



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE

FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2016

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN MEDECINE

Immaturité ovocytaire : analyse de 1017 tentatives de FIV-ICSI au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 6 Juin 2016 à 16 heures

Au Pôle Formation

Par Laura Bardiaux

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Didier DEWAILLY

Assesseurs :

Madame le Docteur Brigitte MARTIN-LEROY

Madame le Docteur Patricia THOMAS-DESROUSSEAU

Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN

Directrice de Thèse :

Madame le Professeur Sophie JONARD-CATTEAU

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des abréviations

AMH	Hormone Anti-Mullérienne
AMP	Aide Médicale à la Procréation
CCO	Complexe Cumulo-Ovocytaire
CFA	Compte des Follicules Antraux
CHRU	Centre Hospitalier Régional et Universitaire
FCS	Fausse couche spontanée
FIV	Fécondation In Vitro
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GEU	Grossesse Extra-Utérine
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
hMG	human Menopausal Gonadotropin
ICSI	Intra Cytoplasmic Sperm Injection
IMC	Indice de Masse corporelle
LH	Luteinising Hormone
M1	Métaphase 1
M2	Métaphase 2
OI	Ovocytes Immatures
OPK	Ovaires Polymicrokystiques
PN	Pronucléi
RO	Réserve Ovarienne
SDHEA	Sulfate de déhydroépiandrostérone
TEF	Transfert d'embryon frais
TSH	Thyroid Stimulating hormone
UI	Unité Internationale
VG	Vésicule Germinative

Table des matières

Résumé	1
Introduction	3
Matériels et méthodes	5
I. Population et bilan d'infertilité	
II. Stimulation ovarienne et ponction ovocytaire	
III. Evaluation de la maturité ovocytaire et procédure d'ICSI au laboratoire	
IV. Recueil des données	
V. Analyses statistiques	
Résultats	12
I. Description des cycles d'ICSI	
II. Facteurs corrélés à l'obtention d'ovocytes immatures	
III. Retentissement des paramètres sur le pourcentage d'ovocytes immatures	
IV. Ovocytes immatures et grossesses	
Discussion	20
Conclusion	27
Références bibliographiques	28

RESUME

Contexte: Les ovocytes immatures (OI) constitueraient entre 5 et 20% du nombre total d'ovocytes récupérés. En ICSI, seuls les ovocytes matures peuvent être micro-injectés. Il n'est pas encore clairement établi pourquoi certaines patientes présentent une proportion plus élevée d'OI. La question se pose de savoir quels facteurs influencent la maturité ovocytaire en FIV-ICSI.

Méthode : Etude rétrospective unicentrique incluant les couples en parcours d'infertilité ayant bénéficié d'une ou plusieurs tentatives de FIV-ICSI entre janvier 2013 et mars 2015, soit 1017 cycles. Les caractéristiques cliniques des patientes et celles de la stimulation ont été analysées. Les paramètres biologiques des ovocytes et des embryons ont également été rapportés ainsi que les issues des tentatives.

Résultats : La dose totale de gonadotrophines et le rang de la tentative sont corrélés positivement au taux d'immaturité ovocytaire ($p=0.013$ et $p=0.033$ respectivement). Le comptage des follicules antraux avant stimulation, la durée de la stimulation et le nombre de follicules supérieurs à 15mm sont corrélés négativement au pourcentage d'OI ($p=0.033$, $p=0.020$ et $p=0.019$ respectivement). L'analyse multivariée montre que la dose de gonadotrophines et la durée de stimulation expliquent 20% de la variance. En régression multiple, la dose de gonadotrophine est impliquée pour 16.7%. Le tabagisme, la présence d'ovaires polymicrokystiques et l'antécédent de pathologie tubaire n'influencent pas le taux d'immaturité. La présence d'une endométriose pelvienne ($p=0.029$) apparaît comme un facteur protecteur et l'antécédent de baisse de réserve ovarienne ($p=0.045$) occasionne le recueil d'un nombre plus élevé d'OI. Quelles que soient les modalités du traitement (protocole agoniste ou antagoniste ; FSH pure ou hMG ; mode de déclenchement), il n'y a pas de retentissement sur le pourcentage d'OI. Dans le groupe des patientes où il n'y a pas de grossesse clinique, il y a d'avantage d'OI ($p=0.018$).

Conclusion : Notre étude montre que l'immaturation ovocytaire peut s'expliquer par l'utilisation de fortes doses de gonadotrophines. D'autres paramètres semblent impliqués dans la maturation ovocytaire tels qu'une courte durée de stimulation ou un CFA diminué. Il existe un effet néfaste sur les chances de grossesse en cas de fort taux d'immaturation ovocytaire.

INTRODUCTION

Depuis les débuts de la fécondation in vitro il ya plus de 20 ans, différents protocoles de stimulation ovarienne sont utilisés en assistance médicale à la procréation (AMP) pour obtenir une quantité suffisamment importante d'ovocytes et augmenter le nombre d'embryons, et ainsi les chances de grossesse (1).

L'amélioration des résultats en fécondation in vitro (FIV) est l'une des préoccupations constantes des cliniciens et biologistes de la reproduction (2).

Le critère du nombre d'ovocytes obtenus, qui était dans un premier temps considéré comme essentiel, à peu à peu laissé place à la notion de qualité ovocytaire.

L'évaluation de la qualité ovocytaire est cependant difficile et le plus souvent assez subjective (1).

Celle-ci va dépendre de deux types de compétences acquises lors de la folliculogénèse.

D'une part, une compétence nucléaire correspondant à la capacité à reprendre et à finir la méiose, d'autre part, une compétence cytoplasmique permettant de supporter la fécondation et le développement embryonnaire précoce (3).

La phase de maturation nucléaire des ovocytes comporte deux divisions méiotiques.

La première division « réductionnelle » permet d'obtenir à partir d'ovocytes primaires diploïdes, des ovocytes secondaires haploïdes. Dès son apparition au cours de la vie fœtale, l'ovocyte primaire entame sa première division puis reste bloqué au stade de Prophase 1. A ce stade, on peut visualiser le noyau cellulaire sous forme de Vésicule Germinative (VG) avec un nucléole central (cf Image 1). Ce blocage est maintenu jusqu'à la puberté et ne sera levé qu'au moment de l'ovulation. C'est après le pic de LH que l'ovocyte atteint le stade de Métaphase 1 (M1). L'expulsion du premier globule polaire marque la fin de la première division méiotique (cf Image 2).

La deuxième division « équationnelle » est ensuite amorcée et l'ovocyte se bloque au stade de Métaphase 2 (M2). Une fois expulsé lors de l'ovulation, l'ovocyte est considéré comme mature et apte à être fécondé (cf Image 3).

Image 1 :



Image 2 :

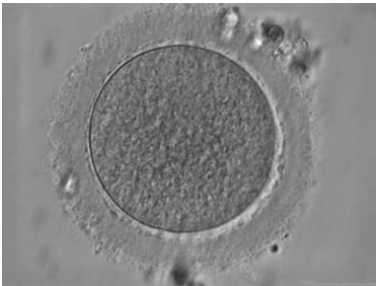


Image 3 :



D'après Rienzi et al., The Oocyte, HumanReprod (4)

Pour observer le fuseau méiotique des ovocytes au microscope, il est nécessaire que ceux-ci soient dénudés, ce qui, dans la pratique de l'AMP, n'est effectué qu'en cas de fécondation in vitro avec micro-injection (FIV-ICSI) (1).

Les ovocytes recueillis par ponction après stimulation ovarienne sont à différents stades de maturation (5). Seuls les ovocytes matures (OM) peuvent être micro-injectés en ICSI. Les ovocytes immatures (OI) retrouvés au stade de VG ou de M1, seront quant à eux détruits.

D'après de récentes études, les ovocytes immatures constitueraient entre 5 et 20% du nombre total d'ovocytes récupérés (6–8).

Cependant, il n'est pas encore clairement établi pourquoi certaines patientes présentent une proportion plus élevée d'OI et la question se pose de savoir s'il existe des facteurs influençant la maturité ovocytaire en FIV-ICSI.

Le but de cette étude est d'analyser la population des femmes ayant une proportion élevée d'OI en ICSI, en s'intéressant aux données cliniques et aux paramètres de la stimulation. Nous avons également étudié les conséquences sur le nombre d'embryons obtenus, leur qualité, sur les taux de grossesses cliniques et évolutives ainsi que sur les taux d'accouchements.

Enfin nous avons tenté d'établir un pourcentage d'ovocytes immatures « limite » à partir duquel les chances de grossesse chutent fortement.

MATERIELS ET METHODES

I. Population et bilan d'infertilité

Nous avons conduit une étude rétrospective incluant les couples en parcours d'infertilité ayant bénéficié d'une ou plusieurs tentatives de FIV-ICSI entre janvier 2013 et mars 2015.

Cette étude concerne 1017 cycles de FIV-ICSI réalisés dans le service de médecine de la reproduction du CHRU de Lille.

Ont été exclus les couples pris en charge en don d'ovocytes, les cycles de stimulation en protocole semi-naturel ainsi que les tentatives avec sperme chirurgical et/ou congelé.

Les patientes ont toutes bénéficié dans le service de gynécologie endocrinienne d'un bilan hormonal et d'une échographie pelvienne par voie vaginale, entre le 2ème et le 5ème jour du cycle.

Le bilan hormonal complet comprenait au minimum un dosage d'œstradiol (E2), de Follicle Stimulating Hormone (FSH), de Luteinizing Hormone (LH), et d'hormone antimüllérienne (AMH). FSH, LH et E2 ont été dosés par automate Architect de la société ABBOTT, l'AMH a été dosée en utilisant un kit de deuxième génération immuno-enzymatique AMH-EIA de Beckman Coulter Immunotech. L'échographie pelvienne (Voluson E8, General Electrics, France) permettait une mesure des surfaces ovariennes et un comptage des follicules antraux (CFA).

Parallèlement, la cavité utérine était évaluée par une hystérosalpingographie, réalisée par un radiologue du choix de la patiente ou par une hystérocopie.

Les paramètres masculins étaient analysés par un spermogramme avec spermocytogramme, spermoculture et test de migration-survie, réalisé dans le service de spermologie du CHRU ou dans un laboratoire agréé. Selon le type d'altération spermatique, un bilan hormonal et/ou une échographie scrotale étaient

prescrits. Dans tous les cas, un caryotype constitutionnel standard était demandé en vue de l'ICSI.

Pour chaque patiente ont également été répertoriés :

- l'âge au moment de la tentative
- le rang de la tentative
- l'indice de masse corporelle (IMC)
- l'existence ou non d'un tabagisme actif.

Nous avons également distingué les patientes présentant :

- une baisse de la réserve ovarienne (AMH inférieure à 12 pmol/l et/ou moins de 5 follicules / ovaire à l'échographie)
- une AMH > 35 et /ou un CFA>38 (somme des 2 ovaires) : ce groupe étant qualifié d'ovaires polykystiques (OPK)
- une endométriose
- une pathologie tubaire
- une atteinte multifactorielle.

II. Stimulation ovarienne et ponction ovocytaire

Les patientes ont bénéficié d'une hyperstimulation ovarienne contrôlée en associant des gonadotrophines (recombinantes ou urinaires) avec des analogues de la GnRH (agonistes ou antagonistes).

Les analogues de la GnRH permettaient de désensibiliser l'axe gonadotrope et les gonadotrophines stimulaient la croissance folliculaire.

La dose quotidienne de gonadotrophines était choisie en tenant compte de l'âge, de l'IMC et de l'évaluation de la réserve ovarienne.

La surveillance en cours de traitement consistait en des dosages hormonaux (E2 et LH) couplés à une échographie pelvienne par voie vaginale.

Lorsque les paramètres échographiques et hormonaux indiquaient la maturité endométriale et folliculaire, définie par la présence d'au moins 3 follicules de plus de 17mm, une injection sous-cutanée d'hCG (recombinante ou urinaire) était réalisée. Celle-ci permettait l'ovulation et aux ovocytes de passer du stade de prophase I au stade métaphase II (maturation ovocytaire).

En cas de risque majeur de syndrome d'hyperstimulation ovarienne, une injection d'agoniste de la GnRH était préférée à l'injection d'hCG pour le déclenchement en cas de protocole antagoniste.

La ponction ovocytaire échoguidée avait lieu 35-36 heures après l'injection d'hCG (avant l'ovulation) sous diazanalgésie, au bloc opératoire, par voie transvaginale.

Les ovocytes recueillis étaient immédiatement placés dans une étuve à 37°C et transportés au laboratoire de biologie de la reproduction afin d'y être analysés.

Dès le soir de la ponction, était administrée 600 mg de progestérone micronisée par voie vaginale et de manière quotidienne, afin de soutenir la phase lutéale. En cas de grossesse, la progestérone était poursuivie jusqu'à 8 semaines d'aménorrhées.

III. Evaluation de la maturité ovocytaire et procédure d'ICSI au laboratoire

Dans notre étude, nous avons utilisé des spermatozoïdes à l'état frais. Le recueil de sperme avait lieu au laboratoire le matin de la ponction ovocytaire.

Les ovocytes obtenus se trouvent au sein d'un amas cellulaire périphérique appelé cumulus : ils constituent ainsi le complexe cumulo-ovocytaire (CCO). Avant la micro-injection, une étape de décoronisation enzymatique (hyaluronidase) et mécanique était indispensable pour dissocier l'ovocyte des cellules périphériques.

Une fois cette étape réalisée, chaque ovocyte était examiné à l'aide d'un microscope pour évaluer la maturité ovocytaire. On distingue alors les ovocytes immatures correspondant aux Vésicules Germinatives (VG) et aux Métaphases 1 (M1), des ovocytes matures Métaphases 2 (M2) micro-injectables.

Si cela était possible, tous les ovocytes matures étaient microinjectés. Les ovocytes injectés étaient ensuite mis en culture pendant au moins 48 heures et le développement embryonnaire était régulièrement évalué par les biologistes au laboratoire.

La fécondation était dite normale en présence de 2 pronucléi (PN) au sein du cytoplasme ovocytaire. L'ovocyte à ce stade est un zygote.

La cinétique et la qualité embryonnaire étaient ensuite observées au 2^{ème} jour (J2) et/ou au 3^{ème} jour (J3) suivant la ponction ovocytaire. Dans certaines situations, l'embryon pourra continuer d'évoluer en culture in vitro jusqu'au 5^{ème} voire jusqu'au 6^{ème} jour suivant la ponction ovocytaire.

Les embryons « top quality » étaient définis par la présence de 4 à 5 blastomères à J2 ou de 7 à 8 blastomères à J3, blastomères typiques, réguliers et avec un taux de fragmentation inférieur à 10% (9).

Les transferts d'embryons ont été réalisés deux à trois jours après la ponction ovocytaire.

En fonction de leur qualité, les embryons surnuméraires étaient cryopréservés. Quatorze jours après la ponction ovocytaire, les patientes réalisaient un dosage de β hCG plasmatique quantitatif.

IV. Recueil des données

Les données ont été obtenues à partir du logiciel Infofiv et du dossier médical des patientes.

Nous avons recueillis l'âge des patientes, leur IMC, leur statut tabagique, l'origine de leur infertilité et le rang de la tentative.

Pour toutes les stimulations ont été recueillis :

- le type de gonadotrophine utilisé : FSH pure ou hMG
- le type de protocole : Agoniste ou antagoniste de la GnRH
- la dose totale de gonadotrophines utilisées
- le mode de déclenchement : hCG ou agoniste de la GnRH (Décapeptyl®)
- le taux d'œstradiol la veille ou le jour du déclenchement
- le nombre de follicules supérieurs à 15mm au moment du déclenchement
- la durée de la stimulation en jours
- le nombre total d'ovocytes.

Parmi les ovocytes obtenus, ont été distingués :

- le nombre de vésicules germinatives (VG)
- le nombre d'ovocytes en métaphase 1 (M1)
- le nombre d'ovocytes en métaphase 2 (M2)

Le pourcentage d'ovocytes immatures a été établi comme le ratio entre le nombre d'ovocytes immatures (VG+M1) et le nombre total d'ovocytes (VG + M1 + M2).

Pour chaque couple, ont été notifiés :

- le nombre d'ovocytes injectés
- le nombre d'ovocytes fécondés
- le taux de fécondation
- le nombre de zygotes 2PN
- le nombre total d'embryons
- le nombre d'embryons « top quality »
- le nombre d'embryons frais transférés

- le nombre d'embryons congelés
- la présence ou non d'une grossesse après transfert d'embryon frais (TEF), à savoir grossesse clinique, grossesse évolutive, β hCG faible, fausse couche spontanée (FCS) ou grossesse extra -utérine (GEU)
- le taux d'implantation après TEF
- la présence ou non d'un accouchement et le nombre d'enfants nés vivants après TEF.

Le taux d'ovocytes injectés correspond au ratio entre le nombre d'ovocytes injectés et le nombre total d'ovocytes recueillis.

Le taux de fécondation correspond au ratio entre le nombre de zygotes 2PN et le nombre d'ovocytes M2 injectés.

La grossesse clinique est définie par un β hCG > 100 UI/ml puis confirmée par la présence d'un sac gestationnel intra ou extra-utérin en échographie.

La grossesse évolutive est une grossesse intra-utérine évoluant au-delà du premier trimestre de grossesse.

Le taux d'implantation a été défini comme le ratio entre le nombre de sacs gestationnels et le nombre d'embryons transférés.

V. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel SPSS Statistical Package for Social Sciences (version 22.0 pour Windows).

Les variables quantitatives ont été comparées par une corrélation de Spearman.

Le test non paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les médianes.

Une analyse discriminante multivariée a permis d'éliminer les facteurs de confusion.

Les résultats étaient considérés comme statistiquement significatifs pour une valeur de p inférieure à 0,05.

RESULTATS

I. Description des cycles d'ICSI

Pour les 1017 cycles, les caractéristiques cliniques des patientes et celles de la stimulation sont présentées respectivement dans le **tableau 1** et le **tableau 2**.

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques des patientes

Age (années)*	32.2 (24.4-39.6)
IMC (Kg/m²)*	23 (19-32)
Tabagisme actif (%)	15.2
AMH (pmol/l)*	24 (7-73)
CFA (n)*	23 (8-58)
OPK (%)	36.7
Baisse de RO (%)	10.4
Pathologie Tubaire (%)	4.4
Endométriose (%)	9.2
Etiologies Multiples (%)	3.5

*les résultats sont exprimés en médiane avec les 5-95^{ème} percentiles

Tableau 2 : Caractéristiques de la stimulation ovarienne

Dose totale de gonadotrophines (UI) *	2475 (1050-5850)
Taux d'œstradiol (pg/ml) *	2153 (713.6-4264.8)
Nombre de Follicules > 15mm *	8 (4-16)
Durée de la stimulation (jours) *	12 (9-15)
Rang de la tentative *	1 (1-4)
Type de gonadotrophine (%):	
FSH pure	76.7
hMG	23.3
Type de Protocole (%):	
Antagoniste	46.6
Agoniste	53.4
Mode de déclenchement (%):	
hCG	96.5
Agoniste de la GnRH	3.5

*les résultats sont exprimés en médiane avec les 5-95^{ème} percentiles

Les résultats obtenus après ponction ovarienne sont exprimés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Résultats des tentatives

Nombre total d'ovocytes *	9 (3-20)
Nombre d'ovocytes *	
VG	1 (0-4)
Métaphase I	1 (0-4)
Métaphase II	6 (1-14)
Taux d'OI *	17% (0-75)
Nombre d'ovocytes injectés *	5 (0-14)
Nombre d'ovocytes fécondés *	5 (0-14)
Taux de fécondation *	62.5% (0-100)
Nombre de zygotes 2PN *	3 (0-9)
Nombre total d'embryons*	3 (1-9)
Nombre d'embryons top *	0 (0-3)
Nombre d'embryons frais transférés *	2 (0-2)
Nombre d'embryons congelés *	0 (0-5)

*les résultats sont exprimés en médiane avec les 5-95^{ème} percentiles

Le devenir des embryons frais transférés par cycle est présenté dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Résultats après transfert d'embryon frais

Taux d'implantation *	0% (0-1)
βhCG faible (%)	5
Grossesse clinique (%)	27.6
FCS (%)	4.2
GEU (%)	1.3
Grossesse Evolutive (%)	21.9
Accouchement (%)	20.6
Nombre d'enfants nés vivants *	0 (0-1)

*les résultats sont exprimés en médiane avec les 5-95^{ème} percentiles

II. Facteurs corrélés à l'obtention d'ovocytes immatures

Les corrélations entre le pourcentage d'OI et les différents paramètres sont rapportées dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Facteurs corrélés à l'obtention d'OI

	Coefficient de corrélation	p
Rang Tentative	0.068*	0.033
Age Femme	-0.029	0.355
IMC	0.021	0.521
AMH	-0.047	0.152
CFA	-0.070*	0.033
Dose totale gonadotrophines	0.079*	0.013
Durée stimulation	-0.075*	0.020
Follicules >15mm	-0.075*	0.019
Taux d'Œstradiol	0.015	0.653
Nombre Ovocytes totaux	0.013	0.690
Nombre d'ovocytes injectés	-0.364**	0.000
Taux d'ovocytes injectés	-0.704**	0.000
Nombre d'ovocytes fécondés	-0.364**	0.000
Nombre de zygotes 2PN	-0.316**	0.000
Taux de fécondation	-0.010	0.748
Nombre d'embryons obtenus	-0.252**	0.000
Nombre d'embryons top	-0.173**	0.000
Nombre d'embryons frais transférés	-0.159**	0.000
Nombre d'embryons congelés	-0.189**	0.000
Taux d'implantation	0.016	0.657
Nombre d'enfants nés vivants après TEF	-0.034	0.284

*. La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

** . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

Afin d'identifier les paramètres les plus impliqués dans l'immaturation ovocytaire, nous avons réalisé une analyse multivariée.

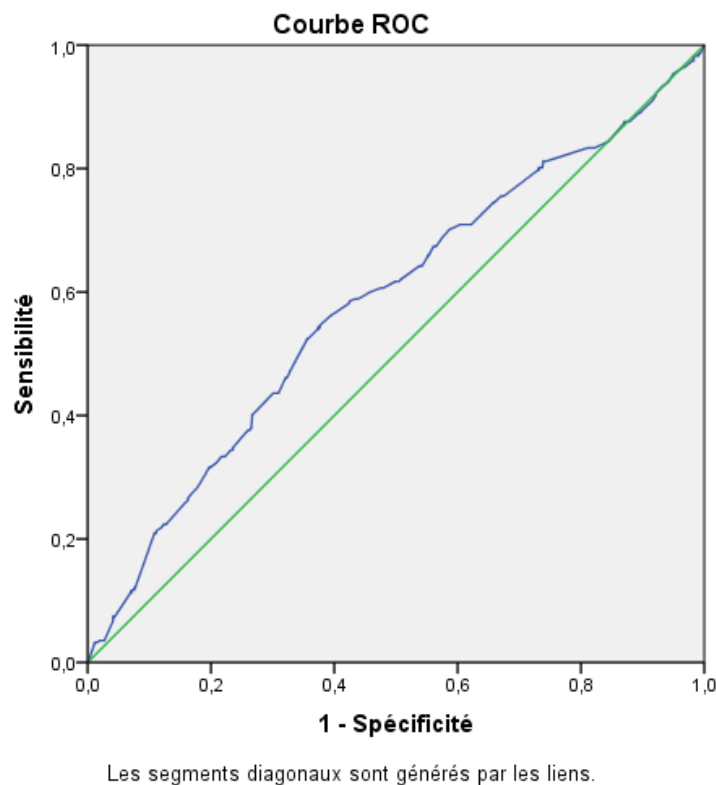
La dose totale de gonadotrophines et la durée de stimulation expliquent 20% de la variance ($p < 0,001$). Grâce à l'effectif important, nous avons pu mettre en évidence cette relation, non majeure mais existante.

Enfin, pour distinguer lequel de ces 2 paramètres possède une implication supérieure dans l'immaturation ovocytaire, nous avons réalisé une régression multiple.

Dans le pourcentage d'OI, la dose de gonadotrophine est impliquée pour 16.7%.

Au vu de la relation entre la dose totale de gonadotrophines et le pourcentage d'OI, nous avons regardé s'il était possible d'établir une dose totale maximale à partir de laquelle il existe un impact sur l'immaturation ovocytaire, en réalisant une courbe ROC (figure 1).

Figure 1 :



Malheureusement, cette analyse est peu contributive, avec une aire sous la courbe à 0.548.

III. Retentissement des paramètres sur le pourcentage d'ovocytes immatures

A. Tabagisme et immaturité ovocytaire

En fonction de la présence ou non d'un tabagisme chez les patientes, il n'existe pas de différence significative en terme de pourcentage d'OI ($p=0.48$).

Ainsi, l'impact du tabac sur la maturité ovocytaire n'est pas démontré.

B. Infertilité féminine et immaturité ovocytaire

1. Baisse de réserve ovarienne

Nous avons mis en évidence une différence significative concernant le pourcentage d'OI entre les patientes ayant une baisse de réserve ovarienne et celles ayant une AMH et un CFA normaux ($p=0.045$).

Il y a d'avantage d'ovocytes immatures chez les patientes ayant une baisse de réserve ovarienne.

2. Ovaires polymicrokystiques

Il n'existe pas de différence significative sur le paramètre OPK ($p=0.18$).

3. Endométriose

De façon significative, nous avons observé une différence entre les patientes ayant de l'endométriose et celles n'en ayant pas, avec un taux d'OI plus faible chez les patientes atteintes ($p=0.029$).

4. Pathologie tubaire et Causes multiples

Absence de différence significative sur ces paramètres ($p=0.642$ et $p=0.172$).

C. Protocole de stimulation, mode de déclenchement et immaturité ovocytaire

Quel que soit les modalités du traitement, il n'y avait pas de retentissement sur le pourcentage d'OI:

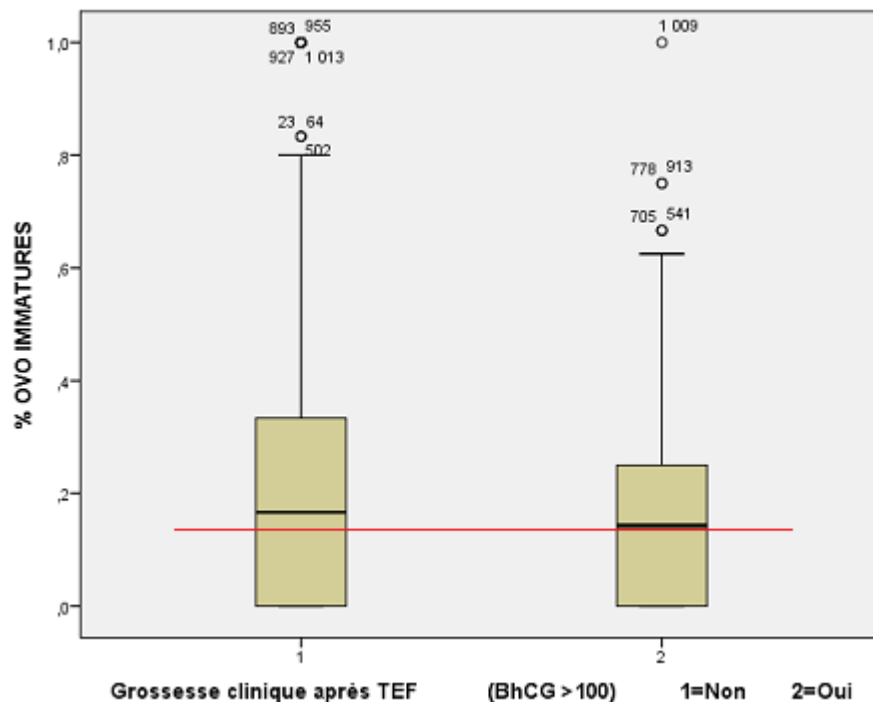
- Protocole Antagoniste versus Agoniste : $p=0.813$
- FSH pure versus HMG : $p=0.590$
- Déclenchement par hCG versus Agoniste de la GnRH : $p=0.258$

IV. Ovocytes immatures et grossesse

Il y a d'avantage d'OI dans le groupe des patientes où il n'y a pas de grossesse clinique ($p=0.018$).

Pour illustrer cette différence significative, nous avons réalisé une boîte à moustache (figure 2).

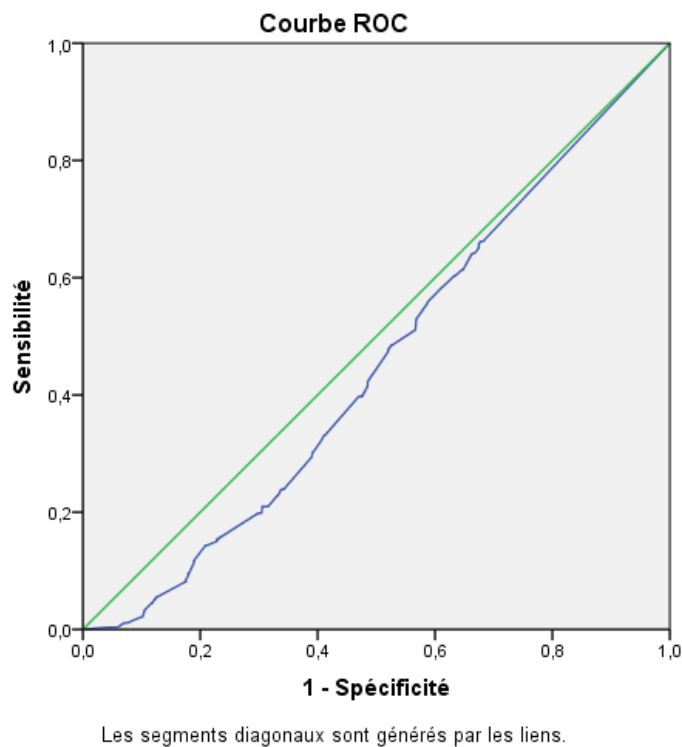
Figure 2 :



Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre le pourcentage d'OI et les paramètres : β hCG faible ($p=0.895$), FCS ($p=0.09$), grossesse évolutive ($p=0.31$) et accouchement ($p=0.325$).

Au vu du lien significatif entre le pourcentage d'OI et la présence ou non d'une grossesse clinique, nous avons essayé d'établir un seuil à partir duquel le pourcentage d'OI a un effet néfaste sur les chances de grossesse, par la réalisation d'une courbe ROC (figure 3).

Figure 3 :



Malheureusement cette analyse est non contributive avec une aire sous la courbe à 0.452.

DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons voulu évaluer les facteurs pouvant avoir un impact sur la proportion d'OI obtenus en FIV-ICSI.

En effet, il est important de savoir si nous pouvons agir sur certains paramètres afin d'améliorer les résultats et augmenter les chances de grossesse.

Notre étude a permis de montrer que l'immaturation ovocytaire pouvait s'expliquer en partie et de façon indépendante par l'utilisation de fortes doses de gonadotrophines (à raison de 16,7%), par une plus courte durée de stimulation, par la présence de follicules de taille moindre au moment du déclenchement mais aussi en cas de CFA diminué. L'avancée dans les rangs de tentative était également corrélée négativement à l'immaturation ovocytaire.

L'implication d'une forte dose totale de gonadotrophines dans l'obtention d'OI est en bonne concordance avec une étude réalisée au centre d'AMP de Tenon (10). Leurs résultats montrent en effet que des doses faibles de gonadotrophines sont significativement associées à une plus forte proportion d'ovocytes matures avec un nombre plus élevé d'embryons « utilisables ».

Shavit et al. (11) ont également montré qu'il y avait d'avantage d'ovocytes matures avec des doses plus faibles de gonadotrophines. A l'inverse, Coelho et al (12) ne retrouvaient pas de différence significative sur la proportion de VG et de M1 selon la dose de gonadotrophines (mild stimulation versus stimulation classique) mais d'avantage d'ovocytes matures M2 avec une stimulation classique.

Une autre étude a comparé les résultats d'une mild stimulation à ceux d'une stimulation classique chez des patientes définies comme mauvaises répondeuses (13) : quel que soit le type de stimulation, il n'y avait pas de différence significative sur le nombre d'ovocytes totaux et le nombre de métaphase 2 recueillis (le nombre d'OI n'était pas étudié).

Lee et Oktay (14) ont étudié les résultats en préservation de la fertilité chez des patientes atteintes d'un cancer du sein, avant traitement. Deux protocoles de stimulation à 150 UI ou >150 UI de FSH ont été comparés. En dehors du nombre de follicules > 17 mm développés (plus important si > 150 UI), il n'y avait pas de différence en terme de nombre d'ovocytes totaux, nombre d'ovocytes matures et taux de maturation (74.1 +/- 21.5 si 150 UI versus 66.6 +/- 27.9 si >150 UI). Néanmoins il existait une tendance à avoir un taux de maturité plus important si des faibles doses étaient utilisées.

Enfin, sans avoir étudié la maturité ovocytaire, Bosch et al (15) ont retrouvé que l'utilisation de gonadotrophines à fortes doses était un facteur corrélé négativement avec la probabilité de naissance vivante. De même, Baker et al (16) ont montré une baisse significative du taux de naissance avec l'augmentation des doses de FSH quel que soit le nombre d'ovocytes recueillis. Ces résultats doivent être interprétés avec précaution, en effet, en cas de baisse de la réserve ovarienne les chances de grossesses sont diminuées et il est souvent nécessaire d'augmenter les doses de gonadotrophines.

Dans notre analyse, nous avons montré que le pourcentage d'OI était corrélé négativement au nombre de follicules de plus de 15mm. L'étude prospective de Nogueira et al. (17) a étudié les ovocytes selon leur degré de maturation en fonction du diamètre folliculaire après avoir utilisé un protocole agoniste ou antagoniste. Ils concluaient qu'en raison des faibles taux d'ovocytes matures issus des follicules ≤ 11 mm, il restait préférable de ne pas les ponctionner. En accord avec nos résultats, les follicules de plus de 15mm fournissent un plus grand nombre d'ovocytes matures. L'étude de l'équipe de Tenon (10) a retrouvé qu'un nombre élevé de petits follicules (12 à 16mm) était associé à une plus faible proportion d'ovocytes matures, suggérant une relation avant l'injection d'HCG, entre la taille folliculaire et la maturité des ovocytes recueillis.

Il semblerait selon nos résultats, qu'une forte proportion d'OI pourrait s'expliquer par une durée de stimulation trop courte. Cependant, une courte durée de stimulation peut expliquer l'obtention d'un nombre plus important de follicules de petite taille. Il existe alors un biais pour établir une relation directe entre la durée de stimulation et le taux d'OI. L'avancée dans les rangs de tentative semble également

corrélée, de façon modérée, à l'augmentation du nombre d'OI. Dans la littérature, nous n'avons pas retrouvé de données concernant l'influence possible de la durée de stimulation et de la répétition des cycles de FIV ICSI sur la maturité ovocytaire. Cependant, les patientes chez qui il est nécessaire de répéter les tentatives sont probablement des plus « mauvaises candidates » avec des faibles chances de grossesse et une qualité ovocytaire moindre.

Notre étude met en évidence une corrélation négative significative entre le CFA et le taux d'immaturation ovocytaire. Il existe à notre connaissance très peu de données étudiant la corrélation entre les paramètres échographiques ovariens et la qualité ovocytaire (18). Un volume < 3cm³ est corrélé à une diminution du nombre d'ovocytes recueillis et des taux de grossesse (19,20). Le CFA est un bon facteur prédictif de réponse ovarienne après stimulation par gonadotrophines et Hsieh et al. (20) rapportent une corrélation entre le CFA et l'issue de la FIV. Dans leur étude, ils ont observé que les taux de grossesse et d'implantation étaient beaucoup plus bas chez les femmes ayant un CFA inférieur à 4.

La baisse de réserve ovarienne est fréquemment observée chez des patientes jeunes consultant pour infertilité (21). La prévalence des baisses de réserve a été estimée à environ 10% chez les patientes infertiles (22). La baisse de réserve ovarienne, définie par une diminution du nombre de follicules sur les ovaires, est évaluée par les dosages de l'AMH et de la FSH mais aussi par le CFA (23). Aussi, cette diminution de réserve est souvent associée à une baisse de la qualité ovocytaire (24). Dans leur étude, Boucret et al. (25) ont montré que le pourcentage d'OI était significativement plus important chez les patientes ayant une baisse de réserve ovarienne comparé à un groupe contrôle ayant une AMH > 2ng/ml et / ou un CFA > 5 par ovaire.

Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre l'AMH et le taux d'OI. Pour Guerif et al. (26), aussi le taux d'ovocytes matures ne diffère pas en fonction des concentrations sériques d'AMH.

Si l'AMH est corrélée à la réserve ovarienne sur le plan quantitatif, au niveau qualitatif, elle ne semble pas apporter d'information sur le degré de maturité nucléaire et la compétence au développement des ovocytes. A l'heure actuelle, la majorité des études s'intéressant au lien entre l'AMH et la qualité embryonnaire n'a

pas montré de corrélation significative entre les deux (27–30), ainsi l'AMH ne permet pas de prédire les chances de grossesse (31). Selon Dewailly et al. (32), il n'y a pas de lien entre AMH et qualité ovocytaire. En d'autres termes, le fait d'avoir une faible valeur d'AMH ne signifie pas que le processus de fécondation sera perturbé, ce qui peut constituer un élément rassurant pour les couples.

Concernant le paramètre OPK, nous n'avons pas retrouvé d'impact sur le pourcentage d'OI chez ces patientes. Ce résultat va dans le sens de l'étude de Sigala et al. (33) qui a cherché à savoir si les ovocytes issus des patientes SOPK en FIV ICSI étaient de moins bonne qualité. Ainsi, il n'a pas été trouvé de différence entre les deux groupes (SOPK et non SOPK) concernant le nombre d'OI et le nombre d'ovocytes atrétiques. Le pourcentage d'ovocytes M 2 n'était pas différent chez les patientes SOPK. L'étude de Kdous et al. (34) ne retrouvait pas de différence pour les taux d'ovocytes M 1 et de VG selon la présence ou non d'un SOPK. Par contre, les taux d'ovocytes atrétiques et d'ovocytes M 2 étaient significativement plus importants en cas de SOPK. D'autres auteurs, dans des séries utilisant exclusivement l'ICSI, ont montré que les patientes présentant un SOPK produisent autant d'ovocytes matures que les témoins (35)(36)(37).

Dans notre étude, de façon surprenante, nous avons observé moins d'OI chez les patientes ayant une endométriose. L'étude de Goud et al. (38) étudiant la qualité ovocytaire chez les femmes atteintes d'endométriose, retrouvait une tendance à ce qu'il y ait moins d'OI chez les femmes avec endométriose. (Pour les MI: 0.6 +/-0.4 versus 0.8 +/-0.25 dans groupe contrôle et pour les VG : 0.9 +/-0.4 versus 2.2+/-1.3 dans groupe contrôle), mais cette différence n'était pas significative. La plupart des études sur l'endométriose n'étudient pas l'immaturité ovocytaire.

Nos résultats pourraient être expliqués par la présence d'endométriomes rendant difficile l'accès à certains follicules, rendant leur ponction impossible, ainsi certains OI n'étant pas recueillis, leur nombre serait faussement estimé. Néanmoins, en raison du faible nombre de patientes atteintes dans notre étude, il est difficile de conclure.

Concernant l'âge, nous n'avons pas retrouvé de corrélation avec le taux d'OI. De même, l'hypothèse d'un taux anormalement plus haut d'OI chez les femmes plus

âgées en FIV-ICSI n'a pas été démontrée dans l'étude de Moore et al. (39). Pour Lee et al. (40), le pourcentage d'OI n'est pas proportionnel avec l'avancée en âge entre 30 et 40 ans mais est significativement plus important chez les femmes de plus de 41 ans. Dans notre étude, les patientes âgées de plus de 40 ans étaient peu nombreuses, ce qui pourrait expliquer l'absence de lien entre l'âge et le taux d'OI. Ainsi, il semblerait ne pas y avoir de retentissement majeur sur la maturation ovocytaire avec l'avancée en âge, au moins chez les patientes en âge d'avoir une FIV en France.

Aussi, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre l'IMC et le pourcentage d'OI. L'étude de Lenoble et al. (41) a retrouvé un nombre d'ovocytes moyens par cycle semblable et un taux de maturation ovocytaire non significativement différent selon l'IMC (<18 ou 18-25 ou >25). A l'inverse, Chaouache et al. (42) ont retrouvé un pourcentage d'ovocytes matures significativement plus important chez les patientes ayant un poids normal.

Même si nous n'avons pas abordé cet élément dans notre étude, il semblerait que le profil métabolique puisse avoir un retentissement sur la maturation ovocytaire. Chaouache et al. (42) ont aussi retrouvé une corrélation négative significative entre le taux de glycémie et le taux de maturité ovocytaire. Ainsi, le dépistage du syndrome métabolique et la prise en charge nutritionnelle des patientes en surpoids pourraient améliorer les taux de maturité ovocytaire.

Nos résultats ne retrouvent pas de différence significative du taux d'OI selon que les patientes bénéficient d'un protocole agoniste ou antagoniste, ou reçoivent de la FSH seule ou de l'hMG. Il en est de même pour l'étude prospective de Hung YuNg et al. (43) qui ne retrouvait pas de différence significative sur le nombre d'ovocytes recueillis et le pourcentage d'ovocytes matures selon le type de gonadotrophine. Seul Greenblatt et al. (44) qui ont étudié de façon rétrospective la maturité ovocytaire en cas de protocole agoniste court ou long sur 34 cycles d'ICSI, retrouvaient d'avantage d'ovocytes matures après un protocole agoniste long, les OI n'étaient pas étudiés. Ainsi, il ne semble pas y avoir d'influence majeure du type de stimulation sur la maturité ovocytaire.

Dans notre étude nous n'avons pas remarqué de différence significative du taux d'OI selon le type de déclenchement. Dans la littérature, Weiss et al (45) se sont intéressés au retentissement sur le nombre d'OI en cas de variation de l'intervalle de temps entre l'injection d'hCG et la ponction ovarienne. On retrouvait d'avantage d'OI si le délai entre le déclenchement et la ponction était inférieur ou égal à 34,4 heures. Un double déclenchement par agoniste de la GnRH puis hCG (respectivement à 40 heures puis 34 heures avant ponction ovarienne) chez des patientes ayant un taux important d'OI (>33%) a fait l'objet d'une étude par Zilgerberg et al. (46). Cette étude menée sur 12 cycles de FIV a montré l'obtention d'un nombre plus important d'ovocytes matures (6.5 versus 3.6 $p < 0.008$) et un meilleur taux de maturité ovocytaire (69.7% versus 47.1% $p < 0.03$) avec le double déclenchement. Cependant, l'effectif étudié reste faible. La méta-analyse de Youssef et al (47) a montré que l'administration d'hCG pour la maturation ovocytaire était meilleure dans les protocoles antagonistes en FIV ICSI. L'hCG reste le principal moyen utilisé pour le déclenchement de l'ovulation, néanmoins l'agoniste de la GnRH est utile en cas de risque élevé d'hyperstimulation ovarienne.

Dans notre étude, nous avons observé d'avantage d'OI dans le groupe des patientes où il n'y a pas de grossesse clinique. Halvaei et al.(48) ont essayé de montrer s'il y avait une répercussion du nombre d'OI sur le taux de fécondation des ovocytes matures ainsi que sur le développement et la qualité des embryons. Pour cela, ils ont analysé 101 cycles d'ICSI avec pour seul critère d'inclusion l'infertilité masculine. Ils ont ensuite réalisé deux groupes en fonction du nombre d'OI obtenus : ≤ 2 ou > 2 (seuil défini de façon arbitraire). Le taux de fécondation des ovocytes matures était de 62,8% dans le groupe avec ≤ 2 OI et de 52% dans le groupe > 2 OI : cette différence était significative avec $p = 0,03$. Le nombre d'embryons de bonne qualité, les taux de grossesses cliniques et les taux de naissances n'étaient pas différents entre les deux groupes. Ainsi, ils concluent que le nombre d'OI pourrait être utilisé pour évaluer la probabilité de fécondation en FIV. A l'inverse, Kok et al (49) ont montré que le niveau de la réponse ovarienne et le taux d'OI n'affectaient pas les taux de fécondation. Pour l'instant, Il n'existe pas de donnée certaine concernant le possible impact des OI sur le devenir des autres ovocytes matures recueillis en FIV. Néanmoins, un fort taux d'immaturité ovocytaire serait un facteur péjoratif en terme de grossesse.

En plus de ces facteurs étudiés, la génétique pourrait également agir sur la maturité des ovocytes. En effet, dans le cadre de l'ovogénèse, les mécanismes de modification de l'empreinte de certains gènes (IGF2R, SNRPN, PEG1, PEG3) sont effectués au moment où l'ovocyte est arrêté en prophase I et pendant la transition entre le follicule primordial et le follicule antral (50). L'étude Sato et al. (51) montre qu'en cas de stimulation ovocytaire, il y a une perte de méthylation de PEG1. La stimulation ovocytaire pourrait donc être responsable de modifications de phénomènes de mise en place de l'empreinte génomique pendant l'ovogénèse (1). Ekart et al. (52) ont étudié l'expression des différents gènes des cellules du CCO d'ovocytes matures et immatures pour évaluer leur implication dans la maturité ovocytaire, les taux de fécondation, les taux de grossesse et les taux de naissance. Les taux moyens d'ARNm des gènes VCAN et HAS2 sont statistiquement plus faibles dans les cellules du cumulus des ovocytes matures par rapport à celles des OI. Ainsi il serait intéressant que ces études soient complétées afin de préciser le retentissement possible de la génétique sur l'immaturité ovocytaire.

La maturation *in vitro* (MIV) des ovocytes humains est une technique émergente d'assistance médicale à la procréation permettant d'obtenir sans stimulation des ovocytes matures (53). Les indications actuelles sont les patientes à risque d'hyperstimulation ovarienne potentiellement sévère, le syndrome de résistance à la FSH (54) ou la préservation de la fertilité (PF). Les taux de maturation *in vitro* varient entre 48 et 79% et on estime à ce jour dans le monde plus de 5000 naissances vivantes post-MIV (55). Il ne semble pas y avoir d'augmentation des taux d'anomalies fœtales ou néo-natales comparativement aux enfants issus de FIV classique ou de grossesses naturelles, en particulier pas plus de maladies génétiques soumises à l'empreinte (56,57). Concernant les patientes ayant de nombreux OI, nous pourrions imaginer que les OI soient maturés *in vitro* puis micro-injectés. Dans cette situation, la MIV ne semble pas avoir fait preuve de son efficacité. C'est pourquoi, actuellement, cette alternative ne semble pas indiquée.

CONCLUSION

Notre étude montre que l'immaturation ovocytaire peut s'expliquer en partie par l'utilisation de fortes doses de gonadotrophines. Au vu de nos résultats, il serait peut-être souhaitable de ne pas utiliser de trop fortes doses de gonadotrophines afin de limiter le taux d'OI.

La prise en charge des patientes ayant un taux important d'OI reste complexe. Comme nous l'avons montré, d'autres paramètres semblent impliqués dans la maturation ovocytaire, tels qu'une courte durée de stimulation ou encore un CFA diminué.

Un retentissement néfaste sur le taux de grossesse clinique a été mis en évidence dans notre étude. Les données de la littérature sur l'immaturation sont rares. Aussi, une étude de plus grande ampleur pourrait être réalisée afin de mieux expliquer l'immaturation ovocytaire et afin de définir en particulier un seuil à partir duquel la dose totale de gonadotrophines impacterait la maturité ovocytaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Clément P. Consequences of stimulation on oocyte quality. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2007 Sep;35(9):890–7.
2. Rossin-Amar B. Comment améliorer d'un point de vue clinique les résultats en FIV ? *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2006 Sep;34(9):774–80.
3. Feuerstein P, Cadoret V, Dalbies-Tran R, Guérif F, Royère D. Le dialogue ovocyte-cumulus. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2006 Sep;34(9):793–800.
4. Rienzi et al, The oocyte. *Hum Reprod.* 2012;27(S1):i2-i21
5. Dessolle L, de Larouzière V, Ravel C, Berthaut I, Antoine J-M, Mandelbaum J. Slow freezing and vitrification of human mature and immature oocytes. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2009 Sep;37(9):712–9.
6. Ko DS, Lee S-H, Park D-W, Yang KM, Lim CK. Pregnancy and fertilization potential of immature oocytes retrieved in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2015 Sep;42(3):118–25.
7. Shin SB, Cho JW, Lee S-H, Yang KM, Lim CK, Lee H-S. Fertilization and pregnancy potential of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2013 Mar;40(1):7–11.
8. Yang W-J, Liu F-C, Hsieh J-S, Chen C-H, Hsiao S-Y, Lin C-S. Matrix metalloproteinase 2 level in human follicular fluid is a reliable marker of human oocyte maturation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 2015;13:102.
9. Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Valkenburg M, Van de Meerssche M, Ryckaert G, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod Oxf Engl.* 1999 Sep;14(9):2345–9.
10. Antoine D la communication de J-M, Fiori O, Mandelbaum J. Peut-on prévoir la qualité ovocytaire par la qualité de la réponse ? 2008 Oct 3; Available from: <http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/117953/resultatrecherche/1>
11. Shavit T, Shalom-Paz E, Samara N, Aslih N, Michaeli M, Ellenbogen A. Comparison between stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF with GnRH antagonist protocol. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol.* 2016 Mar 3;1–5.
12. Coelho F, Aguiar LF, Cunha GSP, Cardinot N, Lucena E. Comparison of results of cycles treated with modified mild protocol and short protocol for ovarian stimulation. *Int J Reprod Med.* 2014;2014:367474.

13. Yoo JH, Cha SH, Park CW, Kim JY, Yang KM, Song IO, et al. Comparison of mild ovarian stimulation with conventional ovarian stimulation in poor responders. *Clin Exp Reprod Med*. 2011 Sep;38(3):159–63.
14. Lee S, Oktay K. Does higher starting dose of FSH stimulation with letrozole improve fertility preservation outcomes in women with breast cancer? *Fertil Steril*. 2012 Oct;98(4):961–4.e1.
15. Bosch E, Labarta E, Kolibianakis E, Rosen M, Meldrum D. Regimen of ovarian stimulation affects oocyte and therefore embryo quality. *Fertil Steril*. 2016 Mar;105(3):560–70.
16. Baker VL, Brown MB, Luke B, Smith GW, Ireland JJ. Gonadotropin dose is negatively correlated with live birth rate: analysis of more than 650,000 assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2015 Nov;104(5):1145–52.e1–5.
17. Nogueira D, Friedler S, Schachter M, Raziel A, Ron-El R, Smitz J. Oocyte maturity and preimplantation development in relation to follicle diameter in gonadotropin-releasing hormone agonist or antagonist treatments. *Fertil Steril*. 2006 Mar;85(3):578–83.
18. Masson E. Peut-on prédire la qualité ovocytaire par l'échographie ? *EM-Consulte*. Available from: <http://www.em-consulte.com/article/117951/alertePM>
19. Kyei-Mensah A et al. Transvaginal three-dimensional ultrasound: reproducibility of ovarian and endometrial volume measurements. *Fertil Steril*. 1996 Nov;66(5):718-22
20. Hsieh Y et al. Antral follicle counting in predicting the retrieved oocyte number after ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2001 Jun;18(6):320-4
21. te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update*. 2002 Apr;8(2):141–54.
22. Scott RT, Leonardi MR, Hofmann GE, Illions EH, Neal GS, Navot D. A prospective evaluation of clomiphene citrate challenge test screening of the general infertility population. *Obstet Gynecol*. 1993 Oct;82(4 Pt 1):539–44.
23. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev*. 2009 Aug;30(5):465–93.
24. Bancsi LFJMM, Broekmans FJM, Eijkemans MJC, de Jong FH, Habbema JDF, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):328–36.
25. Boucret L, Chao de la Barca JM, Morinière C, Desquiere V, Ferré-L'Hôtelier V, Descamps P, et al. Relationship between diminished ovarian reserve and mitochondrial biogenesis in cumulus cells. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2015 Jul;30(7):1653–64.
26. Guerif F, Lemseffer M, Couet M-L, Gervereau O, Ract V, Royère D. Serum antimüllerian hormone is not predictive of oocyte quality in vitro fertilization. *Ann Endocrinol*. 2009 Sep;70(4):230–4.
27. Smeenk MJ, Sweep FCGJ, Zielhuis GA, Kremer JAM, Thomas CMG, Braat DDM. Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or

- pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2007 Jan;87(1):223–6.
28. Wunder DM, Guibourdenche J, Birkhäuser MH, Bersinger NA. Anti-Müllerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2008 Dec;90(6):2203–10.
 29. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2006 Aug;21(8):2022–6.
 30. Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2008 Mar;89(3):586–91.
 31. Broer SL, Mol BWJ, Hendriks D, Broekmans FJM. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril*. 2009 Mar;91(3):705–14.
 32. Dewailly D. Le dosage d'AMH peut-il prédire la réponse ovarienne et la qualité ovocytaire ? *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2008 Dec;36:4–5.
 33. Sigala J, Sifer C, Dewailly D, Robin G, Bruyneel A, Ramdane N, et al. Is polycystic ovarian morphology related to a poor oocyte quality after controlled ovarian hyperstimulation for intracytoplasmic sperm injection? Results from a prospective, comparative study. *Fertil Steril*. 2015 Jan;103(1):112–8.
 34. Kdous M, Chaker A, Zhioua A, Zhioua F. Oocyte and embryo quality and outcome of ICSI cycles in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) versus normo-ovulatory. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2009 Apr;38(2):133–43.
 35. Esinler I et al. Outcome of intracytoplasmic sperm injection in patients with polycystic ovary syndrome or isolated polycystic ovaries. *Fertil Steril*. 2005 Oct;84(4):932–7
 36. Ludwig M et al. Oocyte quality and treatment outcome in intracytoplasmic sperm injection cycles of polycystic ovarian syndrome patients. *Hum Reprod*. 1999 Feb;14(2):354–8
 37. Mendes-Pereira et al. Outcome of ICSI cycles in patients with polycystic ovary syndrome and in normo-ovulatory women, *Fertil Steril*. 2006 Jul;S459
 38. Goud PT, Goud AP, Joshi N, Puscheck E, Diamond MP, Abu-Soud HM. Dynamics of nitric oxide, altered follicular microenvironment, and oocyte quality in women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2014 Jul;102(1):151–9.e5.
 39. Moore et al. Oocyte maturation arrest more common in younger patients undergoing IVF/ICSI, *Fertil Steril*. 2007 Jul;S271
 40. Lee HJ, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Moon SY. Oocyte maturity in relation to woman's age in in vitro fertilization cycles stimulated by single regimen. *Yonsei Med J*. 2012 Jan;53(1):181–5.

41. Lenoble C, Guibert J, Lefebvre G, Dommergues M. Influence du poids sur les taux de succès en fécondation in vitro. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2008 Sep;36(9):940–4.
42. Chaouache N, Ajina M, Gaddas M, Miled A, Tabka Z, Zbidi A, et al. Effets de l'hyperlipidémie sur la qualité embryonnaire et les résultats de la fécondation in vitro chez des femmes tunisiennes infertiles. *Nutr Clin Métabolisme*. 2015 Sep;29(3):140–6.
43. Ng EH, Lau EY, Yeung WS, Ho PC. HMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2001 Feb;16(2):319–25.
44. Greenblatt EM, Meriano JS, Casper RF. Type of stimulation protocol affects oocyte maturity, fertilization rate, and cleavage rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 1995 Sep;64(3):557–63.
45. Weiss A, Neril R, Geslevich J, Lavee M, Beck-Fruchter R, Golan J, et al. Lag time from ovulation trigger to oocyte aspiration and oocyte maturity in assisted reproductive technology cycles: a retrospective study. *Fertil Steril*. 2014 Aug;102(2):419–23.
46. Zilberberg E, Haas J, Dar S, Kedem A, Machtinger R, Orvieto R. Co-administration of GnRH-agonist and hCG, for final oocyte maturation (double trigger), in patients with low proportion of mature oocytes. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2015 Feb;31(2):145–7.
47. Youssef M a. F, Abdelmoty HI, Ahmed MAS, Elmohamady M. GnRH agonist for final oocyte maturation in GnRH antagonist co-treated IVF/ICSI treatment cycles: Systematic review and meta-analysis. *J Adv Res*. 2015 May;6(3):341–9.
48. Halvaei I, Ali Khalili M, Razi MH, Nottola SA. The effect of immature oocytes quantity on the rates of oocytes maturity and morphology, fertilization, and embryo development in ICSI cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Aug;29(8):803–10.
49. Kok JD, Looman CWN, Weima SM, te Velde ER. A high number of oocytes obtained after ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection is not associated with decreased pregnancy outcome. *Fertil Steril*. 2006 Apr;85(4):918–24.
50. Lucifero D, Mann MRW, Bartolomei MS, Trasler JM. Gene-specific timing and epigenetic memory in oocyte imprinting. *Hum Mol Genet*. 2004 Apr 15;13(8):839–49.
51. Sato A, Otsu E, Negishi H, Utsunomiya T, Arima T. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in superovulated oocytes. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2007 Jan;22(1):26–35.
52. Ekart J, McNatty K, Hutton J, Pitman J. Ranking and selection of MII oocytes in human ICSI cycles using gene expression levels from associated cumulus cells. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2013 Nov;28(11):2930–42.
53. Lornage D la communication de J. Maturation ovocytaire in vitro : l'expérience française. 2008 Oct 3; Available from: <http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/117942/resultatrecherche/2>
54. Grynberg M, El Hachem H, de Bantel A, Benard J, le Parco S, Fanchin R. In vitro maturation of oocytes: uncommon indications. *Fertil Steril*. 2013 Apr;99(5):1182–8.

55. Chian R-C, Uzelac PS, Nargund G. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. *Fertil Steril*. 2013 Apr;99(5):1173–81.
56. Son W-Y, Lee S-Y, Yoon S-H, Lim J-H. Pregnancies and deliveries after transfer of human blastocysts derived from in vitro matured oocytes in in vitro maturation cycles. *Fertil Steril*. 2007 Jun;87(6):1491–3.
57. Fadini R, Mignini Renzini M, Guarnieri T, Dal Canto M, De Ponti E, Sutcliffe A, et al. Comparison of the obstetric and perinatal outcomes of children conceived from in vitro or in vivo matured oocytes in in vitro maturation treatments with births from conventional ICSI cycles. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2012 Dec;27(12):3601–8.

AUTEUR : BARDIAUX Laura

Date de Soutenance : Lundi 6 juin 2016

Titre de la Thèse : Immaturité ovocytaire : analyse de 1017 tentatives de FIV ICSI au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille

Thèse - Médecine - Lille 2016

Cadre de classement : Médecine de la Reproduction

DES + spécialité : Gynécologie Médicale

Mots-clés : Immaturité ovocytaire, ICSI, dose de gonadotrophine, durée de stimulation, baisse de réserve ovarienne, endométriose, taux de grossesse.

Résumé :

Contexte: Les ovocytes immatures (OI) constitueraient entre 5 et 20% du nombre total d'ovocytes récupérés. En ICSI, seuls les ovocytes matures peuvent être micro-injectés. Il n'est pas encore clairement établi pourquoi certaines patientes présentent une proportion plus élevée d'OI. La question se pose de savoir quels facteurs influencent la maturité ovocytaire en FIV-ICSI.

Méthode : Etude rétrospective unicentrique incluant les couples en parcours d'infertilité ayant bénéficié d'une ou plusieurs tentatives de FIV-ICSI entre janvier 2013 et mars 2015, soit 1017 cycles. Les caractéristiques cliniques des patientes et celles de la stimulation ont été analysées. Les paramètres biologiques des ovocytes et des embryons ont également été rapportés ainsi que les issues des tentatives.

Résultats : La dose totale de gonadotrophines et le rang de la tentative sont corrélés positivement au taux d'immaturité ovocytaire ($p=0.013$ et $p=0.033$ respectivement). Le comptage des follicules antraux avant stimulation, la durée de la stimulation et le nombre de follicules supérieurs à 15mm sont corrélés négativement au pourcentage d'OI ($p=0.033$, $p=0.020$ et $p=0.019$ respectivement). L'analyse multivariée montre que la dose de gonadotrophines et la durée de stimulation expliquent 20% de la variance. En régression multiple, la dose de gonadotrophine est impliquée pour 16.7%. Le tabagisme, la présence d'ovaires polymicrokystiques et l'antécédent de pathologie tubaire n'influencent pas le taux d'immaturité. La présence d'une endométriose pelvienne ($p=0.029$) apparaît comme un facteur protecteur et l'antécédent de baisse de réserve ovarienne ($p=0.045$) occasionne le recueil d'un nombre plus élevé d'OI. Quelles que soient les modalités du traitement (protocole agoniste ou antagoniste ; FSH pure ou hMG ; mode de déclenchement), il n'y a pas de retentissement sur le pourcentage d'OI. Dans le groupe des patientes où il n'y a pas de grossesse clinique, il y a d'avantage d'OI ($p=0.018$).

Conclusion : Notre étude montre que l'immaturité ovocytaire peut s'expliquer par l'utilisation de fortes doses de gonadotrophines. D'autres paramètres semblent impliqués dans la maturation ovocytaire tels qu'une courte durée de stimulation ou un CFA diminué. Il existe un effet néfaste sur les chances de grossesse en cas de fort taux d'immaturité ovocytaire.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Didier DEWAILLY

Asseseurs : Madame le Docteur Brigitte MARTIN-LEROY

Madame le Docteur Patricia THOMAS-DESROUSSEAU

Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN

Directrice : Madame le Professeur Sophie CATTEAU- JONARD