

UNIVERSITE DE STRASBOURG
ECOLE DE SAGES-FEMMES DE STRASBOURG

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012-2013

**LES CARENCES EN VITAMINES B DANS LE COUPLE :
IMPACT SUR LA SURVENUE DE FAUSSES-COUCHES**

DIPLOME D'ETAT DE SAGE-FEMME

MEMOIRE PRESENTE ET SOUTENU

PAR

LONG GERALDINE

Née le 26 janvier 1989 à Colmar

Directeur de mémoire : Docteur Céline FAURE

Mes remerciements s'adressent,

Au Docteur Céline Faure, pour sa disponibilité, son encouragement et ses précieux conseils.

A l'équipe pédagogique pour son enseignement, sa disponibilité et plus particulièrement à Mme Sandrine Grüss qui m'a accompagnée dans l'élaboration de ce mémoire par sa relecture, ses remarques et ses conseils avisés.

A toute ma famille et en particulier à mes parents, qui m'ont soutenue, encouragée et apportée leur présence et leur attention affective. Merci d'avoir toujours cru en moi.

A Damien pour sa présence, son écoute, sa patience et sa gentillesse.

A Gaëlle, pour son soutien, ses conseils, ses attentions et tous les précieux moments passés toutes les deux.

A Célia et Claire pour leurs encouragements et tous les bons moments passés ensemble qui m'ont permis d'avoir du courage.

A tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont soutenue durant mes études.

Sommaire

INTRODUCTION	3
MATERIEL ET ANALYSE CRITIQUE DES ARTICLES	11
1. Matériel.....	12
2. Méthodes.....	15
RÉSULTATS ET ANALYSE CRITIQUE DES ARTICLES	16
1. Preconception B-Vitamine and Homocystéine Status, Conception, and Early Pregnancy Loss.....	17
2. Plasma Folate Levels and Risk of Spontaneous Abortion.....	24
3. Low folate in seminal plasma is associated with increases perm DNA damage.....	31
4. The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthynon-smoking men.....	39
DISCUSSION	45
1. Analyse critique des méthodes et de la validité de notre travail.....	46
2. Résultats combinés des différentes études.....	47
2.1. Quels seraient les mécanismes mis en jeu dans la survenue de FCS suite à une carence en vitamines B dans un couple ?.....	47

2.2. Faut-il inclure la recherche du polymorphisme du gène codant pour la MTHFR dans le bilan d'étiologie des FCSR ?.....	50
2.3. Comment la sage-femme peut-elle jouer un rôle préventif quant à la carence en vitamines B ?.....	53
2.4. La supplémentation est-elle nécessaire ?.....	55

CONCLUSION.....	57
------------------------	-----------

RÉFÉRENCES.....	60
------------------------	-----------

ANNEXES I : Niveau de preuve des études et gradation des recommandations (ANAES/HAS)

ANNEXES II : Tableau des aliments riches en vitamines B et recommandations journalières

INTRODUCTION

Il est aujourd'hui admis que l'alimentation, tant par sa qualité que par sa quantité, joue un rôle préventif dans la survenue de pathologies telles que le cancer, les accidents vasculaires cérébraux ou l'obésité. L'obésité est d'ailleurs souvent impliquée comme facteur de risque dans la survenue de fausses-couches spontanées (FCS) ou cause d'infertilité [1].

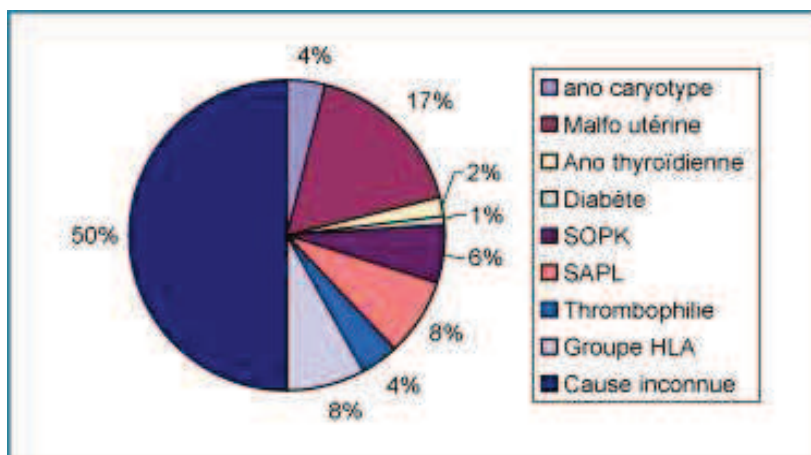
Par ailleurs, il est reconnu que les Français n'ont pas une alimentation équilibrée et qu'elle contient une quantité moindre en fruits et légumes par rapport aux recommandations. Ce constat a amené la France à développer, en 2001, le Programme National Nutrition et Santé (PNNS). Ce programme a pour objectif de sensibiliser la population aux bienfaits d'une alimentation équilibrée et reflète d'une volonté politique, à agir devant l'augmentation de pathologies, telles que le diabète ou l'obésité, qui constitue un enjeu de santé publique [2]. De plus, s'ajoute l'augmentation des prises des compléments alimentaires, qui n'est pas toujours à bon escient, mais semble pour certains une sorte de compromis.

Environ 15% des grossesses évoluent vers une FCS [3]. D'après la définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), on parle de FCS ou d'avortement spontané, pour toute expulsion spontanée de l'embryon ou du fœtus avant qu'il soit viable, c'est-à-dire avant la fin de la 22^{ème} semaine d'aménorrhée et/ou un poids fœtal inférieur à 500g.

La plupart des FCS sont sporadiques, mais environ 1% des femmes présente des fausses-couches spontanées répétées (FCSR). Les FCSR sont définies par trois arrêts de grossesse successifs consécutifs, ou non. Il est alors réalisé un bilan étiologique par divers examens [1].

Les anomalies chromosomiques (triploïdie, trisomie, ...) sont fréquentes lors de FCS survenant au premier trimestre de grossesse alors qu'elles ne concernent que 4% des FCSR. [4]

Figure.1 : Etiologies des fausses-couches spontanées répétées.
 (Source : « Fausses-couches spontanées répétées : bilan étiologique et prise en charge des grossesses ultérieures ». Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, Volume 39, numéro 3S pages F11-F16 (mai 2010)



Cependant, le bilan étiologique se révèle décevant dans environ la moitié des cas [1].

Des facteurs nutritionnels et environnementaux doivent être pris en compte, tels que le statut vitaminique, la consommation de café, d'alcool ou le tabac [1]. Les pesticides ont également été impliqués dans la survenue de FCSR [5].

Depuis près de quinze ans, l'implication d'une carence en certaines vitamines du groupe B et l'hyperhomocystéinémie qui en résulte, ont été pointées du doigt dans la survenue de différentes pathologies, essentiellement cardiovasculaires et neurovégétatives, ainsi que dans certaines complications de la grossesse comme la pré-éclampsie, voire certaines malformations. Il est d'ailleurs acquis qu'une carence en folates (vitamine B9), peut être la cause d'une anomalie de fermeture du tube neural [6].

Les connaissances de la fonction de chaque vitamine du groupe B, ainsi que leur implication dans certaines pathologies, ont conduit les chercheurs à se pencher sur leur éventuel impact sur la gamétogénèse, la qualité de l'endomètre ou la nidation, ce qui conditionne la capacité à concevoir et mener une grossesse à terme.

Afin de mieux comprendre l'implication de certaines vitamines du groupe B dans ces phénomènes, une brève présentation de ces vitamines sera faite. L'homocystéine,

qui est liée à leur déficit et semble également être incriminée dans la survenue des FCS, sera également présentée.

La vitamine B6 :

Peu d'études ont analysé le rôle de la vitamine B6, également appelée pyridoxine. Aucun signe clinique n'est associé à sa carence. La vitamine B6 se trouve dans les produits carnés, les œufs et les choux. La carence en vitamine B6 serait associée à des lésions des vaisseaux artériels susceptibles d'affecter l'implantation et le développement placentaire précoce [7].

La vitamine B12 :

Egalement appelée cobalamine, cette vitamine joue un rôle important dans tous les tissus à renouvellement rapide comme la peau, le tissu hématopoïétique, le tissu nerveux ou la muqueuse digestive. Elle agit comme cofacteur pour la synthèse de méthionine et pour la vitamine B6 [8]. Sa source est uniquement alimentaire, comme toutes les vitamines. Elle se trouve dans les produits carnés et les produits laitiers (en particulier lorsqu'il y a synthèse bactérienne: yaourts par exemple). Les recommandations sont un apport quotidien de deux à vingt milligrammes par jour. Les réserves hépatiques étant importantes et l'existence d'une réabsorption de la vitamine B12, à partir de la bile, à hauteur de 75%, explique un délai d'apparition d'une carence de trois à six ans [8]. Il a été montré que les hommes infertiles ont une faible concentration en cobalamine [9]. D'autres études ont montré une corrélation positive, entre la concentration en cobalamine dans le plasma séminal et la concentration en spermatozoïdes [10]. Chez la femme enceinte, il a été montré une association entre la carence en vitamine B12 et le risque d'anomalie de fermeture du tube neural (AFTN). Il est conseillé d'avoir un dosage >300ng/L pour toute femme débutant une grossesse. Chaque unité de vitamine B12 diminue de 0,3% le risque d'AFTN [11].

La vitamine B9 :

Connue également sous le terme de folates, elle est naturellement présente sous forme de polyglutamates alors que la forme utilisée pour la supplémentation est l'acide folique, un monoglutamate qui est plus stable biochimiquement. La vitamine B9 doit être obligatoirement apportée par l'alimentation en consommant des légumes verts à feuilles, certains fruits, des fromages affinés, des laitages ou du foie (annexell).

La recommandation actuelle est une supplémentation préconceptionnelle de 0,4mg en acide folique jusqu'à 12SA [6]. Ceci est en réalité rarement appliqué. Seules les femmes ayant dans leurs antécédents un enfant avec une malformation du système nerveux central, bénéficient de cette supplémentation.

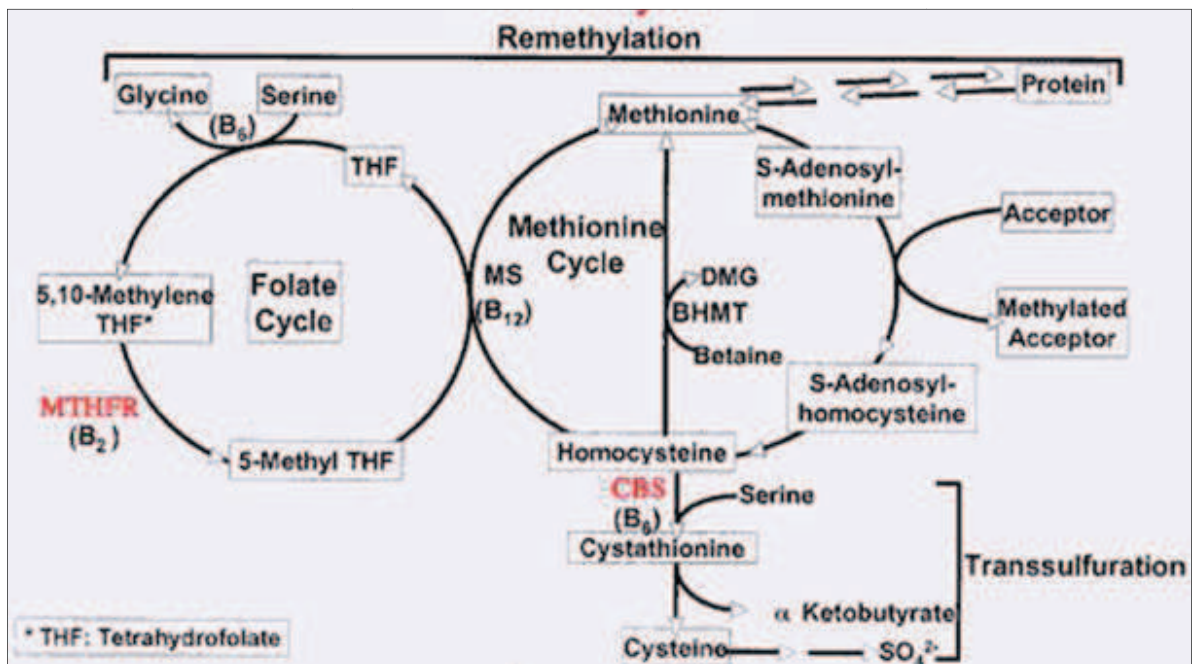
Les folates représentent des substrats indispensables pour la synthèse des précurseurs des acides nucléiques ainsi que pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine dans laquelle les vitamines B6 et B12 interviennent également.

La carence en folates est incriminée dans certaines pathologies cardiovasculaires, neurovégétatives et même obstétricales [12]. Elle est également impliquée dans la survenue de malformations du système nerveux central, la plus connue étant le spina bifida.

La vitamine B9 joue aussi un rôle essentiel dans la reproduction humaine, depuis la maturation ovocytaire, en passant par la fécondation et jusqu'à la naissance [13]. Des études mettent en exergue leur implication dans l'infertilité masculine [14] [15], mais également leur importance dans le développement embryonnaire précoce in vitro et très récemment, dans le processus d'implantation et la gémellité en AMP [16].

Comme nous venons de le voir, les vitamines B6, B9 et B12 agissent comme cofacteurs dans la synthèse de la méthionine à partir de l'homocystéine. Un déficit dans l'une de ces vitamines induit une hyperhomocystéinémie, ainsi qu'une réduction du taux de méthionine entraînant une diminution de la stabilité de l'ADN [1].

Figure 2 : Production et métabolisme de l'homocystéine



L'homocystéine :

Il s'agit d'un acide aminé soufré qui cependant, n'intervient pas dans la synthèse des protéines. Elle résulte de la déméthylation de la méthionine.

La valeur moyenne d'homocystéine est de dix microgrammes par litre.

Sa reméthylation en méthionine met en jeu différentes enzymes, dont une, a un rôle clé ; la 5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR). Cette dernière occupe une place stratégique puisque de son activité dépendra l'utilisation préférentielle des folates, soit pour la synthèse de l'ADN, soit pour la reméthylation de l'homocystéine [12]. Une mutation nucléotidique fréquente, conduit à un polymorphisme du gène codant pour cette enzyme, le C677T. D'après une étude, 40% des caucasiens sont hétérozygotes et 10% sont homozygotes [17]. En effet, de nombreux travaux ont permis de déterminer que les sujets étant homozygotes C677T, synthétisent une enzyme dont l'activité est diminuée de 50 à 70%, aboutissant à une augmentation du taux d'homocystéine. En cas d'hétérozygotie, l'activité est diminuée de 35% [12].

L'hyperhomocystéinémie est aujourd'hui incriminée comme facteur de risque pour les maladies vasculaires thrombo-emboliques [12] [18]. Dans la reproduction, une concentration élevée en homocystéine dans le plasma séminal et le liquide folliculaire, est associée à une mauvaise qualité de l'embryon produit [19]. Cette

embryotoxicité serait source de FCS. En ce qui concerne les FCS à répétition, une diminution des taux d'acide folique et une augmentation concomitante des taux d'homocystéine ont été constatés chez des femmes ayant fait au moins quatre FCS [20].

Les vitamines du groupe B et l'homocystéine sont donc indispensables au bon fonctionnement cellulaire en maintenant une bonne intégrité de l'ADN ainsi que du réseau vasculaire. Une carence en vitamines B pourrait ainsi impacter sur la qualité des gamètes féminins et masculins, en particulier sur la qualité de leur ADN. La nidation et le maintien de l'implantation de l'œuf, mettant en jeu un réseau vasculaire, peuvent également être affectés par ces carences.

Si une carence en certaines vitamines B s'avère effectivement être un facteur de risque de FCS, comme tentera de le montrer ce mémoire, l'alimentation serait un facteur modulable qu'il est nécessaire de prendre en compte. Il est donc intéressant de mener une réflexion sur les vitamines du groupe B ainsi que sur l'homocystéine qui est intimement liée à ces dernières comme facteurs de risque dans la survenue de FCS. Ainsi, le but de ce travail est d'étudier l'impact d'une carence en certaines vitamines B, sur la capacité à mener une grossesse à terme. Nous précisons que nous ne traiterons pas les carences dues à une pathologie connue, telle que la maladie de Coeliaque ou de Crohn par exemple. Nous tenterons de savoir si le polymorphisme du gène de la MTHFR peut être qualifié de facteur de risque supplémentaire à souffrir de FCS. Ces recherches nous emmèneront à nous questionner quant à la recherche de ces carences ainsi que du polymorphisme du gène MTHFR dans le bilan étiologique des FCS.

La femme mais aussi le partenaire, ont été pris en compte afin de montrer que chacun peut avoir un rôle dans les FCS et montrer que les deux membres du couple doivent être considérés dans la réussite de la conception.

L'étude des différents articles se composera en plusieurs parties. Dans un premier, temps nous présenterons les méthodes employées pour l'élaboration du mémoire. Dans un deuxième temps, nous ferons la description, puis l'analyse des résultats obtenus des articles sélectionnés. Enfin, nous confronterons les résultats de ces résultats avec d'autres travaux scientifiques.

A partir de là, nous avons orienté notre réflexion sur plusieurs points :

- Quels seraient les mécanismes mis en jeu dans la survenue de FCS suite à une carence en vitamine B ?

- Faut-il inclure la recherche du polymorphisme du gène codant pour la MTHFR dans le bilan d'infertilité ?

- Comment la sage-femme peut-elle jouer un rôle préventif quant à la carence en vitamines B ?

- A quel moment faut-il supplémenter ?

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'idée de ce mémoire nous est venue grâce à un article intitulé « Le temps de la supplémentation sauvage est fini », publié dans la revue « Profession Sage-Femme » [21]. Le thème initial était l'impact d'une carence en folates sur la fertilité et la survenue de fausses-couches. Suite aux résultats de nos recherches, nous avons décidé de l'étendre à plusieurs vitamines du groupe B mais de le restreindre aux FCS.

Ce mémoire a été réalisé à partir de lectures critiques d'articles issus de revues scientifiques internationales.

1. Matériel

Sélection d'articles

- Cadre de recherche

Les bases de données utilisées afin de sélectionner des articles traitant notre sujet, ont été PubMed (site de la «US National Library of Medicine National Institutes of Health») et EM Premium via le service commun de Documentation de la Faculté de Médecine de Strasbourg. Le portail terminologique de santé du site internet Catalogue et Index des Sites Médicaux de langues Françaises (Cismef) a été prisé afin de traduire les mots clés souhaités, du français à l'anglais.

Les mots clés utilisés étaient les suivants : « deficiency », « folic acide », « abortion, spontaneous », « infertility », « B-vitamin », « miscarriage ». La période de recherche s'étend jusqu'à fin janvier 2013.

Ces mots clés nous ont permis de trouver quatre méta-analyses datant au maximum de 2003. Les références de ces dernières étaient des études ou des articles permettant de faire le point sur les données actuelles. Depuis ces références, nous avons sélectionné les études nous intéressant pour l'élaboration de ce mémoire.

- Critères d'inclusion

Les études analysées devaient dater au maximum de 2002. Cependant, afin d'étayer notre discussion, nous nous sommes basées sur la littérature existante, ayant des résultats admis par la communauté scientifique. De ce fait, certains articles peuvent avoir été publiés dans les années 80.

Notre sujet traitant de l'impact d'une carence en vitamines B, tant chez l'homme que chez la femme, nous avons sélectionné d'une part des études ne comportant que des hommes et d'autre part, des études ne comportant que des femmes. Ceci dans le but de savoir si ces carences étaient délétères chez les deux partenaires. Les patients étudiés devaient être majeurs et en âge de procréer.

Afin de pouvoir répondre à notre problématique, les études devaient rechercher la présence d'une carence en certaines vitamines B chez des patients ayant une difficulté à concevoir ou mener une grossesse à terme. Elles devaient également s'intéresser aux conséquences que cela pouvait avoir sur les gamètes, le sperme, l'endomètre, l'embryon etc., afin de comprendre leur implication.

Nous avons également veillé à ce que les études sélectionnées suivent une démarche éthique.

- Critères d'exclusion

Les articles incluant un nombre conséquent de patients dont l'âge était supérieur à 50 ans, n'ont pas été retenus afin d'exclure l'impact de l'âge sur la qualité des gamètes. Lorsque des études confrontaient d'autres facteurs de risque de FCS, les résultats devaient être ajustés en conséquent. Les études menées sur des animaux n'ont également pas retenu notre attention. Enfin, les études parues dans des revues dont l'impact factor était inférieur à un, n'ont pas été retenues.

- Articles sélectionnés

En tenant compte des critères mentionnés précédemment, nous avons retenu quatre études. Il s'agit d'études cas-témoins. Nous reconnaissons qu'il s'agit d'un type d'étude à faible niveau de preuve scientifique (annexe I). Cependant notre

problématique implique de comparer deux populations, une n'ayant pas de problème pour concevoir et l'autre se retrouvant devant des échecs.

- Une première étude intitulée « Preconception B-Vitamine and Homocystéine Status, Conception, and Early Pregnancy Loss » de Alayne G. Ronnenberg, Scott A. Venners, Xiping Xu, Changzhong Chen et al., publiée en 2007 dans la revue *American Journal of Epidemiology* [22].

Cet article tente de déterminer le statut plasmatique en vitamines B6, B9 et B12 ainsi que celui en homocystéine, chez des femmes souffrant de FCS.

- Une deuxième étude intitulée « Plasma Folate Levels and Risk of Spontaneous Abortion » de L. Georges, J. L. Mils, A. L. V. Johanson et al., publiée dans la revue *Journal of the American Medical Association* en 2002 [23].

Cette étude cherche à déterminer si les femmes ayant un taux plasmatique en folates bas, sont plus à risque de faire une FCS.

- La troisième étude intitulée « Low folate in seminal plasma is associated with increases sperm DNA damage » de Jolanda C. Boxmeer, M.D., Marij Smit, M.D., Elaine Utomo, M.D., et al. publiée dans la revue *Fertility and Sterility* en 2008 [24].

Cette étude montre l'implication d'une carence en folates dans les dommages de l'ADN spermatique tels que la fragmentation, ainsi que la qualité spermatique.

- Une dernière étude intitulée « The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy non-smoking men » de S.S Young, B. Eskenazi, F.M. Marchetti et al., publiée dans la revue *Human Reproduction* en 2008 [25].

Cette dernière étude a pour but de montrer le rôle que jouent les folates sur la formation de spermatozoïdes aneuploïdes.

2. Méthodes

Pour chaque article, nous avons lu l'abstract et dégagé le thème principal de l'étude afin de nous assurer que l'objectif principal des auteurs répondait à notre problématique.

Nous nous sommes ensuite assurées que les critères d'inclusion et d'exclusion permettaient de restreindre les biais de confusion et de ce fait, limiter la validité des résultats. Cependant, lorsque les facteurs de risque de FCS étaient présents dans la population étudiée, nous nous sommes assurées que les résultats aient été ajustés en fonction de ceux-ci.

Pour finir, nous nous sommes assurées que la conclusion répondait à l'objectif des auteurs.

Afin d'étayer notre discussion, nous avons effectué un sondage auprès de praticiens hospitaliers, afin de savoir s'ils prescrivaient ou non, un bilan (que nous préciserons plus tard), dans le cadre du bilan d'étiologie de FCSR. Pour cela, nous les avons contactés par mail.

RÉSULTATS ET ANALYSE CRITIQUE DES ARTICLES

1. Alayne G. Ronnenberg, Scott A. Venners, Xiping Xu and al., “Preconception B-vitamin and Homocysteine status, Conception, and early Pregnancy Loss.” [22]

Cette étude a été publiée dans la revue American Journal of Épidemiology, en août 2007. Cette revue est dotée d'un impact factor de 5,216.

1.1 Objectif

1.1.1 Objectif principal

Cette étude cherche à établir une association entre le statut en vitamines B6-B9-B12 ainsi qu'en homocystéine chez des femmes faisant une fausse-couche.

1.1.2 Objectif secondaire

L'objectif secondaire de cette étude est d'établir une association entre les vitamines B6-B9-B12 et la capacité à concevoir.

1.2 Matériel et méthode de l'étude

1.2.1 Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, de type cas-témoins.

1.2.2 Facteur étudié

Le facteur étudié est la concentration plasmatique en vitamines B6-B9-B12 et en homocystéine.

1.2.3 Critères de jugement

- Critère de jugement principal

Il s'agit de la survenue d'une fausse-couche.

- Critère de jugement secondaire

Il s'agit de la capacité à concevoir.

1.2.4 Critères d'inclusions

Les employées devaient travailler à plein temps, être âgées de 20 à 34 ans, nouvellement mariées, ayant obtenu l'autorisation d'avoir un enfant, nullipares.

1.2.5 Critères d'exclusions

Ont été exclues, les femmes étant déjà enceintes au début de l'étude, les femmes essayant depuis un an ou plus d'avoir un enfant ou ayant essayé dans leur passé. Les femmes ayant prévu de changer d'emploi ou de ville pendant l'année d'étude ont également été exclues. Lorsqu'une prédisposition médicale à être sujette à fausse-couche a été suspectée, la femme n'était pas retenue pour participer à cette étude. De plus, les participantes ne recueillant pas leurs urines quotidiennement ou dès l'arrêt de leur contraception ont été exclues, ainsi que les femmes n'ayant pas arrêté leur contraception. Lorsque les informations nutritionnelles données par la participante n'étaient pas cohérentes ou manquantes, sa participation n'était pas retenue. Enfin, une consommation de tabac et d'alcool excluait la participante de l'étude.

1.2.6 Population étudiée

Il s'agit de 364 ouvrières chinoises travaillant dans une usine de textiles.

1.2.7 Déroulement de l'étude

Les protocoles de l'étude ont été validés par « The human subjects committees » affilié aux institutions chinoises, qui a pour mission de veiller au bien-être des participants. Le conseil institutionnel de l'école d'Harvard a également approuvé les protocoles. De plus, chaque participante a donné son consentement écrit pour participer à l'étude.

Une prise de sang a été faite aux participantes avant qu'elles arrêtent leur contraception, afin d'établir leur statut en vitamines B et en homocystéine. Une femme était considérée carencée si elle présentait un taux plasmatique inférieur aux valeurs suivantes :

- 6.8 nmol/l pour les folates

-30 nmol/l pour la vitamine B6

-258 pmol/l pour la vitamine B12

En ce qui concerne la concentration plasmatique en homocystéine, il a été défini un taux élevé à partir de 12.4 μ mol/l.

Un questionnaire visant à connaître les points suivants a été remis aux patientes :

- l'histoire du couple,
- ses tentatives d'avoir un enfant,
- les caractéristiques sociodémographiques,
- le poids, la taille de la participante
- la consommation d'alcool et l'exposition à certains facteurs de la participante.

Un questionnaire a également été administré pour trois mois aux femmes qui ne sont pas tombées enceintes, ainsi qu'un questionnaire à chaque fin de trimestre pour les femmes enceintes. Il n'est pas précisé ce que recherchaient ces questionnaires.

Un recueil quotidien d'urines a été demandé afin de mesurer le taux d'hCG dans le but de diagnostiquer au plus tôt la grossesse. Cela a été fait durant un an et jusqu'à la confirmation d'une grossesse. Dès l'arrêt de la contraception, les femmes tenaient un journal quotidien où elles rapportaient les rapports sexuels, les saignements vaginaux, la prise de médicaments ainsi que tout événement. Si une femme présentait un retard, une absence de règles ou des symptômes de grossesse, elle était envoyée à l'hôpital affilié à l'étude pour bénéficier d'un bilan et fournir un échantillon d'urines pour y doser l'hCG.

Une fois la grossesse confirmée, la patiente bénéficiait d'un suivi régulier avant et après l'accouchement et accouchait à l'hôpital affilié à l'étude.

1.3 Résultats

Les auteurs ont présenté les résultats avec et sans ajustements des facteurs de risques qui sont les suivants:

- l'âge
- l'IMC
- les antécédents de FCS
- le stress
- l'exposition à des poussières
- l'âge du partenaire
- la consommation de tabac et alcool.

Nous présenterons uniquement les résultats après ajustement.

Sur les 1006 femmes nouvellement mariées à l'usine, 961 répondaient aux critères d'admissibilité et ont décidé de s'inscrire. Suite aux critères d'exclusion vus précédemment, le taux de participation est de 38%. L'analyse portait sur 1165 cycles menstruels après l'exclusion de 99 cycles durant lesquels il n'y avait pas de rapports sexuels. Sur les 1165 cycles, 486 ont abouti à une grossesse. Cependant, 139 de ces grossesses ont débouché sur une fausse-couche précoce.

Il est rapporté que les 211 femmes exclues de l'étude étaient semblables en ce qui concerne la tranche d'âge, la taille, le poids et l'indice de masse corporelle. Seul le niveau d'étude différait. En effet, les femmes exclues avaient un niveau d'étude plus haut (45% avaient fréquenté une école supérieure contre 30% pour les femmes incluses dans l'étude.)

Les résultats montrent que 2% des femmes de l'étude déclaraient consommer des compléments vitaminiques. Bien que les femmes incluses dans l'étude étaient non fumeuses, 57% étaient exposées à un tabagisme passif et 42% déclaraient être modérément stressées.

Les résultats montrent que 23% des femmes étaient carencées en vitamine B6, 20% étaient carencées en folates, 18% l'étaient en vitamine B12 et 10% présentaient un taux plasmatique en homocystéine élevé. Au total, 43% des femmes étaient carencées en au moins l'une de ces vitamines.

En ce qui concerne l'existence d'une carence cumulée de deux vitamines B, 9% l'étaient en vitamines B6 et B9, 7% l'étaient en vitamines B6 et B12 et 5% étaient carencées en vitamines B9 et B12. Enfin, seules 3% des femmes présentaient une carence de ces trois vitamines étudiées.

La concentration en homocystéine était inversement corrélée à celle en folates ($p=0.001$) et vitamines B12 ($p=0.009$) tandis qu'elle était corrélée positivement à la concentration en vitamine B6 ($p=0.001$).

- Les carences en vitamine B6

Les résultats indiquent que les femmes ayant une concentration normale en vitamines B6 ont plus de chance de concevoir que les femmes présentant une carence en vitamines B6 (HR=1.4, IC 95% [1.1-1.9]).

Concernant le risque de faire une fausse-couche, les patientes carencées en vitamine B6 n'ont pas un risque augmenté (OR=0.7 [0.4-1.1]).

- Les carences en vitamines B12

Concernant la vitamine B12, les résultats ne permettent pas de conclure à une association entre sa carence et une difficulté à concevoir augmentée (OR=0.9 [0.6-1.3]). Il en est de même pour le risque de faire une fausse-couche qui n'est pas augmenté par une carence en cette vitamine (OR=0.9 [0.5-1.6]).

- L'hyperhomocystéinémie

L'hyperhomocystéinémie semble, quant à elle, augmenter les difficultés à concevoir (OR=1.5 [1.0-2.5]) mais pas le risque de faire une FCS (OR=0.7 [0.3-1.4]).

- Les carences en folates

Les patientes ayant une concentration plasmatique en folates basse, ont plus de difficultés pour concevoir par rapport à celles ayant un taux supérieur ou égal au taux de référence (OR=1.2, [0.9-1.7]).

Concernant le risque de faire une FCS, celui-ci n'est pas augmenté par une carence en folates (OR=1.0 [0.6-1.7]).

1.4 Discussion des auteurs.

Pour les résultats, les auteurs se basent sur ceux non ajustés. Les auteurs concluent tout de même, qu'une forte concentration en vitamines B6 diminue les risques de faire une FCS et augmente les chances de concevoir. Ces résultats vont dans le sens d'une précédente étude menée par les mêmes auteurs [26]. Une autre étude leur a permis de montrer que les femmes, présentant un statut en vitamine B6 inférieur de moitié par rapport au statut considéré comme adéquate, avaient plus de risque de faire un accouchement prématuré [27].

Des études menées par d'autres auteurs ont également permis de faire les mêmes constats. C'est le cas de Wouters et al. qui au travers de leur étude montrent que les femmes ayant fait de multiple FCS, ont un taux en vitamine B6 moindre par rapport au groupe de femmes témoins [28].

Les auteurs expliquent ces résultats par le fait que la vitamine B6 est une coenzyme participant à de nombreuses réactions. Elle serait impliquée dans l'intégrité des vaisseaux artériels et de ce fait, une carence en celle-ci altérerait le placenta. Sa carence entraînerait également une réponse inflammatoire ce qui compromettrait l'évolution de la grossesse [29]. Cependant, les auteurs sont conscients que les participantes sont des ouvrières travaillant au quotidien avec des produits chimiques servant à traiter le textile. Ils soulèvent qu'il aurait été intéressant d'évaluer le marqueur inflammatoire.

L'évaluation du statut nutritionnel des participantes s'est faite par une unique prise de sang. Les auteurs sont conscients qu'il est possible que le statut ait changé entre l'évaluation et la FCS.

Concernant les femmes exclues de l'étude, les auteurs affirment qu'elles ne différaient pas d'un point de vue de l'âge, du poids et de la taille.

1.5 Analyse critique de l'article

L'objectif de cette étude, n'est pas clairement défini par les auteurs dans l'introduction.

La structure IMRAD est respectée.

Les auteurs ont fait le choix d'exclure les patientes tabagiques ainsi que celles qui consommaient de l'alcool. Ceci est un point positif puisque tabac et alcool représentent des facteurs de risques avérés de fausses-couches [1]. Ceci limite les facteurs de confusion. De plus, les auteurs ont ajusté les résultats en fonction de plusieurs critères tels que l'âge, l'exposition à un tabagisme passif ainsi que le poids. Ceci évite également les facteurs de confusion, dans la mesure où l'obésité, l'âge maternel sont des facteurs de risque de FCS avérés [1].

L'âge du conjoint a également été pris en compte. De nombreuses études permettent d'inclure la part masculine dans la survenue de FCS [1]. De plus, des études ont montré que lorsque l'âge du père est supérieur à 45 ans, le risque de FCS est augmenté [30].

Un biais de sélection peut être envisagé quant à la population étudiée. En effet, les femmes incluses dans l'étude travaillent toutes dans la même usine. De plus, il s'agit d'une entreprise de textile. Il est possible que ces femmes aient été contaminées par les produits utilisés dans le domaine du textile, ce qui pourrait également avoir un impact sur la fertilité. En effet, les produits toxiques ont également été incriminés dans les causes possibles de fertilité en ayant un impact sur les gamètes [5].

Pour les résultats, les auteurs ont choisi de classer les patientes par quartile. Or, ils n'ont jamais mentionné ce choix de classement auparavant. Ce choix rend la lecture des résultats légèrement plus difficile. Il aurait été souhaitable que cette classification en quatre quartiles soit mentionnée dans la rubrique « matériels et méthodes ».

Les résultats mentionnés par les auteurs, avançant qu'une carence en vitamine B6 augmente le risque de faire une FCS, ne sont pas ajustés. Toutefois, les auteurs prennent ces résultats pour en tirer des conclusions et les mentionnent dans le résumé. Les résultats concernant la vitamine B12 et l'homocystéine ne sont quant à eux pas mentionnés de façon claire, mais le lecteur doit se référer aux tableaux.

Les résultats et conclusions ne sont donc pas totalement en accord avec l'objectif qui peut être tiré du titre et de l'introduction de l'étude.

Finalement, cette étude ne nous permet pas de mettre en association une carence en vitamines B et un risque augmenté de faire une FCS. Elle indique cependant, une chance de concevoir augmentée lors d'une absence de carence en vitamines B.

2. L. Georges, J. L. Mills, A. L. Johansson “Plasma Folate Levels and Risk of Spontaneous Abortion” [23]

Cette étude est parue dans la revue Journal American Medical Association (JAMA), en octobre 2002. Cette revue est dotée d'un impact factor de 30.

2.1 Objectif de l'étude

2.1.1 Objectif principal

Le but de cette étude est de savoir s'il est possible d'établir une association entre la concentration plasmatique en folates et le risque de faire une FCS.

2.1.2 Objectif secondaire

Les auteurs ont également cherché à savoir si un excès en folates augmentait le risque de FCS.

2.2 Matériel et méthode de l'étude

2.2.1 Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, de type cas-témoins.

2.2.2 Facteurs étudiés

Le facteur étudié est la concentration plasmatique en folates.

2.2.3 Critère de jugement

Il s'agit de la survenue de fausses-couches.

2.2.4 Critères d'inclusion

Ont été incluses, les femmes ayant fait une fausse-couche d'un fœtus d'âge gestationnel entre 6 et 12 semaines révolues et dont la grossesse avait été confirmée par un dosage positif d'hCG.

2.2.5 Critères d'exclusion

Les patientes ne fournissant pas d'échantillon sanguin ont été exclues de l'étude.

2.2.6 Population étudiée

Selon les critères cités ci-dessus, 468 femmes ont été incluses dans le groupe « cas » et 921 femmes dans le groupe « témoins ».

2.2.7 Déroulement de l'étude

Cette étude a été menée dans le comté d'Uppsala, en Suède, de janvier 1996 à décembre 1998. Le consentement des participantes a été recueilli par écrit.

Le terme de la grossesse des participantes a été calculé en fonction du premier jour des dernières règles.

Afin de s'assurer de la viabilité du fœtus, les femmes ont bénéficié d'une échographie. Cet examen a parfois conduit à la découverte d'une grossesse arrêtée. Dans ces cas de figure, la patiente était transposée, si elle le souhaitait, dans le groupe « cas ».

Trois sages-femmes, spécialement formées, menaient des entretiens avec les femmes participant à l'étude, qu'elles soient « cas » ou « témoins ». Un questionnaire était utilisé afin que les personnes faisant l'entretien ne sachent pas l'état de la patiente, c'est-à-dire enceinte ou ayant subi une fausse-couche. L'entretien avait pour but de définir d'éventuels facteurs de risque de FCS comme l'âge, la consommation d'alcool, de tabac ou de caféine, l'utilisation d'une supplémentation en acide folique et les antécédents de tentatives de grossesse. Les habitudes de vie, les habitudes alimentaires et l'indice de masse corporelle ont été définis. Il était également recherché une éventuelle utilisation de médicaments allant d'une période de quatre semaines antérieures à la grossesse jusqu'au moment de la FCS.

Afin de déterminer la concentration en folates, une prise de sang a été faite aux participantes. Pour les femmes ayant subi une fausse-couche, celle-ci était réalisée au moment du diagnostic. Pour les femmes appartenant au groupe « témoin », elle a été réalisée au moment de l'entretien.

Il a été défini plusieurs niveaux de concentrations plasmatiques en folates :

- une faible concentration en folates correspondait à 2.19ng/mL ou moins.
- la concentration de référence correspondait à des valeurs allant de 2.20 à 3.95ng/mL
- une concentration élevée en folates correspondait à des valeurs supérieures ou égales à 3.96 ng/mL.

Sur les échantillons sanguins, le taux de cotinine, produit métabolique de la nicotine, était également mesuré. Une femme a été considérée comme fumeuse, à partir du moment où le seuil cotinine dépassait 15 ng/mL.

Pour évaluer les risques de FCS, le caryotype fœtal a été pris en compte, ainsi que les variables définies lors de l'entretien.

2.3 Résultats

Sur les 1037 patientes se faisant suivre pour leur grossesse à l'hôpital universitaire du comté de l'Uppsala, 953 ont accepté de participer à l'étude.

Une grossesse arrêtée a été diagnostiquée chez 53 femmes par l'échographie. Cinq femmes du groupe « témoins » ont subi une fausse-couche » avant 13 semaines révolues.

La valeur moyenne de la concentration plasmatique pour le groupe « cas » et le groupe « témoins » en folates était respectivement de 3.76 ng/mL et de 3.84ng/mL (p=0.56).

Les questionnaires d'entretien ont permis de constater que 4.7% des femmes participant à l'étude, consommaient une supplémentation d'acide folique d'au moins 0.4 mg par jour, débutée avant la grossesse et continuée jusqu'à la dernière semaine de grossesse. Il s'agissait de 30 femmes « cas » et de 35 femmes « témoins ». Parmi elles, aucune ne présentait un taux plasmatique en folates bas et 91% avaient un taux d'au moins 3.96ng/mL ou plus. En ce qui concerne les femmes ne prenant pas de supplémentation en acide folique, 16% d'entre elles présentaient un taux bas et seulement 27% avaient un taux supérieur à 3.96ng/mL.

Les résultats indiquent que le risque de FCS n'est pas augmenté dans le groupe qui se supplémente en comparaison avec les femmes qui ne le sont pas

(OR=1.3 [0.7-2.4]). Les résultats permettent également de s'apercevoir que les femmes ayant une supplémentation, subissent des FCS plus précocement ($p=0.02$).

Pour l'analyse univariée, les résultats montrent que le sous-groupe ayant une concentration faible en folates, a un risque augmenté de fausses-couches par rapport au taux de référence, mais cela de manière non significative. En ce qui concerne le groupe ayant un taux élevé de folates, le risque de faire une FCS ne semble pas augmenté ($p=0.39$).

Une concentration plasmatique en folates supérieure à 6.17ng/mL semble être favorisée par un âge supérieur à 30 ans et par la nulliparité ($p=0.001$ pour les deux), ainsi que par une éducation supérieure à douze ans ($p=0.002$).

Par ailleurs, de nombreux facteurs de risques de FCS ont été assimilés à des taux plasmatiques en folates bas. C'est le cas d'un âge inférieur à trente ans, d'une éducation inférieure à douze années ($p < 0.001$ pour les deux), d'un tabagisme et d'une obésité ($p=0.005$).

Après ajustement par les différents facteurs de risque qui sont le tabac, l'âge maternel, la consommation quotidienne de caféine et les antécédents de FCS, il ressort de l'étude, et cela de manière statistiquement significative, qu'un taux plasmatique bas en folates augmente les risques de FCS (OR=1.47 [1.01-2.14]).

Les résultats montrent également que le risque de FCS augmente chez les patientes âgées de 35 ans ou plus (OR=2.99 [1.77-5.04]), chez les fumeuses (OR=1.52 [1.04-2.23]), et chez les consommatrices de plus de 300mg de caféine par jour (OR=1.61 [1.09-2.37]).

L'étude du caryotype des fœtus ayant fait l'objet d'une FCS, a révélé que 83 fœtus présentaient un caryotype normal, et que 133 avaient un caryotype anormal (soit 61%).

Les auteurs ont souhaité effectuer une analyse stratifiée par caryotype. Les résultats n'ont pas pu montrer une association entre taux plasmatiques en folates et le type de caryotype.

2.4 Discussion des auteurs

Les résultats obtenus par cette étude, amènent les auteurs à conclure que les femmes ayant un taux plasmatique en folates bas sont plus à risque de faire une FCS. Les auteurs expliquent ces résultats en incriminant une carence en folates comme facteur de risque de présenter un hématome rétro-placentaire, une pré-éclampsie ou des lésions vasculaires [31].

Les auteurs mettent en lien les connaissances quant à l'implication d'une carence en folates et la survenue de malformation du tube neural [32]. Ces affections étant rares ceci s'expliquerait par la fréquence des avortements spontanés.

Les résultats stratifiés concernant l'étude des caryotypes et le taux plasmatique montrent que les pertes sont le plus souvent dues à des caryotypes anormaux. Cependant, aucune association entre la sévérité de l'anomalie du caryotype et le statut en folates n'a pu être établie. Toutefois, il serait souhaitable pour les auteurs que d'autres études soient réalisées.

Les auteurs mettent en avant le fait que les patientes aient bénéficié d'un entretien individuel et qu'elles aient répondu à un questionnaire structuré. Les auteurs soulignent également le fait que les facteurs de confusions aient été pris en compte.

2.5 Analyse critique de l'article

Cet article est paru dans une revue dont l'impact factor était de 30 en 2002. Ceci prouve qu'il s'agit d'une revue de qualité.

L'objectif de l'étude est clairement défini par les auteurs dans l'introduction et la structure IMRAD est respectée. De plus, l'étude a été validée par le conseil d'éthique de l'hôpital où a été menée cette étude.

Les entretiens ont été faits de manière à ce que les sages-femmes ou les médecins ne connaissent pas l'état de la patiente, c'est-à-dire son groupe d'appartenance. Ceci limite les biais dus à l'interrogatoire.

Une critique que nous pouvons avancer, est le fait que les auteurs ne précisent pas si un calcul a été fait, afin de définir le nombre de participants idéal pour l'étude. Toutefois, le nombre de participants semble intéressant. Cependant, il aurait été

souhaitable d'exclure les femmes tabagiques, obèses ou présentant tout autre facteur de risque de FCS, d'autant plus que des facteurs n'apparaissent pas de manière équitable. En effet, même si les résultats ont été ajustés, la comparaison de deux groupes totalement homogènes, ne présentant pas de facteur de risque évident de FCS, aurait été préférable pour mettre en avant la conséquence d'une faible concentration plasmatique en folates et une augmentation de risque de FCS.

Cette étude nous apporte également des informations quant à l'existence de personnes étant plus à risque d'être carencées en folates. Il s'agit en effet des personnes tabagiques, ayant moins de 30 ans, les femmes obèses et les femmes ayant moins de douze années d'éducation. Ces constats nous amènent à penser que ces personnes sont d'autant plus à risque de faire une FCS car elles cumulent les facteurs de risques de FCS avérés tels que le tabac et l'obésité [1].

Nous pouvons considérer que la population suédoise présente les mêmes caractéristiques que la population française. Ces résultats peuvent donc être pris en compte en ce qui nous concerne.

Les auteurs ont fait le choix d'exclure des femmes ayant subi une FCS à un terme de treize semaines au plus. Ceci nous semble trop restrictif puisque la définition d'une FCS inclue toute perte de grossesse allant jusqu'à 22 semaines d'aménorrhée.

Les auteurs soulignent le fait que l'excès ne semble pas compromettre le devenir de la grossesse. Ceci est important à relever, puisque nous sommes dans une aire où les compléments alimentaires gagnent en fréquence d'utilisation. Certains pays comme les États-Unis ont fait le choix de supplémenter certains aliments. Ces résultats sont rassurants quant à l'innocuité de la supplémentation sur la survenue de FCS. Cependant, les enfants issus de ces grossesses n'ont pas été suivis et des données récentes montrent un risque de l'excès de folates pendant la grossesse sur la santé future de l'embryon [33].

Un des aspects intéressants de cette étude est que les auteurs aient pris en compte le caryotype du fœtus ayant fait l'objet de la FCS.

Nous pouvons constater qu'une anomalie du caryotype a été retrouvée dans 61% des cas où celui-ci a pu être réalisé, ce qui est cohérent avec nos données (figure 1).

Cependant, ceci n'a pas permis de mettre en évidence un lien entre caryotype anormal et taux plasmatique en folates bas. De plus, tous les avortements spontanés n'ont pas pu faire l'objet d'un caryotype, puisque les femmes subissant une fausse-couche ne choisissaient pas forcément le curetage comme technique.

Afin, de synthétiser les résultats répondant à notre problématique, nous les rappelons ci-dessous :

- La supplémentation n'augmente pas les risques de FCS.
- Certaines femmes sont plus à risque de faire une FCS.
- Un taux plasmatique bas en folates favorise la survenue de FCS.
- Un caryotype anormal n'a pas pu être mis en association avec une carence en folates.

La conclusion est cohérente et répond à l'objectif mais les biais relevés incitent à une interprétation prudente des résultats.

3. Jolanda C. Boxmeer, Marij Smit, Elaine Utomo et al. “Low folate in seminal plasma is associated with increased sperm DNA damage.”[24]

Cette étude a été publiée dans la revue Fertility and Sterility, en août 2009. Cette revue est dotée d'un impact factor de 3.97.

3.1 Objectif de l'étude

3.1.1 Objectif principal

Cette étude cherche à déterminer s'il y a une association entre une carence séminale en vitamines B et la qualité spermatique, en particulier à l'identification de dommages de l'ADN des spermatozoïdes.

3.1.2 Objectif secondaire

L'objectif secondaire est de déterminer si la concentration sanguine en vitamines B ainsi qu'en homocystéine et la concentration séminale sont liées.

3.2 Matériel et méthode de l'étude

3.2.1 Type d'étude:

Il s'agit d'une étude rétrospective pour les couples fertiles et prospectives pour les infertiles, de type cas-témoins.

3.2.2 Facteurs étudiés:

Il s'agit des concentrations sériques et séminales en vitamines du groupe B ainsi qu'en homocystéine.

3.2.3 Critère de jugement:

La qualité et la quantité spermatique (nombre, mobilité, morphologie des spermatozoïdes), ainsi que l'indice de fragmentation de l'ADN spermatique sont étudiés.

3.2.4 Critères d'exclusions

Les hommes fertiles et infertiles étaient admissibles uniquement si le sperme n'a pas été obtenu par microchirurgie ou aspiration percutanée épидидymaire, ou alors, conservé par cryoconservation. Ceci a évité le recueil d'un sperme dont les spermatozoïdes ont pu être altérés lors du prélèvement ou de la conservation.

3.2.5 Population étudiée

Au total, 133 patients ont été inclus pour l'analyse des résultats.

3.2.6 Déroulement de l'étude

Entre septembre 2004 et janvier 2007, des couples se présentant au centre médical universitaire Erasmus MC, de Rotterdam, pour des problèmes d'infertilité, ont été invités à participer à l'étude « Food, Life-Style and Fertility Outcome-study » (FOLFO Study). Cette étude avait pour but d'établir une association entre la nutrition et les habitudes de vie sur les capacités à concevoir. Le consentement des participants a été recueilli par écrit et le protocole de l'étude a été validé par le comité hollandais pour les recherches humaines ainsi que par le conseil d'éthique de l'hôpital.

Les participants ont bénéficié d'un examen physique et ont dû répondre à un questionnaire cherchant à connaître les antécédents médicaux, la taille, le poids ainsi que la consommation d'alcool, de cigarettes ou de compléments vitaminiques.

Afin d'éliminer toute infertilité causée par une varicocèle, les participants bénéficiaient d'une échographie scrotale. Un prélèvement sanguin, ainsi qu'un recueil de sperme ont été demandés aux patients. L'échantillon de sperme a été obtenu par masturbation après une période d'abstinence de trois à cinq jours. Après liquéfaction, une analyse pour déterminer la concentration et le nombre de spermatozoïdes, ainsi que leur mobilité et morphologie, a été faite. Afin d'analyser le plasma séminal, le reste du sperme recueilli a été centrifugé puis le surnageant a été conservé à – 20 degrés.

Une fraction de l'échantillon initial a été gardée et conservée à -80 degrés afin de déterminer ultérieurement l'index de fragmentation de l'ADN spermatique.

Après l'analyse du sperme, les participants ont été divisés en deux groupes. Les hommes ayant une concentration de spermatozoïdes supérieure ou égale à vingt millions par millilitre, étaient considérés comme fertiles. Cependant ils devaient avoir dans leurs antécédents, une réussite de conception. Quant aux hommes ayant une concentration inférieure à vingt millions de spermatozoïdes par millilitre, ceux-ci étaient inclus dans le groupe d'hommes dits infertiles.

3.3 Résultats

Initialement 279 hommes ont été inclus dans l'étude. 28 ont été exclus car ils n'ont pas fourni d'échantillon de sperme ou sanguin. Les participants ont été subdivisés en deux groupes. Ainsi, 63 hommes ont été inclus dans le groupe considéré comme hypofertile et 70 dans le groupe fertile. Les 118 autres participants ont été considérés comme intermédiaires et n'ont pas été retenus pour l'analyse des résultats.

Les auteurs ont utilisé un logiciel permettant d'ajuster les résultats en fonction des facteurs de confusion possibles tels que l'âge, l'IMC, la consommation de tabac et d'alcool.

5% des hommes participants à l'étude présentaient une hyperhomocystéinémie (22.6-56.4 micromol/l), la valeur de référence étant 22 micromol/l. Seulement 1% des hommes présentait une carence en folates soit un taux inférieur à 8nmol/l. D'après le tableau des résultats, nous pouvons constater qu'il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les différentes concentrations entre les deux groupes.

La supplémentation vitaminique avec acide folique, concernait 23 participants sur les 133, soit 17%.

- Association des concentrations sanguines et séminales

La concentration spermatique en homocystéine et en vitamine B6 était moindre que celle dans le sang et cela de manière statistiquement significative ($p < 0.05$ et $p < 0.001$, respectivement). Cependant, les concentrations en folates et en cobalamine étaient, quant à elles, plus élevées dans le plasma séminal que dans le

sang ($p < 0.001$ pour les deux composants). Les résultats indiquent bien une corrélation inverse entre les concentrations sanguines en vitamines B et celles en homocystéine ($p < 0.001$).

- Différence des paramètres spermatiques entre les deux groupes

En ce qui concerne les différents paramètres spermatiques, l'étude montre que le volume éjaculé était plus important, cela de manière statistiquement significative ($p < 0.001$), chez les hommes dits infertiles. Néanmoins, le nombre de spermatozoïdes, leur capacité à se mouvoir, ainsi que le nombre de spermatozoïdes ayant une morphologie normale, étaient plus bas chez ces derniers ($p < 0.001$). L'indice de fragmentation spermatique (DFI) était plus élevé dans le groupe d'hommes considérés comme infertiles mais ce résultat n'était pas statistiquement significatif. La DFI était corrélée de manière positive au volume éjaculé ($p < 0.001$) et inversement corrélée à la mobilité ($p < 0.001$).

Dans le groupe des hommes infertiles, la DFI était inversement proportionnelle à la quantité de spermatozoïdes normaux ($p < 0.01$).

- Paramètres spermatiques et marqueurs biologiques

Les résultats n'indiquent pas de corrélation entre les marqueurs sanguins et les paramètres spermatiques. En ce qui concerne l'étude d'une relation entre les marqueurs biologiques séminaux et les paramètres spermatiques conventionnels, il a été remarqué que l'homocystéine et la cobalamine étaient corrélées au nombre de spermatozoïdes ($p < 0.01$ et $p < 0.05$ respectivement). Les concentrations séminales en folates, cobalamine et pyridoxine étaient inversement corrélées au volume éjaculé ($p < 0.01$; $p < 0.01$ et $p < 0.05$ respectivement). De manière générale, les marqueurs biologiques n'étaient pas corrélés à la DFI, à la mobilité ou à la morphologie des spermatozoïdes. Cependant, dans le groupe des hommes dits infertiles, la concentration en folates dans le sperme était inversement corrélée à la DFI ($p < 0.05$).

Pour synthétiser et cibler nos résultats en fonction de notre problématique, nous pouvons constater pour cette étude :

- que les concentrations en folates et vitamines B12 sont plus importantes dans le plasma séminal que dans le sang,
- qu'aucun lien entre les concentrations sanguines et les paramètres spermatiques n'a pu être établi,
- qu'une faible concentration en folates augmente le taux de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes.

3.4 Discussions des auteurs

Les auteurs concluent qu'une faible concentration en folates dans le plasma séminal est associée à une augmentation des dommages de l'ADN des spermatozoïdes. Ceci va dans le sens avec le rôle connu qu'ont les folates dans la synthèse de l'ADN et le processus de méthylation.

Une corrélation inverse entre DFI et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs a été montrée. Dans le groupe d'hommes infertiles, la DFI est également en corrélation inverse avec le pourcentage de spermatozoïdes présentant une morphologie normale. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études, bien que des controverses persistent. Le nombre et le choix des hommes dans l'étude pourraient expliquer ces résultats différents.

Cette étude montre une corrélation entre la concentration en vitamine B12 dans le plasma séminal et le nombre de spermatozoïdes. Ceci a déjà été rapporté par ces mêmes auteurs, ainsi que dans une étude où des hommes sont devenus fertiles après un traitement de cobalamine entre 1960 et 1970.

La concentration en folates et en cobalamine était plus élevée dans le plasma séminal que dans le sang, alors qu'il s'agit de l'inverse pour l'homocystéine et la pyridoxine. Ceci va dans le même sens que d'autres rapports. Les auteurs émettent l'hypothèse d'un transfert passif ou actif du sang vers le plasma séminal de l'acide folique et de la cobalamine. Il serait donc intéressant dans des études futures, de se pencher sur l'existence de protéines de liaison pour l'acide folique et la vitamine B12. Les auteurs émettent également l'hypothèse que l'homocystéine et la vitamine B6 ne

passent pas la barrière hémato-testiculaire ou qu'ils soient résorbés, ce qui expliquerait ces résultats.

Les auteurs font part des difficultés rencontrées pour la collecte des données. En effet, certains questionnaires n'ont pas été retournés, et parfois la quantité séminale n'était pas suffisante pour déterminer les marqueurs biologiques. D'après les auteurs, ces données manquantes étaient réparties de manière équivalente dans les deux groupes, ce qui limite les biais dans les résultats.

Les auteurs soulignent également le fait que, le liquide dans lequel a lieu la spermatogénèse, diffère du plasma séminal. En effet, ce dernier provient à 90% de sécrétions de glandes extérieures au tissu testiculaire. Il serait intéressant de comparer liquide dans les tubules séminifères et de l'épididyme et plasma séminal. Cependant, ceci demande une technique invasive et est de ce fait peu réalisée.

Les auteurs sont conscients qu'un groupe d'hommes sains et n'ayant pas de difficulté à concevoir aurait été préférable comme groupe témoin.

Finalement, cette étude met en avant la corrélation entre les marqueurs biologiques séminaux et les paramètres spermatiques mais ne montre pas de corrélation avec les marqueurs sanguins. Ceci peut s'expliquer par l'existence de mécanismes actifs qui réguleraient la concentration des marqueurs dans le sperme.

3.5 Analyse critique de l'étude

J. C. Boxmeer est un auteur publiant de nombreuses études et est couramment cité dans les articles traitant des problèmes de fertilité et de FCS.

Le titre de l'article n'est pas en adéquation avec les objectifs des auteurs. En effet, celui-ci laisse à penser que seuls les folates sont étudiés, or cette étude analyse également d'autres vitamines du groupe B.

Cette étude aurait peu d'intérêt si l'on cherchait à montrer l'influence d'une carence en vitamine B sur la fertilité. En effet, elle présente de nombreux biais que nous allons préciser. Cependant, c'est la seule étude qui cherche à montrer le rôle que joue une carence en vitamines B sur la fragmentation de l'ADN spermatique. Nous l'avons utilisée en tant que tel. En effet, une fragmentation de l'ADN semble être incriminée dans la survenue de FCS [34] [35].

Comme les auteurs l'ont souligné, il aurait été préférable qu'un groupe d'hommes sains ne consultant pas pour des problèmes d'infertilité soit pris comme groupe témoin. Avec ce choix de prendre des hommes ayant déjà réussi une conception, il aurait été intéressant de connaître à ce moment là, leur statut en vitamines B, pour voir si celui-ci a changé, ce qui pourrait expliquer la survenue de leur problème. Ceci est bien évidemment très difficile à réaliser et demanderait que des données soient archivées pour les couples qui consultent pour leur grossesse et puissent être réutilisées lorsque ces mêmes couples reviennent pour un problème de difficulté à concevoir. De plus, il n'est pas précisé quel âge ont leurs enfants et il n'a pas été exigé que la partenaire soit la même que celle avec qui ils ont réussi à concevoir. Le problème de fertilité peut ainsi provenir de la partenaire.

En ce qui concerne le groupe d'hommes infertiles, nous retrouvons également des biais de sélection. En effet, ce groupe présente un nombre de spermatozoïdes inférieur à celui des hommes témoins. Il est reconnu qu'un petit nombre de spermatozoïdes est plus facilement oxydable. Ce groupe comporte également des hommes présentant une azoospermie, ce qui donne une étiologie à leur infertilité.

L'échantillon de la population étudiée est faible (133 participants en tout). De plus, il est inclut des hommes tabagiques, or le tabac est un facteur de risque d'altération spermatique [25].

Comme nous l'avons vu précédemment, la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes a été incriminée dans la survenue de FCS dans de nombreuses études.

Les auteurs concluent à une association entre une concentration séminale en folates basse et la fragmentation de l'ADN spermatique. Cependant, ces résultats sont uniquement significatifs dans le groupe infertile et de ce fait, demandent à être interprétés avec prudence. En effet, les résultats indiquent que ce groupe présente un nombre plus faible de spermatozoïdes que les hommes fertiles. Or, le phénomène d'oxydation est majoré lorsque leur nombre est plus faible.

Nous pouvons conclure que cette étude est intéressante puisqu'elle apporte les points suivants :

- Les concentrations en folates et vitamines B12 sont plus importantes dans le plasma séminal que dans le sang.

- Aucun lien entre les concentrations sanguines et les paramètres spermatiques n'a pu être établi.

- Qu'une faible concentration en folates semble augmenter le taux de fragmentation de l'ADN spermatique.

Cependant, la présence de nombreux biais et le faible échantillon de population demandent une interprétation prudente des résultats et ne nous permet pas de conclure quant à une réelle association entre un taux de folates séminal bas et une augmentation de la DFI. De plus, comme le soulignent les auteurs, il serait intéressant de mener d'autres études qui s'orientent quant à l'existence de protéines de liaison pour ces vitamines.

4.S.S. Young, B. Eskenazi, F.M. Marchetti et al “ The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy non smoking men” [25].

Cette étude a été publiée dans la revue scientifique Human Reproduction, en mai 2008. Elle est dotée d'un impact factor de 4.475.

4.1 Objectif de l'étude

Il s'agit de déterminer si une alimentation variée et une supplémentation en zinc, vitamine C, E, béta carotène, mais surtout en folates, avaient un rôle dans la survenue d'aneuploïdie chez des hommes considérés en bonne santé et non fumeurs.

La fragmentation de l'ADN spermatique n'a pas fait l'objet de l'étude.

Afin de répondre à notre problématique, nous présenterons uniquement les résultats qui concernent les folates.

4.2 Matériel et méthode de l'étude

4.2.1 Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, de type cas-témoins.

4.2.2 Facteur étudié

Il s'agit de la consommation de folates, de zinc et autres antioxydants. Afin de répondre au mieux à notre problématique, nous ciblerons les résultats de l'étude uniquement sur les folates.

4.2.3 Critères de jugement

Il s'agit de la présence de spermatozoïdes présentant une aneuploïdie.

4.2.4 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Un tabagisme dans les six mois précédent le début de l'étude.
- Un antécédent de problème de fertilité, une cryptorchidie, une vasectomie.
- Un cancer de la prostate et tout antécédent de chimiothérapie ou de radiothérapie.
- La présence d'une azoospermie découverte lors de l'analyse du sperme.

4.2.5 Critères d'inclusion

Les participants devaient être en bonne santé et âgés de 20 à 70 ans.

4.2.6 Population étudiée

Au final, 89 hommes ont participé à l'étude.

4.2.7 Déroulement de l'étude

La participation était basée sur le volontariat. 97 hommes ont ainsi participé à cette étude. Le protocole de l'étude a été approuvé par le comité d'éthique de l'Université de Californie, Berkeley, et par le « Lawrence Livermore National Laboratory ». Le consentement écrit des volontaires a été obtenu.

Deux questionnaires ont été communiqués aux participants. Le premier visait à connaître leur mode de vie, leurs antécédents médicaux, leurs caractéristiques sociodémographiques. Il était également demandé s'il avait déjà pu concevoir. Le deuxième questionnaire avait pour but d'évaluer leur alimentation et leur éventuelle supplémentation durant l'année précédente à l'étude. Il présentait des items dans le but de cibler leur consommation en vitamines, antioxydants. Les participants ont été contactés par téléphone afin de vérifier l'exactitude et l'exhaustivité. Ces données ont été converties en moyenne journalière et comparées aux références retrouvées sur www.nutritionquest.com. Les participants ont été divisés en trois groupes selon leur consommation en micronutriments antioxydants: faible consommation (<25^{ème} percentile), consommation modérée (25-75^{ème} percentile), forte consommation (>75^{ème} percentile). Le groupe de référence a été déterminé comme celui ayant une faible consommation en ces micronutriments. Un recueil de sperme a été demandé. Les participants ont reçu un protocole à respecter pour la

collecte de leur sperme. Un thermos leur a également été fourni afin que ce dernier ne s'altère pas.

L'aneuploïdie a été identifiée par la FISH. Cinq types d'aneuploïdie ont été recherchés: les disomies du chromosome X, celles du chromosome Y, celles du chromosome 21, l'absence des chromosomes sexuels, et la présence des deux chromosomes XY. La fréquence de celles-ci a été exprimée pour 10 000 spermatozoïdes.

4.3 Résultats

Suite aux analyses du sperme, sept participants ont été exclus car ils présentaient une azoospermie et une personne a également été exclue car elle présentait des résultats non plausibles quant à sa consommation alimentaire quotidienne (<700 calories par jour). Pour chaque décennie, il y avait au minimum 15 hommes. Cependant, huit hommes avaient plus de 70 ans. La médiane d'âge des participants était de 42 ans, celle de la durée de l'abstinence était de quatre jours.

57% des participants étaient consommateurs de compléments vitaminiques et 73% n'ont jamais fumé. La valeur médiane de la consommation quotidienne en folates était de 475 microgrammes.

Des facteurs de confusion ont été analysés tels que le poids, la consommation de thé ou de café, le diabète, et ont ainsi été pris en compte pour les résultats.

Les résultats montrent que les participants étant dans le groupe d'une forte consommation en folates, avaient de 18 à 30% en moins d'aneuploïdies, quel qu'en soit le type.

En effet, bien que statistiquement non significatif, les hommes ayant une forte consommation en folates avaient 18 % en moins de nullisomie pour les chromosomes sexuels par rapport au groupe à consommation modérée ($p=0.12$) et 26% en moins par rapport au groupe à faible consommation ($p=0.04$).

Les résultats montrent également que le groupe à forte consommation de folates, avait environ 30 % en moins de disomies X et disomies 21 par rapport au groupe à consommation modérée ($p=0.04$ et $p=0.003$ respectivement).

De manière générale, l'étude nous montre que consommer suffisamment de folates permet de diminuer de 19 % le risque d'avoir des spermatozoïdes aneuploïdes par rapport à une consommation plus modérée ($p=0.01$) et de diminuer de 20% par rapport à une faible consommation de ces derniers ($p=0.02$).

4.4 Discussion des auteurs

Cette étude est la seule à montrer un lien entre l'impact des micronutriments sur la survenue de cellules gonadiques aneuploïdes. Le rôle protecteur d'une forte consommation en folates sur la survenue de spermatozoïdes aneuploïdes a été mis en avant grâce à cette étude. De plus, ces résultats sont en accords avec des études réalisées in vitro sur des lymphocytes humains. En effet, il était observé une diminution de la fréquence de cellules aneuploïdes lorsque la concentration physiologique en folates augmentait [36] [37].

Plusieurs études « cas-témoins », ont montré qu'un métabolisme anormal des folates, augmentait le risque d'avoir un enfant atteint de trisomie 21. Cependant, d'autres études ne l'ont pas démontré, sans doute du fait d'un échantillon de participants trop faible et des différences ethniques retrouvées entre ces études.

Le rôle que joue le polymorphisme des gènes pour le métabolisme des folates sur la survenue d'aneuploïdies, chez le père n'est, à ce jour, pas connu.

L'explication que donnent les auteurs sur la manière dont les folates interviennent dans la méiose, est basée sur le rôle que jouent ces derniers sur la méthylation de l'ADN. En effet, un déficit par manque d'apport ou par manque d'activité d'un gène entraîne une augmentation de l'incorporation de l'uracile dans l'ADN et son hypométhylation, ce qui augmente la concentration intracellulaire en homocystéine. Cette hypométhylation entraîne l'instabilité de l'ADN et de ce fait, des troubles dans la ségrégation des chromosomes [38].

Les auteurs mettent en avant la méthodologie utilisée afin d'identifier des aneuploïdes, la FISH, qui est une méthode très fiable. Les questionnaires ont également bien été menés afin d'éviter les biais. La population étudiée était ainsi homogène.

Cependant, utiliser un questionnaire afin de classer les participants dans les différentes catégories de consommation de folates, ne reflète peut-être pas la

véritable concentration en folates dans le plasma ou dans le tissu germinale où a lieu la spermatogénèse. Ceci est toutefois difficile à réaliser du fait de la difficulté du prélèvement.

4.5 Analyse critique de l'étude

Cette étude est fréquemment citée dans les références d'articles présentant la carence en folates comme facteur de risque dans la survenue de FCS. Il s'agit de la seule étude mettant en lien la consommation en folates et la formation de spermatozoïdes aneuploïdes.

L'objectif est clairement défini et la structure IMRAD est respectée.

La population étudiée était peu importante (89 participants). Ceci s'explique par le fait d'un choix de nombreux critères d'exclusion. En effet, ils ont permis d'avoir des participants en bonne santé, d'exclure tout risque d'azoospermie, d'altération des spermatozoïdes par d'autres facteurs tels que le tabac, qui entraînent une fragmentation de l'ADN [25]. Ceci évite d'inclure des facteurs de confusion.

Nous pouvons cependant suspecter un léger biais de sélection par rapport aux hommes âgés de plus de 70 ans. En effet, l'âge influe sur la qualité des spermatozoïdes [39].

La durée médiane d'abstinence était de quatre jours ce qui est convenable. Cependant, certains participants présentaient une abstinence de deux jours, ce qui est peu, alors que d'autres présentaient une abstinence de vingt jours ce qui est excessif. Une moyenne de quatre jours d'abstinence est convenable. En effet, l'augmentation de la durée de l'abstinence, altère les spermatozoïdes. Il aurait donc été souhaitable de ne pas inclure ces participants ou du moins, préciser leur nombre.

Le fait de se baser sur la consommation en folates pour classer les participants en trois catégories, ne reflète sans doute pas leur concentration plasmatique, ni celui du tissu spermatique. En effet, notre précédente étude montre que les taux en vitamine B9 et B12 sont plus importants dans le plasma séminale que dans le sang. De plus, elle soulève également le fait qu'il peut y avoir une différence entre les taux dans le plasma séminale et le liquide où a lieu la spermatogénèse. Nous pouvons rajouter que chaque personne possède son propre métabolisme et donc peut absorber de

manière différente les micronutriments. Un biais dans les résultats peut ainsi être suspecté. Cependant, cette méthode de classification est fréquente car peu coûteuse et permet tout de même d'évaluer l'absorption de folates.

Finalement, la conclusion de l'étude est cohérente et répond à l'objectif des auteurs. Néanmoins, ce type d'étude demande à être reproduite avec un échantillon de population plus important et en restreignant l'âge des participants.

Nous pouvons conclure que cette étude nous permet d'établir une association entre une faible consommation en folates, c'est-à-dire inférieure aux recommandations actuelles, et la présence d'aneuploïdie. Toutefois, les valeurs d'apport quotidien recommandées permettent également de diminuer le risque d'aneuploïdie.

DISCUSSION

1. Analyse critique des méthodes et de la validité de notre travail

L'objectif de notre mémoire était de déterminer si une carence en vitamines B6-B9-B12 pouvait être la cause de FCS voire de FCSR, dans un couple.

L'analyse de nos études, nous a permis de conclure quant à l'existence d'une corrélation possible entre FCS et carence en vitamines B. Nos différentes lectures critiques nous ont permis de prendre en compte le partenaire masculin et la qualité de ses gamètes, dans la cause possible de la survenue de ces avortements spontanés.

Par contre, lors de ce travail de recherche, nous nous sommes rendues compte qu'aucune étude ne prenait le couple comme entité, mais étudiait soit la femme, soit l'homme séparément. Ce constat nous permet d'établir notre première critique et fixe une limite à nos résultats.

Une deuxième limite de notre travail peut être le niveau de preuve des études. En effet, il s'agit d'études cas-témoins qui sont d'un faible niveau de preuve scientifique (annexe I). En effet, il est très difficile de réaliser des études prospectives car cela serait trop long et donc trop coûteux et sans savoir si le couple obtiendra ou non un enfant. De plus, le critère de faisabilité paraît difficile à réaliser puisque les carences peuvent évoluer dans le temps, mais surtout il est impossible éthiquement d'induire une carence pour en voir son effet.

Enfin, il aurait été souhaitable que les participants des études ne présentent pas d'autres facteurs de risque de FCS, afin d'éviter les biais de confusion. Cependant, ceci aurait compliqué la faisabilité et diminué d'avantage l'échantillon de population qui est déjà difficile à recruter.

La revue de la littérature nous a permis de constater une association entre des carences en vitamines B et la survenue de FCS. De plus, nos études ont été publiées dans des revues scientifiques dotées d'impact factor non négligeables.

2. Résultats combinés des différentes études

Dans cette seconde partie, nous présenterons et analyserons l'ensemble des résultats observés dans les études précédemment présentées. Nous mettrons en parallèle les données de la littérature afin de confirmer nos résultats et ainsi répondre à notre problématique.

2.1 Quels seraient les mécanismes mis en jeu dans la survenue de FCS suite à une carence en vitamine B dans un couple ?

L. Georges et al., ont montré une association entre une faible concentration en folates et un risque augmenté de FCS [23]. Notre première étude, n'a pu mettre en cause la carence en vitamines du groupe B uniquement dans les résultats non ajustés [22]. Les vitamines B6-B9-B12 sont des cofacteurs dans la synthèse de la méthionine à partir de l'homocystéine. Une carence en celles-ci engendre une hyperhomocystéinémie comme le montre l'étude de Alayne G Ronnenberg et al., que nous avons analysée [22].

- Infarctus placentaires

L'hyperhomocystéinémie est responsable d'un stress oxydatif et a été incriminée dans plusieurs pathologies vasculaires, dont l'infarctus placentaire [40]. En effet, l'excès d'homocystéine provoquerait des lésions des artères ce qui entraînerait une perturbation de la coagulation sanguine. Les cellules artérielles sembleraient également absorber davantage le LDL, c'est-à-dire le mauvais cholestérol. Enfin, l'homocystéine favorise la croissance des muscles lisses, ce qui a pour conséquence d'entraîner une sténose des artères et ainsi, favoriser la formation de caillots sanguins [41].

C'est ainsi, que ces mécanismes semblent affecter les vaisseaux du placenta réduisant ainsi le débit sanguin, ce qui aurait comme conséquence, d'entraîner la mort du tissu, c'est-à-dire un infarctus placentaire. Cependant, les mécanismes pathogènes demeurent à ce jour encore mal connus. Nous pouvons également noter que la vitamine B6 a fait, à elle seule, l'objet d'études qui ont lié sa carence à des lésions des vaisseaux artériels [26].

La placentation mettant en jeu tout un réseau d'artérioles, nous pouvons mettre en association, une hyperhomocystéinémie, voire une carence en vitamine B6, et un trouble du développement précoce du placenta pouvant entraîner une FCS.

- Réponse inflammatoire

Plusieurs études montrent un lien entre un statut faible en vitamine B6 et une réponse inflammatoire [27], [42]. En effet, un taux bas en vitamine B6 semble être corrélé avec un taux élevé de la protéine C-réactive (CRP). Des études tendent à montrer par extension qu'une hyperhomocystéinémie est corrélée avec une CRP élevée [42]. Cet état inflammatoire a par ailleurs été incriminé dans la survenue de FCS, en altérant les cellules endothéliales ce qui entraîne l'altération des structures fœto-maternelles [43].

- Anomalies génétiques

Le bilan étiologique des FCS révèle, comme nous l'avons souligné au début de ce mémoire, une anomalie chromosomique dans la moitié des cas. Il peut alors s'agir d'une anomalie de structure telle que les translocations qui représentent par ailleurs 8% des causes de FCSR [39], ou d'une anomalie de nombre. Une hyperhomocystéinémie entraîne comme nous l'avons vu précédemment, un défaut de méthylation de l'ADN, ce qui compromet sa synthèse, sa réparation, sa stabilité ainsi que l'expression des gènes. L'embryon, mais également le placenta, héritant tous les deux de la moitié de la part génétique du père, il est concevable que le père ait sa part de responsabilité dans la survenue de fausses-couches et qu'il doit, de ce fait, être pris en charge autant que la mère, pour une recherche d'une éventuelle carence en vitamines B. De plus, certains auteurs parlent de pères « abortigènes ». En effet, plusieurs études montrent que la qualité du sperme (spermatozoïdes et plasma séminal) a une grande importance dans le développement de l'embryon [36] [37].

Bien que les résultats demandent à être confirmés par d'autres études, l'étude de Booxmer et al. [24], nous a permis de supposer une association entre une faible concentration séminale en folates et un taux de fragmentation de l'ADN élevé. L'étude de S.S Young [25] et al. est en faveur, quant à elle, d'une corrélation entre une carence en folates et un taux augmenté de spermatozoïdes aneuploïdes. En

effet, les résultats montrent que consommer une forte quantité de folates diminue de 26 % le risque de présenter une nullisomie et de 30 % le risque de disomie du chromosome X et 21. Si nous prenons par exemple le syndrome de Turner, qui correspond à la présence d'un seul chromosome X, celui-ci entraîne une perte fœtale dans plus de 95% des cas [44].

Nous pouvons imaginer que de telles lésions se trouvent également dans l'ADN des ovocytes si la mère est carencée en folates, ou présente une hyperhomocystéinémie. Bien évidemment, il n'est pas possible, pour des raisons éthiques, de réaliser de telles études chez les femmes. Toutefois, comme nous l'avons vu précédemment, l'étude de L. Georges et al. a tenté, en vain, de mettre en association une carence en folates et un risque augmenté de présenter un fœtus avec un caryotype anormal, mais les résultats ne l'ont pas permis.

L'étude de Boxmeer et al., met en avant une différence entre les concentrations sanguines et séminales en vitamine B et en homocystéine [24]. La concentration en vitamines B12 et en folates est plus élevée dans le plasma séminal que dans le sang. Des résultats inverses sont retrouvés pour la vitamine B6 et l'homocystéine. Les auteurs émettent l'hypothèse de l'existence de protéines de liaison favorisant le passage hémato-testiculaire pour les vitamines B9 et B12. Ces données semblent intéressantes à approfondir. En effet, elles nous amènent à penser qu'il serait judicieux de rechercher les différentes concentrations en vitamines B dans le plasma séminal, plutôt que dans le sang, afin d'avoir des résultats plus précis concernant l'environnement des spermatozoïdes. Néanmoins, nous pouvons également nous demander ce qu'apporterait la confirmation de l'existence de ces protéines de liaisons. Quelles solutions pourrions-nous apporter à un patient présentant de faibles concentrations en vitamines B dans le plasma séminal, dues à un polymorphisme du gène codant pour ces protéines ? Nous pouvons également rajouter la notion de coût et pénibilité pour le patient, qui sont plus élevés pour le dosage séminal que pour le dosage sanguin. De plus, les auteurs soulignent la différence possible entre le liquide où a lieu la spermatogénèse et le plasma séminal. Finalement, nous pouvons avancer le fait que le dosage sanguin reste suffisant puisqu'il permet tout de même d'être orienté quant à l'existence d'un taux faible en vitamines B dans le plasma séminal.

Des études ont mis en association une carence en folates et une diminution réduite du processus de méthylation différentielle (aussi appelé empreinte) qui doit être maintenu dans l'embryon préimplantatoire. Ce défaut d'empreinte par carence en folates pourrait être impliqué dans la survenue de FCS [45]. Aux vues de nos connaissances, nous pouvons nous demander si la carence en vitamine B9 est directement liée à ces résultats ou si cela est dû à l'hyperhomocystéinémie qu'elle génère.

Après l'implantation, les gènes codant pour l'ectoderme et le mésoderme de l'embryon sont hyperméthylés [46]. L'ADN hypométhylé est plus fragile, voir empêche la division cellulaire. Ceci entraîne également l'apparition de malformations, la plus connue étant le spina bifida [6]. Cependant, nous pouvons imaginer que d'autres malformations sont certainement dues à une carence en vitamines B. De ce fait, la croissance de l'embryon est largement compromise par une carence en ces dernières.

- Autres

L'hyperhomocystéinémie a également été incriminée dans la diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote, puissant vasodilatateurs, ainsi que dans la production d'espèces oxydatives [46]. De ce fait, l'hyperhomocystéinémie semble être à la base de dysfonctionnements dans la vascularisation du placenta.

2.2 Faut-il inclure la recherche du polymorphisme du gène codant pour la MTHFR dans le bilan d'étiologie des FCSR ?

Une hyperhomocystéinémie peut être le résultat d'un polymorphisme engendrant une diminution de l'activité de la MTHFR. Dans la discussion de l'étude de J. C. Boxmeer et al. [24], les auteurs rappellent que 5% des patients présentaient une hyperhomocystéinémie. Ils émettent l'hypothèse que cela peut provenir d'une carence mais également de la présence du polymorphisme C677T de MTHFR. Certains de ces auteurs ont, par ailleurs, déjà mené une étude cherchant à savoir si ce polymorphisme interférait dans les résultats d'une supplémentation en acide folique, en se basant sur la concentration spermatique. Ceci en comparant des hommes fertiles et infertiles. Les résultats de l'étude n'ont pas permis d'incriminer ce polymorphisme comme facteur de risque d'infertilité. Toutefois, les auteurs ont pu

constater que la concentration spermatique augmentait d'avantage chez les patients ne présentant pas le polymorphisme [14].

Nous pouvons nous questionner si, en présence d'une hyperhomocystéinémie et d'un régime alimentaire équilibré, une recherche d'un polymorphisme de la MTHFR est justifiée. De plus, d'après nos recherches, nous avons pu constater que l'implication des différents polymorphismes de cette enzyme dans la survenue de FCS a fait l'objet d'études aux résultats contradictoires. En effet, certaines études incriminent le polymorphisme 677T dans la survenue de pertes fœtales [47] [48]. Une étude a montré qu'à consommation équivalente en folates ou en vitamine B6, les femmes présentant le génotype 677TT, ont un risque augmenté de faire une FCS [49]. D'autres études, plus nombreuses ont, quant à elles, réfuté le lien entre ce polymorphisme et FCS. Une méta-analyse parue dans la revue scientifique Lancet en 2003, a conclu que le fait d'être porteuse de ce génotypique, n'a pas d'impact sur le risque de faire des FCS [50]. Cependant, il serait souhaitable qu'une mise au point plus récente des derniers résultats, soit faite.

Cependant d'autres pistes sont étudiées, mettant en corrélation le génotype maternel de MTHFR et celui du fœtus. En effet, il a été montré que la présence d'un allèle muté, sur les deux loci MTHFR 677 et 1298, augmentait le risque de FCS par quatorze [51]. Un effet potentialisateur des génotypes maternels et fœtaux pourrait ainsi avoir lieu. Ceci a, par ailleurs, déjà été mis en avant pour le risque d'anomalie de fermeture du tube neural [52].

Une autre hypothèse est que d'autres polymorphismes modèrent celui de la MTHFR. C'est le cas par exemple, du gène codant pour la transcobalamine, une protéine de liaison de la vitamine B12. Sa mutation entraîne un taux circulant amoindri en transcobalamine ainsi qu'une homocystéinémie augmentée. Une série de fœtus ayant fait l'objet de FCS avant douze semaines de grossesse, a montré la présence concomitante d'un génotype muté pour MTHFR, mais également pour le gène de la transcobalamine, ce qui majorait le risque de FCSR [53].

Ces résultats nous amènent à conclure qu'il n'est pas forcément nécessaire d'inclure la recherche du génotype de la MTHFR dans le cadre du bilan étiologique des FCSR. En effet, à elle seule, elle n'a pas de valeur prédictive. De plus, comme nous venons de le voir, les études tendent en faveur d'une corrélation entre le génotype

maternel et fœtal. Nous pouvons également, grâce à nos constats, supposer que le génotype paternel est à prendre en compte. Ceci relève donc d'une trop grande complexité. De plus, quelle serait la prise en charge en cas de découverte d'un polymorphisme de MTHFR ? S'orienter plus rapidement vers une fécondation in vitro ?

En conclusion, il conviendrait d'effectuer un interrogatoire complet des habitudes alimentaires, ce qui permettrait de mettre en évidence une carence en vitamines B dans le couple. En cas de doute, le dosage de l'homocystéinémie semble avoir toute sa place dans le bilan d'étiologie de FCSR.

Nous avons souhaité faire un petit état des lieux, quant à la prescription de ces examens dans le cadre du bilan de FCSR, dans différents centres hospitaliers. Ci-dessous, les résultats des centres ayant répondu à notre question. Les réponses sont présentées sous la forme suivante: dosage de l'homocystéinémie/recherche du polymorphisme de MTHFR.

- Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical (CMCO) à Schiltigheim : Oui / Non
- Centre hospitalier de Mulhouse-Hasenrain : Oui / Non
- CHU de Besançon : Oui / sur justificatif
- CHU Caen : Oui / résultats non transmis
- CHU Nantes : Non / Non

2.3 Comment la sage-femme peut-elle jouer un rôle préventif quant à la carence en vitamines B ?

Idéalement, il conviendrait de faire le point quant aux habitudes alimentaires du couple, en amont de la grossesse. Cela, dans le but de rétablir tout déséquilibre alimentaire pouvant suggérer des carences, notamment en vitamines B et ainsi limiter le risque de FCS qui en découlerait. L'INPES indique que plus de trois quarts des femmes en âge de procréer, ont une consommation quotidienne en folates inférieure aux recommandations. Elle indique également que 7% de ces femmes, sont à risque de présenter un taux en folates inférieur à 3ng/ml [54]. Depuis janvier 2010, le Référentiel Métier et Compétences des Sages-Femmes, place les sages-femmes au cœur de la prévention [55]. En effet, il lui est maintenant conféré le droit

de pratiquer des consultations gynécologiques de prévention. Ces consultations sont des moments permettant d'évaluer différents facteurs de risques, notamment ceux liés à l'alimentation et permettant ainsi, d'introduire une éducation à la santé. De ce fait, en abordant, en évaluant l'alimentation, cela permettrait d'agir en amont d'une future grossesse. L'entretien prénatal précoce, instauré en 2007 et mesure centrale du Plan Périnatalité 2005-2007, a également placé la sage-femme au cœur de la prévention. Cet entretien doit être proposé idéalement lors de la première consultation de grossesse. Il a pour objectifs principaux d'évaluer la santé globale de la patiente, repérer ses besoins spécifiques ainsi que ses demandes, repérer les facteurs et comportements à risques. Ainsi, l'HAS introduit clairement dans ses objectifs, la notion d'hygiène alimentaire et de nutrition [56].

Ces consultations préventives sont en concordances avec le PNNS qui rappelons-le, a pour but d'améliorer la santé de la population en agissant sur un de ses déterminant majeur, la nutrition. L'amélioration du statut en folates chez les femmes en âge de procréer, fait d'ailleurs partie de ses objectifs [2]. Des guides d'informations, de conseils alimentaires ont, par ailleurs, été réalisés, mais une diffusion plus large serait souhaitable. De plus, nous pouvons constater la rareté de spots publicitaires, d'affiches, à but de sensibilisation quant aux bénéfices des consultations préventives ou entretiens prénataux.

A défaut de consultations en amont de la grossesse, le suivi de grossesse reste un moment privilégié pour réaliser un bilan nutritionnel et évaluer les besoins de la patiente, du couple et ceci le plus précocement possible. La sage-femme a une place et un rôle importants à jouer dans cette prévention.

Nous allons proposer une série de questions permettant de cibler la qualité, le type d'aliments mais aussi la fréquence de leur consommation.

Afin de s'assurer que l'alimentation est suffisamment riche en vitamines B, des questions simples suffisent : « Mangez-vous des légumes verts à feuilles ? » A quelle fréquence ? », « Consommez-vous des légumineuses ? », « Combien de fois par jour mangez-vous de la viande ? », « Combien de fois par semaine mangez-vous du poisson, type saumon, maquereau ? », « Consommez-vous des céréales complètes ? ».

L'alimentation semble apporter une quantité suffisante de vitamines B, si des

légumes verts à feuille sont consommés plusieurs fois par semaine. Les protéines doivent, quant à elles, être présentes à chaque repas.

Il est également bon de conseiller de consommer régulièrement des légumineuses (lentilles, pois chiches) et de privilégier les céréales complètes.

L'aliment le plus riche en vitamines B est la levure de bière. Elle arrive en première position pour sa teneur en vitamine B9 et B6 (Annexe II). Si l'interrogatoire met en évidence un apport insuffisant en vitamines B, un conseil simple pouvant être donné, est de saupoudrer l'équivalent d'une cuillère à café de levure sa salade par exemple. Ceci peut tout à fait remplacer un complément alimentaire.

Bien que notre mémoire ait ciblé l'impact d'une carence en vitamines B sur le maintien d'une grossesse, d'autres carences peuvent également entraîner la survenue de FCS. C'est, par exemple, le cas de tous les antioxydants (vitamines A, C, E, le zinc et le sélénium). En effet, ces derniers sont également impliqués dans la gamétogénèse et le développement embryonnaire. Tout stress oxydatif est néfaste pour la survie cellulaire et peut ainsi entraîner la survenue de FCS voire FCSR, comme le montrent certaines études [57] [58].

Ainsi, s'informer des habitudes alimentaires du couple et expliquer ce qu'est une alimentation saine et variée, permettrait de limiter toutes carences qui pourraient compromettre l'évolution favorable de la grossesse. L'idéal étant un état des lieux en amont d'une grossesse.

2.4 La supplémentation est-elle nécessaire ?

Une supplémentation en acide folique est déjà recommandée dans le cadre de la prévention de la survenue d'une malformation du système nerveux central. Il s'agit d'une prise quotidienne de 0.4mg d'acide folique jusqu'à 12 semaines d'aménorrhées et débutée au moins quatre semaines avant la conception [54]. Cependant, pour les raisons évoquées auparavant, cette recommandation est rarement suivie. L'INPES indique que 40.3% des femmes enceintes ont bénéficié de cette supplémentation mais, plus de la moitié, l'ont débutée trop tardivement. Elle précise également qu'une alimentation conforme aux recommandations du PNNS suffirait à couvrir les besoins. Cependant, il n'est pas toujours évident de s'assurer que le couple pris en charge suivra les conseils diététiques donnés et ce, pour

plusieurs raisons. En effet, il n'est pas évident de changer des habitudes alimentaires mises en place depuis un certain temps. De plus, nous avons tous des aliments que nous n'affectionnons pas et l'état de grossesse ne favorise pas l'introduction de ces aliments (nausées, vomissements, dégoûts...). Le manque de temps pour cuisiner ou des raisons économiques sont également parfois évoqués. Dans ces cas là, une supplémentation semble être une bonne alternative. Face à ces constats, l'INPES recommande aux professionnels de santé suivant les femmes en âge de procréer, une supplémentation systématique en acide folique [54].

Certaines études montrent qu'une supplémentation en vitamines B permet une réduction significative du risque de fausse-couche. En effet, des petites séries ont montré la survenue de grossesses évolutives suite à une supplémentation en vitamines B, dans le cadre de patientes souffrant de FCSR [59] [60]. Certains pays, notamment les États-Unis, ont fait le choix d'enrichir certains aliments en folates comme nous l'apprend l'étude de Georges et al [23]. Cette pratique suggère à se demander si l'excès de folates qu'elle peut entraîner, n'est pas tout aussi délétère pour l'évolution de la grossesse qu'une carence. C'est ce qu'a souhaité étudier les auteurs. Finalement, les résultats de l'étude n'ont pas permis de mettre en lien une augmentation du risque de FCS et un taux excessif en folates.

Néanmoins, des données récentes soulèvent les risques liés à un excès vitaminique, qui semble être délétère pour la descendance. En effet, Pickell et al., ont montré des effets délétères d'une supplémentation d'acide folique sur le fœtus : anomalie du tube neural et anomalie du développement cardiaque [33]. D'autres auteurs ont aussi montré, chez l'animal, une augmentation significative du risque d'adénocarcinomes mammaires, des adénocarcinomes plus précoces et multiples chez les petits de mères supplémentées en folates [61]. Cette étude comparait un groupe de rates gestantes qui bénéficiaient d'un régime alimentaire apportant 2mg d'acides aminés et un deuxième groupe dans lequel les rates étaient supplémentées en acide folique à hauteur de 5 mg, ceci avant l'accouplement, puis pendant la période de gestation et de lactation. Les résultats de l'étude montrent, de manière statistiquement significatif, que la supplémentation en acide folique avait accéléré la survenue d'adénocarcinomes mammaires chez la descendance et cela de manière significative ($p=0.002$). Elle augmente également la multiplicité des ces tumeurs ($p=0.008$). Enfin, la supplémentation en acide folique des femmes enceintes serait

reliée une diminution du poids de naissance, et à une augmentation du risque des maladies chroniques de l'enfant par altération de la méthylation de l'ADN [62].

Bien que des études similaires demandent à être reproduites à une plus grande échelle et qu'elles aient été menées sur des animaux, ces études soulèvent des interrogations et nous amènent à réfléchir quant à une utilisation plus prudente et plus ciblée des compléments alimentaires. Idéalement, il serait également souhaitable qu'en cas de diagnostic d'adénocarcinome mammaire, voire d'une autre tumeur, chez un patient jeune, que la recherche d'une supplémentation en acide folique soit documentée.

Ces données nous amènent à conclure, que l'excès peut être tout aussi délétère que la carence. La décision de supplémenter doit s'appuyer sur plusieurs arguments et ne devrait plus se faire de manière systématique, mais répondre à un besoin individuel, adapté à la personne prise en charge. De plus, la supplémentation en acide folique peut être nécessaire en cas d'hyperhomocystéinémie avérée et ce, jusqu'à sa normalisation. Une association de plusieurs vitamines B peut également être possible, mais rappelons que les réserves en vitamines B12 sont plus importantes et de ce fait, débiter par de l'acide folique seul semble justifié.

CONCLUSION

Le métabolisme des vitamines du groupe B est complexe. Leur rôle primordial dans le maintien de l'intégrité de l'ADN n'est plus à prouver.

Les résultats de nos études indiquent une association entre carence en vitamines B, plus précisément, les vitamines B6-B9 et B12 et la survenue de FCS. Ces résultats sont en concordance avec les données récentes sur l'implication d'une hyperhomocystéinémie, résultat de leur carence, sur la survenue de pathologies vasculaires. En effet, elle entraîne une altération du réseau vasculaire et favorise la survenue de caillots sanguins, ce qui a pour conséquence un risque majoré de faire un infarctus placentaire.

La part génétique des FCS est importante. Là encore, les vitamines B et l'homocystéine jouent un rôle important. Comme le montrent nos études, leur carence est impliquée dans l'altération de l'ADN spermatique ou la formation de spermatozoïdes aneuploïdes. Ces résultats amènent à soumettre l'hypothèse de l'existence de lésions identiques dans l'ADN ovocytaire. Tout ceci peut entraîner la fusion de gamètes présentant des anomalies chromosomiques, d'ordre qualitatif ou quantitatif, entraînant ainsi la formation d'un embryon qui sera dans la plus part des cas, non viable. Ainsi, une FCS en résultera.

De tels résultats ont permis de mettre en exergue la part masculine dans la survenue de FCS.

La recherche d'une carence en vitamines B doit se faire dans un premier temps par un interrogatoire visant à connaître les habitudes alimentaires du couple. Plus largement, cet interrogatoire permet de mettre en évidence un éventuel déséquilibre nutritionnel pouvant entraîner une carence en antioxydants, dont les folates en font partie. Ces derniers sont également impliqués dans la survenue de FCS. Le dosage de l'homocystéine peut être fait, dans un deuxième temps, en cas de doute à l'interrogatoire et a toute sa place dans le bilan d'étiologie des FCSR chez le couple. Cependant, il ne fait pas encore partie du bilan dans tous les centres hospitaliers. La recherche du polymorphisme de MTHFR, a quant à elle, fait l'objet de résultats contradictoires. Les dernières mises au point ayant conclu à une absence d'association avec un risque augmenté de faire des FCS, et à l'existence d'une interaction avec le génome embryonnaire, sa recherche ne semble pas justifiée.

Idéalement, ces désordres alimentaires doivent être détectés et pris en charge dès le souhait de grossesse. Les consultations gynécologiques de prévention, ainsi que

l'entretien prénatal précoce, sont des nouvelles compétences attribuées aux sages-femmes, leurs permettant d'être des acteurs clés dans la prévention. Cependant, nous l'avons vu, peu de femmes, de couples, consultent dès leur souhait de grossesse. Le PNNS ayant comme objectif de sensibiliser la population à la nécessité d'avoir une alimentation équilibrée, il semblerait intéressant d'utiliser comme stratégie, la sensibilisation de la population quant à l'importance de ces consultations préventives.

La prescription de suppléments alimentaires est chose courante, particulièrement au cours de la grossesse. Les recommandations actuelles sont la supplémentation en acide folique systématique chez toutes les femmes ayant un désir de grossesse. Ces recommandations sont faites, alors même que L'INPES reconnaît qu'une alimentation équilibrée, comme l'indique le PNNS, suffirait à satisfaire les besoins en vitamines B. De telles pratiques peuvent conduire à un excès vitaminique. Bien que l'excès en folates ne semble pas délétère pour l'évolution même de la grossesse, des études tendent vers son implication dans la survenue d'adénocarcinomes mammaires précoces dans la descendance. La supplémentation doit de ce fait, répondre à un besoin ciblé, individuel.

Ainsi, nous espérons que dans un avenir proche, d'autres études compléteront ces dernières données et que l'alimentation sera prise en compte comme facteur de risque reconnu dans la survenue de FCS. Ceci a toute son importance puisqu'il s'agit d'un facteur modulable. De plus, des études récentes mettent en avant les conséquences d'une « malnutrition fœtale », liée directement à celle de la mère, sur ses gamètes et sa fertilité future [63].

RÉFÉRENCES

- [1] Benammar A, Sermondade N, Faure C, et al. Nutrition et fausses couches spontanées : une revue de la littérature. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 2012 ;40 :162-169.
- [2] Programme National Nutrition Santé.
Manger Bouger [consulté le 28/12/2012].
Disponible à partir de : URL : <<http://www.mangerbouger.fr/pnns/le-pnns-c-est-quoi.html>>.
- [3] Donnadiou A, Pasquier M, Meynant C, et al. Nutrition et infertilité féminine. Cahiers de nutrition et de diététique 2009 ; 44 :33-41.
- [4] Lejeune V. Fausses-couches spontanées répétées : bilan étiologique et prise en charge des grossesses ultérieures. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction 2010 ;39 :11-16
- [5] Pathak R, Mustafa M, Ahmed RS, Tripathi AK, et al. Association between recurrent miscarriages and organochlorine pesticide levels. Clin Biochem. 2010; 43:131-135.
- [6] Institut National Pour l'Education à la Santé.
Notre corps à faim de santé
Programme National Nutrition et Santé [consulté le 28/12/2012]
Disponible à partir de : URL :
<<http://www.inpes.sante.fr/70000/dp/04/dp041209.pdf>>
- [7] Levene C.I., Murray J.C. The aetiological role of maternal vitamin-B6 deficiency in the development of atherosclerosis. Lancet 1977
- [8] Andrès E, Noël E, Sclienger J-L. Carences en vitamine B12 chez l'adulte : de l'étude du métabolisme à la clinique. Cahiers de Nutrition et de Diététique 2003 ; 38 :323-328

- [9] Pront R, Margalioth EJ, Green R, Eldar-Geva T, et al. Prevalence of low serum cobalamin in infertile couples. *Elstein Dandrologia*. 2009; 41:46-50.
- [10] Boxmeer JC, Smit M, Weber RF, et al. Seminal plasma cobalamin significantly correlates with sperm concentration in men undergoing IVF or ICSI procedures. *J Androl*. 2007 ;28:521-527.
- [11] Molloy AM, Kirke PN, Troendle JF, et al. Maternal Vitamin B12 status and risk of neural tube defects in a population with high neural tube defect prevalence and no folic Acid fortification. *Pediatrics* 2009 ;123 :917-923.
- [12] Forges T, Pellanda H, Diligent C, et al. Les folates : quel impact sur la fertilité? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2008 ; 36 :930-939.
- [13] Tamura T, Picciano MF. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83:993-1016.
- [14] Ebisch IM, van Heerde WL, Thomas CM, van der Put N, Wong WY, Steegers-Theunissen. C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism interferes with the effects of folic acid and zinc sulfate on sperm concentration. *Fertil Steril*. 2003; 80:1190-1194.
- [15] Eskenazi B, Kidd SA, Marks AR, Slotter E, Block G, Wyrobek AJ. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Hum Reprod*. 2005; 20:1006-1012.
- [16] Haggarty P, McCallum H, McBain H, Andrews K, Duthie S, McNeill G, et al. Effect of B vitamins and genetics on success of in-vitro fertilisation: prospective cohort study. *Lancet* 2006 ; 367:1513-1519.
- [17] Ueland PM, Bjorke Monsen AL. Total homocysteine is making its way into pediatric laboratory diagnostics. *Eur J Clin Invest*. 2001; 31:928-30.

- [18] Willianne LD, Blom HJ, Steegers E, et al. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertility and Sterility* 2000; 74
- [19] Ebisch IM, Peters WH, Thomas CM, Wetzels AM, Peer PG, Steegers-Theunissen RP. Homocysteine, glutathione and related thiols affect fertility parameters in the (sub)fertile couple. *Hum Reprod.* 2006; 21:1725-1733.
- [20] Sikora J, Magnucki J, Zietek J, et al. Homocysteine, folic acid and vitamin B12 concentration in patients with recurrent miscarriages. *Neuro Endocrinol Lett.* 2007; 28:507-512.
- [21] Faure C, Lévy R. Le temps de la supplémentation sauvage est fini. *Profession Sage-Femme* 2011; 174 :14-15.
- [22] Ronnenberg AG, Venners, SA, Xu X, et al. Preconception B-vitamin and homocysteine status, conception, and early pregnancy loss. *American Journal of Epidemiology* 2007; 166.
- [23] George L, Mills JL, Johansson ALV, et al. Plasma folate levels and risk of spontaneous abortion. *Journal of the American Medical Association* en 2002; 288.
- [24] Boxmeer JC, Smit M, Utomo E, et al. Low folate in seminal plasma is associated with increased sperm DNA damage. *Fertility and Sterility.*
- [25] Young SS, Eskenazi B, Marchetti FM, et al. The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy non-smoking men. *Human Reproduction* 2008; 23:1014-1022.
- [26] Levene C.I., Murray J.C. The aetiological role of maternal vitamin-B6 deficiency in the development of atherosclerosis. *Lancet* 1977; 1:628-630
- [27] Kelly PJ, Kistler JP, et al. Inflammation, homocystéine, and vitamine B6 status after ischemic stroke. *Stroke* 2004; 35:12-15.

- [28] Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertility and Sterility* 1993; 60:820-825.
- [29] Saibeni S, Cattaneo M, Vecchi M, et al. Low vitamin-B6 plasma levels, a risk factor for thrombosis, in inflammatory bowel disease: role of inflammation and correlation with acute phase reactants. *American Journal of Gastroenterology* 2003; 98:112-117.
- [30] Maconochie N, Doyle P, Prior S, Simmons R. Risk factors for first trimester miscarriage-results from a UK-population-based case-control study. *BJOG*. 2007; 114:170-186.
- [31] Ray JG, Laskin CA . Folic acid and homocystéine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: a symmetric review” *Placenta* 1999.
- [32] J. Byrne, D. Warburton et al. Neural tube defects in spontaneous abortion. *AM J Med Genet* 1986; 25:327-333.
- [33] Pickell L, Brown K, Li D, et al. High intake of folic acid disrupts embryonic development in mice. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011; 91:8-19.
- [34] Gil-Villa AM, Cardona-Maya W, Agarwal A, Sharma R, Cadavid A. Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect? *Fertil Steril*. 2009; 92:565-571.
- [35] Cebesoy FB, Aydos K, Unlu C. Effect of sperm chromatin damage on fertilization ratio and embryo quality post-ICSI. *Androl*. 2006; 52:397-402.
- [36] Beetsra S, Thomas P, C Salisbury et al. Folic acid deficiency increases chromosomal instability, chromosome 21 aneuploidy and sensitivity to radiation-induced micronuclei *Mutat Res* 2005; 578:317-326.

- [37] Wang X, Thomas P, Xue J, Fenech M, “ Folate deficiency induces aneuploidy in human lymphocytes in vitro evidence using cytokinesis-blocked cells and probes specific for chromosomes 17 and 21. *Mutat Res* 2004; 551:167-180.
- [38] Gisselsson D, Shao C, Tuck-Muller CM et al., « Interphase chromosomal abnormalities and mitotic missegregation of hypomethylated sequences in ICF syndrome cells. *Chromosoma* 2005; 114:118-126.
- [39] Puschek E. and Jeyendran R.S. “The impact of male factor on recurrent pregnancy loss”. *Current Opinion In Obstetrics and Gynecology* 2007; 17: 222-228.
- [40] Steegers-Theunissen R.P., Boers G.H., Blom H.J., Trijbels F.J., Eskes T.K. Hyperhomocysteinaemia and recurrent spontaneous abortion or abruptio placentae *Lancet* 1992
- [41] Fondation des Maladies du cœur du Canada
L’homocystéine et les maladies cardiovasculaires [consulté le 14/01/2013].
Disponible à partir de : URL :
<http://www.ccs.ca/download/FR_HOMOCYSTEINE.pdf>.
- [42] Chiang Ep, Bagley PJ, et al. Abnormal vitamin B6 status is associated with severity of symptoms in patients with rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2003.
- [43] Thellin O., Heinen E. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection *Toxicology* 2003.
- [44] Hôpital Necker Paris.
Le syndrome de Turner. Auteur : Docteur Nicole Morichon-Delvallez [consulté le 21/01/2013].
Disponible à partir de : URL :
<<https://www.orpha.net/data/patho/FR/fr-turner.pdf>>

- [45] Haggarty P, Hoad G, Campbell DM, et al. Folate in pregnancy and imprinted gene and repeat element methylation in the offspring^{1–3}. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:94–99.
- [46] Cetin I., Berti C. and Calabrese S. Role of micronutrients in the periconceptional period. *Human Reproduction Update*, Vol. 16, No.180-95, 2010.
- [47] Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet*. 1997;
- [48] Kumar KS, Govindaiah V, Naushad SE, Devi RR, Jyothy A. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Journal Obstetric and Gynaecology* 2003.
- [49] Rodriguez-Guillen Mdel R., Torres-Sanchez L., Chen J., Galvan-Portillo M., Blanco-Munoz J., Anaya MA, et al. Maternal MTHFR polymorphisms and risk of spontaneous abortion *Salud Publica Mex* 2009.
- [50] Rey E, Kahn SR, David M, et al. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis *Lancet* 2003; 361:901-908.
- [51] Zetterberg H., Regland B., Palmer M., Ricksten A., Palmqvist L., Rymo L., et al. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos. *Eur J Hum Genet* 2002.
- [52] Christensen B., Arbour L., Tran P., Leclerc D., Sabbaghian N., Platt R., et al. Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects *American Journal Medical Genetic* 1999.

- [53] Zetterberg H., Zafiroopoulos A., Spandidos D.A., Rymo L., Blennow K. Gene-gene interaction between fetal MTHFR 677C>T and transcobalamin 776C>G polymorphisms in human spontaneous abortion Human Reproduction 2003.
- [54] Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé. Folates et désir de grossesse : informer et prescrire au bon moment. [consulté le 31/01/2013]. Disponible à partir de :
URL :<<http://www.inpes.sante.fr/professionnels-sante/pdf/folates-grossesses.pdf>>.
- [55] Ordre des sages-femmes. Conseil national. Référentiel Métier et Compétences des Sages-Femmes. [consulté le 01/02/2013].
Disponible à partir de : URL :
<http://www.ordre-sages-femmes.fr/NET/img/upload/1/666_REFERENTIELSAGES-FEMMES2010.pdf>.
- [56] Haute Autorité de Santé. Préparation à la naissance et à la parentalité, novembre 2005. [consulté le 02/02/2013].
Disponible à partir de : URL :
<http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/preparation_naissance_recos.pdf>.
- [57] Jauniaux E., Watson AL, Hempstock J, Bao YP, Skepper JN, Burton G.J. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. American Journal Pathology 2000.
- [58] Simsek M, Naziroglu M, Simsek H, Cay M, Aksakal M, Kumru S. Blood plasma levels of lipoperoxides, glutathione peroxidase, beta carotene, vitamin A and E in women with habitual abortion. Cell Biochem Funct 1998.

- [59] Quere I, Mercier E, Bellet H, Janbon C, Mares P, Gris JC. Vitamin supplementation and pregnancy outcome in women with recurrent early pregnancy loss and hyperhomocystéinémie. *Fertil Steril* 2001.
- [60] Quere I, Bellet H., Hoffet M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 1998.
- [61] Ly A, Lee H, Chen J, et al. Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on mammary tumor risk in the offspring. *Cancer Res* 2011; 71:988-997.
- [62] Steegers-Theunissen RP, Obermann-Borst SA, et al. Periconceptional maternal folic acid use of 400 microg per day is related to increased methylation of the IGF2 gene in the very young child. *Plos One* 2009; 16.
- [63] Chavatte-Palmer P, Gubory KA, Picone O, et al. Nutrition Maternelle: incidence sur la fertilité de la descendance et importance de la période périconceptionnelle pour le long terme. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2008.

ANNEXES I

**Niveau de preuve des études et gradation des
recommandations**

(ANAES/HAS)

Niveau de preuve des études et gradation des recommandations (ANAES/HAS)

Niveau de preuve des études

Grade des recommandations

Niveau 1

- Essais comparatifs randomisés de forte puissance
- Méta-analyse d'essais comparatifs randomisés
- Analyse de décision basée sur des études bien menées

A

Preuve scientifique établie

Niveau 2

- Essais comparatifs randomisés de faible puissance
- Etudes comparatives non randomisées bien menées
- Etudes de cohorte

B

Présomption scientifique

Niveau 3

- Etudes cas-témoin

C

Faible niveau de preuve scientifique

Niveau 4

- Etudes comparatives comportant des biais importants
- Etudes rétrospectives
- Séries de cas
- Etudes épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale)

Source : Faculté de Médecine de Strasbourg.
Guide de lecture d'un article médical original (LCA) Septembre 2011 (consulté le 10/11/2012)

Disponible à partir de : URL : http://www-ulpmed.u-strasbg.fr/medecine/enseignements_ formations/enseignements_diplomes/cur sus_diplome_docteur_en_medecine/2eme_cycle/dcem_1/pdf/lecture_critique_art_medical_original.pdf

Annexe II :
Aliments riches en vitamines B
et
Recommandations journalières

Vitamine B9 :

Recommandations journalières :

-pour les adultes : 0.2 à 0.4mg/jour

-pour les femmes enceintes : 0.6 à 0.8 mg/jour

Aliments riches en B9	Teneur en vitamine B9
Levure (100g)	3900 µg
Foie gras (100g)	600 µg
Foie de poulet cuit (100g)	560 µg
Foie de bœuf cuit (100g)	260 µg
Haricots secs (100g)	250 µg
Epinards (100g)	190 µg
Asperges (4)	90 µg
Laitue (1)	80 µg
Céréales complètes type weetabix (2portions)	65 µg
Noix (30g)	60 µg
Brie (30g)	45 µg
Flocons d'avoine (30g)	18 µg

Vitamines B6 :

Recommandation journalières

-pour les adultes 2mg/jour

-pour les femmes enceintes 2.5 à 10 mg/jour

Aliments riches en B6	Quantité de B6
Levure alimentaire (100g)	4,20 mg

Abats (100g)	0,2 à 1,2 mg
Thon cuit (100g)	1,05 mg
Saumon (100g)	0,85 mg
Banane (1)	0,70mg
Pommes de terre (200g)	0,60 mg
Poulet rôti (100g)	0,60 mg
Riz complet (100g)	0,60 mg
Lentilles (100g)	0,60 mg
Céréales (100g)	0,15 à 0,5 mg
Morue cuite (100g)	0,45 mg
Avocat (100g)	0,40 mg
Quinoa sec (25g)	0,35 mg
Chou (100g)	0,30 mg
Noix (30g)	0,25 mg
Viandes (100g)	0,15 à 0,25 mg
Flocons d'avoine type Quaker (30g)	0,10 mg

Vitamine B12

Recommandations journalières

-pour les adultes : 3 µg/jour

-pour les femmes enceintes : 4 µg/jour

Aliments riches en vitamine B12 Teneur en vitamine B12

Foie de bœuf cuit (100g)	85 µg
Foie de mouton (100g)	65 µg
Rognons de bœuf (100g)	35 µg
Hareng fumé (100g)	14,5 µg

Cœur de bœuf (100g)	13 µg
Thon cuit (100g)	11 µg
Saumon (100g)	7 µg
Levure alimentaire (100g)	5 µg
Bœuf (100g)	4,9 µg
Jaune d'œuf (100g)	4,7 µg
Crevettes (100g)	1,9 µg
Camembert (30g)	0,9 µg