

**M/S : médecine sciences**



## **Mitochondries et reproduction Mitochondria in reproduction**

Pascale May-Panloup, Marie-Françoise Chrétien, Yves Malthièry and Pascal Reynier

Volume 20, Number 8-9, août–septembre 2004

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/008982ar>

[See table of contents](#)

### Publisher(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences  
Éditions EDK

### ISSN

0767-0974 (print)  
1958-5381 (digital)

[Explore this journal](#)

### Cite this article

May-Panloup, P., Chrétien, M.-F., Malthièry, Y. & Reynier, P. (2004).  
Mitochondries et reproduction. *M/S : médecine sciences*, 20(8-9), 779–783.

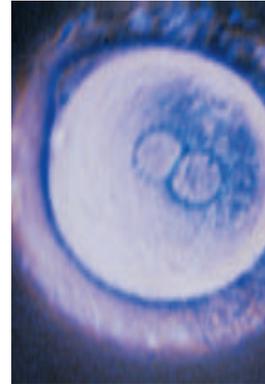
### Article abstract

Mitochondria play a primary role in cellular energetic metabolism. They possess their own DNA, which is exclusively maternally transmitted. The relatively recent idea that mitochondria may be directly involved in human reproduction is arousing increasing interest in the scientific and medical community. It has been shown that the functional status of mitochondria contributes to the quality of oocytes and spermatozoa, and plays a part in the process of fertilisation and embryo development. Moreover, new techniques, such as ooplasm transfer, compromise the uniquely maternal inheritance of mitochondrial DNA, raising important ethical questions. This review discusses recent information about mitochondria in the field of human fertility and reproduction.

# Mitochondries et reproduction

Pascale May-Panloup, Marie-Françoise Chrétien, Yves Malthièry, Pascal Reynier

> Les mitochondries jouent un rôle central dans le métabolisme énergétique cellulaire. Une de leurs particularités est de posséder leur propre génome, dont la transmission est exclusivement maternelle. Leur implication dans la reproduction humaine est une notion relativement récente qui suscite un intérêt scientifique et médical croissant. Elles peuvent influencer la qualité des ovocytes et des spermatozoïdes, mais aussi la fécondation et le développement embryonnaire. De nouvelles techniques thérapeutiques telles que le transfert de cytoplasme ovocytaire compromettent fortement la transmission uniparentale de l'ADN mitochondrial et soulèvent d'importantes questions éthiques. Cet article tente de faire le point sur les acquisitions récentes concernant le rôle des mitochondries dans la fertilité et la reproduction humaines. <



P. May-Panloup, M.F. Chrétien :

Service d'Histologie-cytologie-embryologie, CHU d'Angers, 4, rue Larrey, 49033 Angers, France.

Y. Malthièry, P. Reynier :

Inserm E0018, Service de Biochimie et biologie moléculaire, CHU d'Angers,

4, rue Larrey,

49033 Angers, France.

[pamaypanloup@chu-angers.fr](mailto:pamaypanloup@chu-angers.fr)

piratoire sont codées par le génome mitochondrial (Figure 1) [1].

Le nombre de copies d'ADN mitochondrial (ADNmt) par cellule varie de quelques dizaines à plusieurs milliers selon le type cellulaire. L'homoplasmie, c'est-à-dire l'existence d'une séquence unique de la molécule d'ADNmt dans toutes les cellules, est la règle dans la plupart des organismes vivants. L'hétéroplasmie correspond à la coexistence, dans une cellule ou un tissu, de deux types de génomes mitochondriaux qui diffèrent par la présence de mutation(s) ou de polymorphisme(s).

## Mitochondrie et fertilité masculine

La spermatogenèse est associée à une réduction majeure du nombre de mitochondries et de copies du génome mitochondrial. L'arrêt de la réplication de l'ADNmt serait lié à une réduction de l'expression de *Tfam* (transcription factor A mitochondrial), principal facteur de régulation de la transcription et de la réplication de l'ADNmt [3]. Le spermatozoïde humain mature possède des mitochondries extrêmement différenciées, qui s'enroulent en 11 à 13 tours de deux mitochondries par tour au niveau de la pièce intermédiaire. Ces mitochondries délivrent à l'axonème l'ATP nécessaire au mouvement flagellaire. L'inhibition spécifique des complexes de la chaîne respiratoire a démontré que la mobilité spermatique était directement dépendante de la phosphorylation oxydative [4].

La prise en charge de l'infertilité a connu ces dernières années un essor remarquable grâce à l'utilisation de nouvelles techniques d'assistance médicale à la procréation. En dépit de ces avancées, le taux moyen de grossesses obtenues après fécondation *in vitro* ne dépasse pas 25% par transfert d'embryon. L'évaluation de la qualité des gamètes et de leur maturation est un critère essentiel pour comprendre les échecs de fécondation ou d'évolution embryonnaire. Parmi les facteurs déterminant cette qualité, les mitochondries requièrent une attention toute particulière. Les mitochondries sont en effet le siège de nombreuses réactions du catabolisme cellulaire qui aboutissent, grâce au processus de phosphorylation oxydative, à la production d'énergie sous forme d'ATP [1]. Les mitochondries jouent également un rôle déterminant dans l'apoptose, la thermogenèse et l'homéostasie du calcium, et dans de nombreuses voies anaboliques comme la synthèse de l'hème, des protéines fer-soufre, des nucléotides et des stéroïdes [2].

Le protéome mitochondrial humain comporte environ 1 000 protéines dont la plupart sont codées par le génome nucléaire. Seules 13 protéines de la chaîne res-

Le nombre moyen de copies d'ADNmt présentes dans les spermatozoïdes matures a été estimé à 10 chez l'homme et chez la souris grâce à des techniques de PCR quantitative en temps réel, tandis que les spermatozoïdes murins en comporteraient 15 fois plus [5-7]. De manière surprenante, nous avons observé que le nombre de copies d'ADNmt était significativement augmenté dans les spermatozoïdes anormaux, les spermatozoïdes de bonne qualité étant quasiment dépourvus d'ADNmt (Figure 2) [6]. Le taux d'ADNmt, témoin du processus de réduction mitochondriale, pourrait donc être un marqueur de la maturation spermatique.

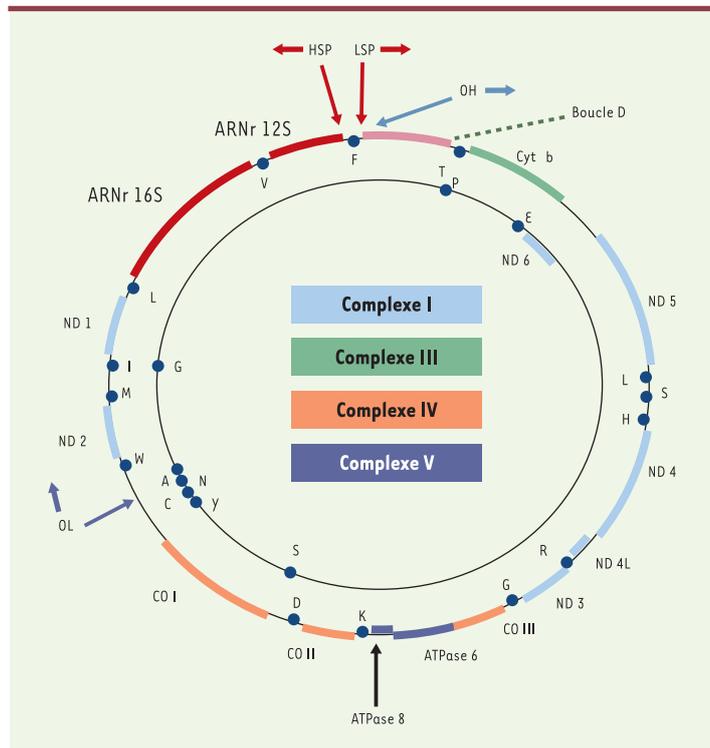
Les anomalies qualitatives de l'ADNmt peuvent altérer la qualité spermatique. Une oligoasthénospermie a été observée chez des patients présentant des mutations ponctuelles ou des délétions de l'ADNmt [8, 9]. Le stress oxydatif, fréquemment observé dans le sperme [10] et auquel l'ADNmt est particulièrement sensible [11], pourrait être à l'origine des nombreuses délétions de l'ADNmt mises en évidence dans les spermatozoïdes [12, 13]. Les conséquences fonctionnelles de ces délétions chez les patients infertiles demeurent cependant controversées [12].

Par ailleurs, certains haplogroupes mitochondriaux (combinaisons spécifiques de polymorphismes nucléotidiques qui reflètent l'évolution des populations) ont été corrélés à la qualité spermatique [14]. L'haplogroupe T, surreprésenté chez les patients asthénospermiques, s'accompagne d'une baisse significative de l'activité des complexes I et IV de la chaîne respiratoire dans le sperme. Des anomalies de gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales sont aussi associées à certaines infertilités. Ainsi, certaines oligoasthénospermies ont été associées à des polymorphismes de l'ADN polymérase spécifique de l'ADNmt (POLG) ou à des mutations de la glutathion S-transférase M1.

Le pouvoir fécondant du sperme est directement lié à l'activité mitochondriale. L'incubation du sperme de patients infertiles avec de l'ATP améliore le taux de fécondation *in vitro* [15]. En revanche, les mitochondries paternelles ne participent pas au développement embryonnaire précoce. En effet, le traitement par le cyanure (inhibiteur spécifique du complexe IV de la chaîne respiratoire) des spermatozoïdes injectés dans un ovocyte ne perturbe pas le développement embryonnaire [16].

La transmission uniparentale de l'ADNmt est un processus classiquement admis. La disproportion numérique entre les ADNmt spermatiques et ovocytaires dans l'œuf fécondé, l'élimination spécifique des mitochondries paternelles dans l'ovocyte et l'absence de répllication de l'ADNmt au sein de l'ovocyte fécondé sont autant de mécanismes avancés pour rendre compte de l'absence de transmission de l'ADNmt paternel. Les mécanismes de reconnaissance et de destruction des mitochondries paternelles dans l'ovocyte sont la suite

d'un processus d'ubiquitinylation débuté au cours de la spermatogenèse. Une protéine membranaire mitochondriale, la prohibitine, en serait la principale cible [17]. Les sites ubiquitylés seraient masqués par des ponts disulfures au cours du transit épидидymaire et découverts uniquement lors de la décondensation du spermatozoïde dans le cytoplasme ovocyttaire. Une destruction des mitochondries paternelles par le protéasome ovocyttaire se produirait au plus tard lors de la troisième division cellulaire embryonnaire [18]. Ce mécanisme semble spécifique d'espèce, car on observe la persistance des mitochondries paternelles dans des embryons de souris issus de croisements interspécies [19]. Seules les mitochondries de la lignée germinale masculine sont concernées par cette destruction spécifique, car l'injection de mitochondries de différents tissus dans des ovocytes de souris conduit à la persistance de l'ADNmt étranger chez les nouveau-nés [7].

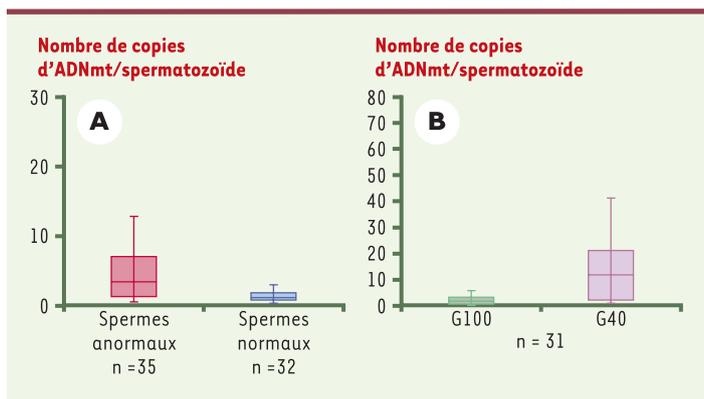


**Figure 1. Organisation du génome mitochondrial.** Le génome mitochondrial, support de l'hérédité cytoplasmique, est une molécule d'ADN circulaire double brin de 16569 paires de bases. Les gènes qui le composent sont 2 gènes d'ARN ribosomiques (12S et 16S), 22 gènes d'ARN de transfert nécessaires à l'expression de l'ADNmt (représentés par les points) et 13 gènes codant pour des protéines de la chaîne respiratoire. ND: NADH-déshydrogénase; Cytb: cytochrome b (ubiquinone-cytochrome c-réductase); CO: cytochrome c-oxydase; ATPase: ATP-synthase. La boucle D est une région de contrôle de la répllication et de la transcription qui comporte deux promoteurs de transcription (HSP et LSP) et une origine de répllication (OH).

## Mitochondrie et fertilité féminine

Une biogenèse mitochondriale intense est associée à l'ovogenèse, au cours de laquelle on observe une croissance spectaculaire du cytoplasme ovocytaire (le diamètre de l'ovocyte passe de 30 à 120  $\mu\text{m}$ ) et une accumulation des substrats énergétiques. Plus précisément, un phénomène de restriction puis d'amplification du contingent mitochondrial se produit durant l'ovogenèse. Ce phénomène d'expansion clonale à partir d'un très faible nombre d'ADNmt sélectionnés permettrait à l'ovocyte, et donc au futur individu, de recevoir une population homogène homoplasmique d'ADNmt. Les cellules germinales primordiales ne contiendraient qu'une dizaine de copies d'ADNmt, alors que les ovocytes en fin de croissance en renfermeraient jusqu'à  $4 \cdot 10^5$  [20], faisant des ovocytes les cellules les plus riches en mitochondries de l'organisme. Ce « goulot génétique », en homogénéisant la population d'ADNmt, permet normalement d'éliminer les rares formes mutées. Mais si cette sélection inclut accidentellement un ADN muté, elle pourra accélérer une dérive génétique qui fixera rapidement une mutation dans la descendance. La quantification de l'ADNmt dans les ovocytes humains non fécondés au cours de protocoles de fécondation *in*

*vitro* a été réalisée par PCR quantitative en temps réel. Les valeurs retrouvées s'échelonnent entre 50 000 et 400 000 copies d'ADNmt par ovocyte [21, 22]. Ces études réalisées sur des ovocytes isolés montrent, de manière surprenante, une très grande variabilité entre les ovocytes, y compris entre les ovocytes d'une même cohorte. Cependant, d'une manière générale, les cohortes d'ovocytes présentant un échec de fécondation *in vitro* sont significativement beaucoup moins riches en ADNmt que les cohortes présentant un taux normal de fécondation (Figure 3) [22]. Ces résultats suggèrent fortement qu'il existe un lien, dans l'espèce humaine, entre la richesse en ADNmt d'un ovocyte et sa fécondabilité. Il reste toutefois à déterminer si cette déplétion en ADNmt est directement responsable de l'hypofertilité, ou si elle n'est que le reflet d'un état de maturation cellulaire incomplet. Comme pour les spermatozoïdes, le taux d'ADNmt dans les ovocytes constituerait néanmoins un excellent marqueur de maturation cytoplasmique. La littérature rapporte peu d'anomalies qualitatives de l'ADNmt ovocytaire. La délétion la plus commune de 4 977 paires de bases a été retrouvée dans 33% à 66% des ovocytes humains, sans qu'aucune corrélation avec l'âge maternel soit retrouvée. Le taux d'hétéroplasmie de ces délétions étant voisin de 0,1%, il semble peu probable qu'il puisse entraîner un quelconque retentissement fonctionnel [23]. Enfin, de récents résultats obtenus sur des ovocytes de vache démontrent que les haplogroupes mitochondriaux influencent le taux de production de blastocystes indépendamment de la qualité du sperme utilisé [24]. Cette donnée suggère un effet maternel important porté par l'ADNmt.



**Figure 2. Quantification de l'ADNmt dans les spermatozoïdes sélectionnés par gradient de centrifugation.** **A.** Comparaison du taux moyen d'ADNmt (PCR quantitative en temps réel, ADNmt/ $\beta$ -globine) par spermatozoïde dans le sperme de patients présentant des paramètres spermatiques normaux (selon les critères de l'OMS) et anormaux (étude sur la couche 100% après centrifugation sur gradient de densité Puresperm). **B.** Comparaison du taux moyen d'ADNmt par spermatozoïde entre deux fractions spermatiques obtenues pour chaque patient après centrifugation sur gradient de densité. G100 correspond à la fraction de plus forte densité contenant les spermatozoïdes les plus potentiellement féconds, et G40 à une fraction retenant une majorité de spermatozoïdes anormaux. On observe une différence significative ( $p < 0,001$ ) pour chacune de ces comparaisons. De manière générale, le taux d'ADNmt serait inférieur dans les spermatozoïdes normaux, suggérant un lien entre la qualité gamétique masculine et le taux d'ADNmt.

## Mitochondrie et développement embryonnaire

La fécondation s'accompagne d'une redistribution majeure du réseau mitochondrial ovocytaire. Les mitochondries de l'ovocyte, dispersées avant la fécondation au sein du cytoplasme, sont redistribuées dans le zygote autour des deux pronoyaux, probablement pour fournir l'ATP nécessaire aux événements nucléaires. Avant la compaction, le contingent mitochondrial maternel ovocytaire serait suffisant pour assurer l'apport énergétique et métabolique nécessaire au développement embryonnaire, puisque l'exposition à des inhibiteurs de la transcription et de la traduction mitochondriales ne perturbe pas le développement jusqu'au stade de blastocyste chez la souris [25]. Après les premières divisions cellulaires, à un stade variable selon l'espèce [26], la production d'ATP augmente, témoin d'une nette reprise de l'activité mitochondriale et du métabolisme oxydatif. Ce phénomène serait essentiel à la production d'énergie nécessaire aux synthèses et aux processus morphologiques qui se déroulent au cours des phases de compaction et de blastulation. La croissance de l'activité mitochondriale se manifeste par une augmentation des transcrits et des protéines de la

chaîne respiratoire [27], par de profondes modifications morphologiques (décondensation de la matrice mitochondriale, élongation des organelles et augmentation du nombre de crêtes) et par une augmentation de la consommation des principaux substrats énergétiques [26, 28].

Le contenu en ATP serait un bon indicateur de la vitalité de l'embryon préimplantatoire et de sa capacité développementale [29]. Cette hypothèse est corroborée par le fait qu'une réduction expérimentale du taux d'ATP ovocytaire chez la souris entraîne une baisse de la capacité développementale des embryons qui en sont issus. De plus, il a été observé une absence d'activation métabolique dans les embryons spontanément arrêtés en phase préimplantatoire. Des expériences de transfert de cytoplasme, chez l'animal, entre un ovocyte donneur normal et un ovocyte de mauvaise qualité ont montré qu'il était possible de restaurer chez ces derniers un potentiel développemental normal [30]. Si de nombreux composants cytoplasmiques (substrats énergétiques, protéines, ARN messagers) peuvent être à l'origine de ce phénomène de «sauvetage», les mitochondries jouent probablement un rôle essentiel [31] puisque le transfert de mitochondries purifiées est, à lui seul, capable d'augmenter la production d'ATP de l'ovocyte receveur [32] et de prévenir l'apoptose ovocytaire [33]. Il ne semble pas y avoir de réplication de l'ADNmt avant l'implantation embryonnaire. La plupart des études réalisées chez la souris montrent que le taux d'ADNmt demeure constant jusqu'à la gastrulation [34]. Parallèlement, les expériences de transgénèse ont montré que les mutants homozygotes invalidés pour le gène *Tfam* étaient capables d'évoluer jusqu'à la gastrulation. Néanmoins, ces embryons présentaient un grave retard de croissance, d'importantes malformations et n'étaient plus viables à partir du dixième jour de vie embryonnaire. Ces résultats confirment l'absence d'implication de la réplication de l'ADNmt dans le développement embryonnaire précoce, et son rôle primordial aux stades plus tardifs.

### Risques potentiels associés aux techniques de procréation médicalement assistée

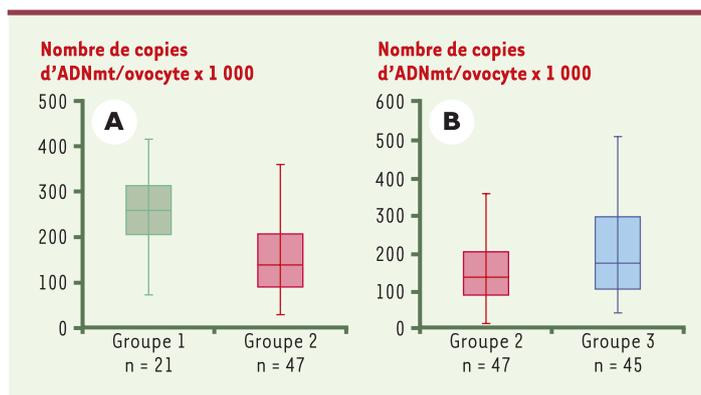
Certaines données récentes remettent en cause la transmission uniparentale de l'ADNmt au cours de la fécondation naturelle. Chez l'homme, la persistance de l'ADNmt paternel a été mise en évidence dans les tissus extra-embryonnaires [35], ainsi qu'au niveau du muscle squelettique d'un patient adulte affecté par une myopathie mitochondriale [36]. La fréquence de ce phénomène, qui n'est pas encore précisément connue, semble toutefois particulièrement faible. L'utilisation des nouvelles techniques de biologie de la reproduction pourrait entraîner une hétéroplasmie constitutionnelle importante. Bien que les premières études sur la transmission de l'ADNmt après ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*) montrent que l'ovocyte élimine parfaitement l'ADNmt du spermatozoïde injecté [37], l'utilisation de

gamètes de qualité médiocre (spermatozoïdes immatures plus riches en ADNmt) pourrait rendre possible ce risque de transmission paternelle de l'ADNmt.

Une hétéroplasmie a clairement été mise en évidence chez les individus nés d'une fécondation *in vitro* avec transfert de cytoplasme. Cette technique a été utilisée pour traiter avec succès l'infertilité de patientes présentant une mauvaise qualité ovocytaire et des échecs répétés de fécondation *in vitro* [38]. La procédure consiste à injecter dans l'ovocyte de la patiente, 5% à 15% du cytoplasme d'un ovocyte donneur, de manière concomitante à l'injection intracytoplasmique du spermatozoïde du conjoint. Une trentaine d'enfants ont été ainsi conçus à ce jour, principalement aux États-Unis. L'hétéroplasmie persiste après la naissance et s'avère variable en fonction du tissu étudié [39]. L'utilisation de telles techniques en clinique humaine soulève le problème de la naissance d'individus porteurs d'information génétique issus de trois « parents ». Outre les préoccupations éthiques qu'elles suscitent, il est impossible en l'état actuel des connaissances d'évaluer les conséquences à long terme de cette hétéroplasmie artificielle, et donc les éventuels risques pathogènes.

### Conclusions

L'étude des interactions entre les facteurs génétiques nucléaires, génétiques cytoplasmiques et épigénétiques



**Figure 3. Quantification de l'ADN mitochondrial dans les ovocytes isolés après échec de la fécondation *in vitro* (PCR quantitative en temps réel, ADNmt/ovocyte isolé).** **A.** Le nombre de copies d'ADNmt dans les ovocytes non fécondés pour cause probablement spermatique (groupe 1) est significativement supérieur ( $p < 0,001$ ) à celui retrouvé dans des ovocytes issus d'échecs de fécondation sans étiologie spermatique avérée (groupe 2). **B.** Les ovocytes collectés à partir de cohortes avec échec de fécondation (< 20% d'ovocytes fécondés) (groupe 2) présentent un taux d'ADNmt significativement inférieur ( $p < 0,02$ ) à celui des ovocytes collectés à partir de cohortes normalement fécondées (> 20% d'ovocytes fécondés) (groupe 3). Globalement, le taux d'ADNmt ovocytaire est relié à la fécondabilité et donc à la qualité ovocytaire.

est un défi majeur de la recherche en biologie de la reproduction pour les prochaines années. La mitochondrie joue indéniablement un rôle important dans les processus de maturation gamétique, de fécondation et de développement embryonnaire. Des anomalies de la fonction mitochondriale, jouant un rôle à tous les stades de la reproduction, sont susceptibles de rendre compte d'une part non négligeable des troubles de la fertilité humaine. L'analyse des mécanismes moléculaires mis en jeu dans la régulation de la biogenèse et du métabolisme mitochondrial devrait ainsi permettre d'améliorer la compréhension de la physiologie de la reproduction. Les perspectives de thérapie mitochondriale ne sont probablement pas d'un intérêt négligeable dans un avenir plus lointain, même si elles nécessitent une expérimentation animale rigoureuse avant d'être raisonnablement envisagées. ♦

## SUMMARY

### Mitochondria in reproduction

Mitochondria play a primary role in cellular energetic metabolism. They possess their own DNA, which is exclusively maternally transmitted. The relatively recent idea that mitochondria may be directly involved in human reproduction is arousing increasing interest in the scientific and medical community. It has been shown that the functional status of mitochondria contributes to the quality of oocytes and spermatozoa, and plays a part in the process of fertilisation and embryo development. Moreover, new techniques, such as ooplasm transfer, compromise the uniquely maternal inheritance of mitochondrial DNA, raising important ethical questions. This review discusses recent information about mitochondria in the field of human fertility and reproduction. ♦

## RÉFÉRENCES

- Cohen N, Lestienne P. *Les maladies mitochondriales*. Paris : Annales de l'Institut Pasteur/Actualités Elsevier, 2001 : 136 p.
- Delbart C. *Les mitochondries : biologie et incidences physiopathologiques*. Paris : Tec & Doc, 2000 : 168 p.
- Larsson NG, Oldfors A, Garman JD, et al. Down-regulation of mitochondrial transcription factor A during spermatogenesis in humans. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 185-91.
- Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Diez C, et al. Seminal quality correlates with mitochondrial functionality. *Clin Chim Acta* 2000; 300: 97-105.
- Hecht NB, Liem H, Kleene KC, et al. Maternal inheritance of the mouse mitochondrial genome is not mediated by a loss or gross alteration of the paternal mitochondrial DNA or by methylation of the oocyte mitochondrial DNA. *Dev Biol* 1984; 102: 452-61.
- May-Panloup P, Chretien MF, Savagner F, et al. Increased sperm mitochondrial DNA content in male infertility. *Hum Reprod* 2003; 18: 550-6.
- Shitara H, Kaneda H, Sato A, et al. Selective and continuous elimination of mitochondria microinjected into mouse eggs from spermatids, but not from liver cells, occurs throughout embryogenesis. *Genetics* 2000; 156: 1277-84.
- Folgero T, Bertheussen K, Lindal S, et al. Mitochondrial disease and reduced sperm motility. *Hum Reprod* 1993; 8: 1863-8.
- Lestienne P, Reynier P, Chretien MF, et al. Oligoasthenospermia associated with multiple mitochondrial DNA rearrangements. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 811-4.
- Sikka SC. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem* 2001; 8: 851-62.
- Aitken RJ. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 659-68.
- Cummins J. Mitochondrial DNA in mammalian reproduction. *Rev Reprod* 1998; 3: 172-82.
- Reynier P, Chretien MF, Savagner F, et al. Long PCR analysis of human gamete mtDNA suggests defective mitochondrial maintenance in spermatozoa and supports the bottleneck theory for oocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 252: 373-7.
- Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Diez-Sanchez C, et al. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 682-96.
- Rossato M, La Sala GB, Balasini M, et al. Sperm treatment with extracellular ATP increases fertilization rates in *in vitro* fertilization for male factor infertility. *Hum Reprod* 1999; 14: 694-7.
- Ahmadi A, Ng SC. Sperm head decondensation, pronuclear formation, cleavage and embryonic development following intracytoplasmic injection of mitochondria-damaged sperm in mammals. *Zygote* 1997; 5: 247-53.
- Thompson WE, Ramalho-Santos J, Sutovsky P. Ubiquitination of prohibitin in Mammalian sperm mitochondria: possible roles in the regulation of mitochondrial inheritance and sperm quality control. *Biol Reprod* 2003; 69: 254-60.
- Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, et al. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* 1999; 402: 371-2.
- Kaneda H, Hayashi J, Takahama S, et al. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4542-6.
- Janse RP. Germline passage of mitochondria: Quantitative considerations and possible embryological sequelae. *Hum Reprod* 2000; 15 (suppl 2): 112-28.
- Steuerwald N, Barritt JA, Adler R, et al. Quantification of mtDNA in single oocytes, polar bodies and subcellular components by real-time rapid cycle fluorescence monitored PCR. *Zygote* 2000; 8: 209-15.
- Reynier P, May-Panloup P, Chretien MF, et al. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 425-9.
- Chen X, Prosser R, Simonetti S, et al. Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 239-47.
- Tamassa M, Nuttinck F, May-Panloup P, et al. *In vitro* embryo production efficiency in cattle and its association with oocyte adenosine triphosphate content, quantity of mitochondrial DNA, and mitochondrial dna haplogroup. *Biol Reprod* 2004 (sous presse).
- Piko L and Chase DG. Role of the mitochondrial genome during early development in mice. Effects of ethidium bromide and chloramphenicol. *J Cell Biol* 1973; 58: 357-78.
- Biggers JD, Stern S. Metabolism of the preimplantation mammalian embryo. *Adv Reprod Physiol* 1973; 6: 1-59.
- Taylor KD, Piko L. Mitochondrial biogenesis in early mouse embryos: expression of the mRNAs for subunits IV, Vb, and VIc of cytochrome c oxidase and subunit 9 (P1) of H(+)-ATP synthase. *Mol Reprod Dev* 1995; 40: 29-35.
- Dvorak M, Tesarik J. Differentiation of mitochondria in the human pre-implantation embryo grown. *In Vitro Scr Med* 1985; 3: 161-70.
- Van Blerkom J, Davis PW, Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1995; 10: 415-24.
- Flood JT, Chillik CF, van Uem JF, et al. Ooplasmic transfusion: prophase germinal vesicle oocytes made developmentally competent by microinjection of metaphase II egg cytoplasm. *Fertil Steril* 1990; 53: 1049-54.
- Dale B, Wilding M, Botta G, et al. Pregnancy after cytoplasmic transfer in a couple suffering from idiopathic infertility: case report. *Hum Reprod* 2001; 16: 1469-72.
- Van Blerkom J, Sinclair J, Davis P. Mitochondrial transfer between oocytes: potential applications of mitochondrial donation and the issue of heteroplasmy. *Hum Reprod* 1998; 13: 2857-68.
- Perez GI, Trbovich AM, Gosden RG, et al. Mitochondria and the death of oocytes. *Nature* 2000; 403: 500-1.
- Piko L, Taylor KD. Amounts of mitochondrial DNA and abundance of some mitochondrial gene transcripts in early mouse embryos. *Dev Biol* 1987; 123: 364-74.
- St John JC. The transmission of mitochondrial DNA following assisted reproductive techniques. *Theriogenology* 2002; 57: 109-23.
- Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 2002; 347: 576-80.
- Danan C, Sternberg D, Van Steirteghem A, et al. Evaluation of parental mitochondrial inheritance in neonates born after intracytoplasmic sperm injection. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 463-73.
- Cohen J, Scott R, Schimmel T, et al. Birth of infant after transfer of anucleate donor oocyte cytoplasm into recipient eggs. *Lancet* 1997; 350: 186-7.
- Barritt JA, Brenner CA, Malter HE, et al. Mitochondria in human offspring derived from ooplasmic transplantation. *Hum Reprod* 2001; 16: 513-6.

TIRÉS À PART

P. May-Panloup