l'homme, l'obésité paternelle est associée à une hypométhylation des régions différentiellement méthylées de gènes soumis à l'empreinte (*IGF-2* [*insulin-like growth factor 2*], *MEST* [*mesoderm specific transcript*], *NNAT* [*neurotatin*] et *PEG-3* [*paternally-expressed gene 3*]) dans les leucocytes du sang de cordon des enfants [30], le gène *IGF-2* étant fortement impliqué dans la croissance et le développement *in utero*.

Impact des biotechnologies de la reproduction sur la santé des descendants

Si la nutrition maternelle peut avoir un tel effet sur le statut métabolique de la descendance, il semble important d'étudier l'effet à long terme des pratiques d'assistance médicale à la procréation (AMP). L'expression des gènes embryonnaires, fœtaux et placentaires peut en effet être modifiée lors de ces pratiques, par les conditions suboptimales de la culture *in vitro* de l'embryon réalisée après la fécondation *in vitro*, et ainsi entraîner des effets à long terme sur son développement, incluant des effets sur la croissance fœtale et post-natale, ainsi que sur l'homéostasie glucidique. Ces effets dépendent du milieu de culture et du sexe de l'individu [27]. Chez les ruminants, l'apparition du syndrome du gros veau⁴ [36] a été associée à la présence de sérum humain dans le milieu de culture embryonnaire et à la coculture des embryons sur un tapis de cellules avant leur transfert dans l'utérus au stade blastocyste. Chez l'humain (comme chez la souris), après culture de l'embryon, on note plutôt une augmentation de la fréquence des RCIU (retard de croissance intra-utérin) avec une incidence de 35 % versus 9 % pour les embryons issus de fécondation naturelle, selon une revue américaine récente [37] (il faut noter cependant l'impact important des grossesses multiples). La croissance postnatale est affectée au moins jusqu'à l'âge de deux ans [38]. Le risque, pour ces enfants, de développer des pathologies cardiovasculaires ou métaboliques pourrait être augmenté [39]. Une augmentation de la

⁴ Le syndrome dit du « gros veau » observé chez les animaux obtenus par clonage, est caractérisé par un développement anormal du placenta et du fœtus avec une taille et un poids anormalement élevés ; certains organes sont hypertrophiés.

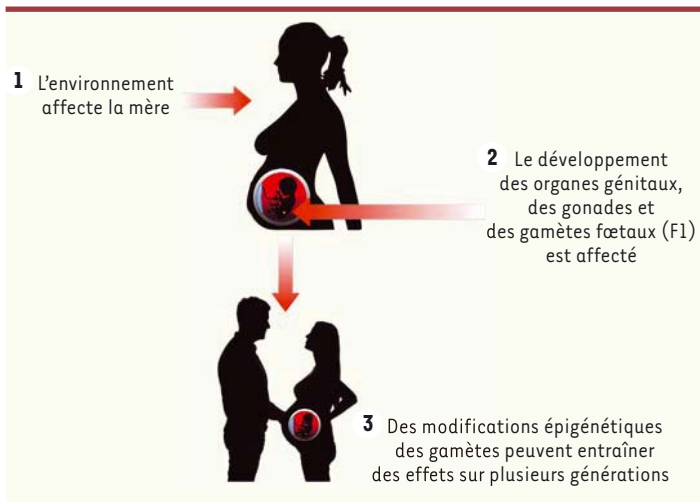


Figure 3. Transmission multigénérationnelle de la programmation fœtale.

fréquence des dépressions est également observée [40], mais celle-ci pourrait être liée à l'impact de l'âge paternel qui est augmenté par rapport à la population générale (voir plus haut [2]). Enfin, si le lien entre altération épigénétique et survenue de cancer est établi, le suivi des enfants est actuellement rassurant [39] bien qu'une étude montre une augmentation modérée du risque de développer un cancer (*odds ratio* à 1,42 [95 % CI : 1,09-1,87 ; $p < 0,01$]) chez ces enfants, qui pourrait être liée au taux de naissance prématurée et à l'hypoxie néonatale [41]. De plus, des modifications des profils de méthylation génomique ont été retrouvées chez les enfants conçus après une procédure d'AMP (FIV et ICSI)⁵ [18, 19]. Elles concernent des gènes impliqués dans des maladies métaboliques chroniques [42] et pourraient également être à l'origine de la diminution du développement trophoblastique et du poids fœtal (*IGF-2/H19*, gènes soumis à l'empreinte [5]). Plusieurs études ont aussi rapporté des cas d'anomalies de l'empreinte parentale (Tableau I) [43].

Chez l'homme (le père), certaines marques de méthylation des spermatozoïdes éjaculés et des tissus testiculaires sont altérées chez les patients infertiles, ce qui pourrait contribuer aux anomalies retrouvées. Chez la souris et la femme, l'hyperstimulation ovarienne, nécessaire lors de la procédure de FIV ou d'ICSI, dont on sait qu'elle augmente le risque d'aneuploïdie ovocytaire, peut également perturber les mécanismes de la mise en place de l'empreinte parentale [44]. De fait, on observe un impact de la stimulation ovarienne sur la méthylation et l'expression des gènes soumis à empreinte dans l'embryon dans environ la moitié des cas [45]. La procédure de culture de l'embryon a aussi été mise en cause chez l'humain comme chez les animaux [14, 45], avec l'apparition d'altérations de la méthylation de l'ADN dépendant des milieux de culture utilisés [16] (voir plus haut).

Enfin, l'impact sur l'embryon des nouvelles procédures comme la maturation ovocytaire *in vitro* ou la vitrification ovocytaire⁶, n'a pas été évalué. Chez le lapin, la vitrification des embryons modifie le phénotype placentaire et postnatal (réduction des poids fœtal et placentaire à mi-gestation mais augmentation du poids fœtal à terme, surexpression de nombreux gènes impliqués dans les synthèses protéiques, le métabolisme des lipides et les transports moléculaires, augmentation de la survie néonatale et de la taille des portées en première et deuxième génération) [46, 47].

Transmission intergénérationnelle et transgénérationnelle de pathologies liées à l'alimentation

Lors d'une grossesse, le fœtus (F1) et ses cellules germinales peuvent être exposés à des perturbations de l'environnement maternel (F0). Il y a donc possibilité de transmission à la descendance (F2) de déficits : on parle de transmission intergénérationnelle (de F0 à F2) (Figure 3). En cas d'exposition préconceptionnelle, cette transmission intergénérationnelle serait restreinte à la génération F1, seule exposée, *via* les gamètes paternels, à l'environnement perturbé subi par le père (F0). Le même principe pourrait être appliqué en cas de don d'ovocyte (environnement préconceptionnel indépendant de l'environnement gestationnel). La transmission aux générations suivantes est dite transgénérationnelle. Cette transmission transgénérationnelle suppose des mécanismes de transmission de modifications épigénétiques lors de la méiose.

Ainsi, les enfants des femmes dont les mères ont été soumises à la famine hollandaise *in utero* étaient de plus petite taille à la naissance (- 0,6 cm) avec une augmentation de l'indice pondéral (+ 1,2 kg/m²) par rapport à ceux dont les mères n'avaient pas été exposées [48]. De plus, leur état de santé à l'âge adulte était moins bon, mais sans augmentation de l'obésité ou des maladies cardiovasculaires [48]. Ceux dont le grand-père avait été exposé *in utero* à la famine avaient un poids plus élevé et un risque accru d'obésité (IMC, indice de masse corporelle : + 1,6 kg/m²) [49]. Aucune différence n'a été observée à l'heure actuelle chez les arrière-petits-enfants de femmes exposées à la famine [49]. Dans une autre étude réalisée sur la population du village d'Overkalix en Suède, il a été montré qu'une diminution

⁵ La FIV (fécondation *in vitro*) avec microinjection intracytoplasmique ou ICSI (fécondation *in vitro* avec micro-injection) est une technique qui consiste à inséminer un ovule par microinjection d'un spermatozoïde.

⁶ La vitrification ovocytaire est une méthode de congélation ultrarapide des ovocytes, permettant de préserver leur survie et leur fécondabilité, et donc de les congeler avant la procédure de FIV. Elle est autorisée en France depuis 2011.

Population	Syndromes	Beckwith-Wiedmann	Silver-Russell	Angelman
Générale	Incidence générale	1/14 000	1/100 000	1/16 000
	Anomalie génétique	30 %	40 %	97 %
	Anomalie épigénétique	70 %	60 %	3 %
Assistance médicale à la procréation	Nombre de cas	87	6	4
	Anomalie épigénétique	100 %	100 %	100 %
	Augmentation de l'incidence	x 4-9	?	?

Tableau 1. Les anomalies d’empreinte dans la population d’assistance médicale à la procréation par rapport à la population générale (d’après [43]).

drastique d’apports alimentaires chez les grand-mères paternelles avant leur puberté augmentait de façon significative la mortalité cardiovasculaire de leurs petites-filles, mais pas de leurs petits-fils. L’hypothèse d’une transmission épigénétique liée au chromosome X semble être plausible [50].

Diverses études expérimentales conduites chez les rongeurs ont montré que les descendants F1 et F2 de femelles soumises à une restriction protéique présentent des phénotypes rappelant le syndrome métabolique [51]. Une transmission, spécifique du sexe, d’atteintes métaboliques et de l’obésité a d’ailleurs aussi été observée chez les descendants de souris insuffisamment nourries pendant la gestation : une diminution du poids de naissance est observée chez les mâles et les femelles de la génération F1, puis uniquement chez les descendants F2 issus des mâles F1. De plus, une intolérance au glucose est observée chez les mâles et les femelles des générations F1 et F2 [52]. Dans une autre étude réalisée chez la souris, il a été montré qu’une malnutrition maternelle durant la gestation induit un retard de croissance *in utero* puis de l’obésité et une intolérance au glucose à l’âge adulte chez les descendants mâles [53]. Les descendants de ces mâles développent également une intolérance au glucose et on observe une altération de l’expression de gènes lipogéniques (gènes impliqués dans la biosynthèse et l’oxydation des lipides) dans leur

foie, associée à une hypométhylation du récepteur nucléaire *liver X receptor alpha*. La même signature épigénétique est présente dans les spermatozoïdes des pères, démontrant une transmission transgénérationnelle [53]. Enfin, une autre étude chez la souris a mis en évidence la transmission par la voie paternelle, à partir de pères obèses, d’altérations des fonctions de reproduction et des voies métaboliques sur deux générations [33]. La qualité gamétique est réduite à la fois chez les mâles et les femelles en première et en deuxième génération. En revanche, les effets métaboliques (obésité, perturbations de l’homéostasie glucidique) qui sont présents dans les deux sexes pour les animaux de la première génération, affectent nettement plus les femelles que les mâles pour la deuxième génération.

Ainsi, les données épidémiologiques et expérimentales suggèrent une transmission intergénérationnelle et transgénérationnelle de pathologies liées à l’alimentation. Les gamètes mâles et femelles interviennent en tant que cibles, mais également en tant que vecteurs de marques épigénétiques. Les effets physiologiques et épigénétiques observés varient selon le sexe du parent transmetteur, le sexe de l’individu et la génération [54].

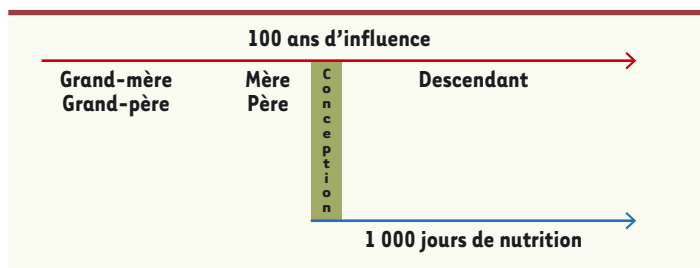


Figure 4. Programmation métabolique : 100 ans d’influence familiale pour 1 000 jours de nutrition. Flèche rouge : la nutrition des grand-parents peut directement affecter la santé leurs petits enfants, impliquant ainsi 100 ans d’influence familiale sur la santé de l’individu. Flèche bleue : il est important d’agir sur la nutrition maternelle dès la conception et jusque durant la période néonatale (période critique de 1 000 jours) pour réduire l’incidence des maladies métaboliques de l’adulte.

Conclusion

La programmation du phénotype d’un individu commence dès la fécondation et se poursuit pendant au moins 1 000 jours, c’est-à-dire jusqu’aux deux ans de l’enfant, période durant laquelle les démarches de santé publique ont concentré leurs efforts (<http://www.thousanddays.org/>). Cependant, le rôle de la période périconceptionnelle s’étend à la fabrication des gamètes durant la vie fœtale des parents, elle-même sensible à l’environnement des grands-parents lors de la conception et durant la grossesse. Ces 1 000 jours s’inscrivent donc dans une période de cent ans d’influences familiales (Figure 4). ♦

SUMMARY

DOHaD and pre- or peri-conceptual programming

The pre- and peri-conceptual periods (before and just after fertilization, until the blastocyst stage) are critical in the context of the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). Maternal *in vivo* environment, in particular nutrition, can disturb the apposition of epigenetic marks throughout gametogenesis, fertilization and the first steps of embryonic development, which are times during which major epigenetic changes take place. The *in vitro* environment, in the case of assisted reproduction techniques, also affects epigenetic marks. Whilst the embryo is a target of these changes, female and male gametes are both target and vector of these epigenetic changes, thus leading to multigenerational effects. Long term consequences on the phenotype of offspring vary according to the sex of the vector parent, the sex of the individual and the generation. ♦

LIENS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Chavatte-Palmer P, Debus N, Dupont C, Camous S. Nutritional programming and the reproductive function of the offspring. *Anim Prod Sci* 2014 ; 54 : 1166-76.
2. Goriely A, Wilkie AO. Paternal age effect mutations and selfish spermatogonial selection: causes and consequences for human disease. *Am J Hum Genet* 2012 ; 90 : 175-200.
3. MacDonald WA, Mann MR. Epigenetic regulation of genomic imprinting from germ line to preimplantation. *Mol Reprod Dev* 2014 ; 81 : 126-40.
4. Smallwood SA, Kelsey G. *De novo* DNA methylation: a germ cell perspective. *Trends Genet* 2012 ; 28 : 33-42.
5. Gabory A, Dandolo L. Épigénétique et développement : l'empreinte parentale. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 390-5.
6. Beaujean N. Histone post-translational modifications in preimplantation mouse embryos and their role in nuclear architecture. *Mol Reprod Dev* 2014 ; 81 : 100-12.
7. Inoue A, Zhang Y. Nucleosome assembly is required for nuclear pore complex assembly in mouse zygotes. *Nat Struct Mol Biol* 2014 ; 21 : 609-16.
8. Montellier E, Boussoûar F, Rousseaux S, et al. Chromatin-to-nucleoprotamine transition is controlled by the histone H2B variant TH2B. *Genes Dev* 2013 ; 27 : 1680-92.
9. Rousseaux S, Petosa C, Muller CM, Khochin S. Du nouveau dans la compréhension de la reprogrammation postméiotique du génome mâle. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 130-2.
10. Guo H, Zhu P, Yan L, et al. The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature* 2014 ; 511 : 606-10.
11. Wang L, Zhang J, Duan J, et al. Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals. *Cell* 2014 ; 157 : 979-91.
12. Okae H, Chiba H, Hiura H, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation dynamics during early human development. *PLoS Genet* 2014 ; 10 : e1004868.
13. Smith ZD, Chan MM, Humm KC, et al. DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo. *Nature* 2014 ; 511 : 611-5.
14. Market-Velker BA, Fernandes AD, Mann MR. Side-by-side comparison of five commercial media systems in a mouse model: suboptimal *in vitro* culture interferes with imprint maintenance. *Biol Reprod* 2010 ; 83 : 938-50.
15. van de Werken C, van der Heijden GW, Eleveld C, et al. Paternal heterochromatin formation in human embryos is H3K9/HP1 directed and primed by sperm-derived histone modifications. *Nat Commun* 2014 ; 5 : 5868.
16. Reis e Silva AR, Bruno C, Fleurot R, et al. Alteration of DNA demethylation dynamics by *in vitro* culture conditions in rabbit pre-implantation embryos. *Epigenetics* 2012 ; 7 : 440-6.
17. Morgan HD, Jin XL, Li A, et al. The culture of zygotes to the blastocyst stage changes the postnatal expression of an epigenetically labile allele, agouti viable yellow, in mice. *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 618-23.
18. Melamed N, Choufani S, Wilkins-Haug LE, et al. Comparison of genome-wide and gene-specific DNA methylation between ART and naturally conceived pregnancies. *Epigenetics* 2015 ; 10 : 474-83.
19. Turan N, Katari S, Gerson LF, et al. Inter- and intra-individual variation in allele-specific DNA methylation and gene expression in children conceived using assisted reproductive technology. *PLoS Genet* 2010 ; 6 : e1001033.
20. Gad A, Schellander K, Hoelker M, Tesfaye D. Transcriptome profile of early mammalian embryos in response to culture environment. *Anim Reprod Sci* 2012 ; 134 : 76-83.
21. Roseboom TJ, de Rooij S, Painter R. The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Hum Dev* 2006 ; 82 : 485-91.
22. Painter RC, Roseboom TJ, Bossuyt PM, et al. Adult mortality at age 57 after prenatal exposure to the Dutch famine. *Eur J Epidemiol* 2005 ; 20 : 673-6.
23. Diouf I, Charles MA, Thiébauges O, et al. Maternal weight change before pregnancy in relation to birthweight and risks of adverse pregnancy outcomes. *Eur J Epidemiol* 2011 ; 26 : 789-96.
24. Steegers-Theunissen RP, Twig J, Pestinger V, Sinclair KD. The periconceptual period, reproduction and long-term health of offspring: the importance of one-carbon metabolism. *Hum Reprod Update* 2013 ; 19 : 640-55.
25. Watkins A, Lucas ES, Fleming T. Impact of the periconceptual environment on the programming of adult disease. *J Dev Orig Health Dis* 2010 ; 1 : 1-9.
26. Williams CL, Teeling JL, Perry VH, Fleming TP. Mouse maternal systemic inflammation at the zygote stage causes blunted cytokine responsiveness in lipopolysaccharide-challenged adult offspring. *BMC Biology* 2011 ; 9.
27. Laguna-Barraza R, Bermejo-Alvarez P, Ramos-Ibeas P, et al. Sex-specific embryonic origin of postnatal phenotypic variability. *Reprod Fertil Dev* 2012 ; 25 : 38-47.
28. Fleming TP, Velazquez MA, Eckert JJ, et al. Nutrition of females during the peri-conceptual period and effects on foetal programming and health of offspring. *Anim Reprod Sci* 2012 ; 130 : 193-7.
29. Tarrade A, Rousseau-Ralliard D, Aubrière MC, et al. Sexual dimorphism of the fetoplacental phenotype in response to a high fat and control maternal diets in a rabbit model. *PLoS One* 2013 ; 8 : e83458.
30. Soubry A, Hoyo C, Jirtle RL, Murphy SK. A paternal environmental legacy: evidence for epigenetic inheritance through the male germ line. *BioEssays* 2014 ; 36 : 359-71.
31. Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, et al. Chronic high-fat diet in fathers programs b-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature* 2010 ; 467 : 963-7.
32. Carone BR, Fauquier L, Habib N, et al. Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. *Cell* 2010 ; 143 : 1084-96.
33. Fullston T, Ohlsson Teague EM, Palmer NO, et al. Paternal obesity initiates metabolic disturbances in two generations of mice with incomplete penetrance to the F2 generation and alters the transcriptional profile of testis and sperm microRNA content. *FASEB J* 2013 ; 27 : 4226-43.
34. Fullston T, McPherson NO, Owens JA, et al. Paternal obesity induces metabolic and sperm disturbances in male offspring that are exacerbated by their exposure to an obesogenic diet. *Physiol Rep* 2015 ; 3 : pii-e12336.
35. Fullston T, Palmer NO, Owens JA, et al. Diet-induced paternal obesity in the absence of diabetes diminishes the reproductive health of two subsequent generations of mice. *Hum Reprod* 2012 ; 27 : 1391-400.
36. Young LE, Sinclair KD, Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev Reprod* 1998 ; 3 : 155-63.
37. Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, et al. Assisted reproductive technology surveillance - United States, 2012. *MMWR Surveill Summ* 2015 ; 64 : 1-29.
38. Kleijkers SH, van Montfort AP, Smits LJ, et al. IVF culture medium affects post-natal weight in humans during the first 2 years of life. *Hum Reprod* 2014 ; 29 : 661-9.
39. Hart R, Norman RJ. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment. Part I. General health outcomes. *Hum Reprod Update* 2013 ; 19 : 232-43.
40. Hart R, Norman RJ. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment. Part II. Mental health and development outcomes. *Hum Reprod Update* 2013 ; 19 : 244-50.
41. Kallen B, Finnstrom O, Lindam A, et al. Cancer risk in children and young adults conceived by *in vitro* fertilization. *Pediatrics* 2010 ; 126 : 270-6.
42. Katari S, Turan N, Bibikova M, et al. DNA methylation and gene expression differences in children conceived *in vitro* or *in vivo*. *Hum Mol Genet* 2009 ; 18 : 3769-78.
43. Amor DJ, Halliday J. A review of known imprinting syndromes and their association with assisted reproduction technologies. *Hum Reprod* 2008 ; 23 : 2826-34.
44. Market-Velker BA, Zhang L, Magri LS, et al. Dual effects of superovulation: loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner. *Hum Mol Genet* 2010 ; 19 : 36-51.

