

Spermatogenèse complète et naissance chez le singe rhésus, après greffe autologue de testicule prépubère cryopréservé

Les auteurs du présent article, essentiellement le groupe de Pittsburgh (États-Unis), ont montré, en utilisant le modèle du macaque rhésus, que le tissu testiculaire prépubère congelé, après réchauffement et greffe autologue en sous-cutané dans les régions scrotale ou dorsale, chez les donneurs devenus pubères et castrés, est capable d'une maturation aboutissant à une spermatogenèse complète. Tous les fragments greffés croissent durant la période d'observation, de huit à douze mois, sécrètent de la testostérone et produisent des spermatozoïdes fonctionnels. Ils sont, en effet, capables de féconder des ovocytes de femelles rhésus, d'assurer le développement embryonnaire pré- et postimplantatoire, avec naissance d'une guenon en bonne santé, issue de la greffe, qui a été prénommée Grady.

La cryoconservation de spermatozoïdes, utilisée pour préserver la fertilité des hommes adultes avant un traitement stérilisant, n'est pas possible chez les garçons prépubères qui ne produisent pas encore de gamètes fonctionnels [1, 2]. Pourtant, 80 % des enfants atteints de cancer survivront et 30 % d'entre eux seront stériles à l'âge adulte [3]. La seule solution, pour sans doute encore longtemps, est alors la cryoconservation du tissu testiculaire contenant des cellules souches spermatogoniales (SSC, pour *spermatogonial sperm cells*) [4]. Il faudra ensuite utiliser des thérapies cellulaires ou tissulaires pour restaurer la fertilité [1, 5].

La xéno greffe de tissu testiculaire immature, sous la peau du dos de souris *nude* immunodéficientes, a permis la maturation de spermatozoïdes fonctionnels et l'obtention de jeunes chez la souris, le porc et le singe [6-8]. La transposition à l'humain d'un tel procédé est cependant, pour des raisons sanitaires, difficile [9, 10].

L'équipe de Münster a mené trois études, seule [11, 12] ou en collaboration avec des chercheurs américains, suédois et finlandais [13], concernant l'autogreffe de tissu testiculaire immature, frais ou congelé, chez le primate non humain (singes marmouset et rhésus). La spermatogenèse complète, à partir de tissu

congelé, n'était observée que si la greffe était réalisée sous la peau du scrotum [13]. Et encore, seuls 5 % (5/75) des fragments transplantés sont récupérés et viables cinq mois après la greffe autologue, et seuls 13 et 17 % des tubes séminifères sont le siège d'une spermatogenèse complète dans deux des cinq fragments scrotaux indemnes. Enfin, la fonctionnalité des spermatozoïdes produits (fécondation, obtention de jeunes) n'a pas été testée.

Matériel, méthodes et résultats

Protocole expérimental

L'étude porte sur cinq macaques rhésus prépubères qui subissent d'abord l'ablation d'un testicule, lequel est cryopréservé après dissection en fragments de 9 à 20 mm³. Cinq à sept mois après cette hémicastration, le testicule restant subit le même sort, mais seule la moitié des fragments sont congelés. On procède, immédiatement après, à la greffe de fragments frais ou congelés (depuis 5 h à cinq mois). Cette greffe autologue est réalisée sous la peau du dos (trois sites « frais » à droite de la colonne vertébrale, trois sites « congelés » à gauche) et sous la peau du scrotum (un côté « frais » et un côté « congelé »). Sur chaque site, un rectangle de peau est rabattu et quatre fragments (de 15,34 ± 1,54 mg) sont suturés à la

partie sous-cutanée du lambeau. Du Matrigel® est injecté dans les deux sites scrotaux et dans quatre des six sites dorsaux, afin de stimuler l'angiogenèse.

Le tissu testiculaire avant la greffe est immature

Ainsi que le confirme les analyses histologiques réalisées lors de la première puis de la seconde ablation, le testicule avant greffe est immature et les tubes séminifères ne contiennent que des spermatogonies souches indifférenciées (Ad), progénitrices (Ap) ou différenciées (B) chez quatre des cinq macaques. Le dernier animal présente néanmoins, dans 0,8 % des tubes, des spermatozoïdes pachytènes, témoignant d'un tout début de méiose. Les analyses en immunofluorescence montrent, dans le tissu testiculaire immature, frais ou congelé, avant la greffe, des cellules marquées pour la protéine Vasa, marqueur spécifique des cellules germinales. Elles sont présentes dans la lumière des tubes et contre la membrane basale. Leur nature indifférenciée est confirmée par le marquage pour les protéines spécifiques GFRA1 (pour *glial cell line-derived neurotrophic factor receptors*) et UTF1. Les tubes séminifères des adultes témoins contiennent, eux, de multiples couches de cellules germinales

(Vasa⁺) soit indifférenciées (GFRA1⁺ et UTF1⁺) soit à des stades variés de maturation caractérisés par un marquage spécifique des spermatocytes (Boule⁺) ou des spermatozoïdes (Crem⁺, Acrosin⁺).

Croissance et fonction endocrine des greffons

Quatre à cinq mois après la greffe, la croissance des greffons est manifeste, sous la forme de masses palpables au niveau des sites dorsaux et scrotaux, mesurées (longueur × largeur, en centimètres carrés) à l'aide d'un pied à coulisse. Tous les greffons ont une croissance positive durant les huit à douze mois d'incubation *in vivo*, et cette croissance n'est pas affectée par la congélation ou l'addition de Matrigel[®].

Tous les animaux deviennent pubères après la greffe, avec sécrétion normale de testostérone (2 ng/mL environ chez le macaque) et d'hormone folliculostimulante (FSH), témoignant d'un mécanisme de rétrocontrôle fonctionnel entre le tissu testiculaire greffé et l'hypothalamohypophyse.

Récupération des greffons et analyses

Du tissu testiculaire est observé au niveau de tous les sites de greffe (39/39), au bout de huit à douze mois. Une seule exception : le site scrotal gauche de l'un des cinq macaques, qui, juste après la greffe, avait ouvert l'incision et endommagé les implants. Pour tous les autres sites, il n'est plus possible d'individualiser les quatre fragments, qui ont fusionné en une seule masse de 308,61 mg en moyenne, soit environ cinq fois le poids de départ, qui était de 60 mg (quatre fragments de 15,34 mg chacun). Du tissu fibreux blanchâtre est parfois visible au sein de la masse, délimitant les bords des quatre fragments initiaux. Les greffons scrotaux sont plus lourds que les greffons dorsaux (430 *versus* 280 mg, $p < 0,01$) ; le poids n'est en revanche pas affecté par la cryopréservation ni par l'addition de Matrigel[®].

Les tubes séminifères, après isolement à la pince, sont présents dans tous les greffons des cinq animaux et mesurent de 150 à 200 µm de diamètre. Le tissu testiculaire de trente-deux des trente-neuf greffons est disséqué ou digéré par la collagénase IV pour recueillir des spermatozoïdes, et par ailleurs fixé afin de réaliser des analyses en histologie et immunohistochimie. Tous les tubes séminifères contiennent de multiples couches de cellules germinales (Vasa⁺) et plus de 70 % d'entre eux montrent une spermatogenèse complète, observée au niveau des trente-neuf greffons avec spermatozoïdes post-méiotiques (Acrosine⁺), spermatozoïdes allongés et spermatozoïdes. Après dissection mécanique ou enzymatique, on recueille des spermatozoïdes vivants dans 81 % des greffons évalués (26/32) avec une numération variant de 60 à 21 millions par fragment quantifié ($n = 19$), et ce quel que soit le protocole expérimental (congélation ou non du greffon, addition ou non de Matrigel[®] au site de greffe). Les spermatozoïdes sont utilisés frais, pour des tentatives de fécondation assistée *in vitro* avec injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI), ou congelés, pour une utilisation ultérieure.

Fécondation, développement embryonnaire *in vitro* et naissance

Pour mimer au mieux le contexte clinique d'un sujet survivant à un cancer de la prépuberté, les tentatives d'ICSI sont conduites à partir de greffons congelés provenant d'un site scrotal (macaque 13-008, âgé de 40 mois lors de l'ablation du second testicule et dont le tissu testiculaire est récupéré treize mois après la greffe).

Des 138 ovocytes matures micro-injectés, seuls trente-neuf (28 %) sont au stade deux-cellules à J1, et seize d'entre eux (41 %) au stade blastocyste à J10. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus

précédemment chez le singe rhésus avec des spermatozoïdes éjaculés [14, 15], mais la vitesse de développement est normale.

Les auteurs envisagent plusieurs causes à ces contre-performances. Il pourrait s'agir d'une altération de la qualité des spermatozoïdes, liée à la congélation préalable du tissu testiculaire ou à l'étape de digestion enzymatique des greffons. On observe en effet, au décours de cette dernière étape, des anomalies spermatozoïdiques (têtes isolées, gamètes fragilisés) et des taux de clivages réduits (10 à 13 %). Ils en concluent qu'il sera nécessaire, à l'avenir, de privilégier la dissection mécanique de la pulpe testiculaire ou d'améliorer le protocole enzymatique.

Une autre source d'échec pourrait être la mauvaise qualité des ovocytes recueillis au début (octobre) ou à la fin (mai) de la saison de reproduction [15]. Effectivement, après stimulation ovarienne, les ovocytes recueillis 36 h après une injection d'hormone chorionique gonadotrope (hCG) ne sont pas tous matures, et les ovocytes immatures (dont le pourcentage n'est pas donné) sont utilisés après une maturation *in vitro* de 22 h qui pourrait diminuer leur compétence au développement. Un plus grand nombre d'ovocytes matures ont en revanche été obtenus lors de la tentative d'ICSI, réalisée en novembre, avec comme conséquences de meilleurs taux de clivage (60 %), de développement en blastocyste (67 %) et de grossesse (25 %), à partir de spermatozoïdes disséqués mécaniquement. Ces résultats sont comparables aux expériences antérieures du groupe du centre de recherches sur les primates (Oregon, États-Unis) [15].

Gestation et naissance à partie de spermatozoïdes issus du tissu greffé

Onze blastocystes (dont un congelé) ont été transférés chez six receveuses, aboutissant à l'obtention

d'une seule gestation et à la naissance, le 16 avril 2018, par césarienne, d'une petite femelle, pré-nommée Grady, normale y compris pour son poids de naissance, son comportement socioaffectif et ses activités de jeu à 3 et 6 mois (soit un taux de naissance vivante par blastocyste de 9 % et de 17 % par transfert).

Discussion

Les auteurs soulignent l'importance de leur étude dans le cheminement expérimental vers une possible préservation de la fertilité à partir de tissu testiculaire humain prépubère. En effet, si la greffe autologue de tissu frais et cryopré-servé a prouvé son efficacité chez la souris, avec obtention de spermatozoïdes féconds et même de naissances [16, 6, 7], les essais réalisés jusqu'à présent chez les primates supérieurs étaient moins concluants, avec une faible survie des greffons et aucune tentative pour tester la fonctionnalité des gamètes matures produits par les greffons [11, 12, 13].

Comment expliquer le succès obtenu par Fayomi *et al.* ? Si le protocole expérimental est similaire à ceux des précédentes études, des modifications notables y ont été apportées concernant la concentration en cryoprotecteur, la taille des fragments et le lieu de suture des greffons.

- Tout d'abord, la concentration en diméthylsulfoxyde (DMSO) employée pour congeler le tissu testiculaire est moitié moindre (0,7 versus 1,4 M), ce qui pourrait diminuer la toxicité de ce cryoprotecteur. Jahnukainen *et al.* [13] avaient, certes, observé une meilleure survie des greffons avec 1,4 M de DMSO, mais n'avaient pas obtenu une spermatogenèse complète ; les temps d'incubation utilisés étaient cependant peut-être insuffisants (trois à cinq mois).
- Les fragments greffés étaient ici plus volumineux (9-20 versus 0,5-1 mm²), ce qui, en théorie, n'est

pas censé favoriser la revascularisation ni empêcher l'ischémie, mais peut contribuer significativement à l'apport de facteurs de survie autocrines et paracrines.

- Enfin, la suture des greffons sur la face sous-cutanée – richement vascularisée – des lambeaux de peau pourrait favoriser l'angiogenèse, comme cela a été montré lors de xénogreffes de tissu ovarien sur une zone de granulation angiogénique créée par une lésion du muscle sous-jacent [17].

Les auteurs rappellent que ces greffons ont eu lieu chez des animaux préalablement castrés, ce qui ne sera pas la situation la plus usuelle en clinique humaine. Les auteurs ont, de fait, reproduit les conditions déjà définies lors des expériences antérieures chez le singe [12, 13], mais reconnaissent qu'il faudra tester leur protocole également chez des animaux ayant conservé leurs testicules (après prélèvements des fragments pour la greffe).

Une seconde réserve de taille est le risque que le tissu testiculaire de sujets atteints de cancer contienne des cellules malignes. Il ne sera donc pas possible de proposer cette technique lors de leucémies ou lymphomes de l'enfance ou de cancers du testicule. En revanche, les patients soumis à une greffe de moelle pour des causes non oncologiques (thalassémie, drépanocytose, etc.) ou les patients présentant des tumeurs solides, y compris des sarcomes et neuroblastomes, ne métastasants pas au niveau des testicules, seront éligibles et représentent > 60 % des jeunes pour lesquels du tissu testiculaire a été conservé dans le cadre du programme de préservation de la fertilité de Pittsburgh et des centres associés à cette étude.

Signalons également qu'un erratum a été publié dans le numéro de *Science* du 4 avril 2019 pour préciser que les macaques, utilisés dans ce travail, avaient déjà été recrutés

pour une autre étude comportant une chimiothérapie stérilisante par busulfan et une transfusion autologue prophylactique de cellules souches hématopoïétiques. Les animaux, ayant conservé cependant une spermatogenèse normale, ont été réassignés au présent protocole, ce qui aurait dû être précisé dans le matériel et méthodes initial.

Conclusion

La production de gamètes fonctionnels et de nouveau-nés vivants et normaux est la référence absolue, en matière de technologie de la reproduction. Indubitablement, Fayomi *et al.* ont apporté cette preuve pour la greffe autologue, en situation scrotale, de tissu testiculaire prépubère cryopré-servé, chez un primate supérieur non humain. En ajoutant cette nouvelle espèce à la liste des mammifères chez qui cette technologie a démontré sa faisabilité, les auteurs contribuent à préparer sa transposition en clinique humaine.

Liens d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Fayomi AP, Paters K, Sukhwami M, et al. Autologous grafting of cryopreserved prepubertal rhesus testis produces sperm and offspring. *Science* 2019; 363:1314-9.

1. Goossens D *et al.* *Hum Reprod* 2013; 28: 897-907.
2. Valli H *et al.* *Fertil Steril* 2014; 101: 3-13.
3. Thomson AB. *Lancet* 2002; 360: 361-367.
4. Onofre J. *Hum Reprod Update* 2016; 22:744-761.
5. Gassei K and Orwig KE. *Fertil Steril* 2016; 105: 256-266.
6. Schlatt S *et al.* *Biol Reprod* 2003; 68: 2331-2335.
7. Shinohara T. *Hum Reprod* 2002; 17: 2039-3045.
8. Liu Z *et al.* *Cell Res* 2016; 26: 139-142.
9. Kimsa MC *et al.* *Viruses* 2014; 6: 2062-2083.

10. Diseases directly transmitted by rodents, Centers for Disease Control; www.cdc.gov/rodents/diseases/direct.html.
11. Wistuba J *et al. Biol Reprod* 2006; 74: 706-713.
12. Luetjens CM *et al. Endocrinology* 2008; 149: 1736-1747.
13. Jahnukainen K *et al. Cancer Res* 2012; 72: 5174-5178.
14. Hewitson L *et al. Hum Reprod* 1998; 13: 3449-3455.
15. Nusser *et al. Hum Reprod* 2001; 16: 130-137.
16. Honaramooz *et al. Nature* 2002; 418: 778-781.
17. Israely T *et al. Hum Reprod* 2006; 21: 1368-1379.

Bases de données génétiques et devenir de l'anonymat du don

Jacqueline Mandelbaum

En résumé

L'anonymat est un vocable à plusieurs facettes, rarement éternel ou absolu. Le recours à des bases de données génétiques augmente le risque d'identification des donneurs ou des donneuses, jusque-là anonymes, qu'ils soient inscrits ou non sur ces bases de données. Dans le cadre du don de gamètes, on a affaire à des enfants qui recherchent leur donneur ou les enfants du même donneur qui seraient leurs « demi-frères et sœurs » biologiques, voire à des donneurs recherchant les enfants nés de leur don. Dans tous les cas, il y a violation des droits des receveurs et des donneurs. L'auteur fait valoir que, malgré l'existence de ces bases de données, l'anonymat maintient la même fonction que précédemment : exprimer le souhait des receveurs et des donneurs à la protection de leur vie privée. Aussi, même en l'absence d'une législation contraignante, ce droit devrait être respecté de bonne foi par toutes les parties concernées.

Guido Pennings, professeur de bioéthique à l'université de Gand, en Belgique, explore les conséquences pour l'AMP avec tiers donneur, de l'usage croissant des tests génétiques en accès libre au public. Sans remettre en cause le bien-fondé de l'anonymat du don de gamètes, il rappelle que la recherche, sans leur consentement préalable, de « parents » génétiques est une atteinte répréhensible à leur vie privée et qu'il appartient aux centres et aux institutions d'informer clairement les différents protagonistes des risques encourus avant que des solutions soient trouvées pour une gestion plus éthique de ces bases de données.

Le débat actuel concernant l'impact des bases de données généalogiques sur l'anonymat du don repose sur des exemples rapportés dans les médias. Si certains ont pu retrouver leurs parents génétiques grâce aux sites Internet de généalogie, cela ne veut pas dire que cette démarche sera fructueuse pour tout le monde. L'identification est en effet un processus complexe, qui requiert une véritable expertise, et les appariements qui garantissent un lien génétique avéré sont pour le moment encore rares [1]. Les choses peuvent néanmoins changer avec l'augmentation du nombre des usagers de ces tests, directement accessibles au public, et le perfectionnement technique continu du dépistage et de l'appariement génétique [2]. Guido Pennings présente son article comme une tentative d'éthique

prospective, anticipant un futur où le risque de levée de l'anonymat des donneurs, sans leur consentement, va sans nul doute augmenter.

L'anonymat

L'anonymat est en général considéré comme absolu mais, dans le contexte du don de gamètes, il s'agit en réalité d'un anonymat sélectif. L'identité du donneur n'est révélée ni aux receveurs, ni aux enfants nés du don – et vice versa –, mais elle est connue du staff clinique et du personnel des banques de gamètes.

Cet anonymat peut par ailleurs être temporaire ou permanent. Dans les pays qui ont levé l'anonymat, les donneurs demeurent le plus souvent anonymes pendant seize à dix-huit ans puis deviennent « identifiables ».

Dans les pays où l'anonymat est garanti par la loi, comme l'Espagne et la France, il est prévu de rendre possible la levée de l'anonymat dans l'intérêt médical des enfants¹, comme ce fut le cas après un procès, aux États-Unis [3].

Enfin, l'anonymat peut être présenté comme une décision contractuelle, et éventuellement réversible, du donneur. Dans certaines législations ou certains centres, un donneur anonyme peut décider de devenir identifiable, mais pas l'inverse. D'autres centres, au contraire, exigent une mise à jour du consentement avant de donner l'identité du donneur,

¹En France, cette clause ne requiert pas la levée de l'anonymat entre donneur et receveurs puisque les informations transitent par les médecins en charge du dossier.

même s'il en avait accepté le principe lors du don. Cette approche contractuelle révèle comment fonctionnait l'anonymat avant le développement des bases de données génétiques : institutions et médecins étaient les seules passerelles permettant de remonter jusqu'à l'identité du donneur. Maintenant, ils ne peuvent que promettre de ne pas la révéler, mais pas garantir que l'anonymat ne sera pas levé par d'autres moyens.

Données identifiantes et non identifiantes

Si le donneur peut parfois être identifié par ses empreintes ADN, cela n'est pas toujours le cas. La plupart du temps, il faut à la fois une information génétique et non génétique pour identifier un individu. Dans les bases de données généalogiques, le test génétique fournit aux consommateurs le nom de famille de parents potentiels, et la recherche est ensuite affinée grâce à des données non identifiantes (DNI) telles que le domicile, le niveau d'études ou l'âge. Ce type d'information peut se trouver sur les réseaux sociaux comme Facebook.

Certes, si un nom et un numéro de sécurité sociale peuvent identifier, à eux seuls, une personne, une DNI n'y suffit pas. En revanche, la combinaison de plusieurs DNI (âge, phénotype, composition de la famille, sports pratiqués, éducation, etc.) peut permettre d'arriver à l'identification. Or, les banques commerciales de gamètes ont une attitude pour le moins ambiguë, à cet égard. Elles offrent en effet la possibilité d'un don anonyme, mais dressent par ailleurs des profils de plus en plus détaillés des donneurs et des donneuses, et les fournissent aux receveurs, contribuant ainsi à fragiliser cet anonymat. Protéger l'anonymat nécessite de délivrer le moins d'information possible. L'attitude des banques commerciales montre qu'elles ne considèrent pas l'anonymat comme une condition absolue.

Recherche généalogique grâce aux bases de données génétiques

Ce type de recherche peut être considérée comme immoral pour deux raisons :

- il s'agit d'une violation de la vie privée si l'on identifie et/ou que l'on contacte une personne non inscrite dans la base de données². C'est en particulier le cas des donneurs de gamètes auxquels on a garanti l'anonymat et qui sont trahis par ce type de recherche. C'est, de la part des receveurs ou des enfants qui utilisent à cette fin les bases de données généalogiques, un manque de respect et de gratitude [4],
- il s'agit d'une atteinte à l'autonomie des individus qui se sont inscrits sur ces bases et dont l'information génétique est utilisée à des fins différentes de leurs propres objectifs (comme par exemple des informations liées à leur santé).

De même, utiliser ces données génétiques en vue de réaliser un test de paternité est un abus [5]. Le nombre de personnes intéressées par cet aspect des recherches généalogiques excède d'ailleurs largement celui des enfants nés d'un don de gamètes ou d'embryons [6]. Les parents qui mettent l'ADN de leur enfant dans ces bases de données portent atteinte au droit à la vie privée de cet enfant, atteinte qu'il sera peut-être impossible de réparer. Actuellement, soit les entreprises de tests d'ascendance génétique ne donnent aucune recommandation quant à l'accès des mineurs à leur base, soit elles l'acceptent [5].

Les gens qui ont recours à ces banques de données devraient connaître le type d'information qui leur sera délivrée. Ainsi peuvent-ils, recherchant des informations médicales, apprendre qu'ils sont nés d'un don de gamètes ou que leurs parents le sont [7]. Ils devraient être prévenus auparavant et consultés de

²Mais apparenté à une personne qui l'est.

façon précise sur le type d'information qu'ils souhaitent recevoir : santé, généalogie, liens familiaux, etc. « Pour le moment, ces avertissements, lorsqu'ils existent, sont vagues et ne permettent pas à la majorité du public de comprendre les enjeux en cause » (HFEA, Human Fertilization and Embryology Authority, 2018).

Règlementation et contrôle des pouvoirs publics

Un gouvernement qui impose l'anonymat du don devrait prendre des mesures contre les personnes, les entreprises, etc., qui enfreignent l'anonymat par le biais des tests génétiques. Un tel contrôle est cependant difficile, voire impossible, si ces entreprises en ligne sont localisées dans un pays dont la juridiction n'interdit pas ces activités. Ainsi, la France n'autorise pas les pères qui veulent vérifier leur paternité à réaliser un test génétique sans l'approbation d'un juge. Cependant, même si la loi ne peut empêcher la réalisation de ces tests sur Internet, elle a un important rôle d'avertissement. La prohibition de certains usages donne en effet aux personnes qui seraient identifiées ou contactées sans leur accord, une base juridique pour porter plainte, qu'elles soient enregistrées ou pas sur ces bases de données.

Que peuvent faire les États pour protéger la vie privée des donneurs ? Restreindre l'accès de ces bases aux personnes conçues par don n'est pas réaliste, car les États et les compagnies ne savent pas qui a été conçu par don³ et que les donneurs de gamètes ne sont pas les seuls concernés par cette problématique. La réglementation des bases de données génétiques doit s'envisager globalement, pour protéger les droits de tous. Toute personne dont l'ADN a été conservé, pour quelque raison que ce soit, dans une base de données accessible au public peut être identifiée, y compris les participants à de vastes projets mondiaux de

³Ce serait, de plus, discriminant...

recherche sur le génome [8]. Toutes ces personnes ont également été assurées que leur anonymat serait conservé et beaucoup de ces bases de données sont co-organisées et financées par les gouvernements. Il leur revient donc d'imposer des règles de fonctionnement, si l'on veut maintenir la confiance dans ces études génomiques. Parmi les différentes techniques de protection de la vie privée (k-anonymisation, confidentialité différentielle, cryptage, etc.), la limitation de l'accès aux données semble la plus simple [2].

Les recherches et leurs conséquences

La mise en contact d'un sujet avec ses potentiels parents génétiques peut avoir des conséquences d'une portée considérable pour tous les protagonistes. Des procédures de conseil et de gestion de l'information ont d'ailleurs été mises en place dans les pays qui ont aboli l'anonymat des donneurs et des donneuses. Des conseillers se chargent de prévenir le donneur ou l'enfant d'une demande d'information ou de prise de contact, de les renseigner sur le fait qu'ils aient éventuellement à donner préalablement leur agrément ou la possibilité de refuser d'entrer en contact ou de les aider à préparer une rencontre.

Recherche des donneurs par les enfants du don

On sait encore peu de chose du retentissement qu'a, pour les donneurs anonymes, le fait d'être contactés par les enfants (ou leurs parents). Les études récentes impliquent des donneurs qui ont changé d'avis et se sont inscrits sur des registres à participation volontaire [9, 10, 11].

Parmi ces donneurs anonymes, certains n'avaient sans doute pas d'objection à être identifiés, même si l'anonymat était alors la règle, ou ils ont changé d'avis ensuite. Ils sont vraisemblablement peu nombreux, si l'on se réfère au nombre de donneurs qui s'inscrivent sur les registres volontaires. Ils ne veulent généralement ni que leur statut de donneur soit révélé, ni être contactés – et ceux qui le sont à la suite d'une recherche généalogique, ne changent pas d'avis. Un certain nombre de donneurs refusera ainsi tout contact, ou aura même une réaction hostile, ce qui peut entraîner de la déception et des émotions négatives chez le ou les enfants⁴ [12]. L'identification ouvre la voie à une prise de contact, mais celle-ci n'interviendra peut-être jamais et peut être source de conflits. C'est pourquoi l'État de Victoria, en Australie, a donné la possibilité au donneur de

refuser ce contact, ce qui rétablit un certain équilibre entre les différentes parties [13]. Cependant, pour les donneurs et les donneuses qui ne souhaitent pas que ce statut soit connu de leur entourage, le préjudice principal a peut-être déjà été occasionné.

Recherche par les enfants des demi-frères et demi-sœurs issus du donneur

C'est sur les autres enfants issus du même donneur que les effets des bases de données génétiques peuvent être les plus marqués. Ils risquent, en effet, d'être contactés alors qu'ils ne savent rien de leur mode de conception. Certaines personnes en quête de parents génétiques et préoccupées de leur seul intérêt ne tiennent aucun compte du retentissement que leur recherche, source de problèmes sociaux et psychologiques, peut avoir sur la vie d'autrui.

Kramer (2018), à l'origine du Donor Sibling Registry (registre des « frères et sœurs » issus de don), insiste sur le fait que ce registre est basé sur un consentement volontaire mutuel, ce qui n'est pas le cas des bases de données [14]. Certains sont désemparés par la gestion, le type d'information à transmettre et à qui les transmettre [7]⁵.

Ce risque de bouleverser la vie de personnes, en leur imposant une

⁴L'État de Victoria en Australie a promulgué en 1988 une loi régulant les activités d'AMP. En 1998, un changement y est apporté, obligeant les donneurs à accepter la délivrance d'informations identifiantes les concernant, à la demande des enfants issus de leur don. La levée rétrospective de l'anonymat des donneurs ayant donné avant 1998 sera votée en 2017. La Victoria ART Authority est en charge de la gestion de l'interface entre les différentes parties et les donneurs peuvent exprimer leurs préférences sur le type de contact, voire le refuser. Johnson *et al.*, mènent une étude sur les 101 requêtes ayant concerné, de mars à décembre 2017, des donneurs ayant réalisé leur don avant 1998. Soixante et onze émanaient d'un enfant, six d'un parent et vingt-quatre d'un donneur. Sur les trente-trois requêtes déjà traitées on peut constater que 21 % des enfants retirent leur demande après avoir reçu des informations générales, 6 % ne veulent que des DNI et 73 % souhaitent retrouver leur donneur. Cela a été impossible pour sept d'entre eux, trois donneurs étaient décédés, quatre ne souhaitaient aucun contact et onze l'acceptaient. La série est très petite et biaisée : on ne sait pas combien des enfants nés par don dans cette période sont au courant des modalités de leur conception ; on ne sait pas non plus quelle aurait été l'attitude des donneurs que l'on n'a pas retrouvés, ni de ceux qui n'ont fait l'objet d'aucune requête. Cependant, certains donneurs qui pensaient rester anonymes, acceptent, s'ils sont joints, d'entrer en contact avec les enfants issus de leur don. Les résultats de l'enquête de Johnson, s'ils sont à prendre avec prudence, sont donc un peu plus optimistes que la relation qu'en fait Guido Pennings.

⁵Crawshaw explore les conséquences de la quête de plus en plus fréquente de parents génétiques par les enfants issus de dons de gamètes, facilitée par les tests ADN en accès libre au public et impactant des individus et des familles non préparées à ces révélations. Elle relate les difficultés rencontrées par trois femmes d'un certain âge et leur famille apprenant, non seulement leur relation génétique, mais aussi l'existence de quinze autres demi-frères et sœurs... Elle soulève la question éthique de la responsabilité des centres d'AMP d'informer préalablement donneurs et receveurs. Faute de cette information, la problématique autour de comment et quand les parents doivent révéler à l'enfant sa conception par don serait remplacée par celle de comment et quand les enfants doivent informer leurs parents !

information qu'elles ne demandaient pas, existe aussi dans certains systèmes officiels. Ainsi, en Nouvelle Zélande et en Australie (Nouvelle Galles du Sud), un enfant conçu par don peut s'enquérir des autres enfants issus du même donneur. Certes, l'information identifiante ne sera transmise qu'avec l'assentiment de l'intéressée... mais cela nécessite de contacter le « demi-frère » ou la « demi-sœur » génétique, lui révélant ainsi sa conception par don de gamètes.

Recherche par le donneur des enfants issus de son don

Les donneurs peuvent de même tenter de retrouver, dans les bases de données génétiques, les enfants issus de leur don, leur ADN y figurant. Certains donneurs acceptent d'être identifiés dans les systèmes non anonymes car ils souhaitent ce contact futur. Riggs et Russel [15] rapportent que ce serait plus volontiers le cas d'hommes homosexuels qui donnent certes par altruisme, mais qui, en l'absence d'autre option, y verraient également le moyen de revendiquer une identité de père.

Les pays qui ont aboli l'anonymat ont, en général, instauré une période de latence (quinze à dix-huit ans) avant que l'identité du donneur puisse être révélée, ce délai étant censé protéger la vie privée de la famille des receveurs et permettre l'établissement de relations stables entre parents et enfants. Il protège également la vie privée du donneur. Pourtant, certains d'entre eux pourraient vouloir connaître leur ou leurs « enfants » génétiques plus tôt. Ils peuvent, eux aussi, se lancer dans cette quête sans tenir compte de ce que veulent les parents receveurs et de ce que savent les enfants, portant ainsi atteinte aux droits des parents d'organiser leur famille à leur gré. Hertz *et al.* [11], dans une étude sur cinquante-sept donneurs de spermatozoïdes ayant retrouvé au moins un des

enfants issus de leur don, rapportent leur impression que les parents receveurs les considéraient comme une menace. Cela pourrait représenter un danger pour la dynamique familiale des receveurs si le donneur souhaitait établir un contact plus étroit que ne l'envisage la famille ou l'enfant.

L'anonymat du don de gamètes dans l'avenir

Puisque l'anonymat des donneurs et des donneuses ne peut plus être totalement garanti, certains en tirent la conclusion qu'il faut l'abandonner et rendre les données accessibles [16].

Pourtant, ce n'est pas parce que les limitations de vitesse ne sont pas totalement respectées qu'elles sont sans efficacité. De même, si l'anonymat du don ne peut plus être garanti, il conserve une fonction essentielle, qui est d'exprimer un désir de mise à distance et de préservation de la vie privée. Les receveurs qui choisissent un donneur anonyme le font parce qu'ils souhaitent que celui-ci demeure hors du champ de leur vie et de leur famille. De la même manière, par un don anonyme, les donneurs indiquent clairement qu'ils ne veulent être impliqués d'aucune manière dans la famille qu'ils ont aidé à créer.

Malgré les nouveaux développements technologiques, ces souhaits devraient être loyalement respectés. Quiconque les enfreint manque de respect aux tiers impliqués. C'est exactement ce qu'a fait l'État de Victoria en abolissant rétrospectivement l'anonymat des donneurs, et ce que font certains groupes d'enfants conçus par don comme « DNA détectives » [17].

Ces nouveaux développements pourraient avoir un impact énorme, et mondial, sur la population des donneurs de gamètes. Il pourrait, en effet, devenir de plus en plus difficile de recruter des donneurs, même en l'absence de modifications législatives, creusant ainsi

le fossé entre l'« offre » et la « demande ». Une étude menée en Belgique où l'anonymat est la règle générale, stipulée dans la loi, mais où le non-anonymat est autorisé, montre que les non-donneurs, dans la population générale, justifient leur refus par leur peur d'être retrouvés et s'inquiètent du retentissement que cette révélation de leur statut de donneur pourrait avoir dans leur entourage et surtout pour leur conjoint [18]. On augmenterait ainsi, en cas de pénurie, la nécessité pour les couples demandeurs d'avoir à trouver un donneur par Internet ou à l'étranger.

Révélation ou la levée du secret sur le mode de conception

Le raisonnement mis en avant pour lever l'anonymat est appliqué également à la révélation aux enfants de leur mode de conception par don de gamètes ou d'embryon : puisque ces derniers peuvent apprendre, par des recherches Internet, qu'ils sont issus d'un don, les parents hétérosexuels doivent être encouragés à lever le secret [19]. Certains espèrent vivement qu'informés du risque, les parents informeront les enfants. Est-ce si sûr ? Un débat agite encore les psychologues sur l'opportunité, pour les centres, d'encourager les couples à cette levée du secret. Selon Sophie Zadeh [20], la majorité des couples hétérosexuels, dans les pays qui encouragent fortement la révélation du mode de conception, décident de ne pas lever le secret ou sont hésitants à le faire et quand ils disent en avoir l'intention, ces assertions ne sont, en général, pas vérifiées.

Les centres moins « directifs » invitent les parents à ne pas informer leur entourage du recours au don de gamètes s'ils n'ont pas l'intention d'en informer leurs enfants. Cela n'empêche pas nombre de parents d'en parler autour d'eux, alors qu'ils souhaitent garder le secret vis-à-vis de leurs enfants issus de ce

don et que cela crée un risque de révélation accidentelle involontaire [21 ; 22]. Pour ceux qui considèrent, en effet, la levée du secret comme un effet indésirable, sa levée volontaire comporte un risque de 100 %, comparé à un risque faible de révélation intempestive s'ils n'en parlent pas à l'enfant, même si ce risque peut croître dans le futur.

Seule la confirmation des conséquences néfastes de ces révélations tardives ou involontaires par rapport à une information précoce de l'enfant pourrait être une motivation convaincante. Ce postulat manque cependant de preuve significative. Si l'on connaît des exemples de révélation tardive traumatisante, on ne sait pas combien d'individus, ayant appris avec retard qu'ils sont issus d'un don de gamètes ou d'embryons, n'en ont pas été affectés. La revue de Guido Pennings sur ce sujet [23], montre que les études du bien-être de l'enfant ne mettent pas en évidence de différence quantifiable, qu'il ait été informé tôt ou tard de son mode de conception. L'auteur en conclut donc que les parents pourraient mettre l'enfant au courant plus tard, par exemple s'il manifeste son intérêt pour les arbres généalogiques et les banques de données génétiques... Par ailleurs, certains enfants (30 à 40 % dans l'étude de Jadva *et al.* [9]), informés tout jeunes, manifestent les mêmes émotions négatives que ceux avertis plus tard. Pour Zadeh [20], les injonctions institutionnelles à la

révélation pourraient rendre cette étape anxiogène, allant à l'encontre du but recherché, l'intérêt de l'enfant.

Conclusion

Guido Pennings en arrive à la conclusion qu'il devient de plus en plus difficile de légiférer sur la PMA avec don et de faire respecter la loi, d'autant que se développent de nouvelles pratiques comme la prise en charge à l'étranger ou la coparentalité.

Il rappelle que les recherches généalogiques sur les bases de données génétiques peuvent enfreindre le droit à la vie privée des donneurs, le droit à une vie de famille des receveurs et la confidentialité génétique des usagers de ces bases qui ne souhaitaient pas qu'on utilise leurs données dans cet objectif. Il s'inquiète de la manière dont ces nouveaux développements pourraient retentir sur la perception générale de la pratique de l'AMP avec tiers donneur.

Liens d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Pennings G. Genetic databases and the future of donor anonymity. *Human Reprod* 2019; <https://doi.10.1093/humrep/dez029>.

1. Borry P *et al.* *Fertil Steril* 2014; 101: 630-632.
2. Erlich Y *et al.* *Science* 2018; 362: 690-694.
3. Bauman JH. *Golden Gate Univ law Rev* 2010; 31: 193-218.
4. Pennings G. *Hum Reprod* 2012; 27:2881-2885.
5. Moray M *et al.* *Eur J Hum Genet* 2017; 25: 768-770.
6. Ravelingen A and Pennings D. *Am J Bioethics* 2013; 13: 33-41.
7. Crawshaw M. *Hum Fertil (Camb)* 2017; 21(4): 225-228.
8. Erlich Y *et al.* *Science* 2018; 362: 690-694.
9. Jadva V *et al.* *Hum Reprod* 2009; 24: 1909-1919.
10. Daniels KR *et al.* *Reprod Biomed Online* 2012; 25: 670-677.
11. Herz R *et al.* *Facts Views Vis Obgyn* 2015; 7: 91-100.
12. Johnson L *et al.* *Hum Reprod* 2018; 33: i44.
13. Adam D and Allan S. *Australian J Adoption* 2013; 7: 1-16.
14. Kramer W. available at: <https://www.donorsiblingregistry.com/blog/?p=816>
15. Riggs DW and Russell L. *Hum Reprod* 2011; 26: 266-272.
16. Mc Govern PG and Schlaff WD. *Fertil Steril* 2017; 109: 230-231.
17. Pennings G. *Hum Reprod* 2012; 27: 2881-2885.
18. Provoost *et al.* *J Assist Reprod Genet* 2017; 35: 107-118.
19. Harper JC *et al.* *Hum Reprod* 2016; 31: 1135-1140.
20. Zadeh S. *Hum Reprod* 2016; 31: 2416-2420.
21. Lalos A *et al.* *Hum Reprod* 2007 ; 22 : 1759-1768.
22. Daniels K *et al.* *Hum Reprod* 2009 ; 24 : 1099-1105.
23. Pennings G. *Hum Reprod* 2017 ; 32 : 969-973.