



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2022

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Influence de l'AMH et des modalités de stimulation ovarienne sur la morphologie ovocytaire en ICSI : analyse d'une cohorte de plus de 3000 ovocytes issus de patientes non obèses et sans antécédent gynécologique.

Présentée et soutenue publiquement le 11/10/2022 à 16h00
au Pôle Formation
par **Joanie DELPIERRE**

JURY

Président :

Madame le Professeur Sophie CATTEAU-JONARD

Assesseurs :

Madame le Docteur Anne-Laure BARBOTIN

Madame le Docteur Camille ROBIN

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN

AVERTISSEMENT

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

Liste des abréviations

AMH	Anti Mullerien Hormone
AMP	Aide Médicale à la Procréation
AOQI	Average Oocyte Quality Index
CFA	Comptage des follicules Antraux
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
E2	Oestradiol
FIV	Fécondation In Vitro
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotrophin Releasing Hormone
GP	Globule Polaire
hCG	Human Chorionic Gonadotrophin
HMG	Human Menopausal Gonadotropin
ICSI	IntraCytoplasmic Sperm Injection
IMC	Index de Masse Corporelle
LH	Luteinizing Hormone
MOMS	Metaphase II Oocyte Morphological Scoring System

Table des matières

RESUME	7
INTRODUCTION	9
MATERIEL ET METHODE	11
Population	11
Bilan d'infertilité :	11
Stimulation ovarienne	12
Evaluation morphologique des ovocytes :	13
Score AOQI (Average oocyte quality index)(17) :	14
Score MOMS (metaphase II oocyte morphological scoring system).....	14
Evaluation des embryons :	15
Issues des tentatives :	15
Analyses statistiques :	16
RESULTATS.....	17
Description clinique de la population :	17
Facteurs associés au nombre d'ovocytes normaux par cohorte ovocytaire :.....	18
Facteurs associés au score AOQI.....	20
Facteurs associés au score MOMS :	22
DISCUSSION :	24
BIBLIOGRAPHIE.....	31

RESUME

CONTEXTE : La stimulation ovarienne au cours d'une tentative d'ICSI a pour objectif le recrutement de plusieurs follicules. Cette procédure pourrait être responsable d'une altération de la qualité ovocytaire. L'évaluation de cette qualité ovocytaire est difficile, la morphologie ovocytaire pourrait en être un marqueur indirect, mais non invasif. Nous avons souhaité évaluer chez des patientes sans autre facteur de risque présumé de mauvaise qualité ovocytaire, l'influence de la stimulation ovarienne et de la réserve ovarienne sur la morphologie ovocytaire.

METHODE : Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique réalisée entre janvier 2016 et décembre 2019 chez les couples pris en charge en fécondation in vitro avec micro-injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde au sein du CHU de Lille. Les critères d'exclusion étaient : Les patientes en anovulation, les patientes obèses ($IMC \geq 30$), la présence d'une anomalie de caryotype chez au moins un membre du couple, les tentatives d'ICSI réalisées à partir de spermatozoïdes extraits chirurgicalement, les dons de gamète, les cycles d'ICSI réalisés pour pauci-fécondation ou absence de fécondation en FIV-c, les tentatives de FIV-ICSI en cycle semi-naturel ainsi que les patientes ayant une endométriose pelvienne, les patientes âgées de 38 ans ou plus. Le critère de jugement principal était la morphologie ovocytaire évaluée par le pourcentage d'ovocytes normaux et deux scores morphologiques spécifiques: le score AOQI et le score MOMS. L'évaluation morphologique des ovocytes était systématiquement réalisée après décoronisation pour chaque tentative d'ICSI.

RESULTATS : Nous avons étudié 472 tentatives obtenues auprès de 341 patientes, ce qui a permis l'analyse de 3590 ovocytes. L'âge et la durée de stimulation étaient significativement corrélés au taux d'ovocytes normaux. Le score AOQI était significativement plus péjoratif avec l'allongement de la durée de stimulation. L'AMH, le tabac, le type de gonadotrophine, le protocole de stimulation, n'étaient pas associés à des anomalies de la morphologie ovocytaire.

CONCLUSION : Dans cette étude, en dehors de l'âge de la femme et de la durée de stimulation, la réserve ovarienne et les caractéristiques de la stimulation ovarienne ne semblent pas influencer la morphologie ovocytaire. Ainsi, la morphologie ovocytaire serait un outil insuffisant d'évaluation de la qualité ovocytaire.

INTRODUCTION

Dans le cadre de la FIV et de l'ICSI, la stimulation ovarienne a pour objectif le développement de plusieurs ovocytes matures. Dans le but de garantir de bonnes chances de grossesse tout en minimisant les effets secondaires, la stimulation ovarienne a beaucoup évolué ces vingt dernières années. Se sont développées de nouvelles gonadotrophines, mais également de nouveaux protocoles avec l'essor des antagonistes de la GnRH. Si, pendant longtemps, le nombre d'ovocytes obtenus était le principal objectif, s'est progressivement développée la question de la qualité ovocytaire et de l'impact de la stimulation ovarienne sur cette dernière. En effet, cette folliculogenèse supra-physiologique pourrait se faire au détriment de la qualité ovocytaire.(1). Or, l'ovocyte jouerait un rôle déterminant dans le développement embryonnaire. Au-delà du génome maternel, l'ovocyte transmettrait également ses mitochondries(2), et son cytoplasme contribuerait à la formation du blastomère(3).

Lors de tentatives d'ICSI, les ovocytes injectés sont ceux arrivés au stade de métaphase II. La présence du premier globule polaire étant considéré comme un marqueur de maturité. Par consensus, les ovocytes géants et ceux dont le réticulum endoplasmique est lisse ne sont pas injectés (4) du fait de leur caractère péjoratif sur l'issue de grossesse.

La morphologie ovocytaire, facilement évaluable au microscope, pourrait être un outil non invasif d'évaluation de la qualité ovocytaire(5). L'étude de la morphologie ovocytaire consiste en l'analyse du premier globule polaire, l'apparence du cytoplasme et des structures extra-cytoplasmiques. Mais la pertinence de la morphologie ovocytaire reste incertaine.

Certaines anomalies morphologiques comme : un large espace périvitellin, des anomalies du premier globule polaire, l'augmentation des granulations intra cytoplasmiques, seraient des marqueurs de pronostic péjoratif(6). Ainsi, la présence de granulations au centre du

cytoplasme serait associée à un faible taux de fécondation, peu de naissances vivantes et une augmentation de fausses couches en ICSI(7).

Mais, pour certains auteurs, la plupart des anomalies morphologiques, notamment extra-cytoplasmiques, seraient de simples variations secondaires à la culture ovocytaire ou liées à l'âge(1).

Peu d'études se sont intéressées aux caractéristiques cliniques et conditions de stimulations pouvant influencer la morphologie ovocytaire. Gonullu et al(8) ont étudié les paramètres de la stimulation pouvant influencer la maturité ovocytaire. Ils ont ainsi mis en évidence que le produit de déclenchement, la dose journalière et la dose totale de gonadotrophines influençaient le taux de maturité ovocytaire. Mais dans cette étude, la morphologie des ovocytes matures n'a pas été analysée. Pour Rienzi et al., l'âge féminin et le taux de FSH initial impacteraient la morphologie ovocytaire(9).

L'objectif de notre étude était de rechercher chez des patientes sans facteurs de risque présumé de mauvaise qualité ovocytaire, l'influence des modalités de stimulation ovarienne et de la réserve ovarienne sur la morphologie ovocytaire.

MATERIEL ET METHODE

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique dans le centre d'Aide Médicale à la procréation (AMP) du Centre Hospitalier et Universitaire de Lille.

Population

Les couples bénéficiant d'au moins une tentative de fécondation in vitro avec micro-injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) sur la période de janvier 2016 à décembre 2019 ont été inclus.

Les critères d'exclusion étaient : patientes avec syndrome des ovaires polykystiques (diagnostiqué selon les critères de ROTTERDAM actualisés(10)) ainsi que les autres causes d'anovulation, les patientes obèses ($IMC \geq 30$), la présence d'une anomalie de caryotype chez au moins un membre du couple, les tentatives d'ICSI réalisées à partir de spermatozoïdes extraits chirurgicalement, les dons de gamète, les cycles d'ICSI réalisés pour pauci-fécondation ou absence de fécondation en FIV-c, les tentatives de FIV-ICSI en cycle semi-naturel ainsi que les patientes ayant une endométriose pelvienne, les patientes âgées de 38 ans ou plus.

Nous avons étudié 341 couples ayant réalisé 472 tentatives permettant l'analyse de la morphologie d'une cohorte de 3590 ovocytes en métaphase II.

Bilan d'infertilité :

Les couples ont été reçus en consultation par un médecin de la reproduction afin de recueillir les antécédents, le mode de vie et l'IMC de chacun.

Les patientes ont bénéficié d'un bilan hormonal et d'une échographie pelvienne réalisés dans le service de gynécologie endocrinienne du CHU de Lille :

-Le bilan hormonal réalisé entre J2 et J5 du cycle comportait au minimum : un dosage de l'oestradiol (E2) et de la FSH (follicule stimulating hormone) par

chimioluminescence sur un système multiparamétrique (Axsym®, Abbott Laboratoire Chicago, IL, USA), de luteinizing hormone (LH) et d'hormone anti-mullerienne (AMH) (11). Le dosage d'AMH a été dosé par test immunologique de seconde génération (A16507, Beckman Coulter, Immunotech, Villepinte, France).

-Une échographie pelvienne par voie endo-vaginale a été réalisée dans le même temps pour déterminer le compte des follicules antraux (CFA) selon une méthode standardisée (real-time two-dimensional (2D) ultrasound)(13).

La perméabilité tubaire a été évalué par hystérosalpingographie.

Pour le bilan masculin, deux spermogrammes à trois mois d'intervalle ont été réalisés avec spermocytogramme, spermoculture et test de migration survie. En vue de l'ICSI, un bilan andrologique a également été réalisé avec au minimum : examen clinique(14,15), échographie scrotale, bilan hormonal et caryotype constitutionnel en résolution standard.

Stimulation ovarienne :

Les patientes ont bénéficié de deux types de protocoles d'hyperstimulation ovarienne contrôlée : soit un protocole long agoniste, soit un protocole antagoniste.

La stimulation ovarienne a été faite par injection quotidienne de gonadotrophines (FSH recombinante, d'HMG ou d'une association FSH et LH recombinantes). La dose de départ de FSH était déterminée en fonction de l'IMC, de l'âge, du CFA et du dosage d'AMH par le médecin référent (16).

Le monitoring de la croissance multifolliculaire comportait un bilan hormonal (oestradiol, LH, progestérone) et une échographie pelvienne par voie endo vaginale.

Une fois les follicules arrivés à maturation, la maturation folliculo-ovocytaire terminale était déclenchée par l'injection de 250 µg d'hCG recombinante (Human Chorionic Gonadotropin,

type Ovitrelle®, Merck Serono, Lyon, France) ou, dans certains cas, par agoniste de la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone, triptoréline 0,2mg).

La ponction ovocytaire a été réalisée 36 heures après le déclenchement par aspiration sous contrôle échographique par voie trans-vaginale.

Evaluation morphologique des ovocytes :

Les liquides folliculaires obtenus lors de la ponction ont été observés sous microscopes afin de récupérer les complexes cumulo-ovocytaires.

Les complexes cumulo-ovocytaire obtenus ont été décoronisés par méthode enzymatique et mécanique.

L'évaluation de la maturité et de la qualité ovocytaire était réalisée 2h après décoronisation au grossissement 400 du microscope inversé (LEICA DMIRB), juste avant l'injection des spermatozoïdes, de manière standardisée, par deux opérateurs différents.

Les anomalies extra et intracytoplasmiques suivantes ont été systématiquement répertoriées avant la micro-injection de spermatozoïde(6) comme décrit dans le score AOQI (Average Oocyte Quality Index) établi par Sigala et al. (17)en 2015, et le score MOMS (metaphase II oocyte morphological scoring system) publié par Rienzi et al (9) en 2008:

- Premier globule polaire fragmenté,
- Anomalie de la zone pellucide,
- Espace péri-vitellin large,
- Présence de matériel péri-vitellin,
- Anomalie de la forme ovocytaire,
- Présence de vacuoles intra-cytoplasmiques
- Présence de nombreuses granulations intracytoplasmiques.

A noter que les ovocytes de tailles géantes ou au réticulum endoplasmique lisse n'ont pas été injectés selon les recommandations internationales(4).

Dans notre étude, deux scores de morphologie ovocytaire ont été utilisés :

Score AOQI (Average oocyte quality index)(17) :

Ratio de la somme des anomalies précédemment décrites sur le nombre d'ovocytes en métaphase II.

$$AOQI = \frac{\sum \text{anomalies morphologiques ovocytaires}}{n \text{ ovocytes MII}}$$

Figure 1: Score AOQI (Average oocyte quality index)

Score MOMS (metaphase II oocyte morphological scoring system(9)):

Dans le score MOMS, chacune des 5 anomalies étudiées est associée à un coefficient en fonction de leur impact sur les issues de tentatives.

Anomalie morphologique	Coefficient
Premier globule polaire anormal	2.0
Espace péri-vitellin large	1.4
Cytoplasme granuleux	1.4
Zone centrale granuleuse du cytoplasme	2.7
Vacuole intra-cytoplasmique	2.1

$$MOMS = \frac{\sum (n \text{ anomalies morphologique ovocytaire} \times \text{coefficient})}{n \text{ ovocytes MII}}$$

Figure 2: score MOMS (metaphase II oocyte morphology scoring system)

Pour chacun de ces scores, plus la somme est élevée, plus l'ovocyte étudié présente d'anomalies morphologiques.

Evaluation des embryons :

Les ovocytes matures en métaphase MII ont été micro-injectés selon la technique ICSI.

L'évaluation de la bonne fécondation était réalisée 16-18h après injection par la visualisation de deux pronucléi et de l'expulsion du 2^{ème} GP dans l'espace péri-vitellin (zygote).

Le clivage précoce était observé 27h après l'injection. La qualité embryonnaire était évaluée 44-46h (ou 68h) après injection.

L'évaluation de la qualité embryonnaire était basée sur le nombre et la taille des blastomères, le degré de fragmentation et la présence de blastomères multi-nucléés.

Au 2^e jour, un embryon « top qualité » devait posséder 4 blastomères de tailles égales avec moins de 10% de fragmentation, sans multi-nucléations. Un embryon de bonne qualité au 3^e jour présentait 8 cellules de tailles égales, sans multinucléation et moins de 10% de fragmentation.

Seuls les embryons surnuméraires au stade clivé (J2-J3) de bonne qualité étaient congelés.

Les autres embryons étaient poussés en culture jusqu'à J5 ou J6.

Issues des tentatives :

Le soir de la ponction, les patientes débutaient un traitement par progestérone (soit 600 mg de progestérone par voie vaginale soit 30mg de dydrogestérone par voie orale) en soutien de la phase lutéale(18).

Le transfert embryonnaire était organisé à J2 ou J3 post ponction si les conditions le permettaient (absence de risque d'hyperstimulation, pas d'élévation de progestérone en fin de stimulation) et que des embryons de qualité suffisante étaient obtenus.

Un test de grossesse sanguin était réalisé 14 jours après le transfert embryonnaire par dosage du taux d'hCG.

En cas de grossesse, le soutien de phase lutéale par progestérone vaginale ou dydrogestérone orale était poursuivi jusqu'à 8 semaines de grossesse.

Dans notre étude nous avons évalué, les taux de fécondation (nombre de zygotes/ nombre d'ovocyte MII), le nombre d'embryons obtenus, les taux de grossesses cliniques cumulés.

Analyses statistiques :

Les variables qualitatives ont été décrites en termes de fréquences et de pourcentages. Les variables quantitatives ont été décrites par la moyenne et l'écart type ou par la médiane et l'intervalle interquartile. La normalité des distributions a été vérifiée graphiquement et à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

La recherche des facteurs associés au score AOQI a été effectuée par un modèle linéaire mixte (unstructured covariance pattern model) pour tenir compte de la corrélation entre les tentatives d'une même patiente. Les facteurs associés au seuil de 0.05 en analyses bivariées ont été introduites dans un modèle multivarié. La même méthode a été appliquée pour la recherche des facteurs associés au score MOM moyen.

Un modèle d'équations d'estimation généralisée (GEE) (distribution de poisson, lien log) a été utilisé pour identifier les facteurs associés au nombre d'ovocytes normaux par cohorte ovocytaire. Ce modèle tient compte de la corrélation entre les tentatives d'une même patiente. Le nombre d'ovocytes méta II a été considéré comme offset (après transformation logarithmique). Les facteurs associés au seuil de 0.05 en analyses bivariées ont été introduites dans un modèle multivarié.

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).

RESULTATS

Description clinique de la population :

Dans cette étude, 341 patientes ont été incluses. Au total, 472 tentatives ont été réalisées, correspondant à l'analyse de 3590 ovocytes matures.

La description clinique des patientes lors de leur première tentative de FIV est présentée dans le tableau 1.

Variable	Unité	Modalité	Description
Age femme		Moyenne	30.2±3.57
IMC femme		Moyenne	23.0±3.17
AMH		Moyenne	19.9±12.58
Tabac	N (%)	Actif	37 (11.6)
Protocole d'hyperstimulation ovarienne contrôlée	N (%)	Agoniste	150 (44)
		Antagoniste	191 (56.0)
Type de gonadotrophine utilisée	N (%)	Activité FSH seule	206 (60.41)
		Activité FSH + activité LH (FSH+LH ou HMG)	135 (39.59)
Type de déclenchement	N (%)	hCG recombinante	330 (97.6)
		Agoniste de la GnRH	8 (2.4)
Durée stimulation		Moyenne	11.0±1.8

Tableau 1 : description clinique des patientes lors de leur première tentative. Les données quantitatives sont représentées par la moyenne ±Déviation standard.

Facteurs associés au nombre d'ovocytes normaux par cohorte ovocytaire :

Variable	Risque relatif	IC	p-value
Age	0.9653	[0.9441 – 0.9870]	0.0019
IMC	1.0079	[0.9797 – 1.0368]	0.5878
Tabac actif	0.9436	[0.7301-1.2196]	0.6576
AMH	1.0015	[0.9954 – 1.0077]	0.6228
Durée stimulation	0.9445	[0.8983 – 0.9932]	0.0259
Dose totale de FSH	1.0000	[0.9999 – 1.0000]	0.2596
Œstradiol	1.0000	[0.9999 – 1.000]	0.7714
Protocole antagoniste	0.9585	[0.8142 – 1.1283]	0.6103
Type de gonadotrophine utilisée (FSH avec ou sans activité LH)	1.0288	[0.8758- 1.2140]	0.7369

Tableau 2 : Risque d'obtenir des ovocytes matures présentant une morphologie normale. Résultats présentés en risque relatif.

L'âge et l'allongement de la durée de stimulation sont associés significativement à une diminution du taux d'ovocytes normaux.

Les données significatives ont été analysées dans un modèle multivarié.

Variable	Risque relatif	IC	P-value
Age	0.8636	[0.7889 – 0.9454]	0.0015
Durée de stimulation	0.9050	[0.8227 – 0.9956]	0.0404

Tableau 3 : Risque d'obtenir des ovocytes matures présentant une morphologie normale. Résultats présentés en risque relatif.

Après analyse multivariée, l'âge est associé au taux d'ovocytes normaux avec un risque relatif de 0.8636, IC [0.7889-0.9454] pour une p-value de 0.0015. La durée de stimulation est également significative avec un risque relatif de 0.9050, IC [0.8227- 0.9956], p-value 0.0404.

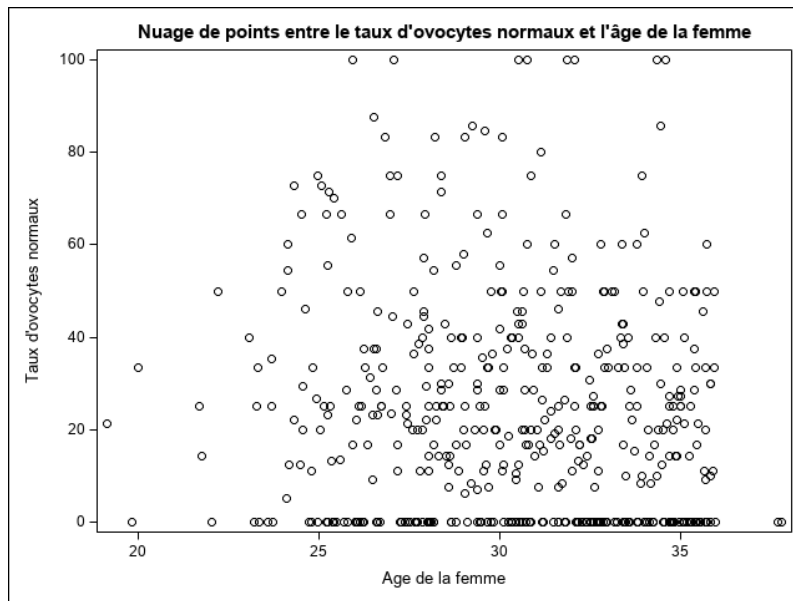


Figure 3 : Nuage de points entre taux d'ovocytes et âge de la femme.

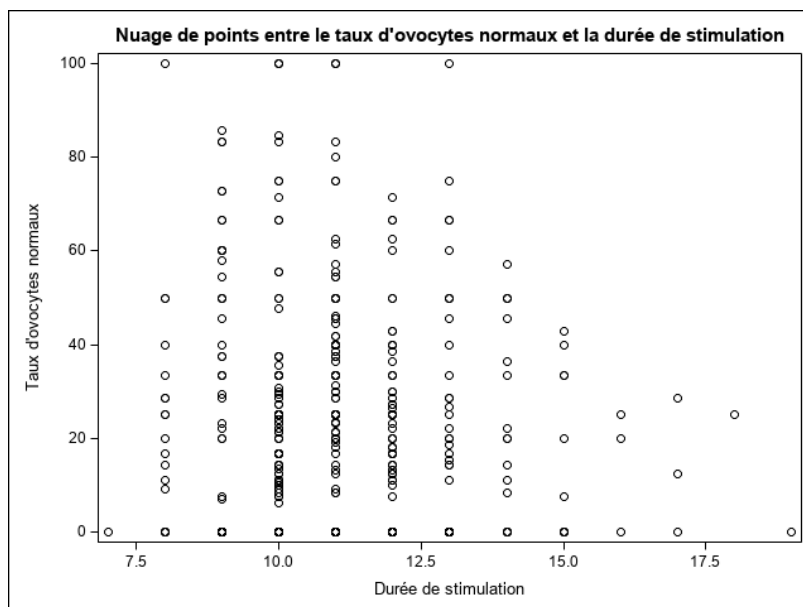


Figure 4 : Nuage de points entre taux d'ovocytes normaux et durée de stimulation.

Les figures 3 et 4 représentent le taux d'ovocytes normaux pour chaque cohorte ovocytaire en fonction des données âge de la patiente lors de la stimulation et durée de la stimulation.

Facteurs associés au score AOQI

Le score AOQI a été analysé en fonction des différents facteurs cliniques et des caractéristiques de la stimulation pour les 3590 ovocytes.

Variable (unité)	Estimation	IC	P-value
Age (4 Ans)	0.03074	[-0.02203 – 0.08351]	0.2513
IMC (3 kg/m ²)	-0.04526	[-0.08999 - -0.00053]	0.0474
Tabagisme actif	-0.03052	[-0.1856 – 0.1246]	0.6976
AMH (13 pmol/L)	-0.0512	[-0.05403 – 0.04379]	0.8363
Durée stimulation (2j)	0.06126	[0.004681 – 0.1178]	0.0341
Total FSH (1300 UI)	0.02911	[-0.01850 – 0.07673]	0.2285
Taux œstradiol (1000 UI)	0.02896	[-0.01671 – 0.07463]	0.2115
Rang tentative (1 tent)	0.008530	[- 0.06738 – 0.08444]	0.8244
Protocole antagoniste	-0.02663	[-0.1204 – 0.06710]	0.5750
Type de gonadotrophine utilisée (FSH avec ou sans activité LH)	0.2127	[0.1705-0.4205]	0.9165
Nb de follicules >15mm	0.002870	[-0.00901 – 0.01475]	0.6331
Nb ovocytes total	-0.00711	[-0.01538 – 0.001166]	0.0916
Nb ovocytes M II	-0.00945	[-0.02005 – 0.001149]	0.0801

Tableau 4 : Variation du score AOQI des cohortes ovocytaires en fonction des facteurs étudiés. Modèle linéaire mixte tenant comptes des différentes tentatives pour une même patiente.

Pour chacun des facteurs analysés a été calculé une estimation de la variation du score AOQI.

Une augmentation du IMC de 3kg/m² est associée significativement à une diminution du score AOQI estimée à -0.04526 IC [-0.08999 - -0.00053], p-value 0.0474.

L'allongement de la durée de stimulation de 2 jours est associé à une augmentation significative du score AOQI estimée à 0.06126 IC [0.004681 – 0.1178], p-value 0.034.

Les facteurs précédemment décrits comme étant significatifs ont été analysés dans un modèle multivarié, présenté dans le tableau 3

Variable	Estimation	IC	P-value
IMC (3kg/m ²)	-0.04554	[-0.09461 – 0.003533]	0.0686
Durée de stimulation	0.06096	[0.004142 – 0.1178]	0.0357

Tableau 5 : Modèle multivarié des facteurs associés à une variation significative de l'AOQI.

Après analyse multivariée, seule la durée de stimulation reste significative.

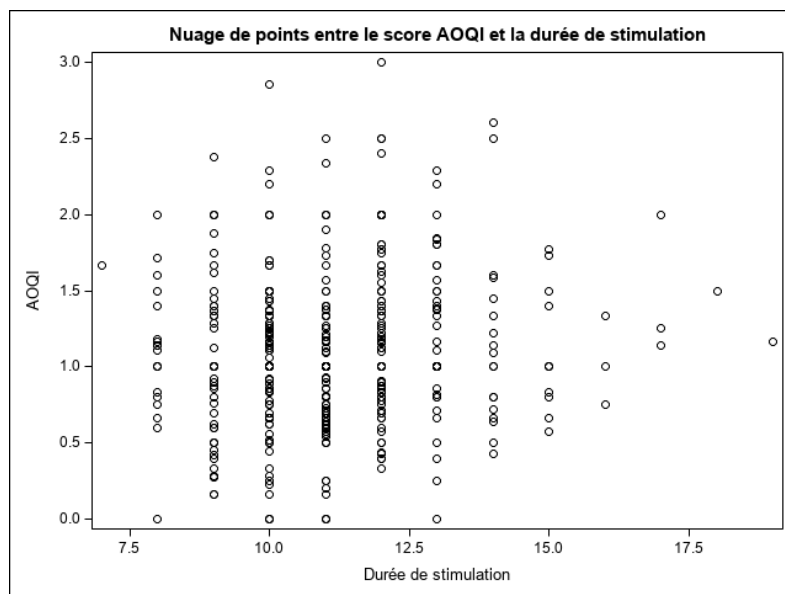


Figure 5 : Nuage de points entre le score AOQI et la durée de stimulation

La figure 5 représente le score AOQI par cohorte ovocytaire en fonction de la durée de stimulation.

Facteurs associés au score MOMS :

Le score MOMS a été réalisé sur les 3590 ovocyte en MII, les facteurs cliniques et caractéristiques de stimulation des cohortes ovocytaires ont été répertoriés.

Variable	Estimation	IC	P-value
Age (4 Ans)	0.05201	[-0.01796 – 0.1220]	0.1438
IMC (3 kg/m2)	-0.02065	[-0.08080 – 0.03951]	0.4983
Tabagisme actif	-0.04053	[-0.2458 – 0.1648]	0.6967
AMH (13 pmol/L)	0.03506	[-0.02962 – 0.09974]	0.2855
Durée stimulation (2j)	0.05393	[-0.02015 – 0.1280]	0.1518
Total FSH (1300 UI)	-0.01835	[-0.08218 – 0.04548]	0.5705

Taux d'œstradiol (1000 UI)	0.03256	[-0.02886 – 0.09398]	0.2956
Rang tentative (1 tent)	-0.01428	[-0.1138 – 0.08523]	0.7769
Protocole antagoniste	-0.03906	[-0.1626 – 0.08448]	0.5327
Type de gonadotrophine utilisée (FSH avec ou sans activité LH)	0.2646	[0.1564 – 0.62221]	0.4448
Nb follicules > 15mm	0.006290	[-0.00930 – 0.02188]	0.4258
Nb d'ovocytes total	-0.00169	[-0.001265 – 0.009262]	0.7603
Ovocytes M II	0.000851	[-0.01319 – 0.01489]	0.9047

Tableau 6 : Variation du score MOMS des cohortes ovocytaires en fonction des facteurs étudiés. Modèle linéaire mixte tenant compte des différentes tentatives pour une même patiente.

Aucun des paramètres étudiés n'est associé à une variation significative du score MOMS.

DISCUSSION :

Nous avons analysé la morphologie de 3590 ovocytes issus de 341 patientes. A notre connaissance, il s'agit de la première étude analysant les scores AOQI et MOMS chez des patientes sans pathologies gynécologiques ou facteurs de risque pouvant altérer la qualité ovocytaire.

Dans notre étude, nous avons observé une diminution significative du pourcentage d'ovocytes matures de morphologie normale avec l'avancée en âge des patientes et l'allongement de la durée de stimulation. De même, le score AOQI est plus péjoratif avec l'allongement de la durée de stimulation ovarienne.

L'âge de la patiente est connu pour être l'un des facteurs principaux de fertilité spontanée (19). Mais également en cas de recours à l'aide médicale à la procréation avec la nécessité d'utiliser de plus fortes doses de gonadotrophines, l'obtention de moins d'ovocytes (20), un plus fort taux d'abandon (21), mais surtout un plus faible taux de grossesse et de naissance vivante (22,23). Cette baisse de la fertilité liée à l'âge s'explique en partie par une diminution du pool folliculaire(24). La réserve ovarienne se constitue dès la vie intra-utérine avec un stock défini de cellules germinales à la naissance, puis une décroissance progressive jusqu'à la ménopause. Le capital ovarien de chaque femme serait dépendant à la fois du stock folliculaire initial et de la cinétique de décroissance avec des variabilités inter-individuelles importantes(24). Par ailleurs, l'avancée en âge est connue comme étant un facteur altérant la qualité ovocytaire. Il existerait ainsi une diminution du taux de testostérone circulante, favorisant une apoptose des cellules de la granulosa. En outre, une augmentation du stress oxydatif et une altération de l'ADN mitochondrial ovocytaire ont également été associées à l'âge maternel. (25–27). De récentes études ont montré que l'accumulation de mutations dans l'ADN mitochondrial contribuait à l'augmentation de la perméabilité membranaire de la

mitochondrie et au relargage de facteurs pro-apoptotiques entraînant ainsi une mort cellulaire programmée (28,29).

Sur le plan morphologique, il a été observé plus de granulations intra-cytoplasmiques dans les ovocytes de femmes âgées. L'origine des granulations intra-cytoplasmiques est à ce jour mal connue. Selon certains auteurs, elles apparaîtraient suite à l'agrégation de protéines cytoplasmiques (30). De Bruin et al. (31) ont mis en évidence une augmentation de la quantité de vacuoles intra-cytoplasmiques, une altération de la structure des mitochondries et du réticulum endoplasmique dans les follicules de patientes âgées. L'avancée en âge est également responsable d'anomalies du fuseau méiotique, visibles en microscope à lumière polarisée(32–34). Dans notre étude, nous avons donc mis en évidence une diminution modérée du taux d'ovocytes normaux avec l'avancée en âge, alors même que les patientes dans notre série sont plutôt jeunes, puisque âgées de moins de 38 ans. En revanche, il n'existait pas de différence significative sur les scores morphologiques AOQI et MOMS qui donnent une évaluation plus globale de la morphologie ovocytaire. Cet effet reste cependant minime et il persiste une grande variation inter-individuelle, comme on peut l'observer sur la figure 3. L'incapacité de certains scores de morphologie ovocytaire à refléter les altérations liées à l'âge a déjà été mis en évidence par certains auteurs (35).

L'AMH reflète le stock en follicules primordiaux d'une patiente. En complément du comptage folliculaire antraux, son dosage permet d'évaluer la réserve ovarienne d'une patiente(11). Son dosage décroît avec l'avancée en âge mais il existe une grande variabilité inter-individuelle.

Un taux d'AMH abaissé serait corrélé à un plus faible nombre d'ovocytes matures mais sans anomalie morphologique observée (36). De même, après fécondation, les ovocytes de femmes

considérées comme faibles répondeuses auraient le même potentiel de naissance vivante(37).

Pour notre part, les scores morphologiques utilisés n'étaient pas dépendant de l'AMH.

La durée de stimulation est corrélée à la croissance folliculaire, la maturation ovocytaire et le développement de l'endomètre. Il a été mis en évidence qu'une stimulation ovarienne prolongée pourrait être péjorative sur les chances de grossesse (38). Ainsi, il est nécessaire de trouver l'équilibre entre une durée de stimulation trop courte associée à un risque d'immaturation ovocytaire et une stimulation prolongée responsable d'ovocytes post-matures et d'une possible mauvaise réceptivité endométriale (39). Cette dernière serait entre-autre associée à une augmentation du risque d'élévation du taux de progestérone en phase folliculaire (40).

Une diminution du pourcentage d'ovocytes matures de morphologie normale avec l'allongement de la durée de stimulation a été constatée dans cette étude. Le score AOQI était plus péjoratif en cas de stimulation prolongée. En revanche, le score MOMS, quant à lui, ne variait significativement pas avec la durée de stimulation. A notre connaissance, il s'agit de la première étude mettant en évidence une corrélation entre la durée de stimulation et les conséquences morphologiques sur les ovocytes matures. La plupart des études s'intéressant à la durée de stimulation se sont portées sur le taux d'ovocytes matures. Concernant l'évaluation de ce dernier paramètre, il ne semble pas exister de durée de stimulation optimale, en raison d'une grande variation inter-individuelle en fonction du besoin de chaque patiente (41). En revanche, Cascales et al. (42) semblent au contraire indiquer un effet plus favorable des longues stimulations sur la ploïdie embryonnaire. En effet, ces auteurs ont observé une relation inverse entre la durée de stimulation et le taux d'embryons aneuploïdes. Concernant les autres caractéristiques de stimulation que sont le type de gonadotrophine utilisée (activité FSH seule ou associée à une activité LH) , le protocole de stimulation (long

agoniste ou antagoniste), le produit de déclenchement (hCG recombinant ou analogues de la GnRH), la dose totale de FSH, et le taux d'œstradiol lors du déclenchement nous n'avons pas observé de variation de la morphologie ovocytaire que ce soit concernant le pourcentage d'ovocytes matures de morphologie normale, le score AOQI et le score MOMS. La majorité des études s'intéressant aux conséquences ovariennes de la stimulation se concentrent sur le nombre d'ovocytes obtenus, le taux de maturité et de fécondation plutôt que la morphologie et la compétence ovocytaire. Gonullu et al. (8) ont étudié les paramètres de la stimulation pouvant influencer la maturité ovocytaire. Ils ont ainsi mis en évidence que le produit de déclenchement, la dose journalière et la dose totale de gonadotrophines influençaient le taux d'ovocytes matures. Cependant, dans cette étude, la morphologie des ovocytes matures n'a pas été étudiée.

Historiquement, les gonadotrophines contenaient à la fois de la FSH et de la LH.

Progressivement se sont développés des produits contenant une plus faible quantité de LH jusqu'à l'apparition de la FSH recombinantes (FSH-r), dépourvue d'action LH. Le rôle de la LH dans la stimulation ovarienne fait encore aujourd'hui l'objet de controverses (43).

Certaines études ont comparé la morphologie d'ovocytes selon le produit de stimulation utilisé. Dans ces études, il n'y avait pas de différence significative en terme de morphologie ovocytaire ni d'issues de tentatives (44,45). Ces résultats sont donc concordants à ceux de notre étude.

Afin d'éviter le pic prématuré de LH, un blocage de la sécrétion de gonadotrophines hypophysaires est réalisé soit par antagoniste de la GnRH, soit par agoniste de la GnRH. Le choix du type d'analogue de la GnRH ne semble pas influencer le taux de grossesse en population générale (46). Dans la littérature, il ne semble pas exister d'altération morphologique en fonction du type de protocole choisis (47), en accord avec les résultats de notre étude.

Selon Otsuki (48), un taux d'œstradiol élevé en fin de stimulation pourrait être responsable d'un nombre plus important de réticulum endoplasmique au sein des ovocytes, avec pour conséquences moins de chances de grossesse.

Nous nous sommes également intéressés à la consommation tabagique des patientes. Le tabagisme est un paramètre modifiable, délétère pour la fertilité en étant notamment responsable d'une perte folliculaire plus rapide et importante (49) et d'altération embryonnaire (50). En terme de morphologie, il a été observé chez la souris soumise à la fumée du tabac, une diminution du diamètre de la zone pellucide, et une modification de l'aspect du premier globule polaire (51). L'analyse du liquide folliculaire de patientes fumeuses a permis de mettre en évidence la présence de nicotine (52), confirmant le passage des toxiques contenus dans la cigarette jusqu'au sein même des follicules ovariens. Il a été observé des anomalies de formation du fuseau méiotique, des lésions chromosomiques, et des erreurs de méioses dans les ovocytes exposés(53), ces altérations seraient secondaires à une augmentation du stress oxydatif (54). Dans notre étude, nous n'avons pas observé d'atteinte de la morphologie ovocytaire ou du taux d'ovocytes normaux chez les patientes fumeuses. Cependant, dans notre étude, seules 11.6% des patientes déclaraient être fumeuses, ce qui pourrait être sous-estimé en raison de la crainte des patientes de ne pas être prises en charge.

Concernant l'IMC des patientes, la plupart des études se sont intéressées aux conséquences de l'obésité sur la qualité ovocytaire. Depalo et al.(55) ont mis en évidence un nombre plus important de granulations intra-cytoplasmiques chez des patientes ayant un IMC >25 kg/m², sans qu'il y ait de conséquence en terme de fécondation ou qualité embryonnaire, ni chance de grossesse. Mais dans cette étude il n'y avait pas de distinction entre les patientes en surpoids (25 kg/m²< IMC<30 kg/m²) et obèses (IMC >30 kg/m²)

La morphologie ovocytaire est un critère d'évaluation non invasif de la qualité ovocytaire mais sa pertinence est, à ce jour, débattue. Pour certains auteurs, la morphologie serait un bon marqueur de la future qualité embryonnaire (56,57) et des issues de tentatives (56,58). Dans notre série, nous nous sommes appuyés sur des scores morphologiques ovocytaires, mais d'autres auteurs se sont intéressés en particulier à certains types d'anomalies.

D'après certains auteurs, la présence de granulations intra-cytoplasmiques serait un marqueur d'immaturation de l'ovocyte (59). Pour Hu et al, il existerait 4 types de granulations et les granulations centrales seraient les plus péjoratives sur les chances de succès de la FIV+ICSI (60). De nombreux autres auteurs avaient déjà observé une corrélation négative entre la présence de granulations centrales et la qualité des embryons issus de ces ovocytes(3,6,61).L'aspect du premier globule polaire a également été étudié. Pour Rienzi et al. (6), la présence d'anomalies du premier globule polaire serait corrélée à un plus faible taux de fécondation mais pas à une moindre qualité embryonnaire. Il a également été observé qu'un large globule polaire était corrélé à un plus faible taux de fécondation (62). A l'inverse, d'autres auteurs n'ont trouvé aucune corrélation entre l'aspect du premier globule polaire et le taux de fécondation, la qualité embryonnaire ou les issues de grossesse(63).D'autres études se sont intéressées à l'épaisseur de la zone pellucide. Les données concernant ce critère morphologique sont à ce jour contradictoires (6,64,65).

Finalement, les connaissances sur l'origine de ces anomalies morphologiques ovocytaires et leur potentiel impact sur la fécondation et le développement embryonnaire restent incertaines. Certains auteurs ont ainsi émis l'hypothèse que ces anomalies seraient de simples variations morphologiques inter-individuelles ou les conséquences de la culture ovocytaire(1,4). L'étude de la morphologie ovocytaire ne semble donc donner qu'une information partielle sur la qualité et de la compétence de l'ovocyte à être fécondé et développer un embryon de bonne qualité. D'autres outils, plus invasifs, d'évaluation de la qualité ovocytaire se sont développés

comme : l'analyse du fuseau méiotique, l'analyse chromosomique du premier globule polaire, l'étude du fluide folliculaire...

La principale limite de notre étude est son caractère rétrospectif. Les tests statistiques utilisés ont permis d'atténuer en partie les biais de ce type d'analyse. Par ailleurs, le caractère monocentrique de notre étude peut constituer un biais d'inclusion ainsi qu'un biais « effet-temps » mais il permet néanmoins d'assurer la standardisation de la prise en charge des patientes analysées.

En conclusion, en dehors de l'allongement de la durée de stimulation et l'âge, les caractéristiques de la patiente et la stimulation ovarienne ne semblent pas faire varier la morphologie ovocytaire. L'impact de l'âge et de la durée de stimulation, bien que significatifs semblent néanmoins minimes et variables d'une patiente à l'autre. Il serait intéressant d'analyser les conséquences cliniques de ces variations morphologiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Rienzi L, Balaban B, Ebner T, Mandelbaum J. The oocyte. Hum Reprod. 1 août 2012;27(suppl 1):i2-21.
2. Keefe D, Kumar M, Kalmbach K. Oocyte competency is the key to embryo potential. Fertil Steril. févr 2015;103(2):317-22.
3. Balaban B, Ata B, Isiklar A, Yakin K, Urman B. Severe cytoplasmic abnormalities of the oocyte decrease cryosurvival and subsequent embryonic development of cryopreserved embryos. Hum Reprod. 15 mai 2008;23(8):1778-85.
4. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, Balaban B, Brison D, Calderon G, Catt J, Conaghan J, et al. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum Reprod. 1 juin 2011;26(6):1270-83.
5. Rienzi L, Vajta G, Ubaldi F. Predictive value of oocyte morphology in human IVF: a systematic review of the literature. Hum Reprod Update. 2011;17(1):34-45.
6. Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, et al. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. Fertil Steril. nov 2008;90(5):1692-700.
7. Ebner T, Moser M, Tews G. Is oocyte morphology prognostic of embryo developmental potential after ICSI? Reprod Biomed Online. janv 2006;12(4):507-12.
8. Gonullu DC, McCulloh DH, Robinson LG, Oh C, Keefe DL. Oocyte stimulation parameters influence the number and proportion of mature oocytes retrieved in assisted reproductive technology cycles. J Assist Reprod Genet. sept 2021;38(9):2283-9.
9. Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, et al. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. Fertil Steril. nov 2008;90(5):1692-700.
10. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. août 2018;110(3):364-79.
11. Asada Y, Tsuki M, Sonohara M, Fukunaga N, Hattori Y, Inoue D, et al. Performance of anti-Müllerian hormone (AMH) levels measured by Beckman Coulter Access AMH assay to predict oocyte yield following controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization. Reprod Med Biol. 8 avr 2019;18(3):273-7.

12. 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. *Fertil Steril.* avr 2016;105(4):1063-1069.e3.
13. Drakeley A. Re: Ultrasound guidance during embryo transfer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. D. M. Teixeira, L. A. Dassunção, C. V. R. Vieira, M. A. P. Barbosa, M. A. Coelho Neto, C. O. Nastri and W. P. Martins. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 139–148. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(2):131-131.
14. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM guideline part I. *Fertil Steril.* janv 2021;115(1):54-61.
15. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, Mulhall JP, Niederberger C, Sandlow JI, Sokol RZ, Spandorfer SD, Tanrikut C, Treadwell JR, Oristaglio JT, Zini A. Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ASRM Guideline PART II. *J Urol.* 2021 Jan;205(1):44-51. doi: 10.1097/JU.0000000000001520. Epub 2020 Dec 9. PMID: 33295258.
16. Fauser BCJM. Patient-tailored ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* oct 2017;108(4):585-91.
17. 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.* janv 2015;103(1):112-8.
18. Griesinger G, Blockeel C, Kahler E, Pexman-Fieth C, Olofsson JI, Driessen S, et al. Dydrogesterone as an oral alternative to vaginal progesterone for IVF luteal phase support: A systematic review and individual participant data meta-analysis. Paffoni A, éditeur. *PLOS ONE.* 4 nov 2020;15(11):e0241044.
19. Schmidt L, Sobotka T, Bentzen JG, Nyboe Andersen A; ESHRE Reproduction and Society Task Force. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. *Hum Reprod Update.* 2012 Jan-Feb;18(1):29-43. doi: 10.1093/humupd/dmr040. Epub 2011 Oct 11. PMID: 21989171..
20. Yan J, Wu K, Tang R, Ding L, Chen ZJ. Effect of maternal age on the outcomes of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET). *Sci China Life Sci.* 1 août 2012;55(8):694-8.
21. Soullier N, Bouyer J, Pouly JL, Guibert J, Rochebrochard E de L. Effect of the woman's age on discontinuation of IVF treatment. *Reprod Biomed Online.* 1 mai 2011;22(5):496-500.
22. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. *The Lancet.* 23 nov 1996;348(9039):1402-6.
23. Nelson SM, Lawlor DA. Predicting Live Birth, Preterm Delivery, and Low Birth Weight in Infants Born from In Vitro Fertilisation: A Prospective Study of 144,018 Treatment Cycles. *PLoS Med.* 4 janv 2011;8(1).
24. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev.* avr 1996;17(2):121-55.
25. Seifer DB, DeJesus V, Hubbard K. Mitochondrial deletions in luteinized granulosa cells as a function of age in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* nov 2002;78(5):1046-8.

26. Keefe DL, Niven-Fairchild T, Powell S, Buradagunta S. Mitochondrial deoxyribonucleic acid deletions in oocytes and reproductive aging in women**Supported by National Institutes of Health K08 HD01099–01, Bethesda, Maryland and by The American Fertility Society-Ortho Research Award from The American Fertility Society, Birmingham, Alabama (D.K.).††Presented at the 41st Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation, Chicago, Illinois, March 22 to 26, 1994. *Fertil Steril.* sept 1995;64(3):577-83.
27. May-Panloup P, Boucret L, Chao de la Barca JM, Desquiret-Dumas V, Ferré-L'Hotellier V, Morinière C, et al. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles. *Hum Reprod Update.* nov 2016;22(6):725-43.
28. Mitochondrial permeability transition is a central coordinating event of apoptosis. *J Exp Med.* 1 sept 1996;184(3):1155-60.
29. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, Peng TI, Jones DP, Wang X. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science.* 1997 Feb 21;275(5303):1129-32. doi: 10.1126/science.275.5303.1129. PMID: 9027314.
30. Weghofer A, Kushnir VA, Darmon SK, Jafri H, Lazzaroni-Tealdi E, Zhang L, et al. Age, body weight and ovarian function affect oocyte size and morphology in non-PCOS patients undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *PLoS ONE.* 24 oct 2019
31. de Bruin JP, Dorland M, Spek ER, Posthuma G, van Haften M, Looman CWN, et al. Age-Related Changes in the Ultrastructure of the Resting Follicle Pool in Human Ovaries1. *Biol Reprod.* 1 févr 2004;70(2):419-24.
32. Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA, Soules MR. Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod Oxf Engl.* oct 1996;11(10):2217-22.
33. Keefe D, Liu L, Wang W, Silva C. Imaging meiotic spindles by polarization light microscopy: principles and applications to IVF. *Reprod Biomed Online.* janv 2003;7(1):24-9.
34. Handyside AH, Montag M, Magli MC, Repping S, Harper J, Schmutzler A, et al. Multiple meiotic errors caused by predivision of chromatids in women of advanced maternal age undergoing in vitro fertilisation. *Eur J Hum Genet.* juill 2012;20(7):742-7.
35. Stensen MH, Tanbo T, Storeng R, Åbyholm T, Fèdorcsak P. Routine morphological scoring systems in assisted reproduction treatment fail to reflect age-related impairment of oocyte and embryo quality. *Reprod Biomed Online.* juill 2010;21(1):118-25.
36. Scantamburlo VM, von Linsingen R, Centa LJR, Dal Toso KF, Scaraboto D, Júnior EA, et al. Association between decreased ovarian reserve and poor oocyte quality. *Obstet Gynecol Sci.* nov 2021;64(6):532-9.
37. Morin SJ, Patounakis G, Juneau CR, Neal SA, Scott RT, Seli E. Diminished ovarian reserve and poor response to stimulation in patients <38 years old: a quantitative but not qualitative reduction in performance. *Hum Reprod.* 1 août 2018;33(8):1489-98.
38. Chuang M, Zapantis A, Taylor M, Jindal SK, Neal-Perry GS, Lieman HJ, et al. Prolonged gonadotropin stimulation is associated with decreased ART success. *J Assist Reprod Genet.* déc 2010;27(12):711-7.
39. Kolibianakis EM, Bourgain C, Papanikolaou EG, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC, et al. Prolongation of follicular phase by delaying hCG administration results in a higher incidence of

- endometrial advancement on the day of oocyte retrieval in GnRH antagonist cycles. *Hum Reprod.* 1 sept 2005;20(9):2453-6.
40. Huang CC, Lien YR, Chen HF, Chen MJ, Shieh CJ, Yao YL, et al. The duration of pre-ovulatory serum progesterone elevation before hCG administration affects the outcome of IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod.* 1 juill 2012;27(7):2036-45.
 41. Martin JR, Mahutte NG, Arici A, Sakkas D. Impact of duration and dose of gonadotrophins on IVF outcomes. *Reprod Biomed Online.* janv 2006;13(5):645-50.
 42. Cascales A, Lledó B, Ortiz JA, Morales R, Ten J, Llácer J, et al. Effect of ovarian stimulation on embryo aneuploidy and mosaicism rate. *Syst Biol Reprod Med.* 2 janv 2021;67(1):42-9.
 43. De Placido G, Alviggi C, Perino A, Strina I, Lisi F, Fasolino A, et al. Recombinant human LH supplementation versus recombinant human FSH (rFSH) step-up protocol during controlled ovarian stimulation in normogonadotrophic women with initial inadequate ovarian response to rFSH. A multicentre, prospective, randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 1 févr 2005;20(2):390-6.
 44. Ng EHY. HMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Hum Reprod.* 1 févr 2001;16(2):319-25.
 45. Rashidi BH, Sarvi F, Tehrani ES, Zayeri F, Movahedin M, Khanafshar N. The effect of HMG and recombinant human FSH on oocyte quality: a randomized single-blind clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* juin 2005;120(2):190-4.
 46. Fauser BCJM, Devroey P. Why is the clinical acceptance of gonadotropin-releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization so slow? *Fertil Steril.* juin 2005;83(6):1607-11.
 47. Cota AMM, Oliveira JBA, Petersen CG, Mauri AL, Massaro FC, Silva LF, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in assisted reproduction cycles: oocyte morphology. *Reprod Biol Endocrinol.* déc 2012;10(1):33.
 48. Otsuki J. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod.* 1 juill 2004;19(7):1591-7.
 49. Gannon AM, Stämpfli MR, Foster WG. Cigarette Smoke Exposure Leads to Follicle Loss via an Alternative Ovarian Cell Death Pathway in a Mouse Model. *Toxicol Sci.* janv 2012;125(1):274-84.
 50. Huang J, Okuka M, McLean M, Keefe DL, Liu L. Effects of cigarette smoke on fertilization and embryo development in vivo. *Fertil Steril.* oct 2009;92(4):1456-65.
 51. Mai Z, Lei M, Yu B, Du H, Liu J. The Effects of Cigarette Smoke Extract on Ovulation, Oocyte Morphology and Ovarian Gene Expression in Mice. *PLoS ONE.* 28 avr 2014;9(4):e95945.
 52. Weiss T, Eckert A. Cotinine levels in follicular fluid and serum of IVF patients: effect on granulosa-luteal cell function in vitro. *Hum Reprod.* juill 1989;4(5):482-5.
 53. Zenzes M, Bielecki R. Nicotine-induced Disturbances of Meiotic Maturation in Cultured Mouse Oocytes: Alterations of Spindle Integrity and Chromosome Alignment. *Tob Induc Dis.* 2004;2(3):151.
 54. Guimarães RM, Ribeiro LM, Sasaki LP, Nakagawa HM, Cabral IO. Oocyte Morphology and Reproductive Outcomes - Case Report and Literature Review. *JBRA Assist Reprod.* 2021;25(3):500-7.

55. Depalo R, Garruti G, Totaro I, Panzarino M, Vacca MP, Giorgino F, et al. Oocyte morphological abnormalities in overweight women undergoing in vitro fertilization cycles. *Gynecol Endocrinol.* 1 nov 2011;27(11):880-4.
56. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinou S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* août 1999;72(2):240-4.
57. Lazzaroni-Tealdi E, Barad DH, Albertini DF, Yu Y, Kushnir VA, Russell H, et al. Oocyte Scoring Enhances Embryo-Scoring in Predicting Pregnancy Chances with IVF Where It Counts Most. *PLoS ONE.* 2 déc 2015 10(12).
58. Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1 juin 1997;12(6):1267-70.
59. Kahraman S. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1 nov 2000;15(11):2390-3.
60. Hu J, Molinari E, Darmon SK, Zhang L, Patrizio P, Barad DH, et al. Predictive value of cytoplasmic granulation patterns during in vitro fertilization in metaphase II oocytes: part II, donor oocyte cycles. *Fertil Steril.* nov 2021;116(5):1330-40.
61. Ebner T, Moser M, Shebl O, Sommergruber M, Yaman C, Tews G. Blood clots in the cumulus-oocyte complex predict poor oocyte quality and post-fertilization development. *Reprod Biomed Online.* janv 2008;16(6):801-7.
62. Navarro PA, de Araújo MM, de Araújo CM, Rocha M, dos Reis R, Martins W. Relationship between first polar body morphology before intracytoplasmic sperm injection and fertilization rate, cleavage rate, and embryo quality. *Int J Gynecol Obstet.* 2009;104(3):226-9.
63. Ciotti PM, Notarangelo L, Morselli-Labate AM, Felletti V, Porcu E, Venturoli S. First polar body morphology before ICSI is not related to embryo quality or pregnancy rate. *Hum Reprod.* 1 oct 2004;19(10):2334-9.
64. Esfandiari N, Burjaq H, Gotlieb L, Casper R. Brown oocytes: Implications for assisted reproductive technology. *Fertil Steril.* nov 2006;86(5):1522-5.
65. Raju GR, Prakash G, Krishna K, Madan K. Meiotic spindle and zona pellucida characteristics as predictors of embryonic development: a preliminary study using PoIScope imaging. *Reprod Biomed Online.* janv 2007;14(2):166-74.

AUTEURE : Nom : DELPIERRE

Prénom : Joanie

Date de soutenance : 11 octobre 2022

Titre de la thèse : Influence de l'AMH et des modalités de stimulation ovarienne sur la morphologie ovocytaire en ICSI : analyse d'une cohorte de plus de 3000 ovocytes issus de patientes non obèses et sans antécédent gynécologique.

Thèse - Médecine - Lille 2022

Cadre de classement : *Médecine de la reproduction*

DES + FST/option: *Gynécologie Médicale, FST Médecine et biologie de la reproduction.*

Mots-clés : Morphologie ovocytaire, qualité ovocytaire, stimulation ovarienne, AMH.

Résumé : Contexte : La stimulation ovarienne au cours d'une tentative d'ICSI a pour objectif le recrutement de plusieurs follicules. Cette procédure pourrait être responsable d'une altération de la qualité ovocytaire. L'évaluation de cette qualité ovocytaire est difficile, la morphologie ovocytaire pourrait en être un marqueur indirect, mais non invasif. Nous avons souhaité évaluer chez des patientes sans autre facteur de risque présumé de mauvaise qualité ovocytaire, l'influence de la stimulation ovarienne et de la réserve ovarienne sur la morphologie ovocytaire.

Méthode : Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique réalisée entre janvier 2016 et décembre 2019 chez les couples pris en charge en fécondation in vitro avec micro-injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde au sein du CHU de Lille. Les critères d'exclusion étaient : Les patientes en anovulation, les patientes obèses (IMC \geq 30), la présence d'une anomalie de caryotype chez au moins un membre du couple, les tentatives d'ICSI réalisées à partir de spermatozoïdes extraits chirurgicalement, les dons de gamète, les cycles d'ICSI réalisés pour pauci-fécondation ou absence de fécondation en FIV-c, les tentatives de FIV-ICSI en cycle semi-naturel ainsi que les patientes ayant une endométriose pelvienne, les patientes âgées de 38 ans ou plus. Le critère de jugement principal était la morphologie ovocytaire évaluée par le pourcentage d'ovocytes normaux et deux scores morphologiques spécifiques: le score AOQI et le score MOMS. L'évaluation morphologique des ovocytes était systématiquement réalisée après décoronisation pour chaque tentative d'ICSI.

Résultats : Nous avons étudié 472 tentatives obtenues auprès de 341 patientes, ce qui a permis l'analyse de 3590 ovocytes. L'âge et la durée de stimulation étaient significativement corrélés au taux d'ovocytes normaux. Le score AOQI était significativement plus péjoratif avec l'allongement de la durée de stimulation. L'AMH, le tabac, le type de gonadotrophine, le protocole de stimulation, n'étaient pas associés à des anomalies de la morphologie ovocytaire.

Conclusion : Dans cette étude, en dehors de l'âge de la femme et de la durée de stimulation, la réserve ovarienne et les caractéristiques de la stimulation ovarienne ne semblent pas influencer la morphologie ovocytaire. Ainsi, la morphologie ovocytaire serait un outil insuffisant d'évaluation de la qualité ovocytaire.

Composition du Jury :

Président : Pr SOPHIE CATTEAU-JONARD

**Assesseurs : Dr Anne-Laure BARBOTIN
Dr Camille ROBIN**

Directeur de thèse : Dr Geoffroy ROBIN