

Un rapport exprime une prise de position officielle de l'Académie nationale de médecine. L'Académie dans sa séance du mardi 21 mars 2023, a adopté le texte de ce rapport par 55 voix pour, 4 voix contre et 0 abstentions.

Santé à moyen et à long terme des enfants conçus par fécondation *in vitro* (FIV)

Medium and long-term health of children conceived through in vitro fertilization (IVF)

JOUANNET P. CLARIS O. LE BOUC Y. pour le compte d'un groupe de travail¹

Résumé

Parmi les questions médicales, scientifiques et éthiques suscitées par l'Assistance Médicale à la Procréation et notamment la fécondation *in vitro* (FIV), celles concernant la santé à moyen et à long terme des enfants et des jeunes adultes sont primordiales. De nombreuses études ont été menées s'intéressant à la survenue de différentes altérations de la santé, notamment les troubles de la croissance et du métabolisme, les troubles cardiovasculaires, les pathologies liées aux gènes soumis à empreinte, les cancers pédiatriques, les troubles du neurodéveloppement et de la fertilité. Les résultats publiés ne sont pas tous concordants. Il en ressort globalement que les enfants conçus par FIV peuvent être parfois atteints de troubles de la santé sans qu'un type particulier prédomine, que leur incidence est relativement modérée et qu'en cas d'augmentation significative de l'incidence, elle n'est pas beaucoup plus importante que chez les enfants conçus naturellement. Cependant les études comparatives faites sur des populations mieux caractérisées doivent être poursuivies, notamment à des âges plus avancés de la vie.

Les altérations observées chez les enfants ne sont pas forcément imputables à la FIV dans la mesure où les couples infertiles peuvent être plus à risque de transmettre à leurs enfants des facteurs responsables de perturbations de santé. Par exemple, certains garçons nés à la suite d'une FIV avec microinjection de spermatozoïde dans l'ovocyte (ICSI), faite pour pallier une infertilité masculine d'origine génétique, risquent d'être stériles comme leur père.

Parmi les procédures utilisées pour réaliser une FIV, ce sont les traitements hormonaux de stimulation ovarienne, les conditions de la culture embryonnaire et la congélation des embryons qui sont le plus souvent suspectés d'être à l'origine des troubles observés. Il serait donc nécessaire que ces procédures soient précisément documentées dans les études publiées et dans les bases de données élaborées pour analyser l'activité.

¹ Membres du groupe de travail de l'Académie nationale de médecine : Monique Adolphe†, Claudine Bergoignan-Esper, Christian Boitard, Gérard Bréart, Louis Bujan, Gilles Crépin, Marc Delpéch, Jean Dubousset, Elisabeth Elefant, Jean-Noël Fiessinger, Jean-Michel Hascoët, Roger Henrion, Jacques Milliez, Nathalie Rives, Françoise Shenfield, Alfred Spira

Les mécanismes impliqués dans la survenue des altérations observées sont mal connus. Si des perturbations de régulations épigénétiques sont le plus souvent évoquées, des recherches sur des modèles animaux mais aussi dans l'espèce humaine sont nécessaires pour les préciser.

Le fait que beaucoup d'incertitudes demeurent ne devrait pas empêcher qu'une information claire, objective et précise, soit donnée aux personnes ayant recours à une FIV afin que puissent être prises les mesures les plus appropriées possible en cas d'apparition de troubles de santé chez leurs enfants.

Abstract

Among the medical, scientific and ethical questions raised by Medically Assisted Procreation and in particular *In vitro* Fertilization (IVF), those concerning the medium and long-term health of children and young adults are essential. Many studies have been conducted focusing on the occurrence of various health alterations, including growth and metabolic disorders, cardiovascular disorders, pathologies linked to imprinted genes, pediatric cancers, neurodevelopmental disorders and fertility. The published results are not all consistent. Overall, it emerges that children conceived by IVF can sometimes be affected by health problems without a particular type predominating, that their incidence is relatively moderate and that, in the event of a significant increase in incidence, it is not much greater than in naturally conceived children. However, comparative studies conducted on better characterized populations must be carried on, particularly at later ages of life.

The alterations observed in children are not necessarily attributable to IVF insofar as infertile couples may be more at risk of transmitting to their children factors responsible for health disturbances. For example, some boys, born as a result of an IVF with Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI) performed to compensate for male infertility of genetic origin, risk being sterile like their father.

Among the procedures used to perform IVF, hormonal ovarian stimulation treatments, embryo culture conditions and embryo freezing are most often suspected of being the cause of the observed disorders. It would therefore be necessary for these procedures to be precisely documented in the published studies and in the databases developed to analyze the activity.

The mechanisms involved in the occurrence of the observed alterations are poorly understood. If disturbances of epigenetic regulations are most often mentioned, research on animal models, but also in the human species, is necessary to clarify them.

The fact that many uncertainties remain should not prevent to give clear, objective and precise information to people having recourse to IVF so that the most appropriate measures could be taken in the event of the appearance of health problems in their children

Mots Clefs :_Aide Médicale à la Procréation / FIV/ ICSI / milieu de culture / épigénétique / transfert d'embryon congelé / santé des enfants / suivi à long terme

Keywords: Medically Assisted Procreation / IVF/ICSI / culture media / epigenetics / frozen embryo transfer/ children health outcome / long term follow-up

Yves Le Bouc et Nathalie Rives sont Membres du groupe de travail « Suivi de la santé des femmes et des enfants en AMP » de l'Agence de Bio-Médecine, les autres auteurs de ce rapport déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt avec le sujet abordé.

Introduction

Depuis la première naissance, en 1978, d'un enfant après fécondation *in vitro* (FIV), cette technique s'est très largement répandue dans le monde entier pour aider des couples à devenir parents quand ils ne peuvent procréer naturellement. En Europe, les enfants qui sont nés en 2018 grâce à une Assistance Médicale à la Procréation (AMP), c'est-à-dire par FIV ou par insémination artificielle, ont représenté 3.5% des naissances [1]. En France, la proportion augmente chaque année (2.6% en 2009, 3.6% en 2019) [<https://rams.agence-biomedecine.fr/principaux-chiffres-de-lactivite-damp>].

Parmi les très nombreuses questions médicales, scientifiques et éthiques suscitées par l'AMP et notamment la FIV, celles concernant le devenir des enfants sont primordiales. C'est pourquoi l'Académie Nationale de Médecine (ANM) les a abordées depuis longtemps [2-3].

La période péri-conceptionnelle (gamétogenèse, fécondation et développement embryonnaire préimplantatoire) est particulièrement fragile et sensible aux évènements intercurrents. En effet, correspondant aux phases où gamètes et embryons sont manipulés *in vitro* lors des procédures d'AMP, elle est marquée par des évènements majeurs, notamment une reprogrammation épigénétique et la mise en place des marques d'empreinte génomique parentale [4] qui jouent un rôle déterminant pour le développement de l'embryon mais aussi après la naissance. Il est donc compréhensible qu'au-delà des premiers travaux qui ont porté sur les malformations congénitales et autres pathologies néonatales, de nombreuses études aient été menées pour évaluer si les enfants et jeunes adultes conçus par AMP sont plus fréquemment atteints d'affections que les autres et si c'est effectivement le cas, dans quelle mesure un lien de causalité peut être établi avec les procédures d'AMP.

Récemment un groupe d'universitaires français a souhaité connaître l'avis du Comité Consultatif National d'Éthique et de l'Agence de Biomédecine (ABM) sur le risque de pathologies cardiovasculaires de l'enfant qui pourraient être induites par la FIV. Cette alerte a conduit l'Inserm à organiser, en novembre 2021, un colloque international pour faire le point sur l'incidence des différentes anomalies se manifestant chez les enfants, sur les facteurs pouvant expliquer ces troubles, notamment ceux relatifs aux parents et plus spécifiquement à leur état de santé et à la qualité de leurs gamètes, aux procédures utilisées (FIV, ICSI, culture et congélation embryonnaires...) ou à d'autres évènements et sur les mécanismes mis en jeu dans l'apparition des anomalies (génétiques, épigénétiques, biochimiques...). Plusieurs membres de l'ANM, qui ont activement participé à ce colloque, ont estimé que l'ANM pourrait contribuer très positivement aux réflexions menées sur ce thème en créant un groupe de travail qui s'est donné pour objectif :

- 1- De faire le point sur les différentes anomalies observées à moyen et long terme.
- 2- D'identifier les facteurs susceptibles d'altérer la santé des enfants et leurs mécanismes d'action.
- 3- D'identifier les pistes de recherches à développer

Matériel et Méthodes

Ce rapport a été rédigé sur la base des réflexions du groupe de travail qui s'est réuni 9 fois pendant l'année 2022. Ces réflexions se sont appuyées sur l'expérience clinique et biologique des membres du groupe de travail, sur l'audition de différents experts du domaine (Annexe 1), sur les interventions des orateurs du symposium Inserm-Aviesan (Medium and long term health of children conceived by Assisted Reproductive Technology, 25 Nov 2021) et sur les données de la littérature scientifique et médicale internationale.

Les questions posées et les connaissances acquises sur la santé et l'état des enfants nés après AMP étant aussi diverses que nombreuses, le groupe a souhaité limiter sa réflexion à celles relatives à la fécondation *in vitro* standard (FIV) ou à la FIV avec injection Intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI), et à leurs compléments (culture et congélation embryonnaire), à l'exclusion des AMP avec dons de gamètes et en s'intéressant uniquement à la santé à moyen et long terme des enfants. En effet, les

risques néonataux ont fait l'objet de nombreuses études, le plus souvent concordantes [5]. Ces questions s'inscrivent dans un contexte de pratique de la FIV qui a beaucoup évolué depuis 40 ans (Annexe 2).

Résultats

N'ayant ni l'ambition ni les moyens d'être exhaustif et d'analyser l'ensemble des résultats publiés, ce rapport présente ceux qui ont semblé les plus importants et significatifs au groupe de travail. Les différents troubles de santé à moyen et à long terme des enfants ayant fait l'objet d'études sont aussi présentés dans un tableau avec des références plus complètes en Annexe 3.

1) Troubles de la croissance et du métabolisme.

Dès 1989, Barker a formulé l'hypothèse des conséquences vasculaires à long terme d'une altération de la croissance fœtale [6]. De plus, de nombreux travaux suggèrent une association entre la rapidité du rattrapage de la croissance pondérale après la naissance et la survenue à l'âge adulte de troubles métaboliques responsables d'accidents cardio-vasculaires et neurologiques [7,8]. Il n'est donc pas étonnant que cette thématique ait été étudiée chez les enfants conçus par FIV.

Croissance

Plusieurs travaux ont comparé la croissance des enfants conçus par FIV à celle de ceux issus de conception naturelle (CN). Une première étude néerlandaise avait trouvé que le poids, la taille et l'index de masse corporelle (IMC) étaient significativement plus faibles à l'âge de 3 mois dans le groupe FIV, par rapport au groupe CN, mais que la vitesse de croissance de rattrapage était plus importante entre 3 mois et 3 ans [9]. Le fait que les différences de croissance disparaissent à la fin de l'adolescence a été confirmé ultérieurement [10,11]. Néanmoins, les troubles cardio-vasculaires parfois constatés chez les enfants et les jeunes adultes conçus par FIV peuvent-ils être expliqués par ces caractéristiques de croissance différentes au début de la vie ? Les différences de croissance précoce sont-elles liées aux procédures de FIV ou à des facteurs parentaux ? Leur signification clinique n'est pas très claire.

Dans une étude française longitudinale monocentrique, les paramètres anthropométriques et l'IMC de 3 groupes d'enfants (58 nés après FIV, 60 après ICSI, et 329 après une CN) ont été étudiés jusqu'à l'âge de 5 ans [12]. Après ajustement sur les facteurs de confusion, l'IMC moyen n'était pas significativement différent selon le type de conception.

Métabolisme

La recherche d'un retentissement métabolique s'est généralement basée sur la mesure de divers paramètres comme le tour de taille, l'évaluation du tissu adipeux sous-cutané, la détermination des taux de glucose, insuline, cholestérol, triglycérides, leptine, adiponectine, apolipoprotéine A, et l'estimation d'une résistance à l'insuline [13]. Si des différences significatives mais modestes ont pu être observées entre les enfants nés après FIV et ceux après CN, à l'adolescence le profil métabolique de ces deux groupes est rassurant et ne diffère pas fondamentalement.

Deux études portant sur des populations importantes : une méta-analyse de 19 études incluant 2 112 enfants nés par FIV-ICSI et 4 096 enfants issus de CN et une vaste étude de cohorte sur la population nordique (incluant 122 429 singletons (enfants uniques) nés après AMP et 7 574 685 singletons nés après CN) ont confirmé ces résultats rassurants [14,15]. En particulier, l'AMP ne s'associait pas à un risque accru de maladies cardiovasculaires ou de diabète de type 2 après ajustement pour les facteurs

de confusion, même s'il existait un risque accru d'obésité faible mais significatif. Enfin très récemment, une publication rapportant les résultats de 26 cohortes et étudiant la croissance de 4 329 enfants conçus par FIV ou ICSI, a montré que si l'adiposité de ces enfants était plus faible au plus jeune âge, elle était plus élevée chez les jeunes adultes [11].

En conclusion, les résultats concernant la croissance et le métabolisme chez les enfants et adolescents conçus par FIV ou ICSI sont disparates mais plutôt rassurants et un suivi au long cours est indispensable car certaines pathologies ne se révéleront qu'au cours de la vie adulte.

2) Troubles cardiovasculaires

Depuis les premières publications [16,17] suggérant, chez les enfants nés de FIV, la survenue dès le très jeune âge, d'altérations des fonctions cardiovasculaires : pression artérielle systolique et diastolique plus élevées, hypertension artérielle pulmonaire, fonction endothéliale vasculaire altérée avec augmentation de la rigidité vasculaire et de l'épaisseur carotidienne intima-média, plusieurs études ont soit confirmé [18] ou infirmé [19] cette association, qu'il s'agisse des FIV avec transfert d'embryons frais ou congelés. Certaines études sont en faveur d'un effet de la FIV, d'autres en faveur de l'infertilité parentale.

Une méta-analyse de 19 études [14] concernant des enfants et jeunes adultes nés de FIV/ICSI a confirmé une augmentation mineure mais statistiquement significative de la pression artérielle systolique et diastolique par rapport aux groupes CN. S'y associaient des valeurs inférieures de cholestérol LDL, normales de l'IMC mais plus élevées d'insulinémie.

Différents facteurs et mécanismes ont été proposés tel le rôle du stress oxydant (SO) pouvant être responsable de modifications épigénétiques et par la suite de complications cardiovasculaires [20]. Le SO pourrait être induit par les manipulations lors de la FIV/ICSI (culture embryonnaire avec les fluctuations de pH, de température, de concentration d'O² et/ou congélation des embryons) ou être d'origine parentale (infertilité, âge avancé de la mère, syndrome des ovaires polykystiques, endométriose, anomalies nutritionnelles, obésité, diabète, tabac, alcool, pesticides, drogues récréatives). L'expérimentation sur modèles animaux a permis de conforter les hypothèses sur le rôle de mécanismes épigénétiques [21]. En effet une altération identique des fonctions cardiovasculaires a été montrée dans les modèles FIV chez la souris : dysfonction endothéliale, augmentation de la rigidité vasculaire, augmentation de la pression artérielle systolique associées à des perturbations du métabolisme glucidique [14]. L'"endothelial nitric oxide synthase" (eNOS) joue un rôle majeur dans la régulation de la fonction vasculaire. Chez les souris nées de FIV une augmentation de méthylation du promoteur du gène eNOS a été observée avec diminution de son expression et de sa concentration plasmatique. Ces anomalies épigénétiques et le phénotype clinique ont été « réversées » par l'administration d'inhibiteurs des histones déacétylases [22]. La FIV représenterait ainsi un risque parmi d'autres d'entraîner des pathologies retardées dans le cadre du DOHAD ("developmental origins of health and adult disease").

Il faut souligner les limites des études qui ont été faites chez l'humain : les résultats sont variables et discordants, les effectifs analysés sont en général de petite taille, les populations hétérogènes et insuffisamment décrites, notamment les groupes contrôles. Les données concernant les paramètres de naissance (terme, poids et taille de naissance), les facteurs de santé parentale ainsi que les différents paramètres relatifs à la FIV sont insuffisamment détaillés, voire absents.

En conclusion malgré les divergences entre les études, les enfants et jeunes adultes nés de FIV ou ICSI présentent un risque modéré d'anomalies cardiovasculaires. L'augmentation, même légère, de la pression artérielle chez l'enfant risque d'être potentiellement associée plus tardivement à l'hypertension artérielle et aux maladies cardiovasculaires chez l'adulte [23]. Ceci doit inciter les parents à informer leurs enfants de ce risque et pourrait justifier un suivi précoce préventif avec mesures hygiéno-diététiques adaptées. Compte tenu de la forte augmentation de la pratique de FIV/ICSI et le risque cardiovasculaire qui pourrait être associé, il serait nécessaire d'effectuer des études épidémiologiques, mieux codifiées quant au recueil des données notamment clinico-biologiques sur des effectifs plus importants et d'amplifier la recherche sur les facteurs et les mécanismes en cause.

3) Troubles liés aux gènes soumis à l'empreinte génomique et modifications épigénétiques

La gamétogenèse et la période précoce postfécondation sont marquées par des modifications épigénétiques majeures et représentent donc des fenêtres critiques de perturbation possible de la mise en place de l'empreinte génomique par des facteurs environnementaux [4] (voir Annexe 4).

Une prévalence anormalement élevée d'enfants conçus par FIV a été notée dans les séries d'enfants présentant un syndrome de croissance excessive tel le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS), son miroir clinique qu'est le syndrome de Silver-Russell (SRS) marqué par un retard de croissance intra utérin, ou le désordre développemental du syndrome d'Angelman (AS). Ces observations ont conduit à suggérer que la FIV pourrait avoir une responsabilité sur les anomalies de l'empreinte [21-24].

Les syndromes BWS et SRS sont associés à des anomalies de méthylation d'ADN (perte de méthylation au niveau de loci spécifiques (centre d'empreinte *ICR1* et *ICR2*) au niveau de la région chromosomique 11p1.5 où sont localisés de nombreux gènes soumis à l'empreinte, dont *KCNQ1OT1*, *IGF2*, et l'ARN non codant *H19*. L'AMP interférerait donc avec l'acquisition ou la maintenance des marques de méthylation maternelle (*ICR2* dans le BWS) et paternelle (*ICR1* dans le SRS) [21, 25]. Dans une certaine proportion, d'autres anomalies touchant de nombreux loci (*HMGA2*, *PLAG 1*, *locus PEG-MEST*, *IGF 2R*, *ZAC 1*, *locus SNRPN*, *DLK1-GTL2*...) ont été décrites chez des enfants BWS et SRS avec une prévalence très supérieure chez ceux nés d'AMP par rapport à ceux issus de CN [26]. Cela montre que les sous-groupes de BWS et SRS avec multiloci anormaux sont préférentiellement, mais pas exclusivement, associés à l'AMP. L'AMP représente donc un facteur environnemental parmi d'autres conduisant à la perte de méthylation de l'ADN. L'atteinte de plusieurs loci dans ces deux syndromes suggère que les troubles de méthylation de l'ADN impliquent un (des) facteur (s) contrôlant en trans l'apposition et/ou le maintien des marques de l'empreinte [26].

Chez les enfants BWS ou SRS conçus par FIV/ICSI la prévalence des anomalies des gènes soumis à l'empreinte parentale varie en fonction des cohortes de patients analysées de 2.9% à plus de 10% et sont toutes augmentées par rapport à celle observée dans la population générale du pays considéré [21, 25]. A l'inverse, dans le registre national français des naissances, comprenant plus de 3 millions d'enfants, il n'a pas été mis en évidence d'augmentation de risque de BWS ou SRS chez ceux nés de FIV. Il a été trouvé en revanche une augmentation du risque de diabète néonatal transitoire chez des enfants nés après transfert d'embryons congelés, ou de mère porteuse d'endométriase [27]. Il est possible que la discordance de résultats avec les autres cohortes internationales de patients provienne du fait que les registres nationaux n'ont surement pas à disposition les données exhaustives et ultérieures pour ces diagnostics qui sont souvent retardés et à expression minime ou dissociée. De plus, le registre national français ne dispose pas des données génétiques comme dans les cohortes.

Une analyse longitudinale du profil de méthylation de l'ADN à l'échelle du génome dans le sang total néonatal (149 AMP et 58 conçus naturellement) et entre 22 et 35 ans (158 AMP et 75 conçus naturellement) a été effectuée dans une cohorte d'individus conçus par AMP (stimulation ovarienne

et GIFT, FIV suivie ou non de congélation embryonnaire) et comparée à des individus conçus naturellement. Les variations épigénétiques liées à l'AMP (2 340 sondes méthylées différenciellement sur les 724 897 testées) étaient limitées à la naissance et sans impact sur le développement et la santé. Possiblement associées en partie à la stimulation ovarienne ou à l'infertilité, elles étaient largement atténuées à l'âge adulte [28].

Dans les études épigénétiques, réalisées dans le contexte FIV, sont discutées les causes de ces anomalies [21] mais il est difficile de faire la part entre : 1- la responsabilité des procédures de l'AMP (stimulation ovarienne, FIV associée ou pas à l'ICSI, milieu de culture, temps de culture, transfert d'embryon frais ou congelés) [29] ; 2- les facteurs parentaux : infertilité, âge maternel, état de santé périconceptionnel (obésité, nutrition, prise de toxique...) ou 3- l'influence de conditions environnementales sur la reprogrammation épigénétique des gamètes et de l'embryon (métabolites des phtalates, troubles nutritionnels) [30].

En conclusion : Malgré des discordances entre les résultats des publications, il existe un consensus. La plupart des études mettent en évidence une prévalence peu augmentée d'anomalies épigénétiques et/ou d'empreinte génomique chez les enfants nés de FIV par rapport aux enfants nés de conception naturelle.

Il est actuellement difficile de pouvoir trancher vis à vis de la responsabilité des facteurs causant ces anomalies entre procédures de l'AMP, infertilité parentale ou leur état de santé, tant les études sont réalisées le plus souvent sur de petites séries avec des informations manquantes notamment sur les données parentales ou sur le détail de techniques utilisées.

Des études épidémiologiques à plus large échelle sont nécessaires compte tenu de la rareté de ces pathologies.

4) Cancers pédiatriques

L'analyse des données de la littérature, afin de déterminer si la FIV pouvait être responsable de l'apparition de cancers chez l'enfant, a permis d'identifier 13 publications en 2019 [31]. Seules trois d'entre elles menées en Suède, en Israël et à Taiwan ont trouvé une augmentation significative mais modérée de l'incidence de cancers pédiatriques après FIV avec un risque relatif de 1.42, 1.96 et 1.58 respectivement. Elles portaient sur des effectifs peu importants. En revanche les trois études qui avaient été faites sur plus de 100 000 enfants au Royaume Uni, aux USA et en Scandinavie, n'ont pas trouvé de différence du taux de cancer chez les enfants conçus par FIV par rapport à ceux conçus naturellement. Cependant l'étude américaine a mis en évidence que les enfants conçus par FIV qui souffraient d'une pathologie néonatale grave, avaient un risque significativement plus élevé de développer un cancer [32]. Récemment, trois études ont mis en évidence un risque plus élevé de cancers chez les enfants nés après un transfert d'embryons congelés (risque relatif entre 1.8 et 3.45) [33-35].

En général, le type de cancer dont sont atteints les enfants est identique qu'ils aient été conçus par FIV ou non, les leucémies et les tumeurs du système nerveux central étant les plus fréquentes et généralement observées avec la même incidence dans les deux populations. Néanmoins une fréquence plus élevée de certains types de cancers a été rapportée occasionnellement quand les enfants étaient nés à la suite d'une FIV. Il s'agissait d'hépatoblastomes, de rhabdomyosarcomes, de tumeurs du système nerveux central ou du système nerveux sympathique [34], d'épithéliomes [33], de leucémies [33, 34, 36] et de mélanomes [33, 36]. Cependant les types de cancers concernés n'étaient pas toujours les mêmes dans les différentes publications et le plus souvent les différences n'ont pas été confirmées.

En France, une vaste étude épidémiologique vient d'être réalisée par des chercheuses d'EPI-PHARE. Basée sur les données du Système National des Données de Santé (SNDS), elle a mesuré les survenues de cancers dans une cohorte constituée de plus de 100 000 enfants conçus par FIV suivie d'un transfert d'embryons non congelés et de près de 40 000 enfants issus d'un transfert d'embryons congelés. Les résultats sont en cours d'analyse.

En conclusion : l'ensemble des résultats des études menées jusqu'à présent suggère qu'il n'y a probablement pas de lien entre la survenue d'un cancer chez l'enfant et le fait qu'il ait été conçu par FIV. Pour en être sûr, il convient néanmoins de poursuivre les recherches dans le domaine, notamment chez les enfants plus âgés et ceux qui sont issus d'un transfert d'embryons congelés.

5) Troubles du neurodéveloppement et du comportement

Le terme « troubles du neurodéveloppement » (TND) regroupe différentes manifestations : troubles moteurs, déficits intellectuels, troubles du spectre de l'autisme (TSA), de l'apprentissage, de la communication, hyperactivité et déficit d'attention (TDAH), troubles obsessionnels compulsifs, troubles des comportements et des conduites, anxiété. Leur repérage précoce est indispensable afin de concourir à un développement sensori-moteur et socio-émotionnel optimal.

Trois études, dont une méta-analyse, incluant entre 1 et 8 millions d'enfants et adolescents, nés par CN ou par FIV, ont rapporté pour l'une, une absence de lien entre naissance après AMP et la survenue de TSA [37], et pour les 2 autres une augmentation de TSA après conception par AMP, notamment après ICSI [38, 39]. Cependant les auteurs tempéraient leurs conclusions pour différentes raisons méthodologiques.

De même, si une augmentation du risque de déficience cognitive sévère est observée après FIV/ICSI, c'est par le biais de grossesses multiples ou en cas de prématurité [40]. Cependant, dans une autre étude, en cas de prématurité, le risque de déficience neurodéveloppementale et de score cognitif abaissé a été retrouvé plus faible après FIV qu'après CN [41] alors qu'une telle différence n'est pas observée dans la cohorte française EPIPAGE 2 [42].

La cohorte britannique Millennium suit longitudinalement depuis la naissance 10 233 enfants nés entre 2000 et 2002, dont 320 conçus après AMP [43]. A l'âge de 14 ans, la qualité de la relation parents-enfant n'était pas différente selon que la conception fut naturelle ou obtenue par AMP, si ce n'est que les mères du groupe AMP se percevaient comme plus proches de leur enfant que celles du groupe CN. Dans cette même cohorte, la survenue de troubles cognitifs a été globalement comparée dans un échantillon différent de 396 enfants conçus après AMP et dans un groupe d'enfants conçus naturellement, tout en prenant en compte le poids de naissance [44]. Aucune différence n'a été retrouvée après ajustement sur les caractéristiques parentales.

Les milieux de culture dans lesquels se développent les embryons avant leur transfert dans l'utérus jouent-ils un rôle dans l'apparition de TND chez les enfants ? Une étude française a évalué le profil développemental de 55 singletons (24 conçus avec le milieu SSM d'Irvine Scientific et 31 avec le GM de LifeGlobal) à l'âge de 5 ans en utilisant le « Child Development Inventory », constitué de 270 items explorant 8 domaines, qui a permis de codifier un âge de développement pour chaque domaine et un score général de développement. L'âge de développement était significativement plus élevé dans le groupe GM ($p=0,02$) pour 7 des 8 domaines, y compris après ajustement. De même, le score global de développement était plus élevé avec le milieu GM ($p=0,003$). Le nombre d'enfants présentant un problème dans au moins l'un des domaines était plus faible dans le groupe GM (8/31) que dans le

groupe SSM (16/24, $p=0,002$). Les auteurs ont évoqué l'hypothèse de la responsabilité de modifications épigénétiques [45]. Le même type d'étude a été menée au Pays Bas comparant les résultats scolaires à l'âge de 9 ans de 70 enfants qui avaient été conçus par FIV avec utilisation du milieu GI V3 de Vitrolife et de 49 enfants pour lesquels le milieu K-SCIM de Cook avait été utilisé. L'évaluation portait notamment sur le langage (vocabulaire, orthographe), les mathématiques et la lecture. Aucune différence n'a été retrouvée dans chaque domaine cognitif exploré et, comparés aux enfants de la population hollandaise générale, ceux du groupe FIV avaient un niveau d'éducation supérieur [46].

En Conclusion. La conception par FIV ou ICSI ne semble pas avoir d'effet délétère sur le neurodéveloppement des enfants. Certains des troubles décrits sont plutôt associés aux grossesses multiples et à la prématurité. Cependant, d'autres recherches de haute qualité méthodologique devraient être entreprises chez les enfants au-delà de l'âge préscolaire pour détecter d'éventuels TND apparaissant plus tardivement. D'autre part, le contexte socio-familial doit être clairement pris en compte dans ce type d'études.

6) Altérations de la fertilité

Si les grossesses et les accouchements de Louise Brown et d'Amandine ont été relatés dans les médias, montrant que l'on pouvait procréer naturellement sans problème quand on avait été conçue par FIV, aucune étude scientifique ou médicale ne semble avoir été menée jusqu'à présent sur la fertilité des jeunes adultes.

Que ce soit chez les filles ou chez les garçons, la maturation pubertaire se déroule au même âge et de manière similaire à celle des enfants conçus naturellement [47]. Chez les jeunes adultes, les taux des hormones hypophysaires et gonadiques ne sont pas différents de ceux des jeunes conçus naturellement.

Une équipe belge a trouvé que la proportion des jeunes hommes conçus par ICSI présentant des altérations spermatiques était nettement plus importante que chez ceux conçus naturellement. Par exemple, 38 % des jeunes hommes conçus par ICSI avaient un nombre de spermatozoïdes inférieur à la norme de l'OMS contre 13 % dans le groupe contrôle [48]. Ce résultat n'est pas surprenant dans la mesure où l'ICSI est pratiquée majoritairement quand le futur père a des altérations spermatiques qui pourraient être transmises à l'enfant si elles ont une cause génétique. Des modifications chromosomiques, notamment les aneuploïdies des chromosomes sexuels comme celle observée dans le syndrome de Klinefelter, des microdélétions du chromosome Y et des mutations géniques autosomiques peuvent être responsables de déficits souvent majeurs de la spermatogenèse qui empêchent les hommes concernés de procréer naturellement. Quand des spermatozoïdes peuvent être recueillis dans le sperme ou dans les testicules, une ICSI peut être réalisée et conduire à la naissance d'enfants. Si ce sont des garçons, ils pourraient être porteurs des caractéristiques génétiques de leurs pères et être eux-mêmes stériles plus tard.

De nombreux enfants sont nés quand les spermatozoïdes de leur père, atteint d'un syndrome de Klinefelter, ont été utilisés pour faire une ICSI [49]. Dans la plupart des cas, le caryotype des garçons était normal. L'hypothèse avancée est que seules les cellules germinales euploïdes peuvent accomplir une spermatogenèse complète. Cependant trois études ayant analysé le contenu chromosomique des embryons avant l'implantation ont trouvé des taux élevés d'anomalies des gonosomes (12 à 33%) et des autosomes (15 à 17%). C'est ce qui a conduit à recommander la pratique d'un diagnostic préimplantatoire ou d'un diagnostic prénatal dans ces circonstances [49]. En revanche quand la cause de la stérilité est une microdélétion du chromosome Y, tous les fils conçus par ICSI sont porteurs de la

même microdélétion du chromosome Y que leur père et parfois même plus étendue [50], ils seront donc stériles comme leurs pères. Il est possible qu'il en soit de même pour un certain nombre de stérilités masculines dues à une altération génique autosomique, qu'elle soit connue ou méconnue actuellement.

En conclusion, s'il est encore trop tôt pour apprécier précisément les conséquences de l'AMP sur la fertilité de jeunes adultes, on peut faire l'hypothèse que les cas d'altération de la fertilité seront possibles chez les garçons conçus par une ICSI réalisée pour résoudre le problème de stérilité de leur père. En favorisant la diffusion aux générations suivantes de caractères génétiques qui ne se transmettaient pas naturellement, on pourrait dire que l'AMP, si elle n'est pas elle-même la cause du trouble de santé de l'enfant, fait preuve en l'occurrence de dysgénisme.

7) Autres problèmes de santé

L'asthme et les autres pathologies atopiques, comme l'eczéma, étant parmi les affections les plus habituelles chez l'enfant, de nombreuses études ont cherché à savoir si elles étaient plus fréquentes chez les enfants conçus par FIV ou ICSI. Récemment, une équipe australienne a analysé les résultats de 26 articles publiés sur le sujet [51]. Dix d'entre eux rapportaient une augmentation significative de manifestations asthmatiques chez les enfants conçus par FIV par rapport à ceux conçus naturellement avec un Odds Ratio ajusté (aOR) se situant entre 1.20 et 2.38. Pour les autres articles, aucune différence significative n'a été observée (aOR 0.70–1.27). Quand l'analyse était limitée aux 14 études ayant été faites avec les meilleurs standards de qualité, l'augmentation du risque relatif restait significative quoique modérée [RR 1.28 (1.08–1.51)]. La responsabilité de facteurs épigénétiques a été évoquée dans ce contexte, d'autant plus que des modifications de la méthylation d'ilots CpGs de gènes associés à l'asthme ont été observées chez des enfants atteints de cette maladie. La responsabilité de facteurs parentaux ne peut pas non plus être écartée soit parce que les parents asthmatiques sont plus souvent infertiles et recourent plus fréquemment à la FIV [52] (observation méritant d'être confirmée), soit parce que les parents sont beaucoup plus attentifs à la santé de leurs enfants quand ils ont été conçus par FIV, ce qui conduit à faire plus souvent le diagnostic de cette pathologie chez ces derniers.

En 2009, une étude grecque avait trouvé une augmentation de la TSH suggérant un hypothyroïdisme primaire infraclinique chez des enfants conçus par FIV. Cette observation n'a pas été confirmée dans une étude australienne récente faite chez des adolescents et de jeunes adultes [53].

Les troubles de la vision et de l'audition ne semblent pas être plus fréquents chez les enfants conçus par FIV mais très peu d'études ont été faites dans le domaine comme l'a montré une revue récente sur les perturbations de la vision [54].

Commentaires et conclusions

Les études sur la santé des enfants nés à l'issue d'une AMP, et plus spécifiquement d'une FIV ou d'une ICSI, sont nombreuses et variées. Les plus pertinentes sur le plan des effectifs, de l'âge (y compris le plus avancé) des personnes issues de FIV ou d'ICSI, de la rigueur méthodologique et de la prise en compte de facteurs de confusion comme ceux liés à la santé des parents, ont été menées dans les pays nordiques, en Australie, en Belgique et au Royaume Uni. Leurs résultats sont plutôt rassurants. En effet, même si les enfants qui ont été conçus par FIV peuvent être atteints de troubles de la santé et de pathologies les plus diverses, sans que l'une domine particulièrement, leur incidence est relativement modérée et quand la différence est significative, elle n'est pas beaucoup plus importante que chez les enfants conçus naturellement. De plus, on ne peut ignorer que l'augmentation modérée

et peu homogène de l'incidence de certains troubles chez les enfants peut être en partie attribuée à un biais cognitif de sur-investigation difficile à mesurer.

Les résultats publiés ne sont pas tous concordants. Cela peut être en partie dû à des variations méthodologiques. Les effectifs étudiés sont très variables, souvent avec un nombre faible de sujets. Les dates de naissance des enfants peuvent correspondre à des périodes où les procédures de FIV et les pratiques étaient différentes. Les groupes contrôles ne sont pas toujours pertinents. Les résultats peuvent varier en fonction des catégories d'âge et les perturbations observées à un âge donné peuvent disparaître à un âge plus avancé. Le diagnostic des pathologies peut être en partie la conséquence d'une plus grande attention portée par les parents au développement et à la santé de leurs enfants que dans la population générale. Enfin les données concernant les procédures de FIV utilisées ainsi que les phénotypes cliniques et biologiques des parents sont insuffisamment détaillées.

En France, plusieurs études ont été entreprises, soit dans le cadre de cohortes qui ont été établies pour d'autres raisons comme la cohorte Elfe, soit par croisement de différentes bases de données comme ce fut le cas pour les cancers pédiatriques. Généralement, leurs résultats ne sont pas différents de ceux trouvés dans d'autres pays. Pour l'avenir, il serait souhaitable de pouvoir améliorer les possibilités de croisement des bases de données de différentes sources (ABM, SNDS, CNAM, registres de patients...) comme cela est fait avec une très grande efficacité dans d'autres pays ou régions du monde.

En conclusion s'il y a un risque que les enfants conçus par FIV soient plus souvent malades que les autres, il est probablement modéré. Cependant les études comparatives faites sur des populations mieux caractérisées doivent être poursuivies, notamment à des âges plus avancés de la vie.

Les altérations observées sont-elles imputables à la FIV ou à des facteurs parentaux ? Un certain nombre d'études faites chez les couples infertiles suggèrent que ceux-ci sont plus à risques d'avoir des enfants présentant des altérations de santé, qu'il s'agisse de troubles métaboliques, pulmonaires, cardio-vasculaires ou autres, pouvant être transmis à leurs enfants. D'autres facteurs environnementaux agissant pendant la période péri-conceptionnelle sont aussi parfois évoqués. Les responsabilités respectives de ces différents facteurs ne sont pas faciles à mettre en évidence surtout dans des études rétrospectives. Différentes pistes ont été explorées pour résoudre ce dilemme, notamment en comparant le développement d'enfants au sein de fratries où certains d'entre eux ont été conçus par FIV et d'autres naturellement. Ce type d'étude n'a pas été entrepris en France mais serait possible dans la mesure où le registre mis en œuvre par l'ABM permet de savoir si les enfants conçus par FIV ont des frères ou des sœurs qui ont été conçus naturellement. En revanche ce registre contient trop peu d'informations sur les problèmes de santé pouvant exister chez les parents, susceptibles d'être transférés à leurs enfants, par voie génétique ou épigénétique, et pouvant être totalement ou en partie responsables des troubles observés chez leurs enfants. Seule certitude, les enfants nés à la suite d'une ICSI faite pour un homme dont l'infertilité est d'origine génétique, notamment les micro-délétions du chromosome Y ou les déficits de spermatogenèse dus à une altération monogéniques, ont une forte probabilité d'être stérile comme leur père.

Si un lien était établi chez des individus nés de FIV entre ce mode de conception et les troubles ultérieurs de santé, il serait important de déterminer quelles sont les procédures les plus à risque. La méthode de fécondation elle-même ne semble pas être en cause, la plupart des études ne trouvant pas de différence entre la FIV standard et l'ICSI. En revanche les traitements hormonaux utilisés pour obtenir le nombre d'ovocytes désirés pour la FIV, les conditions de la culture embryonnaire et la congélation des embryons sont plus souvent suspectés d'être à l'origine des troubles observés. Les risques de stress auxquels un embryon peut être exposé *in vitro*, avant son transfert dans l'utérus, sont nombreux [55]. Ils sont susceptibles d'avoir des effets à long terme. Plusieurs études ont cherché à évaluer l'impact éventuel du milieu de culture embryonnaire sur la croissance fœtale et au cours de

l'enfance mais leurs résultats sont discordants. Néanmoins, que ce soit *in vivo* ou *in vitro*, la période péri-conceptionnelle est marquée par une série d'évènements épigénétiques touchant les gamètes et les embryons, dont la dérégulation peut entraîner des perturbations du développement à court terme et avoir des conséquences à plus long terme après la naissance. Il serait donc nécessaire que les procédures utilisées soient précisément documentées, ce qui est rarement le cas dans les études publiées.

En France, si les traitements de stimulation ovarienne utilisés sont précisément documentés dans le registre de l'ABM, il n'en est pas de même des conditions dans lesquelles sont cultivés les embryons. Il serait pourtant très souhaitable de préciser les paramètres physiques de la culture (type d'incubateur, température, saturation en oxygènes, volume du milieu, suivi par vidéomicroscopie...) ainsi que biochimiques (pH et composition des milieux de culture) et aussi la durée de la culture avant le transfert des embryons dans l'utérus. Le registre de l'ABM ne permet pas non plus de connaître la technique de congélation qui a été utilisée pour conserver les embryons.

Enfin, si les perturbations de régulations épigénétiques sont le plus souvent évoqués Il y a peu d'arguments bio-cliniques ou expérimentaux décrivant les mécanismes impliqués dans la survenue des altérations observées. Des recherches sur des modèles animaux mais aussi dans l'espèce humaine seraient donc nécessaires.

Le fait que beaucoup d'incertitudes demeurent, ne devrait pas empêcher qu'une information claire, objective et la plus précise possible, soit donnée aux personnes souhaitant devenir parents en ayant recours à une FIV. Ceux-ci devraient être notamment encouragés à informer eux-mêmes leurs enfants de leur mode de conception afin que puissent être prises les mesures les plus appropriées possible en cas d'apparition de troubles de santé chez eux et afin que ces enfants puissent participer aux études les concernant, y compris quand ils auront atteint l'âge adulte.

Recommandations

- Accroître, y compris à un âge avancé, le suivi des enfants et des adultes qui sont nés grâce à une fécondation *in vitro* et le considérer comme une priorité de Santé Publique.
- Améliorer les connaissances dans le domaine par des études épidémiologiques exploitant notamment les possibilités de croisement des bases de données existantes : système national des données de santé (SNDS), caisse primaire d'assurance maladie (CPAM), agence de la biomédecine (ABM), registres de patients...
- Développer intensément des projets de recherches cliniques et fondamentales spécifiques, ces dernières pouvant être menées sur des modèles animaux mais aussi sur des embryons humains donnés à la science. Ce type de recherches mériterait d'être plus soutenu qu'il ne l'est actuellement en France.
- Accorder les moyens nécessaires à l'Agence de la Biomédecine pour qu'elle puisse accomplir la mission, qui lui a été confiée dès sa création en 2004, d'évaluer « les conséquences éventuelles de l'assistance médicale à la procréation sur la santé des enfants qui en sont issus » (CSP Art. L. 1418-1).
- Faire évoluer rapidement les données recueillies par l'ABM pour établir le registre des tentatives de FIV qu'elle a mis en place afin de mieux préciser :
 - les antécédents médicaux des personnes ayant recours à la FIV susceptibles de retentir sur la santé des enfants

- Les conditions de culture des embryons et notamment la composition des milieux
- les techniques utilisées pour la cryoconservation des gamètes et des embryons

- Informer, de manière aussi claire, objective et précise que possible, les personnes ayant recours à la FIV que ce soit sur l'absence de risque authentifié mais aussi sur les conséquences et les risques potentiels de cette méthode pour la santé à moyen et à long terme des enfants qui naîtront.

Cette information, préalable au consentement, doit tenir compte des facteurs parentaux pouvant jouer un rôle sur la santé des enfants quand ils sont connus et être modulée selon les procédures d'AMP qui sont proposées.

Elle doit aussi sensibiliser les futurs parents sur l'importance d'informer leurs enfants de leur mode de conception pour qu'ils puissent bénéficier du suivi médical personnalisé le mieux adapté à leur situation quand nécessaire et participer aux études menées dans le domaine.

Références

- 1 - European IVF Monitoring Consortium (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), Wyns C, De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Motrenko T, Smeenk J, et al. ART in Europe, 2018: results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod Open*. 2022(3): hoac022.
- 2 - Laplane R, David G. Rapport au nom d'un Groupe de travail Assistance Médicale à la Procréation, problèmes médicaux actuels. *Bull Acad Natle Med*. 1996; 180(2): 397-417
- 3 - Jouannet P. La procréation médicalisée en France, état des lieux et perspectives. *Bull Acad Natle Med*. 2008; 192 (1): 117-32
- 4 - Reik W, Walter J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat Rev Genet*. 2001; 2(1): 21-32
- 5 - Hansen M, Kurinczuk JJ, Milne E, de Klerk N, Bower C. Assisted reproductive technology and birth defects: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013; 19(4): 330-53.
- 6 - Barker DJ, Osmond CJ, Golding J, Kuh D, Wadsworth MEJ. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *Br Med J*. 1989; 298(6673):564-7.
- 7 - Claris O, Beltrand J, Levy-Marchal C. Consequences of intrauterine growth and early neonatal catch-up growth. *Semin Perinatol*. 2010; 34(3): 207-10.
- 8 - Ong YY, Sadananthan SA, Aris IM, Tint MT, Yuan WL, Huang JY et al. Mismatch between poor fetal growth and rapid postnatal weight gain in the first 2 years of life is associated with higher blood pressure and insulin resistance without increased adiposity in childhood: the GUSTO cohort study. *Int J Epidemiol*. 2020; 49(5): 1591-603.
- 9- Ceelen M, Van Weissenbruch MM, Prein J et al. Growth during infancy and early childhood in relation to blood pressure and body fat measures at age 8-18 years of IVF children and spontaneously conceived controls born to subfertile parents. *Hum Reprod*. 2009; 24(11): 2788-95.
- 10 - Magnus MC, Wilcow AJ, Faduma EA et al. Growth in children conceived by ART. *Hum Reprod*. 2021; 36(4): 1074-82.
- 11 - Elhakeem A, Taylor AE, Inskip HA, Huang J, Tafflet M, Vinther JL et al. Association of ART with offspring growth and adiposity from infancy to early adulthood. *JAMA Network Open*. 2022; 5: e2222106.doi10.1001.
- 12 - Meddeb L, Pauly V, Boyer P, Montjean D, Devictor B, Curel L et al. Longitudinal growth of french singleton children born after in vitre fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Body mass index up to 5 years of age. *Rev Epidemiol Sante publique*. 2017; 65(3): 197-208.
- 13 - Belva F, De Shepper J, Roelants M, Tournaye H, Bonduelle M, Provyn S. Body fat content, fat distribution and adipocytokine production and their correlation with fertility markers in adult men and women conceived by ICSI. *Clin Endocrinol*. 2018; 88(6): 985-92.

- 14 - Guo XY, Liu XM, Jin L, Wang TT, Ullah K, Sheng JZ et al. Cardiovascular and metabolic profiles of offspring conceived by assisted reproductive technologies: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2017; 107(3): 622-631.
- 15-Norrman E, Petzold M, Gissler M, Spangmose AL, Opdahl S, Henningsen AK et al. Cardiovascular disease, obesity, and type 2 diabetes in children born after assisted reproductive technology: A population-based cohort study. *PLoS Med*. 2021; 18(9): e1003723.
- 16 - Ceelen M, van Weissenbruch MM, Vermeiden JP, van Leeuwen FE, Delemarre-van de Waal HA. Cardiometabolic differences in children born after in vitro fertilization: follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(5): 1682-8.
- 17 - Scherrer U, Rimoldi SF, Rexhaj E, Stuber T, Duplain H, Garcin S et al Systemic and pulmonary vascular dysfunction in children conceived by assisted reproductive technologies. *Circulation*. 2012; 125(15): 1890-6.
- 18 - Zandstra H, van Montfoort APA, Dumoulin JCM, Zimmermann LJI, Touwslager RNM. Increased blood pressure and impaired endothelial function after accelerated growth in IVF/ICSI children. *Hum Reprod Open*. 2020; 2020(1): hoz037.
- 19 - Mizrak I, Asserhøj LL, Lund MAV, Kielstrup LR, Greisen G, Clausen TD et al. Cardiovascular function in 8- to 9-year-old singletons born after ART with frozen and fresh embryo transfer. *Hum Reprod*. 2022; 37(3): 600-11.
- 20 - Yang H, Kuhn C, Kolben T, Ma Z, Lin P, Mahner S, et al. Early Life Oxidative Stress and Long-Lasting Cardiovascular Effects on Offspring Conceived by Assisted Reproductive Technologies: A Review. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(15): 5175.
- 21 - Grafodatskaya D, Cytrynbaum C, Weksberg R. The health risks of ART. *EMBO Rep*. 2013; 14(2): 129-35.
- 22 Rexhaj E, Paoloni-Giacobino A, Rimoldi SF, Fuster DG, Anderegg M, Somm E et al. Mice generated by in vitro fertilization exhibit vascular dysfunction and shortened life span. *J Clin Invest*. 2013; 123(12): 5052-60.
- 23 - Chen X, Wang Y. Tracking of blood pressure from childhood to adulthood: a systematic review and meta-regression analysis. *Circulation*. 2008; 117(25): 3171–80.
- 24 - Odom LN, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2010; 17(6): 517-22.
- 25 - Gicquel C, Gaston V, Mandelbaum J, Siffroi JP, Flahault A, Le Bouc Y. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN10T gene. *Am J Hum Genet*. 2003; 72(5): 1338-41.
- 26 - Rossignol S, Steunou V, Chalas C, Kerjean A, Rigolet M, E Viegas-Pequignot E et al. The epigenetic imprinting defect of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome born after assisted reproductive technology is not restricted to the 11p15 region. *J Med Genet*. 2006; 43(12): 902-7.
- 27 - Fauque P, De Mouzon J, Devaux A, Epelboin S, Gervoise-Boyer MJ, Levy R et al. Reproductive technologies, female infertility, and the risk of imprinting-related disorders. *Clin Epigenetics*. 2020; 12(1): 191.
- 28 - Novakovic B, Lewis S, Halliday J, Kennedy J, Burgner DP, Czajko A et al. Assisted reproductive technologies are associated with limited epigenetic variation at birth that largely resolves by adulthood. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 3922.
- 29 - Song S, Ghosh J, Mainigi M, Turan N, Weinerman R, Truongcao M et al. DNA methylation differences between in-vitro and in-vivo conceived children are associated with ART procedures rather than infertility *Clin Epigenetics*. 2015; 7(1): 41.
- 30 - Kitamura A, Miyauchi N, Hamada H, Hiura H, Chiba H, Okae H et al. Epigenetic alterations in sperm associated with male infertility. *Congenital Anomalies (Kyoto)* 2015; 55(3): 133-44.
- 31 - Gilboa D, Koren G, Barer Y, Katz R, Rotem R, Lunenfeld E et al. Assisted reproductive technology and the risk of pediatric cancer: A population based study and a systematic review and meta analysis. *Cancer Epidemiol*. 2019; 63: 101613

- 32 - Luke B, Brown MB, Wantman E, Schymura MJ, Browne ML, Fisher SC et al. The risks of birth defects and childhood cancer with conception by assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2022; 37(11): 2672-89.
- 33 - Sargisian N, Lannering B, Petzold M, Opdahl S, Gissler M, Pinborg A et al. Cancer in children born after frozen-thawed embryo transfer: A cohort study. *PLoS Med.* 2022; 19(9): e1004078
- 34 - Hargreave M, Jensen A, Hansen MK, Dehlendorff C, Winther JF, Schmiegelow K et al. Association Between Fertility Treatment and Cancer Risk in Children. *JAMA.* 2019; 322(22): 2203-10.
- 35 - Spaan M, van den Belt-Dusebout AW, van den Heuvel-Eibrink MM, Hauptmann M, Lambalk CB, Burger CW et al. Risk of cancer in children and young adults conceived by assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2019; 34(4): 740-50.
- 36 - Petridou ET, Sergentanis TN, Panagopoulou P, Moschovi M, Polychronopoulou S, Baka M et al. In Vitro Fertilization and Risk of Childhood Leukemia in Greece and Sweden. *Pediatr Blood Cancer.* 2012; 58(6): 930–6
- 37 - Fountain C, Zhang Y, Kissin DM, Schieve LA, Jamieson DJ, Rice C, et al. Association between assisted reproductive technology conception and autism in California 1997-2007. *Am J Public Health.* 2015; 105(5): 963-71.
- 38 - Liu L, Gao J, He X, Cai Y, Wang L, Fan X. Association between assisted reproductive technology and the risk of autism spectrum disorders in the offspring: a meta-analysis. *Sci Rep* 2017; 7: 46207.
- 39 - Lo H, Weng SF, Tsai EM. Neurodevelopmental disorders in offspring conceived via IVF vs ICSI. *JAMA Network Open.* 2022; 5: e2248141.
- 40 - Middelburg KJ, Heinemann MJ, Bos AF, Hadders-Algra M. Neuromotor, cognitive, language and behavioural outcome in children born following IVF or ICSI; a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2008; 14(3): 219-31.
- 41 - Roychoudhury S, Lodha A, Synnes A, Mehrem AA, Canning R, Banihani R et al. Neurodevelopmental outcomes of preterm infants conceived by assisted reproductive technology. *Am J Obstet Gynecol.* 2021; 225(3): 276. E1-276.e9.
- 42 - Verhaeghe C, Marchand-Martin L, Kaminski M, Gascoin G, Foix-L'Helias L, Ancel PY et al. Neurodevelopment at 5 years of age for preterm born children according to mode of conception: a cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2022; 227(4): 606.e1-606.e21.
- 43 - Goisis A, Palma M. Medically assisted reproduction and parent-child relationships during adolescence: evidence from the UK Millennium cohort study. *Hum Reprod.* 2021; 36(3): 702-11.
- 44 - Cozzani M, Aradhya S, Goisis, A. The cognitive development from childhood to adolescence of low birth weight children born after medically assisted reproduction - a UK longitudinal study. *Int J Epidemiol.* 2021; 50(5): 1514-23.
- 45 - Bouillon C, Léandri R, Desch L, Ernst A, Bruno C, Cerf C et al. Does embryo culture medium influence the health and development of children born after IVF? *PlosOne.* 2016; 11(3): e0150857.
- 46 - Zandstra H, Slits LMJ, Van Kuijk SML, van Golde RJT, Evers JLH, Dumoulin JCM et al. No effect of IVF culture medium on cognitive development of 9-year old children. *Hum Reprod open.* 2018; (4): hoy018.
- 47 - Sonntag B, Eisemann N, Elsner S, Ludwig AK, Katalinic A, Kixmüller D et al. Pubertal development and reproductive hormone levels of singleton ICSI offspring in adolescence: results of a prospective controlled study. *Hum Reprod.* 2020; 35(4): 968-76.
- 48 - Belva F, Bonduelle M, Roelants M, Michielsen D, Van Steirteghem A, Verheyen G et al. Semen quality of young adult ICSI offspring: the first results. *Hum Reprod.* 2016; 31(12): 2811-20.
- 49 - Krausz C, Cioppi F. Genetic Factors of Non-Obstructive Azoospermia: Consequences on Patients' and Offspring Health. *J Clin Med.* 2021; 10(17): 4009.
- 50 - Golin AP, Yuen W, Flannigan R. The effects of Y chromosome microdeletions on in vitro fertilization outcomes, health abnormalities in offspring and recurrent pregnancy loss. *Transl Androl Urol.* 2021; 10 (3): 1457-66.
- 51 - Wijs LA, Fusco MR, Doherty DA, Keelan JA, Hart RJ. Asthma and allergies in offspring conceived by ART: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2022; 28(1): 132–48.
- 52 - Bláfoss J, Vejen Hansen A, Malchau Lauesgaard SS, Ali Z, Suppli Ulrik C. Female asthma and atopy - impact on fertility: a systematic review. *J Asthma Allergy.* 2019; 12: 205-11.

53 - Wijs LA, Doherty DA, Keelan JA, Panicker V, Burton P, Yovich JL et al. Offspring conceived through ART have normal thyroid function in adolescence and as young adults. Hum Reprod. 2022; 37(7): 1572–80.

54 - Bănică AM, Popescu SD, Vlădăreanu S. Eye anomalies in children born through ART. Rom J Ophthalmol. 2021; 65(4): 310-4.

55 - Wale PR, Gardner DK. The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. Hum Reprod. 2016; 22(1): 2-22.

ANNEXE 1 : Personnalités auditionnées

Catherine Barthélemy, Académie Nationale de Médecine

Florence Belva, Pédiatre, Center for Medical Genetics, Université Ziekenhuis Bruxelles, Belgique

Marie Aline Charles, Médecin épidémiologiste et directrice de recherche à l'Inserm au Centre de recherche en épidémiologie et santé des populations, Villejuif, Directrice UMS Ined-Inserm-EFS - Etude Elfe

Emmanuelle Cortot-Boucher, Directrice générale, Agence de BioMédecine

Rosemary Dray-Spira, Médecin épidémiologiste, Directrice de recherche Inserm, Directrice adjointe d'EPI-PHARE

Sylvie Epelboin, Unité d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) - Service de gynécologie - Hôpital Bichat - Claude-Bernard Paris

Patricia Fauque, Professeur de Biologie de la Reproduction, CHU de Dijon

Philippe Jonveaux, Directeur de la Procréation, de l'embryologie et de la génétique Humaine (PEGH), Agence de la BioMédecine

Pierre Jouannet, Académie Nationale de Médecine

Yves Le Bouc, Académie Nationale de Médecine

Frédérique Lesaulnier, Juriste, Déléguée à la Protection des Données à l'Institut du Cerveau et de la Moelle, Hôpital La Pitié, Paris

Catherine Patrat, Professeur de Biologie de la Reproduction, Hôpital Cochin-Port Royal, Paris

Virginie Rio, collectif BAMP, représentante de l'association de parents et futurs parents

Paula Rios, Médecin épidémiologiste, EPI-PHARE

Claudio Sartori, Professeur de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse

ANNEXE 2 : Contexte

Louise Brown, premier enfant conçu par FIV, est née en 1978 au Royaume Uni. Amandine, conçue dans les mêmes circonstances est née 4 ans plus tard en France. Les enfants les plus âgés atteignent donc maintenant la quarantaine. Mise en œuvre à l'initiative de quelques équipes médicales au début, la FIV a connu un développement très important dans les années 1980 dans le monde entier pour aider les couples infertiles à devenir parents. Il est difficile de connaître précisément le nombre d'enfants nés grâce à cette méthode mais on estime qu'ils sont aujourd'hui près de 10 millions.

En Europe, l'ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) publie, depuis 1997, un bilan annuel d'activité. Sa dernière publication rapporte les résultats de 1422 centres situés dans 40 pays européens ayant réalisé 1 007 598 cycles de traitement en 2018 qui ont conduit à la naissance de 215 610 enfants [1]. Au total, les bilans d'activité d'AMP de l'ESHRE font état de 2 275 585 enfants conçus par FIV nés en Europe de 1997 à 2018.

En France, une centaine de centres sont autorisés à pratiquer la FIV. Toutes les données concernant les traitements pratiqués et leurs résultats sont enregistrées par l'ABM qui publie chaque année un rapport annuel d'activité. Les dernières données rapportant l'activité de 2020 ne peuvent être prises

comme référence car cette année-là, l'activité d'AMP a diminué de 22 % du fait de l'épidémie du COVID-19. En 2019, 21 275 enfants sont nés suite à une FIV (tableau 1), soit 2.8 % des enfants nés en France cette année-là. Les rapports d'activité de l'ABM précisent dans quelles circonstances ces enfants ont été conçus. Ainsi 47 % des enfants nés résultaient d'un transfert d'embryons congelés et, que les transferts aient été faits avec des embryons congelés ou non, 96.3 % des enfants avaient été conçus avec les gamètes des futurs parents (Tableau 1).

	Intra conjugal			Spz donneur	Don d'ovocyte	Accueil d'embryons
	FIV	ICSI	TEC	FIV/ICSI/TEC	FIV/ICSI/TEC	TEC
Nbre de tentatives	20 787	40 706	44 197	1 817	2 100	151
Grossesses %*	22.5	23.2	25.3	21.7	22.5	29.1
Accouchements %*	19.3	19.9	21.2	20.0	18.7	24.5
Acc multiples %	8.3	9.3	5.5	6.9	7.4	8.3
Nbre enfants	3 490	7 292	9 701	346	409	37

Tableau 1 : Résultats des tentatives de FIV/ICSI/TEC en France en 2019 (Données ABM <https://rams.agence-biomedecine.fr/>). FIV : fécondation *in vitro* suivie d'un transfert immédiat d'embryons non congelés, ICSI : Intra cytoplasmic sperm injection suivie d'un transfert immédiat d'embryons non congelés, TEC : transfert d'embryons congelés, spz : spermatozoïde, Acc : accouchement.

*À l'exclusion des tentatives suivies par la congélation de la totalité des embryons dans les cas de FIV

Un cycle de traitement par FIV implique un enchaînement coordonné et très précis d'actes réalisés par des cliniciens et des biologistes. Le gynécologue prend en charge la femme et réalise une stimulation hormonale afin d'obtenir plusieurs ovocytes matures qui sont prélevés par voie chirurgicale. Les ovocytes (10 en moyenne) sont transmis au laboratoire et placés dans un milieu de culture. Le biologiste a par ailleurs préparé les spermatozoïdes pour la fécondation. Les embryons obtenus sont cultivés plusieurs jours au laboratoire avant d'être transférés dans l'utérus par le gynécologue ou sont congelés pour un éventuel transfert ultérieur.

Si la séquence des événements est restée la même depuis 1978, des évolutions techniques et cliniques ont considérablement modifié les pratiques. Dès les premières années des protocoles standardisés de stimulation hormonale et de monitoring de la croissance folliculaire ont été mis en œuvre pour obtenir un nombre suffisant d'ovocytes tout en évitant les hyperstimulations ovariennes responsables de complications plus ou moins graves. La possibilité de congeler efficacement gamètes et embryons est maintenant très largement utilisée. Enfin, la mise au point en 1992 de l'ICSI qui permet d'obtenir des embryons viables en introduisant par micromanipulation un spermatozoïde dans un ovocyte a pris une place très importante dans le domaine. En effet, cette technique a permis de résoudre les cas d'infertilité quand le nombre ou la qualité des spermatozoïdes ne permet pas à la fertilité masculine de s'exprimer que ce soit naturellement, par insémination artificielle ou par FIV classique. Par ailleurs, et bien que l'ICSI ne soit pas plus efficace que la FIV en l'absence d'infertilité masculine, cette méthode de fécondation est de plus en plus souvent pratiquée comme en témoignent les données de l'ABM : 68% des tentatives de FIV intra-conjugales et 88% des FIV avec spermatozoïdes de donneur ont été faites avec cette technique en 2019.

De nombreuses autres évolutions ont vu le jour dont certaines pourraient ne pas être sans conséquences sur la santé à moyen et à long terme des enfants. Pour en préciser la nature et l'importance, les résultats des FIV intraconjugales faites en France en 2019 ont été comparés ci-dessous à ceux des FIV faites 10 ans plus tôt en 2009.

Au début des pratiques, la plupart des centres d'AMP avaient tendance à transférer plus d'un embryon dans l'utérus afin d'augmenter les chances de grossesse. Il en résultait de nombreuses grossesses gémellaires ou triples souvent responsables d'accouchement prématuré et d'une morbidité importante des mères et des enfants. Afin de prévenir ce risque, des recommandations internationales de plus en plus pressantes ont été formulées pour ne transférer qu'un embryon dans l'utérus. Cette stratégie a été facilitée par l'amélioration de la qualité des techniques (notamment de congélation embryonnaire) et des pratiques, qui a permis de maintenir de bons taux d'accouchement malgré la réduction du nombre d'embryons transférés. En 2009, seulement 27.6 % des transferts étaient faits, en France, avec un seul embryon et le taux global d'accouchements après transfert d'embryons non congelés a été de 20 %. Cette année-là, 18.3 % des naissances étaient multiples. En 2019, 60 % des transferts ont été faits avec un embryon, le taux d'accouchement global est resté inchangé (19.7%) et le taux de naissances multiples a été divisé par deux.

Initialement, les embryons étaient transférés dans l'utérus 2 à 3 jours après la fécondation, c'est-à-dire quand ils sont composés de 4 ou 8 cellules, stade où l'expression des gènes embryonnaires a à peine débuté. Afin d'améliorer les résultats, il a été proposé de faire le transfert plus tard, au stade blastocyste, quand l'embryon a démontré ses premières capacités de développement et de différenciation cellulaire. Ceci implique de maintenir l'embryon en culture 4 à 5 jours. Le transfert au stade blastocyste s'accompagne d'une augmentation du taux d'implantation, de grossesse et d'accouchement, ce qui explique qu'il est de plus en plus pratiqué par les centres. En 2019, 40 %, 45 % et 75 % des transferts étaient faits respectivement avec des blastocystes après, FIV standard, ICSI et décongélation embryonnaire.

L'amélioration des techniques de congélation, notamment la vitrification qui a commencé à être utilisée en France en 2011 et qui est généralisée depuis 2019, a considérablement amélioré les capacités fonctionnelles des gamètes et des embryons décongelés. Aujourd'hui, les taux de grossesse et d'accouchement après transfert d'embryons congelés sont similaires voir supérieurs à ceux des transferts d'embryons frais (Tableau 1). Ces bons résultats conduisent certaines équipes à modifier complètement leur stratégie de transfert embryonnaire. Tenant compte du fait que les traitements hormonaux donnés pour la stimulation ovarienne peuvent avoir un effet délétère sur la qualité de la muqueuse utérine et être un handicap pour l'implantation, elles proposent de congeler la totalité des embryons jugés aptes à être transférés et ne faire le transfert que lors d'un cycle ultérieur dans un environnement hormonal plus favorable. C'est ce qu'on appelle le « freeze all ». En 2020, cette stratégie a été adoptée dans 22.5 % de cycles de traitement avec FIV standard et dans 21.3% en cas d'ICSI.

Les techniques utilisées peuvent changer en fonction du temps et les caractéristiques des personnes ayant recours à la FIV peuvent aussi varier. Si les bilans publiés par l'ABM ne permettent pas de connaître toutes les caractéristiques des futurs parents et notamment leurs facteurs de risque susceptibles de jouer un rôle dans la survenue de pathologies chez leurs enfants, ils montrent néanmoins une évolution de l'âge des femmes ayant recours à la FIV. En 2009, 16 % avaient plus de 38 ans, en 2020, elles représentaient 30 % des femmes traitées.

L'évolution de ces données cliniques et biologiques en fonction du temps montre l'importance de tenir compte de l'année de naissance des enfants quand on cherche à mesurer les conséquences de la FIV sur la santé des enfants et à évaluer le rôle joué par tel ou tel facteur.

Apprécier les conséquences de leur mode de conception sur la santé des enfants et des adultes est une préoccupation qui s'est répandue partout dans le monde en même temps que l'AMP et a suscité de nombreuses études. La base de données Pubmed consultée fin octobre 2022 contenait 1430 articles

dans la rubrique « children health after assisted reproductive technologies », 29 % d'entre eux ayant été publiés au cours des trois dernières années. Ces études sont le résultat d'initiatives les plus diverses. Certains centres ont mis en place un suivi plus ou moins rigoureux des enfants nés des traitements qu'ils assurent. D'autres études sont faites sur l'ensemble des enfants nés dans une région ou un pays. Dans ce cadre, les résultats les plus intéressants sont ceux publiés par un comité issu de 4 pays nordiques, le Danemark, la Norvège, la Suède et la Finlande qui ont mis en commun depuis 2008 les données des registres nationaux exhaustifs de leur pays respectif [2].

Les résultats publiés peuvent porter sur l'ensemble des enfants nés ou sur des cohortes établies pour étudier spécifiquement une technique particulière comme l'ICSI ou la congélation embryonnaire ou un type de pathologies. Les effectifs sont très variables d'une étude à l'autre et la comparaison à des groupes contrôles n'est pas toujours pertinente voire absente. Les résultats publiés sont parfois contradictoires. Toutes ces raisons expliquent pourquoi il est difficile de formuler des conclusions incontestables.

En France, l'ABM, depuis sa création en 2005, a pour mission d'évaluer les conséquences éventuelles de l'AMP sur la santé des personnes qui y ont recours et sur celle des enfants qui en sont issus. Depuis quelques années, elle a créé un groupe de travail dédié au sujet. Par ailleurs, des études épidémiologiques sont en cours soit au sein de cohortes comme la cohorte ELFE, soit à partir des données du SNDS et de registres spécialisés pour évaluer l'incidence de pathologies spécifiques comme les cancers pédiatriques (étude EPI-PHARE).

[1] Wyns C, De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Motrenko T, Smeenk J et al. ART in Europe, 2018: results generated from European registries by ESHRE. Hum Reprod Open. 2022(3): hoac022.

[2] Opdahl S, Aaris Henningsen AK, Bergh C, Gissler M, Romundstad LB, Petzold M et al. Data Resource Profile: Committee of Nordic Assisted Reproductive Technology and Safety (CoNARTaS) cohort. Int J Epidemiol. 2020; 49(2): 365–6

ANNEXE 3 Références complémentaires non citées dans le rapport et concernant les différents troubles de santé étudiés

<p align="center">Tableau 2 Etudes concernant la santé à moyen et à long terme des enfants conçus par fécondation in vitro (FIV)</p>	<p align="center">Références (n°)</p>
<p>Revue Générale - Santé des enfants, - Facteurs parentaux, - Facteurs périconceptionnels, - Developmental origins of health and adult disease (DOHAD)</p>	<p align="center">1-6</p>
<p>Troubles de la croissance et du métabolisme - Petit poids de naissance - Différence de croissance postnatale précoce - Profil métabolique rassurant à l'adolescence</p>	<p align="center">7-14</p>

- Rôle des milieux de culture	
Troubles cardiovasculaires - Etudes sans augmentation globale de l'incidence - Etudes avec augmentation globale modérée de l'incidence - Facteurs et mécanismes impliqués	15-22
Anomalies liées aux gènes soumis à empreinte et modifications épigénétiques - Incidence élevée d'enfants nés par FIV dans les cohortes des syndromes de Beckwith-Wiedemann, de Silver Russel et d'Angelman - Facteur contrôlant en trans l'apposition et/ou le maintien des marques de l'empreinte. - Causes et mécanismes	23-40
Cancers pédiatriques - Etudes sans augmentation globale de l'incidence - Etudes avec augmentation globale de l'incidence - Augmentation de l'incidence de certains types de cancer uniquement	41-47
Troubles du neurodéveloppement et du comportement - Association discutée des troubles du spectre de l'autisme et de la FIV/ICSi - Capacités cognitives des adolescents nés de FIV semblent meilleures que celles de la population générale - Études sur modèles animaux	48-59
Troubles de la fertilité - Puberté - Infertilité masculine	60-65
Autres troubles de santé (asthme, eczéma, thyroïde, vision)	66-70

Revues Générales

Santé des enfants

1- R J Hart, L A Wijs. The longer-term effects of IVF on offspring from childhood to adolescence Front Reprod Health. 2022; 4: 1045762.

2- Bergh C, Wennerholm UB. Long-term health of children conceived after assisted reproductive technology. Ups J Med Sci. 2020; 125(2): 152-7.

Facteurs parentaux

3- Bergh C, Pinborg A, Wennerholm UB. Parental age and child outcomes. Fertil Steril. 2019; 111(6): 1036-46

4- Berntsen S, Söderström-Anttila V, Wennerholm UB, Laivuori H, Loft A, Oldereid NB et al. The health of children conceived by ART: 'the chicken or the egg?'. Hum Reprod Update. 2019; 25(2): 137-58.

Facteurs périconceptionnels

5- Fleming TP, Watkins AJ, Velazquez MA, Mathers JC, Prentice AM, Stephenson J et al. Origins of lifetime health around the time of conception: causes and consequences. *Lancet* 2018; 391(10132): 1842-52.

Developmental origins of health and adult disease (DOHAD)

6- Hanson MA, Gluckman PD. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology. *Physiol Rev.* 2014; 94(4):1027-76.

Croissance et métabolisme

7- Wijs LA, Doherty DA, Keelan JA, Burton P, Yovich JL, Beilin L et al. Comparison of the cardiometabolic profiles of adolescents conceived through ART with those of a non-ART cohort. *Hum Reprod.* 2022; 37(8): 1880-95.

8- Belva F, De Shepper J, Roelants M, Tournaye H, Bonduelle M, Provyn S. Body fat content, fat distribution and adipocytokine production and their correlation with fertility markers in adult men and women conceived by ICSI. *Clin Endocrinol.* 2018; 88(6): 985-92.

9- Cui L, Zhou W, Xi B, Ma J, Hu J, Fang M et al. Increased risk of metabolic dysfunction in children conceived by assisted reproductive technology. *Diabetologia.* 2020; 63(10): 2150-2157.

Rôle des milieux de culture

10- Nelissen EC, Dumoulin JC, Daunay A, Evers JL, Tost J, van Montfoort AP. Placentas from pregnancies conceived by IVF/ICSI have a reduced DNA methylation level at the H19 and MEST differentially methylated regions. *Human Reprod.* 2013; 28: 1117-26.

11- Hassani F, Eftekhari-Yazdi P, Karimian L, Valojerdi MR, Movaghar B, Fazel M et al. The Effects of ISM1 Medium on Embryo Quality and Outcomes of IVF/ICSI Cycles. *Int J Fertil Steril.* 2013; 7(2): 108-15.

12- Castillo CM, Harper J, Roberts SA, O'Neill HC, Johnstone ED, Brison DR. The impact of selected embryo culture conditions on ART treatment cycle outcomes: a UK national study. *Hum Reprod Open.* 2020(1): hoz031.

13- Kleijkers SH, van Montfoort AP, Smits LJ, Coonen E, Derhaag JG, Evers JL et al. Age of G-1 PLUS v5 embryo culture medium is inversely associated with birthweight of the newborn. *Hum Reprod.* 2015; 30(6):1352-7.

14- Kleijkers SH, van Montfoort AP, Smits LJ, Viechtbauer W, Roseboom TJ, Nelissen EC et al. IVF culture medium affects post-natal weight in humans during the first 2 years of life. *Hum Reprod.* 2014; 29(4): 661-9.

Cardio vasculaire

15- Zhang WY, Selamet Tierney ES, Chen AC, Ling AY, Fleischmann RR, Baker VL Vascular Health of Children Conceived via In Vitro Fertilization. *J Pediatr.* 2019; 214: 47-53.

16- Meister TA, Rimoldi SF, Soria R, von Arx R, Messerli FH, Sartori C et al. Association of Assisted Reproductive Technologies With Arterial Hypertension During Adolescence. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 72(11): 1267-74.

17- Kuiper D, Hoek A, la Bastide-van Gemert S, Seggers J, Mulder DJ, Haadsma M et al. Cardiovascular health of 9-year-old IVF offspring: no association with ovarian hyperstimulation and the in vitro procedure. *Hum Reprod.* 2017; 32(12): 2540-8.

18- Kuiper D, la Bastide-van Gemert S, Hoek A, Seggers J, Haadsma M, Heineman MJ et al. Parental subfertility is associated with higher blood pressure in offspring. *Acta Paediatr.* 2019; 108(2):373-4.

19- Belva F, Roelants M, De Schepper J, Roseboom TJ, Bonduelle M, Devroey P, Painter RC. Blood pressure in ICSI-conceived adolescents. *Hum Reprod.* 2012; 27(10): 3100-8.

20- Scherrer U, Rimoldi SF, Sartori C, Messerli FH, Rexhaj E. Fetal programming and epigenetic mechanisms in arterial hypertension. *Curr Opin Cardiol.* 2015; 30(4): 393-7.

21- Rexhaj E, Bloch J, Jayet PY, Rimoldi SF, Dessen P, Mathieu C et al. Fetal programming of pulmonary vascular dysfunction in mice: role of epigenetic mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011; 301(1): H247-52.

22- Halliday J, Lewis S, Kennedy J, Burgner DP, Juonala M, Hammarberg K et al. Health of adults aged 22 to 35 years conceived by assisted reproductive technology: *Fertil Steril.* 2019; 112(1):130-9.

Gènes soumis à l'empreinte génomique

23- Azzi S, Rossignol S, Steunou V, Sas T, Thibaud N, Danton F et al. Multilocus methylation analysis in a large cohort of 11p15-related foetal growth disorders (Russell Silver and Beckwith Wiedemann syndromes) reveals simultaneous loss of methylation at paternal and maternal imprinted loci. *Hum Mol Genet.* 2009; 18(24): 4724-33.

24- Le Bouc Y, Rossignol S, Azzi S, Brioude F, Cabrol S, Gicquel C. Epigenetics, genomic imprinting and developmental disorders. *Bull Acad Natl Med.* 2010; 194(2): 287-97; discussion 297-300.

25- Lim D, Bowdin SC, Tee L, Kirby GA, Blair E, Fryer A et al. Clinical and molecular genetic features of Beckwith–Wiedemann syndrome associated with assisted reproductive technologies. *Hum Reprod.* 2009; 24(3): 741–7.

26- Tee L, Lim DHK, Dias RP, Baudement MO, Slater AA, Kirby G et al. Epimutation profiling in Beckwith-Wiedemann syndrome: relationship with assisted reproductive technology. *Clin Epigenetics* 2013; 5(1): 23.

27- Sutcliffe AG, Peters CJ, Bowdin S, Temple K, Reardon W, Wilson L et al. Assisted reproductive therapies and imprinting disorders-a preliminary British survey. *Hum Reprod.* 2006; 21(4): 1009–11.

28- Chiba H, Hiura H, Okae H, Miyauchi N, Sato F, Sato A et al. DNA methylation errors in imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Pediatr Int.* 2013; 55(5): 542-9.

29- Sato A, Otsu E, Negishi H, Utsunomiya T, Arima T. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in superovulated oocytes. *Hum Reprod.* 2007; 22(1): 26-35.

30- Fauque P, Jouannet P, Lesaffre C, Ripoche MA, Dandolo L, Vaiman D, et al. Assisted Reproductive Technology affects developmental kinetics, H19 Imprinting Control Region methylation and H19 gene expression in individual mouse embryos. *BMC Dev Biol.* 2007; 7: 116.

31- Choux C, Biquet C, Carmignac V, Bruno C, Chapusot C, Barberet J et al. The epigenetic control of transposable elements and imprinted genes in newborns is affected by the mode of conception: ART versus spontaneous conception without underlying infertility. *Hum Reprod.* 2018; 33(2):331-40.

32- Market-Velker BA, Zhang L, Magri LS, Bonvissuto AC, Mann MR. Dual effects of superovulation: loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner. *Hum Mol Genet.* 2010; 19(1):36-51.

33- Barberet J, Biquet C, Guilleman M, Doukani A, Choux C Bruno C et al. Do assisted reproductive technologies and in vitro embryo culture influence the epigenetic control of imprinted genes and transposable elements in children? *Hum Reprod.* 2021; 36(2): 479-92.

- 34- Fauque P, De Mouzon J, Devaux A, Epelboin S, Gervoise-Boyer MJ, Levy R et al. Do in vitro fertilization, intrauterine insemination or female infertility impact the risk of congenital anomalies in singletons? A longitudinal national French study. *Hum Reprod.* 2021; 36(3): 808-16.
- 35- Ducreux B, Frappier J, Bruno C, Doukani A, Guilleman M, Simon E, et al. Genome-Wide Analysis of DNA Methylation in Buccal Cells of Children Conceived through IVF and ICSI. *Genes (Basel).* 2021; 12(12): 1912.
- 36- Koeck RM, Busato F, Tost J, Zandstra H, Remy S, Langie S et al. At age 9, the methylome of assisted reproductive technology children that underwent embryo culture in different media is not significantly different on a genome-wide scale. *Hum Reprod.* 2022; 37(11): 2709-21 deac213. doi: 10.1093/humrep/deac213.
- 37- Doornbos ME, Maas SM, McDonnell J, Vermeiden JPW, Hennekam RCM. Infertility, assisted reproduction technologies and imprinting disturbances: a Dutch study *Hum Reprod.* 2007; 22(9): 2476-80.
- 38- Wu H, Estill MS, Shershebnv A, Suvorov A, Krawetz SA, Whitcomb BW, et al. Preconception urinary phthalate concentrations and sperm DNA methylation profiles among men undergoing IVF treatment: a cross-sectional study. *Hum Reprod.* 2017;32(11): 2159–69.
- 39- Heijmans BT, Tobi EW, Stein A., Putter ., Blauw GJ, Susser ES et al; Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008, 105 (44): 17046-9.
- 40- Van Montfoort AP, Hanssen LL, de Sutter P, Viville S, Geraedts JP, de Boer P. Assisted reproduction treatment and epigenetic inheritance. *Hum Reprod Update.* 2012; 18(2): 171-97.

Cancers pédiatriques

- 41- Källén B, Finnström O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Olausson PO. Cancer risk in children and young adults conceived by in vitro fertilization. *Pediatrics.* 2010; 126 (2): 270-6.
- 42- Wainstock T, Walfisch A, Shoham-Vardi I, Segal I, Harlev A, Sergienko R et al. Fertility treatments and pediatric neoplasms of the offspring: results of a population-based cohort with a median follow-up of 10 years. *Am J Obstet Gynecol.* 2017; 216(3): 314.e1-314.e14.
- 43- Weng SS, Huang, Y-T, Huang YT, Li YP, Chien LY. Assisted Reproductive Technology and Risk of Childhood Cancers. *JAMA Netw Open.* 2022; 5 (8): e2230157.
- 44- Williams CL, Bunch KJ, Stiller CA, Murphy MF, Botting BJ, Wallace WH et al. Cancer risk among children born after assisted conception. *N Engl J Med.* 2013; 369(19): 1819-27.
- 45- Spector LG, Brown MB, Wantman E, Letterie GS, Toner JP, Doody K et al. Association of In Vitro Fertilization With Childhood Cancer in the United States. *JAMA Pediatr.* 2019; 173(6): e190392.
- 46- Sundh KJ, Henningsen AK, Källén K, Bergh C, Romundstad LB, Gissler M et al. Cancer in children and young adults born after assisted reproductive technology: a Nordic cohort study from the Committee of Nordic ART and Safety (CoNARTaS). *Hum Reprod.* 2014;29 (9): 2050-7.
- 47- Rudant J, Amigou A, Orsi L, Althaus T, Leverger G, Baruchel A et al Fertility treatments, congenital malformations, fetal loss, and childhood acute leukemia: the ESCALE study (SFCE). *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60(2): 301-8.

Troubles du neurodéveloppement et du comportement

- 48- Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, Liebaers I, Ponjaert-Kristoffersen I. Cognitive and motor development of 8-year-old children born after ICSI compared to spontaneously conceived children. *Hum Reprod.* 2006;21(11): 2922-9.

- 49- Sandin S, Nygren KG, Iliadou A, Hultman CM, Reichenberg A. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization. *JAMA*. 2013; 310(1): 75-84.
- 50- Kissin DM, Zhang Y, Boulet SL, Fountain C, Bearman P, Schieve L et al. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children. *Hum Reprod*. 2015; 30(2): 454-65.
- 51- Rumbold AR, Moore VM, Whitrow MJ, Oswald TK, Moran LJ, Fernandez RC et al. The impact of specific fertility treatments on cognitive development in childhood and adolescence: a systematic review. *Hum Reprod* 2017; 32: 1489-1507.
- 52- Drenth-Olivares M, Kuiper DB, Haadsma ML, Heineman KR, Heineman MJ, Hadders-Algra M. IVF procedures are not, but subfertility is associated with neurological condition of 9-year-old offspring. *Early Hum Dev* .2019; 129: 38-44.
- 53- La Rovere M, Franzago M, Stuppia L. Epigenetics and Neurological Disorders in ART. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(17): 4169.
- 54- Remes H, Palma Carvajal M, Peltonen R, Martikainen P, Goisis A. The Well-Being of Adolescents Conceived Through Medically Assisted Reproduction: A Population-Level and Within-Family Analysis. *Eur J Popul*. 2022; 38(5): 915-49.
- 55- Hammarberg K, Halliday J, Kennedy J, Burgner DP, Amor DJ, Doyle LW et al. Does being conceived by assisted reproductive technology influence adult quality of life? *Hum Fertil (Camb)*. 2022 Mar 22: 1-7.
- 56- Wang C, Johansson ALV, Rodriguez-Wallberg KA, Landén M, Almqvist C, Hernández-Díaz S et al. Long-term Follow-up of Psychiatric Disorders in Children and Adolescents Conceived by Assisted Reproductive Techniques in Sweden. *JAMA Psychiatry*. 2022; 79(2): 133-42.
- 57- Ecker DJ, Stein P, Xu Z, Williams CJ, Kopf GS, Bilker WB et al. Long-term effects of culture of preimplantation mouse embryos on behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(6): 1595-600.
- 58- Dulioust E, Toyama K, Busnel MC, Moutier R, Carlier M, Marchaland C et al. Long-term effects of embryo freezing in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92(2): 589-93.
- 59- Qin NX, Zhao YR, Shi WH, Zhou ZY, Zou KX, Yu CJ et al. Anxiety and depression-like behaviours are more frequent in aged male mice conceived by ART compared with natural conception. *Reproduction* 2021; 162(6): 437-48.

Troubles de la fertilité

- 60- Belva F, Roelants M, Vloeberghs V, Schiettecatte J, Evenepoel J, Bonduelle M et al. Serum reproductive hormone levels and ultrasound findings in female offspring after intracytoplasmic sperm injection: first results. *Fertil Steril*. 2017; 107: 934-9.
- 61-Belva F, Roelants M, De Schepper J, Van Steirteghem A, Tournaye H, Bonduelle M. Reproductive hormones of ICSI-conceived young adult men: the first results. *Hum Reprod*. 2017; 32(2): 439-46.
- 62- Klemetti R, Perry B, Aaris Henningsen AK, Lærke Spangmose A, Pinborg A, Opdahl S et al. Puberty disorders among ART-conceived singletons: a Nordic register study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod*. 2022; 37(10): 2402-11.
- 63- Catford SR, Halliday J, Lewis S, O'Bryan MK, Handelsman DJ, Hart RJ et al. Reproductive function in men conceived with in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2022; 117(4): 727-37.

64- Kahraman S, Findikli N, Berkil H, Bakircioglu E, Donmez E, Sertyel S et al. Results of preimplantation genetic diagnosis in patients with Klinefelter's syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2003; 7(3): 346-52.

65- Staessen C, Tournaye H, Van Assche E, Michiels A, Van Landuyt L, Devroey P et al. PGD in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients. *Hum Reprod Update*. 2003; 9(4): 319-30.

Autres problèmes

66- Reese SE, Xu CJ, den Dekker HT, Lee MK, Sikdar S, Ruiz-Arenas C et al. Epigenome-wide meta-analysis of DNA methylation and childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2019; 143(6): 2062-74.

67- Magnus MC, Karlstad O, Parr CL, Page CM, Nafstad P, Magnus P et al. Maternal history of miscarriages and measures of fertility in relation to childhood asthma. *Thorax*. 2019; 74(2): 106–13.

68- Polinski KJ, Stevens DR, Mendola P, Lin TC, Sundaram Bell RE et al. Infertility treatment associated with childhood asthma and atopy *Hum Reprod*. 2022; 37: 1609-18.

69- Sakka SD, Malamitsi-Puchner A, Loutradis D, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. Euthyroid Hyperthyrotropinemia in Children Born after in Vitro Fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94(4):1338-41.

70- 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(3): 232-43.

ANNEXE 4

Epigénétique et empreinte génomique

Les mécanismes épigénétiques jouent un rôle clé dans la régulation de l'expression des gènes. Une des modifications épigénétiques les plus étudiées est la méthylation au niveau des dinucléotides CpG que ce soit au niveau des promoteurs des gènes, des transposons ou des centres de contrôle de l'empreinte (ICR). L'empreinte génomique est une marque épigénétique (méthylation de l'ADN, méthylation/acétylation des histones, ARN non codants) qui est dépendante de l'origine parentale et qui est associée à une expression génique monoallélique. En effet une centaine de gènes, localisés en cluster sur l'ensemble des chromosomes, sont soumis à l'empreinte et sont impliqués dans la croissance embryonnaire et foetale. Il existe deux périodes critiques dans la mise en place ou le maintien de l'empreinte : lors de la gamétogenèse et lors du développement précoce préimplantatoire de l'embryon. La reprogrammation majeure prend place dans les cellules germinales primordiales dans lesquelles l'empreinte est effacée et où leur totipotence est restaurée. Les marques de l'empreinte sont ensuite apposées durant la spermatogenèse ou l'ovogenèse en fonction du sexe et dans des cinétiques différentes. Après la fécondation, une déméthylation globale du génome sera suivie d'une vague de méthylation de novo tissu spécifique, mais les loci soumis à l'empreinte seront épargnés (Reik 2001). La gamétogenèse et la période précoce post fécondation représentent donc des fenêtres critiques de perturbation de la mise en place de l'empreinte par des facteurs environnementaux.

Reik W, Walter J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat Rev Genet*. 2001;2(1): 21-32.

Pour copie certifiée conforme



Professeur Christian BOITARD
Secrétaire perpétuel