



Dr. Benhalifa získal PhD titul v roku 1992 na univerzite vo francúzskom Clermont Ferrand. Získal kvalifikáciu v odbore reprodukčnej biológie a lekárskej cytogenetiky a zaobráva sa hlavne technológiami asistovanej reprodukcie a genetickou praxou. Od roku 2006 pôsobí ako konzultант pre oblasť reprodukčnej biologie a genetiky v laboratóriach Eylau Laboratories / Unilabs v Paríži a ako technický riaditeľ Unilabs vo Francúzsku.

Dr. Benhalifa spolupracuje s rôznymi skupinami zameranými na IVF a genetiku pre potreby klinickej praxe a výskumu. Je autorom a spoluautorom viac ako 80 domáčich a zahraničných publikácií so zameraním hlavne na výskum a vývoj v oblasti embryológie a genetiky.

Dr. Benhalifa obtained his Ph.D. in 1992 from the Clermont Ferrand University. He is qualified in Reproductive Biology and Medical Cytogenetics and he is mainly involved in ART and Genetics practice. Since 2006 he has been a consultant in Reproductive Biology & Genetics in Eylau Laboratories / Unilabs Paris and Technical Director of Unilabs in France.

Dr. Benhalifa is collaborating with different teams involved in ART and Genetics for clinical practice and research. He is the author and co-author of more than 80 national and international publications with a main interest in Research & Development in Embryology and Genetics.

Dr. Moncef Benhalifa, PhD., RBMG.

M. Benhalifa, A. Demirol, D. Montjean, Y. Menezo, M. Dattilo, T. Gurban

Stimulácia folikulov: dizajnovanie novej stratégie na základe rôznych typov glykozylovaného FSH

Follicular stimulation: designing new strategies based on differently glycosylated FSH type

V asistovanej reprodukcii by sa mali výsledky stimulácie ovulácie hodnotiť na základe pevne stanovených klinických cieľov, akými sú počet pokračujúcich tehotností a počet živo narodených detí. To ale vyžaduje štúdiu s obrovským súborom, ktorý je náročné vytvoriť v jednom výskumnom centre. V súčasnosti ponúkajú nano a microarray technológie nový nástroj na hodnotenie špecifických biologických a molekulárnych väzieb, ku ktorým dochádza počas stimulácie ovulácie kombináciami rôznych izoforiem FSH a môžu tak pomôcť vybrať najlepší stimulačný protokol.

Preto sme iniciovali prospektívnu štúdiu, v ktorej boli pacientky v programe IVF randomizované do 3 režimov stimulácie ovulácie: rekombinantný FSH, derivátom humánneho FSH, alebo kombináciou oboch - t.j. prvých 6 dní humánnym FSH a následne až do ukončenia cyklu rekombinantným FSH. Transkriptóm kumulárnych buniek sa získal u 64 pacientok. Po RNA extrakcii, RTPCR a cDNA označení sa transkriptomy profilovali pomocou microarray systému génovej expresie (Affymetrics HG.U133 plus2.0.) Údaje sa zošupili a porovnali podľa stimulačných protokolov, pričom za signifikantnú sa považovala hodnota $p < 0,0001$.

Analýza údajov preukázala, že expresia niektorých génov, ktoré sa podielajú na špecifických biologických procesoch a molekulárnych funkciách, bola pri porovnaní jednotlivých stimulačných protokolov rôzna. Analyzovali sme zoskupenie 579 reguláčnych génov podielajúcich sa na špecifických biologických procesoch a molekulárnych funkciách. Pri biologických procesoch sme zaznamenali, že humánny FSH aktivoval proces bunkovej komunikácie signifikantne výraznejšie ako rekombinantný FSH. Protokol s kombináciou oboch typov FSH ovplyvnil bunkovú motilitu a proteínovú syntézu v porovnaní s ostatnými typmi protokolov signifikantne najvýraznejšie. Pri molekulárnych funkciách sme zistili, že kombinácia oboch typov FSH ovplyvnila cytoskeletálne a iné proteíny signifikantne výraznejšie ako samotný rekombinantný FSH. Naopak, rekombinantný FSH mal signifikantne výraznejší vplyv na ligázu a ribozomálne proteíny ako samotný humánny FSH. V blízkej budúcnosti, ak sa nám podarí odstrániť pretrvávajúce technické porchy vo využití výhodných a výrieší cenových efektivít technológií, sa pri výskumných metódach v rámci IVF otvorí priestor pre využitie technológií, ktoré majú v názve koncovky „-om“ a „-omika“. Najlepšie techniky pre asistovanú reprodukciu budú neinvazívne postupy s využitím týchto technológií, ktoré budú určené na kontrolu kvality gamét a embryí.

Na základe našich údajov rôzne glykozylované formy FSH majú rôzny vplyv na aktiváciu genomu kumulárnych buniek po folikulárnej stimulácii v rámci IVF. Klinický význam týchto zistení je v súčasnosti stále nejasný, hoci profil aktívacie po použití protokolu s kombinovaným typom FSH, ktorý do určitej miery napodobňuje fyziologický model, sa javí slubne a je hodný ďalšieho výskumu. Je potrebné identifikovať najlepšiu kombináciu glykoforiem FSH, kinetiku podávania a dávky hormónov, aby sa IVF cyklus stal efektívnejší.

Prehlásenie: táto štúdia bola čiastočne podporená nepodmieneným výskumným grantom od spoločnosti IBSA, Švajčiarsko.

In assisted reproductive technology the outcome should be evaluated based on clinical endpoints such as ongoing pregnancy and live birth rates, which requires a huge sample size that is difficult to collect at one investigational centre. The nano and micro array technologies are now offering a new tool to evaluate the effect of different FSH isoform mix on the response of specific biological and molecular pathways during the ovarian stimulation and may constitute a valuable approach to identify the best practice for ovarian stimulation protocol.

For this we initiated a prospective study, patients undergoing an IVF program were randomised for 3 ovarian stimulation regimens: recombinant FSH, human-derived FSH or a sequential combination of both, namely the starting 6 days with human-derived FSH followed by recombinant FSH up to cycle completion. Cumulus cells transcriptome was obtained from 64 patients. Following RNA extraction, RTPCR and cDNA labelling the transcriptomes were profiled using microarray gene expression system (Affymetrics HG.U133 plus2.0.) The data were clustered and compared according to stimulation regimens. The p-value $< 1.10^{-4}$ was assumed as significant.

The data analysis showed that several genes involved in specific biological processes and molecular functions were differentially expressed from one stimulation regimen to the other. We analyzed the clustering of 579 regulated genes involved in specific biological processes and molecular functions. Among biological processes, we noticed that human-derived FSH activated the cell communication process significantly more than recombinant. The sequential regimen influenced cell motility and protein synthesis significantly more than either human-derived or recombinant alone regimens. Among molecular functions we found that the sequential regimen influenced miscellaneous and cytoskeletal proteins significantly more than recombinant alone whereas it was significantly more active than human-derived alone on ligase and ribosomal proteins. In the near future if we resolve the remaining technical troubleshooting of interpretation, the cost effective of the technology (Economics) a real window of application of omes and omics for investigation and diagnostics in ART will be opened. The best techniques for ART will be non invasive omes and omics tools destinatied to control the quality of gametes and embryos.

Based on our data differently glycosylated FSH mix exert different effects on the activation of the genome of cumulus cells following follicular hyperstimulation. The actual clinical meaning of these findings is still unclear, however, the profile of activation exerted by the sequential regimen, which is to some extent mimicking a physiologic pattern, appears promising. It is needed to identify the best combination of FSH glycoform mix, the sequential kinetic administration and doses of hormones to make IVF cycle more efficient.

Disclaimer: this study was partially supported by an unconditioned research grant from IBSA, Switzerland.