

SESSION 2014

---

**CAPLP  
CONCOURS EXTERNE  
ET CAFEP**

**Section : BIOTECHNOLOGIES  
Option : SANTÉ – ENVIRONNEMENT**

**ÉPREUVE DE MISE EN SITUATION PROFESSIONNELLE**

Durée : 5 heures

---

*L'usage de tout ouvrage de référence, de tout dictionnaire et de tout matériel électronique (y compris la calculatrice) est rigoureusement interdit.*

*Dans le cas où un(e) candidat(e) repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il (elle) le signale très lisiblement sur sa copie, propose la correction et poursuit l'épreuve en conséquence.*

*De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, il vous est demandé de la (ou les) mentionner explicitement.*

***NB : La copie que vous rendrez ne devra, conformément au principe d'anonymat, comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé comporte notamment la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de signer ou de l'identifier.***

**Tournez la page S.V.P.**

## La fonction de reproduction chez la femme

Les connaissances sur la physiologie de la reproduction, les progrès techniques et cliniques ont permis une évolution dans la maîtrise de la reproduction humaine. Ainsi, la contraception et la contragestion assurent le choix du moment et du nombre de grossesses. L'assistance médicale à la procréation (AMP), elle, regroupe les techniques médicales qui permettent d'aider les couples hypoféconds dans leur désir de procréation.

1-Exposer les phénomènes physiologiques qui préparent l'organisme de la femme à la gestation.

Les techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) telles que la fécondation in vitro (FIV), le transfert de gamètes ou de zygotes sont précédés par des traitements hormonaux.

2 Présenter les différents analogues des hormones sexuelles utilisés en thérapeutique.

Pour les femmes de la puberté à la ménopause, il est nécessaire d'ajouter aux pertes basales de fer celles liées aux hémorragies menstruelles.

Celles-ci correspondent à des valeurs allant de 12,5 à 15 mg de fer par mois. Un des facteurs majeurs de variation du volume des règles est l'utilisation de certains modes de contraception. Les contraceptifs oraux peuvent diminuer de 50% ce volume alors qu'une augmentation de plus de 100% peut être observée chez les femmes utilisatrices d'un Dispositif Intra-Utérin (DIU) (*source : Apports nutritionnels conseillés pour la population française, AFSSA*).

3-Proposer les menus sur une journée pour une femme en âge de procréer en vérifiant l'apport en fer.

ANNEXES :

Annexe 1 : Adapté de « **Les analogues des Gonadotrophines** » : médecine thérapeutique endocrinologie reproduction volume 4 n°3 p173-177 mai juin 2002.

Annexe 2 : Adapté de «Recommandation de bonne pratique AFSSAPS » **Les médicaments inducteurs de l'ovulation**, avril 2004.

Annexe 3 : **Teneur en fer des aliments** valeurs obtenues à partir de la table de composition des aliments du CIQUAL (Centre d'Information sur la Qualité des Aliments).

Annexe 4 : **ANC en fer**

Apports nutritionnels conseillés pour la population française Edition Tec et Doc : Lavoisier



## **Annexe 1 : Les analogues des gonadotrophines**

### Un bref historique

La LH, la FSH et l'hCG sont glycoprotéines composées de deux sous-unités liées de façon non covalente, les sous-unités alpha et beta (figure 1). La sous-unité alpha est commune aux trois hormones alors que la sous-unité beta est différente, permettant de conférer à chaque hormone dimérique une activité biologique spécifique. Composée de 92 acides aminés, la sous-unité alpha contient 5 ponts disulfures qui contribuent à sa structure tertiaire, et deux chaînes glucidiques localisées au niveau des asparagines 52 et 78 (sites de N-glycosylation). Les sous-unités beta sont composées de 111 (FSH), 121 (LH) ou 145 (hCG) acides aminés. Bien que différentes, les sous-unités beta comprennent des régions très conservées. Elles ont notamment en commun 12 résidus cystéines localisés à la même position. Alors que la sous-unité beta de la LH (LHbeta) a un site de N-glycosylation, les sous-unités beta de la FSH (FSHbeta) et de l'hCG (l'hCGbeta) ont deux sites de N-glycosylation. Enfin, la sous-unité hCGbeta présente 4 sites de O-glycosylation sur les résidus sérine dans sa partie carboxyl-terminale. Les chaînes oligosacchariques branchées sur les sites de N-glycosylation ou de O-glycosylation représentent 18 à 45% de la masse totale des gonadotrophines et sont responsables de la micro-hétérogénéité observée entre les différentes préparations de gonadotrophines. Surtout, la présence de ces chaînes est indispensable pour induire une réponse biologique dans les tissus cibles.

Historiquement, les gonadotrophines naturelles humaines ont été utilisées en thérapeutique bien avant la caractérisation de leur structure biochimique, et c'est à partir des années 1960 que les gonadotrophines ont été préparées et distribuées par l'industrie pharmaceutique. Initialement, un mélange de FSH et de LH préparé à partir d'urines de femmes ménopausées (Human menopausal gonadotropin ou HMG) a été produit. En parallèle, des préparations d'hCG ont été effectuées à partir d'urines de femmes enceintes. Si les HMG contenant à la fois de la FSH et de la LH dans un rapport de 1 se sont avérées efficaces dans le traitement des anovulations, il a été nécessaire de modifier leur composition pour répondre à d'autres indications, notamment pour la stimulation simultanée de plusieurs follicules pour la fécondation in vitro (FIV) (...) Les observations cliniques et les progrès dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques ont montré que la présence de LH dans les préparations n'était pas essentielle, et des techniques industrielles de purification ont été développées pour éliminer la LH grâce à une chromatographie d'affinité qui retenait cette gonadotrophine. Cependant, le principe actif de ces préparations, à savoir la FSH, représentait moins de 5% des protéines présentes, et les protéines urinaires contaminantes co-purifiées avec le principe actif pourraient être à l'origine d'effets secondaires. Grâce à une chromatographie d'affinité qui permet d'éluer la FSH, il a été possible d'éliminer les protéines contaminantes et, en conséquence, d'augmenter considérablement l'activité spécifique des préparations de FSH.

### La première génération d'analogues de gonadotrophines

Les procédés d'extraction de gonadotrophines à partir d'un milieu biologique naturel (urine) posent le problème de la constance des préparations d'un lot à l'autre. Ce problème a pu être résolu en grande partie grâce aux techniques de recombinaison génétique et à la production de gonadotrophines recombinantes. Les caractéristiques physico-chimiques et structurales des gonadotrophines ont orienté le choix du système d'expression de ces hormones recombinantes et notamment : (i) la structure tertiaire de chaque sous-unité impliquant de nombreux ponts disulfures (11 pour la FSH) ; (ii) la structure quaternaire (l'hétérodimérisation des deux sous-unités) ; et (iii) les modifications post-traductionnelles (la présence de chaînes oligosaccharidiques appropriées).

A titre d'exemple, la FSH recombinante a été produite après isolation des gènes codant pour les sous-unités alpha et beta à partir d'une banque d'ADN génomique de cellules de foie fœtal humain. Ces gènes ont été introduits dans des vecteurs d'expression distincts sous le contrôle d'un promoteur fort. Ces vecteurs ont ensuite été transfectés dans des cellules d'ovaire de hamster chinois (CHO). Ces cellules de mammifère produisent des sous-unités



alpha et beta correctement repliées, glycosylées et assemblées en hormone dimérique avant d'être secrétées dans le milieu de culture dans une conformation biologiquement active. La caractérisation biochimique de la FSH recombinante a montré que, à l'instar des préparations de FSH d'origine hypophysaire ou urinaire, la FSH recombinante contient à la fois des sous-unités dont la séquence en acides aminés correspond à la séquence nucléotidique et des formes tronquées ne comprenant pas les acides aminés aux extrémités N-terminales des deux sous-unités. De façon intéressante, les structures oligosaccharidiques de la FSH recombinante se caractérisent par une sialylation incomplète (ajout d'acide sialique) mais toutes les structures oligosaccharidiques de la FSH recombinante se retrouvent dans le pool de structures de la FSH urinaire.

En pratique, les études cliniques effectuées avec la FSH recombinante, la LH recombinante ou l'hCG recombinante concluent à une remarquable efficacité de ces hormones recombinantes. Par exemple, il a été montré que le taux de réussite de la stimulation ovarienne en termes de grossesse après fécondation in vitro (IVF) ou injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) était semblable en utilisant la FSH recombinante ou les HMG. Une autre étude comparant l'efficacité de la LH recombinante et celle de l'hCG urinaire sur la maturation folliculaire finale (après désensibilisation avec un agoniste de la GnRH et stimulation ovarienne par la FSH recombinante) conclut que la LH recombinante a une efficacité comparable à l'hCG urinaire pour induire la maturation folliculaire finale et la lutéinisation précoce après fécondation in vitro et transfert de l'embryon. Un autre essai clinique a comparé l'hCG recombinante et l'hCG urinaire pour induire la maturation folliculaire et la lutéinisation (après stimulation folliculaire initiale avec la FSH recombinante) chez les femmes bénéficiant de la technologie de reproduction médicalement assistée. Cette étude a montré que l'hCG recombinante est aussi efficace et mieux tolérée que l'hCG urinaire. Finalement, ces différentes études cliniques confirment que ces hormones recombinantes sont de véritables analogues biologiquement actifs et peuvent être considérées comme une première génération d'analogues des gonadotrophines.

#### Vers une nouvelle génération d'analogues de gonadotrophines

De nouvelles données scientifiques ont dû être obtenues avant d'imaginer et de construire de nouveaux analogues des gonadotrophines. Ces données ont porté sur la structure tertiaire et quaternaire des gonadotrophines et sur les relations entre ces structures et leur activité sur les récepteurs.

Les études de structure ont été réalisées par cristallographie et c'est en 1994 qu'a été publiée la structure d'une première gonadotrophine, l'hCG. Il s'avère que l'hCG fait partie de la superfamille des facteurs de croissance à nœud de cystine. Surtout, il a été montré que, de façon surprenante, les sous-unités alpha et beta, bien que n'ayant aucune similitude dans leurs séquences en acides aminés, ont des structures tridimensionnelles remarquablement proches. Enfin, il apparaît que l'hétérodimère serait stabilisé par une « ceinture » formée par l'extrémité carboxyl-terminale de la sous-unité beta qui vient entourer la sous-unité alpha. Des données récentes publiées par le groupe de James Dias montrent que les structures de la FSH présentent des caractéristiques assez semblables.

Pour étudier les relations structure-activité, il a été employé des approches par cartographie épitopique à l'aide d'anticorps, par clivage enzymatique ou chimique ou par mutagenèse dirigée. Grâce à ces approches, il a été montré que l'extrémité carboxyl-terminale de l'hCGbeta (CTP) est responsable de la longue demi-vie de l'hCG dans la circulation. Puisque l'un des problèmes rencontrés en clinique avec la FSH est sa courte demi-vie qui impose des injections multiples, il a été réalisé par recombinaison génétique une fusion du CTP de l'hCGbeta à la sous-unité FSHbeta afin d'obtenir un agoniste de la FSH avec une demi-vie plus longue dans la circulation et une bioactivité in vivo supérieure (figure 2a). A l'inverse, une FSH à demi-vie courte peut être avantageuse dans certaines situations cliniques à haut risque d'hyperstimulation ovarienne. Ceci a été réalisé en éliminant un ou plusieurs groupes sucrés fixés sur les résidus asparagines des chaînes alpha ou beta, ce qui a conduit à des

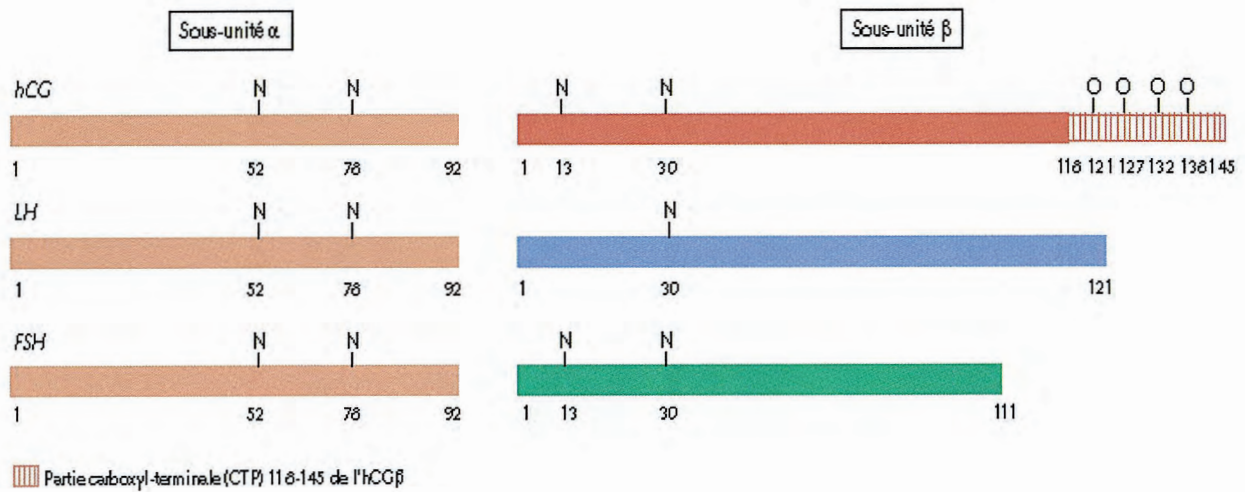


analogues de la FSH éliminés plus rapidement de la circulation et avec une activité in vivo plus faible.

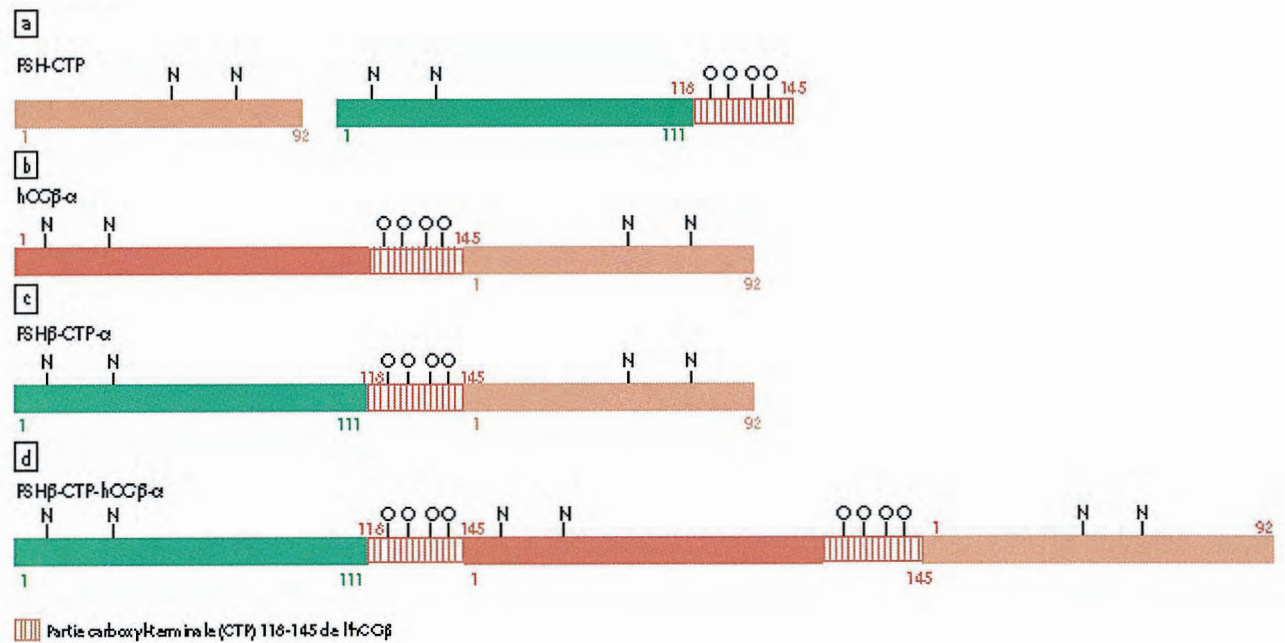
Les études structurales et les données obtenues par mutagenèse dirigée ont également permis de construire des analogues où les problèmes liés à l'assemblage et à la dissociation des sous-unités alpha et beta sont surmontés. Ainsi, il a été construit des analogues de l'hCG « simple chaîne » par fusion de l'extrémité carboxyl-terminale de l'hCGbeta avec l'extrémité amino-terminale de l'hCGalpha (figure 2b). Cette orientation était basée sur les données montrant que les extrémités C-terminale de l'hCGbeta et N-terminale de l'hCGalpha contiennent des sites déterminants pour la liaison avec le récepteur. De plus, l'extrémité CTP de l'hCGbeta sert de « maillon » entre les deux chaînes. De façon également surprenante, il a été montré que l'analogue ainsi produit en cellules CHO ou en cellules d'insectes avait une activité biologique in vitro et in vivo comparable à celle de l'hCG native. Sur ce modèle, des analogues « simple chaîne » de la LH et de la FSH (figure 2c) ont été construits en utilisant toujours le CTP comme « maillon », et il a également été montré que ces analogues étaient biologiquement actifs. Une autre approche a été utilisée pour lier les chaînes alpha et beta : en introduisant des résidus cystéines dans ces chaînes, il a été réalisé des ponts disulfures et il s'avère que les mutants de l'hCG, de la FSH et de la LH ainsi construits se lient à leur récepteur, sont biologiquement actifs et sont plus thermostables que les hormones natives. En fait, ces modèles « simple chaîne » ont été de puissants outils pour mieux comprendre les relations structure-activité des gonadotrophines. Ils ont montré que les résidus de la sous-unité alpha importants pour l'assemblage des sous-unités n'ont pas une forte influence sur la bioactivité puisqu'ils peuvent être remplacés dans les analogues « simple chaîne » sans affecter l'activité biologique de ces analogues. En fait, une association étroite entre les domaines d'interaction alpha et beta n'est pas nécessaire pour l'activité biologique des dimères. Ces données impliquent que, si les interactions quaternaires sont essentielles pour le trafic intracellulaire des hétérodimères (assemblage, apprêtage des oligosaccharides spécifiques de chaque hormone et sécrétion), elles ne le sont pas pour la reconnaissance du récepteur et pour l'activation des signaux. Le fait que les hétérodimères alpha-beta avec différentes conformations (native, « simple chaîne », addition de ponts disulfures...) se lient et activent le récepteur suggèrent que les récepteurs des gonadotrophines reconnaissent différentes formes de ligands. Une telle permissivité pour des variations structurales des dimères alpha-beta pourrait être due au domaine extracellulaire des récepteurs pour ces hormones, qui est particulièrement large.

Cette permissivité a des implications importantes dans la définition d'analogues de gonadotrophines utilisables en clinique puisque des contraintes structurales modérées facilitent la construction d'agonistes ou d'antagonistes avec une taille et une complexité réduites (...)

**Figure 1 :**



**Figure 2 :**





## **Annexe 2 : Les hormones utilisées comme médicaments inducteurs de l'ovulation.**

### Introduction

Un couple infertile est un couple qui ne peut concevoir. Environ un couple sur six consultera pour demander une aide à la conception.

Les principales causes de stérilité sont :

- Les troubles de l'ovulation : Ils sont en cause en France dans environ 32% des cas.
- Les pathologies tubo-péritonéales : sont en cause dans 11 à 26 % des cas.
- Les anomalies de l'interaction glaire-spermatozoïde peut être en cause dans 4 à 15% des stérilités.
- La stérilité masculine : Une cause masculine isolée est retrouvée dans 10 à 26% des cas ; elle est associée dans 39%, à un problème féminin.
- La stérilité inexplicquée : La stérilité demeure inexplicquée dans 8 à 30% des cas.

### 1 Les gonadotrophines humaines d'origine urinaire et d'origine recombinante

Recommandations :

L'utilisation des gonadotrophines est recommandée dans :

- 1°) L'induction de l'ovulation hors procréation médicalement assistée
- 2°) L'induction de l'ovulation en vue d'insémination intra-utérine (Grade : A).
- 3°) La stimulation de l'ovulation en vue d'une fécondation in vitro

Quel schéma thérapeutique recommander ?

Il doit être adapté à chaque patiente, en fonction de l'indication, de son âge et de sa réponse ovarienne. Le monitoring de l'ovulation est indispensable (dosage d'estradiol, échographie folliculaire) pour prévenir la survenue de grossesses multiples et d'hyperstimulations ovariennes. La décision de déclenchement doit tenir compte du nombre de follicules en croissance et du terrain.

Quelles gonadotrophines choisir ?

Utilisées depuis plus de 40 ans, les gonadotrophines humaines d'origine urinaire n'ont fait l'objet d'aucun cas rapporté de contamination virale ou par agents non conventionnels. Les gonadotrophines humaines d'origine recombinante sont produites par génie génétique.

Hors fécondation in vitro

Aucune différence significative n'a été démontrée en termes de grossesses cliniques entre les gonadotrophines humaines d'origine urinaire et les gonadotrophines humaines d'origine recombinante.

En fécondation in vitro

La majorité des études montrent une efficacité légèrement supérieure des gonadotrophines humaines d'origine recombinante par rapport aux gonadotrophines d'origine urinaire en termes du nombre d'ovocytes recueillis et du nombre d'embryons totaux obtenus. Néanmoins, les taux de grossesses après transfert d'embryons ne sont pas significativement différents lorsque les patientes reçoivent des gonadotrophines d'origine recombinante ou des gonadotrophines humaines d'origine urinaire.

### 2- Les agonistes de la GnRH

Recommandations :

L'utilisation des agonistes de la GnRH est recommandée dans la prévention de l'ovulation prématurée au cours de la stimulation de l'ovulation par les gonadotrophines en vue d'une procréation médicalement assistée.



Quel schéma thérapeutique recommander ?

Deux protocoles sont recommandés :

-Protocole long

Il a été le premier décrit et reste le plus utilisé en France. Ce protocole induit une désensibilisation hypophysaire pour obtenir une quiescence ovarienne avant la stimulation par gonadotrophines. Le traitement est poursuivi jusqu'à l'administration d'hCG.

-Protocole court

Ce protocole induit une libération initiale des hormones gonadotropes endogènes qui permet, en association avec les gonadotrophines exogènes un recrutement folliculaire. Il est poursuivi jusqu'à l'administration d'hCG.

Quel agoniste de la GnRH choisir ?

Aucune différence d'efficacité n'a été retrouvée entre les diverses molécules.

Comparativement aux formes à action rapide, les formes à libération prolongée induisent une désensibilisation hypophysaire plus profonde et plus durable que les formes à action rapide.

### 3. Les antagonistes de la GnRH

Recommandations :

Les antagonistes de la GnRH sont d'un usage plus récent. Leur place exacte dans la stratégie thérapeutique de l'assistance médicale à la procréation est en cours de définition.

L'utilisation des antagonistes de la GnRH est recommandée dans la prévention de l'ovulation prématurée au cours d'une stimulation de l'ovulation par les gonadotrophines en vue d'une procréation médicalement assistée

Quel schéma thérapeutique recommander ?

Deux schémas peuvent être utilisés :

Protocole monodose

Il consiste en l'administration d'une injection, dont l'efficacité est d'environ 96 heures

Protocole multidose

Il consiste en l'administration d'une injection quotidienne jusqu'au jour du déclenchement inclus

Il n'y a pas d'étude disponible comparant les divers produits entre eux, ni les différents protocoles.

### 4. La GnRH pulsatile

Recommandations :

L'utilisation de la GnRH pulsatile est recommandée dans l'induction de l'ovulation :

Notamment en cas d'anovulation fonctionnelle d'origine hypothalamique

Quel schéma thérapeutique recommander ?

Il est recommandé de commencer le traitement dès le début du cycle spontané ou provoqué ; celui-ci sera maintenu au minimum jusqu'à l'obtention, soit de l'ovulation, soit d'un développement folliculaire

**Annexe 3 : Teneur moyenne des aliments en fer**

Aliments	Teneur moyenne en fer (mg / 100 g)
Lait demi-écrémé	0,1
Camembert	0,6
Emmental	0,8
Yaourt	0,1
Fromage blanc	0,4
Faux filet de bœuf	3
Porc, filet maigre	0,8
Foie de bœuf	12
Abats	6 à 10
Cabillaud	0,4
Cacao	12
Thon au naturel	1,6
Moules	7,9
Jaune d'œuf	7
Pain	2,5
Biscotte	1,3
Pâtes alimentaires crues	1,8
Riz blanc cuit	0,2
Lentilles	7
Haricots blancs	9
Epinards	3
Carottes crues	0,3
Laitue	0,3
Avocat	1
Banane	0,4
Raisins secs	2,4
Beurre	0,2
Huiles	0
Cacao	12,5
Chocolat à croquer	2,9
Confiture	0,5
Vins	6 à 12



**Annexe 4 : ANC en fer**

<b>Age/état</b>	<b>ANC en Fer</b>
Enfants 1 à 3 ans	7 mg
Enfants 4 à 12 ans	7 à 10 mg
Adolescents 13 à 19 ans	13 à 16 mg
Homme	9 mg
Femme	16 mg
Femme enceinte	30 mg
Femme allaitante	10 mg
Personnes âgées	9 à 10 mg