

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTE DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Proposition systématique de préservation de la fertilité par congélation
d'ovocytes en cas de tumeur ovarienne bénigne à haut risque
d'altération du capital folliculaire ovarien.**

Présentée et soutenue publiquement le 11 juin 2020 à 16h
au Pôle Recherche
Par Charlotte LEGRAND

JURY

Président :

Madame le Professeur Sophie CATTEAU-JONARD

Assesseurs :

Madame le Professeur Chrystèle RUBOD DIT GUILLET

Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN

Madame le Docteur Laura KELLER

Directeur de thèse :

Madame le Docteur Christine DECANTER

Avertissement

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

LISTE DES ABREVIATIONS

ABM : Agence de Biomédecine

AMH : Hormone anti-mullérienne

AMP : Assistance médicale à la procréation

CFA : Compte folliculaire antral

CHU : Centre hospitalier universitaire

CLBR : cumulative live birth rate

DIU : Dispositif intra utérin

FIV : Fécondation in vitro

FSH : Follicle Stimulating Hormone

FSH-r : Follicle stimulating Hormone recombinante

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

HCG : Human Chorionic Gonadotropin

ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection

IRM : Imagerie par résonance magnétique

IMC : Indice de masse corporelle

LH : Luteinizing Hormone

MI : Métaphase 1

MII : Métaphase 2

NS : non significatif

ROS : Reactive oxygen species

PF : Préservation de la fertilité

UI : Unités internationales

VG : Vésicule germinale

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	1
INTRODUCTION THÈSE :	2
MATÉRIELS et MÉTHODES	10
Design de l'étude :	10
Population étudiée :	10
Parcours d'inclusion dans le centre de préservation	11
Etude de la réserve ovarienne :	12
Protocole de stimulation ovarienne	12
Ponction ovocytaire.....	14
Technique de vitrification	15
Questionnaires	15
Critères d'évaluation	16
Analyse statistique	16
RÉSULTATS	18
Caractéristiques de la population étudiée	18
Caractéristiques de la stimulation ovarienne.....	22
Cohorte ovocytaire	23
Recherche de facteurs associés au nombre d'ovocytes en métaphase II obtenus par patiente :	27
Comparaison en sous-groupe : « endométriosique » versus « non endométriosique » :	28
Complication :	30
Questionnaire de tolérance fonctionnelle	31
<i>Douleurs pendant la période de stimulation</i> :	31
<i>Ballonnement abdominal post ponction</i> :	31
<i>Douleurs post ponction</i> :	31
<i>Température</i>	32
<i>Adhésion au protocole</i> :	32
Etude de la réutilisation des ovocytes vitrifiés	33
DISCUSSION	34
CONCLUSION	42
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE	43
ANNEXE 1	49

RÉSUMÉ

CONTEXTE : Les tumeurs ovariennes bénignes sont fréquentes chez la femme jeune. Leur prise en charge expose les patientes à un risque d'altération du capital folliculaire ovarien et d'infertilité future. A ce jour, aucune étude de cohorte n'est publiée sur la préservation de la fertilité chez ces patientes. L'objectif principal est d'évaluer le nombre d'ovocytes matures en métaphase II recueillis et éligibles à la vitrification pour la préservation de la fertilité.

MATÉRIEL&MÉTHODES : Cohorte rétrospective de données collectées prospectivement, monocentrique entre juin 2011 et janvier 2020. Proposition systématique de préservation de la fertilité chez toutes les patientes âgées de moins de 35 ans, porteuses de tumeurs ovariennes bénignes : kyste unique ≥ 5 cm, multiples unilatéraux ou bilatéraux, avant ou après une prise en charge chirurgicale. Un bilan de la réserve ovarienne était réalisé avant le début de la stimulation. 1 à 3 cycles de stimulation ovarienne étaient proposés par patiente. Seuls les ovocytes en métaphase II étaient vitrifiés. Chaque patiente après janvier 2019 a été recontactée par téléphone après la ponction.

RESULTATS : 70 patientes âgées de $27,9 \pm 4,8$ ans ont été incluses avant ou après une chirurgie et 113 cycles ont été analysés. Le taux moyen d'AMH était de $12,5 \pm 8,7$ pmol/L. En moyenne $6,4 \pm 3,4$ ovocytes totaux étaient ponctionnés par cycle dont $4,3 \pm 3,4$ ovocytes en métaphase II. 41,5 % des cycles ont permis le recueil de quatre ovocytes ou moins. Après 1 à 3 cycles, $6,87 \pm 5,23$ ovocytes MII étaient vitrifiés par patiente : $4,19 \pm 3,35$ MII après un cycle, $8,03 \pm 5,35$ MII après deux cycles et enfin $9,43 \pm 5,59$ MII après trois cycles. Dans l'analyse multivariée la dose de départ de FSH-r, le taux d'œstradiol et le nombre de follicules ≥ 15 mm étaient les seuls facteurs associés au nombre d'ovocytes matures. Aucune différence n'a été retrouvée entre les groupes « endométriosique » et « non endométriosique ». Aucun effet indésirable grave n'est survenu. Les patientes semblent satisfaites de cette proposition, et adhèrent au protocole.

CONCLUSION : Après un cycle, le nombre d'ovocytes vitrifiés est trop faible pour offrir de bonnes chances de grossesse future. Une proposition d'accumulation ovocytaire est préconisée. L'adhésion et la tolérance au protocole sont bonnes. Un suivi au long terme est nécessaire afin d'évaluer l'efficacité, la pertinence clinique et la rentabilité de la procédure.

INTRODUCTION THÈSE :

Les kystes ovariens bénins sont fréquents chez la femme en âge de procréer. Même s'il est difficile d'avoir une idée précise de la prévalence en population générale, on considère que 10 à 20% des femmes en présenteront un pendant leur période d'activité génitale [1,2]. Le diagnostic se fait souvent fortuitement par une échographie, ou l'apparition d'une symptomatologie à type d'algie ou de masse pelvienne. 75% d'entre eux sont fonctionnels et régresseront spontanément au contrôle échographique ultérieur, alors que 25% d'entre eux sont organiques et nécessiteront une prise en charge [1,3].

Les kystes ovariens organiques peuvent dériver du revêtement épithélial de l'ovaire, avec 25 à 35% de kystes séreux et 10 à 15% de kystes mucineux. Les endométriomes représentent 20% des kystes ovariens organiques et sont retrouvés chez 17 à 44% des patientes atteintes d'endométriose pelvienne profonde [4,5]. Enfin, dans 20% des cas, il s'agit de kystes dermoïdes dérivés des tissus embryonnaires de l'ovaire [1,3].

Chez l'enfant et l'adolescente, 70% des kystes organiques sont des tératomes, au lent potentiel évolutif, alors que la fréquence des tumeurs épithéliales augmente progressivement jusqu'à atteindre 30% vers l'âge de 15 - 17 ans [6].

La prise en charge des kystes organiques est majoritairement chirurgicale et permet de faire le diagnostic histologique de la lésion. La voie d'abord coelioscopique est préconisée. Elle est associée à une réduction des complications post opératoires, des douleurs, des durées, et des coûts des séjours hospitaliers [7-9].

La kystectomie intra péritonéale par laparoscopie est la technique de référence. Un plan de clivage est réalisé entre la paroi du kyste et le parenchyme ovarien sain par traction

divergente. Elle permet une augmentation des chances de grossesse spontanée, une diminution de la symptomatologie post opératoire et du risque de récurrence [8-11]. En cas de difficultés opératoires, une ovariectomie partielle ou totale peut s'avérer nécessaire.

La chirurgie ablative par électrocoagulation bipolaire, la ponction échoguidée et le drainage par voie coelioscopique ne sont pas recommandés en première intention en raison des résultats inférieurs à la kystectomie [9-11].

Plusieurs études ont étudié l'ablation de la paroi kystique des endométriomes par vaporisation laser ou énergie plasma. Elle permettrait une meilleure préservation du tissu ovarien sain adjacent au kyste [12]. Cette technique semble représenter une alternative intéressante à la kystectomie notamment en cas d'atteinte bilatérale ou récidivante [11-15]. Néanmoins des séries de plus grande ampleur sont nécessaires pour conforter ces résultats prometteurs.

En cas de kyste récurrent, il est important de prendre en compte la fertilité future de la patiente. En effet, une partie du parenchyme ovarien sain est excisée à chaque nouvelle intervention [16]. Dans tous les cas, une évaluation de la réserve ovarienne est recommandée avant la chirurgie afin de privilégier une approche conservatrice chez la femme en âge de procréer.

Les principales indications chirurgicales pour les kystes dermoïdes sont une taille supérieure à 4 à 6 centimètres, une symptomatologie clinique, ou la modification de l'aspect du kyste. En l'absence de ces caractéristiques, une surveillance annuelle est raisonnable [17]. Pour les kystes ovariens séro-mucineux, une indication chirurgicale est retenue en cas de taille supérieure à 10 centimètres, de symptomatologie clinique, ou d'antécédents familiaux et/ou personnels de cancer du sein ou de l'ovaire [17]. Concernant les

endométriomes les indications sont moins claires, une abstention thérapeutique peut être proposée en cas de kyste isolé, asymptomatique et de taille inférieure à 3 centimètres [17].

Par ailleurs, les kystes organiques ont la particularité d'avoir un haut potentiel de récurrence. Pour les kystes dermoïdes, Harada et al ont décrit un taux de récurrence de 4,2 % après une kystectomie [18]. L'âge de moins de 30 ans, la bilatéralité des lésions et une taille supérieure à 8 centimètres représentaient des facteurs prédictifs de récurrence. L'association de deux ou trois de ces facteurs augmentait le risque jusqu'à 21 %. Dans la population pédiatrique, Rogers et al ont quant à eux retrouvé un taux de récurrence de 10,6% [19].

Après kystectomie optimale, le taux de récurrence des kystes séro-mucineux est estimé entre 2,6% et 7,1% selon les études [20,21].

Les endométriomes présentent le plus haut potentiel de récurrence, le taux est estimé à 21 % à 2 ans, et 40 à 50 % à 5 ans [22]. L'âge de moins de 35 ans et la profondeur de pénétration semblent augmenter ce risque, alors qu'une grossesse en post opératoire le diminuerait [23-25]. Après une ovariectomie totale, Hidari et al ont rapporté 24,7 % de récurrence sur l'ovaire controlatéral dans les 5 ans [26].

Les patientes porteuses de tumeur ovarienne bénigne sont à risque d'altération de leur capital folliculaire et ainsi d'infertilité future voire d'insuffisance ovarienne précoce, notamment en cas d'endométriome. 20 à 50% des femmes atteintes d'endométriose présentent des problèmes de fertilité [27].

Plusieurs études ont rapporté la preuve de l'impact négatif de la chirurgie sur la réserve ovarienne. En effet, le taux d'AMH, reflet le plus fidèle du stock folliculaire [28], est

significativement plus bas après une kystectomie pour endométriose. Il diminue en moyenne de 40 à 60% en post opératoire direct et récupère progressivement mais partiellement à distance [29–32]. Cette baisse est plus marquée en cas de réserve ovarienne basse avant la chirurgie, de kystes volumineux, bilatéraux, ou récidivants [32–34]. Par ailleurs, une étude a rapporté une avance significative de l'âge de la ménopause et une augmentation de la prévalence de l'insuffisance ovarienne précoce après l'excision d'endométrioses bilatérales [35]. Cet impact peut en partie s'expliquer par l'ablation de cortex ovarien sain avec le kyste, et par des lésions vasculaires de l'ovaire. Sur la pièce histologique, du tissu sain adjacent à la paroi kystique est retrouvé chez environ 60% des patientes opérées d'endométriose et 5 à 30% des patientes opérées d'autres types histologiques [16,36]. Les résultats sur la réserve ovarienne après une chirurgie ablative par vaporisation laser ou plasmajet sont encourageants. Roman et al ont certes montré une baisse de l'AMH à trois mois, mais elle est suivie d'une augmentation significative du taux à distance de la chirurgie [14]. Dans une récente étude randomisée, Candiani et al ont montré que le taux d'AMH après vaporisation laser n'était pas réduit à trois mois de la chirurgie contrairement à une prise en charge par kystectomie [15].

Par ailleurs, des récentes études ont montré que la simple présence d'un endométriose pouvait altérer la folliculogénèse et entraîner une baisse de la réserve ovarienne [37,38]. La présence de marqueurs de stress oxydatif (ROS, reactive oxygen species), de fer libre et de cytokines pro inflammatoires à des taux très élevés entraînent une inflammation locale et la formation de fibrose dans le cortex ovarien adjacent [39]. Cette dernière est responsable d'un recrutement folliculaire prématuré, d'un taux d'atrésie élevé et d'une baisse de la qualité des follicules primordiaux. Muzii et al ont retrouvé des valeurs d'AMH significativement plus basses chez des patientes porteuses d'un endométriose non opéré par rapport à des patientes saines ou atteintes d'autres types de kystes ovariens [40].

L'impact sur la réserve ovarienne est moindre en cas de chirurgie pour un kyste dermoïde ou séro-mucineux ^[41,42]. Rustamov et al ont tout de même mis en évidence une diminution significative de 54 % de l'AMH après une annexectomie unilatérale ^[41].

La fertilité diminue naturellement à partir de 32 ans et de façon exponentielle après 37 ans ^[43]. L'âge s'associe à une perte de la qualité ovocytaire par le biais d'une augmentation du taux d'aneuploïdie. De plus, l'âge du premier enfant ne cesse de reculer, en 2015 selon l'INSEE il était de 28,5 ans en France.

Chez ces jeunes patientes au haut potentiel de récurrence et d'altération du capital folliculaire, il est important de prendre en compte le risque d'infertilité future. Des recommandations HAS-CNGOF sur la stratégie de préservation de la fertilité dans l'endométriose ont récemment été publiées ^[44]. Elle semble avoir sa place dans les stratégies thérapeutiques de l'endométriose, en particulier en cas d'atteinte ovarienne bilatérale, ou de récurrence sur l'ovaire controlatéral ^[45]. A ce jour, il n'existe pas de recommandations claires pour les autres types de kystes ovariens.

En France la loi de bioéthique prévoit que « toute personne dont la prise en charge est susceptible d'altérer la fertilité, ou dont la fertilité risque d'être prématurément altérée par un traitement médical ou autre, puisse bénéficier du recueil ou de la conservation de ses gamètes en vue de la préservation et de la restauration de sa fertilité ». Les tumeurs ovariennes bénignes rentrent donc dans le cadre légal de la préservation de fertilité en France. Malgré une prise en charge par l'assurance maladie, peu de patientes en bénéficient à ce jour en dehors du cancer.

Alors que la congélation des spermatozoïdes est décrite dans la littérature depuis les années 1970, les techniques de préservation ovocytaire ont considérablement évolué ces dernières années.

La congélation dite « lente » est la première méthode décrite pour la cryopréservation ovocytaire. Elle expose progressivement les ovocytes à des températures basses pendant une longue période occasionnant des dommages intra et extra cellulaires irréversibles par la formation de cristaux de glace. L'ajout de cryoprotecteurs (glycérol ou éthylène glycol) est nécessaire pour limiter les dommages cryogéniques. Cependant, de fortes concentrations sont susceptibles de provoquer des dommages cellulaires ^[46]. La forte teneur en eau des ovocytes et leur grande taille les rendent vulnérables et ont rendu difficile le développement des techniques de congélation ovocytaire. Même si la première naissance obtenue à partir d'un ovocyte congelé est décrite par Chen en 1986 ^[47], cette méthode n'a pas pu être utilisée en routine. Les résultats en FIV étaient peu satisfaisants par rapport à l'utilisation d'ovocytes frais ^[48].

A partir des années 1980, une nouvelle technique est décrite : la vitrification ultra rapide. Les ovocytes sont exposés très brièvement à des concentrations croissantes de cryoprotecteurs puis disposés sur un dispositif stérile de paillettes de vitrification. Elles sont ensuite plongées entièrement dans l'azote liquide dont la température avoisine les -196°C, permettant d'atteindre des vitesses de refroidissement considérables. La formation de cristaux de glace est ainsi limitée voire absente et permet donc d'empêcher la création de dommages cellulaires. Deux systèmes de vitrification sont décrits, les systèmes ouverts et fermés. Dans la méthode ouverte, les ovocytes sont plongés directement au contact de l'azote liquide. Les vitesses de refroidissement sont alors ultra rapides, mais il existe un risque théorique de contamination croisée, l'azote n'étant pas stérile. Dans la méthode fermée, les ovocytes sont protégés de l'azote par des pailles scellées pour limiter ce risque,

les vitesses de refroidissement sont alors plus faibles. Le risque de contamination et l'effet néfaste de l'azote à long terme poussent les centres, comme en France, à utiliser les systèmes fermés. Les dernières études suggèrent une absence de différence significative entre ces deux méthodes sur les taux de réussite [49].

Après réchauffement, environ 85% des ovocytes vitrifiés sont récupérés. Les résultats en FIV/ICSI sont similaires à ceux des ovocytes frais [50-54]. Cobo et al ont montré qu'un objectif de 8 à 10 ovocytes vitrifiés permettait d'offrir près de 40 % de naissances vivantes chez la femme de moins de 35 ans ayant bénéficié de technique de préservation [50,55]. Les données obstétricales et néonatales sont rassurantes. Dans la cohorte des 900 premiers enfants nés issus de cette technique, Noyes et al n'ont pas relevé d'augmentation du nombre de malformation congénitale [56]. Les taux de complication obstétricale, de naissance vivante et la morbidité néonatale sont comparables aux ovocytes frais en cas d'utilisation autologue [57,58].

Ces résultats encourageants ont permis son utilisation en routine dans les techniques de préservation [59]. En France, Il faut attendre 2011 pour qu'elle soit autorisée. Elle permet de pallier aux problèmes éthiques et moraux de la cryopréservation embryonnaire. Une étude a montré que plus de la moitié des patientes en couple souhaitaient une préservation de leur fertilité par vitrification ovocytaire plutôt qu'embryonnaire [68].

A ce jour, aucune étude de cohorte n'est publiée sur la préservation de la fertilité par vitrification ovocytaire en cas de tumeur ovarienne bénigne endométriosique, dermoïde ou séro-mucineuse. En effet les rares études concernent exclusivement des patientes atteintes d'endométriose. La première publication dans ce contexte est un case report en 2009 [61]. Récemment deux cohortes rétrospectives chez des patientes atteintes d'endométriose ont

été publiées par l'équipe de Raad et al et Cobo et al ^[51,62]. Ils mettaient en évidence l'impact négatif de la chirurgie sur la réponse à l'hyperstimulation ovarienne. En 2018, notre centre a publié une première étude pilote de proposition systématique de préservation de la fertilité chez 24 patientes opérées d'un kyste ovarien à haut potentiel de récurrence. Les résultats mettaient en avant une forte adhésion des patientes au protocole ^[63].

L'objectif de notre étude est d'évaluer le nombre d'ovocytes en métaphase II obtenu après stimulation ovarienne pour préservation de la fertilité chez de jeunes patientes porteuses de tumeur ovarienne bénigne à risque de récurrence et/ou d'amputation du capital folliculaire. Les objectifs secondaires sont d'évaluer la cinétique de la croissance folliculaire, la qualité de la cohorte ovocytaire et d'analyser la tolérance fonctionnelle du protocole par le biais d'un questionnaire téléphonique.

MATÉRIELS et MÉTHODES

Design de l'étude :

Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective à partir de données collectées prospectivement, monocentrique, dans le service de médecine de la reproduction et de la préservation de fertilité du CHU de Lille. La période d'inclusion s'est étendue de juin 2011 à janvier 2020. Chaque patiente incluse dans le centre a signé un consentement écrit et éclairé de non opposition à l'exploitation des données à but de recherche ainsi qu'un accord pour la ponction ovocytaire et la vitrification. En parallèle, dans le but d'investigations complémentaires sur notre cohorte, un avis auprès du Comité de Protection des Personnes a été demandé et approuvé en 2019 (2019-A02070-57) pour autoriser le rappel des patientes en post ponction ovocytaire. Il a permis le rappel de chaque patiente incluse à partir de 2019, soit un total de 14 patientes (22 ponctions). Toutes ont signé un formulaire de non opposition.

Population étudiée :

Soixante-dix patientes ont été incluses dans la cohorte entre juin 2011 et janvier 2020, avant ou après une prise en charge chirurgicale pour une tumeur ovarienne bénigne à haut risque d'altération du capital folliculaire. Au total, 113 cycles de stimulation ont été analysés.

Les critères d'inclusion dans l'observatoire de la fertilité étaient :

- un âge inférieur ou égal à 35 ans,
- la présence d'une tumeur ovarienne bénigne à haut risque de récurrence ou ayant déjà récidivé et/ou d'altération du capital folliculaire ovarien : un kyste unique \geq 5 centimètres,

ou des kystes multiples unilatéraux ou bilatéraux, avec ou sans antécédent de chirurgie,

- patiente apte à délivrer un consentement éclairé,
- détentrice d'une assurance sociale.

Les patientes atteintes d'une tumeur ovarienne maligne, borderline ou suspecte de malignité, d'une réserve ovarienne basse avec une AMH seuil ≤ 3 pmol/L, présentant des antécédents thrombo-emboliques (tels qu'une embolie pulmonaire ou thrombose veineuse profonde), une grossesse ou un allaitement maternel en cours et une impossibilité à donner un consentement éclairé, ont été exclues de l'étude.

Parcours d'inclusion dans le centre de préservation

Chaque patiente atteinte d'une tumeur ovarienne bénigne à haut risque de récurrence et/ou d'altération du capital folliculaire a été recrutée et orientée par son chirurgien ou son gynécologue dans le service de préservation de la fertilité du CHU de Lille. La majorité des patientes (89%, n=62) a été adressée après avoir bénéficié d'une prise en charge chirurgicale. Elles étaient reçues en consultation dédiée de préservation de la fertilité. Elles recevaient une information claire et éclairée sur le risque d'altération de leur fertilité, les bénéfices et les risques attendus du protocole. Afin de permettre la vitrification d'un maximum d'ovocytes, une stratégie d'accumulation était proposée par le biais de la réalisation de 1 à 3 cycles.

Les données relatives aux patientes ont été collectées par le médecin lors de la première consultation : l'âge de la patiente, le tabagisme, le type histologique du kyste, la notion de récurrence, la latéralité, l'antécédent de chirurgie, le nombre et le type de chirurgie, l'IMC, la prise d'une contraception antérieure.

Si la patiente répondait aux critères d'inclusion, une information écrite lui était délivrée sur le principe, les bénéfices attendus et les risques de la stimulation ovarienne, de la ponction ovocytaire et de la vitrification ovocytaire.

Etude de la réserve ovarienne :

Une évaluation de la réserve ovarienne a été systématiquement proposée avant le début de la stimulation. Elle était évaluée par le dosage de l'AMH, considéré à ce jour comme le meilleur marqueur de la réserve ovarienne indépendamment du cycle [28]. Le dosage était réalisé par le kit AMH-EIA immuno-enzymatique de deuxième génération fourni par Beckman Coulter Immunotech® (Villepinte, France), puis dès janvier 2016 par le dosage automatisé Access Dxi (B13127, Beckman Coulter®). Nous avons utilisé la formule de conversion suivante : $AMH(Dxi) = 0,77 \times AMH(EIA) + 0,12$ [64]. Dans la majorité des cas, un compte folliculaire antral (CFA) était réalisé. Il était estimé sur un Voluson E8 Expert (General Electric Systems, VELIZY, France) à l'aide d'une sonde intra vaginale de 5 à 9 MHz. Chaque follicule de diamètre compris entre 2 et 9 mm était pris en compte. Nous n'avons pas réalisé de dosage systématique de la FSH et de l'estradiol en début de cycle.

Protocole de stimulation ovarienne

Un protocole antagoniste a été privilégié afin de limiter au maximum le risque iatrogène d'hyperstimulation ovarienne. Une faible proportion de patientes atteintes d'endométriose très symptomatique, déjà sous traitement agoniste de la GnRH au long cours avant le début de la stimulation, a été stimulée selon un protocole long agoniste. L'injection quotidienne de FSH recombinante (FSH-r) était débutée au deuxième jour d'un cycle menstruel spontané.

La dose de départ de FSH-r était déterminée en fonction de l'âge de la patiente, de l'IMC et de la réserve ovarienne déterminée par le CFA et le dosage de l'AMH. Elle variait de 112,5 à 450UI/jour. L'injection de l'antagoniste (orgalutran 0,25mg/0,5mL, MSD) était débutée systématiquement au sixième jour de stimulation. Un premier contrôle de monitoring était réalisé au sixième jour de stimulation puis tous les deux à trois jours jusqu'à la décision de déclenchement de l'ovulation. Chaque contrôle comprenait une échographie endo vaginale avec comptage folliculaire et un dosage sanguin de la LH, de l'œstradiol, et de la progestérone. L'échographie était réalisée par un nombre limité d'opérateurs entraînés avec une sonde intra vaginale de 5 à 9 Mhz. Les follicules étaient mesurés selon une méthode standardisée et classés suivant leur taille : entre 12 et 14 mm, et supérieure ou égale à 15 mm.

Le déclenchement était décidé dès qu'un minimum de trois follicules avaient une taille supérieure ou égale à 18 mm, et que la majorité des follicules intermédiaires atteignait une taille supérieure ou égale à 14 mm. Le déclenchement de l'ovulation était réalisé par hCG recombinante (Ovitrelle®, choriogonadotrophine alpha, 250 µg, Serono Europe Limited) dans la majorité des cas (92 cycles), par agoniste de la GnRH (Décapeptyl® 0,2mg, triptoréline, Ipsen pharma) en cas de risque d'hyperstimulation ovarienne [65], ou plus rarement les deux. Le jour du déclenchement la cohorte folliculaire était classée selon deux catégories : 12 à 14 mm et ≥ 15 mm. Elle permet d'estimer le nombre d'ovocytes matures attendu le jour de la ponction.

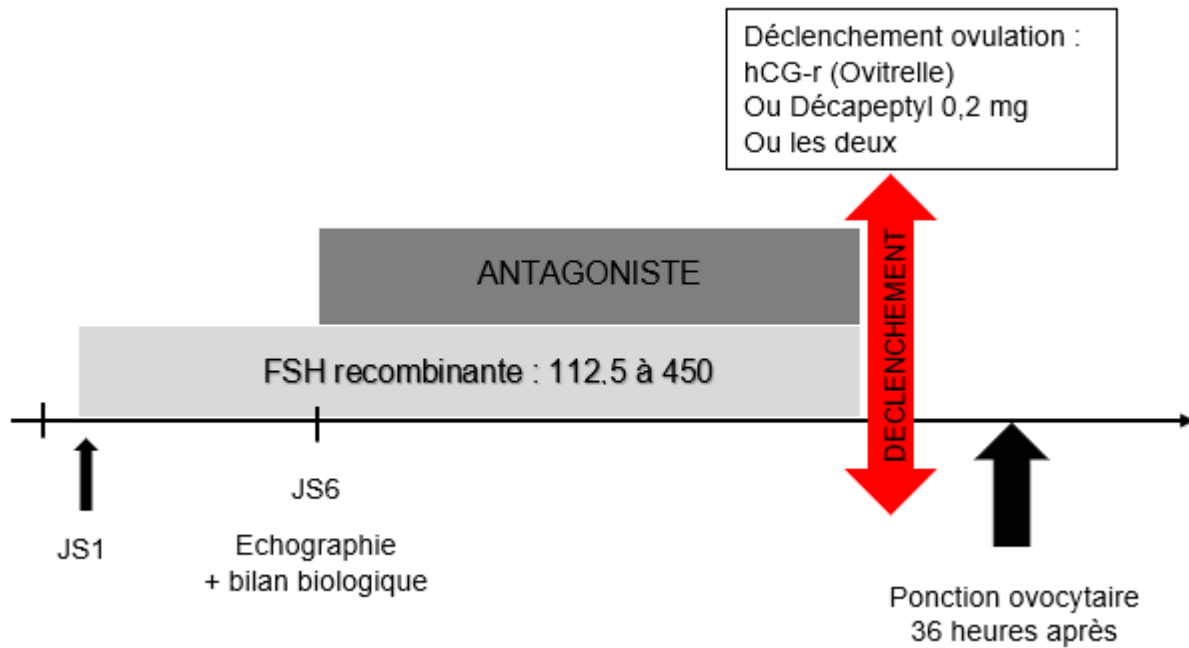


Figure 1 : Schéma du protocole antagoniste

Ponction ovocytaire

La ponction ovocytaire avait lieu 36 heures après le déclenchement de l'ovulation sous analgésie. Elle était réalisée sous contrôle échographique par aspiration transvaginale du fluide folliculaire. Chaque patiente atteinte d'endométriose a bénéficié d'une antibiothérapie per ponction. Les ovocytes étaient ensuite recueillis par le laboratoire de médecine de la reproduction après examen à la loupe binoculaire du fluide folliculaire. Les ovocytes atrétiques étaient écartés de toute manipulation ultérieure. Deux heures après la récupération, les ovocytes étaient décoronés dans un environnement contrôlé à 37°C et enrichi à 5% de CO₂. En premier, ils l'étaient par une brève exposition des complexes cumulo ovocytaires à 80 UI/ml de solution de hyaluronidase (Hyaluronidase in Fercult flushing medium FertiPro™, Belgique), puis par dénudation manuelle de la corona radiata à l'aide d'une pipette (Flexipet™, Cook, USA).

Après évaluation de la maturité nucléaire, seuls les ovocytes au stade de métaphase 2 étaient vitrifiés. Les ovocytes immatures au stade de métaphase 1, de vésicule germinale (prophase 1), atrétiques, dysmorphiques ou ceux dont la zone pellucide était altérée n'étaient pas cryoconservés.

Technique de vitrification

Les ovocytes étaient vitrifiés dans un système de vitrification dit « fermé » afin d'éviter le risque de contamination croisée par contact direct avec l'azote liquide (Rapid-I kit™ Vitrolife, Sweden). Les solutions d'équilibration et de vitrification utilisées (RapidVit™, Vitrolife, Suède) contenaient des concentrations croissantes de propanediol et d'éthylène glycol. Les ovocytes étaient vitrifiés dans des pailles RapidStraw scellées, puis plongés et conservés dans de l'azote liquide à -196 °C. Toutes les manipulations étaient réalisées sous une hotte stérile chauffée à 37°C.

La patiente était informée le jour de la ponction du nombre d'ovocytes matures cryopréservés. En fonction du nombre recueilli et du souhait de la patiente, un nouveau cycle lui était proposé. Au maximum, trois cycles étaient réalisés afin d'atteindre un nombre satisfaisant d'ovocytes.

Questionnaires

Les patientes incluses à partir de janvier 2019 ont été rappelées 48 à 72 heures après la ponction ovocytaire pour évaluer la tolérance fonctionnelle à l'aide d'un questionnaire (annexe 1). Si la patiente a réalisé plusieurs cycles, elle était recontactée à chaque ponction.

Critères d'évaluation

Le critère de jugement principal était d'évaluer le nombre d'ovocytes matures en métaphase II éligibles à la vitrification ovocytaire, par cycle et par patiente.

Les objectifs secondaires étaient définis par :

- l'analyse des caractéristiques de la stimulation : dose de départ de FSH-r, dose totale de FSH-r, nombre de jours de stimulation, type de protocole, type de déclenchement de l'ovulation, œstradiol le jour du déclenchement.
- l'analyse de la cohorte folliculaire : mesure des follicules au moment du déclenchement, répartis en deux catégories (de 12 à 14 mm, \geq 15 mm).
- la description de la cohorte ovocytaire : le nombre total d'ovocytes, le nombre d'ovocytes immatures (VG et MI), d'ovocytes lysés, le taux de maturation (nombre ovocytes matures/nombre d'ovocytes totaux), le taux de lyse.
- Evaluation de la tolérance fonctionnelle, des complications et l'adhésion au protocole par questionnaire : rappel de la patiente 48 à 72 heures après la ponction.
- Taux de réutilisation des ovocytes cryoconservés : récupération des données grâce au logiciel JFIV du CHU de Lille.

Analyse statistique

Les paramètres qualitatifs ont été exprimés en termes de fréquences et de pourcentages.

Les paramètres quantitatifs ont été exprimés en termes de moyenne et de déviation standard ou de médiane et d'intervalle interquartile. La distribution de ces paramètres a été analysée graphiquement et par le test de Shapiro Wilk.

La recherche des facteurs prédictifs du nombre d'ovocytes matures a été réalisée par un modèle d'équations d'estimation généralisée (GEE) (distribution de Poisson et fonction de lien logit) tenant compte de la corrélation entre les cycles d'une même patiente. Les facteurs dont la p-value était inférieure à 0.10 en analyse univariée, ont été inclus dans un modèle GEE multivarié.

La comparaison des groupes « endométriosique » et « non endométriosique » a été réalisée par : le test du Chi-deux pour le statut tabagique et le nombre d'ovaire ; par le test t de Student pour l'âge, l'IMC, le CFA et l'AMH ; par un modèle linéaire mixte avec un effet aléatoire « patiente » pour la dose de départ de FSH-r, la dose totale de FSH-r, le taux d'œstradiol (après transformation logarithmique), et le ratio nombre d'ovocytes matures/nombre de follicules ≥ 15 mm ; par un modèle GEE (distribution de Poisson et fonction de lien logit) tenant compte de la corrélation entre les cycles d'une même patiente pour le nombre de follicules < 15 mm, le nombre de follicules ≥ 15 mm, le nombre total d'ovocytes recueillis, le nombre d'ovocytes lysés, le nombre d'ovocytes matures et immatures. Le taux de maturation et le taux de lyse ont été comparés par ce même modèle avec comme variable dépendante le nombre d'ovocytes matures pour l'un et le nombre d'ovocytes lysés pour l'autre et en considérant le nombre total d'ovocytes comme variable offset pour tous les deux.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

RÉSULTATS

Caractéristiques de la population étudiée

Cent treize cycles ont été réalisés chez soixante-dix patientes entre juin 2011 et janvier 2020 dans le centre de préservation de la fertilité du CHU de Lille.

La répartition des différents types de tumeur ovarienne bénigne dans la population est regroupée dans la figure 2 : 39 patientes présentaient un ou des endométriomes (56%), 22 patientes un ou des kystes dermoïdes matures (31%), 5 patientes un ou des kystes mucineux (7%) et 4 patientes un ou des kystes séreux (6%). Nous avons regroupé les kystes dermoïdes, séreux et mucineux sous le terme « non endométriosique » pour l'analyse.

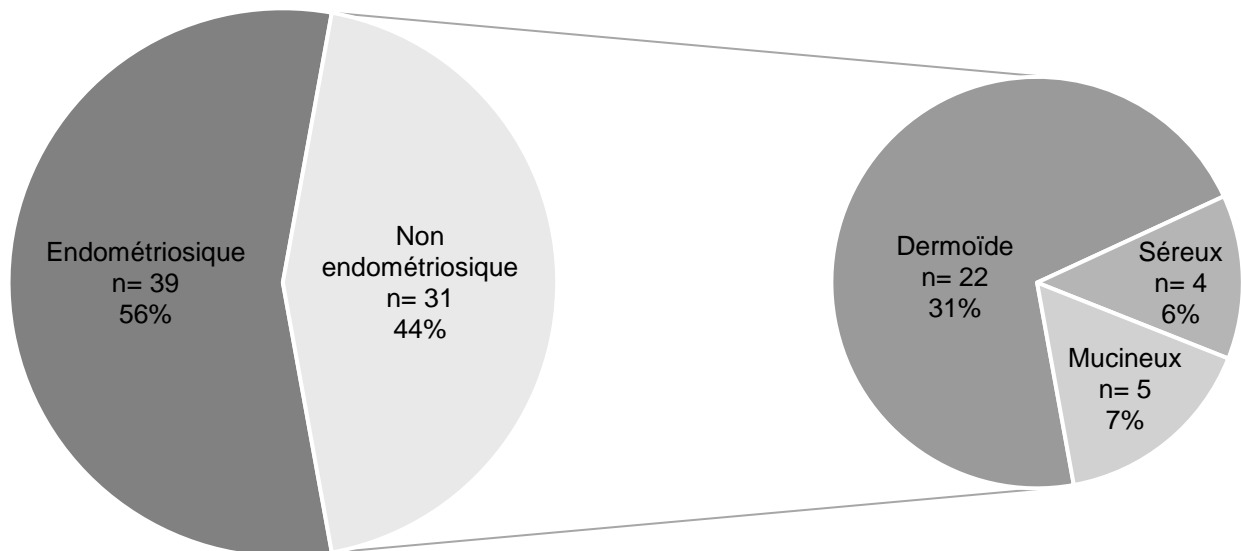


Figure 2 : Type de tumeur ovarienne bénigne

Les patientes ont été incluses dans l'étude avant ou après une prise en charge chirurgicale de leur tumeur ovarienne bénigne. Le parcours et types de chirurgie des patientes sont détaillés dans la figure 3.

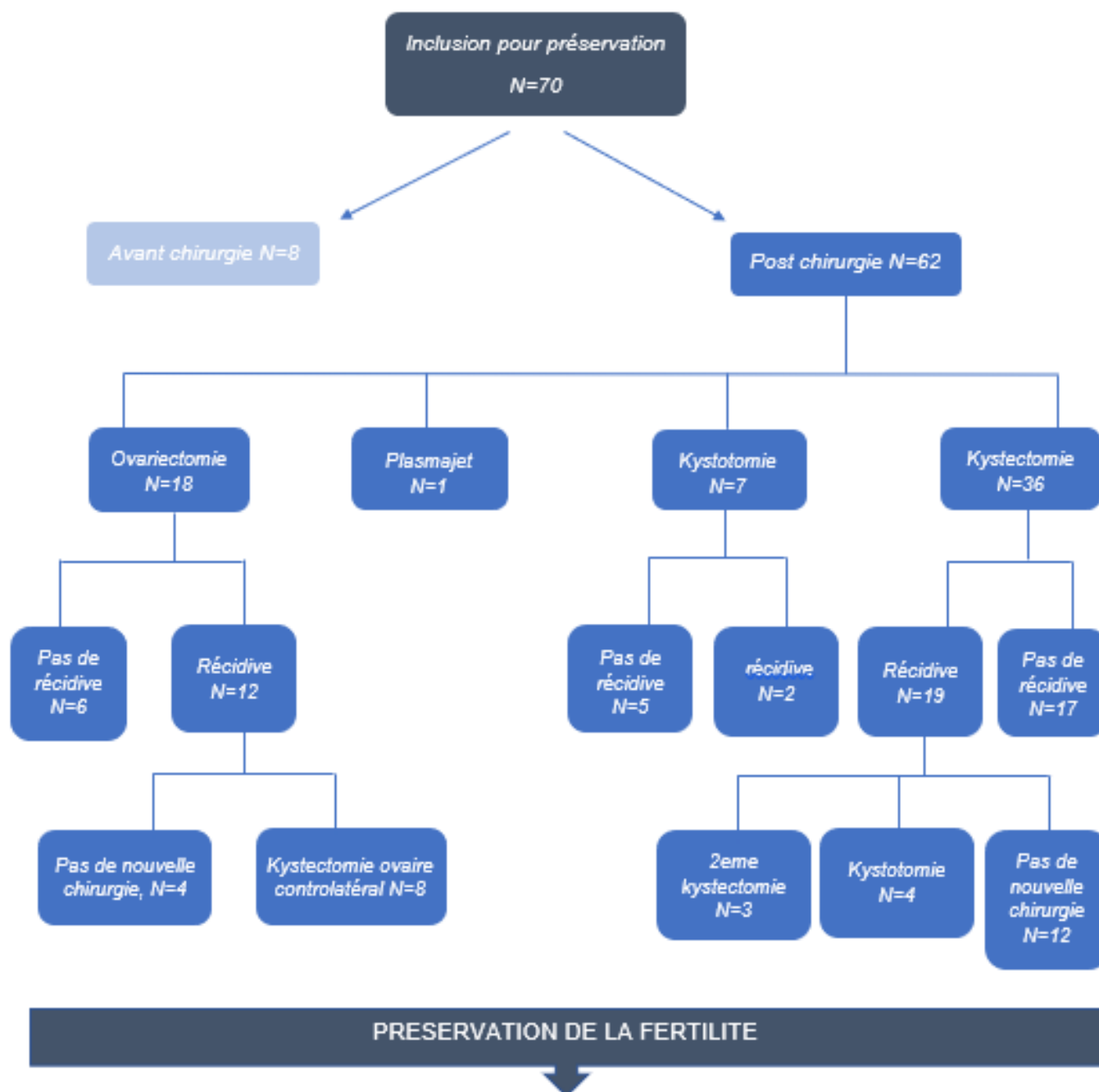


Figure 3 : Type de prise en charge chirurgicale des tumeurs ovariennes bénignes de la population étudiée

Au total, 89% des patientes (N=62) avaient pour antécédent une chirurgie ovarienne antérieure à la préservation de fertilité :

- Une kystectomie pour trente-six patientes (58%), dix-neuf ont récidivé et parmi elles, sept ont bénéficié d'une deuxième prise en charge chirurgicale,
- Une chirurgie ablative par plasmajet pour une patiente (2%),
- Une kystotomie pour sept patientes (11%), exclusivement atteintes d'endométriose,
- Une ovariectomie pour dix-huit patientes (29%), douze ont récidivé sur l'ovaire controlatéral dont huit ont bénéficié d'une kystectomie secondaire.

Huit patientes (11%) ont été incluses avant une prise en charge chirurgicale, elles étaient exclusivement atteintes d'endométriose. Les kystes mesuraient entre deux et sept centimètres et étaient présents pendant la stimulation ovarienne.

Les caractéristiques clinico-biologiques des patientes sont détaillées dans le tableau 1. L'âge moyen était de $27,9 \pm 4,8$ ans [17,35]. 33% des patientes présentaient un tabagisme actif (N=23) pendant la période de stimulation. Le taux moyen d'AMH était de $12,5 \pm 8,7$ pmol/L et le CFA de $13,1 \pm 7,9$ follicules. Vingt-neuf patientes (41%) présentaient une AMH basse ≤ 8 pmol/L. Il s'agit du seuil défini dans notre centre comme à risque de mauvaise réponse à la stimulation. Trente-six patientes (51%) prenaient une contraception oestro-progestative ou étaient sous agoniste de la GnRH avant et entre leurs cycles de stimulation, et trois patientes (4,5%) avaient un implant ou un dispositif intra-utérin hormonal (lévonorgestrel) pendant la stimulation.

Nous avons proposé la réalisation d'un à trois cycles de stimulation. Au total 113 cycles ont été analysés : 34 patientes ont réalisé un seul cycle (49%), 29 patientes deux cycles (41%), et 7 patientes trois cycles (10%).

Caractéristiques de la population	
Variable	Descriptif n=70
Age (années)	27,9 ± 4,8
Tabac :	
- tabagisme actif	- 23 (33%)
- pas de tabac	- 46 (66%)
- non renseigné	- 1
Nombre ovaire :	
- 1	- 18 (25,7%)
- 2	- 52 (74,3%)
Nombre moyen de chirurgie par patiente	1,2 ± 0,75
Présence kyste pendant la stimulation :	
- oui	- 34 (48%)
- non	- 36 (52%)
Contraception	
- pas de contraception	- 31 (44,5%)
- COP ou agoniste avant cycle	- 36 (51%)
- Levonorgestrel local (DIU* ou implant)	- 3 (4,5%)
Nombre de cycle :	
- 1	- 34 (49%)
- 2	- 29 (41%)
- 3	- 7 (10%)
IMC (kg/m ²)*	24, 3 ± 5,6
Total CFA*	13,1 ± 7,9
AMH (pmol/L)*	12,5 ± 8,7
AMH ≤ 8 pmol/L	29 (41 %)

* CFA : compte folliculaire antral, IMC : indice de masse corporelle, AMH : hormone anti mullerienne, DIU :dispositif intra utérin.
 Valeur quantitative : Moyenne ± écart type
 Valeur qualitative : Nombre (pourcentage)

Tableau 1 : Caractéristiques de la population

Caractéristiques de la stimulation ovarienne

Chaque patiente a réalisé au moins un cycle de stimulation aboutissant à une ponction, au total 113 cycles ont été analysés (tableau2). En moyenne, les patientes étaient stimulées à une dose quotidienne de FSH-r comprise entre 112,5 et 450UI pendant $10,6 \pm 2,1$ jours. La dose moyenne totale de FSH-r était de 3319 ± 1441 UI par cycle. Le jour du déclenchement de l'ovulation, le taux moyen d'œstradiol était de 1270 ± 1088 ng/L et le nombre de follicules matures (≥ 15 mm) était de $6,4 \pm 3,4$.

Caractéristiques de la stimulation ovarienne	
Variable	Descriptif n=113
Type de protocole :	
-antagoniste	- 100 (88%)
-agoniste	- 13 (12%)
Dose initiale de FSH-r (UI)	$306,5 \pm 101,6$
Durée de la stimulation ovarienne (jours)	$10,6 \pm 2,1$
Dose totale de FSH-r (UI)	3319 ± 1441
Type de déclenchement :	
- ovitrelle 250 µg	- 92 (81%)
- Décapeptyl 0,2 mg	- 12 (11%)
- ovitrelle 250 µg + Décapeptyl 0,2mg	- 9 (8%)
Œstradiol le jour du déclenchement (ng/L)	1270 ± 1088
Nombre de follicules < 15mm	$2,4 \pm 2,4$
Nombre de follicules ≥ 15 mm	$6,4 \pm 3,4$

Valeur quantitative : Moyenne \pm écart type

Valeur qualitative : nombre (%)

Tableau 2 : Caractéristiques de la stimulation ovarien

Cohorte ovocytaire

Le tableau 3 détaille les caractéristiques de la cohorte ovocytaire obtenue par cycle. En moyenne $6,4 \pm 3,4$ [0-19] ovocytes totaux étaient ponctionnés par cycle, dont $4,3 \pm 3,4$ [0,16] ovocytes en métaphase II éligibles à la vitrification et $0,6 \pm 1$ ovocytes immatures (VG+MI). Le taux de lyse (le nombre d'ovocytes lysés/nombre total d'ovocytes) était de 24% et le taux de maturation (nombre d'ovocytes en métaphase II/nombre total d'ovocytes) de 66%. Quarante-sept cycles (41,5%) ont permis le recueil de quatre ovocytes totaux ou moins à la ponction.

Descriptif cohorte ovocytaire, N=113	
Variable	Descriptif
Nombre total d'ovocytes	$6,4 \pm 3,4$ [0-19]
Nombre d'ovocytes matures (MII)	$4,3 \pm 3,4$ [0-16]
Nombre d'ovocytes immatures (VG+MI)	$0,6 \pm 1$ [0-5]
Nombre d'ovocytes lysés	$1,6 \pm 1,9$ [0-13]
Nombre ovocytes matures MII / nombre total d'ovocytes : Taux de maturation	0,66
Nombre ovocytes matures MII / nombre de follicules ≥ 15 mm	$0,73 \pm 0,55$
Nombre d'ovocytes lysés / Nombre total d'ovocytes : Taux de lyse	0,24
Nombre de cycles avec ≤ 4 ovocytes totaux	47 (41,5%)

* MII : métaphase 2, VG : vésicule germinale, MI : métaphase 1
Valeurs : quantitative : moyenne \pm écart type [min,maxi], qualitative N(%)

Tableau 3 : Description de la cohorte ovocytaire par cycle

Le tableau 4 résume les résultats après accumulation ovocytaire par patiente. Le nombre moyen d'ovocytes cumulés en métaphase II par patiente était de $6,87 \pm 5,23$. Parmi les 70 patientes, 31 (44,3%) avaient au moins huit ovocytes vitrifiés.

En moyenne, $4,19 \pm 3,35$ ovocytes matures en métaphase II étaient vitrifiés à l'issue du premier cycle, $8,03 \pm 5,35$ ovocytes MII après la réalisation deux cycles et enfin $9,43 \pm 5,59$ ovocytes MII après la réalisation de trois cycles. Ainsi, seules 15,7% des patientes avaient atteint 8 MII ou plus, à l'issue du premier cycle. Cependant, parmi les patientes ayant réalisé 2 cycles, 52,78% avaient au moins 8 ovocytes vitrifiés et, parmi les patientes ayant réalisé 3 cycles, 57,14% avaient atteint ou dépassé les 8 MII.

Sur les 18 patientes n'ayant qu'un seul ovaire, le nombre moyen d'ovocytes matures récupérés lors du premier cycle était de $4,89 \pm 3,82$.

Cinq patientes (7,1%) n'ont malheureusement pas eu d'ovocytes en métaphase II vitrifiés :

- La première âgée de 29 ans avait pour antécédent un endométriose traité par kystostomie, qui avait secondairement récidivé au moment de la stimulation. Son bilan de réserve ovarienne retrouvait une AMH à 17,7 pmol/L et un CFA à 5. Elle a bénéficié d'une ponction ovarienne qui n'a ramené aucun ovocyte.

- La deuxième âgée de 27 ans avait bénéficié d'une kystectomie pour endométriose. Elle avait un bilan de réserve avec une AMH à 9,5 pmol/L et un CFA à 15 après chirurgie. Elle a bénéficié de deux cycles consécutifs de stimulation, qui malgré une belle réponse à

la stimulation n'ont permis le recueil que d'un seul ovocyte atrétique la première fois, et aucun la seconde fois.

- La troisième âgée de 30 ans, présentait un kyste mucineux de 7 cm non opéré. Son bilan de réserve retrouvait une AMH à 11,9 pmol/L. Elle a bénéficié de deux cycles qui malgré une cohorte folliculaire satisfaisante n'ont pas permis le recueil d'ovocytes.

- La quatrième âgée de 26 ans, avait bénéficié d'une ovariectomie puis d'une kystectomie sur l'ovaire controlatéral pour des kystes dermoïdes. Son AMH était à 8 pmol/L. Elle a bénéficié d'un cycle de stimulation qui a permis la ponction d'un seul ovocyte lysé.

- Enfin, la dernière patiente âgée de 33 ans était atteinte d'un endométriome traité par kystectomie. Elle avait une AMH à 2,1 pmol/L et un CFA à 6. Elle a bénéficié d'un unique cycle de stimulation dont la ponction a permis le recueil d'un seul ovocyte lysé.

Cohorte ovocytaire après cumul des cycles	
Variable	Descriptif
Nombre moyen d'ovocytes MII par patiente	6,87 ± 5,23 [0-22]
Nombre d'ovocytes MII à l'issue d'un cycle	4,19 ± 3,35 [0-16]
Nombre d'ovocytes MII à l'issue de deux cycles (cycle 1+2)	8,03 ± 5,35 [0-22]
Nombre d'ovocytes MII à l'issue de trois cycles (cycle 1+2+3)	9,43 ± 5,59 [3-18]
Nombre de patientes avec ≥ 8 ovocytes MII	31 (44,3%)
Nombre de patientes sans ovocyte MII*	5 (7,1%)

Valeurs quantitatives : Moyenne +/- DS [min-max],
Valeurs qualitatives : Nombre (%)

Tableau 4 : Caractéristiques de la cohorte ovocytaire après cumul des cycles.

La synthèse des cycles de préservation de nos patientes est détaillée dans la figure 4.

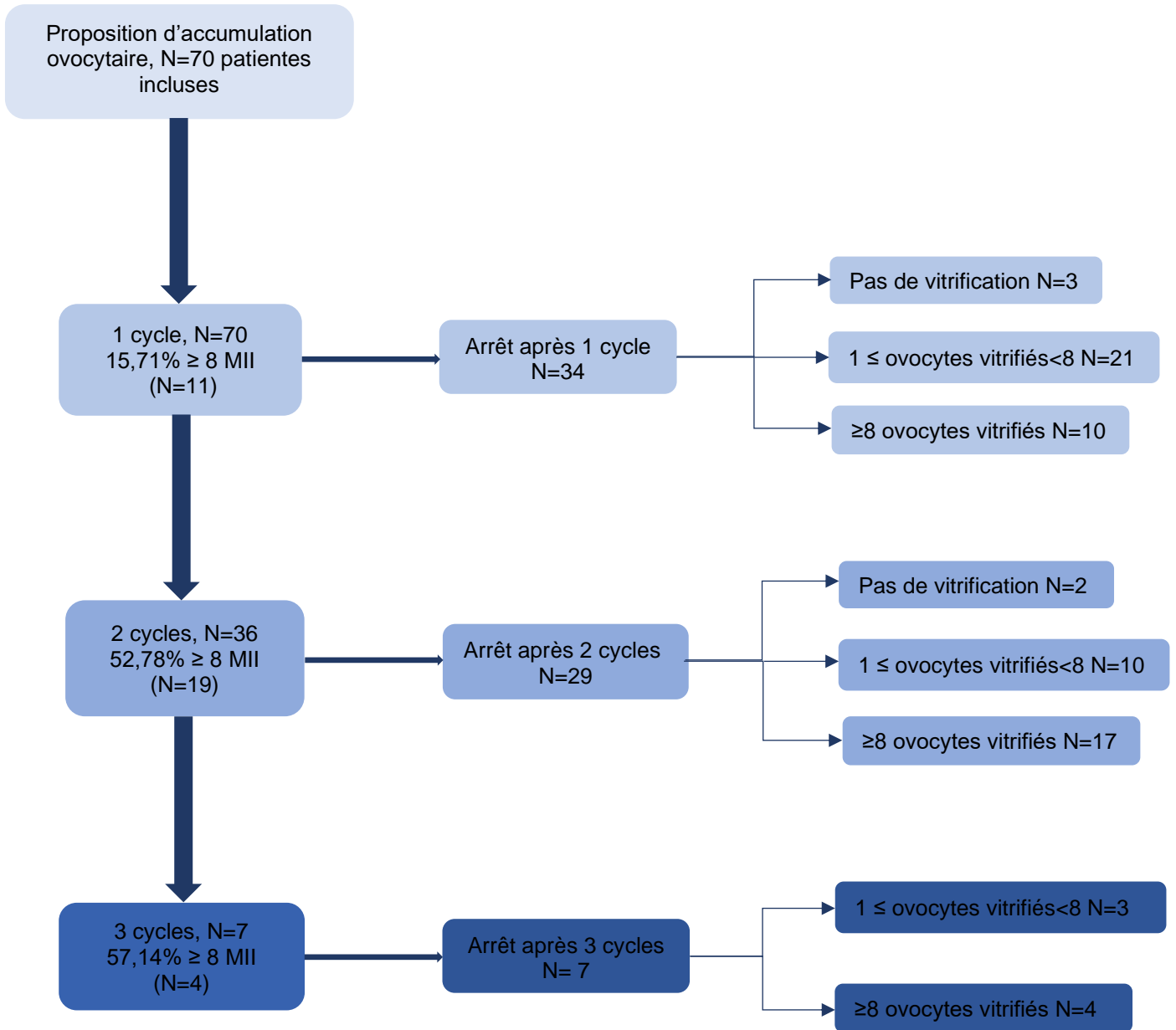


Figure 4 : Synthèse des cycles effectués

Recherche de facteurs associés au nombre d'ovocytes en métaphase

II obtenus par patiente :

Nous avons analysé l'impact de différents facteurs sur le nombre d'ovocytes en métaphase II par cycle (tableau 5). Le tabagisme, le type histologique, l'âge et le nombre de jours de stimulation n'étaient pas associés significativement au nombre d'ovocytes matures. Le taux d'AMH (RR : 1,38 IC95 [1,17-1,62]), le CFA (RR : 1,4 IC95 [1,23-1,59]), l'oestradiolémie et le nombre de follicules ≥ 15 mm, avaient un impact positif significatif sur le nombre d'ovocytes matures obtenus par patiente ($p < 0,05$). Inversement, le BMI, la dose totale et la dose initiale de FSH-r étaient associés négativement avec le nombre d'ovocytes vitrifiés ($p < 0,05$). Des doses plus élevées étant nécessaires chez les patientes avec une réserve ovarienne altérée.

Recherche de facteurs associés au nombre d'ovocytes matures par cycle		
Facteurs	RR [intervalle de confiance]	p*
Tabac	1,12 [0,82-1,53]	NS
Type histologique	0,80 [0,58-1,10]	NS
Antécédent d'ovariectomie	0,65 [0,47-0,88]	p=0,0065
Âge	0,72 [0,52-1,01]	NS
BMI	0,96 [0,93-0,98]	p=0,0032
CFA	1,40 [1,23-1,59]	p<0,0001
AMH	1,38 [1,17-1,62]	p=0,0001
Dose totale FSHr	0,87 [0,79-0,96]	p=0,0062
Dose départ FSHr	0,72 [0,6-0,83]	p<0,0001
Nombre de jours	1,04 [0,98-1,11]	NS
Taux œstradiol	1,19 [1,08-1,33]	p=0,0009
Nombre de follicules ≥ 15 mm	1,09 [1,05-1,14]	p<0,0001

*p significatif si $< 0,05$

Tableau 5 : Recherche de facteurs associés au nombre d'ovocytes matures, modèle univarié

Dans l'analyse multivariée, seuls la dose de départ de FSH-r, l'oestradiolémie et le nombre de follicules ≥ 15 mm restaient significativement associés au nombre d'ovocytes matures indépendamment des autres facteurs (tableau 6).

Recherche de facteurs associés au nombre d'ovocytes matures par cycle		
Facteurs	RR [intervalle de confiance]	p*
Nombre ovaire	0,79 [0,61-1,05]	NS
Âge	1,05 [0,80-1,38]	NS
BMI	0,98 [0,96-1,01]	NS
CFA	1,06 [0,90-1,25]	NS
AMH	0,98 [0,82-1,16]	NS
Dose totale FSHr	1,04 [0,93-1,16]	NS
Dose départ FSHr	0,79 [0,66-0,95]	p=0,0121
Taux œstradiol	1,10 [1,00-1,20]	p=0,0319
Nombre de follicules ≥ 15 mm	1,06 [1,01-1,08]	p=0,009

*p significatif <0,05

Tableau 6 : Recherche de facteurs associés au nombre d'ovocytes matures, modèle multivarié

Comparaison en sous-groupe : « endométriosique » versus « non endométriosique » :

Le tableau 6 résume les caractéristiques clinico-biologiques des patientes des groupes « endométriosique » et « non endométriosique ». Les patientes du groupe « non endométriosique » étaient significativement plus jeunes que le groupe « endométriosique » ($25,8 \pm 4,4$ ans vs $29,5 \pm 4,6$ ans, $p=0,001$) et présentaient une proportion plus élevée

d'antécédent d'ovariectomie unilatérale (51,6% vs 5,1%, $p < 0,001$). Cependant elles étaient comparables sur l'intoxication tabagique, l'indice de masse corporelle, le taux d'AMH et le CFA.

Comparaison des groupes « endométriosique » vs « non endométriosique »			
	Non endométriosique N=31	Endométriosique N=39	p
Age (années)	25,8 ±4,4	29,5 ± 4,6	p=0,001
Tabac :			
- pas de tabac	18 (60)	28 (71,8)	NS
- Tabagisme actif	12 (40)	11 (28,2)	
Nombre d'ovaire :			
- 1	16 (51,6)	2 (5,1)	p<0,001
- 2	15 (48,4)	37 (94,9)	
IMC (kg/m ²)	24,6 ± 6	24,2 ± 5,5	NS
AMH (pmol/L)	12,7 ± 9	12,3 ± 8,5	NS
CFA	13,6 ±7,6	12,8 ± 8,2	NS

Valeurs quantitatives : moyenne +/- ET
 Valeurs qualitatives : nombre (%)
 P significatif <0,5

Tableau 7 : Comparaison des caractéristiques des groupes « endométriosique » vs « non endométriosique »

Les caractéristiques des cycles étaient comparables entre les deux groupes (tableau 8). Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les cohortes folliculaires et ovocytaires de ces deux groupes.

Comparaison des résultats des cycles des groupes « non endométriosique » vs « endométriosique »			
	Non endométriosique N=49	Endométriosique N=64	p
Dose départ FSH (UI)	309,18 ± 97,69	304,49 ± 105,3	NS
Dose totale FSH (UI)	3597,45 ± 1724,82	3105,08 ± 1148,9	NS
Nombre jours	10,92 ± 2,3	10,31 ± 1,93	NS
Œstradiol	1139 ± 1166,74	1369 ± 1020,81	NS
Follicule <15mm	2,02 ± 2,2	2,61 ± 2,45	NS
Follicule ≥15mm	6,82 ± 4	6,02 ± 2,84	NS
Ovocytes totaux	7,27 ± 4,86	5,75 ± 3,76	NS
Ovocytes immatures	0,53 ± 1,06	0,63 ± 0,95	NS
Ovocytes matures	4,76 ± 3,88	3,89 ± 3,05	NS
Taux maturation*	0,65	0,68	NS
Ovocytes matures/follicule ≥15mm	0,77 ± 0,56	0,69 ± 0,55	NS

* nombre d'ovocytes matures/ nombre d'ovocytes totaux.

Valeurs quantitatives : moyenne +/- ET

Valeurs qualitatives : nombre (%)

P significatif <0,5

Tableau 8 : Comparaison des caractéristiques et des résultats des cycles entre le groupe « non endométriosique » vs « endométriosique ».

Complication :

Un unique cas de syndrome d'hyperstimulation ovarienne modéré a été rapporté parmi les 70 patientes. Il s'agissait d'une patiente atteinte d'un kyste dermoïde ayant bénéficié d'une ovariectomie puis d'une kystectomie sur l'ovaire controlatéral. Elle avait un CFA à 19 et une AMH à 30 pmol/L. Son œstradiol le jour du déclenchement était de 2255 ng/L. La ponction a permis le recueil de 17 ovocytes dont 16 en métaphase II.

Nous n'avons pas relevé de complications hémorragiques, infectieuses ou thromboemboliques dans notre population.

Questionnaire de tolérance fonctionnelle

A partir de janvier 2019, chaque patiente incluse a été recontactée 48 à 72 heures après la ponction ovocytaire pour évaluer la tolérance du protocole à l'aide d'un questionnaire téléphonique (annexe 1). Au total nous avons joint 14 patientes, soit un total de vingt-deux cycles. 100% des patientes ont répondu à l'appel.

Douleurs pendant la période de stimulation :

Cinq patientes ont ressenti des douleurs au niveau du point d'injection de FSH-r pendant la période de stimulation, et quatre patientes des douleurs pelviennes. Il s'agissait exclusivement de patientes atteintes d'endométriose. Les douleurs ont nécessité des antalgiques uniquement pour deux d'entre elles.

Ballonnement abdominal post ponction :

Sur les 22 cycles, 77% des patientes se sont plaintes d'un ballonnement abdominal invalidant le jour de la ponction (n=17). Parmi elles, seize avaient été déclenchées par hCGr et une par hCG-r + agoniste de la GnRH. Leur taux d'œstradiol était en moyenne de 1642 ± 1203 ng/L (173 à 3992 ng/L). La majorité était atteinte d'endométriose.

Douleurs post ponction :

Seize patientes ont répondu avoir ressenti des douleurs pelviennes en post ponction (73%) : deux patientes de faible intensité, neuf d'intensité modérée et cinq de forte intensité (figure 5). Onze d'entre elles ont pris des antalgiques de palier 1. Il s'agissait de patientes sans caractéristiques particulières. 1 à 15 ovocytes étaient recueillis en moyenne le jour de la ponction et le taux moyen d'œstradiol était de $1646 \pm 1145,6$ ng/L.

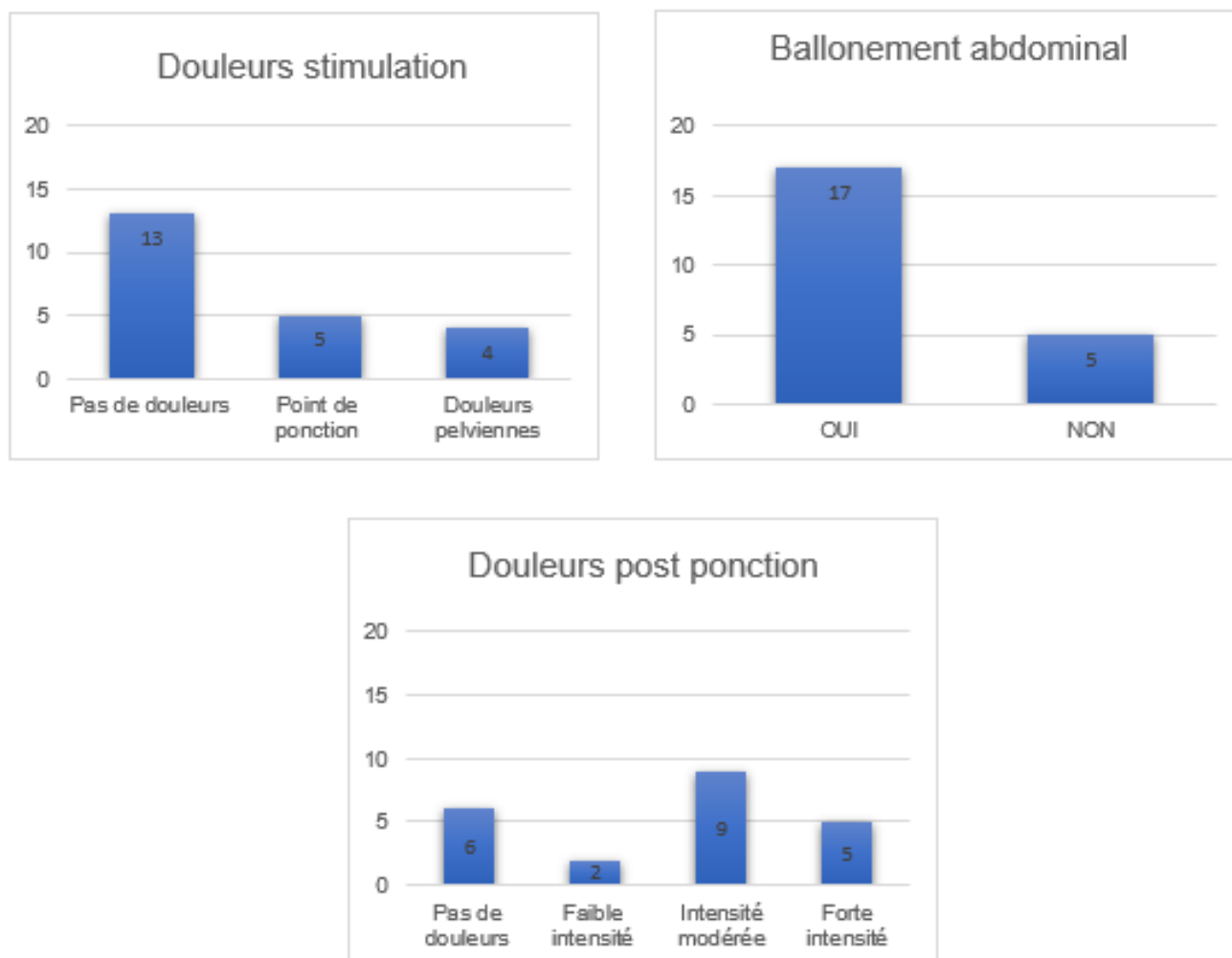


Figure 5 : Détail des réponses au questionnaire de tolérance fonctionnelle

Température

Aucune patiente n'a présenté de signe d'hyperthermie en post ponction.

Adhésion au protocole :

Une seule patiente n'était pas satisfaite. Il s'agissait d'une patiente vierge, dont la ponction a permis le recueil de quatre ovocytes dont un seul mature. Elle a présenté des douleurs

pendant la période de stimulation et un ballonnement abdominal en post ponction ovocytaire. Elle décrivait une réelle déception par rapport aux résultats la poussant à ne pas réaliser de second cycle.

Les treize autres patientes étaient quant à elles très satisfaites et demandeuses de réaliser plusieurs cycles. Elles considéraient cette préservation comme une réelle opportunité malgré les quelques douleurs ressenties pour certaines. A ce jour, les patientes rappelées n'ont pas toutes réalisé de second cycle mais envisagent de le faire, préférant laisser une période entre deux cycles pour des raisons personnelles.

Etude de la réutilisation des ovocytes vitrifiés

A ce jour, quatre patientes ont consulté pour un désir de grossesse. Nous avons dévitrifié les ovocytes de trois d'entre elles. Nous proposons de façon quasi systématique un nouveau recueil frais afin d'augmenter le nombre d'ovocytes. Une grossesse a été obtenue à partir d'un ovocyte vitrifié. Il s'agissait d'une patiente porteuse d'un kyste dermoïde qui avait deux ovocytes vitrifiés à l'issue d'un cycle. Pour la seconde patiente, nous avons dévitrifié trois de ces neufs ovocytes MII, en plus du recueil frais. La grossesse a été obtenue à partir d'un des ovocytes frais. Il lui reste six ovocytes vitrifiés en cas de désir d'une nouvelle grossesse. Enfin nous avons dévitrifié les trois ovocytes d'une patiente, mais malheureusement cela n'a pas permis d'obtenir la grossesse désirée. La dernière patiente n'avait pas d'ovocytes vitrifiés malgré deux ponctions. Elle a néanmoins bénéficié d'un recueil frais permettant l'obtention d'une grossesse en FIV.

Nous notons une grossesse spontanée à notre connaissance chez une patiente âgée de 30 ans, avec une AMH à 7,4 pmol/l et un CFA à 10 au moment de la prise en charge.

DISCUSSION

Dans cette étude, 113 cycles ont été analysés chez soixante-dix patientes atteintes de tumeur ovarienne bénigne, endométriosique, dermoïde ou séro-mucineuse. L'objectif principal était d'évaluer le nombre d'ovocytes en métaphase II éligibles à la vitrification. En moyenne, $6,4 \pm 3,4$ ovocytes totaux étaient ponctionnés par cycle dont $4,3 \pm 3,4$ ovocytes en métaphase II (MII). Après la réalisation d'un à trois cycles, $6,87 \pm 5,23$ ovocytes MII étaient préservés en moyenne par patiente (1 cycle N=34, 2 cycles N=29, et 3 cycles N=7).

A ce jour, notre cohorte est la première à s'intéresser à la préservation de la fertilité chez des patientes atteintes de tumeur ovarienne bénigne (TOB) quel que soit leur type histologique. Notre centre de préservation de la fertilité du CHU de Lille a publié une première étude pilote en 2018 portant sur 24 patientes ^[63]. L'objectif principal était d'étudier la faisabilité et l'acceptabilité de ce protocole d'accumulation ovocytaire. Le taux d'acceptation était de 100% et aucune complication grave n'a été relevée. Le nombre moyen d'ovocytes en MII était de $3,8 \pm 4$ par cycle, et $4,4 \pm 4$ par patiente. Cependant chez celles ayant réalisé deux cycles, 9 ± 6 ovocytes étaient vitrifiés en moyenne. Ces résultats nous ont confortés dans l'idée d'une proposition d'accumulation ovocytaire.

Les rares études publiées sur la préservation de la fertilité dans la littérature s'intéressent exclusivement à l'endométriose et n'incluent pas de patientes porteuses d'autres types histologiques ^[51,61,62]. Le premier cas de cryopréservation ovocytaire dans ce contexte est rapporté par Elizur et al chez une patiente de 25 ans ^[61]. Puis en 2018, Raad et al ont rapporté les résultats préliminaires d'une cohorte rétrospective de 49 patientes âgées de $34,1 \pm 4,4$ ans atteintes d'endométriose et 70 cycles de stimulation ^[62]. Enfin en 2020, Cobo et al ont publié une cohorte rétrospective multicentrique de 485 patientes âgées de $35,7 \pm 3,7$

ans ayant réalisé 840 cycles de stimulation ovarienne pour une préservation de la fertilité pour endométriose ^[51]. Dans ces études, le nombre moyen d'ovocytes en MII par cycle était plus élevé que dans notre sous-groupe « endométriosique » malgré des populations plus âgées : $7,2 \pm 4,9$ MII/cycle dans l'étude de Raad et $5,5 \pm 5,2$ MII/cycle dans l'étude de Cobo, contre $3,89 \pm 3,05$ MII/cycle dans notre sous-groupe. La non prise en charge financière de la préservation en Espagne peut expliquer l'âge avancé de la population de Cobo. Dans notre étude, nous avons fait le choix délibéré de ne pas inclure les patientes âgées de plus de 35 ans. Aussi bien dans les techniques de FIV/ICSI que de cryopréservation ovocytaire, l'âge impacte négativement les résultats notamment après 35 ans ^[50,66].

Cette différence peut s'expliquer d'une part par l'inclusion dans ces deux cohortes de patientes atteintes d'endométriose pelvienne, superficielle ou profonde, et/ou d'endométriome, alors que notre sous-groupe est composé exclusivement de patientes porteuses d'endométriome (N=39). De plus, nos critères d'inclusion étaient stricts, contrairement à Cobo où la présence d'un kyste ≥ 1 centimètre suffisait pour être incluse. Raad et al n'ont pas détaillé les caractéristiques de leur population. D'autre part, notre proportion de patientes avec un antécédent de chirurgie (84,6 %) était largement supérieure à celle de ces deux études (38,6 % dans la cohorte de Raad, 47,8 % dans l'étude de Cobo). La littérature a apporté la preuve de l'impact négatif de la prise en charge chirurgicale des endométriomes sur la réserve ovarienne et la fertilité future ^[14,15,29-34]. Leur simple présence peut impacter histologiquement et biologiquement le capital folliculaire ovarien même en l'absence de chirurgie antérieure ^[37-40]. Enfin, nos patientes porteuses d'endométriome avaient une AMH moyenne de $12,3 \pm 8,7$ pmol/L et un CFA de $12,8 \pm 8,5$. Le CFA était certes comparable à l'étude de Cobo, néanmoins leur population était plus âgée. Nous supposons que les jeunes patientes de leur cohorte en avaient un meilleur. Raad et al ont quant à eux retrouvé une réserve ovarienne supérieure à la nôtre, aussi bien dans leur population générale que dans le sous-groupe post chirurgie. Cependant, treize patientes

ont été exclues sans davantage de précision. Notre hypothèse est que cette exclusion soit liée à une réserve ovarienne jugée insatisfaisante par les auteurs.

Néanmoins, les études de Raad et Cobo ont mis en avant l'impact négatif de la chirurgie sur la réserve ovarienne et les résultats de la stimulation. Au regard de notre grande proportion de patientes avec un antécédent de chirurgie, nous avons comparé nos résultats à leurs sous-groupes post chirurgie. Ils étaient davantage comparables : $5,3 \pm 3,7$ MII/cycle dans la cohorte de Raad, $5 \pm 4,5$ MII/cycle après une chirurgie unilatérale et $4,5 \pm 4,4$ MII/cycle après une chirurgie bilatérale dans la cohorte de Cobo [51,62].

Nous avons mis en évidence chez ces jeunes patientes atteintes de TOB une altération de la réserve ovarienne sur les données de l'AMH basale et l'observation d'une mauvaise réponse à la stimulation. En effet, l'AMH était en moyenne de $12,5 \pm 8,7$ pmol/L soit < -1 DS pour l'âge ($27,9 \pm 4,8$ ans), considérée comme normale basse [67]. 41% de nos patientes avaient une AMH < 8 pmol/L, et présentaient donc un risque de mauvaise réponse à la stimulation [68]. Il faut noter que 51% de nos patientes étaient sous contraception hormonale au long cours avant la période de stimulation, ce qui est susceptible d'entraîner une baisse de 30 à 50% des taux [69,70]. De plus, nous n'avons pas exclu les patientes avec une AMH basse. Par ailleurs, $4,3 \pm 3,4$ MII étaient vitrifiés par cycle malgré une stimulation à forte dose et dans 41,5% des cas, seuls 4 ovocytes ou moins étaient recueillis. 89% des patientes ont été incluses après une prise en charge chirurgicale. L'impact négatif de la chirurgie ovarienne sur le capital folliculaire est connu [14,15,29-32,41,42]. La moitié avait récidivé et parfois bénéficié d'une seconde chirurgie majorant le risque d'altération de leur réserve ovarienne (en moyenne $1,2 \pm 0,75$ chirurgie/patiente) [33,34]. Enfin les huit patientes incluses avant chirurgie présentaient une réserve basse, raison pour laquelle elles nous avaient été adressées avant une prise en charge. La diminution de la réponse à la stimulation s'explique en partie dans notre étude par cette indication délicate avec antécédent de chirurgie.

Par ailleurs, le taux de maturation ovocytaire (66%) était plus faible que dans les études sur la PF pour raisons sociétales [50,60,71]. La littérature actuelle suggère un défaut de qualité et du taux de maturation ovocytaire chez les patientes porteuses d'endométriose [72,73]. En effet, les mécanismes de maturation nucléaire et cytoplasmique sont en partie dépendants de la qualité des interactions folliculo-ovocytaires, qui sont altérées dans l'endométriose en raison du caractère inflammatoire chronique et des modifications du micro-environnement folliculaire. Des études ont suggéré un effet positif du double déclenchement (hCGr+ agoniste GnRH) sur le taux de maturation ovocytaire [74,75]. Nous n'avons pas étudié en sous-groupe l'impact de ce type de déclenchement sur nos résultats, l'effectif étant trop faible (N=9/113 cycles). Nous avons également observé un taux de lyse relativement élevé (24%). Les hypothèses évoquées sont un problème d'immaturation ovocytaire, notamment dans l'endométriose, ou une fragilité intrinsèque de l'ovocyte liée à la maladie kystique et aux caractéristiques du tissu ovarien.

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les sous-groupes « endométriosique » et « non endométriosique » sur les caractéristiques et les résultats des cycles de stimulation. Les patientes du groupe « non endométriosique » étaient néanmoins plus jeunes et présentaient une proportion plus élevée d'ovariectomie unilatérale (51,6 % vs. 5,1%, $p=0,001$), mais étaient comparables sur la réserve ovarienne. Malgré un antécédent de chirurgie très délétère pour leur réserve ovarienne [41], elles ont répondu correctement à la stimulation, grâce à un adressage très précoce. Il s'agit souvent de patientes opérées jeunes, voire dans l'adolescence.

Dans l'analyse univariée, nous avons observé une association négative entre le BMI, l'antécédent d'ovariectomie, la dose initiale et totale de FSH-r et le nombre d'ovocytes matures. Le CFA, l'AMH, l'oestradiolémie et le nombre de follicules ≥ 15 mm le jour du

déclenchement étaient quant à eux positivement associés au nombre d'ovocytes matures. ($p < 0,05$). Même si dans la littérature l'AMH est décrite comme un facteur pronostic de réponse à l'hyperstimulation ovarienne [76,77], elle ne présentait pas toujours une valeur prédictive dans notre étude. Nous avons observé, majoritairement chez de jeunes patientes, des réponses ovariennes satisfaisantes à la stimulation malgré un taux faible d'AMH et inversement. Ceci nous conforte dans l'idée de ne pas récuser les valeurs basses d'AMH. La valeur pronostique de l'AMH chez ces patientes aux lourds antécédents ne semble pas être la même que pour celles consultant pour une infertilité du couple avec une baisse de la réserve ovarienne isolée. Par ailleurs, l'antécédent d'ovariectomie unilatérale ne semblait pas avoir d'impact négatif sur les résultats ($4,89 \pm 3,83$ MII après un cycle). La bonne réserve ovarienne de ces patientes est probablement en partie liée à un adressage très jeune. Dans l'analyse multivariée seul le degré de réponse à la stimulation (dose de départ de FHS-r, oestradiolémie et nombre de follicules ≥ 15 mm) restait significativement associé au nombre d'ovocytes en MII indépendamment des autres facteurs.

Dans une large étude de cohorte pour étudier l'efficacité de la vitrification ovocytaire dans les cycles de FIV/ICSI, Rienzi et al ont montré qu'un objectif de 8 ovocytes était nécessaire pour obtenir un taux de natalité de 46,4% dans une population âgée de moins de 38 ans [78]. Le taux augmentait de 8,4% par ovocyte vitrifié. Dans le cadre de la PF, Cobo et al ont confirmé que les chances de grossesse étaient fortement corrélées à l'âge maternel et au nombre d'ovocytes vitrifiés [50,55]. Dans leur sous-groupe de patientes âgées de moins de 35 ans pour préservation sociétale, le taux cumulé de naissance vivante était de 32 % avec 8 ovocytes vitrifiés et augmentait à 42,8% avec 10 ovocytes vitrifiés [50].

Les techniques de vitrification sont différentes selon les centres, il semble donc difficile d'extrapoler ces résultats à tous. Néanmoins, cela nous permet d'avoir une idée sur l'objectif à atteindre pour offrir de bonnes chances de grossesse. Chez nos patientes âgées en

moyenne de 27,9 ans, un objectif de 8 à 10 ovocytes semble raisonnable. Dans notre étude, le nombre moyen d'ovocytes en MII à l'issue du premier cycle était trop faible pour offrir de bonnes chances en cas de réutilisation ($4,19 \pm 3,35$). Cependant, nous avons observé une nette augmentation du nombre moyen d'ovocytes vitrifiés chez les patientes ayant réalisé un deuxième ($8,03 \pm 5,35$ MII/patiente) voire un troisième cycle de stimulation ($9,43 \pm 5,59$ MII/patiente). Il semble donc intéressant de proposer systématiquement une stratégie d'accumulation ovocytaire pour atteindre l'objectif. A ce jour, seules 36 de nos patientes ont réalisé un deuxième voire un troisième cycle (51%). Cependant depuis deux ans, nous avons constaté qu'un second cycle était entrepris de façon quasi systématique. Ce phénomène est probablement en partie secondaire à la médiatisation de la PF qui participe à sa démocratisation. D'autre part, nos premiers résultats encourageants nous poussent davantage à proposer plusieurs cycles d'emblée.

L'efficacité de ce protocole doit être pondérée aussi par les risques et la tolérance fonctionnelle : le syndrome d'hyperstimulation ovarienne (HSO), le risque thrombo-embolique, le risque hémorragique et infectieux post ponction. Ils sont à prendre en compte et doivent être exposés aux patientes. Selon les données de l'ABM relatant l'expérience des centres d'AMP français, il est estimé entre 0,1 et 0,2%. De plus la ponction ovocytaire dans un contexte d'endométriome comporte un risque théorique d'abcédation estimé entre 0 et 1,7% [79]. Chaque patiente porteuse d'endométriome a bénéficié d'une antibiothérapie per ponction pour limiter ce risque. Nous avons déploré un seul cas de syndrome d'HSO modéré. La ponction avait permis chez cette patiente le recueil de 17 ovocytes, reconnu comme un facteur de risque d'HSO [80]. Par ailleurs, nous n'avons eu aucune complication infectieuse ni thrombo-embolique.

Selon la littérature, la stimulation ovarienne à forte dose n'augmente pas la symptomatologie ni le risque d'aggravation de la maladie endométriosique [81-83]. Benaglia et al ont décrit 20%

de récurrences des lésions à 36 mois d'une FIV. Le nombre de cycles et le degré de réponse à l'hyperstimulation ne sont pas associés à l'augmentation des récurrences à distance [82]. Par ailleurs, les données sont assez contradictoires concernant l'impact de l'hyperstimulation sur la taille des kystes, cependant tous sont en accord pour dire que l'impact même s'il est positif reste faible [83,84].

Nous avons recontacté les patientes 48 heures après la ponction à l'aide d'un questionnaire téléphonique pour évaluer la tolérance fonctionnelle du protocole (annexe 1). Parmi les 14 patientes recontactées sur 22 cycles, 41 % ont décrit des douleurs pendant la stimulation presque exclusivement au point d'injection. Nous avons utilisé pour la majorité d'entre elles un antagoniste, susceptible d'entraîner des douleurs et une réaction cutanée. 77% des patientes se sont plaintes d'une sensation de ballonnement abdominal le jour de la ponction sans réelle douleur. La majorité était porteuse d'endométriome. Enfin, 73% ont ressenti des douleurs les jours suivants la ponction. Cependant, toutes s'accordaient pour dire que ces douleurs étaient supportables par rapport au bénéfice attendu. Seule une patiente n'était pas satisfaite et n'a pas souhaité réaliser de second cycle. Les patientes sont demandeuses d'informations, et considèrent la préservation de fertilité comme une véritable opportunité de sécuriser et/ou de différer leur désir de maternité future.

A ce jour, quatre patientes ont consulté pour un désir de grossesse. Nous avons dévitrifié les ovocytes de trois d'entre elles permettant deux naissances. La première grossesse a été obtenue à partir d'un ovocyte vitrifié et la seconde à partir d'un ovocyte frais. La dernière n'a malheureusement pas eu la grossesse attendue. Nous proposons un nouveau recueil frais dans une stratégie d'accumulation ovocytaire [85]. La quatrième n'avait pas d'ovocytes vitrifiés, elle a néanmoins obtenu une grossesse en FIV après un nouveau recueil frais. En comparaison à l'étude de Cobo, peu de patientes ont consulté pour une demande de dévitrification [51]. Nous expliquons cette différence [51] par l'âge avancé de leurs

patientes, qui les pousse à consulter rapidement en l'absence de grossesse spontanée. Leurs résultats après dévitrification sont encourageants avec 46,4% de naissances vivantes dans leur population.

Les limites de notre étude sont représentées par le faible nombre de patientes incluses et la grande proportion de patientes avec un antécédent de chirurgie. Le point fort relève de l'analyse exhaustive des données collectées prospectivement dans notre registre national JFIV.

Les résultats satisfaisants obtenus chez ces patientes souvent multi opérées, la bonne tolérance et l'adhésion croissante au protocole, nous poussent à proposer systématiquement une stratégie d'accumulation ovocytaire. Nous pensons qu'il est important d'intégrer une proposition systématique de PF dans la prise en charge globale de ces jeunes patientes, notamment en cas de kystes bilatéraux, de kyste unique volumineux, de kystes récidivants ou d'altération de la réserve ovarienne avant ou après une chirurgie [44,45,51]. Concernant les kystes dermoïdes et séro-mucineux, la prise en charge en PF est justifiée selon nous. Il s'agit souvent de patientes opérées très jeunes d'une kystectomie ou d'une ovariectomie, à haut risque de récurrence et donc d'amputation de leur capital folliculaire [18-21]. Il est important de prévenir ce risque avant une éventuelle récurrence qui pourrait impacter davantage leur fertilité en les adressant précocement. Enfin, une proposition de préservation de la fertilité avant une prise en charge chirurgicale est débattue. Néanmoins, au regard de nos résultats, nous pensons qu'il est important de les recevoir avant pour intégrer la PF dans une stratégie thérapeutique globale.

Un suivi à long terme de notre cohorte est nécessaire afin d'évaluer l'efficacité, la pertinence clinique et la rentabilité de la procédure par l'analyse des taux de réutilisation et des taux de grossesse qui en découleront.

CONCLUSION

A ce jour, la technique de vitrification ovocytaire est reconnue comme une pratique fiable pour garantir une fertilité future chez les patientes à risque d'altération de leur capital folliculaire. Il est admis de tous que ces jeunes patientes atteintes de tumeurs ovariennes bénignes ont un haut potentiel d'altération de leur fertilité à cause de la maladie elle-même, l'impact de la chirurgie et la possibilité de récurrence. Un conseil personnalisé doit être délivré prenant en compte l'âge de la patiente, le type de tumeur, l'antécédent de chirurgie ou non, le risque de récurrence et leur réserve ovarienne. Nous avons montré qu'un adressage précoce est préconisé afin de garantir les meilleures chances de grossesses ultérieures. Il pourrait être intéressant de recevoir les patientes avant une prise en charge chirurgicale afin de leur exposer les possibilités. Nous avons mis en évidence un taux élevé de mauvaises répondeuses dans notre population. Le nombre moyen d'ovocytes matures recueillis après le premier cycle est trop faible pour offrir de réelles chances de grossesse. Par conséquent, l'accumulation d'ovocytes peut être proposée, elle semble bien tolérée et sans danger pour les patientes. Les patientes recontactées ont montré une adhésion forte au protocole. Elles voient dans cette proposition de préservation une réelle chance pour leur futur.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. Raiga J, Djafer R, Benoit B, Treisser A. Prise en charge des kystes ovariens. *Journal de Chirurgie* 2006;143(5):278-84.
2. Mimoun C, Fritel X, Fauconnier A, Deffieux X, Dumont A, Huchon C. Épidémiologie des tumeurs ovariennes présumées bénignes. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2013;42(8):722-9.
3. Demont F, Fourquet F, Rogers M, Lansac J. Épidémiologie des kystes de l'ovaire apparemment bénins. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2008;30 (suppl1).
4. Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986;67(3):335-8.
5. Redwine DB. Ovarian endometriosis: a marker for more extensive pelvic and intestinal disease. *Fertility and Sterility* 1999;72(2):310-5.
6. Lardy H, Robert M. Kystes de l'ovaire présumés bénins en période péripubertaire (10 à 16 ans). *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2008;30 HS 1:4108-0.
7. Medeiros L, Rosa DD, Bozzetti MC, Fachel JM, Furness S, Garry R, et al. Laparoscopy versus laparotomy for benign ovarian tumour. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005;2:CD004751.
8. Borghese B, Marzouk P, Santulli P, de Ziegler D, Chapron C. Traitements chirurgicaux des tumeurs ovariennes présumées bénignes. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2013;42(8):786-93.
9. Collinet P, Fritel X, Revel-Delhom C, Ballester M, Bolze PA, Borghese B, et al. Management of endometriosis. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction* 2018;47(7):265-74.
10. Hart RJ, Hickey M, Maouris P, Buckett W. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008;3:CD004992.
11. Rubod C, Jean dit Gautier E, Yazbeck C. Traitement chirurgical des endométriomes. Modalités et résultats en termes de douleur, fertilité et récurrence des techniques chirurgicales et de ses alternatives. *RPC Endométriose CNGOF-HAS. Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 2018;46(3):278-89.
12. Roman H, Auber M, Mokdad C, Martin C, Diguët A, Marpeau L, et al. Ovarian endometrioma ablation using plasma energy versus cystectomy: a step toward better preservation of the ovarian parenchyma in women wishing to conceive. *Fertility and Sterility* 2011;96(6):1396-400.
13. Carmona F, Martínez-Zamora MA, Rabanal A, Martínez-Román S, Balasch J. Ovarian cystectomy versus laser vaporization in the treatment of ovarian endometriomas: a randomized clinical trial with a five-year follow-up. *Fertility and Sterility* 2011;96(1):251-4.

14. Roman H, Bubenheim M, Auber M, Marpeau L, Puscasiu L. Antimullerian Hormone Level and Endometrioma Ablation Using Plasma Energy. *JSLs : Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons* 2014;18(3).
15. Candiani M, Ottolina J, Posadzka E, Ferrari S, Castellano LM, Tandoi I, et al. Assessment of ovarian reserve after cystectomy versus 'one-step' laser vaporization in the treatment of ovarian endometrioma: a small randomized clinical trial. *Human Reproduction* 2018;33(12):2205-11.
16. Alborzi S, Foroughinia L, Kumar PV, Asadi N, Alborzi S. A comparison of histopathologic findings of ovarian tissue inadvertently excised with endometrioma and other kinds of benign ovarian cyst in patients undergoing laparoscopy versus laparotomy. *Fertility and Sterility* 2009;92(6):2004-7.
17. Bourdel N, Canis M. Stratégies thérapeutiques des tumeurs ovariennes présumées bénignes. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2013;42(8):802-15.
18. Harada M, Osuga Y, Fujimoto A, Fujimoto A, Fujii T, Yano T, et al. Predictive factors for recurrence of ovarian mature cystic teratomas after surgical excision. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2013;171(2):325-8.
19. Rogers EM, Allen L, Kives S. The Recurrence Rate of Ovarian Dermoid Cysts in Pediatric and Adolescent Girls. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology* 2014;27(4):222-6.
20. Ben-Ami I, Smorgick N, Tovbin J, Fuchs N, Halperin R, Pansky M. Does intraoperative spillage of benign ovarian mucinous cystadenoma increase its recurrence rate? *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2010;202(2):142.e1-142.e5.
21. Mizrachi Y, Weiner E, Keidar R, Kerner R, Golan A, Sagiv R. Intraoperative rupture of benign mucinous cystadenoma does not increase its recurrence rate. *Arch Gynecol Obstet* 2015;291(5):1135-9.
22. Guo S-W. Recurrence of endometriosis and its control. *Human Reproduction Update* 2009;15(4):441-61.
23. Selcuk S, Cam C, Koc N, Kucukbas M, Ozkaya E, Eser A, et al. Evaluation of risk factors for the recurrence of ovarian endometriomas. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2016;203:56-60.
24. Seo J-W, Lee D-Y, Yoon B-K, Choi D. The age-related recurrence of endometrioma after conservative surgery. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2017;208:81-5.
25. Li X-Y, Chao X-P, Leng J-H, Zhang W, Zhang J-J, Dai Y, et al. Risk factors for postoperative recurrence of ovarian endometriosis: long-term follow-up of 358 women. *J Ovarian Res* 2019;12(1):79.
26. Hidari T, Hirata T, Arakawa T, Koga K, Neriishi K, Fukuda S, et al. Contralateral ovarian endometrioma recurrence after unilateral salpingo-oophorectomy. *BMC Women's Health* 2019;19(1):59.
27. de Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *The Lancet* 2010;376(9742):730-8.
28. Fanchin R, Taieb J, Lozano DHM, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Human Reproduction* 2005;20(4):923-7.

29. Somigliana E, Berlanda N, Benaglia L, Viganò P, Vercellini P, Fedele L. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimüllerian hormone level modifications. *Fertility and Sterility* 2012;98(6):1531-8.
30. Uncu G, Kasapoglu I, Ozerkan K, Seyhan A, Oral Yilmaztepe A, Ata B. Prospective assessment of the impact of endometriomas and their removal on ovarian reserve and determinants of the rate of decline in ovarian reserve. *Human Reproduction* 2013;28(8):2140-5.
31. Streuli I, de Ziegler D, Gayet V, Santulli P, Bijaoui G, de Mouzon J, et al. In women with endometriosis anti-Müllerian hormone levels are decreased only in those with previous endometrioma surgery. *Human Reproduction* 2012;27(11):3294-303.
32. Goodman LR, Goldberg JM, Flyckt RL, Gupta M, Harwalker J, Falcone T. Effect of surgery on ovarian reserve in women with endometriomas, endometriosis and controls. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2016;215(5):589.e1-589.e6.
33. Younis JS, Shapso N, Fleming R, Ben-Shlomo I, Izhaki I. Impact of unilateral versus bilateral ovarian endometriotic cystectomy on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2019;25(3):375-91.
34. Muzii L, Achilli C, Lecce F, Bianchi A, Franceschetti S, Marchetti C, et al. Second surgery for recurrent endometriomas is more harmful to healthy ovarian tissue and ovarian reserve than first surgery. *Fertility and Sterility* 2015;103(3):738-43.
35. Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause. *Human Reproduction* 2011;26(11):3000-7.
36. Matsuzaki S, Houille C, Darcha C, Pouly J-L, Mage G, Canis M. Analysis of risk factors for the removal of normal ovarian tissue during laparoscopic cystectomy for ovarian endometriosis. *Human Reproduction* 2009;24(6):1402-6.
37. Kitajima M, Dolmans M-M, Donnez O, Masuzaki H, Soares M, Donnez J. Enhanced follicular recruitment and atresia in cortex derived from ovaries with endometriomas. *Fertility and Sterility* 2014;101(4):1031-7.
38. Donnez J, Donnez O, Orellana R, Binda MM, Dolmans MM. Endometriosis and infertility. *Panminerva Med* 2016;58(2):143-50.
39. Sanchez AM, Viganò P, Somigliana E, Panina-Bordignon P, Vercellini P, Candiani M. The distinguishing cellular and molecular features of the endometriotic ovarian cyst: from pathophysiology to the potential endometrioma-mediated damage to the ovary. *Hum Reprod Update* 2014;20(2):217-30.
40. Muzii L, Di Tucci C, Di Feliciano M, Galati G, Di Donato V, Musella A, et al. Antimüllerian hormone is reduced in the presence of ovarian endometriomas: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility* 2018;110(5):932-940.e1.
41. Rustamov O, Krishnan M, Roberts SA, Fitzgerald CT. Effect of salpingectomy, ovarian cystectomy and unilateral salpingo-oophorectomy on ovarian reserve. *Gynecol Surg* 2016;13(3):173-8.
42. Mohamed AA, Al-Hussaini TK, Fathalla MM, El Shamy TT, Abdelaal II, Amer SA. The impact of excision of benign nonendometriotic ovarian cysts on ovarian reserve: a systematic review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2016;215(2):169-76.

43. Female age-related fertility decline. *Fertility and Sterility* 2014;101(3):633-4.
44. Decanter C, d'Argent EM, Boujenah J, Poncelet C, Chauffour C, Collinet P, et al. Endométriose et préservation de la fertilité, RPC Endométriose, CNGOF-HAS. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 2018;46(3):368-72.
45. Somigliana E, Vigano P, Filippi F, Papaleo E, Benaglia L, Candiani M, et al. Fertility preservation in women with endometriosis: for all, for some, for none? *Human Reproduction* 2015;30(6):1280-6.
46. Paynter SJ, Cooper A, Gregory L, Fuller BJ, Shaw RW. Permeability characteristics of human oocytes in the presence of the cryoprotectant dimethylsulphoxide. *Hum Reprod* 1999;14(9):2338-42.
47. Chen C. Pregnancies after Human Oocyte Cryopreservation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1988;541(1):541-9.
48. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertility and Sterility* 2006;86(1):70-80.
49. Pujol A, Zamora MJ, Obradors A, Garcia D, Rodriguez A, Vassena R. Comparison of two different oocyte vitrification methods: a prospective, paired study on the same genetic background and stimulation protocol. *Human Reproduction* 2019;34(6):989-97.
50. Cobo A, García-Velasco J, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Elective and Onco-fertility preservation: factors related to IVF outcomes. *Human Reproduction* 2018;33(12):2222-31.
51. Cobo A, Giles J, Paoletti S, Pellicer A, Remohí J, García-Velasco JA. Oocyte vitrification for fertility preservation in women with endometriosis: an observational study. *Fertility and Sterility* 2020;113(4):836-44.
52. Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertility and Sterility* 2011;96(2):277-85.
53. Glujovsky D, Riestra B, Sueldo C, Fisz bajn G, Repping S, Nodar F, et al. Vitrification versus slow freezing for women undergoing oocyte cryopreservation. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014;9:CD010047.
54. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Hum Reprod Update* 2016;22(4):440-9.
55. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertility and Sterility* 2016;105(3):755-64.
56. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reproductive BioMedicine Online* 2009;18(6):769-76.
57. Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohí J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertility and Sterility* 2014;102(4):1006-1015.e4.
58. De Munck N, Vajta G. Safety and efficiency of oocyte vitrification. *Cryobiology* 2017;78:119-27.
59. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertility and Sterility* 2013;99(1):37-43.

60. Rodriguez-Wallberg KA, Marklund A, Lundberg F, Wikander I, Milenkovic M, Anastacio A, et al. A prospective study of women and girls undergoing fertility preservation due to oncologic and non-oncologic indications in Sweden—Trends in patients' choices and benefit of the chosen methods after long-term follow up. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2019;98(5):604-15.
61. Elizur SE, Chian R-C, Holzer HEG, Gidoni Y, Tulandi T, Tan SL. Cryopreservation of oocytes in a young woman with severe and symptomatic endometriosis: a new indication for fertility preservation. *Fertility and Sterility* 2009;91(1):293.e1-293.e3.
62. Raad J, Sonigo C, Tran C, Sifer C, Durnerin IC, Grynberg M. Oocyte vitrification for preserving fertility in patients with endometriosis: first observational cohort study... and many unresolved questions. Letter to the Editor. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2018;220:140-1.
63. Dadoun Y, Azaïs H, Keller L, d'Orazio E, Collinet P, Decanter C. Proposition systématique de préservation de la fertilité par congélation d'ovocytes en cas de tumeur ovarienne bénigne. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 2017;45(6):359-65.
64. Pigny P, Gorisse E, Ghulam A, Robin G, Catteau-Jonard S, Duhamel A, et al. Comparative assessment of five serum antimüllerian hormone assays for the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* 2016;105(4):1063-1069.e3.
65. Youssef MA, Veen FV der, Al-Inany HG, Mochtar MH, Griesinger G, Mohesen MN, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014;10:CD008046.
66. van Loendersloot LL, van Wely M, Limpens J, Bossuyt PMM, Repping S, van der Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 2010;16(6):577-89.
67. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WHB. A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. *PLoS One* 2011;6(7).
68. Humaidan P, Alviggi C, Fischer R, Esteves SC. The novel poseidon stratification of low prognosis patients in assisted reproductive technology and its proposed marker of successful outcome. *F1000Research* 2016;5.
69. Kallio S, Puurunen J, Ruokonen A, Vaskivuo T, Piltonen T, Tapanainen JS. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertility and Sterility* 2013;99(5):1305-10.
70. Hagen CP, Sørensen K, Anderson RA, Juul A. Serum levels of antimüllerian hormone in early maturing girls before, during, and after suppression with GnRH agonist. *Fertility and Sterility* 2012;98(5):1326-30.
71. Garcia-Velasco JA, Domingo J, Cobo A, Martínez M, Carmona L, Pellicer A. Five years' experience using oocyte vitrification to preserve fertility for medical and nonmedical indications. *Fertility and Sterility* 2013;99(7):1994-9.
72. Singh AK, Dutta M, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Intrafollicular interleukin-8, interleukin-12, and adrenomedullin are the promising prognostic markers of oocyte and embryo quality in women with endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 2016;33(10):1363-72.
73. Sanchez AM, Vanni VS, Bartiromo L, Papaleo E, Zilberberg E, Candiani M, et al. Is the oocyte quality affected by endometriosis? A review of the literature. *Journal of Ovarian Research* 2017;10(1):43.

74. Fabris AM, Cruz M, Legidos V, Iglesias C, Muñoz M, García-Velasco JA. Dual Triggering With Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist and Standard Dose Human Chorionic Gonadotropin in Patients With a High Immature Oocyte Rate: *Reproductive Sciences* 2016;24(8):1221-5.
75. de Oliveira SA, Calsavara VF, Cortés GC. Final Oocyte Maturation in Assisted Reproduction with Human Chorionic Gonadotropin and Gonadotropin-releasing Hormone agonist (Dual Trigger). *JBRA Assist Reprod* 2016;20(4):246-50.
76. Hamdine O, Eijkemans MJC, Lentjes EWG, Torrance HL, Macklon NS, Fauser BCJM, et al. Ovarian response prediction in GnRH antagonist treatment for IVF using anti-Müllerian hormone. *Human Reproduction* 2015;30(1):170-8.
77. Broer SL, Dólleman M, van Disseldorp J, Broeze KA, Opmeer BC, Bossuyt PMM, et al. Prediction of an excessive response in in vitro fertilization from patient characteristics and ovarian reserve tests and comparison in subgroups: an individual patient data meta-analysis. *Fertility and Sterility* 2013;100(2):420-429.e7.
78. Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, Scarduelli C, Capalbo A, Vajta G, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification: an observational longitudinal cohort multicentric study. *Human Reproduction* 2012;27(6):1606-12.
79. Benaglia L, Somigliana E, Iemmello R, Colpi E, Nicolosi AE, Ragni G. Endometrioma and oocyte retrieval-induced pelvic abscess: a clinical concern or an exceptional complication? *Fertility and Sterility* 2008;89(5):1263-6.
80. Steward RG, Lan L, Shah AA, Yeh JS, Price TM, Goldfarb JM, et al. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles. *Fertility and Sterility* 2014;101(4):967-73.
81. D'Hooghe TM, Denys B, Spiessens C, Meuleman C, Debrock S. Is the endometriosis recurrence rate increased after ovarian hyperstimulation? *Fertility and Sterility* 2006;86(2):283-90.
82. Benaglia L, Somigliana E, Vercellini P, Benedetti F, Iemmello R, Vighi V, et al. The impact of IVF procedures on endometriosis recurrence. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2010;148(1):49-52.
83. Benaglia L, Somigliana E, Santi G, Scarduelli C, Ragni G, Fedele L. IVF and endometriosis-related symptom progression: insights from a prospective study. *Human Reproduction* 2011;26(9):2368-72.
84. Seyhan A, Urman B, Turkgeldi E, Ata B. Do endometriomas grow during ovarian stimulation for assisted reproduction? A three-dimensional volume analysis before and after ovarian stimulation. *Reproductive BioMedicine Online* 2018;36(2):239-44.
85. Cobo A, Garrido N, Crespo J, José R, Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reproductive BioMedicine Online* 2012;24(4):424-32.

ANNEXE 1

QUESTIONNAIRE/ TOLERANCE FONCTIONNELLE

→appel téléphonique 48 à 72 h post-ponction ovocytaire

Nom :

Prénom :

DDN :

1 / ressentez-vous une sensation de gonflement abdominal, de ballonnement ?

Oui Non un peu

2/ ressentez-vous des douleurs dans le bas-ventre ?

Oui Non

x si oui, ces douleurs sont-elles :

Très intenses Modérées supportables

x si oui, besoin d'un traitement antalgique ?

Oui Non

3/ avez-vous fait de la température ?

Oui Non

4 / avez -vous ressenti des douleurs pendant la période de stimulation ovarienne ?

Oui Non

x si oui, ces douleurs étaient-elles :

Très intenses modérées supportables

x au point de ponction ou pelvienne ?

x si oui, avez-vous du prendre un traitement antalgique ?

Oui Non

5/ Etes vous satisfaite de la prise en charge ?

Oui Non

AUTEUR : Nom : LEGRAND**Prénom : Charlotte****Date de soutenance : 11 juin 2020****Titre de la thèse : Proposition systématique de préservation de la fertilité par congélation d'ovocytes en cas de tumeur ovarienne bénigne à haut risque d'altération du capital folliculaire ovarien****Thèse - Médecine - Lille 2020****Cadre de classement :** Gynécologie**DES + spécialité :** *DES gynécologie médicale, DESC d'assistance médicale à la procréation***Mots-clés :** Préservation de la fertilité, vitrification ovocytaire, tumeurs ovariennes bénignes**Résumé : CONTEXTE :** Les tumeurs ovariennes bénignes sont fréquentes chez la femme jeune. Leur prise en charge expose les patientes à un risque d'altération du capital folliculaire ovarien et d'infertilité future. A ce jour, aucune étude de cohorte n'est publiée sur la préservation de la fertilité chez ces patientes. L'objectif principal est d'évaluer le nombre d'ovocytes matures en métaphase II recueillis et éligibles à la vitrification pour la préservation de la fertilité.**MATÉRIEL&MÉTHODES :** Cohorte rétrospective de données collectées prospectivement, monocentrique entre juin 2011 et janvier 2020. Proposition systématique de préservation de la fertilité chez toutes les patientes âgées de moins de 35 ans, porteuses de tumeurs ovariennes bénignes : kyste unique ≥ 5 cm, multiples unilatéraux ou bilatéraux, avant ou après une prise en charge chirurgicale. Un bilan de la réserve ovarienne était réalisé avant le début de la stimulation. 1 à 3 cycles de stimulation ovarienne étaient proposés par patiente. Seuls les ovocytes en métaphase II étaient vitrifiés. Chaque patiente après janvier 2019 a été recontactée par téléphone après la ponction.**RESULTATS :** 70 patientes âgées de $27,9 \pm 4,8$ ans ont été incluses avant ou après une chirurgie et 113 cycles ont été analysés. Le taux moyen d'AMH était de $12,5 \pm 8,7$ pmol/L. En moyenne $6,4 \pm 3,4$ ovocytes totaux étaient ponctionnés par cycle dont $4,3 \pm 3,4$ ovocytes en métaphase II. 41,5 % des cycles ont permis le recueil de quatre ovocytes ou moins. Après 1 à 3 cycles, $6,87 \pm 5,23$ ovocytes MII étaient vitrifiés par patiente : $4,19 \pm 3,35$ MII après un cycle, $8,03 \pm 5,35$ MII après deux cycles et enfin $9,43 \pm 5,59$ MII après trois cycles. Dans l'analyse multivariée la dose de départ de FSH-r, le taux d'œstradiol et le nombre de follicules ≥ 15 mm étaient les seuls facteurs associés au nombre d'ovocytes matures. Aucune différence n'a été retrouvée entre les groupes « endométriosique » et « non endométriosique ». Aucun effet indésirable grave n'est survenu. Les patientes semblent satisfaites de cette proposition, et adhèrent au protocole.**CONCLUSION :** Après un cycle, le nombre d'ovocytes vitrifiés est trop faible pour offrir de bonnes chances de grossesse future. Une proposition d'accumulation ovocytaire est préconisée. L'adhésion et la tolérance au protocole sont bonnes. Un suivi au long terme est nécessaire afin d'évaluer l'efficacité, la pertinence clinique et la rentabilité de la procédure.**Composition du Jury :****Président : Madame le Professeur Sophie CATTEAU JONARD****Assesseurs : Madame le Professeur Chrystèle RUBOT DIT GUILLET, Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN, Madame le Docteur Laura KELLER****Directeur de thèse : Madame le Docteur Christine DECANTER**