



UNIVERSITÉ DE LILLE  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année : 2024

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Le taux de progestérone en fin de phase folliculaire a-t-il un effet négatif sur la survenue d'une grossesse évolutive après insémination intra-utérine ? Analyse rétrospective de 1446 cycles.**

Présentée et soutenue publiquement le 4 juin 2024 à 16 heures  
au Pôle Formation

**par Anaïs HUGUET**

---

**JURY**

**Présidente :**

**Madame le Professeur Sophie CATTEAU-JONARD**

**Assesseur :**

**Madame le Docteur Christine DECANter**

**Directeurs de thèse :**

**Madame le Docteur Virginie SIMON**

**Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN**

---



UNIVERSITÉ DE LILLE  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année : 2024

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Do late follicular phase progesterone levels have a negative effect  
on ongoing pregnancies in intrauterine insemination ?  
Retrospective analysis of 1446 cycles.**

Présentée et soutenue publiquement le 4 juin 2024 à 16 heures  
au Pôle Formation

**par Anaïs HUGUET**

---

**JURY**

**Présidente :**

**Madame le Professeur Sophie CATTEAU-JONARD**

**Assesseur :**

**Madame le Docteur Christine DECANter**

**Directeurs de thèse :**

**Madame le Docteur Virginie SIMON**

**Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN**

---

## **AVERTISSEMENT**

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

## TABLE

|                                                  |               |
|--------------------------------------------------|---------------|
| <b>LIST OF ACRONYMS .....</b>                    | <b>2</b>      |
| <b>ABSTRACT .....</b>                            | <b>3</b>      |
| <b>BACKGROUND.....</b>                           | <b>4</b>      |
| <b>MATERIAL AND METHODS .....</b>                | <b>6</b>      |
| Study population .....                           | 6             |
| Infertility exploration assessment .....         | 6             |
| Controlled ovarian stimulation protocol .....    | 7             |
| Hormonal assays and ultrasound examination ..... | 8             |
| Sperm preparation .....                          | 9             |
| IUI outcomes.....                                | 10            |
| Statistical analysis.....                        | 10            |
| <b>RESULTS .....</b>                             | <b>12</b>     |
| Demographic data.....                            | 12            |
| IUI with partner's sperm (a-IUI) .....           | 14            |
| IUI with donor's sperm (d-IUI) .....             | 16            |
| <b>DISCUSSION.....</b>                           | <b>18</b>     |
| <b>CONCLUSION.....</b>                           | <b>24</b>     |
| <br><b>RESUME (fr) .....</b>                     | <br><b>25</b> |
| <b>INTRODUCTION (fr).....</b>                    | <b>26</b>     |
| <b>DISCUSSION (fr).....</b>                      | <b>29</b>     |
| <b>CONCLUSION (fr).....</b>                      | <b>35</b>     |
| <br><b>ANNEXE.....</b>                           | <br><b>36</b> |
| <br><b>REFERENCES .....</b>                      | <br><b>37</b> |

## LIST OF ACRONYMS

|              |                                                                                   |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ABM</b>   | French Biomedicine Agency (Agence de la biomédecine)                              |
| <b>AFC</b>   | Antral Follicle Count                                                             |
| <b>AMH</b>   | Anti Mullerian Hormone                                                            |
| <b>ART</b>   | Assisted Reproductive Techniques                                                  |
| <b>BMI</b>   | Body Mass Index                                                                   |
| <b>CECOS</b> | Sperm cryobank (Centre d'Etude et de Conservation des Oeufs et du Sperme humains) |
| <b>E2</b>    | Estradiol                                                                         |
| <b>FSH</b>   | Follicle Stimulating Hormone                                                      |
| <b>GnRH</b>  | Gonadotropin Releasing Hormone                                                    |
| <b>HCG</b>   | Human Chorionic Gonadotropin                                                      |
| <b>HMG</b>   | Human Menopausal Gonadotropin                                                     |
| <b>IUI</b>   | Intrauterine Insemination                                                         |
| <b>a-IUI</b> | Autologous Intrauterine Insemination                                              |
| <b>d-IUI</b> | Donor Intrauterine Insemination                                                   |
| <b>IVF</b>   | In Vitro Fertilization                                                            |
| <b>LBR</b>   | Live Birth Rate                                                                   |
| <b>LH</b>    | Luteinizing Hormone                                                               |
| <b>OPR</b>   | Ongoing Pregnancy Rate                                                            |
| <b>WHO</b>   | World Health Organization                                                         |

## ABSTRACT

**Background** : In IVF, premature progesterone rise is associated with a reduction of pregnancy rates, but the precise threshold is a matter of debate. A few studies have also demonstrated a negative impact of elevated progesterone levels after IUI. However, the observed thresholds appear to be lower than those reported in IVF. This study aimed to examine the relationship between pre-ovulatory progesterone levels and the ongoing pregnancy rate following IUI. Each group (autologous IUI and donor IUI) was analysed separately.

**Methods** : Single-centre retrospective study conducted in Lille University Hospital between January 2022 and December 2023. Data were collected prospectively. Patients underwent ovarian stimulation with gonadotropins +/- GnRH antagonists, monitored by estradiol, LH and progesterone levels. Primary endpoint was the occurrence of an ongoing pregnancy at 3 months.

**Results** : A total of 1,446 IUI cycles were analysed, including 1,049 a-IUI cycles and 397 d-IUI cycles. No significant association was found between progesterone levels at the end of the follicular phase and the occurrence of a pregnancy, even after adjustment for potential confounders. Consequently, a ROC curve or threshold could not be established.

**Conclusion** : We have not found a threshold level of progesterone that would be detrimental to the occurrence of a pregnancy after IUI. However, as with IVF cycles, we use a threshold of 1.8 ng/ml. Below these levels, variations in progesterone have no effect on the ongoing pregnancy rate. Therefore, it seems important to measure serum progesterone concentration prior to trigger ovulation for IUI.

## BACKGROUND

Intrauterine insemination (IUI) is one of the first line of assisted reproductive techniques (ART). According to the latest report from the French Biomedicine Agency (ABM), more than 48,000 IUI cycles were performed in France in 2021, resulting in over 5,900 live births. IUI represent 29% of all attempts of ART. <sup>[1]</sup>

Donor sperm use has become widespread in reproductive medicine with an increasing number of countries allowing ART to single women (SW) and women in lesbian relationships (WLR) <sup>[2]</sup>. In France, the 2021 revision of the bioethics laws has recently extended ART care to these women.

A good prognosis is expected among SW and WLR since there is no diagnosis of infertility, thus IUI with donor sperm represent the most appropriate technique. Indeed, literature data shows a pregnancy rate following d-IUI ranging from 17.2 to 25.8% <sup>[3–5]</sup>, while the pregnancy rate after IUI performed with the partner's sperm (autologous IUI, a-IUI) ranges between 11.7 and 14.8% <sup>[6,7]</sup>.

Several parameters influence the success of intrauterine insemination : the patient's age, BMI and ovarian reserve, the aetiology and duration of infertility, sperm parameters, ovarian stimulation protocol and the number of pre-ovulatory follicles <sup>[6,8–10]</sup>. Cardey *et al.* showed that after d-IUI, only the number of motile spermatozoa inseminated seems to influence both pregnancy and live-birth rates <sup>[11]</sup>.

In in-vitro fertilization (IVF), progesterone rise at the end of the follicular phase has a negative effect on live-birth rates <sup>[12,13]</sup>. In a meta-analysis, Venetis *et al.* showed that progesterone elevation was significantly associated with a decreased probability of pregnancy after fresh IVF cycle <sup>[14]</sup>. Establishing an 'absolute' progesterone threshold is challenging due to the multitude of factors that should be

considered, including the assay method, the protocol employed, and the intensity of ovarian response <sup>[12,15]</sup>.

Most studies support that progesterone rise reduces pregnancy rates by advancing the development of the secretory endometrium. The resulting premature opening of the window of implantation leads to a significant reduction in implantation rates <sup>[16,17]</sup>. Progesterone rise during stimulation for IVF is secondary to multifollicular development and correlates with gonadotropin dose, estradiol on the day of HCG administration and the number of oocytes retrieved <sup>[13,15]</sup>.

There has been extensive research on the relationship between elevated progesterone levels and pregnancy rates in IVF cycles, but there is limited literature for IUI. It could suggest that progesterone elevation is also detrimental on IUI outcomes. A few studies found reduced pregnancy rates when serum progesterone levels were elevated on the day of HCG administration, but at lower thresholds than those studied in IVF, ranging from 1 to 1.5 ng/mL depending on the series <sup>[18–20]</sup>.

In this study, we analysed the relationship between pre-ovulatory progesterone serum levels and the ongoing pregnancy rate after intrauterine insemination. In order to optimize the cost-effectiveness of IUI, we aimed to identify a progesterone threshold, above which ongoing pregnancy rate would be reduced. Given the differences in pregnancy rates between a-IUI and d-IUI, we decided to separate the statistical analyses by considering each group independently.

## MATERIAL AND METHODS

### Study population

This was a monocentric retrospective study, performed in the Reproductive Medicine Department of Lille University Hospital. Data were prospectively collected in the French registry JFIV® software (version 2.3, RD Services, Langlade, France) from January 2022 to December 2023.

A total of 663 patients undergoing 1549 IUI were included. 369 deprogrammed cycles where insemination was not performed were not included in this study. These were cycles where the ovulatory peak had already occurred spontaneously (LH > 50 IU/L and/or serum progesterone > 3 ng/mL), cycles cancelled for hyper-response ( $\geq 2$  follicles without the couple's agreement or unfavourable advice from the medical team), hypo-response (failed stimulation) or in the event of positive sperm culture.

All patients had given prior consent for the use of their clinical, hormonal and ultrasound record. As this study was retrospective and without intervention, the opinion of the Ethics Committee on the study was not required. On December 16, 2019, the Institutional Review Board of the Lille University Hospital gave unrestricted approval for the anonymous use of all patients' clinical, hormonal and ultrasound records (reference DEC20150715-0002).

### Infertility exploration assessment

The infertility assessment included for all patients: a query about the couple's histories and lifestyles, calculation of body mass index, hormone assays (FSH, LH, E2, AMH [Beckman Coulter AMH-EIA immunoenzyme kit (Villepinte, France)])

associated with an ultrasound examination for evaluation of ovarian reserve (antral follicles count) at the beginning of the follicular phase of the menstrual cycle (between D2 and D5 of the cycle). This workup could be supplemented by other assays depending on the clinical context (androgen or prolactin, thyroid function, metabolic profile, etc.). Hysterosalpingography was also performed to assess tubal permeability. The male evaluation consisted of at least a spermogram with spermocytogram, sperm selection test and semen culture.

For autologous inseminations, we classified the indications into 4 groups: unexplained, moderate sperm alterations, sexual dysfunctions, and ovulatory disorders (after failure of ovulation induction coupled combined with scheduled intercourse). Moderate sperm alterations were defined as a moderate alteration in semen parameters on the spermogram, but with a sperm selection test compatible with IUI practice, with an inseminated motile sperm count greater than 1 million.

Sperm donation was indicated for heterosexual couples in case of azoospermia, infertility of male origin after failure of other treatments (intraconjugal ART), or risk of transmission of a genetic abnormality; and for women in lesbian relationships and single women [2].

### **Controlled ovarian stimulation protocol**

Patients were given daily subcutaneous injections of gonadotropins (recombinant FSH, HMG, or FSH and LH combination) starting on the second day of their cycle. The starting dose, usually 25 to 75 IU per day, was selected according to the age, BMI, antral follicle count and AMH. Ultrasound and hormone assays (estradiol, LH and progesterone) were performed between day 8 and day 10, and then repeated until the follicle reached 16 to 20 mm with a concordant hormone

biology (estradiol > 150 pg/mL per follicle) and a minimum endometrial thickness of 6 mm.

A GnRH antagonist was occasionally administered to prevent premature ovulation over the weekend, thereby delaying insemination until the following Monday <sup>[21]</sup>.

Ovulation was then triggered by subcutaneous injection of 250 µg of recombinant hCG (Ovitrelle®, Choriogonadotropin alpha, Merck Serono, Lyon, France) and IUI was performed 36 hours later, using a soft catheter (Elliocath®, Ellios BioTek, Paris, France). In case of spontaneous LH surge, IUI was performed 24 hours later.

Patients received luteal phase support, initiated from the day of insemination. This treatment consisted in the administration of oral dydrogesterone (10 mg, twice a day) until the pregnancy test was performed. If positive, dydrogesterone was continued until the first ultrasound was performed around 7-8 weeks of amenorrhea (WA) and showed a fetal heart activity.

## **Hormonal assays and ultrasound examination**

For each control during ovarian stimulation, biological assessment included estradiol, LH and progesterone (chimiluminescence, Abbott automate architect). The progesterone assay had an analytical sensitivity of 0.1 ng/mL, with a coefficient of variation of 4.7-5.5% (intra-assay) and 4.7-6.2% (inter-assay) for a mean concentration of 0.8 ng/mL. The limit of quantification for progesterone assay was 0.2 ng/mL.

In our clinical practice, cycles are cancelled if the serum progesterone level in the late follicular phase is above 1.8 ng/mL (no IUI). This threshold corresponds to

that used in IVF+/-ICSI in our ART center (threshold determined with the same progesterone assay technique and methodology as Bosch *et al.* <sup>[15]</sup>).

The ultrasound examination was performed with a Voluson E8 Expert ultrasound machine with an endovaginal probe at 5-9 MHz (General Electric Systems, Velizy, France), according to the “real-time two-dimensional” procedure <sup>[22]</sup>. Experienced sonographers performed all the ultrasound examinations.

## Sperm preparation

In the case of autologous insemination (a-IUI), sperm collection was carried out by the partner in our reproductive biology laboratory, by masturbation, after an abstinence period of 2 to 5 days.

After liquefaction at room temperature for 30 minutes, the volume of ejaculate was determined by weighing, then the semen sample was transferred using a sterile 5 mL pipette into a sterile 15 mL tube (Falcon ®). Sperm selection for IUI was then performed using a 3-layer density gradient technique (Puresperm ®). 1.5 mL of sperm was deposited on the gradient, then centrifuged for 20 minutes at 300 G. Then, supernatant was discarded, and the pellet was rinsed with 1.5 mL Fertilcult ® and centrifuged for a further 10 minutes at 300 G. The pellet was then resuspended to a 300 µL volume of sperm preparation and transferred in a sterile 1.5 mL Eppendorf tube.

Sperm count and progressive motility of the preparation were assessed according to the 2021 WHO guidelines. <sup>[23]</sup> The number of inseminated motile spermatozoa was calculated using the following formula: concentration/mL x 0.3 x % (progressive motile spermatozoa).

In the case of an insemination with donor sperm (d-IUI), straws from the sperm cryobank (CECOS) were delivered to the ART laboratory by the patient on the day before or the day of insemination and stored in nitrogen at  $-196^{\circ}\text{C}$  until the sperm was prepared. The straws were thawed at room temperature, the processing protocol was then the same as for fresh semen collection, the only difference being that it involved centrifugation on a 2-layer Puresperm<sup>®</sup> gradient (90, 50).

## IUI outcomes

A pregnancy test was performed by assaying plasma quantitative hCG sixteen days after IUI. A beginning pregnancy was defined by hCG level higher than 100 UI/L. A clinical pregnancy was defined by the presence of a gestational sac on transvaginal ultrasound.

Ongoing pregnancy was defined by an intrauterine pregnancy which progressed beyond the first trimester. Early spontaneous miscarriage was defined by spontaneous premature termination of intrauterine pregnancy before 12 weeks of pregnancy. Ectopic pregnancy was defined by abnormal hCG rising, associated with an ultrasound image of a latero-uterine mass and/or endometrial biopsy showing no trophoblastic cells.

## Statistical analysis

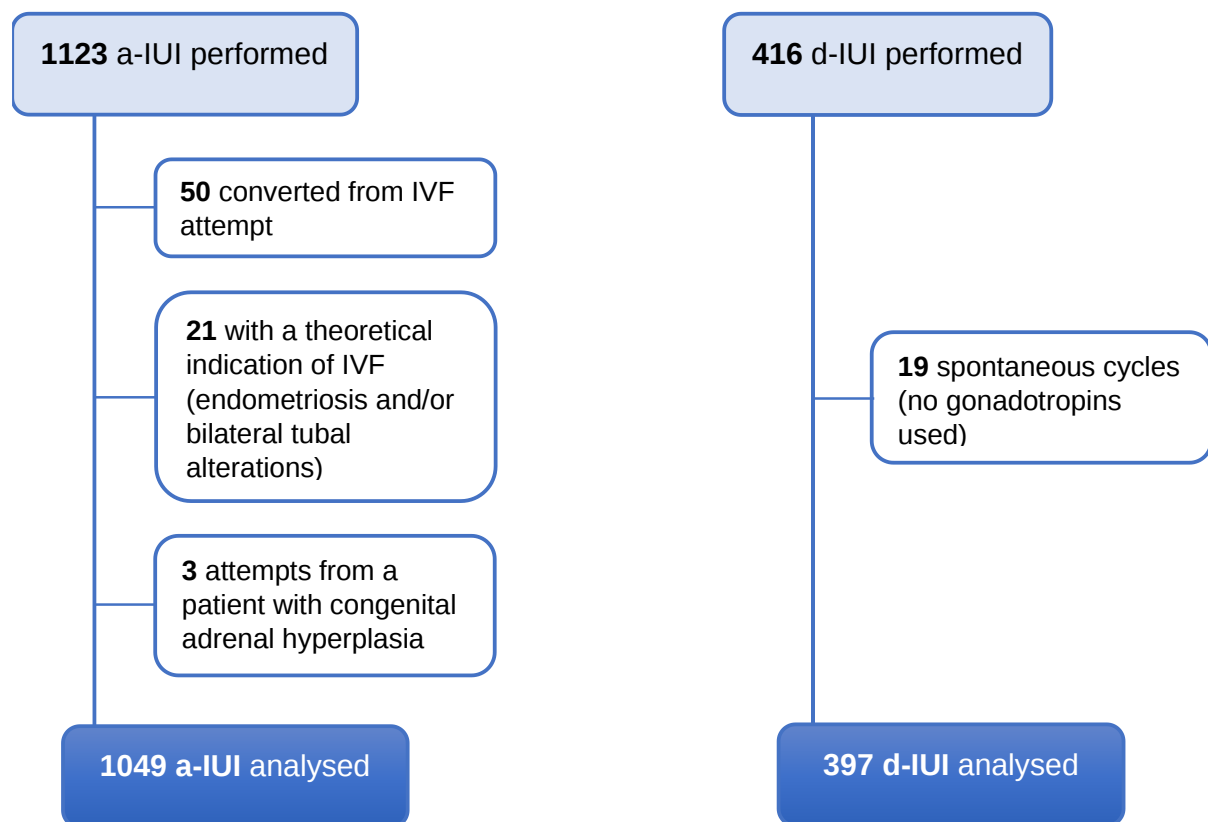
Categorical variables are expressed as frequency and percentage and quantitative variables as means  $\pm$  standard deviation in case of normal distribution or medians (interquartile range, IQR) otherwise. Normality of distributions was checked graphically and using the Shapiro-Wilk test. Impact of progesterone level on ongoing pregnancy at 3 months was evaluated using a generalized linear regression model (binomial distribution, logit link function), without and with adjustment on predefined

confounding factors (age, BMI, smoker, AMH, number of follicles >15, estradiol level, gonadotrophin type, stimulation duration, initial gonadotrophin dose, antagonist use). Odds ratios and their 95% confidence intervals were derived from models as effect sizes and were expressed per one standard deviation increase. Heterogeneity of the association was tested by adding an interaction term to the model. In case of significant interaction, the association was evaluated in subgroups. Impact of progesterone level on clinical pregnancy and on miscarriage were evaluated using the same method described for ongoing pregnancy. No statistical comparisons were done for categorical variables with frequency <8. Statistical testing was conducted at the two-tailed  $\alpha$ -level of 0.05. Data were analysed using the SAS software version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC).

## RESULTS

### Demographic data

The patients' and cycles' characteristics are detailed in **Table 1**. We analysed 1446 IUI cycles, either with partner's or a donor's sperm, that met the inclusion criteria (**Figure 1**).



**Figure 1.** Flow chart

**Table 1. Baseline characteristics**

Values are expressed as mean  $\pm$  SD, or as number (percentage). The baseline characteristics of the groups were not compared as the analysis was conducted separately.

|                                            | a-IUI<br>(n = 1049) | d-IUI<br>(n = 397) |
|--------------------------------------------|---------------------|--------------------|
| Women's characteristics                    |                     |                    |
| Age (years)                                | 33,4 ± 5,1          | 34,3 ± 4,8         |
| BMI (kg/m²)                                | 24,9 ± 5,3          | 27 ± 5,7           |
| AMH (pmol/L)                               | 26,3 ± 25,2         | 21,6 ± 16,3        |
| Active smoking                             | 126 (12,0)          | 68 (17,1)          |
| Infertility cause                          |                     |                    |
| Unexplained                                | 785 (74,8)          | NA**               |
| Sperm alterations                          | 98 (9,3)            |                    |
| Ovulatory disorders*                       | 161 (15,3)          |                    |
| Sexual dysfunction                         | 5 (0,5)             |                    |
| Rank of IUI attempt                        |                     |                    |
| 1 <sup>st</sup>                            | 396 (37.8)          | 150 (37.8)         |
| 2 <sup>nd</sup>                            | 290 (27.6)          | 104 (26.2)         |
| 3 <sup>rd</sup>                            | 208 (19.8)          | 72 (18.1)          |
| 4 <sup>th</sup>                            | 93 (8.9)            | 42 (10.6)          |
| 5 <sup>th</sup>                            | 37 (3.5)            | 22 (5.5)           |
| 6 <sup>th</sup>                            | 21 (2.0)            | 6 (1.5)            |
| ≥ 7 <sup>th</sup>                          | 4 (0.4)             | 1 (0.3)            |
| Ovarian stimulation characteristics        |                     |                    |
| Recombinant FSH                            | 901 (85,9)          | 344 (86,6)         |
| HMG or recombinant FSH + LH                | 148 (14,1)          | 53 (13,4)          |
| Total FSH dose (IU)                        | 621 ± 531           | 622 ± 533          |
| Duration of stimulation (days)             | 10.4 ± 3,8          | 10.3 ± 3,2         |
| GnRH antagonist use                        | 264 (25,2)          | 76 (19,1)          |
| Number of follicles > 15 mm                |                     |                    |
| 1                                          | 875 (83,4)          | 361 (90,9)         |
| 2                                          | 155 (14,8)          | 34 (8,6)           |
| 3                                          | 18 (1,7)            | 1 (0,3)            |
| 4                                          | 1 (0,1)             | 1 (0,3)            |
| Pre-ovulatory E2 level (pg/mL)             | 257,2 ± 148,1       | 221,9 ± 111,7      |
| Type of ovulation triggering               |                     |                    |
| Recombinant HCG                            | 954 (90,9)          | 354 (89,2)         |
| Spontaneous LH surge                       | 70 (6,7)            | 28 (7,1)           |
| Spontagenous LH surge plus recombinant HCG | 25 (2,4)            | 15 (3,8)           |

\*: after failure of ovulation inductions combined with scheduled intercourse.

\*\*NA: not applicable

## IUI with partner's sperm (a-IUI)

We included 491 couples, undergoing 1049 IUI cycles. 131 cycles resulted in an ongoing pregnancy (including 4 twin-pregnancies), giving an ongoing pregnancy rate of 12,5% per cycle.

The mean ( $\pm$  standard deviation) of serum progesterone at the end of the follicular phase was  $0,3 \pm 0,2$  ng/mL (range 0,1-1,5 ng/mL).

**Table 2.** Influence of progesterone levels on the outcomes after a-IUI

Progesterone values are expressed in median (IQR). OR are expressed with their 95% CI.

\*NA: Not applicable, due to insufficient events to adjust these variables

| Cycles with                   |               | Progesterone level (ng/mL) | OR                   | P-value | Adjusted OR         |
|-------------------------------|---------------|----------------------------|----------------------|---------|---------------------|
| Ongoing pregnancy             | Yes (n = 131) | 0,20 (0,20-0,30)           | 0,82<br>[0,65 -1,03] | 0,09    | 0,81<br>[0,63-1,03] |
|                               | No (n = 918)  | 0,22 (0,20-0,34)           |                      |         |                     |
| Clinical pregnancy            | Yes (n = 176) | 0,21 (0,20-0,31)           | 0,98<br>[0,82-1,15]  | 0,78    | 0,96<br>[0,80-1,15] |
|                               | No (n = 873)  | 0,22 (0,20-0,34)           |                      |         |                     |
| Spontaneous early miscarriage | Yes (n = 35)  | 0,24 (0,20-0,34)           | 1,15<br>[0,87-1,53]  | 0,31    | NA*                 |
|                               | No (n = 1014) | 0,22 (0,20-0,34)           |                      |         |                     |

The continued decrease in pregnancy rate appears to be associated with increasing progesterone levels, but this trend was not statistically significant (OR = 0,82, 95% CI [0,65 ; 1,03], P = 0,09). As the impact of progesterone was not significant, we did not attempt to establish a ROC curve or threshold.

After adjusting for confounding factors, this relationship remained non-significant (adjusted OR = 0,81, 95% CI [0,63 ; 1,03], P = 0,09).

The analysis of the different sub-groups did not reveal any significant interaction in the relationship between progesterone levels and the occurrence of a pregnancy (**Table 3**).

No significant association was found between progesterone levels and the occurrence of a clinical pregnancy or an early miscarriage, with OR close to 1, suggesting the absence of an effect (**Table 2**). Adjusted OR for clinical pregnancy was 0,96 (95% CI [0,80 ; 1,15], P = 0,66).

**Table 3.** Analysis in sub-groups (a-IUI)

| Sub-groups                                                     | Result of interaction test |
|----------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Women's age                                                    | P = 0,82                   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )                                       | P = 0,81                   |
| Active smoking                                                 | P = 0,35                   |
| Number of follicles > 15 mm                                    | P = 0,80                   |
| Estradiol level (pg/mL)                                        | P = 0,67                   |
| Gonadotrophin type                                             |                            |
| • Recombinant FSH (85,9%)                                      | P = 0,09                   |
| • FSH with LH activity (menotropin or rec FSH + rec LH, 14,9%) |                            |
| Duration of stimulation (days)                                 | P = 0,31                   |
| Initial gonadotrophin dose (UI)                                | P = 0,94                   |
| Antagonist use                                                 | P = 0,49                   |

## IUI with donor's sperm (d-IUI)

We included 172 women, undergoing 397 IUI cycles. 87 cycles resulted in an ongoing pregnancy (including 2 twin-pregnancies), giving an ongoing pregnancy rate of 21,9% per cycle.

The mean ( $\pm$  standard deviation) of serum progesterone at the end of the follicular phase was  $0,3 \pm 0,2$  ng/mL (range 0,1-1,9 ng/mL).

**Table 4.** Influence of progesterone levels on the outcomes after d-IUI

Progesterone values are expressed in median (IQR). OR are expressed with their 95% CI.

\*NA: Not applicable, due to insufficient events for statistical analysis

| Cycles with                   |              | Progesterone level (ng/mL) | OR                  | P-value | Adjusted OR         |
|-------------------------------|--------------|----------------------------|---------------------|---------|---------------------|
| Ongoing pregnancy             | Yes (n = 87) | 0,22 (0,20-0,33)           | 0,99<br>[0,77-1,29] | 0,99    | 0,81<br>[0,63-1,03] |
|                               | No (n = 310) | 0,21 (0,20-0,30)           |                     |         |                     |
| Clinical pregnancy            | Yes (n = 97) | 0,21 (0,20-0,32)           | 1,00<br>[0,78-1,28] | 0,97    | 0,96<br>[0,80-1,15] |
|                               | No (n = 300) | 0,21 (0,20-0,30)           |                     |         |                     |
| Spontaneous early miscarriage | Yes (n = 7)  | 0,29 (0,20-0,37)           | NA*                 | NA*     | NA*                 |
|                               | No (n = 390) | 0,21 (0,20-0,31)           |                     |         |                     |

After d-IUI, there was no significant association between pre-ovulatory progesterone levels and occurrence of an ongoing pregnancy (**Table 4**). As with a-IUI, no threshold or ROC curve were established. Adjustment for confounders also showed no significant association (adjusted OR = 0,96, 95% CI [0,70 ; 1,32], P = 0,99).

**Table 5.** Analysis in sub-groups (d-IUI)

| Sub-groups                                              | Result of interaction test |
|---------------------------------------------------------|----------------------------|
| Women's age                                             | P = 0,53                   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )                                | P = 0,87                   |
| Active smoking                                          | P = 0,22                   |
| Number of follicles > 15 mm                             | P = 0,28                   |
| Estradiol level (pg/mL)                                 | P = 0,16                   |
| Gonadotrophin type                                      |                            |
| • Recombinant FSH (85,9%)                               | P = 0,92                   |
| • FSH with LH activity (HMG or rec FSH + rec LH, 14,9%) |                            |
| Duration of stimulation (days)                          | P = 0,04                   |
| Initial gonadotrophin dose (UI)                         | P = 0,48                   |
| Antagonist use                                          | P = 0,45                   |

The duration of stimulation was the only parameter which significantly influenced the relationship between progesterone levels and the occurrence of an ongoing pregnancy (**Table 5**). To further analyze this relationship, we categorized this group using the median value of the stimulation duration, but we found no statistical significance. However, it seems that the effect of progesterone is less detrimental with longer stimulation than with shorter stimulation (**Table 6**).

**Table 6.** Influence of the duration of stimulation on ongoing pregnancy rate after d-IUI

|                       | OR   | IC 95 %   | P    |
|-----------------------|------|-----------|------|
| Stimulation < 10 days | 0,78 | 0,50-1,21 | 0,27 |
| Stimulation ≥ 10 days | 1,41 | 0,94-2,13 | 0,09 |

No significant association was found between progesterone levels and the occurrence of a clinical pregnancy (**Table 4**), adjusted OR was 0,98 (IC 95% [0,72 ; 1,32], P = 0,89). Only seven spontaneous early miscarriages were observed, therefore further statistical analysis could not be conducted.

## DISCUSSION

In this study, we found no significant decrease in ongoing pregnancy rates with increasing progesterone levels, after IUI either with partner or donor sperm. Therefore, a progesterone threshold could not be determined.

It should be noted that the present analysis excluded all cycles in which the progesterone level was above 1.8 ng/mL, which is the threshold employed at our ART center for deferring fresh embryo transfer in IVF and apply “freeze-all strategy” [24].

**Table 7.** Comparison of our serie to existing literature

|                                              | <b>Our serie</b>                 | <b>Requena et al.</b>                           | <b>Matorras et al.</b>                                                                | <b>Mutlu et al.</b>                                                 |
|----------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| <b>Number of cycles</b>                      | 1446<br>(a- and d-IUI)           | 2458<br>(a- and d-IUI)                          | 208<br>(a-IUI)                                                                        | 460<br>(a-IUI)                                                      |
| <b>P levels (ng/mL)</b>                      | 0,3 ± 0,2<br>(mean ± SD)         | 5 groups, ranging<br>from 0.1 to<br>> 1,1 ng/mL | 0,86 ± 0,71<br>(mean ± SD)                                                            | Group with LB :<br>0,49 ± 0,51<br>Group without LB :<br>0,73 ± 0,82 |
| <b>Use of GnRH antagonists</b>               | a-IUI : 25,2 %<br>d-IUI : 19,1 % | Unspecified                                     | <b>All cycles</b>                                                                     | No                                                                  |
| <b>LH measure</b>                            | Yes                              | <b>No</b>                                       | Yes                                                                                   | Yes                                                                 |
| <b>Progesterone blinded to investigators</b> | No                               | Unspecified                                     | <b>Yes</b>                                                                            | <b>Yes</b>                                                          |
| <b>Incidence of LH rise (&gt; 10 UI/L)</b>   | NA                               | NA                                              | 4,8%                                                                                  | 27,3%                                                               |
| <b>Incidence of P rise</b>                   | NR                               | > 1,1 ng/mL :<br>10,3%                          | > 1 ng/mL : 22,1%<br>> 1,2 ng/mL : 16,8%<br>> 1,4 ng/mL : 13,6%<br>> 1,6 ng/mL : 8,7% | > 1 ng/mL : 22%<br>> 1,5 ng/mL : 10,2%                              |
| <b>Incidence of premature luteinization*</b> | NR                               | NR                                              | 3 cycles (1,4%)                                                                       | 11,5%                                                               |
| <b>ROC curve</b>                             | NR                               | AUC < 0,5                                       | AUC < 0,6                                                                             | NR                                                                  |

P : progesterone.

PR : pregnancy rate

LB : live birth

NR : not realized

NA : not applicable

\*: LH > 10 UI/L and progesterone > 1 ng/mL

Requena *et al.* found a significantly decreased OPR above a progesterone threshold of 1.1 ng/mL after analysing 2458 IUI cycles, but the predictive value of this threshold was low due to the many factors influencing outcome <sup>[18]</sup>. In Mutlu *et al.* study of 460 a-IUI cycles, LBR was significantly reduced when progesterone was above 1.0 ng/mL and further reduced above 1.5 ng/mL <sup>[20]</sup>, but these thresholds were arbitrarily chosen.

In these two studies, GnRH antagonists were not employed. Requena did not perform LH monitoring which may have result in the inclusion of some patients who probably had already ovulated at the time of IUI, and 27.3% of cycles in Mutlu's study already exhibited elevated LH levels at the end of the follicular phase, yet insemination was conducted 36 hours later.

While we measure LH levels in our ART center, we have chosen not to include it in this analysis. In fact, in case of spontaneous LH surge, IUI is advanced and performed 24 hours later. A randomized controlled trial from Blockeel *et al.* showed that IUI should be performed one day after, rather than two days, in the event of spontaneous LH rise <sup>[25]</sup>. This may explain why we did not identify a threshold, in contrast to these previous findings.

Matorras *et al.* observed a linear relationship between progesterone levels and pregnancy rates after use of GnRH antagonists, but ROC curve was not accurate to establish a relevant cut-off value <sup>[19]</sup>.

In a meta-analysis, administration of GnRH antagonists in FSH-stimulated cycles has been demonstrated to suppress the spontaneous peak of LH, thereby increasing the pregnancy rate following IUI <sup>[26]</sup>.

In a study by Thijssen *et al.*, low progesterone values were a predictive factor influencing outcomes after d-IUI and high progesterone levels resulted in a

significantly lower clinical pregnancy rate [3]. According to the authors, this decrease in pregnancy rates was especially observed for progesterone levels above 1.5 ng/mL, which is consistent with our findings.

Regarding the secondary outcomes, the present study found no significant effect of progesterone on the early spontaneous miscarriage rate after either a-IUI or d-IUI.

This differs from the results of Requena *et al.*, for who it remains unclear whether the observed decrease in PR can be attributed to a direct effect of progesterone on the endometrium or to a premature LH surge. However, their findings suggest a detrimental effect of increased progesterone on the evolution of the pregnancy, but not on the embryo's implantation [18].

This has also been shown in some IVF studies, which identified a correlation between elevated progesterone levels and an increased risk of miscarriage [27–29]. These data suggest that progesterone rise might induce late changes that disrupt the mechanisms of embryonic implantation. This could not be demonstrated in our study because we carried out IUI at low progesterone levels.

In IVF cycles, it has now been established that elevated progesterone levels on the day of hCG triggering have a detrimental effect on pregnancy rates [14]. However, there is still a lack of consensus regarding the optimal threshold, ranging from 0.8 to 2.25 ng/mL [15,30–32]. Some studies even suggest that the threshold should be adjusted according to the patient's response profile [12].

Following the analysis of over 4,000 cycles, Bosch *et al.* identified a progesterone threshold of 1.5 ng/mL, above which OPR were significantly reduced [15].

In a meta-analysis of 55,000 cycles, Venetis *et al.* examined several thresholds and their findings suggest that the detrimental effects of progesterone are most pronounced between 1.5 and 1.75 ng/mL <sup>[14]</sup>.

However, the methodology employed to assess progesterone varies between studies, which makes it challenging to establish a consensus threshold, even after meta-analysis. Therefore, it is necessary for each centre to determine their own threshold by analyzing its own data, as suggested by Sonigo *et al.* <sup>[33]</sup>. This is the reason why we use a cut-off of 1.8 ng/mL in our ART centre.

In the study of Bosch *et al.*, daily FSH dose, E2 values on the day of hCG administration and the number of oocytes collected were found to be significantly correlated with progesterone rise <sup>[15]</sup>. This is not the case in the present study. Here, the dose of gonadotropins, the number of follicles and E2 levels do not significantly interact with progesterone levels and the outcomes. This can be explained by the fact that ovarian stimulation for IUI uses considerably fewer gonadotropins in comparison to what is employed for IVF, and E2 levels remain within a range close to the physiological levels observed in a spontaneous ovulatory cycle.

Indeed, Kyrou *et al.* showed that E2 levels greater than 1790 pg/mL and more than 9.5 follicles before ovulation triggering were associated with an increased risk of progesterone levels above 1.5 ng/mL, thus reducing the likelihood of pregnancy <sup>[34]</sup>.

In our population, more than 80% of stimulations were monofollicular. Similarly to our results, Stormlund *et al.* showed that with moderate ovarian stimulation, progesterone levels were rarely elevated above 1.5 ng/ml and therefore had no effect on pregnancy rates <sup>[27]</sup>.

Progesterone is derived from steroids synthesised by the granulosa cells under the influence of FSH. This progesterone is metabolised into androgens in the theca cells, thanks to LH, which are then converted into oestrogens by aromatisation in the granulosa cells. This corresponds to the two-cell, two-gonadotrophin model [36]. The secretion of progesterone during ovarian stimulation is influenced by several factors. The number of follicles increases the number of granulosa cells. During the late follicular phase of stimulated cycles, LH acts on granulosa cells, which acquire LH-receptor. This may be responsible for a supplementary rise in progesterone and suggests that premature progesterone rise in ART cycles results from the action of FSH and LH on a large number of follicles, and not from premature luteinization [37].

However, the extent to which LH stimulates theca cells may also limit the increase in progesterone by promoting its catabolism.

In a study conducted by Fleming *et al.*, it was observed that following ovarian stimulation, progesterone levels at the end of the follicular phase were significantly higher in patients with low LH levels [38]. This is consistent with the results of Andersen *et al.*, in which progesterone levels were higher in patients stimulated with recombinant FSH compared to those stimulated with HMG [39]. This study also found a reduced implantation rate when progesterone levels exceeded 1.25 ng/mL on the day of hCG triggering.

Theoretical impact of LH on the elevation of progesterone is inconsistent [40], but in a recent study, Bosch *et al.* demonstrated that stimulation with HMG might prevent progesterone elevation at the end of the follicular phase due to a different follicular steroidogenesis pathway, regardless of ovarian response [41].

In our study, we found no significant difference in progesterone levels according to the type of stimulation, whether in a-IUI or d-IUI.

In a study by Kyrou *et al.*, endometrial oestrogen and progesterone receptors expression was altered during stimulation with FSH and GnRH antagonists for IUI. It was observed that expression of progesterone receptors increased steadily during the follicular phase until hCG triggering <sup>[42]</sup>.

This phenomenon was also reported in IVF by Papanikoalou *et al.*, in which steroid receptor expression at the end of the follicular phase was found to be similar to what is observed at the start of luteal phase of a spontaneous cycle <sup>[43]</sup>. This suggests that supraphysiological levels of E2 induce an advance in endometrial maturation via early expression of progesterone receptors, although the endometrium should not yet undergo secretory transformation. This results in a desynchronisation of the window of implantation and the developing embryo, which leads to a reduction in pregnancy rates <sup>[44]</sup>.

Further research is needed to determine whether ovarian stimulation for IUI causes endometrial changes that may be detrimental to implantation of the future embryo.

The principal limitation of our study results from the retrospective design of the analysis: there may have been errors in the database entry process, and we cannot establish causality, only associations.

However, the strength of our study lies in the number of cycles studied. Except Requena *et al.* <sup>[18]</sup>, all other studies who tried to establish a pre-ovulatory progesterone threshold for IUI had smaller cohorts. Moreover, to our knowledge, this is the first study to separate the analysis between a-IUI and d-IUI.

## CONCLUSION

We have not found a threshold level of progesterone that would be detrimental to the occurrence of a pregnancy after intrauterine insemination. However, as with IVF cycles, we use a threshold of 1.8 ng/ml. Below these levels, we demonstrated that variations in progesterone have no effect on the ongoing pregnancy rate.

This work provides a better understanding of how all IUI cycles should be monitored in order to improve their outcomes. To avoid insemination when progesterone levels are higher than the threshold normally used during controlled ovarian stimulation for IVF, it seems important to measure serum progesterone concentration prior to induce ovulation for IUI.

## RESUME

**Contexte** : Les inséminations intra-utérines (IIU) peuvent être réalisées avec le sperme du conjoint (IIU-C) ou avec le sperme d'un donneur (IIU-D), ces dernières devenant un recours plus fréquent depuis la loi de bioéthique de 2021.

En FIV, l'augmentation prématurée de la progestérone en fin de phase folliculaire diminue les chances de grossesse, mais le seuil est discuté. Peu d'études ont été réalisées en IIU, mais retrouvaient une diminution du taux de grossesse lorsque la progestérone augmentait, avec des seuils semblant plus bas qu'en FIV.

L'objectif de notre étude était d'analyser cette relation et d'identifier un seuil de progestérone qui serait délétère sur le taux de grossesse évolutive, après IIU. Les taux de grossesse entre IIU-C et IIU-D n'étant pas comparables, nous avons analysé chaque groupe séparément.

**Méthode** : Nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique, de données collectées prospectivement dans le service d'Assistance Médicale à la Procréation du CHU de Lille entre janvier 2022 et décembre 2023.

Les patientes ont bénéficié d'une stimulation ovarienne par gonadotrophines +/- antagonistes de la GnRH, monitorée par dosages d'estradiol, LH et progestérone.

Le critère de jugement principal était la survenue d'une grossesse évolutive à 3 mois.

**Résultats** : 1446 cycles d'IIU ont été analysés : 1049 cycles d'IIU-C et 397 cycles d'IIU-D. Après IIU-C et après IIU-D, nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre la progestéronémie en fin de phase folliculaire et la survenue d'une grossesse évolutive, même après ajustement sur les facteurs de confusion. Nous n'avons donc pas pu établir de courbe ROC ni de seuil.

**Conclusion** : Nous n'avons pas trouvé de seuil au-delà duquel la progestéronémie aurait un impact négatif sur la survenue d'une grossesse après IIU.

Néanmoins, nous appliquons déjà un seuil de 1.8 ng/mL, comme nous le faisons en FIV. Il ne semble donc pas y avoir d'effet de la progestérone lorsqu'elle se situe dans des valeurs basses. Lors d'une stimulation ovarienne en vue d'IIU, il apparaît donc important de monitorer la progestérone avant le déclenchement de l'ovulation.

## INTRODUCTION

Les inséminations intra-utérines (IIU) sont l'une des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) de première intention. Selon le dernier rapport de l'Agence de la Biomédecine (ABM), plus de 48 000 cycles d'IIU ont été réalisés en France en 2021, donnant lieu à plus de 5 900 naissances vivantes, ce qui représente 29% de toutes les tentatives d'AMP <sup>[1]</sup>.

L'usage de pailles de spermatozoïdes de donneur est de plus en plus répandu en médecine de la reproduction, avec un nombre croissant de pays autorisant l'AMP chez les femmes seules et les couples de femmes <sup>[2]</sup>. En France, la révision de la loi de bioéthique en 2021 a ouvert l'AMP à toutes les femmes.

Un bon pronostic est attendu chez ces patientes puisqu'il n'y a normalement pas de facteurs d'infertilité, ainsi les IIU avec sperme de donneur représentent la technique la plus appropriée. En effet, les données de la littérature montrent un taux de grossesse après une IIU-D allant de 17,2 à 25,8% <sup>[3-5]</sup>, tandis que le taux de grossesse après une IIU réalisée avec le sperme du conjoint (IIU-C) se situe entre 11,7 et 14,8% <sup>[6,7]</sup>.

Plusieurs paramètres influencent la survenue d'une grossesse après IIU : l'âge, l'IMC et la réserve ovarienne de la patiente, l'étiologie et la durée de l'infertilité, les paramètres spermatiques, le protocole de stimulation et le nombre de follicules de plus de 15 mm lors du déclenchement <sup>[6,8-10]</sup>. Cardey *et al.* ont montré qu'après IIU-D, seul le nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés semblait influencer les taux de grossesse et de naissance vivante <sup>[11]</sup>.

Dans le cadre de la fécondation in vitro (FIV), l'augmentation de la progestérone en fin de phase folliculaire a un effet délétère sur les taux de

naissance vivante <sup>[12,13]</sup>. Dans une méta-analyse, Venetis *et al.* ont montré que l'élévation de la progestérone était significativement associée à une diminution de la probabilité de grossesse après transfert d'embryon frais <sup>[14]</sup>. Il est difficile d'établir un seuil « absolu » de progestérone en raison de la multitude de facteurs à prendre en compte, notamment la méthode de dosage, le protocole de stimulation ovarienne utilisé et l'intensité de la réponse ovarienne <sup>[12,15]</sup>.

La plupart des études soutiennent que l'augmentation de la progestérone réduit les taux de grossesse en avançant la transformation de l'endomètre. L'ouverture prématurée de la fenêtre d'implantation qui en résulte entraîne une réduction significative des taux d'implantation embryonnaire <sup>[16,17]</sup>. L'augmentation de la progestérone pendant une stimulation en vue de FIV est secondaire au développement multifolliculaire et est corrélée à la dose de gonadotrophines, au taux d'estradiol le jour du déclenchement et au nombre d'ovocytes recueillis <sup>[13,15]</sup>.

De nombreux travaux ont étudié la relation entre l'élévation de la progestérone et les taux de grossesse dans les cycles de FIV, mais la littérature est limitée en ce qui concerne les IIU. Cela pourrait suggérer que l'élévation du taux de progestérone est également préjudiciable sur l'issue des IIU. Quelques études ont observé des taux de grossesse diminués lorsque les taux sériques de progestérone étaient élevés le jour de l'injection d'hCG, mais à des seuils paraissant inférieurs à ceux étudiés en FIV, allant de 1 à 1,5 ng/ml selon les séries <sup>[18-20]</sup>.

Dans cette étude, nous avons analysé la relation entre les taux sériques de progestérone en fin de phase folliculaire et le taux de grossesse évolutive après IIU. Nous avons cherché à identifier un seuil de progestérone au-delà duquel le taux de grossesse évolutive serait diminué. Étant donné les différences de taux de grossesse entre IIU-C et IIU-D, nous avons analysé chaque groupe indépendamment.

## DISCUSSION

Dans cette étude, nous n'avons pas constaté de diminution significative du taux de grossesse évolutive avec l'augmentation des valeurs sériques de progestérone après IUI, que ce soit avec le sperme du conjoint ou avec celui d'un donneur. Par conséquent, il n'a pas pu être déterminé de seuil.

Il est important de souligner que cette analyse a exclu tous les cycles dans lesquels le taux de progestérone était supérieur à 1,8 ng/mL, ce qui correspond au seuil utilisé dans notre centre d'AMP pour différer le transfert d'embryons frais en FIV et appliquer une stratégie dite de « freeze-all » [24].

Requena *et al.* ont analysé 2 458 cycles d'IUI et ont observé une diminution significative du taux de grossesse évolutive lorsque la progestérone était supérieure à 1,1 ng/mL, mais la valeur prédictive de ce seuil était faible en raison des nombreux facteurs influençant l'issue des tentatives [18]. Dans l'étude de Mutlu *et al.* portant sur 460 cycles d'IUI-C, le taux de naissance vivante était significativement diminué lorsque la progestérone était supérieure à 1,0 ng/mL et d'autant plus diminué au-delà de 1,5 ng/mL, mais ces seuils avaient été choisis arbitrairement [20].

Dans ces deux études, les antagonistes de la GnRH n'ont pas été utilisés. L'équipe de Requena n'a pas effectué de dosage de la LH, ce qui a pu conduire à l'inclusion de certaines patientes ayant probablement déjà ovulé au moment de l'IUI, et 27,3 % des cycles de l'étude de Mutlu présentaient déjà des niveaux élevés de LH le jour du déclenchement, alors que l'insémination avait lieu 36 heures plus tard.

Bien que nous dosions la LH dans notre centre, nous avons choisi de ne pas la faire figurer dans cette analyse. En effet, en cas de pic spontané de LH, nous avançons

l'IIU et nous la réalisons 24 heures plus tard. Un essai contrôlé randomisé de Blockeel *et al.* a montré que l'IIU devait être réalisée le lendemain, au lieu du surlendemain, en cas de pic spontané de LH [25]. Cela peut expliquer pourquoi nous n'avons pas identifié de seuil, contrairement aux études précédemment citées.

Matorras *et al.* ont observé une corrélation linéaire entre les taux de progestérone et les taux de grossesse après l'utilisation d'antagonistes de la GnRH, mais leur courbe ROC n'était pas suffisamment précise pour permettre d'établir une valeur seuil pertinente [19].

Il a été démontré par une méta-analyse que l'administration d'antagonistes de la GnRH dans des cycles stimulés par FSH exogène supprimait le pic spontané de LH, augmentant ainsi le taux de grossesse à la suite d'une IIU [26].

Dans une étude réalisée par Thijssen *et al.*, de faibles valeurs de progestérone étaient un facteur prédictif important influençant les résultats après IIU-D, tandis que des valeurs élevées de progestérone étaient significativement associées à un nombre de grossesses cliniques plus faible [3]. Selon les auteurs, cette diminution des taux de grossesse a été principalement observée lorsque la progestérone était supérieure à 1,5 ng/ml, ce qui est en accord avec nos résultats.

En ce qui concerne les résultats secondaires, notre étude n'a révélé aucun effet significatif de la progestérone sur le taux de fausses couches spontanées précoces après IIU-C ou IIU-D.

Ces résultats contrastent avec ceux de Requena *et al.*, qui ne parviennent pas à distinguer si la diminution observée du taux de grossesses peut être attribuée à un effet direct de la progestérone sur l'endomètre ou à un pic prématuré de LH.

Toutefois, leurs conclusions suggèrent un effet néfaste de l'augmentation de la progestérone sur l'évolutivité de la grossesse, et non pas sur l'implantation de l'embryon <sup>[18]</sup>.

Cela a également été montré dans certaines études en FIV, qui ont identifié une corrélation entre des niveaux élevés de progestérone et un risque accru de fausse couche <sup>[27–29]</sup>. Ces données suggèrent que l'augmentation de la progestérone pourrait induire des changements tardifs qui perturbent les mécanismes de l'implantation embryonnaire, sans l'empêcher totalement. Cela n'a pas pu être confirmé dans notre étude, car nous avons procédé aux IUI lorsque la progestérone était peu élevée.

Lors des cycles de FIV, il est désormais établi que des taux élevés de progestérone le jour du déclenchement par hCG ont un effet péjoratif sur les taux de grossesse <sup>[14]</sup>. Cependant, il n'y a toujours pas de consensus sur le seuil optimal, qui se situerait entre 0,8 et 2,25 ng/mL <sup>[15,30–32]</sup>. Certaines études suggèrent même que le seuil devrait être ajusté en fonction du profil de réponse de la patiente <sup>[12]</sup>.

Après analyse de 4 000 cycles, Bosch *et al.* ont identifié un seuil de progestérone de 1,5 ng/mL, au-delà duquel le taux de grossesse évolutive était significativement abaissé <sup>[15]</sup>. Dans une méta-analyse portant sur 55 000 cycles, Venetis *et al.* ont examiné plusieurs seuils et leurs résultats suggèrent que les effets néfastes de la progestérone seraient plus prononcés entre 1,5 et 1,75 ng/mL <sup>[14]</sup>.

Cependant, la méthodologie employée pour doser la progestérone varie d'une étude à l'autre, ce qui rend difficile l'établissement d'un seuil consensuel, même après méta-analyse. Il est donc important que chaque centre détermine son propre seuil en

analysant ses propres données, comme le proposent Sonigo *et al.*, raison pour laquelle nous utilisons un seuil de 1,8 ng/mL <sup>[33]</sup>.

Dans l'étude de Bosch *et al.*, la dose totale de FSH, les valeurs d'E2 le jour du déclenchement et le nombre d'ovocytes recueillis étaient significativement corrélés à l'augmentation de la progestérone <sup>[15]</sup>. Ce n'est pas le cas de notre étude qui ne retrouve pas d'interaction significative entre la progestéronémie et la dose de gonadotrophines, le nombre de follicules et les niveaux d'E2. Cela peut s'expliquer par le fait que les stimulations ovariennes pour IIU utilisent des gonadotrophines à doses bien moindres qu'en FIV, ainsi les taux d'E2 restent dans un intervalle proche des taux physiologiques observés lors d'un cycle ovulatoire spontané.

De fait, Kyrou *et al.* ont montré qu'avoir des taux d'E2 supérieurs à 1790 pg/mL et plus de 9,5 follicules matures avant le déclenchement de l'ovulation était associé à un risque accru de taux de progestérone supérieur à 1,5 ng/mL, réduisant ainsi la probabilité de survenue d'une grossesse <sup>[34]</sup>.

Dans notre population, plus de 80 % des stimulations étaient monofolliculaires. De façon semblable à nos résultats, Stormlund *et al.* ont montré qu'avec une stimulation ovarienne modérée, les niveaux de progestérone étaient rarement supérieurs à 1,5 ng/ml et n'avaient donc pas d'effet sur les taux de grossesse.

La progestérone est dérivée des stéroïdes synthétisés par les cellules de la granulosa ovarienne sous l'influence de la FSH. Cette progestérone est métabolisée en androgènes dans les cellules de la thèque, grâce à la LH, qui sont ensuite convertis en œstrogènes par aromatisation dans les cellules de la granulosa. Ceci correspond à la théorie bicellulaire.

La sécrétion de progestérone lors de la stimulation ovarienne est influencée par plusieurs facteurs. Le nombre de follicules augmente le nombre de cellules de la granulosa et à la fin de la phase folliculaire des cycles stimulés, les cellules de la granulosa acquièrent les récepteurs à la LH. Ceci peut entraîner d'une augmentation supplémentaire de la progestérone et suggère que l'augmentation prématurée de la progestérone dans les cycles stimulés résulte de l'action de la FSH et de la LH sur un grand nombre de follicules, et non d'une lutéinisation prématurée [37].

Cependant, la proportion dans laquelle la LH stimule les cellules de la thèque peut également limiter l'augmentation de la progestérone en favorisant son catabolisme.

Dans une étude menée par Fleming *et al.*, il était observé qu'après stimulation ovarienne, les taux de progestérone en fin de phase folliculaire étaient significativement plus élevés chez les patientes ayant de faibles niveaux de LH [38]. Ceci est concordant avec les résultats d'Andersen *et al.*, qui retrouvaient que les taux de progestérone étaient plus élevés chez les patientes stimulées par FSH recombinante par rapport à celles stimulées par HMG [39]. Cette étude a également constaté une réduction du taux d'implantation lorsque les taux de progestérone dépassaient 1,25 ng/mL le jour du déclenchement.

L'impact théorique de la LH sur l'élévation de la progestérone est controversé [40], mais selon une étude récente de Bosch *et al.*, la stimulation par HMG pourrait freiner l'élévation de la progestérone en fin de phase folliculaire via une voie de stéroïdogénèse différente, et ce indépendamment de la réponse ovarienne [41].

Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différence significative du taux de progestérone en fonction du type de stimulation, qu'il s'agisse d'IIU-C ou d'IIU-D.

Dans une étude réalisée par Kyrou *et al.*, il a été observé une altération de l'expression des récepteurs endométriaux aux œstrogènes et à la progestérone par la stimulation ovarienne avant IIU. L'expression des récepteurs de la progestérone augmentait régulièrement pendant la phase folliculaire jusqu'à l'injection d'hCG <sup>[42]</sup>.

Ce phénomène a également été rapporté en FIV par Papanikoalou *et al.* qui ont constaté que l'expression des récepteurs stéroïdiens en fin de phase folliculaire était comparable à celle du début de phase lutéale d'un cycle spontané <sup>[43]</sup>. Ceci suggère que les niveaux supraphysiologiques d'E2 induisent une avance de maturation endométriale, via une expression précoce des récepteurs de la progestérone, bien que l'endomètre ne soit pas supposé se transformer à ce moment. Il en résulte une désynchronisation de la fenêtre d'implantation et du développement de l'embryon, ce qui conduit in fine à une diminution des taux de grossesse <sup>[44]</sup>.

Plus d'investigations sont nécessaires afin de déterminer si la stimulation ovarienne en vue d'IIU provoque des modifications de l'endomètre possiblement préjudiciables à l'implantation d'un embryon.

La principale limite de notre étude résulte de la nature rétrospective de l'analyse : il est possible qu'il y ait eu des erreurs dans le remplissage de la base de données, et nous ne pouvons pas établir de causalité, uniquement des associations.

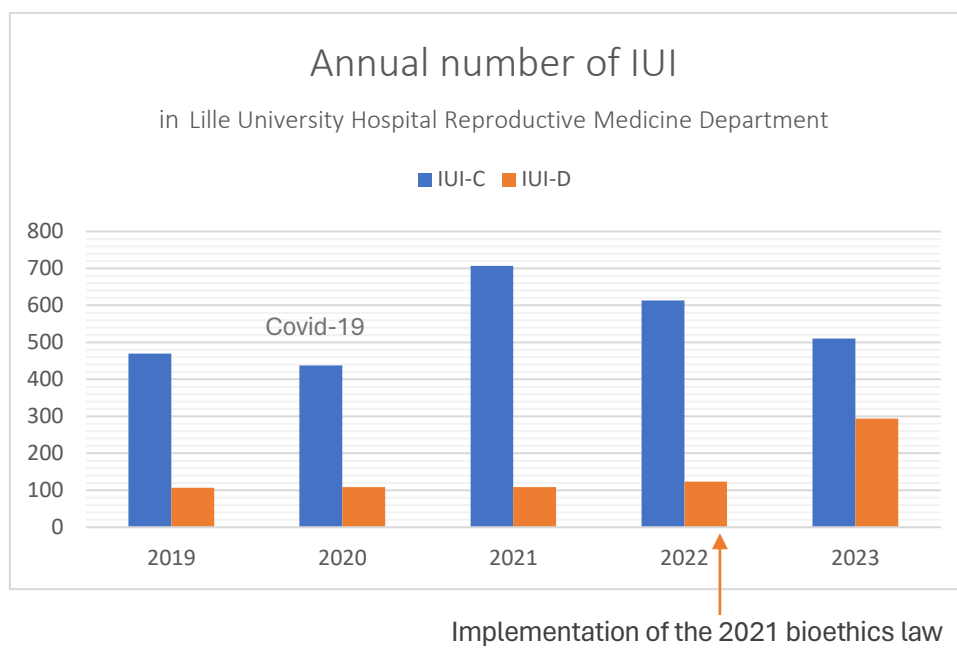
Cependant, la qualité de notre étude réside dans le nombre de cycles étudiés. A l'exception de Requena *et al.* <sup>[18]</sup>, toutes les autres études ayant tenté d'établir un seuil de progestérone pré-ovulatoire pour les IIU utilisaient des cohortes moins importantes. De plus, à notre connaissance, il s'agit de la première étude à séparer l'analyse entre IIU-C et IIU-D.

## CONCLUSION

Nous n'avons pas trouvé de seuil de progestérone qui soit défavorable à la survenue d'une grossesse après insémination intra-utérine. Cependant, comme pour les cycles de FIV, nous utilisons un seuil de 1,8 ng/ml. En dessous de ce seuil, nous avons démontré que peu importe la valeur de la progestérone, il n'y a pas de réduction significative du taux de grossesse évolutive.

Ce travail permet de mieux comprendre comment monitorer les cycles d'IU de façon à en optimiser les performances. Il paraît important de mesurer la concentration sérique de progestérone avant de déclencher l'ovulation, afin d'éviter de procéder à l'insémination lorsque cette concentration est supérieure au seuil utilisé lors des stimulations ovariennes pour les FIV.

## ANNEXE



## REFERENCES

1. Agence de la biomédecine [Internet]. [cité 2024 mars 6];Available from: <https://rams.agence-biomedecine.fr/principaux-chiffres-de-lactivite>
2. Diego D, Medline A, Shandley LM, Kawwass JF, Hipp HS. Donor sperm recipients: fertility treatments, trends, and pregnancy outcomes. *J Assist Reprod Genet* 2022;39(10):2303-10.
3. Thijssen A, Creemers A, Elst WV der, Creemers E, Vandormael E, Dhont N, et al. Predictive factors influencing pregnancy rates after intrauterine insemination with frozen donor semen: a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online* 2017;34(6):590-7.
4. Soria M, Pradillo G, García J, Ramón P, Castillo A, Jordana C, et al. Pregnancy predictors after intrauterine insemination: analysis of 3012 cycles in 1201 couples. *J Reprod Infertil* 2012;13(3):158-66.
5. Guan HT, Zheng Y, Wang JJ, Meng TQ, Xia W, Hu SH, et al. Relationship between donor sperm parameters and pregnancy outcome after intrauterine insemination: analysis of 2821 cycles in 1355 couples. *Andrologia* 2016;48(1):29-36.
6. Merviel P, Heraud MH, Grenier N, Lourdel E, Sanguinet P, Copin H. Predictive factors for pregnancy after intrauterine insemination (IUI): an analysis of 1038 cycles and a review of the literature. *Fertil Steril* 2010;93(1):79-88.
7. Dinelli L, Courbière B, Achard V, Jouve E, Deveze C, Gnisci A, et al. Prognosis factors of pregnancy after intrauterine insemination with the husband's sperm: conclusions of an analysis of 2,019 cycles. *Fertil Steril* 2014;101(4):994-1000.
8. Briez F. Facteurs prédictifs de grossesse en insémination intra-utérine chez des couples présentant une infertilité inexpiquée ou masculine : étude rétrospective de 5185 cycles [Internet]. 2020 [cité 2022 mai 9];Available from: <https://pepite.univ-lille.fr/ori-oai-search/notice/view/univ-lille-12803>
9. Michau A, El Hachem H, Galey J, Le Parco S, Perdigao S, Guthauser B, et al. Predictive factors for pregnancy after controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination: A retrospective analysis of 4146 cycles. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2019;48(10):811-5.
10. Ejzenberg D, Gomes TJO, Monteleone PAA, Serafini PC, Soares-Jr JM, Baracat EC. Prognostic factors for pregnancy after intrauterine insemination. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet* 2019;147(1):65-72.
11. Cardey-Lefort M, Ducrocq B, Uk A, Behal H, Barbotin AL, Robin G. Intrauterine insemination with donor sperm: only the number of motile spermatozoa inseminated influences both pregnancy and live-birth rates. *Asian J Androl* 2022;24(3):287-93.
12. Xu B, Li Z, Zhang H, Jin L, Li Y, Ai J, et al. Serum progesterone level effects on the outcome of in vitro fertilization in patients with different ovarian response: an analysis of more than 10,000 cycles. *Fertil Steril* 2012;97(6):1321-1327.e1-4.
13. Huang R, Fang C, Xu S, Yi Y, Liang X. Premature progesterone rise negatively correlated with live birth rate in IVF cycles with GnRH agonist: an analysis of 2,566 cycles. *Fertil Steril* 2012;98(3):664-670.e2.
14. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update* 2013;19(5):433-57.
15. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum Reprod Oxf Engl* 2010;25(8):2092-100.
16. Kalakota NR, George LC, Morelli SS, Douglas NC, Babwah AV. Towards an Improved Understanding of the Effects of Elevated Progesterone Levels on Human Endometrial Receptivity and Oocyte/Embryo Quality during Assisted Reproductive Technologies. *Cells* 2022;11(9):1405.

17. Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BCJM. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15(2):84-90.
18. Requena A, Cruz M, Pacheco A, García-Velasco JA. Ongoing pregnancy rates in intrauterine insemination are affected by late follicular-phase progesterone levels. *Fertil Steril* 2015;104(4):879-83.
19. Matorras R, Soler AVI, Ramon O, Burgos J, Abanto E, González M, et al. Prognostic value of serum progesterone and LH values on the day of hCG administration in IUI GnRH antagonist cycles. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2012;28(3):157-61.
20. Mutlu MF, Erdem M, Erdem A, Mutlu I, Guler I, Demirdağ E. The impact of premature progesterone rise on the outcome of intrauterine insemination cycles with controlled ovarian hyperstimulation in unexplained infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016;203:44-8.
21. Gobernado J, Alvarez-Colomo C, Rodriguez-Tabernero L, Barrero L, Fernández-Gómez JMF, Schneider J. GnRH antagonist administration to postpone a weekend intrauterine insemination: a large cohort study from a public center. *Reprod Biol Endocrinol RBE* 2016;14(1):53.
22. Coelho Neto MA, Ludwin A, Borrell A, Benacerraf B, Dewailly D, da Silva Costa F, et al. Counting ovarian antral follicles by ultrasound: a practical guide. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol* 2018;51(1):10-20.
23. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [Internet]. [cité 2024 avr 17];Available from: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240030787>
24. Racca A, Vanni VS, Somigliana E, Reschini M, Viganò P, Santos-Ribeiro S, et al. Is a freeze-all policy the optimal solution to circumvent the effect of late follicular elevated progesterone? A multicentric matched-control retrospective study analysing cumulative live birth rate in 942 non-elective freeze-all cycles. *Hum Reprod Oxf Engl* 2021;36(9):2463-72.
25. Blockeel C, Knez J, Polyzos NP, De Vos M, Camus M, Tournaye H. Should an intrauterine insemination with donor semen be performed 1 or 2 days after the spontaneous LH rise? A prospective RCT. *Hum Reprod* 2014;29(4):697-703.
26. Kosmas IP, Tatsioni A, Kolibianakis EM, Verpoest W, Tournaye H, Van der Elst J, et al. Effects and clinical significance of GnRH antagonist administration for IUI timing in FSH superovulated cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2008;90(2):367-72.
27. Lepage J, Keromnes G, Epelboin S, Luton D, Yazbeck C. Premature progesterone rise on day of hCG negatively correlated with live birth rate in IVF cycles: An analysis of 1022 cycles. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2019;48(1):51-4.
28. Wang L, Wang L, Yang X, Jin P, Zhang R, Jiang Y, et al. Risk factors related to early pregnancy loss in fresh IVF/ICSI: An analysis of 954 embryo transfer cycles. *Medicine (Baltimore)* 2022;101(34):e30166.
29. Roque Fernandez MA, Alvarez Lleo C, Gonzalez Mirasol E, Resta Serra M, Garcia Garrido C, Sanchez Toledo M, et al. Progesterone elevation on the day of oocyte retrieval and live birth rate after in vitro fertilisation treatment. *J Obstet Gynaecol J Inst Obstet Gynaecol* 2022;42(5):1396-400.
30. Hill MJ, Healy MW, Richter KS, Parikh T, Devine K, DeCherney AH, et al. Defining thresholds for abnormal premature progesterone levels during ovarian stimulation for assisted reproduction technologies. *Fertil Steril* 2018;110(4):671-679.e2.
31. Xu J, Zhang C, Wang S, Zhang S. Impact of progesterone concentration on human chorionic gonadotropin trigger day on clinical outcomes with one top-quality cleavage-stage embryo or blastocyst transfer in fresh in vitro fertilization cycles. *Front Endocrinol* 2023;14:1085287.
32. Zhao J, Hao J, Xu B, Wang Y, Li Y. Effect of slightly elevated progesterone on hCG trigger day on clinical pregnancy rate in GnRH-ant IVF/ICSI cycles. *Reprod Health* 2022;19(1):66.
33. Sonigo C, Dray G, Roche C, Cédric-Durnerin I, Hugues JN. Impact of high serum progesterone during the late follicular phase on IVF outcome. *Reprod Biomed Online* 2014;29(2):177-86.

34. Kyrou D, Al-Azemi M, Papanikolaou EG, Donoso P, Tziomalos K, Devroey P, et al. The relationship of premature progesterone rise with serum estradiol levels and number of follicles in GnRH antagonist/recombinant FSH-stimulated cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;162(2):165-8.
35. Stormlund S, Sopa N, Lyng Forman J, Zedeler A, Bogstad J, Prætorius L, et al. The prevalence of late-follicular phase progesterone elevation and impact on the ongoing pregnancy rate after fresh and frozen blastocyst transfer. Sub-study of an RCT. *Hum Fertil Camb Engl* 2024;27(1):2265153.
36. Brown JB. Pituitary control of ovarian function--concepts derived from gonadotrophin therapy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1978;18(1):46-54.
37. Pitner I, Mikuš M, Šprem Goldštajn M, Laganà AS, Chiantera V, Ferrari F, et al. Effects of different progesterone levels on reproductive outcomes in assisted reproductive technologies: from molecular basis to treatment strategies. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2023;39(1):2190806.
38. Fleming R, Jenkins J. The source and implications of progesterone rise during the follicular phase of assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online* 2010;21(4):446-9.
39. Andersen AN, Devroey P, Arce JC. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Hum Reprod Oxf Engl* 2006;21(12):3217-27.
40. Hugues JN. Impact of 'LH activity' supplementation on serum progesterone levels during controlled ovarian stimulation: a systematic review. *Hum Reprod* 2012;27(1):232-43.
41. Bosch E, Alamá P, Romero JL, Marí M, Labarta E, Pellicer A. Serum progesterone is lower in ovarian stimulation with highly purified HMG compared to recombinant FSH owing to a different regulation of follicular steroidogenesis: a randomized controlled trial. *Hum Reprod Oxf Engl* 2024;39(2):393-402.
42. Kyrou D, Kolibianakis EM, Venetis CA, Miliaras D, Theodoridis T, Tzevelekis F, et al. Steroid receptor expression in human endometrium during the follicular phase of stimulated cycles. *Hum Reprod Oxf Engl* 2009;24(11):2931-5.
43. Papanikolaou EG, Bourgain C, Kolibianakis E, Tournaye H, Devroey P. Steroid receptor expression in late follicular phase endometrium in GnRH antagonist IVF cycles is already altered, indicating initiation of early luteal phase transformation in the absence of secretory changes. *Hum Reprod* 2005;20(6):1541-7.
44. Lawrenz B, Melado L, Fatemi H. Premature progesterone rise in ART-cycles. *Reprod Biol* 2018;18(1):1-4.

**AUTEURE : Nom : HUGUET**

**Prénom : Anaïs**

**Date de soutenance : 4 Juin 2024**

**Titre de la thèse : Le taux de progestérone en fin de phase folliculaire a-t-il un effet négatif sur la survenue d'une grossesse évolutive après insémination intra-utérine ?**

**Analyse rétrospective de 1446 cycles.**

**Thèse - Médecine - Lille - 2024**

**Cadre de classement : Médecine de la Reproduction**

**DES + FST/option : Gynécologie Médicale – FST Médecine et Biologie de la Reproduction-Andrologie**

**Mots-clés : insémination intra-utérine ; progestérone ; grossesse évolutive ; don de sperme**

**Contexte** : Les inséminations intra-utérines (IIU) peuvent être réalisées avec le sperme du conjoint (IIU-C) ou avec le sperme d'un donneur (IIU-D), ces dernières devenant un recours plus fréquent depuis la loi de bioéthique de 2021.

En FIV, l'augmentation prématurée de la progestérone en fin de phase folliculaire diminue les chances de grossesse, mais le seuil est discuté. Peu d'études ont été réalisées en IIU, mais retrouvaient une diminution du taux de grossesse lorsque la progestérone augmentait, avec des seuils semblant plus bas qu'en FIV.

L'objectif de notre étude était d'analyser cette relation et d'identifier un seuil de progestérone qui serait délétère sur le taux de grossesse évolutive, après IIU. Les taux de grossesse entre IIU-C et IIU-D n'étant pas comparables, nous avons scindé l'analyse en 2 groupes.

**Méthode** : Nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique, de données collectées prospectivement au CHU de Lille entre janvier 2022 et décembre 2023.

Les patientes ont bénéficié d'une stimulation ovarienne par gonadotrophines +/- antagonistes de la GnRH, monitorée par dosages d'estradiol, LH et progestérone.

Le critère de jugement principal était la survenue d'une grossesse évolutive à 3 mois.

**Résultats** : 1446 cycles d'IIU ont été analysés : 1049 cycles d'IIU-C et 397 cycles d'IIU-D.

Après IIU-C et après IIU-D, nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre la progestéronémie en fin de phase folliculaire et la survenue d'une grossesse évolutive, même après ajustement sur les facteurs de confusion. Nous n'avons donc pas pu établir de courbe ROC ni de seuil.

**Conclusion** : Nous n'avons pas trouvé de seuil au-delà duquel la progestéronémie aurait un impact négatif sur la survenue d'une grossesse après IIU.

Néanmoins, nous appliquons déjà un seuil de 1.8 ng/mL, comme nous le faisons en FIV. Il ne semble donc pas y avoir d'effet de la progestérone lorsqu'elle se situe dans des valeurs basses.

Lors d'une stimulation ovarienne en vue d'IIU, il paraît donc important de monitorer la progestérone avant le déclenchement de l'ovulation.

**Composition du Jury :**

**Présidente** : Madame le Professeur Sophie CATTEAU-JONARD

**Assesseurs** : Madame le Docteur Christine DECANter

**Directeurs de thèse** : Madame le Docteur Virginie SIMON,  
Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN