



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par

Elise GRATIUS

Le 14 décembre 2011

Intérêt de l'apport de LH au cours des Fécondations In Vitro

Etude rétrospective et mise en place d'une étude
prospective

Examineurs de la thèse :

M. B. FOLIGUET	Professeur	Président
M. P. JUDLIN	Professeur	
M. O. MOREL	Maître de Conférences	Juges
Mme A. ZACCABRI	Docteur en Médecine	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen « Pédagogie » : Professeur Karine ANGIOI
Vice Doyen Mission « sillon lorrain » : Professeur Annick BARBAUD
Vice Doyen Mission « Campus » : Professeur Marie-Christine BÉNÉ
Vice Doyen Mission « Finances » : Professeur Marc BRAUN
Vice Doyen Mission « Recherche » : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Assesseurs :

- 1er Cycle :	Professeur Bruno CHENUEL
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales » :	M. Christophe NÉMOS
- 2ème Cycle :	Professeur Marc DEBOUVERIE
- 3ème Cycle :	
« DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI
« DES Spécialité Médecine Générale	Professeur Francis RAPHAËL
- Filières professionnalisées :	M. Walter BLONDEL
- Formation Continue :	Professeur Hervé VESPIGNANI
- Commission de Prospective :	Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT
- Recherche :	Professeur Didier MAINARD
- Développement Professionnel Continu :	Professeur Jean-Dominique DE KORWIN

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX
Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY –
Patrick BOISSEL - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET -
Daniel BURNEL - Claude CHARDOT - Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE -
Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS - Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ -
Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre
GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Oliéro
GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT – Michèle KESSLER - Jacques
LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Alain LARCAN - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel
LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN Bernard LEGRAS - Michel MANCIAUX - Jean-Pierre
MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU - Denise MONERET-VAUTRIN – Pierre MONIN - Pierre
NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN - Gilbert PERCEBOIS Claude PERRIN -
Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL
Jean PREVOT - Antoine RASPILLER - Michel RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER - Paul
SADOUL - Daniel SCHMITT - Michel SCHWEITZER – Claude SIMON - Jean SOMMELET - Danièle
SOMMELET – Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Augusta TREHEUX -
Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel
WAYOFF - Michel WEBER

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS
PRATICIENS HOSPITALIERS**

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1ère sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2ème sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET

3ème sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2ème sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON – Professeur Valérie CROISÉ-LAURENT

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

**44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE,
PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

1ère sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2ème sous-section : (*Physiologie*)

Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUUEL – Professeur Christian BEYAERT

3ème sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Professeur Ali DALLOUL

4ème sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT - Professeur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

**45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET
HYGIÈNE**

1ère sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI

3ème sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1ère sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2ème sous-section : (*Médecine et santé au travail*)

Professeur Christophe PARIS

3ème sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Professeur Henry COUDANE

4ème sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

**47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE,
IMMUNOLOGIE**

1ère sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER

2ème sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL

3ème sous-section : (Immunologie)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4ème sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE
D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1ère sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT – Professeur Thomas FUCHS-BUDER

2ème sous-section : (Réanimation médicale ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT

Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3ème sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4ème sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

**49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE
MENTALE,
HANDICAP et RÉÉDUCATION**

1ère sous-section : (Neurologie)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE – Professeur Luc TAILLANDIER

2ème sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN

Professeur Thierry CIVIT

3ème sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4ème sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5ème sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

**50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et
CHIRURGIE PLASTIQUE**

1ère sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2ème sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD

Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3ème sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4ème sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1ère sous-section : (*Pneumologie ; addictologie*)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2ème sous-section : (*Cardiologie*)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL
Professeur Christian de CHILLOU

3ème sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardiovasculaire*)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

4ème sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1ère sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Professeur Marc-André BIGARD - Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-
BIROULET

2ème sous-section : (*Chirurgie digestive*)

3ème sous-section : (*Néphrologie*)

Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4ème sous-section : (*Urologie*)

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53ème Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1ère sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY
Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-
GUILLAUME

2ème sous-section : (*Chirurgie générale*)

Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1ère sous-section : (*Pédiatrie*)

Professeur P. MONIN - Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER
Professeur François FEILLET - Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO

2ème sous-section : (*Chirurgie infantile*)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3ème sous-section : (*Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale*)

Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4ème sous-section : (*Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale*)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55ème Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1ère sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER

2ème sous-section : (*Ophtalmologie*)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3ème sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur Jean-Marc BOIVIN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1ère sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ

2ème sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3ème sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteur Aude BRESSENOT

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE

2ème sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Docteur Damien MANDRY

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3ème sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1ère sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD – Docteur Hélène JEULIN

2ème sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1ère sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN

2ème sous-section (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteur Isabelle THAON

3ème sous-section (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

4^{ème} sous-section : *(Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)*

Docteur Nicolas JAY

**47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE,
IMMUNOLOGIE**

2^{ème} sous-section : *(Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique))*

Docteur Lina BOLOTINE

3^{ème} sous-section : *(Immunologie)*

Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : *(Génétique)*

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE
D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

3^{ème} sous-section : *(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)*

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50^{ème} Section : RHUMATOLOGIE

1^{ère} sous-section : *(Rhumatologie)*

Docteur Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : *(Dermato-vénéréologie)*

Docteur Anne-Claire BURSZTEJN

**53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE
GÉNÉRALE**

1^{ère} sous-section : *(Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ;
addictologie)*

Docteur Laure JOLY

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT,
GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

3^{ème} sous-section :

Docteur Olivier MOREL

5^{ème} sous-section : *(Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie
médicale)*

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE

Monsieur Vincent LHUILLIER

40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-François COLLIN

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

**61ème section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT
DU SIGNAL**

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS – Monsieur
Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA - Madame Nathalie MERCIER

66ème section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Médecine Générale

Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Jean-Louis ADAM

Docteur Paolo DI PATRIZIO

Docteur Sophie SIEGRIST

Docteur Arnaud MASSON

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY – Professeur
Patrick BOISSEL - Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ –
Professeur Simone GILGENKRANTZ - Professeur Michèle KESSLER - Professeur Henri LAMBERT -
Professeur Alain LARCAN - Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Pierre MONIN (*à c.*
1.12.2011) - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD - Professeur Michel PIERSON -
Professeur Jacques POUREL – Professeur Jean-François STOLTZ - Professeur Michel STRICKER - Professeur
Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Colette VIDAILHET - Professeur Michel
VIDAILHET

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume Uni)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
*Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des
Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)*

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto
(JAPON)*

A notre Maître et Président de thèse

Monsieur le Professeur Bernard Foliguet

Professeur de Cytologie et Histologie

Officier de l'Ordre des Palmes Académiques

Vous nous faites l'honneur de présider le jury de notre thèse et de juger notre travail.
Nous vous remercions pour la bienveillance dont vous avez fait preuve à notre égard.
Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

A notre Maître et juge

Monsieur le Professeur Philippe Judlin

Professeur de Gynécologie-Obstétrique

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger notre travail. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos précieux enseignements durant notre internat. Nous vous remercions pour votre soutien et votre bienveillance à notre égard.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect et de notre vive gratitude.

A notre Maître et juge

Monsieur le Docteur Olivier Morel

Maître de Conférences en Gynécologie-Obstétrique

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail. Vos enseignements durant notre internat ont été précieux. Merci pour votre soutien et vos conseils. Que notre thèse soit le reflet de notre profond respect et de notre gratitude.

A notre Maître, directeur de thèse et juge

Madame le Docteur Annie Zaccabri

Docteur en Gynécologie-Obstétrique

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail, de le diriger et de le juger. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos précieux enseignements et de votre expérience. Nous vous remercions de votre soutien, votre disponibilité et vos nombreux conseils sans lesquels ce travail n'aurait pu voir le jour. Merci d'accepter le témoignage de notre profond respect et de notre gratitude.

A nos maîtres d'internat,

Professeur Boutroy, votre disponibilité et votre soutien ont été précieux tout au long de mon internat

Professeur Judlin

Professeur Guillemin

Professeur Marchal

Professeur Foliguet

Dr Manini

Dr Welter

Dr Verhaeghe

Dr Koebele

Dr Tortuyaux

Dr Zaccabri

Dr Morel, vos enseignements lors de mon séjour dans votre service ont été précieux

Merci aux docteurs Bach, Barbarino, Colin, Dalhoff, Delaporte, Eszto, Ferdilus, Fresson, Guillet-May, Miton, Moza, Nseir, Polet, Poulizac, Rauch, Rettel, Thiebaugeorges, Tisserant, Villeroy de Galhau, Werner pour leur confiance et leur enseignement

A Charlotte, merci pour ton soutien et ton implication dans ma formation

A Nadia, Fabienne et Thierry, merci pour vos précieux conseils et votre soutien

A Ouarda, Amandine, Mathieu, Elise, Laurent, Cathy, Nicolas, Jean-Baptiste, merci pour votre patience et votre bienveillance

Au Dr Forges, merci pour votre soutien lors de la préparation de ce travail de thèse

A Catherine Diligent, merci pour ton soutien, tes conseils et ton amitié

A Vincent Coevoet, un grand merci pour ton aide tout au long de ce parcours de préparation de thèse. Tes conseils ont été précieux, tu n'as jamais baissé les bras malgré les obstacles rencontrés. Tu as même réussi à me réconcilier avec les statistiques !

A mes parents,

Merci d'avoir toujours été là pour moi et de m'avoir soutenu tout au long de mon parcours en médecine

A Thibaut et Adeline,

Merci pour votre soutien et votre humour dans les moments difficiles

A mes beaux-parents,

A Delphine, Céline, Marion, Bruno, Sylvain

Merci d'avoir supporté mes sautes d'humeur pendant mon parcours d'interne

A Marie et Aline,

Merci pour tous ces bons moments passés ensemble et tous ceux qu'il y aura encore

A Joël,

Merci pour tout ce que tu m'as appris et pour ton amitié à l'égard de ma famille

A Marine,

Merci pour tes encouragements et ton amitié

A Anabela et Emilie,

Merci pour ces bons moments passés ensemble en stage et en-dehors

A mes amis Marina, Pascaline, Aude, Franck, Barbara, Madeleine et David, Audrey et Vincent...

Merci de m'avoir entourée toutes ces années

A toutes les équipes médicales et paramédicales de Gynécologie, Obstétrique, AMP, salle de naissance, biologie de la reproduction de la Maternité de Nancy, échographie,

A l'équipe du CHR de Bonsecours, de Thionville, du centre Alexis Vautrin, du CHR de Toul

Merci pour votre chaleureux accueil...

A Maryline et toute l'équipe du laboratoire d'AMP,
Merci pour vos précieux conseils

A tous mes co-internes de gynécologie-obstétrique, d'anesthésie, de pédiatrie, de
chirurgie...
Merci pour tous les bons moments passés ensemble

A tous ceux qui ont parsemé mon parcours d'interne d'enseignements divers, de conseils,
d'encouragements, de sourires... et que j'ai oublié de citer...
Merci

A Pierric et Charlie, avec tout mon amour

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

Table des matières

Table des matières	20
Introduction	23
1^{ère} partie : Rôle de la LH	25
Introduction	25
1. Physiologie, exploration fonctionnelle de la LH	26
a) Structure de la LH	26
b) Gènes de la LH	27
c) Synthèse, sécrétion et métabolisme	27
d) Régulation	28
e) Mécanismes d'action	31
f) Explorations fonctionnelles	33
2. Rappels physiologiques : la folliculogénèse	40
3. Rôle de la LH durant le cycle menstruel	44
a) La phase folliculaire précoce	44
b) La phase folliculaire tardive	44
c) Rôle de la LH au moment de l'ovulation	45
d) Rôle de la LH durant la phase lutéale	46
e) Rôle de la LH au niveau extra-gonadique	46
f) Conclusion	47
2^{ème} partie : indications puis description des FIV	49
Introduction	49
1. Indications des FIV classiques et FIV ICSI	50
a) Indications féminines	50
b) Indications masculines	51
c) Indication mixte	51
d) Echec d'inséminations intra-utérines	51
e) Infertilités idiopathiques	52
2. Indications plus spécifiques des FIV ICSI	53
a) Indications masculines	53
b) Indications mixtes : échecs de fécondation inexplicables en FIV conventionnelle	53

c) Diagnostic pré-implantatoire	54
3. Déroulement de la FIV	55
a) Déroulement de la stimulation ovarienne et du recueil ovocytaire	55
b) Le recueil du sperme et la préparation des spermatozoïdes	58
c) La mise en fécondation des ovocytes	61
d) La culture embryonnaire de J1 au transfert	64
e) Le transfert des embryons	68
f) La congélation des embryons surnuméraires	69
g) Le transfert des embryons congelés	71
3^{ème} partie : étude rétrospective sur l'apport de LH en FIV	73
Introduction	73
1. Matériels et méthodes	74
2. Résultats	77
a) Description de l'échantillon et des deux tentatives	77
b) Description des résultats de chaque tentative	81
c) Recherche de facteurs pouvant influencer la réponse des tentatives de FIV avec ou sans LH (analyse croisée)	84
d) Comparaison de l'efficacité des 2 protocoles	87
3. Discussion	90
Conclusion	96
4^{ème} partie : étude prospective	97
1. Mise en place de l'étude	97
a) Obtention de l'avis favorable de la Commission de Recherche, d'Ethique et d'Enseignement Médical (CREEM)	97
b) Obtention de l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes Est-III (CPP Est-III)	98
c) Obtention de l'avis favorable du référent CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés) de la Maternité Universitaire	99
2 . Déroulement de l'étude : patientes et méthodes	100
a) Objectifs et hypothèses	100
b) Type d'étude	100
c) Critères d'évaluation	101
d) Population	101
e) Données recueillies et source des données	102

f) Description du protocole	103
g) Traitement des données	106
h) Nombre de sujets nécessaires	107
i) Aspects logistiques et réglementaires.....	108
4. Premiers résultats.....	110
a) Premières inclusions.....	110
b) Premières difficultés.....	110
c) Premières solutions	111
Conclusion.....	112
Bibliographie	113
Liste des abréviations	119
FIGURES ET TABLEAUX	120
FIGURES	120
TABLEAUX.....	121
ANNEXE 1 : Fiche d'information.....	122
ANNEXE 2 : Bordereau de recueil de l'étude rétrospective	123
ANNEXE 3 : Bordereau de recueil de l'étude prospective	126

Introduction

L'Aide médicale à la Procréation est un domaine en plein essor depuis une vingtaine d'années. Selon le rapport annuel d'activité 2010 de l'Agence de Biomédecine, le nombre de tentatives de Fécondations In Vitro (FIV) est actuellement de 56 875 par an en France.

Les taux de succès sont cependant stables, avec environ 23,8 % de grossesses échographiques par tentative de FIV standard et 26,3 % par tentative de FIV avec Injection Intra-Cytoplasmique du Spermatozoïde (ICSI) [1]. Il existe notamment des sous-groupes de patientes pour lesquelles la stimulation ovarienne est particulièrement délicate. Il s'agit des patientes âgées (dont la proportion ne cesse d'augmenter) et des patientes dites « mauvaises » répondeuses.

Plusieurs pistes de recherche existent pour améliorer la réponse à la stimulation ovarienne. L'évolution de la recherche pharmaceutique a permis la synthèse de gonadotrophines recombinantes (FSH et LH). La FSH recombinante est utilisée exclusivement dans un grand nombre de stimulations ovariennes, aux dépens des associations de FSH et LH, comme la human Menopausal Gonadotrophine (hMG), par exemple. Or il subsiste actuellement de nombreuses zones d'ombre concernant le rôle exact de la LH et son caractère indispensable ou non lors des stimulations ovariennes en FIV.

L'objectif de notre travail était de faire le point sur les connaissances actuelles du rôle de la LH à travers une recherche bibliographique internationale.

Puis nous avons évalué l'intérêt d'une stimulation ovarienne mixte par FSH et LH recombinantes, par rapport à une stimulation par FSH recombinante uniquement. Chaque patiente incluse dans notre étude rétrospective était son propre témoin.

Le but de cette étude est de prouver que l'apport de LH en FIV permet d'obtenir de meilleurs résultats que dans les protocoles utilisant simplement de la FSH. Et ceci dans la population générale ou du moins dans certains sous-groupes (patientes âgées, mauvaises répondeuses...)

Enfin, nous nous sommes appuyés sur les résultats de l'étude rétrospective pour mettre en place une étude prospective actuellement en cours dans le service d'AMP de la Maternité.

Nous détaillerons les différentes étapes de la mise en place de cette étude, son protocole de déroulement et les premières difficultés rencontrées depuis le début des inclusions.

1^{ère} partie : Rôle de la LH

Introduction

Au cours des deux dernières décennies, deux évènements ont contribué à creuser l'écart entre la dynamique hormonale de la stimulation ovarienne et celle du cycle menstruel. Tout d'abord, lors de la stimulation ovarienne, la suppression profonde des gonadotrophines endogènes par les agonistes de la GnRH a conduit à restaurer l'environnement hormonal nécessaire à une maturation et une stéroïdogénèse adéquates des follicules. Ensuite, des préparations gonadotrophiniques de plus en plus pauvres en activité LH ont été employées dans l'idée que la seule action de la FSH pourrait suffire au développement et à la maturation des follicules [2, 3].

Actuellement, on assiste à un regain d'intérêt pour le rôle de la LH pendant le développement folliculaire, dans le but d'optimiser la qualité de la stimulation ovarienne.

Nous avons voulu faire une synthèse des données anciennes concernant le rôle biologique de la LH sur le follicule ovarien, et des données plus récentes acquises grâce aux progrès scientifiques et thérapeutiques...

1. Physiologie, exploration fonctionnelle de la LH

a) Structure de la LH

Les deux gonadotrophines hypophysaires sont la Luteinizing Hormone (LH) et la Follicle Stimulating Hormone (FSH). Ce sont des hormones glycoprotéiques, formées de deux sous-unités α et β reliées par des liaisons non covalentes.

La **sous-unité α** est formée de 92 acides aminés. Elle est commune à LH, FSH, mais aussi à TSH et à hCG.

La **sous-unité β** est formée de 121 acides aminés pour LH et 118 pour FSH. C'est elle qui confère la spécificité biologique et immunologique de l'hormone, mais la formation de l'hétérodimère est essentielle à l'activité biologique.

La structure tridimensionnelle des sous-unités est déterminée par les résidus cystéines qui forment cinq ponts disulfures dans la sous-unité α et six dans la sous-unité β .

Il existe 82% d'homologie entre les sous-unités β de l'hCG et la LH, 40% entre les sous-unités de FSH et TSH et une moindre homologie entre les sous-unités α et β [4] (cf Figure 1).

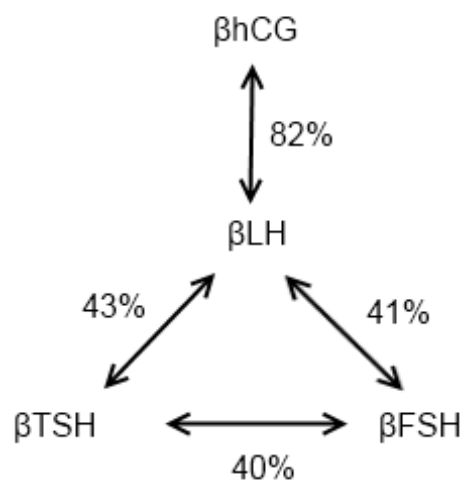


Figure 1 : Homologie entre les sous-unités β des gonadotrophines, de l'hCG et de la TSH

b) Gènes de la LH

Le gène de la sous-unité α a été identifié par Fiddes et Goodman [5]. Il est situé sur le chromosome 6, région q21-q23, composé de quatre exons et quatre introns. Sa taille est de 9,4 kilopaires de base.

Le gène de la sous-unité β -LH appartient à une famille de 8 gènes dont un seul code pour la LH [6]. Les sept autres sont des gènes ou pseudogènes de la sous-unité β -hCG, dont trois seulement sont fonctionnels. Ils sont situés dans la région q13.32 du chromosome 19. La taille du gène β est d'environ 1.5 kilopaires de base et comporte trois exons et deux introns.

c) Synthèse, sécrétion et métabolisme

Les sous-unités α et β sont synthétisées sous forme de préhormones contenant un peptide signal d'environ 20 AA. Ce peptide hydrophobe permet l'ancrage du polypeptide en cours d'élongation dans la lumière du réticulum endoplasmique granuleux où débute la glycosylation des sous-unités. L'apparition du dimère α - β se fait dans le réticulum endoplasmique, 10 à 30 minutes après la biosynthèse. La maturation des chaînes glycaniques commence alors, pour se terminer dans l'appareil de Golgi. La glycosylation est indispensable pour l'effet biologique de l'hormone mais pas pour la liaison de l'hormone à son récepteur [7] ; elle jouerait aussi un rôle dans la stabilité de l'hormone. Les formes sécrétées dans le milieu apparaissent 1 à 3 heures après leur synthèse. Les sous-unités α sont sécrétées en excès donc circulent librement sous forme inactive. La synthèse du dimère est ainsi limitée par le taux de sous-unité β .

La LH est stockée dans des granules de sécrétion qui sont formés au niveau du réseau trans-golgien puis qui migrent jusqu'à la périphérie de la cellule. Sous l'effet d'un stimulus sécrétoire, les granules libèrent leur contenu dans la circulation par exocytose. La pulsatilité de la sécrétion de LH est connue depuis 1971 [8]. Elle est un reflet indirect de la pulsatilité de la GnRH [9].

La demi-vie plasmatique des gonadotrophines hypophysaires est courte : 20 minutes pour la LH et 60 minutes pour la FSH. Le catabolisme est hépatique après désialylation et l'élimination est urinaire ou par internalisation au niveau des organes cibles, suivie d'une dégradation lysosomiale.

d) Régulation

- La GnRH

La GnRH est un décapeptide hypothalamique de dix AA (cf Figure 2), synthétisé principalement dans le noyau arqué et l'aire pré-optique. Elle est sécrétée de façon pulsatile au niveau de l'éminence médiane de l'hypothalamus dans le système porte hypothalamo-hypophysaire jusqu'à l'antéhypophyse.

La fréquence des pulses varie en fonction des phases du cycle menstruel : elle augmente en effet en milieu de phase folliculaire et en période pré-ovulatoire [10]. L'amplitude des pulses n'augmente quant à elle qu'en phase pré-ovulatoire, grâce au rétrocontrôle positif de l'oestradiol à cette phase du cycle.

La GnRH n'est pas dosable dans le sang périphérique en raison d'une courte demi-vie (2 à 8 minutes) et de faible quantité. Au niveau hypophysaire, elle se lie au récepteur de la GnRH et stimule la synthèse et la sécrétion des gonadotrophines.

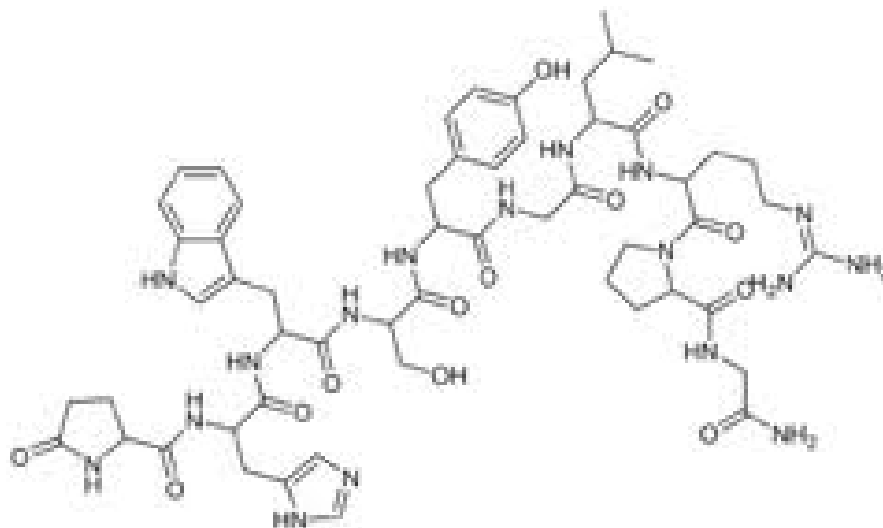


Figure 2 : Schéma de la GnRH

La pulsatilité de sécrétion de la GnRH est essentielle, car une administration continue entraîne une diminution du nombre de récepteurs hypophysaires et donc une diminution de la sécrétion des gonadotrophines [11]. C'est ce phénomène de désensibilisation qui est utilisé en FIV dans les protocoles longs avec agoniste de la GnRH. Cette désensibilisation est cependant précédée d'une décharge initiale importante de LH et FSH (le « flare-up ») par stimulation des récepteurs de la GnRH, jusqu'à leur saturation puis internalisation.

Le récepteur de la GnRH est une glycoprotéine appartenant à la superfamille des récepteurs à sept domaines transmembranaires et caractérisée par une absence de domaine intracellulaire. Ce récepteur est couplé aux protéines G et à des canaux calciques. Sa masse moléculaire est d'environ 60 kDa. Il existe plusieurs mutations du gène du récepteur de la GnRH pouvant aller jusqu'à entraîner des hypogonadismes hypogonadotropes [12, 13].

- L'oestradiol

Les effets de l'oestradiol sur la sécrétion des gonadotrophines sont complexes et biphasiques chez la femme : le rétrocontrôle est négatif, sauf au moment du pic ovulatoire. Ce rétrocontrôle s'exerce probablement au niveau hypothalamique et hypophysaire [14]. Lors du pic ovulatoire, l'action positive de l'oestradiol a lieu par le biais d'une augmentation de la fréquence des pulses de GnRH au niveau hypothalamique et une augmentation du nombre de récepteurs de l'hypophyse à la GnRH [15].

Si l'on administre expérimentalement un anti-oestrogène en phase lutéale (du citrate de clomiphène, par exemple), celui-ci exercera un rétrocontrôle positif sur la sécrétion des gonadotrophines [16].

- La progestérone

La progestérone exerce deux activités différentes selon la période du cycle. En période pré-ovulatoire, la synthèse de progestérone folliculaire par les cellules de la granulosa augmente l'amplitude des pics de gonadotrophines, en facilitant l'effet stimulant de l'oestradiol [17]. Puis, lors de la phase lutéale où les taux de progestérone sont les plus élevés

grâce à la synthèse par le corps jaune, elle entraînerait de manière synergique avec l'oestradiol la diminution de fréquence des pulses de GnRH et donc de LH constatée pendant cette période du cycle [18, 19].

- La testostérone

La testostérone joue également un rôle important dans la contre-régulation des gonadotrophines. L'inhibition de la LH est préférentiellement hypothalamique par ralentissement des pulses de LH [20].

- Inhibines, activines et follistatines

Les **inhibines** sont des hétérodimères protéiques constitués de deux sous-unités. L'inhibine A est constituée d'une sous-unité α et d'une sous-unité βA alors que l'inhibine B est constituée de la même sous-unité α et d'une sous-unité βB . Les inhibines sont synthétisées dans l'ovaire par les cellules de la granulosa des follicules pré-antraux et antraux et dans les cellules de la thèque interne. L'inhibine B inhibe au niveau hypophysaire la synthèse et la sécrétion de FSH, mais son rôle vis à vis de la LH est plus incertain. Elle favoriserait son action de synthèse d'androgènes pendant la phase folliculaire et de production de progestérone en phase lutéale [21].

Les **activines** sont constituées d'un dimère de deux sous-unités β . Elles sont également synthétisées dans l'ovaire et leur action principale sur la LH consiste à freiner la sécrétion de progestérone.

La **follistatine** est une chaîne polypeptidique glycosylée simple, avec une homologie structurale avec l'human epithelial growth factor. Elle a la capacité de se fixer à l'activine pour neutraliser son effet biologique, et donc inhiber la production d'oestrogènes par les cellules de la granulosa [21].

- Régulation centrale

La balance énergétique et le statut nutritionnel jouent un rôle majeur dans la fertilité [22]. Les **dénutritions** peuvent s'accompagner d'aménorrhées par diminution de la sécrétion de

GnRH et du taux de FSH et LH. La pulsatilité de la LH est notamment influencée par les apports caloriques, puisque la fréquence des pulses diminue et l'amplitude augmente en dessous d'un certain seuil d'apports caloriques [23]. A l'opposé, l'**obésité** s'accompagne d'une augmentation de la fréquence des pulses, mais d'une baisse de leur amplitude [24].

Il existe un lien évident entre le taux de **leptine** (hormone sécrétée par les adipocytes, dont le taux est directement corrélé à l'indice de masse corporelle), la sécrétion de LH dans les cellules gonadotropes hypophysaires et le métabolisme de base [25-27]. D'autres hormones, telle que l'**adiponectine** (de la famille des adipocytokines) [28] ou la **ghréline** [29] jouent probablement également un rôle régulateur des gonadotrophines.

e) Mécanismes d'action

- Récepteur de la LH

Le **récepteur de la LH** a une structure comparable à celle des autres récepteurs transmembranaires couplés à la protéine G. Il a la particularité de posséder un domaine extra-cellulaire, site de liaison à l'hormone, très long. Il possède un domaine transmembranaire à sept hélices et un domaine intracellulaire lié à la protéine G (cf. Figure 3).

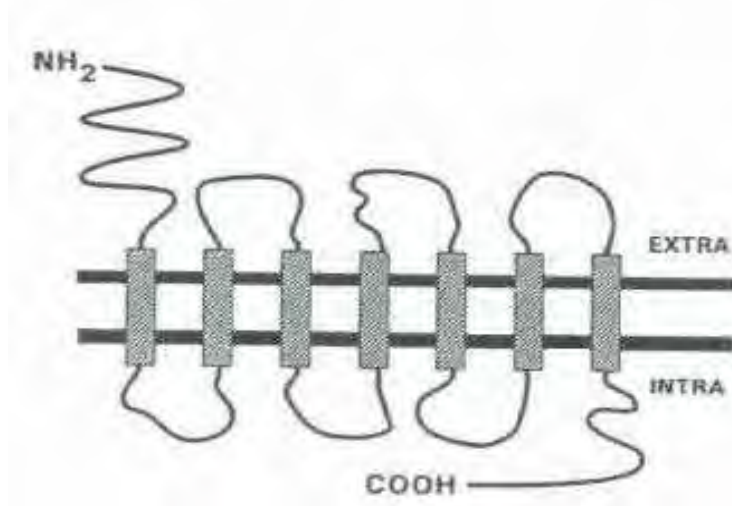


Figure 3 : schéma du récepteur de la LH

Le récepteur de la LH est commun à la LH et à l'hCG [30]. C'est une glycoprotéine membranaire de 669 AA et de 85 à 95 kDa, d'abord sécrété sous la forme d'un précurseur dans le réticulum endoplasmique. Il est présent sur les cellules de la thèque interne, sur les cellules de la granulosa à partir du stade préovulatoire chez la femme (et sur les cellules de Leydig chez l'homme). Il est également présent dans d'autres tissus (utérus, trompes, cerveau, parois vasculaires...) où son rôle n'est pas connu.

Le **gène du récepteur** de la LH est situé sur le bras court du chromosome 2 en 2p21. Sa taille est d'environ 80 kb et il est constitué de 10 introns et 11 exons.

Des **mutations activatrices** du gène du R-LH ont été décrites chez des hommes de 8 familles différentes présentant une puberté précoce avec des taux de LH pré-pubertaires [31].

Il existe à l'opposé des **mutations inactivatrices** du gène du R-LH avec des phénotypes très variables. Chez les femmes, il existe notamment des formes d'aménorrhées primaires avec des ovaires morphologiquement normaux, mais une résistance complète à la LH [32]. Chez les hommes, le tableau clinique varie du pseudohermaphrodisme complet [33] à des formes plus modérées avec micropénis et hypospadias [34].

- Evolution au cours de la vie

Chez le **foetus**, la GnRH est décelable dans l'hypothalamus dès 8 semaines d'aménorrhée (SA) [35]. Les cellules gonadotropes hypophysaires sont décelables dès la 10^{ème} SA et elles synthétisent alors la sous-unité α . La sous-unité β -LH est décelable chez la fille à partir de 16 SA. Les taux sériques de LH (et de FSH) augmentent progressivement pour atteindre un pic à 20 SA environ puis diminuent à nouveau dans la deuxième partie de la grossesse, avec la sécrétion de stéroïdes sexuels par la gonade fœtale, l'augmentation des taux d'oestrogènes maternels et le développement des mécanismes de feedback négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire par les stéroïdes sexuels.

Chez le **nourrisson**, l'axe hypothalamo-hypophysaire est activé pendant les 4 à 6 premiers mois après la naissance. Les décharges sécrétoires de LH ont une amplitude comparable à celle de l'adulte. Après 6 mois, il existe une phase de quiescence jusqu'à la puberté : les taux de FSH et LH sont effondrés, le rythme des pulses est lent, le seuil de rétrocontrôle négatif des stéroïdes sexuels est bas.

Lors de la **puberté**, chez la fille, le taux de FSH augmente avant celui de la LH. Puis la FSH atteint un plateau à mi-puberté et seule la LH continue d'augmenter. L'élévation des gonadotrophines commence bien avant l'apparition des signes cliniques de la puberté, vers l'âge de 8 ou 9 ans. Il existe des variations circadiennes : au moment de la puberté apparaît un rythme nyctéméral ; la sécrétion des gonadotrophines est nocturne, associée au sommeil paradoxal, et devient maximale à mi-puberté. Puis progressivement s'installe une sécrétion diurne. La fréquence des pulses s'accélère, passant de 1 pulse toutes les 2-3 heures à 1 pulse toutes les 60 à 90 minutes. Ces modifications sont directement liées aux modifications nyctémérales puis circadiennes de GnRH (fréquence et amplitude), ainsi que secondairement au rétrocontrôle négatif exercé par les stéroïdes [36].

Chez la femme, lors de la **ménopause**, on assiste à une élévation prédominante de FSH par rapport au taux de LH, qui débute bien avant que le stock folliculaire ne soit épuisé, suggérant l'existence de mécanismes hypothalamiques [37] associés à la diminution du rétrocontrôle négatif périphérique. L'amplitude des pulses de LH et FSH diminue également, ceci suite à une baisse des sécrétions de GnRH ou à une diminution de la réponse à la GnRH [38].

f) Explorations fonctionnelles

- Méthodes de dosage

La LH est dosée aujourd'hui par des méthodes **immunométriques** dites « sandwich » qui utilisent deux anticorps généralement monoclonaux : un anticorps de capture et un anticorps « marqué ». Les marqueurs les plus souvent utilisés sont enzymatiques, fluorescents, luminescents ou radioactifs [39].

Il existe plusieurs types d'étalons, réalisés à partir de préparations hypophysaires purifiées.

La **spécificité** du dosage de LH est bonne, car les anticorps monoclonaux sont dirigés contre la sous-unité β , sans interférence avec les dosages de la TSH, de la FSH ou de l'hCG même présentes en quantité importante.

Les deux sous-unités de la LH sont porteuses d'une partie glucidique indispensable à leur stabilité dans le plasma et à leur action hormonale. Il existe une grande hétérogénéité de leur chaîne glucidique avec notamment un nombre variable d'acides sialiques qui va modifier la demi-vie [40]. Ainsi, suivant les couples d'anticorps monoclonaux utilisés, certaines formes de LH circulantes seront reconnues préférentiellement à d'autres. Cette hétérogénéité explique en grande partie la disparité des résultats obtenus entre immunodosages.

Le dosage de la LH est, comme tout immunodosage, sujet à « pièges ». Si l'épitope reconnu par l'un des anticorps a perdu sa structure native suite à une mutation, il ne sera plus reconnu par l'immunodosage mais pourra avoir conservé son activité biologique. Il a ainsi été décrit des formes de LH « invisible », indétectables mais avec une bioactivité tout à fait normale [41].

La **sensibilité** du dosage varie suivant l'immunodosage utilisé.

La **reproductibilité** varie entre 3 et 8% selon les méthodes automatisées [39].

Le dosage de la LH est généralement réalisé en début de phase folliculaire, à J2 ou J3.

Il peut également être réalisé pour surveiller l'apparition du pic préovulatoire lors des cycles de stimulation ovarienne. La périodicité et la pulsatilité de ces hormones peuvent rendre difficile l'interprétation d'un seul dosage et l'on conseille parfois la réalisation de trois dosages de 3 à 10 minutes d'intervalle.

Les résultats doivent toujours être interprétés en fonction du contexte clinique, de la phase du cycle et du taux d'oestradiol.

Les normes varient selon les laboratoires et les kits de dosage.

L'analyse de la **pulsatilité** de la LH est rarement réalisée en pratique courante en raison de la complexité des méthodes d'analyse et de la fréquence des prélèvements (toutes les 10 minutes pendant 6 heures au minimum). Elle se fait uniquement dans des services hospitaliers spécialisés, dans le cadre de l'exploration d'un syndrome des ovaires polykystiques. En effet, en cas de SOPK, il existe une augmentation de l'amplitude et de la fréquence des pulses.

Les gonadotrophines sont excrétées dans les urines avec un délai d'environ 24 heures par rapport à leur présence dans le plasma. Cette donnée doit être prise en compte si l'on cherche par ce dosage à détecter le pic pré-ovulatoire de LH. Il existe sur le marché des **tests urinaires** à faire à domicile. Ils sont cependant onéreux et peu précis.

- Tests dynamiques

Les deux tests suivants ne sont plus utilisés en pratique dans l'exploration de l'infertilité féminine. Ils ne sont pas considérés comme « utiles » dans la prise en charge du couple infertile, d'après les dernières recommandations de 2010 du Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français [42].

Test au LH-RH

Ce test permet d'explorer la fonction gonadotrope hypophysaire. Il teste la capacité de réponse de l'hypophyse à un apport exogène et ponctuel de GnRH et présente un intérêt dans au moins 2 situations en endocrinologie :

- Lors de l'exploration de la période péripubertaire, il permet de situer la maturation du gonadostat (système d'équilibrage du développement des gonades) en considérant la valeur et les rapports des pics de FSH et LH
- En cas de dystrophie ovarienne polykystique, il est capable de sensibiliser la recherche d'une hypertonie de la LH caractéristique de ce syndrome et qui a une grande valeur pronostique pour le traitement des troubles de l'ovulation

L'injection de LH-RH (25 à 150 µg chez l'adulte) est intraveineuse. Elle est réalisée en début de phase folliculaire chez une patiente ayant des cycles menstruels. Les prélèvements pour dosage de la FSH et LH sont faits aux temps T-15 min, T0, T15 min, T30, T60, T90 et T120.

Chez un sujet normal, le pic de LH apparaît vers 30 minutes et celui de FSH vers 60 minutes, pour atteindre des valeurs de 3 à 5 fois la valeur de base pour la LH et 1.5 à 3 fois pour la FSH (cf. Tableau I)

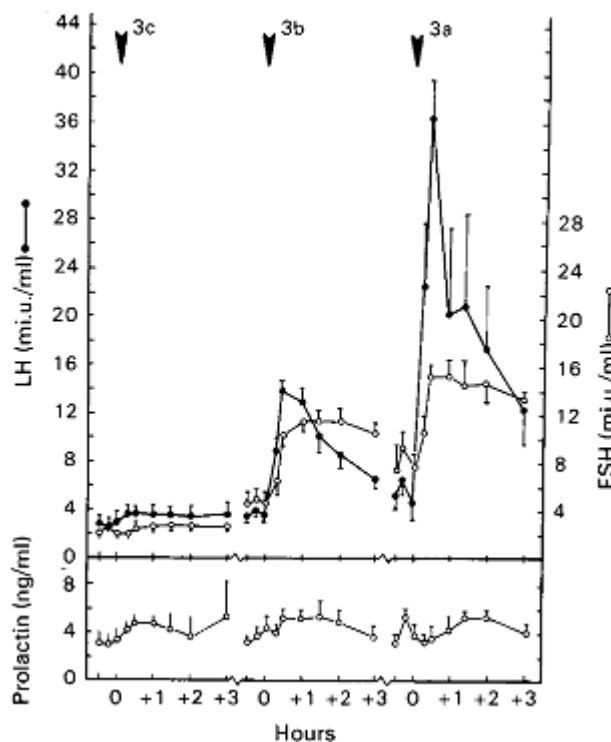
Valeurs de base	Réponse	Cas clinique
FSH normale	FSH : x 1,5 à 3	Normal
LH normale	LH : x 3 à 5	
FSH normale ou basse	FSH : réponse faible ou nulle	Hypopituitarisme (idiopathique, vasculaire ou tumoral)
LH normale ou basse	LH : réponse faible ou nulle	
FSH normale ou basse	FSH : réponse normale ou forte	Réponse de type prépubertaire
LH normale ou basse	LH : réponse faible ou nulle	Certaines anorexies mentales ou aménorrhées «psychogènes»
FSH élevée	FSH : réponse +/- explosive	Hypogonadisme ovarien
LH élevée	LH : réponse +/- explosive	Ménopause
FSH normale	FSH : réponse normale	Syndrome des ovaires polykystiques
LH normale ou élevée	LH : réponse explosive	

Tableau I : Réponses caractéristiques au test à la LH-RH

La réponse au test permet de classer les aménorrhées hypothalamiques présentant un test aux progestatifs négatif en trois classes distinctes, d'après Leyendecker (cf. Figure 4) :

- type 3a : réponse « adulte »
- type 3b : réponse « pré-pubertaire »
- type 3c : pas de réponse [43]

Pulsatile Gn-RH treatment of amenorrhoeic women



D'après Leyendecker, G. and L. Wildt, Induction of ovulation with chronic intermittent (pulsatile) administration of Gn-RH in women with hypothalamic amenorrhoea. J Reprod Fertil, 1983. 69(1): p. 397-409.

Figure 4 : Réponses des sécrétions de LH, FSH et prolactine après un bolus de 100 µg de GnRH chez des patientes en aménorrhée d'origine hypothalamique

Il faut toutefois nuancer les résultats de ce test dans le cadre de l'exploration d'une aménorrhée secondaire car il est peut y avoir des réponses paradoxales fortes en cas d'anorexie mentale hypoestrogénique, en rapport très probablement avec la libération d'une réserve ancienne des cellules gonadotropes, ou bien au contraire des réponses nulles en raison de l'absence de sensibilisation récente mais pouvant facilement être sensibilisé par un apport pulsatile préalable de LHRH.

La valeur localisatrice (hypothalamique ou hypophysaire) de ce test est très discutée. En effet, le test à la GnRH permet théoriquement de préciser le mécanisme, primitivement hypothalamique ou hypophysaire, de l'insuffisance gonadotrope. Une réponse ample et retardée de la LH oriente vers une atteinte hypothalamique alors que l'absence de toute stimulation suggère l'existence d'une atteinte hypophysaire. Néanmoins, une absence de réponse peut être observée après déficit prolongé en GnRH responsable d'une inertie sécrétoire des cellules gonadotropes au sein desquelles la GnRH stimule l'expression de son propre récepteur. En cas de doute, une atteinte hypophysaire primitive peut alors formellement être écartée en administrant de la GnRH à la pompe, et ceci sur un mode pulsatile pendant une durée moyenne d'une semaine. Le retour du taux des gonadotrophines à des valeurs normales témoigne bien de l'atteinte hypothalamique.

Test au citrate de clomifène

Ce test permet d'explorer la fonction gonadotrope féminine dans son ensemble.

Le citrate de clomifène (Clomid®) est un anti-œstrogène qui supprime le rétrocontrôle négatif exercé par l'oestradiol sur l'hypothalamus et l'hypophyse, par liaison compétitive aux récepteurs centraux de l'œstrogène. Ce test nécessite donc, pour être positif, que le rétrocontrôle hypothalamique soit fonctionnel et que l'hypophyse ait la capacité de répondre à la stimulation par la GnRH.

La patiente testée doit prendre 100 mg de Clomid® (2 comprimés) per os du 3^{ème} au 5^{ème} jour du cycle. La LH et la FSH sont dosées dans le sang le jour du début du traitement, puis 6 ou 10 jours plus tard. Il est également possible de rechercher la survenue d'une ovulation par la lecture de la courbe ménothermique, voire d'apprécier l'activité sécrétoire du corps jaune par le dosage de la progestérone plasmatique.

Ce test simple est pratiqué en ambulatoire sans surveillance particulière. Sa principale complication est le développement multifolliculaire et le risque de grossesse multiple. Il faut donc s'assurer de l'utilisation par la patiente d'une contraception mécanique en dehors d'un désir de grossesse. Dans le cas contraire, il est nécessaire de réaliser une échographie pelvienne pour connaître le nombre exact de follicules pré-ovulatoires présents et l'épaisseur de l'endomètre.

Le Clomid® peut également présenter dans de rares cas une toxicité oculaire imposant l'arrêt immédiat et définitif du traitement.

Il existe 3 types de réponse possibles lors de la réalisation de ce test :

- réponse positive : l'augmentation de la FSH et de la LH (respectivement 50% et 85% par rapport à la basale) est suivie d'une ovulation puis d'un décalage thermique. L'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien est fonctionnel. La fin du cycle est marquée par des règles.

- réponse négative : il n'existe aucune modification de la concentration des gonadotrophines, pas de décalage thermique, pas d'hémorragie de privation. Il s'agit d'une insuffisance hypothalamique ou hypophysaire. Il faut dans ce cas poursuivre l'exploration par un test au GnRH.

- réponse dissociée : l'augmentation de la FSH et de la LH est suffisante pour entraîner une sécrétion modeste d'E2 mais insuffisante pour déclencher une ovulation. Une hémorragie de privation peut se produire malgré tout.

En conclusion, une réponse positive affirme l'intégrité de l'axe hypothalamo-hypophysaire alors qu'une réponse négative ou dissociée ne permet pas de connaître l'origine hypothalamique ou hypophysaire de l'aménorrhée.

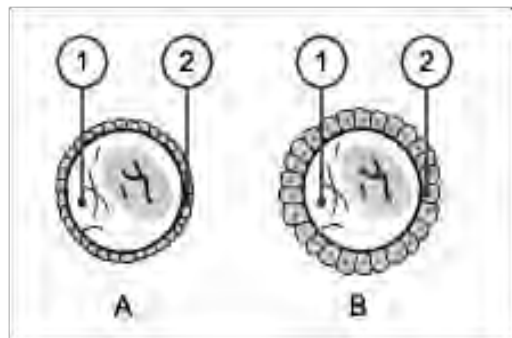
2. Rappels physiologiques : la folliculogénèse

Dans l'espèce humaine, le développement folliculaire est un processus lent. Les follicules humains commencent à se former chez le fœtus féminin pendant le quatrième mois de la grossesse [44]. A la naissance, chaque ovaire contient entre 266 000 et 472 000 follicules qui constituent la réserve des follicules ovariens. Des follicules entrent en croissance de façon permanente depuis la vie fœtale jusqu'à la ménopause. Durant cet intervalle de temps, seuls 300 à 400 follicules ovuleront et se transformeront en corps jaune.

Les facteurs responsables du démarrage de la croissance folliculaire, caractérisé par la sortie du follicule du pool primordial, restent obscurs. Sur le plan morphologique, le follicule primordial est constitué d'un ovocyte entouré d'une couche unique de cellules de la granulosa (CG) aplaties. Les premiers signes de la croissance folliculaire sont l'augmentation de la taille de l'ovocyte, la formation d'une zone pellucide riche en glycoprotéines et la modification de la forme des CG qui deviennent cubiques (cf. Figure 5).

Bien que la période exacte de formation des cellules de la thèque (CT) pendant la folliculogénèse reste controversée, il semblerait qu'elles soient déjà présentes pendant des phases très précoces du développement folliculaire. Au contraire des CG, dont l'origine est épithéliale, les CT dérivent du tissu mésenchymateux qui entoure les follicules. La présence des cellules mésenchymateuses qui formeront ultérieurement la thèque est observée avant même le démarrage de la folliculogénèse, dans la périphérie des follicules primordiaux.

Le maintien des follicules primordiaux en état de repos semble être assuré par l'inhibition constante de leur croissance par des facteurs d'origine systémique ou locale. La levée des facteurs inhibiteurs et l'augmentation des facteurs stimulateurs, dont la nature reste à déterminer, permet l'initiation de la croissance folliculaire avec le passage du stade primordial au stade primaire. Le rôle direct ou indirect des gonadotrophines hypophysaires pendant cette période, sans être nul, semble être minime.



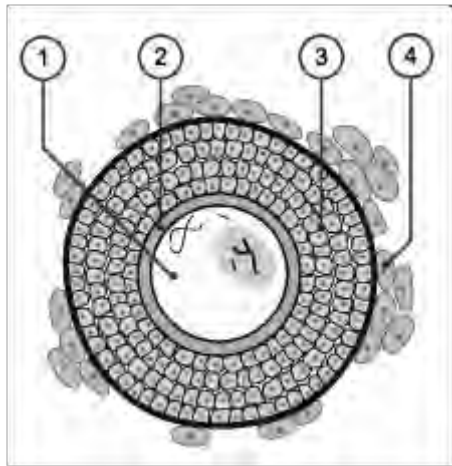
Swiss virtual Campus / embryologie humaine, ovogénèse

Figure 5 : Schéma du développement du follicule primordial en follicule primaire

A partir du stade primaire, les follicules subissent des modifications morphologiques et fonctionnelles notables. Les CG des follicules secondaires sont beaucoup plus différenciées, montrant des caractéristiques de cellules épithéliales et se disposant en couches autour de l'ovocyte (cf. Figure 6). Les cellules mésenchymateuses de la thèque se condensent autour des CG et une vascularisation rudimentaire apparaît. Puis quelques cellules de la thèque acquièrent un aspect épithélioïde et le follicule devient pré-antral (cf. Figure 7).

Il est alors entouré d'une thèque externe, composée de cellules fibroblastiques et d'une thèque interne (TI), en contact avec la lame basale et renfermant des cellules épithélioïdes et leurs cellules souches [44]. A chaque moment du cycle, des follicules deviennent préantraux. Bien que l'on ignore si ce processus est continu ou pulsatile, il donne naissance à des cohortes de follicules qui se développeront en relative synchronie. A partir du stade préantral, 70 jours seront nécessaires au follicule pour qu'il devienne sélectionnable. En fin de phase lutéale, il y a environ 3 à 11 follicules sélectionnables par ovaire.

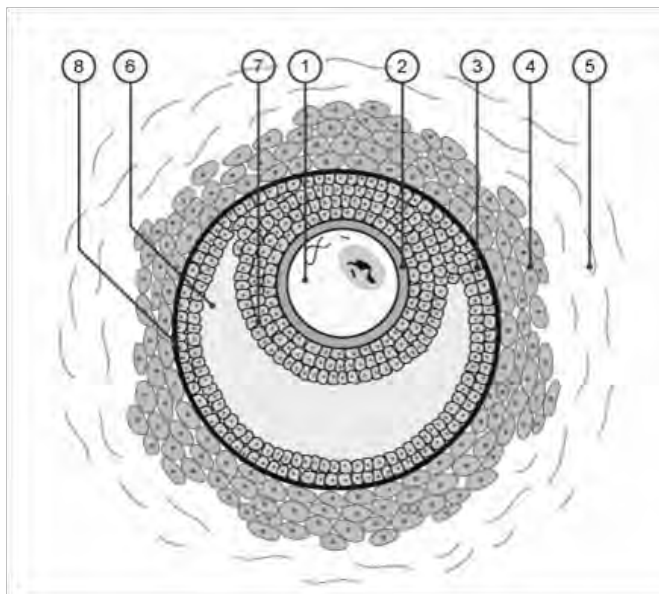
Au début de la phase folliculaire, le plus grand follicule sain est sélectionné. Son diamètre est compris entre 5 et 8 mm et ses CGs sont le siège d'une intense activité mitotique résultant dans une augmentation considérable du nombre de CGs. La taille du futur follicule ovulatoire augmente fortement : il passe de 7 à 19 mm en fin de phase folliculaire.



1. Ovocyte/ovule
2. Zone pellucide
3. Granulosa
4. Thèque

Swiss virtual Campus / embryologie humaine, ovogénèse

Figure 6 : Schéma d'un follicule secondaire



1. Ovocyte/ovule
2. Zone pellucide
3. Granulosa
4. Thèque interne
5. Thèque externe
6. Cavité folliculaire
7. Cumulus oophorus
8. Membrane basale entre thèque et couche granuleuse

Swiss virtual Campus / embryologie humaine, ovogénèse

Figure 7 : Schéma d'un follicule tertiaire

Pendant le long processus de folliculogénèse qui s'étendra sur 85 jours environ, la communication paracrine entre l'ovocyte et les cellules qui l'entourent demeure fondamentale. Dès les phases ultra-précoces jusqu'aux phases ultimes du développement folliculaire, l'ovocyte déterminera toute une série de fonctionnalités des CG comme leur division cellulaire et l'expansion du cumulus. Sur le plan endocrinien, la stéroïdogenèse folliculaire et la formation des récepteurs de la LH semblent également être influencées par des signaux ovocytaires.

Le moment exact de **l'expression des récepteurs des gonadotrophines** pendant la folliculogénèse reste incertain. Les récepteurs de la LH seraient absents pendant les stades primordial et primaire pour n'apparaître qu'à partir du stade secondaire au niveau de la thèque, concomitamment à l'apparition de cellules épithélioïdes et en réponse à des signaux paracrines folliculaires. Dotés d'une structure moléculaire analogue, les récepteurs de la FSH apparaissent à la même période au niveau des CG. La liaison LH-récepteur s'intensifie progressivement tout au long de la croissance folliculaire, suggérant une augmentation correspondante du nombre de récepteurs de la LH dans les CT. La distribution de ces récepteurs respecte un gradient décroissant depuis la lame basale jusqu'à l'antrum.

Plusieurs études ont démontré que moins d'1 % des récepteurs de la LH ont besoin d'être occupés pour obtenir une stéroïdogénèse optimale [45].

3. Rôle de la LH durant le cycle menstruel

a) La phase folliculaire précoce

Dans cette première partie de la phase folliculaire, la LH exerce ses effets sur les seules cellules de la thèque interne qui possèdent un récepteur de LH constitutivement présent [46]. La LH stimule la 17 α -hydroxylase de la thèque interne, enzyme convertissant la progestérone en androgènes. Ces androgènes peuvent agir en tant que tels ou après conversion en oestrogènes (=aromatisation) dans la granulosa sous l'action de la FSH. **Le rôle de ces androgènes est essentiel** puisqu'ils stimulent de façon importante la croissance folliculaire grâce à des signaux paracrines [47].

Le rapport entre diamètre folliculaire et production d'oestradiol, inexistant avant que les follicules n'atteignent la taille de 10 mm, est observé à partir de la fin de cette phase folliculaire précoce [48]. Plus les follicules sont avancés, plus ils sont capables de produire des taux élevés de facteurs de croissance autocrines et paracrines, tels que les facteurs de croissance insulin-like (IGFs) et le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), qui les rendent plus sensibles à la FSH et plus vascularisés.

Les androgènes convertis en oestrogènes au niveau de la granulosa ont une action sur les organes cibles périphériques : endomètre, glaire cervicale.

Ces oestrogènes permettent notamment une prolifération des cellules épithéliales et stromales de l'endomètre (phase proliférative). Ils permettent également une augmentation de l'épaisseur du myomètre [49] et une prolifération cellulaire au niveau vaginal entraînant une baisse du nombre de leucocytes et de bactéries. Enfin au niveau cervical, l'orifice externe est bien ouvert avec une glaire abondante, filante, alcaline, composée d'un maillage lâche qui favorise le passage des spermatozoïdes.

b) La phase folliculaire tardive

En réponse au signal de départ donné par l'élévation intercycle de FSH, la douzaine de follicules sélectionnables va se développer rapidement, entraînant l'augmentation de la

production d'oestrogènes et d'inhibines ainsi que la diminution de la sécrétion de FSH. Pour des raisons mal établies, un seul des follicules de la cohorte sélectionnable, en général le plus gros et dont le seuil de sensibilité est le plus bas, se développera plus vite au détriment des autres, qui deviendront atrétiques.

Lorsque la sélection folliculaire a été accomplie, **la LH peut exercer ses effets à la fois sur les cellules de la thèque interne et sur les cellules de la granulosa** où le récepteur de la LH est apparu sous l'influence de la FSH. Une participation de la LH dans l'induction de ses propres récepteurs est aussi probable. Dès lors, cet effet direct propre de la LH sur la granulosa pourrait conditionner la **survie du follicule dominant** face aux taux décroissants de FSH [50].

De plus, à partir de cette phase, la LH participe directement à la **stimulation de l'activité aromatasé** dans les CG et à la **production d'oestradiol** [51]. Sur le plan endocrinien, il existe une augmentation progressive des taux circulants de LH qui coïncide avec la chute de la FSH en phase folliculaire tardive.

En revanche, **ses effets sur la maturation ovocytaire sont encore incertains**. On sait, en effet, par différentes études cliniques qu'un taux excessif de LH pourrait avoir un effet défavorable sur le devenir des grossesses avec une augmentation significative des taux de fausses-couches spontanées [52-54]. Mais on sait également que si le développement folliculaire jusqu'au stade pré-ovulatoire peut se faire sans LH, il y aura en revanche une diminution des concentrations de stéroïdes qui va empêcher la maturation ovocytaire optimale [55] ainsi que le développement de l'endomètre [56, 57].

c) Rôle de la LH au moment de l'ovulation

Le taux de LH commence à augmenter 3 à 4 jours avant le pic de l'ovulation pour aboutir au *LH-surge initiating rise* qui correspond à l'élévation de 180% du taux basal de LH, précédant de 35 à 37 heures l'ovulation. Le pic de LH s'étale sur 1 à 3 jours avec un taux de 15 à 25 mUI/mL. La fréquence et l'amplitude des *pulses* augmentent également à cette période.

Grâce au pic de LH, une **cascade pro-inflammatoire** est activée par le biais de prostaglandines et d'interleukines. Secondairement, des enzymes protéolytiques (plasminé) vont permettre la rupture des différentes couches de la thèque et **l'ouverture du follicule**

[57]. Le pic de LH permet également la **reprise de la méiose** au niveau de l'ovocyte et les changements au niveau des cellules folliculaires qui permettent la mise en place du **corps jaune** [2, 58]. Enfin, on a pu mettre en évidence expérimentalement l'activation par la LH d'une **cascade anti-inflammatoire** [47] (dont la transformation de la cortisone en cortisol) conduisant à la cicatrisation de la surface de l'ovaire après la rupture folliculaire.

d) Rôle de la LH durant la phase lutéale

La LH est essentielle au **maintien du corps jaune** qui assure la production des stéroïdes (oestradiol, progestérone), mais également de nombreux autres facteurs angiogéniques (VEGF) et des cytokines impliqués dans le processus d'**implantation**. Après la décharge ovulante, les cellules de la granulosa ne prolifèrent plus, entre autres sous l'action de la progestérone.

En thérapeutique, jusqu'à maintenant, c'est essentiellement l'hormone gonadotrophine chorionique (hCG) qui a été utilisée pour maintenir le corps jaune car elle est facilement disponible et l'affinité pour le récepteur de la LH est voisine de la LH elle-même [57]. Un des inconvénients majeurs de l'administration de l'hCG est sa longue demi-vie (48h) qui risque de provoquer des syndromes d'hyperstimulation ovarienne. C'est dans ces stimulations que la LH recombinante peut être utilisée. Du fait de sa demi-vie brève (6 à 8 h), elle réduit le risque d'hyperstimulation ovarienne mais avec probablement également une moindre efficacité pour le soutien du corps jaune [46].

e) Rôle de la LH au niveau extra-gonadique

Des données récentes suggèrent également la présence de récepteurs à la LH extra-gonadiques [59, 60]. C'est ainsi qu'il semble y avoir des récepteurs au niveau des cellules spermatiques, de l'utérus, du col, du placenta, de l'embryon, du cordon ombilical, du cerveau, de la peau, des seins, de la vessie, des os, de la prostate, des vésicules séminales, de l'épididyme, du sperme... Si la présence de ces récepteurs a pu être démontrée, le rôle de la LH en revanche reste flou (action protectrice contre le cancer du sein, stimulatrice de la croissance embryonnaire...)

f) Conclusion

La LH joue un rôle essentiel durant toutes les phases du cycle menstruel (cf. Tableau II et Figure 8)

Phase du cycle	Action de la LH
Phase folliculaire précoce	Synthèse des androgènes qui stimulent la croissance folliculaire ou sont aromatisés en oestrogènes qui permettent la prolifération de l'endomètre et l'optimisation de la glaire.
Phase folliculaire tardive	Survie du follicule dominant et production d'oestradiol par stimulation de l'activité aromatase.
Ovulation	Cascade pro-inflammatoire aboutissant à l'ouverture du follicule et à la reprise de la méiose. Mise en place du corps jaune. Cascade anti-inflammatoire permettant la cicatrisation de la surface de l'ovaire.
Phase lutéale	Maintien du corps jaune et donc production des stéroïdes. Production des facteurs angiogéniques et des cytokines impliqués dans le processus d'implantation.

Tableau II : Récapitulatif de l'action de la LH durant les différentes phases du cycle menstruel

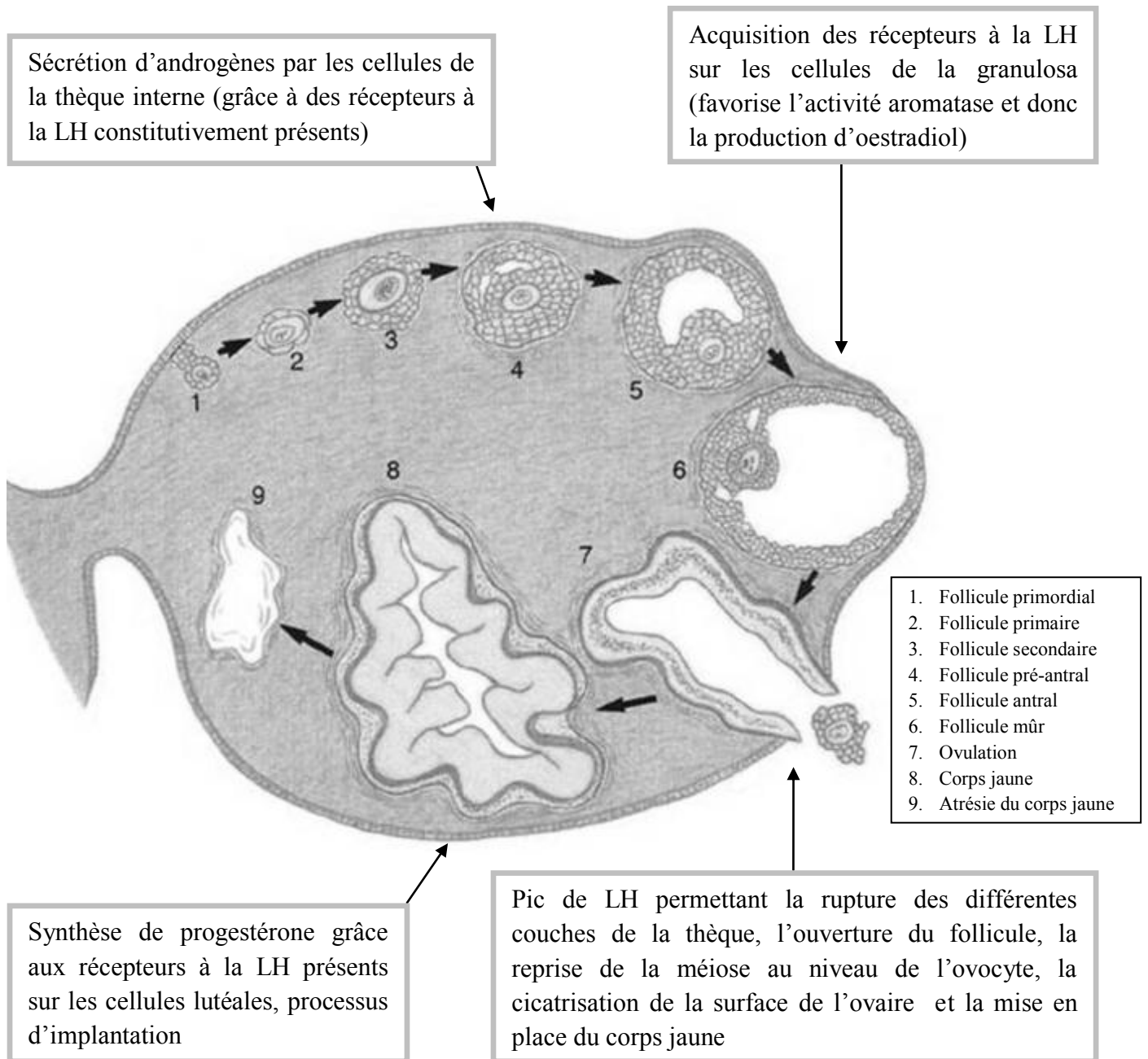


Figure 8 : Schéma de synthèse de l'action de la LH

2ème partie : indications puis description des FIV

Introduction

La fécondation in vitro réalise en dehors de l'organisme ce qui se fait normalement dans la trompe de la femme : captation de l'ovocyte mature par le pavillon tubaire, transport des spermatozoïdes jusqu'à l'endroit où doit avoir lieu la fécondation (ampoule tubaire), achèvement de la capacitation des spermatozoïdes, fécondation, transport de l'œuf jusqu'à la cavité utérine où doit avoir lieu son implantation, tout en assurant les conditions nécessaires aux premières segmentations embryonnaires.

Les indications étaient, au départ, essentiellement féminines avec l'infertilité tubaire en ligne de mire. Puis elles se sont étendues également à l'endométriose sévère, aux échecs d'inséminations intra-utérines, aux oligoasthénospermies modérées et même aux infertilités idiopathiques.

Plus récemment, l'évolution des techniques a permis de prendre en charge également les infertilités masculines les plus sévères par le biais de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes...

1. Indications des FIV classiques et FIV ICSI

a) Indications féminines

- Altération tubaire importante

Les trompes peuvent être absentes, obstruées ou simplement insuffisantes sur le plan fonctionnel. Si la réparation des lésions tubaires peut être envisagée, il est préférable de démarrer par une chirurgie réparatrice (si la patiente est jeune et le sperme de son conjoint normal). En revanche, si les lésions sont plurifocales, ou liées notamment à la tuberculose [61], il est préférable d'envisager d'emblée un traitement par FIV. En cas d'hydrosalpinx, l'analyse de la littérature révèle un bénéfice évident à la prise en charge chirurgicale par plastie distale ou salpingectomie avant FIV [62].

- Endométriose sévère

En France, l'endométriose isolée est une indication de FIV dans 7% des cas [62].

L'ESHRE a publié des recommandations concernant le diagnostic et la prise en charge de l'endométriose en 2005 [63]. D'après ces recommandations, la FIV peut être proposée pour une endométriose si elle est associée à des facteurs masculins, ou à un échec des thérapeutiques antérieures. Cette FIV pour endométriose est cependant associée à un taux de grossesse plus bas que l'indication tubaire. La chirurgie de kystes endométriosiques est recommandée uniquement pour les kystes de plus de 4 cm. Enfin, la mise au repos des ovaires par agoniste avant FIV augmenterait le taux de grossesse.

Les recommandations du CNGOF de 2006 concernant la prise en charge de l'infertilité associée à l'endométriose [64] s'en rapprochent :

- Le recours direct à la fécondation in vitro avant coelioscopie, alors qu'il existe des arguments en faveur d'une endométriose, ne se justifie que dans de rares cas où la FIV aurait été indiquée de toute façon (antécédents de salpingectomie, stérilité masculine)

- Si la coelioscopie découvre des lésions extensives pour lesquelles la chirurgie expose à un risque élevé de complications, le recours direct à la FIV sans geste chirurgical est recommandé
- Les endométrïomes n'ont pas d'impact sur le résultat final d'une FIV donc la découverte d'un endométrïome lors d'une stimulation de FIV ne doit pas conduire à l'interruption de la tentative
- Pour les endométrïomes de moins de 6 cm, ni le traitement chirurgical itératif ni la ponction des endométrïomes ne sont recommandés avant la FIV.

b) Indications masculines

L'indication de FIV est portée d'emblée si le diagnostic d'oligoasthénotératospermie modérée est posé. En pratique, il s'agit des cas où le test de migration survie permet d'obtenir 500 000 à 1 million de spermatozoïdes mobiles sans tératospermie importante.

c) Indication mixte

Il s'agit d'une situation fréquente où le bilan d'infertilité a mis en évidence une indication de FIV chez la femme et l'homme (28,3% des FIV selon les données FIVNAT 2002).

d) Echec d'inséminations intra-utérines

Toutes les études ont montré que la grande majorité des grossesses surviennent dans les 3 à 4 premiers cycles d'IIU. Il peut être licite d'aller jusqu'à 6 tentatives avant le passage en FIV dans certains cas défavorables (début de grossesse obtenu au cours d'une tentative précédente, IAD). Le décret du 11/03/2005 limite la prise en charge par l'Assurance maladie à 6 tentatives d'IIU avant le passage en FIV (4 tentatives remboursées).

e) Infertilités idiopathiques

L'infertilité inexpliquée est une indication de FIV reconnue par les différentes sociétés savantes (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, American Society for Reproductive Medicine, European Society of Reproductive Medicine, National Collaborating Centre for Women's and Children's Health) [62]. Les taux de grossesse rapportés dans cette indication sont identiques à ceux observés dans les indications tubaires. Le recours direct à la FIV, sans passer au préalable par l'étape des IIU, est cependant très discutable vue la pénibilité de la FIV pour les femmes par rapport aux IIU. Il est donc légitime de ne proposer une FIV d'emblée dans ce contexte qu'en cas d'âge maternel limite.

2. Indications plus spécifiques des FIV ICSI

a) Indications masculines

- OATS sévères < 500 000 spermatozoïdes mobiles après préparation, tératospermies céphaliques
- Spermatozoïdes chirurgicaux (azoospermie obstructive ou non obstructive)

On privilégie par ordre de préférence décroissante : les spermatozoïdes déférentiels, épидидymaires puis testiculaires.

- Autoconservation avec mauvais rendement après décongélation
- Dyskinésie flagellaire
- Anticorps antispermatozoïdes

La détection des anticorps est effectuée en cas d'observation d'agglutinats. La prise en charge en ICSI est envisageable d'emblée si le taux d'IgG est $\geq 80\%$.

- Nécropermie totale

b) Indications mixtes : échecs de fécondation inexpliqués en FIV conventionnelle

Il y a principalement deux cas de figures où les échecs de fécondation en FIV aboutissent à des ICSI :

- une paucifécondation (< 20% lors d'une FIV)
- un contexte de responsabilité ovocytaire évidente (notamment lorsque la patiente est âgée, lorsque qu'une petite cohorte ovocytaire a été obtenue...) qui nécessite une analyse du globule polaire

c) Diagnostic pré-implantatoire

Le diagnostic génétique pré-implantatoire est une forme précoce de diagnostic prénatal. Il consiste en la réalisation d'un test génétique prédéterminé et spécifique du couple, préalablement au transfert des embryons, afin de n'implanter in utero que des embryons non atteints ou porteurs sains.

Il est réservé aux couples à forte probabilité de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique d'une particulière gravité, reconnue comme incurable au moment du diagnostic.

Techniquement, l'ICSI est nécessaire pour la réalisation du DPI car :

- Elle évite les faux positifs dus à une contamination par de l'ADN exogène (polyzoospermie)
- Elle optimise les conditions de prélèvement d'une ou de deux cellules embryonnaires

3. Déroulement de la FIV

Le déroulement des différentes étapes de la prise en charge en AMP fait l'objet de guides des bonnes pratiques mis à jour régulièrement. L'Agence de la Biomédecine exerce un suivi continu des prises en charge, notamment grâce au bilan remis par chaque centre d'AMP.

a) Déroulement de la stimulation ovarienne et du recueil ovocytaire

- Description des protocoles de stimulation utilisés :

Protocole Agoniste long :

L'axe hypothalamo-hypophysaire est mis au repos grâce à un agoniste de la GnRH (Decapeptyl® 0,1 mg/jour) débuté à partir du 20^{ème} jour du cycle précédent celui de la stimulation. Le fait de démarrer l'agoniste en fin de cycle permet de diminuer l'effet flare-up et donc le risque de formation de kystes fonctionnels, mais également d'obtenir une désensibilisation plus rapide par rapport à l'administration en phase folliculaire.

Un contrôle échographique, ainsi que biologique est réalisé environ 10 jours après le début du Decapeptyl®. L'échographie pelvienne est réalisée à vessie vide par voie endovaginale et consiste à mesurer l'épaisseur de l'endomètre et à s'assurer de l'absence de kyste ovarien. Le monitoring biologique consiste en un dosage de l'oestradiol, qui doit être inférieur à 50 pg/mL.

Si les deux conditions sont réunies, la stimulation par gonadotrophines peut démarrer, associée au maintien de l'agoniste à demi dose.

La surveillance échographique avec la mesure de l'épaisseur de l'endomètre et de la taille des divers follicules sur les 2 ovaires, ainsi que le dosage de l'oestradiol ont lieu environ toutes les 48h. Selon les résultats obtenus, les doses quotidiennes de gonadotrophines sont maintenues ou modifiées jusqu'au prochain contrôle.

La décision de déclencher l'ovulation est prise par le clinicien selon des critères précis : au moins un follicule ≥ 17 mm et une dynamique de croissance satisfaisante avec un taux d'oestradiol correspondant à environ 200 pg/ml par follicule « mûr ».

L'injection sous-cutanée d'Ovitrelle® 250 µg qui permet le déclenchement a lieu le lendemain des dernières injections de gonadotrophines et agoniste de la GnRH, 36 heures avant l'heure présumée de la ponction ovarienne.

Ce protocole est souvent utilisé en première intention chez les patientes chez lesquelles une réponse très importante n'est pas attendue (patientes âgées, CFA peu élevé...), mais également des normo-répondeuses après échec d'un protocole avec antagonistes.

Protocole Agoniste court :

La freination ovarienne par l'agoniste de la GnRH (Décapeptyl 0, 1 mg/jour) est débutée en même temps que les gonadotrophines (FSH±LH), c'est-à-dire le premier jour du cycle menstruel.

Un 1^{er} contrôle échographique et biologique a lieu généralement à S6, soit au 6^{ème} jour de la stimulation.

La surveillance échographique et biologique est la même que dans le protocole précédent. Les critères et la technique de déclenchement sont également similaires.

Le protocole agoniste court est particulièrement utilisé chez les mauvaises répondeuses car il utilise l'effet « flare-up » de l'agoniste de la GnRH, c'est-à-dire une décharge initiale de FSH et de LH endogènes à laquelle s'ajoutent ensuite les gonadotrophines exogènes

Protocole Antagoniste :

La mise au repos de l'axe hypothalamo-hypophysaire est effectuée grâce à un antagoniste de la GnRH qui peut être du Cetrotide® 0,25 mg/j (cétrotélix) ou de l'Orgalutran® 0,25 mg/j (ganirelix). Celui-ci est débuté généralement le 5^{ème} ou le 6^{ème} jour de la stimulation par les gonadotrophines (selon la taille du follicule dominant et du taux d'oestradiol).

L'administration est quotidienne jusqu'au déclenchement, parallèlement aux injections de FSH±LH.

La surveillance échographique et biologique démarre le 5^{ème} jour de la stimulation et se déroule de la même manière que dans les protocoles agoniste.

Le protocole antagoniste est à privilégier chez les patientes jeunes ou ayant un profil de SOPK (Syndrome des Ovaires Polykystiques) car il permet de diminuer le risque d'hyperstimulation ovarienne [65, 66].

Cycle semi- spontané :

Un soutien de la fin de la phase folliculaire du cycle est assuré par une injection quotidienne de FSH± LH à partir du 9^{ème} jour du cycle, associé à une injection quotidienne d'un antagoniste de la GnRH pour éviter une lutéinisation précoce. Le déclenchement est décidé en fonction des résultats du monitoring échographique et biologique.

Il s'agit d'un protocole peu utilisé car il ne permet pas d'obtenir une cohorte importante d'ovocytes. Il est réservé aux patientes « à risque », notamment celles qui ont des antécédents thrombo-emboliques, par exemple. Il peut également être proposé aux mauvaises répondeuses en dernière intention, lorsque les autres protocoles ont abouti à des échecs [67].

- La ponction ovocytaire

La ponction folliculaire est réalisée 36h après le déclenchement, sous anesthésie locale (Xylocaïne® 1% injectée au niveau des deux culs-de-sacs vaginaux), loco-régionale ou générale selon le souhait de la patiente.

La patiente est prémédiquée par 1 comprimé de Xanax® 0.5 mg (alprazolam) deux heures avant la ponction et 1 ampoule d'Acupan® (néfopam) per os, déposée sur un sucre. Une antibioprophylaxie par céfazoline 2 g en IV y est associée (dalacine 600 mg et nétromycine 3 mg/kg en cas d'allergie aux pénicillines).

La ponction est réalisée au bloc opératoire, en position gynécologique, après désinfection vaginale soigneuse, rinçage de la bétadine et mise en place d'un champ stérile. L'opérateur effectue un lavage des mains chirurgical et utilise des gants stériles.

L'aiguille de ponction stérile est placée à l'extrémité d'une sonde d'échographie endovaginale, ce qui permet donc une ponction transvaginale échoguidée. Le liquide folliculaire est aspiré par l'intermédiaire de seringues de 10 cc stériles à usage unique, préalablement rincées au Flushing Medium hépariné.

Les seringues sont ensuite déposées sur un champ stérile sur une platine thermostatée à 37°C ou transportées grâce à une enceinte thermostatée rapidement au laboratoire si la ponction a lieu sous anesthésie générale au bloc central.

Un examen gynécologique sous spéculum vérifie l'absence de saignement actif du fond vaginal en fin de ponction et un suppositoire de paracétamol est administré. La patiente reste en hospitalisation ambulatoire pour le reste de la journée, afin de s'assurer de l'absence de complications immédiates suite à la ponction.

- Le recueil des complexes cumulo-ovocytaires (CCO)

Le liquide folliculaire est observé immédiatement sous loupe binoculaire dans des boîtes de Pétri puis les CCO sont repérés et aspirés stérilement pour être déposés dans une petite boîte de Pétri contenant 0,8 mL de milieu de recueil des ovocytes maintenue à 37°C.

La boîte est mise à l'étuve à 37°C et 6% de CO₂ dès la fin de la ponction.

b) Le recueil du sperme et la préparation des spermatozoïdes

- Sperme frais :

Le sperme est recueilli par masturbation au laboratoire.

L'identité du patient est vérifiée lors de son arrivée au laboratoire.

Le patient réalise une toilette des mains et des organes génitaux externes au savon, puis une désinfection au Dakin.

Le recueil se fait dans un réceptacle étiqueté au nom du patient et de sa conjointe.

A la fin du recueil, le réceptacle est placé dans une étuve à 37°C au secteur de spermologie.

Il est repris par les techniciennes et placé sur un portoir dans une enceinte de transport isotherme avec couvercle, pour être transporté jusqu'au secteur de FIV.

Le temps de transport maximal est de 5 minutes.

Le flacon est placé à son arrivée dans l'étuve à 37 °C du secteur de FIV.

- Sperme congelé :

Les techniciens de spermiologie préparent, à la demande des techniciennes de FIV, les paillettes nécessaires et les placent dans un container de transport (azote liquide) réservé à cet usage. Le circuit est identique à celui du sperme éjaculé frais.

- Sperme congelé après biopsie testiculaire :

La biopsie testiculaire est réalisée au bloc opératoire d'urologie par le chirurgien urologue, puis le prélèvement est acheminé au laboratoire dans une enceinte de transport isotherme. Une première analyse a eu lieu en extemporané au bloc opératoire sur un petit fragment de pulpe testiculaire afin de déterminer la présence ou non de spermatozoïdes à l'examen direct.

Au laboratoire, le prélèvement est déposé dans une boîte de Pétri avec 3 mL de milieu de culture et dilacéré à l'aide de 2 aiguilles stériles courbées à 60° pour étirer et écraser les tubes séminifères.

La boîte de Pétri est placée dans une étuve à 37 °C pendant 30 mn.

Le surnageant est aspiré, mis dans un tube conique et une goutte est observée au microscope pour vérifier la présence de spermatozoïdes. La boîte de Pétri avec les tubes séminifères dilacérés et 5 mL de milieu de culture, est gardée à l'étuve à 37 °C + 5 % de CO₂ jusqu'à la congélation sous forme de paillettes.

Un test de décongélation est effectué sur une des paillettes.

Dans notre établissement, pour une question essentiellement d'ordre organisationnel et géographique, les prélèvements synchrones (biopsie testiculaire et ponction ovocytaire le même jour) ne sont pas réalisés.

- Sperme de donneur :

Le don de sperme est gratuit et anonyme. Le donneur doit être majeur, mais n'a plus besoin d'avoir procréé depuis la révision des lois de bioéthique datant du 7 juillet 2011 [68] (loi n° 2011-814, article 29). Il se voit dans ce cas proposer la conservation d'une partie de ses gamètes en vue d'une éventuelle réalisation ultérieure, à son bénéfice, d'une assistance médicale à la procréation. Le consentement de sa conjointe, s'il est en couple, est également requis.

Selon l'arrêté du 3 août 2010 [69] relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation, le recrutement des donneurs tient compte de l'âge, de l'état de santé, des antécédents personnels et familiaux, et des caractéristiques spermatiques. Un entretien psychologique est recommandé. Une étude complète et documentée de l'arbre généalogique du donneur est réalisée pour identifier les facteurs de risque de transmission à l'enfant d'une anomalie génétique. L'établissement du caryotype est préconisé. L'avis d'un généticien peut être requis.

Toutes les données relatives au donneur sont consignées dans un dossier spécifique anonymisé qui comprend les résultats des tests de sécurité sanitaire et, en outre :

- la date des recueils de sperme (6 au total dans notre établissement)
- les paramètres spermatiques
- les résultats du test réalisé à l'issue de la conservation
- le nombre de paillettes conservées
- la date de mise à disposition
- le nombre de paillettes cédées

La recherche des marqueurs biologiques d'infection est réalisée pour les virus VIH 1, VIH 2, HTLV1, HTLV2, VHB, VHC, CMV et syphilis.

Cette recherche est renouvelée six mois après le dernier recueil et les paillettes de sperme ne sont cédées qu'à l'issue du deuxième contrôle demeuré négatif.

En cas de sérologie CMV positive, le don est refusé si les IgM sont positifs. En revanche, si ce sont les IgG qui sont positifs, le don peut être attribué à des couples dont au moins un des deux membres est positif pour le CMV.

Outre les analyses ci-dessus, il est nécessaire de pratiquer une spermoculture ainsi qu'une recherche de l'ADN de *Chlamydiae trachomatis* par amplification génique.

Une procédure permettant de connaître le nombre de grossesses, le nombre d'enfants nés et l'état de santé des enfants issus d'un même donneur est élaborée.

c) La mise en fécondation des ovocytes

- En FIV standard :

La mise en fécondation a lieu sous une hotte à flux.

Chaque CCO est déposé dans une goutte de milieu de culture associé à un liquide de rinçage des ovocytes, dans une boîte de Pétri.

Puis 8 mL d'huile minérale sont ajoutés.

On réalise une deuxième boîte pour la mise en culture des embryons à J1, contenant autant de gouttes de milieu de culture pour embryons numérotées que d'ovocytes recueillis.

Les spermatozoïdes sont ensuite déposés dans la 1^{ère} boîte: 10 000 spermatozoïdes fléchants dans chaque goutte.

Les microgouttes sont observées au microscope inversé et si la mobilité des spermatozoïdes semble diminuée par rapport à la préparation initiale, le nombre de spermatozoïdes par goutte est augmenté.

- En ICSI :

- Décoronisation des ovocytes :

Les ovocytes passent par une étape de décoronisation qui consiste à dégager l'ovocyte des cellules folliculaires qui l'entourent.

La veille de la ponction, des puits de milieu de recueil des ovocytes sont constitués puis mis en étuve. On y ajoute de la hyaluronidase le jour de la ponction.

Les ovocytes sont ensuite déposés dans les puits, aspirés et refoulés plusieurs fois à l'aide d'une pipette automatique, le tout ne devant pas dépasser 2 minutes.

Puis ils sont rincés et remis à l'étuve.

- Préparation de la boîte pour réalisation de l'ICSI (cf. Figure 9) :

Dans le fond de la boîte spéciale ICSI de 5 cm ,on dépose en colonne autant de gouttes numérotées de 7µl de milieu de culture des embryons tamponné à l'hépès qu'il y a d'ovocytes à injecter. Une ou deux gouttes de 20 µl de milieu de culture sont déposées au bord de la boîte pour rincer les ovocytes après micro-injection.

A proximité des gouttes numérotées, une goutte de 10µl de PVP (polyvinylpyrrolidone) pur non étalée est disposée pour rinçage des aiguilles et d'autres sont étalées finement pour la migration des spermatozoïdes (Pur -10%, au ½ -5%-1% si nécessaire). La boîte est recouverte de 5 ml d'huile minérale déposée délicatement à l'aide d'une pipette de 10 ml stérile, puis placée à l'étuve.

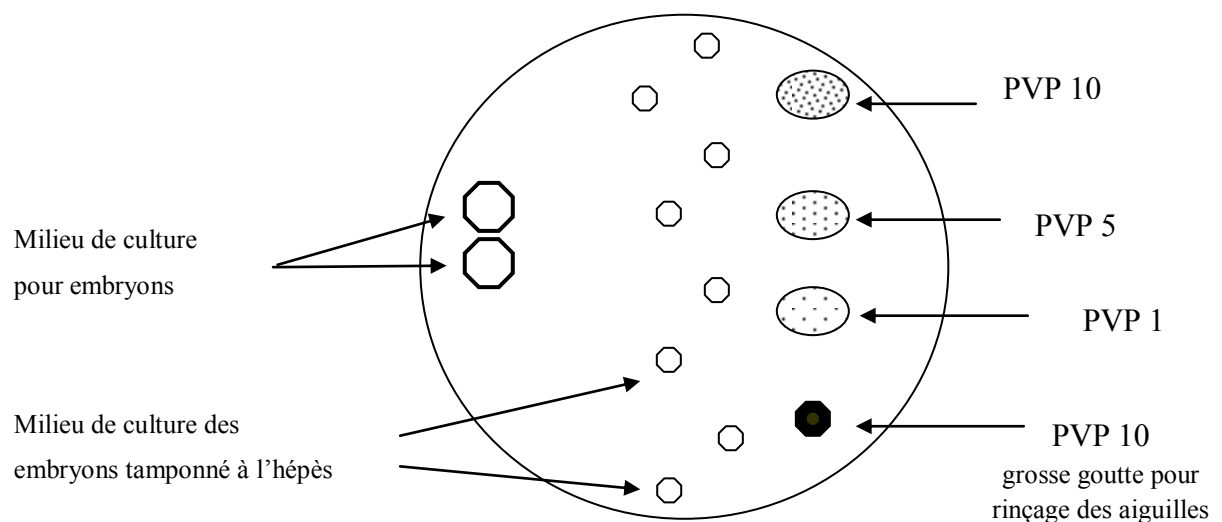


Figure 9 : Boîte d'ICSI (sous huile minérale)

- Dépôt des gamètes dans les différentes gouttes :

Les ovocytes sont déposés un par un dans les gouttes verticales numérotées.

Les spermatozoïdes sont déposés (après appréciation de leur concentration au microscope) dans les gouttes de PVP.

- Réalisation de la micro-injection :

Seuls les ovocytes matures (métaphase II) ayant émis leur premier globule polaire sont micro-injectés.

Le matériel technique doit ensuite être installé ; chaque micromanipulateur permet de travailler dans trois dimensions (de droite à gauche, de haut en bas et d'avant en arrière). Pour réaliser ces déplacements, deux joysticks de commande motorisés sont disponibles. Les joysticks sont reliés à des porte-pipettes qui, pour une ICSI, sont de deux types :

- une pipette de contention pour maintenir l'ovocyte
- une pipette d'injection dont la pointe est biseautée

Dans une boîte de Pétri sont déposées autant de microgouttes de milieu de culture que d'ovocytes et deux microgouttes de PVP. La première microgoutte de PVP permet le rinçage de la pipette d'injection et les spermatozoïdes sont déposés dans la deuxième microgoutte. Ceci a pour but d'isoler et de sélectionner quelques spermatozoïdes vivants qui migrent à la périphérie de la microgoutte, car ce composé possède une viscosité augmentée et limite ainsi le déplacement des spermatozoïdes. La boîte est recouverte d'huile de paraffine légère pour éviter la dessiccation des milieux puisque l'opération se déroule sur la platine chauffante à 37°C du microscope inversé.

Un spermatozoïde vivant mobile et de morphologie normale est immobilisé à l'aide de la micropipette par un geste de cisaillement du flagelle en arrière de la pièce intermédiaire. Puis il est aspiré dans la micropipette par l'extrémité de son flagelle. L'immobilisation est très importante car elle est le témoin d'une lésion des structures flagellaires facilitant ainsi la survenue de la fécondation (réaction de capacitation entamée).

L'ovocyte est ensuite maintenu par la micropipette de contention et placé dans le champ optique du microscope, de sorte que le globule polaire de l'ovocyte soit situé à 12h ou à 6h, afin d'éviter que la micropipette d'injection ne touche le fuseau de métaphase II. La micropipette d'injection est alors doucement introduite dans le cytoplasme de l'ovocyte du côté diamétralement opposé à la pipette de maintien afin d'y déposer le spermatozoïde, puis est délicatement retirée. Les ovocytes micro-injectés sont ensuite remis en milieu de culture à l'étuve à 37°C sous 5% de CO₂.

- Après ICSI :

Après rinçage de chaque ovocyte dans la goutte de milieu de culture prévue dans la boîte d'ICSI, ils sont placés dans une goutte numérotée de 80 μ L de milieu de culture sous huile dans une boîte 60 mm testée sans embryotoxicité, étiquetée au nom du couple.

Deux boîtes de culture identiques sont préparées pour changer les zygotes de milieu le lendemain.

d) La culture embryonnaire de J1 au transfert

- J1 : 1^{er} jour après la ponction

- Changement de milieu en FIV standard :

Les ovocytes sont décoronisés manuellement 17 à 20 heures après la mise en fécondation.

Ils sont tout d'abord décollés du tapis cellulaire par aspiration /refoulement à l'aide de pointes de pipettes automatiques stériles. Puis ils sont transférés dans 2 gouttes de milieu de culture de 80 μ l sous huile pour y être rincés et parfaire leur décoronisation par aspiration et refoulement. Enfin ils sont disposés dans une goutte numérotée de 80 μ l de milieu de culture par ovocyte. (Boîte préparée la veille)

La mobilité des spermatozoïdes, la fixation de ceux-ci à la zone pellucide des ovocytes et la qualité des ovocytes (maturité, granulosité) sont appréciés au microscope. La morphologie des pronuclei est notée selon la classification de Gianaroli (cf. Figure 10) et les ovocytes sont photographiés.

La culture est poursuivie dans l'étuve dédiée jusqu' à la 27^{ème} heure après la mise en fécondation. Puis le clivage précoce est apprécié, avant la poursuite de la culture jusqu'à J2.

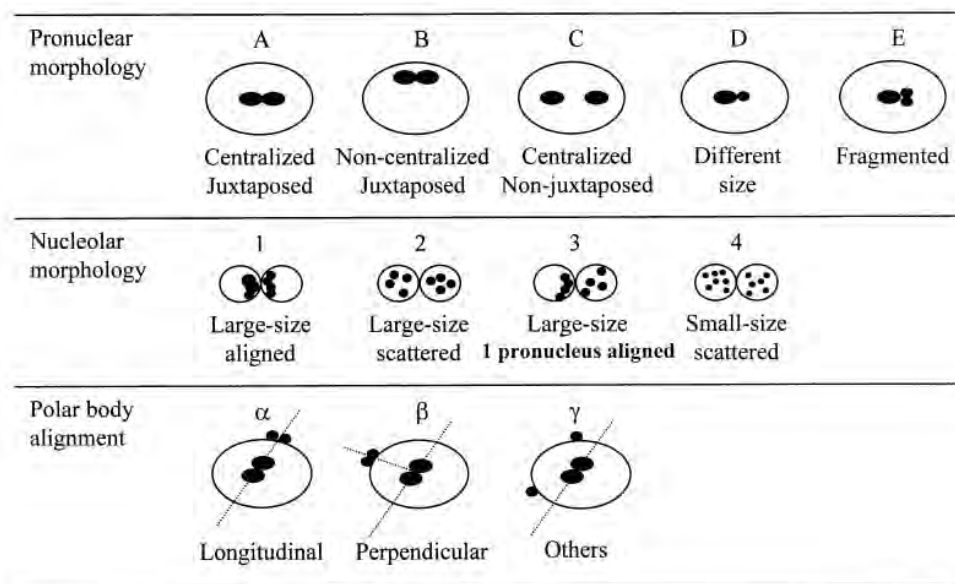
- Changement de milieu en ICSI :

Les ovocytes sont prélevés un par un à l'aide d'une pipette automatique, puis transférés dans la boîte identique préparée la veille.

La qualité des ovocytes (maturité, granulosité) est appréciée au microscope, ainsi que la morphologie des pronucléi selon la classification de Gianaroli (cf. Figure 10). Cette classification est en effet hautement prédictive du risque d'anomalies chromosomiques chez l'embryon résultant (exemple : les configurations A1 α , A2 β , A3 β et A3 α sont associées de façon significative à davantage d'embryons dépourvus d'anomalies chromosomiques, par rapport aux autres configurations) [70]

Puis les ovocytes sont photographiés.

La culture est poursuivie dans l'étuve dédiée jusqu' à la 25^{ème} heure après la mise en fécondation. Puis le clivage précoce est apprécié, avant la poursuite de la culture jusqu'à J2.



Gianaroli. Pronuclear morphology and chromosomal status. Fertil Steril 2003.

Figure 10 : Classification de Gianaroli [70]

- J2 : 2^{ème} jour après la ponction

- Observation des embryons :

Le nombre et la qualité des embryons obtenus sont évalués au microscope, objectif 20, filtre MC2 à 37°C sur platine chauffante.

La qualité des embryons (cf. Figure 11) est appréciée en fonction :

- du nombre de blastomères par embryon
- de la qualité des blastomères (réguliers ou irréguliers)
- du pourcentage de fragments anucléés par rapport au volume intrapellucidaire de chaque embryon

Embryon de type I	: Blastomères réguliers, pas de fragmentation
Embryon de type II	: Blastomères irréguliers, pas de fragmentation
Embryon de type III	: Blastomères irréguliers et moins de 50% de fragmentation
Embryon de type IV	: Blastomères irréguliers et plus de 50% de fragmentation

Figure 11 : Classification de la qualité embryonnaire

Notre classification est une adaptation de la classification Blefco (consensus des biologistes des laboratoires d'étude de la fécondation et de la conservation de l'œuf) [71].

Photographies des différents types d'embryons (clichés personnels du Laboratoire de Biologie de la Reproduction de la Maternité de Nancy) :



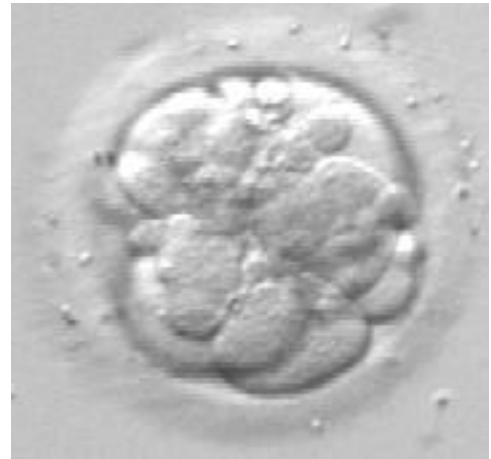
Embryon de type I



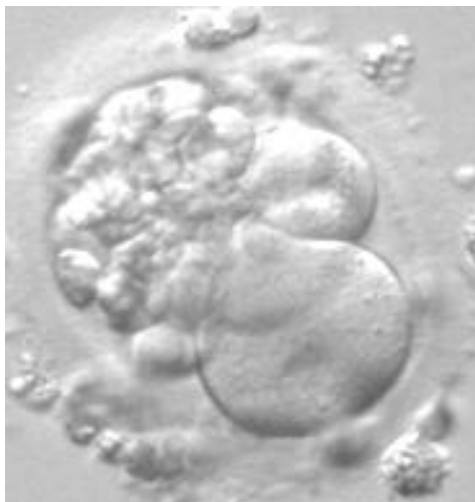
Embryon de type II



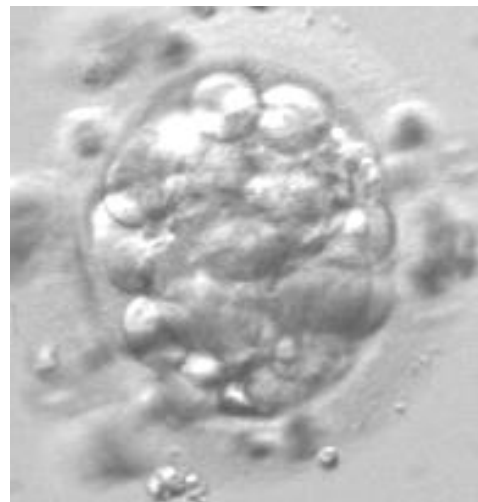
Embryon de type III avec 10%
de fragmentation



Embryon de type III avec 25%
de fragmentation



Embryon de type III avec 50% de
fragmentation



Embryon de type IV

Cette classification des embryons a un **intérêt pronostic** puisque l'observation de stade asynchrone de division et de taille inégale de blastomère diminue fortement la probabilité de capacité de ces embryons à supporter le développement [71]. La fragmentation également donne plutôt une valeur pronostique défavorable.

Les embryons sont photographiés au grossissement 20, les images et les caractéristiques des embryons sont consignés dans MEDIFIRST, logiciel dédié à l'AMP, tous les jours jusqu'au transfert.

Il est possible sur décision du biologiste et du clinicien d'effectuer le transfert à J2.

- J3 : 3^{ème} jour après la ponction

Même mode opératoire que J2.

Les embryons sont généralement transférés ce jour-là, congelés s'ils sont surnuméraires ou détruits si leur qualité ne permet pas une congélation.

Seuls les embryons de bonne qualité sont congelés, c'est-à-dire les embryons de type I, II ou III avec au maximum 10% de fragmentation. En effet, la qualité de l'embryon est un élément essentiel dans la réussite de la congélation et donc les chances de succès après transfert [72].

e) Le transfert des embryons

Le nombre d'embryons à transférer est déterminé par avance au cours de la consultation médicale pré-FIV avec le couple ou le jour du transfert avec le clinicien ou le biologiste. A part dans des cas exceptionnels, la discussion porte sur un transfert d'embryon unique (SET) ou de 2 embryons (DET). Ce choix est fait notamment en fonction du rang de la tentative de FIV, de l'âge de la patiente, des antécédents du couple, de la taille de l'utérus, de la qualité des embryons, etc.

Les embryons surnuméraires sont soit congelés, soit détruits selon leur qualité et le choix des couples.

- Préparation du cathéter de transfert :

Les embryons sont rincés dans 2 gouttes de milieu de culture de 80 µl disposées dans une boîte de Pétri pour éliminer toute trace d'huile minérale.

Une seringue de 1 ml de milieu de culture pour embryons est préparée sans bulles d'air puis adaptée sur le cathéter de transfert. Le cathéter est ensuite rincé avec le milieu de culture présent dans la seringue.

Puis le milieu de culture est aspiré jusqu'à la graduation 0.3 ml de la seringue.

Les embryons sont aspirés à leur tour dans 1,5 cm de liquide au maximum (entourés de part et d'autre d'une bulle d'air).

- Transfert :

La patiente est installée en position gynécologique, vessie pleine.

Un repérage échographique de la position utérine est effectué par voie transabdominale.

Le spéculum est mis en place et le vagin nettoyé avec un tampon stérile imbibé d'eau.

Le cathéter de transfert (cathéter simple de Frydmann ou cathéter double) est mis en place sous contrôle échographique jusqu'à 1,5 cm du fond utérin puis le contenu de la seringue est injecté doucement jusqu'à la graduation 0,3 mL.

Après retrait du cathéter, celui-ci est transmis à la technicienne de laboratoire pour vérification.

La patiente reste allongée pendant 20 minutes après le transfert.

- Vérification du cathéter après le transfert :

La totalité du cathéter est transvasée dans une boîte de Pétri, qui est observée à la loupe. Les embryons doivent avoir disparu.

La manipulation est refaite si ce n'est pas le cas (incidence : environ 2/an). Ceci n'a cependant aucune conséquence pour l'embryon, qui est protégé dans le milieu de culture.

f) La congélation des embryons surnuméraires

La congélation des embryons de type I, II ou III avec au maximum 10% de fragmentation est réalisée à J2 (sauf cas particulier à J3).

- Préparation de la boîte de congélation :

On prépare 3 puits des 3 milieux de congélation numérotés dans une boîte qui est disposée à température ambiante au moins une heure avant la congélation.

- Congélation :

La boîte contenant les embryons à congeler est sortie de l'étuve et mise 5 min à température ambiante.

Le contenu des puits de la boîte de milieu de congélation est agité par aspiration-refoulement à l'aide d'un cône propre pour chaque puits.

Toutes les incubations sont faites à température ambiante à l'abri de la lumière (sous enceinte opaque à la lumière).

A l'aide d'une micro-pipette et d'un cône stérile, les embryons sont placés dans le puits 1 pendant 5 minutes.

Puis ils sont placés dans le puits 2 pendant 10 min et dans le puits 3 pendant 10 min.

Pendant ce temps, le programme de congélation d'embryons du congélateur est enclenché.

Les embryons sont ensuite montés dans les paillettes (au maximum 2 par paillette), au centre de la goutte du milieu (cf. Figure 12).

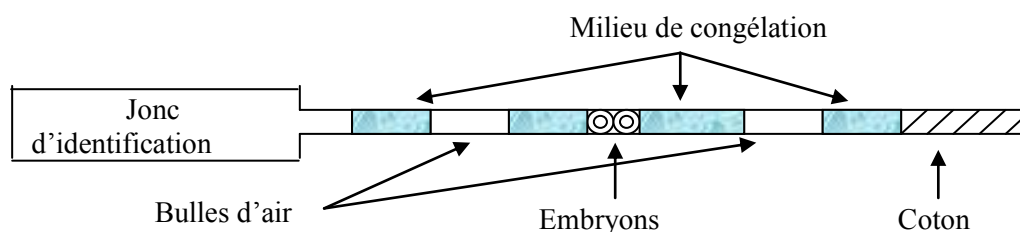


Figure 12 : Schéma d'une paillette de congélation d'embryons

L'emplacement des embryons dans la paillette est repéré à l'aide d'un marqueur.

Les paillettes sont placées sur un portoir de congélation et déposées dans l'enceinte du congélateur.

La barre de seeding (action qui consiste à refroidir rapidement la zone de la paillette la plus éloignée des embryons pour passer de l'état liquide à l'état solide) est ensuite refroidie dans ¼ de litre d'azote dans un récipient en polystyrène puis elle est placée à la limite air/liquide de la partie contenant les embryons pendant 3 secondes.

Enfin, les paillettes sont introduites dans l'azote liquide puis placées dans la cuve de stockage à l'intérieur d'un visotube au nom de la patiente.

g) Le transfert des embryons congelés

La décongélation des embryons est réalisée la veille du transfert présumé des embryons. Le choix des embryons à décongeler en priorité revient au biologiste qui privilégiera les embryons de « top-qualité », selon la définition de Von Royen et al [73]. Il s'agit des embryons à quatre ou cinq blastomères à J2, à plus de sept blastomères à J3, caractérisés par une absence de multinucléation et un taux de moins de 20% de fragments anucléés.

- Préparation de la boîte de décongélation

Quatre puits numérotés avec les quatre milieux de décongélation sont préparés, ainsi qu'un tube de milieu de rinçage des embryons.

La boîte est placée à température ambiante au moins une heure avant la décongélation.

Chaque puits est homogénéisé par aspiration refoulement à l'aide d'un cône stérile.

- Décongélation

Toutes les incubations se font à température ambiante à l'abri de la lumière.

Quatre gouttes de 50 µl de Global sont disposées au centre de la boîte de décongélation, pour rinçage des embryons avant culture.

Une boîte de culture avec des gouttes de 80µl de Global sous huile est préparée pour la culture.

Les paillettes sont sorties de l'azote et réchauffées pendant 5 minutes sur la paillasse.

Le contenu de la paillette est vidé dans une boîte de Pétri à l'aide de la tige pousse paillettes. Les embryons sont repérés à la loupe puis disposés :

- dans le puits 1 pendant 5 minutes
- dans le puits 2 pendant 5 minutes
- dans le puits 3 pendant 10 minutes
- puis dans le puits 4 pendant 3 minutes.

Les embryons sont ensuite rincés successivement dans les 4 gouttes de Global, placés en culture dans le global en gouttes sous huile et mis à l'étuve à 37°C et 5% de CO₂ jusqu'au lendemain.

Le transfert est réalisé si les embryons ont repris leur évolution.

Les patientes sont substituées en estradiol et progestérone pour créer un cycle artificiel selon le schéma suivant :

- Femsept® patch 100 µg/24h (estradiol):
 - 1 patch/jour de J1 à J6
 - 2 patchs/jour de J7 à J11
 - 4 patchs/jour de J12 à J14 puis réalisation d'une échographie pour définir la date du transfert d'embryons congelés
 - 3 patchs/jour de J15 à J30,
 - 2 patchs/semaine pendant tout le premier trimestre en cas de grossesse

- Estima® 600 mg/jour (progestérone) à partir de J15, pendant au moins 1 mois voire jusqu'à l'échographie de 12SA.

En cas d'intolérance aux patchs ou lors des cycles faiblement stimulés, le Femsept est remplacé par des comprimés de Provames.

Le remplacement embryonnaire est décidé lorsque l'échographie met en évidence une belle muqueuse à 3 couches en « grain de café » d'au moins 8 mm d'épaisseur.

3^{ème} partie : étude rétrospective sur l'apport de LH en FIV

Introduction

Depuis 2009, certaines patientes prises en charge pour des FIV à la Maternité Universitaire ont bénéficié d'une stimulation ovarienne par une combinaison de LH et FSH recombinantes (Pergoveris®), au lieu de FSH seule comme lors de la tentative précédente.

Ce traitement combiné avait pour but de permettre d'obtenir une meilleure réponse ovarienne chez des patientes pour lesquelles la réponse à la tentative précédente n'avait pas été satisfaisante (peu d'ovocytes recueillis, de mauvaise qualité, peu d'embryons obtenus...). Il a également été utilisé chez des patientes pour lesquelles une mauvaise réponse était à craindre : insuffisance ovarienne débutante, patientes âgées...

Il n'existe en effet pas de consensus concernant la prise en charge de ces patientes « mauvaises répondeuses ». Plusieurs traitements ont été proposés durant les dernières années : l'utilisation de cycles naturels [67], d'aspirine à faibles doses [74], d'une contraception orale en pré-traitement [75], de petites doses d'hormone de croissance [76], de fortes doses de gonadotrophines [77]... Aucun de ces traitements n'a démontré une efficacité significative.

L'apport de LH fait partie des nouvelles pistes pour améliorer la réponse en FIV [78]. En effet, le rôle de la LH au cours des différentes phases du cycle est maintenant bien connu : sécrétion d'androgènes en début de phase folliculaire, production d'oestradiol en fin de phase folliculaire, ovulation, reprise de la méiose et mise en place du corps jaune puis synthèse de progestérone en phase lutéale et implantation (cf 1^{ère} partie de la thèse).

Nous avons donc souhaité évaluer l'efficacité du traitement par FSH et LH en comparant les résultats, pour chaque patiente, de la tentative avec apport de LH par rapport à la tentative avec FSH seule précédente.

1. Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique réalisée dans le service d'AMP de la Maternité Universitaire de Nancy sur une période s'étendant de juin 2009 à septembre 2010.

Critères d'inclusion :

Patientes ayant bénéficié de l'apport de LH sous forme de Pergoveris® pour leur stimulation ovarienne dans le cadre d'une FIV

Critères d'exclusion :

Patientes n'ayant jamais fait de tentative avec FSH seule avant la tentative avec Pergoveris®

Avant toute nouvelle tentative avec ou sans Pergoveris®, chaque patiente était présentée en staff clinico-biologique afin de prendre une décision collégiale quant à l'opportunité de changer le protocole de stimulation.

Nous avons comparé les résultats de la tentative avec apport de LH par rapport aux résultats de la tentative précédente, chaque patiente constituant son propre témoin.

L'**objectif** de l'étude était de comparer l'efficacité des 2 types de protocoles chez une même patiente. L'hypothèse était que le protocole mixte permettait de recueillir, chez une même patiente, plus d'ovocytes que le protocole FSH seule.

Le nombre d'ovocytes recueillis et leur qualité est corrélé au nombre d'embryons obtenus. Et le nombre et la qualité embryonnaires sont deux facteurs prédictifs des taux de succès de la tentative [79].

Le **critère principal** était le nombre d'ovocytes recueillis et les **critères secondaires** les nombre d'ovocytes retenus (c'est-à-dire mis en fécondation en FIV ou micro-injectés en ICSI), nombre d'embryons à J3 et nombre de grossesses évolutives (au-delà du 1^{er} trimestre).

Nous avons également recueilli l'âge de la patiente lors de la tentative avec Pergoveris, son BMI, son statut tabagique, la cause de l'infertilité (facteurs féminins, facteurs masculins), le rang de la FIV avec Pergoveris®, le nombre d'embryons transférés frais et congelés et le nombre de grossesses biochimiques.

Deux sous-groupes, suggérés par notre analyse de la bibliographie internationale, ont été particulièrement étudiés :

- les « mauvaises » répondeuses (définies comme celles ayant eu moins de 5 ovocytes recueillis lors de la tentative classique) [80]
- les patientes « âgées », c'est-à-dire de plus de 35 ans lors de la tentative avec apport de LH (sous-groupe suggéré par Marrs [81])

Les patientes qui ont bénéficié du traitement par Pergoveris ont été repérées grâce au logiciel informatique Médifirst utilisé pour tous les dossiers d'AMP. A partir de là, les dossiers cliniques ont pu être ressortis des archives et étudiés. Les données ont été recueillies grâce à un bordereau de recueil (cf annexe 2) puis mises sous forme de tableaux Excel. Les patientes qui ont fait leur première tentative en-dehors de la Maternité Régionale disposaient toutes du compte-rendu détaillé de cette tentative dans le dossier, selon les règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation [69].

L'**analyse statistique** (V. COEVOET, interne du DIM) a été réalisée avec le logiciel SAS, version 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Les analyses ont été faites dans l'échantillon complet, puis dans deux sous-groupes cités au-dessus.

Une analyse descriptive des données a été réalisée, dans un premier temps dans l'échantillon complet, puis séparément selon l'existence ou non d'une mauvaise réponse (<5 ovocytes recueillis lors de la ponction ovocytaire) au protocole sans LH, puis au protocole avec LH.

Les variables quantitatives ont été présentées à l'aide de leur moyenne et de leur écart-type, ou à l'aide de leur médiane et de l'intervalle inter-quartile.

Les variables qualitatives ont été présentées par les effectifs et le pourcentage correspondant de chacune des modalités.

Dans un deuxième temps, une analyse bivariée a permis de rechercher les caractéristiques des couples associés à l'efficacité des 2 protocoles traités séparément.

Les variables quantitatives ont été comparées à l'aide d'un test t de Student et les variables qualitatives ont été comparées à l'aide d'un test du χ^2 ou à l'aide d'un test exact de Fisher.

Enfin, une comparaison de l'efficacité des 2 traitements a été réalisée à l'aide d'un test du χ^2 pour séries appariées (MacNemar), d'abord de façon brute, puis en sous groupe pour les variables ayant montré un effet statistiquement significatif sur l'efficacité de l'un au moins des 2 traitements en analyse bivariée.

Le **seuil de significativité** retenu pour les tests était de **5%**.

2. Résultats

a) Description de l'échantillon et des deux tentatives

- Description de l'échantillon

Nous avons pu inclure **48 patientes** dans l'étude, ayant bénéficié d'une tentative avec Pergoveris® entre juin 2009 et septembre 2010, après une tentative avec FSH seule. Ceci représente 11.9% des tentatives de FIV réalisées pendant cette période dans notre centre.

L'**âge moyen** de ces patientes lors de la tentative avec apport de LH était de **36,6 ans** ($\pm 1,2$). Cet âge est supérieur à celui des patientes prises en charges habituellement pour des FIV.

La Figure 13 compare la répartition des âges des 48 patientes de l'étude par rapport à l'âge des 404 patientes ayant eu une ponction FIV durant la période d'inclusion (juin 2009 à septembre 2010).

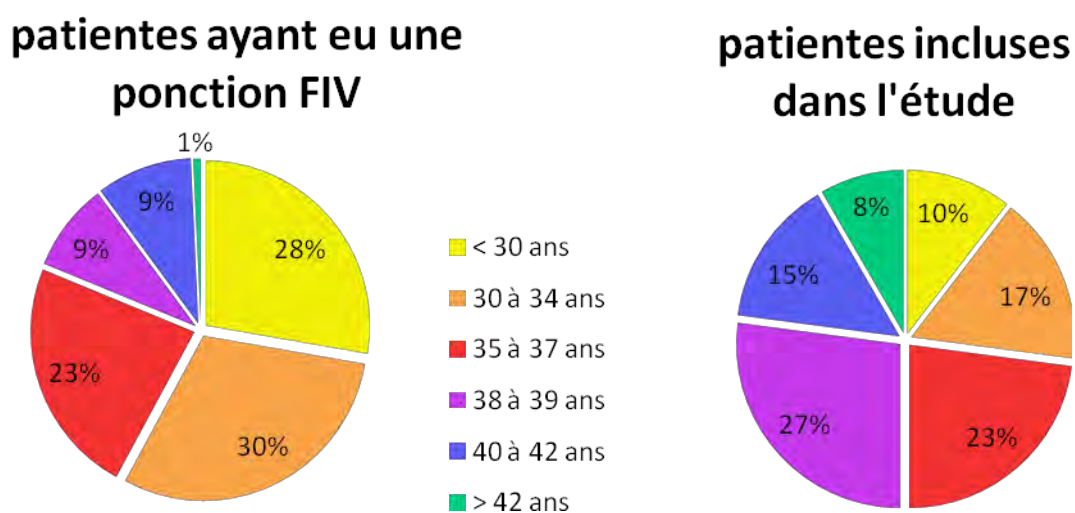


Figure 13 : Comparaison de l'âge des patientes de l'étude par rapport à toutes celles ayant eu une ponction durant la même période

Le **BMI moyen** lors de cette même tentative était normal, c'est-à-dire de **23.6 kg/m²** ($\pm$ 1.1).

Concernant le **rang** de la tentative de FIV avec Pergoveris®, la médiane était de **3,0** [2,0-4,0] avec un rang minimum de 2 (car nous avons exclu les 1ères tentatives) et maximum de 6 (la Sécurité Sociale rembourse actuellement 4 tentatives de FIV, mais les tentatives sans embryon replacé ne sont pas décomptées).

Le **taux de fumeuses** parmi les patientes lors de la tentative avec LH était de **17%** (8 patientes).

L'**origine de l'infertilité** était **féminine** dans 25% des cas, **masculine** dans 21% des cas et **mixte** dans 54 % des cas.

La répartition des différentes **étiologies** d'infertilité est reprise dans la figure ci-dessous.

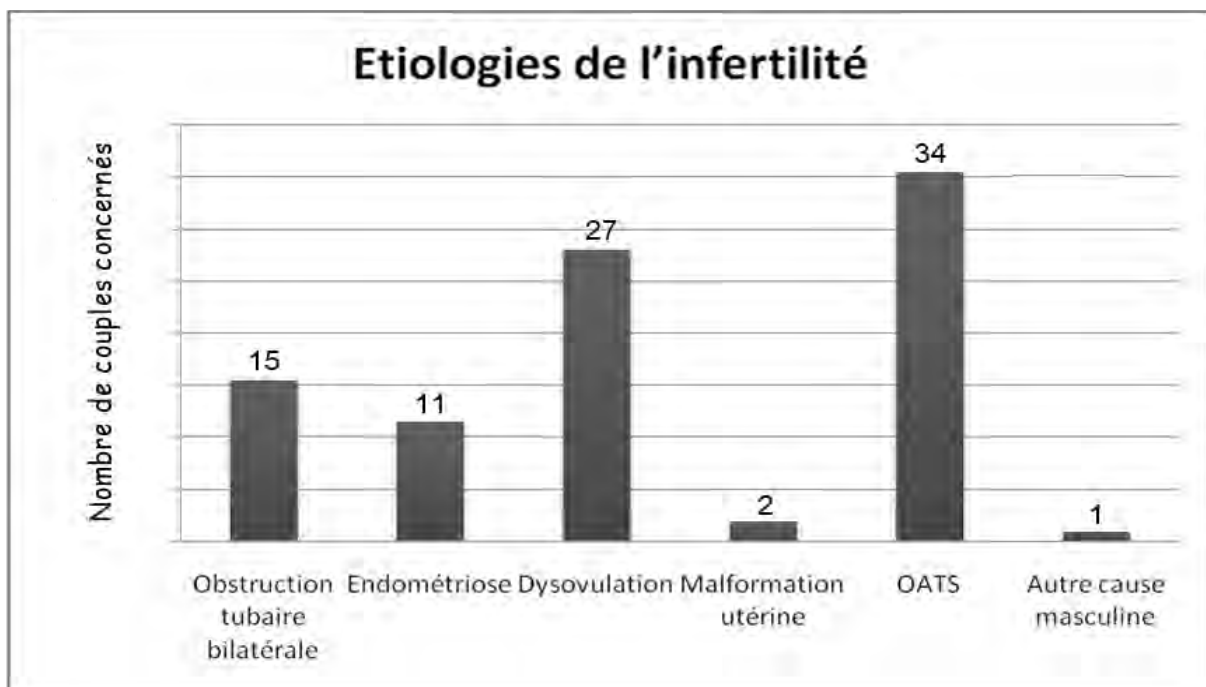


Figure 14 : Répartition des étiologies de l'infertilité

- Description des deux tentatives

- Lieu de réalisation des deux tentatives

La tentative avec apport de LH a été réalisée dans tous les cas à la Maternité Régionale Universitaire.

En revanche, 42 tentatives précédentes sur 48 ont été réalisées à la Maternité.

- Type de protocole de stimulation

Les différentes stimulations ovariennes ont eu lieu selon 4 types de protocoles, choisis par les cliniciens en charge des patientes selon leur réponse ovarienne prédictive (en fonction de l'âge de la patiente, de ses dosages hormonaux, de son compte des follicules antraux, des résultats de ses tentatives précédentes...).

La répartition des différents protocoles lors de chaque tentative est reprise dans le Tableau III.

	Fréquence du protocole agoniste court	Fréquence du protocole agoniste long	Fréquence du protocole antagoniste	Fréquence du protocole cycle spontané
Tentative sans LH	9(19%)	28(58%)	11(23%)	0
Tentative avec LH	26(54%)	16(34%)	5(10%)	1(2%)

Tableau III : Effectifs des protocoles utilisés lors des tentatives sans, puis avec LH

Les protocoles utilisés lors de la tentative sans LH sont principalement des protocoles agonistes longs, alors qu'ils sont plutôt agonistes courts lors de la tentative suivante.

Les protocoles utilisés aux 2 temps sont significativement différents ($p=0,0002$), selon le test de symétrie.

- Technique de FIV utilisée

Chaque tentative a été réalisée soit en FIV classique, soit en FIV avec ICSI.

Lors de la tentative sans LH, **5** patientes ont eu une FIV classique et **43** une FIV avec ICSI.

Lors de la tentative suivante, **4** patientes ont eu une FIV classique et **44** une FIV avec ICSI.

- Type de sperme utilisé

Le sperme utilisé pour les différentes tentatives pouvait avoir 3 origines :

- sperme frais du conjoint
- sperme congelé obtenu après une biopsie testiculaire
- sperme congelé de donneur

Les deux tentatives ont toujours été réalisées avec le même type de sperme pour une patiente donnée.

Voici la répartition des différents spermes utilisés chez les 48 patientes :

- **45** spermes frais
- **2** spermes congelés après biopsie testiculaire
- **1** sperme de donneur

b) Description des résultats de chaque tentative

- Durée des tentatives et doses de FSH utilisées

Description des tentatives	Echantillon complet (N=48)			Mauvaises répondeuses (N=26)			Patientes de plus de 35 ans (N=33)		
	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*
Dose totale moyenne de FSH utilisée en UI (± écart-type)	3098 (±1005)	3420 (±1392)	0,091 ¹	3216 (±1072)	3738 (±1547)	0,097 ¹	3040 (±1051)	3297 (±1265)	0,296 ¹
Durée moyenne de la stimulation en jours (± écart-type)	11,8 (±1,6)	11,8 (±2,4)	1 ¹	11,5 (±1,6)	11,8 (±2,9)	0,552 ¹	11,8 (±1,8)	11,6 (±2,5)	0,653 ¹

* degré de significativité

¹ test t de Student apparié

Tableau IV : Doses totales de FSH nécessaire et durée moyenne de stimulation lors des deux tentatives, dans la population générale, chez les mauvaises répondeuses et chez les patientes >35 ans

La durée de stimulation n'est pas significativement différente lorsque la LH est ajoutée.

Par contre, les doses de FSH utilisées lors de la deuxième tentative ont tendance à être plus élevées dans l'échantillon complet et chez les mauvaises répondeuses, mais de manière non significative.

- Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux selon la réponse à la tentative sans, puis avec LH

L'échantillon de patientes est chaque fois divisé en 2 groupes, selon les résultats lors de la tentative : les patientes chez lesquelles <5 ovocytes ont été recueillis lors de la ponction ont une réponse ovocytaire qualifiée de « mauvaise » et celles qui ont eu ≥ 5 ovocytes ont une « bonne » réponse. Ce seuil a été défini d'après l'étude de la bibliographie internationale, mais ne correspond à aucun consensus puisque la définition de la mauvaise répondeuse est restée floue jusqu'à récemment (Consensus de l'ESHRE sur la définition de la mauvaise répondeuse publiée en juillet 2011 [82]).

- Tentative avec FSH seule

Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux	Bonne réponse (≥ 5 ovocytes recueillis) N=22	Mauvaise réponse (< 5 ovocytes recueillis) N=26	p*
Age moyen en années ($\pm$ écart-type)	36.4 ($\pm 4,6$)	36.7 ($\pm 4,0$)	0.82 ¹
BMI moyen en kg/m ² ($\pm$ écart-type)	23.6 ($\pm 3,9$)	23.5 ($\pm 4,3$)	0.91 ¹
Rang moyen de la tentative ($\pm$ écart-type)	2.6 ($\pm 1,2$)	2.1 ($\pm 1,1$)	0.16 ¹
Nb de fumeuses actives (<i>taux</i>)	4 (18%)	4 (15%)	
Obstruction tubaire bilatérale, effectif (<i>taux</i>)	8 (36%)	7 (27%)	
Endométriose, effectif (<i>taux</i>)	5 (23%)	6 (23%)	
Dysovulation, effectif (<i>taux</i>)	12 (55%)	15 (58%)	
Pathologie immune ou malformation utérine, effectif (<i>taux</i>)	1 (5%)	1 (4%)	
OATS, effectif (<i>taux</i>)	19 (86%)	15 (58%)	
Autre cause masculine, effectif (<i>taux</i>)	0	1 (4%)	
Nb moyen d'ovocytes recueillis ($\pm$ écart-type)	9.0 (± 1.5)	1.7 (± 0.6)	
Nb moyen d'ovocytes retenus ($\pm$ écart-type)	8.1 (± 1.1)	1.4 (± 0.6)	
Nb moyen d'embryons à J3 ($\pm$ écart-type)	3.7 (± 0.9)	0.8 (± 0.4)	
Nb de grossesses évolutives (<i>taux</i>)	2 (9%)	1 (4%)	
Nb moyen d'ovocytes recueillis à la tentative suivante avec LH ($\pm$ écart-type)	8.7 (± 1.5)	4.2 (± 1.4)	
Nb moyen d'ovocytes retenus à la tentative suivante ($\pm$ écart-type)	7.8 (± 1.5)	3.8 (± 1.3)	
Nb moyen d'embryons à J3 à la tentative suivante ($\pm$ écart-type)	4.1 (± 1.1)	1.5 (± 0.7)	
Nb de grossesses évolutives à la tentative suivante (<i>taux</i>)	5 (23%)	4 (15%)	

* degré de significativité

¹ test t de Student

Tableau V : Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux selon la réponse ovocytaire lors de la tentative avec FSH seule

- Tentative avec apport de LH

Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux	Bonne réponse (≥ 5 ovocytes recueillis) N=29	Mauvaise réponse (< 5 ovocytes recueillis) N=19	p*
Age moyen en années ($\pm$ <i>écart-type</i>)	36.4 ($\pm 4,6$)	36.8 ($\pm 3,7$)	0.71 ¹
BMI moyen en kg/m ² ($\pm$ <i>écart-type</i>)	23.1 ($\pm 4,0$)	24.3 ($\pm 4,1$)	0.34 ¹
Rang moyen de la tentative avec LH ($\pm$ <i>écart-type</i>)	3.4 ($\pm 1,0$)	3.3 ($\pm 1,4$)	0.74 ¹
Nb de fumeuses actives (<i>taux</i>)	4 (14%)	4 (21%)	
Obstruction tubaire bilatérale, effectif (<i>taux</i>)	7 (24%)	8 (42%)	
Endométriose, effectif (<i>taux</i>)	7 (24%)	4 (21%)	
Dysovulation, effectif (<i>taux</i>)	18 (62%)	9 (47%)	
Pathologie immune ou malformation utérine, effectif (<i>taux</i>)	1 (3%)	1 (5%)	
ATS, effectif (<i>taux</i>)	22 (76%)	12 (63%)	
Autre cause masculine, effectif (<i>taux</i>)	1 (3%)	0	
Nb moyen d'ovocytes recueillis ($\pm$ <i>écart-type</i>)	9.0 (± 1.1)	2.1 (± 0.7)	
Nb moyen d'ovocytes retenus ($\pm$ <i>écart-type</i>)	8.2 (± 1.1)	1.7 (± 0.7)	
Nb moyen d'embryons à J3 ($\pm$ <i>écart-type</i>)	4.0 (± 0.8)	0.6 (± 0.4)	
Nb de grossesses évolutives (<i>taux</i>)	6 (21%)	3 (16%)	
Nb moyen d'ovocytes recueillis à la tentative suivante avec LH ($\pm$ <i>écart-type</i>)	6.6 (± 1.8)	2.7 (± 1.3)	
Nb moyen d'ovocytes retenus à la tentative suivante ($\pm$ <i>écart-type</i>)	5.9 (± 1.5)	2.3 (± 1.2)	
Nb moyen d'embryons à J3 à la tentative suivante ($\pm$ <i>écart-type</i>)	2.9 (± 0.8)	1.1 (± 0.7)	
Nb de grossesses évolutives à la tentative suivante (<i>taux</i>)	2 (7%)	(5%)	

* degré de significativité

¹ test de Student

Tableau VI : Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux selon la réponse lors de la tentative avec apport de LH

c) Recherche de facteurs pouvant influencer la réponse des tentatives de FIV avec ou sans LH (analyse croisée)

- Etiologies de l'infertilité

Les causes d'infertilité très rares dans notre échantillon (pathologies auto-immunes ou malformatives chez la femme, anomalies du sperme autre qu'OATS chez l'homme c'est-à-dire azoospermie) n'ont pas été traitées car les effectifs étaient trop faibles (respectivement 2 femmes et 1 homme).

Par contre, nous avons évalué l'impact de l'**obstruction tubaire bilatérale**, de l'**endométriase**, de la **dysovulation** et de l'**OATS** sur la réponse aux 2 types de protocoles (avec et sans LH).

- Tentative avec FSH seule

Caractéristiques cliniques des couples	Mauvaise réponse (<5 ovocytes recueillis) N=26	Bonne réponse (≥5 ovocytes) N=22	p*	Grossesse évolutive (>12 SA) N=3	Pas de grossesse évolutive N=45	p*
Obstruction tubaire bilatérale			0.48 ¹			0.23 ²
Oui	7 (46,7%)	8 (53,3%)		2 (13,3%)	13 (86,7%)	
Non	19 (57,6%)	14 (42,4%)		1 (3,0%)	32 (97,0%)	
Endométriase			0.98 ¹			0.55 ²
Oui	6 (54,5%)	5 (45,5%)		1 (9,1%)	10 (90,9%)	
Non	20 (54,1%)	17 (45,9%)		2 (5,4%)	35 (94,6%)	
Dysovulation			0.83 ¹			1 ²
Oui	15 (55,6%)	12 (44,4%)		2 (7,4%)	25 (92,6%)	
Non	11 (52,4%)	10 (47,6%)		1 (4,8%)	20 (95,2%)	
OATS			0.03 ¹			1 ²
Oui	15 (44,1%)	19(55,9%)		2 (5,9%)	32 (94,1%)	
Non	11(78,6%)	3(21,4%)		1 (7,1%)	13 (92,9%)	

* degré de significativité

¹ test du Khi-2

² test exact de Fisher

Tableau VII : Résultats de la tentative de FIV sans apport de LH en fonction des caractéristiques cliniques des couples

Les étiologies de l'infertilité ne sont pas statistiquement liées à l'efficacité de la tentative avec FSH seule, à part l'existence d'une OATS chez le partenaire. Cette anomalie du sperme est associée de façon significative à une meilleure réponse ovocytaire ($p=0,03$), mais sans répercussion sur le taux de grossesses évolutives ($p=1$).

- Tentative avec apport de LH

Caractéristiques cliniques des couples	Mauvaise réponse (<5 ovocytes recueillis) N=19	Bonne réponse (≥ 5 ovocytes) N=29	p*	Grossesse évolutive (>12 SA) N=9	Pas de grossesse évolutive N=39	p*
Obstruction tubaire bilatérale			0.19 ¹			0.43 ²
Oui	8 (53,3%)	7 (46,7%)		4 (26,7%)	11 (73,3%)	
Non	11 (33,3%)	22 (66,7%)		5 (15,2%)	28 (84,8%)	
Endométriose			1 ²			1 ²
Oui	4 (36,4%)	7 (63,6%)		2 (18,2%)	9 (81,8%)	
Non	15 (40,5%)	22 (59,5%)		7 (18,9%)	30 (81,1%)	
Dysovulation			0.31 ¹			0.15 ²
Oui	9 (33,3%)	18 (66,7%)		3 (11,1%)	24 (88,9%)	
Non	10 (47,6%)	11 (52,4%)		6 (28,6%)	15 (71,4%)	
OATS			0.34 ¹			1 ²
Oui	12 (35,3%)	22 (64,7%)		6 (17,6%)	28 (82,4%)	
Non	7 (50%)	7 (50%)		3 (21,4%)	11 (78,6%)	

* degré de significativité

¹ test du Khi-2

² test exact de Fisher

Tableau VIII : Résultats de la tentative de FIV avec apport de LH en fonction des caractéristiques cliniques des couples

Lors de la tentative avec apport de LH, les étiologies de l'infertilité ne sont statistiquement liées ni à la réponse ovarienne, ni au taux de grossesses évolutives.

- Caractéristiques physiques de la patiente et rang de la tentative

Nous avons recherché un lien éventuel entre l'âge de la patiente, son BMI, le rang de la FIV et la réponse obtenue lors de la FIV sans LH, puis avec apport de LH. Les données sont résumées dans le Tableau IX.

	Tentative sans apport de LH			Tentative avec apport de LH		
	Grossesse évolutive N=3	Pas de grossesse évolutive N=45	p*	Grossesse évolutive N=9	Pas de grossesse évolutive N=39	p*
Age moyen en années (± écart-type)	39 (±5,3)	36.4 (±4,1)	0.31 ¹	35.3 (±5,1)	36.8 (±4,0)	0.34 ¹
BMI moyen en kg/m ² (± écart-type)	24.0 (±4,4)	23.5 (±4,1)	0.85 ¹	23.9 (±4,6)	23.5 (±4,0)	0.79 ¹
Rang moyen de la FIV (± écart-type)	3.3 (±2,1)	2.3 (±1,1)	0.13 ¹	3.8 (±1,3)	3.2 (±1,1)	0.21 ¹

* degré de significativité

¹ test t de Student

Tableau IX : Résultats des deux tentatives en fonction de l'âge de la patiente, de son BMI et du rang de la tentative

Nous avons constaté qu'aussi bien lors de la tentative classique que lors de la tentative avec LH, les résultats ne sont pas statistiquement liés à l'âge de la patiente, à son BMI ou au rang de la FIV.

d) Comparaison de l'efficacité des 2 protocoles

- En termes de réponse ovocytaire

Nous avons tout d'abord comparé le nombre de mauvaises réponses (<5 ovocytes recueillis) dans les deux protocoles.

	Mauvaise réponse avec Pergoveris N=19	Bonne réponse avec Pergoveris N=29	
Mauvaise réponse sans Pergoveris N=26	15	11	26
Bonne réponse sans Pergoveris N=22	4	18	22
	19	29	48

Tableau X : Comparaison des réponses aux deux tentatives de FIV en séparant les bonnes réponses (≥ 5 ovocytes recueillis) et les mauvaises réponses (< 5 ovocytes)

Il y a une tendance à observer plus de mauvaises réponses avec le protocole FSH seule qu'avec le protocole mixte.

En effet, le taux de mauvaises répondeuses est passé de 54% (soit 26 patientes) lors de la tentative avec FSH seule contre 40% (soit 19 patientes) lors de la tentative avec apport de LH ($p=0,07$ selon le test de McNemar).

Concernant le nombre moyen d'ovocytes recueillis puis retenus (c'est à dire mis en fécondation en FIV ou micro-injectés en ICSI), nous avons étudié séparément l'échantillon complet puis le sous-groupe des mauvaises répondeuses repérées lors de la tentative avec FSH seule et le sous-groupe des patientes de plus de 35 ans.

	Echantillon complet (N=48)			Mauvaises répondeuses (N=26)			Patientes de plus de 35 ans (N=33)		
Résultats des tentatives	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*
Nb moyen d'ovocytes recueillis ($\pm$ écart-type)	5,0 ($\pm 4,6$)	6,3 ($\pm 4,2$)	0,056 ¹	1,7 ($\pm 1,6$)	4,2 ($\pm 3,6$)	0,002 ¹	5,1 ($\pm 4,7$)	5,7 ($\pm 4,2$)	0,423 ¹
Nombre moyen d'ovocytes retenus ($\pm$ écart-type)	4,5 ($\pm 4,0$)	5,6 ($\pm 4,0$)	0,050 ¹	1,4 ($\pm 1,5$)	3,8 ($\pm 3,5$)	0,001 ¹	4,5 ($\pm 4,1$)	5,1 ($\pm 4,0$)	0,266 ¹

* degré de significativité

¹ test t de Student

Tableau XI : Quantité et qualité ovocytaires lors des deux tentatives, dans la population générale puis chez les mauvaises répondeuses et les patientes de plus de 35 ans

Les résultats sont à la limite de la significativité dans l'échantillon complet.

En revanche, chez les mauvaises répondeuses, l'apport de LH a permis de recueillir et de retenir plus d'ovocytes de façon significative.

- En terme de quantité et qualité embryonnaires

Nous avons relevé le nombre médian d'embryons à J3 puis le nombre médian d'embryons transférés frais, le nombre médian d'embryons congelés et le nombre médian d'embryons de bonne qualité (somme des embryons transférés frais et congelés).

	Echantillon complet (N=48)			Mauvaises répondeuses (N=26)			Patientes de plus de 35 ans (N=33)		
Résultats des tentatives	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*
Nombre médian d'embryons à J3 (<i>intervalle interquartile</i>)	2 (0-3,5)	2,5 (0-4)	0,158 ¹	0 (0-2)	1 (0-3)		1 (0-4)	2 (0-4)	
Nombre médian d'embryons de bonne qualité (<i>intervalle interquartile</i>)	2 (0-2,5)	2 (0-3)	0,33 ¹	1 (0-2)	1 (0-2)	0,32 ²	1 (0-2)	2 (0-3)	0,32 ¹
Nombre médian d'embryons frais transférés (<i>intervalle interquartile</i>)	1,5 (0-2)	2 (0-2)		1 (0-2)	1 (0-2)		1 (0-2)	2 (0-2)	
Nombre médian d'embryons congelés (<i>intervalle interquartile</i>)	0 (0-0)	0 (0-0,5)		0 (0-0)	0 (0-0)		0 (0-0)	0 (0-0)	

* degré de significativité

¹ test t de Student

² test des rangs signés (distribution non gaussienne)

Tableau XII : Nombre médian d'embryons obtenus à J3, de bonne qualité, transférés frais et congelés lors de chaque tentative, dans la population générale puis chez les mauvaises répondeuses et chez les patientes de plus de 35 ans

L'apport de LH ne permet pas d'obtenir plus d'embryons de bonne qualité, que ce soit dans l'échantillon complet ou dans les différents sous-groupes.

- En terme de taux de grossesses biochimique et évolutive (>12 SA)

Les taux de grossesses biochimiques (β hcg sanguins positifs lors du premier dosage fait dix à douze jours après le transfert) ainsi que les taux de grossesses évolutives après 12 SA ont été comparés dans les deux tentatives.

	Echantillon complet (N=48)			Mauvaises répondeuses (N=26)			Patientes de plus de 35 ans (N=33)		
Résultats des tentatives	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*	Sans LH	Avec LH	p*
Taux de grossesses biochimiques	13%	25%		12%	19%		15%	21%	
Taux de grossesses évolutives (>12 SA)	6%	19%	0.083 ¹	4%	15%	0.180 ¹	6%	18%	0,157 ¹

* degré de significativité

¹ test de McNemar

Tableau XIII : Taux de grossesses biochimiques et évolutives lors de chaque tentative, dans la population générale puis chez les mauvaises répondeuses et les patientes de plus de 35 ans

L'apport de LH ne permet pas d'obtenir plus de grossesses évolutives chez les mauvaises répondeuses et chez les patientes de plus de 35 ans. Cependant dans l'échantillon complet, une tendance à un meilleur taux de grossesses évolutives est observée, mais elle n'est pas statistiquement significative ($p=0.083$).

3. Discussion

L'apport à la fois de LH et de FSH au cours des cycles de stimulation ovarienne chez les patientes en hypogonadisme hypogonadotrope est communément accepté. Les études qui ont comparé les stimulations par FSH seule versus FSH et LH ont démontré le bénéfice d'une stimulation mixte [83]. Shoham et al. [84] ont notamment retrouvé un moindre recrutement folliculaire, un taux d'oestradiol plus bas et un endomètre plus fin lors de l'utilisation de FSHr seule.

La dose idéale de LH à administrer au cours des stimulations semble être 75 UI/j (selon le groupe d'étude européen de la LHr [85]). Le fait d'apporter trop de LH exogène est clairement un obstacle au recrutement multifolliculaire, comme le démontre notamment l'étude de Shoham et al [53]. Le « plafond » à ne pas dépasser a été fixé à 225 UI/jour par Loumaye [86]. Cet effet délétère a été retrouvé dans les études *in vitro* également, puisque Hillier [47] note une réduction de plus de 50% de la capacité de l'ovocyte à se transformer en blastocyste lors de l'utilisation de hautes doses de LH.

En revanche, le fait de supplémenter les patientes en LH au cours des cycles de stimulation ovarienne pour les FIV est très controversé.

Tout d'abord concernant la **dose totale de FSH utilisée et la durée de la stimulation**, nous n'avons pu mettre en évidence de différence statistiquement significative entre les deux tentatives. Les auteurs qui se sont penchés sur cette question ont fait habituellement les mêmes constatations : c'est le cas de Franco [87], de Sills [88], de Durnerin [89], d'Imthurn [90], de Tarlatzis [91], de Söderström-Anttila [92], de Westergaard [93], de Gordon [94] et de Lisi [95]. Il y a cependant une légère tendance dans notre étude à utiliser plus de FSH dans l'échantillon complet ($p=0,091$), qui peut s'expliquer en partie par le fait que les doses journalières de FSH sont déterminées par les résultats de la stimulation précédente.

En revanche, l'apport de LH dans l'étude de Filicori [96] diminue la durée de la stimulation ovarienne et permet d'utiliser moins de FSH. Ceci est également constaté par Ferraretti [97].

Avant de comparer l'efficacité des deux protocoles, nous avons étudié tous les **facteurs** qui pourraient avoir une influence sur ces résultats, tels que l'âge des patientes, leur BMI et le rang des deux tentatives.

Il est intéressant de voir qu'aucun de ces facteurs n'influence de manière significative les résultats, mais avec les limites dues au faible effectif.

En effet, le BMI moyen, par exemple, est normal, avec peu de patientes dans les catégories situées aux extrêmes (3 patientes avec un BMI < 19 kg/m² et 4 patientes avec un BMI ≥ 30 kg/m²).

Le faible effectif de fumeuses (17%) n'a pas permis d'étudier l'impact du tabagisme sur les résultats, mais son effet délétère à tous les stades des FIV est bien connu. Et il est important de noter que malgré nos nombreuses interventions concernant la nécessité d'un sevrage tabagique en consultation, aucune des patientes fumeuses lors de la tentative sans LH n'a arrêté de fumer pour la tentative d'après, avec apport de LH.

Nous avons de même étudié l'influence des **étiologies** les plus répandues d'infertilité. Seule l'OATS est associée à une meilleure réponse ovocytaire, et uniquement lors de la tentative avec FSH seule. Il peut paraître logique que, lorsque l'OATS est la seule étiologie d'infertilité au sein du couple, les patientes aient une meilleure réponse ovocytaire que les patientes avec des pathologies associées. En revanche, il est moins logique que ceci ne s'observe pas également lors de la tentative avec apport de LH...

En tout cas, l'OATS n'est pas associée à un meilleur taux de grossesses évolutives, ce qui est certainement lié à la répercussion de la qualité spermatique sur la fécondation.

Cette analyse de l'effet des étiologies d'infertilité sur les résultats est cependant à nuancer du fait de la forte proportion d'infertilités mixtes (54%). Cette proportion est supérieure à celle qui est classiquement décrite en FIV (28.3% selon FIVNAT).

De plus, le faible effectif de patients dans chaque catégorie d'étiologie d'infertilité limite également la valeur de notre analyse.

Intéressons-nous maintenant au **taux de mauvaises répondeuses**, telles que nous avons choisi de les définir (< 5 ovocytes recueillis à la ponction ovocytaire).

Ce taux est passé de 54% à 40% en ajoutant de la LH à la FSH. Certes la différence n'est pas significative, mais la frontière est mince ($p=0,07$).

Il est difficile de comparer ce paramètre aux autres études car la définition des mauvaises répondeuses est très variable [98]. Il peut s'agir d'une prédiction selon l'âge de la patiente, son bilan hormonal dont le dosage de FSH à J3, son compte folliculaire antral ou il peut s'agir d'une mauvaise réponse avérée après une stimulation bien menée notamment avec des doses élevées de FSH. L'ESHRE a récemment publié la définition de la mauvaise répondeuse, qui

doit remplir au moins 2 des 3 critères suivants : âge maternel avancé ou autre facteur de risque de mauvaise réponse, un antécédent de mauvaise réponse ou un effondrement de la réserve ovarienne [82].

Concernant notre étude rétrospective, les patientes qui ont bénéficié de la tentative avec apport de LH ont été sélectionnées par le clinicien qui les suivait au décours d'une stimulation classique qui n'avait pas été satisfaisante. Mais le critère de mauvaise réponse était variable et surtout, ne figurait pas toujours dans le dossier de manière évidente. Nous avons ainsi trouvé plusieurs cas de figure : les patientes chez qui la 1^{ère} tentative avait abouti à une ponction blanche (0 ovocyte recueilli), celles qui avaient eu peu d'ovocytes recueillis, celles qui n'avaient aucun embryon transférable, ...

Voyons ensuite ce qu'il en est de notre critère d'étude principal, qui est le **nombre d'ovocytes recueillis**. Il n'est pas modifié de manière significative dans l'échantillon complet, ni chez les patientes âgées. Par contre, chez les mauvaises répondeuses, l'apport de LH permet d'obtenir en moyenne 2,5 ovocytes supplémentaires ($p=0,02$). Cette différence est également observée pour les **ovocytes retenus**, c'est-à-dire les ovocytes de bonne qualité choisis pour être mis en fécondation ou micro-injectés avec en moyenne 2,4 ovocytes de plus ($p=0,01$) lors de la tentative avec apport de LH.

Les données de la littérature sont hétérogènes dans ce domaine. Franco et al. [87] retrouvent plus d'ovocytes recueillis et plus d'ovocytes en métaphase II en cas d'apport de LH chez des patientes au cours d'une première tentative d'ICSI. Durnerin et al. [89] retrouvent plus d'ovocytes à féconder avec un apport de LH, dans une étude qui excluait les mauvaises répondeuses. De Placido et al [80] décrit plus d'ovocytes recueillis et matures en cas d'apport de LH chez des mauvaises répondeuses, définies par une réponse inadéquate à une stimulation par de la FSH seule. Ferraretti et al [97] met en évidence plus d'ovocytes recueillis chez des hyporépondeuses avec apport de LH.

En revanche, Sills et al [88], ne retrouve pas de bénéfice en terme de réponse ovocytaire en cas d'apport de LH. C'est également le cas d'Imthurn et al [90], de Tarlatzis et al [91], de Söderström-Antilla et al [92] et de Gordon et al [94], mais ceci dans des études qui ne tenaient pas compte du profil des patientes, notamment qui ne s'adressaient pas aux mauvaises répondeuses connues.

Après la réponse ovocytaire, penchons-nous sur le **nombre et la qualité embryonnaires**.

La valeur qui regroupe le mieux à la fois la quantité et la qualité est la somme des embryons transférés frais et congelés, puisque seuls les embryons de type I, de type II ou de type III avec moins de 10 % de fragmentation sont transférés ou congelés. L'apport de LH ne permet pas d'obtenir plus d'embryons de bonne qualité, que ce soit dans l'échantillon complet ou dans les deux sous-groupes.

De même concernant les **taux de grossesses biochimiques puis évolutives**, l'augmentation observée n'est pas statistiquement significative. Mais il est important de noter que les tentatives avec apport de LH ne sont pas toutes terminées car il reste encore 15 embryons congelés au total, ce qui pourrait tout à fait modifier le taux de grossesses définitif...

Les différents auteurs qui ont comparé les stimulations avec et sans apport de LH ne sont pas tous unanimes...

Franco [87], dans son étude incluant 244 patientes, retrouve une augmentation du nombre d'embryons de bonne qualité, mais sans répercussion sur les taux de grossesses et de naissances.

Durnerin [89], qui avait pu mettre en évidence une augmentation du nombre d'ovocytes de bonne qualité avec apport de LH, ne retrouve pas d'amélioration de la qualité embryonnaire ni du taux de grossesse.

Sills [88], dans une étude comportant 30 patientes, ne retrouve pas d'intérêt à l'apport de LH concernant le nombre d'embryons et le taux de grossesses. C'est également le cas d'Imthurn [90], de Tarlatzis [91] et de Fleming [99].

Söderström-Anttila [92], dans une étude regroupant 41 donneuses d'ovocytes stimulées soit par FSHr soit par hMG, avait retrouvé plus d'ovocytes avec le traitement mixte, mais là encore sans effet sur les taux de grossesses.

Westergaard [93], dans une étude incluant 218 patientes ayant eu soit de la FSHu soit de l'hMG, a pu mettre en évidence une augmentation du nombre d'embryons transférables sans reflet sur le taux de grossesses.

Ferraretti [97] s'est intéressé aux patientes hyporépondeuses lors de stimulations à la FSH seule et a démontré une augmentation des taux de grossesses et de naissances vivantes non significative lorsqu'elles ont une supplémentation en LH.

Lisi [95] a également sélectionné des mauvaises répondeuses pour son étude et démontré que l'apport de LH permet d'augmenter le nombre d'embryons et le taux de grossesse de façon significative.

Enfin Commenges-Docos [100], lors de son étude rétrospective des tentatives avec FSH seule versus FSH/hMG a démontré l'intérêt de la LH sur le taux de grossesses évolutives.

Il paraît donc tout à fait envisageable que le fait de ne pas démontrer d'augmentation du taux de grossesses dans notre étude soit lié soit au faible effectif de notre échantillon, soit au fait de ne pas avoir sélectionné uniquement des mauvaises répondeuses.

Les grossesses que nous avons qualifiées d'évolutives après 12 SA ont toutes abouti à la naissance d'enfants vivants, ce qui fait un taux final d'accouchements par ponction de 6% sans LH et 19% avec LH. Ces taux sont faibles par rapport aux taux d'accouchements par ponction en FIV (18.8%) et en ICSI (20.7%) cités dans le rapport annuel d'activité 2009 de l'ABM [1]. La population de notre étude est cependant particulière, puisque le Pergoveris était proposé à des patientes pour lesquelles une réponse décevante était attendue. Notre échantillon est également plus âgé que la population habituellement suivie en FIV (les 404 patientes prises en charges sur la durée de l'étude dans notre centre ont des âges tout à fait comparables à ceux des patientes du rapport annuel de l'ABM). Il est difficile de comparer ce taux de grossesse à ceux des autres études qui étaient réalisées en population standard donc avec des résultats proches des chiffres de l'ABM. Quant aux études faites auprès des mauvaises répondeuses, elles avaient des critères d'inclusion précis non comparables avec notre échantillon hétérogène.

Un seul aspect n'a pu être abordé dans notre étude, du fait de son caractère rétrospectif : **le taux de LH** endogène des patientes au début de la stimulation par les gonadotrophines.

Plusieurs auteurs s'accordent en effet autour de l'hypothèse que certaines patientes sont excessivement freinées par l'agoniste de la GnRH, avec pour conséquence un effondrement du taux de LH endogène. Ceci aurait notamment pour effet une augmentation du taux de fausses-couches spontanées selon les études de Westergaard [101] et d'Esposito [102].

Il est cependant difficile de déterminer un taux de LH à partir duquel il est intéressant de compléter les patientes [53] : Fleming [103] situe ce seuil à 0,5 UI/L à S6, avec selon lui une diminution du nombre d'embryons obtenus chez les patientes ayant un taux de LH bas. Loumaye [48] situe ce seuil également à 0,5 UI/L, mais à S1.

Les patientes avec des taux de LH effondrés seraient particulièrement réceptives à un apport de LH exogène à petites doses lors de leurs stimulations ovariennes. Mais la période

d'introduction de la LH est variable également selon les auteurs (début de stimulation en même temps que la FSH ou fin de phase folliculaire).

Plusieurs **biais** sont à noter dans notre étude :

- L'effectif des patientes est faible
- La durée entre les 2 tentatives est variable.
- Les protocoles de stimulation sont souvent différents les uns des autres (doses de FSH, doses de LH, utilisation soit d'agonistes soit d'antagonistes de la GnRH, critères de déclenchement de l'ovulation variables...). Il y a notamment une majorité de protocoles agonistes longs (58%) lors de la tentative sans LH, car il s'agit du protocole utilisé en première intention. Alors que dans la tentative avec LH, le protocole agoniste court est majoritaire. Ce protocole est en effet utilisé souvent en dernier recours chez les mauvaises répondeuses.
- La tentative sans apport de LH a parfois été réalisée dans un autre centre d'AMP avec probablement des modalités de stimulation, des critères de déclenchement et des techniques biologiques différentes des nôtres.
- Toutes les tentatives avec Pergoveris ne sont pas forcément terminées (il reste parfois des embryons congelés qui pourront être transférés), ce qui pourrait faire encore augmenter le nombre de grossesses.

Conclusion

Les résultats de notre étude sont en accord avec l'analyse de la bibliographie internationale. C'est-à-dire que l'apport de LH en FIV ne montre pas d'intérêt de façon systématique, mais uniquement dans le sous-groupe des mauvaises répondeuses avérées. Le protocole mixte ne permet ni de diminuer la durée de la stimulation, ni de diminuer les doses de FSH utilisées. En revanche, il permet de recueillir et de retenir plus d'ovocytes de façon significative. Il y a également une tendance à une augmentation des taux de grossesses, mais de manière cette fois non significative.

Notre étude rétrospective comporte certains biais qui modèrent son impact scientifique : le faible effectif de patientes, le fait que les protocoles de stimulation ovarienne varient, que la première tentative ait parfois eu lieu dans un autre centre d'AMP...

De plus, il reste 15 embryons congelés de la tentative avec LH qui pourraient encore modifier le taux de grossesses définitif...

Il nous a donc paru intéressant de compléter cette étude rétrospective par une étude prospective plus rigoureuse avec des effectifs plus importants, des critères d'inclusion précis, en veillant notamment à n'inclure que des mauvaises répondeuses et à exclure les patientes ayant un SOPK connu car il a été démontré que l'apport de LH chez ces patientes pouvait augmenter le taux de fausses-couches spontanées [104, 105].

Nous utiliserons également un seul protocole de stimulation, long agoniste, avec des critères précis de monitoring et de déclenchement. Le fait de n'utiliser qu'un type de protocole permettra en effet de supprimer le biais important qu'il pourrait y avoir en comparant les résultats de trois voire quatre protocoles à l'instar de ce que nous avons fait dans l'étude rétrospective. De plus, nous doserons la LH endogène en début de stimulation pour étudier l'impact de ce taux sur les résultats des tentatives.

4ème partie : étude prospective

1. Mise en place de l'étude

a) Obtention de l'avis favorable de la Commission de Recherche, d'Ethique et d'Enseignement Médical (CREEM)

La première étape à franchir pour pouvoir mettre en place une étude prospective à la Maternité Universitaire passe par la présentation du projet lors d'une séance de la CREEM. Cette commission est constituée d'une dizaine de médecins représentant les différentes disciplines présentes à la Maternité Régionale (gynécologie-obstétrique, pédiatrie, AMP, biologie, DIM...)

Le dossier à présenter doit contenir :

- titre
- principal investigateur et co-investigateurs éventuels
- état de la question avec références bibliographiques
- objectifs généraux et spécifiques
- matériel et méthodes (dont nombre de sujets inclus et justificatifs)
- résultat attendus éventuels
- problèmes éthiques (formulaire de consentement, position vis à vis du CPP)
- demande éventuelle pour que la Maternité soit promoteur au titre de la loi HURIET
- retombées pour la pratique clinique
- étude détaillé du budget et projet de financement

L'avis favorable de la CREEM a été prononcé lors de la séance du 13 décembre 2010, sous réserve de la modification du formulaire de consentement. En effet, l'étude est en fait de

nature de « soins courants », ce qui nécessite une information éclairée des patientes avec leur signature attestant que l'information a été comprise et qu'elles ne s'opposent pas à leur participation à l'étude (cf fiche d'information en annexe 1). La CREEM recommandait également l'obtention de l'avis du référent CNIL de l'établissement (le Dr Jeanne FRESSON) et l'avis du CPP-Est.

Concernant le financement du dosage de LH supplémentaire prévu en fin de désensibilisation ovarienne, un budget de 2000 euros a été accordé en séance à cet effet.

b) Obtention de l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes Est-III (CPP Est-III)

L'étape suivante a donc consisté à présenter le projet d'étude aux membres du CPP-Est localisé à l'hôpital de Brabois.

La composition du dossier de demande d'avis au CPP pour les recherches visant à évaluer les soins courants a été fixée par l'arrêté du 9 mars 2007 du Journal Officiel de la République Française [106].

Ce dossier devait comprendre :

- un courrier de demande d'avis daté et signé comportant notamment le numéro d'enregistrement de la recherche attribué par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (2011-A00318-33, dans notre cas)
- un formulaire daté et signé de demande d'avis
- le document permettant au CPP de s'assurer que le projet de recherche qui lui est soumis est une recherche portant sur l'évaluation des soins courants telle que définie par les dispositions législatives et réglementaires
- le protocole de la recherche, daté, signé et comportant un numéro de version
- le résumé du protocole
- le document d'information destiné aux personnes qui se prêtent à la recherche précisant qu'elles disposent d'une faculté d'opposition à leur participation à la recherche
- le cas échéant, l'avis d'un comité scientifique consulté par la personne responsable (la CREEM dans notre cas)

- le curriculum vitae de la personne qui dirige et surveille la réalisation de la recherche

Le Comité s'est réuni le 9 mai 2011 et a adopté la délibération suivante : AVIS FAVORABLE pour :

Le formulaire de demande d'avis daté du 28 avril 2011

Le protocole : version 4.5 du 28 avril 2011

Le résumé du protocole : version 4.5 du 28 avril 2011

Le document additionnel daté du 28 avril 2011

La note d'information pour les patientes

Le CV de l'investigateur de l'étude (le Dr ZACCABRI)

c) Obtention de l'avis favorable du référent CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés) de la Maternité Universitaire

Le Dr Jeanne Fresson, après lecture des divers documents constituant le projet, a accordé l'autorisation de démarrage de l'étude après inscription sur le registre national de la CNIL le 07 juin 2011.

2 . Déroulement de l'étude : patientes et méthodes

a) Objectifs et hypothèses

L'objectif principal de notre étude consistera à montrer que l'apport de LH chez des patientes mauvaises répondeuses avérées à un protocole avec FSH seule permet de retenir plus d'ovocytes que lors de la précédente stimulation (avec FSH uniquement) chez au moins 50% des ces patientes.

L'objectif secondaire consistera à comparer l'efficacité du protocole mixte en fonction du taux basal de LH des patientes.

Le **critère de jugement principal** sera la différence de nombre d'ovocytes retenus (c'est-à-dire le nombre d'ovocytes de bonne qualité obtenus) entre le protocole associant FSH et LH et le protocole avec FSH seule. Ce critère de jugement sera traité en variable qualitative binaire (« plus d'ovocytes retenus avec le protocole associant FSH et LH » ou « pas de différence ou moins d'ovocytes retenus avec le protocole associant FSH et LH »).

Les **critères secondaires** seront la dose totale de FSH nécessaire, la durée de la stimulation, le nombre et la qualité des embryons obtenus, le nombre de grossesses évolutives à la fin du 1^{er} trimestre, et le nombre de grossesses aboutissant à la sortie de maternité d'un enfant vivant.

b) Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective qui comparera les résultats de chaque patiente lors du protocole avec apport de LH par rapport aux résultats de la tentative précédente avec de la FSH seule.

Un dosage de LH sera réalisé en début de stimulation pour séparer les patientes en deux groupes :

- Groupe 1 : LH en début de stimulation < 1 UI/l
- Groupe 2 : LH en début de stimulation ≥ 1 UI/l

Ce dosage sera effectué en double aveugle afin de ne pas influencer le clinicien lors des modifications des doses de gonadotrophines ultérieures.

c) Critères d'évaluation

Le critère de jugement principal sera la différence de nombre d'ovocytes retenus (c'est-à-dire le nombre d'ovocytes de bonne qualité obtenus) entre le protocole associant FSH et LH et le protocole avec FSH seule. Ce critère de jugement sera traité en variable qualitative binaire (« plus d'ovocytes retenus avec le protocole mixte » ou « pas de différence ou moins d'ovocytes retenus avec le protocole mixte »).

Les critères secondaires seront :

- La dose totale de FSH nécessaire
- La durée de la stimulation
- Le nombre et la qualité des embryons obtenus
- Le nombre de grossesses évolutives à la fin du 1^{er} trimestre
- Le nombre de grossesses aboutissant à la sortie de maternité d'un enfant vivant

d) Population

L'étude prospective sera réalisée sur une population de mauvaises répondeuses avérées lors de leur dernier protocole FSH (c'est-à-dire des patientes pour lesquelles moins de 5 ovocytes ont été recueillis).

- Critères d'inclusion :

- Mauvaise réponse au protocole FSH
- Patiente âgée de 18 à 42 ans
- Cycles réguliers (25 à 34 jours)
- 2 ovaires présents

- BMI < 35 kg/m²
- Couple ayant accepté l'étude

- Critères de non inclusion :

- Syndrome des ovaires polykystiques (car l'apport de LH a été reconnu comme délétère dans ce cas de figure)
- Pathologie hypothalamo-hypophysaire connue
- Allergie ou intolérance connue aux produits

e) Données recueillies et source des données

Les données nécessaires à l'étude sont toutes habituellement recueillies dans le cadre du suivi normal des couples. Un bordereau de recueil spécifique (annexe 3) a donc été construit afin de recueillir ces informations à posteriori (à la fin du suivi) dans le dossier médical des couples inclus dans l'étude. Le dossier médical des couples sera rempli comme d'habitude par le praticien en charge de la patiente pour la partie clinique et par les biologistes. Le report des données sera réalisé au fur et à mesure de l'avancée de l'étude.

Le recueil des données pour l'étude sera anonyme. A cet effet, le bordereau comporte un numéro d'anonymat et une liste de correspondance sera conservée sur le réseau informatique de la maternité régionale de Nancy.

Les données recueillies seront les suivantes (bordereau de recueil disponible en annexe) :

- Age, taille, poids, statut tabagique de la patiente,
- Age du conjoint,
- Compte folliculaire antral (élément pronostic car indicateur de la réserve ovarienne),
- Description des facteurs d'infertilité connus chez la patiente et son conjoint,
- Durée de l'infertilité et type (primaire ou secondaire),
- Technique de FIV (classique ou micro-injectée),
- Résultats de la dernière tentative de FIV avec FSH seule (nombre et qualité des ovocytes et embryons obtenus, durée de la stimulation et dose totale de FSH utilisée),

- Dosages d'oestradiol et de LH, ainsi que résultats du monitoring échographique après la désensibilisation, au bout de 6 jours de stimulation et le jour du déclenchement,
- Durée de la stimulation et doses totales de FSH utilisées,
- Nombre d'ovocytes recueillis et qualité,
- Nombre d'ovocytes micro-injectés (si ICSI),
- Aspect des embryons à différents stades de développement,
- Nombre d'embryons transférés et congelés,
- Grossesse biochimique +/- clinique après transfert frais,
- Grossesse évolutive (> 12 SA),
- Retour à domicile d'un enfant vivant.

Notes :

- Une grossesse biochimique est définie par un dosage de β hcg positif,
- Une grossesse clinique est définie par un sac gestationnel visible à l'échographie.

f) Description du protocole

Le protocole standardisé choisi (protocole mixte) est un protocole « long agoniste », c'est-à-dire que la mise au repos des ovaires avant la stimulation est réalisée à l'aide d'un agoniste de la GnRH administré d'abord seul pendant la fin du cycle précédent la stimulation, puis à mi-dose en même temps que les gonadotrophines pendant la stimulation à proprement parler.

Les patientes bénéficieront donc d'une injection quotidienne de Decapeptyl 0,1 mg à partir de J20 du cycle précédent celui de la stimulation, avec contrôle échographique (freination ovarienne) et dosage d'oestradiol (E2) au bout de 10 jours. L'échographie ne devra pas montrer de follicule de plus de 10 mm de diamètre et l'E2 devra être inférieur à 45 pg/mL pour pouvoir démarrer la stimulation. La LH sera également dosée le jour du contrôle de freination afin de séparer les patientes en 2 groupes (freination excessive ou normale).

Le dosage de LH sera réalisé grâce à un kit Architect LH®. Il s'agit d'un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence.

Dans un premier temps, l'échantillon et les microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti- β LH sont mis en présence. La LH présente dans l'échantillon se lie aux

microparticules recouvertes d'anticorps anti- β LH. Après lavage, le conjugué d'anticorps anti- α LH marqué à l'acridinium est ajouté dans un deuxième temps. Les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel ; la réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière. Il existe une relation directe entre la quantité de LH présente dans l'échantillon et les unités relatives de lumière détectées par le système optique ARCHITECT.

Le dosage d'estradiol sera réalisé grâce à un kit Architect Estradiol®. Il s'agit d'un dosage immunologique en une étape retardée utilisant également la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence.

Dans un premier temps, l'échantillon, le diluant pour échantillons, le diluant de dosage et les microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-estradiol (lapin, monoclonal) sont mis en présence. L'estradiol présent dans l'échantillon se lie aux microparticules recouvertes d'anticorps anti-estradiol. Après une incubation, le conjugué d'estradiol marqué à l'acridinium est ajouté au mélange réactionnel. Après une seconde incubation et un lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées à leur tour et la réaction chimiluminescente est mesurée en unités relatives de lumière. Il existe une relation inverse entre la quantité d'estradiol présente dans l'échantillon et le nombre d'unités relatives de lumière détectées par le système optique ARCHITECT.

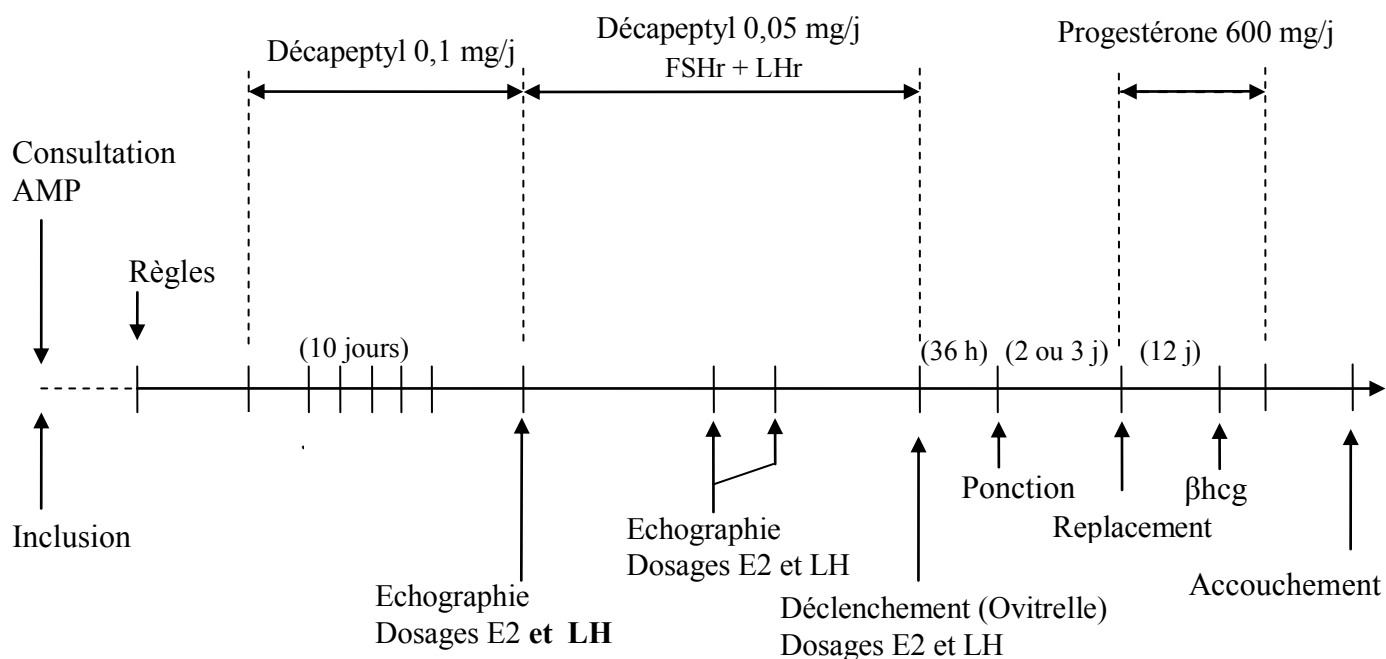
A partir du moment où la stimulation démarrera, la dose quotidienne de Decapeptyl passera à 0,05mg. De S1 à S6 (1^{er} au 6^{ème} jour de la stimulation), les patientes recevront 225 unités de FSHr et 75 unités de LHr si leur BMI est inférieur à 30 kg/m², ou 300 unités de FSHr et 75 unités de LHr si leur BMI est supérieur ou égal à 30 kg/m². Les doses employées ici sont plus importantes qu'en pratique courante car adaptées au fait que les patientes soient des mauvaises répondeuses. A S6, une échographie sera réalisée, ainsi qu'un nouveau dosage d'E2 et de LH. Les doses de FSHr seront adaptées à partir de ce jour-là en fonction des résultats des dosages, mais la dose de LHr restera fixe.

Le déclenchement de l'ovulation sera réalisé à l'aide d'une injection sous-cutanée d'Ovitrelle lorsqu'au moins 1 follicule ≥ 17 mm sera obtenu. Un dernier dosage d'E2 et de LH sera réalisé le jour ou la veille du déclenchement selon les possibilités (pas de dosage le week-end).

Seul le premier dosage de LH sera effectué en double aveugle car les dosages suivants sont utiles pour prendre la décision de la date du déclenchement. C'est ce 1^{er} dosage de LH qui permettra de classer les patientes en 2 groupes : taux basal de LH bas ($< 1 \text{ UI/L}$) ou normal ($\geq 1 \text{ UI/L}$). **Ce dosage constitue l'unique différence par rapport à la prise en charge habituelle de ces patientes dans notre service.**

La ponction folliculaire transvaginale échoguidée aura lieu 36 heures plus tard et le transfert d'embryon frais à J2 ou J3 (pas de transfert le dimanche). Les embryons surnuméraires seront congelés si leur qualité le permet (embryons de type I, II ou III avec moins de 10% de fragmentation).

La phase lutéale sera supplémentée quotidiennement par 600 mg de progestérone par voie vaginale à partir du jour du remplacement embryonnaire, au moins jusqu'au test de grossesse (dosage de βhcg sanguin 12 jours après le transfert embryonnaire). En cas de positivité des βhcg , ce traitement sera poursuivi jusqu'à 12 semaines d'aménorrhée.



g) Traitement des données

- Saisie

Les données de la fiche de recueil seront fournies par le dossier médical des patients. La fiche de recueil comportera un numéro de correspondance qui permettra d'anonymiser d'emblée les données. La saisie sera réalisée par l'interne qui participe à l'étude.

- Analyses statistiques

L'analyse statistique sera réalisée au département d'information médicale de la maternité régionale universitaire de Nancy, à l'aide du logiciel SAS, version 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Dans un premier temps, une analyse descriptive des données sera effectuée. Cette description concernera tout d'abord l'échantillon complet, puis les 2 groupes séparément (taux basal de LH bas ou normal). Les variables quantitatives seront présentées à l'aide de leur moyenne et de leur écart-type. Les variables qualitatives seront présentées par les effectifs et le pourcentage correspondant de chacune des modalités.

Dans un deuxième temps, une analyse bivariée sera menée afin de rechercher les caractéristiques des couples associés à la rétention d'au moins un ovocyte supplémentaire lors du protocole mixte par rapport au protocole FSH. La relation avec les variables quantitatives sera recherchée à l'aide d'un test t de Student ou d'un test de Wilcoxon et la relation avec les variables qualitatives à l'aide d'un test du χ^2 d'homogénéité ou à l'aide d'un test exact de Fisher.

Cette analyse bivariée permettra également de comparer l'efficacité des 2 protocoles chez une même patiente. A cet effet, un test du χ^2 d'indépendance sera réalisé afin de tester si le protocole mixte permet de retenir au moins 1 ovocyte supplémentaire par rapport au protocole FSH chez plus de 50% des patientes.

Enfin, l'analyse bivariée permettra de comparer le taux de patientes chez lesquelles le protocole mixte a permis de retenir plus d'ovocytes que le protocole FSH en fonction du taux basal de LH (taux basal de LH bas ou normal).

Le seuil de significativité retenu pour les tests sera de 5%.

- Contrôles qualité

Les données seront saisies dans EpiData et des contrôles seront introduits à la saisie pour limiter les erreurs. Des contrôles de cohérence seront également effectués avant de débiter l'analyse des données.

h) Nombre de sujets nécessaires

Pour que le protocole mixte puisse être considéré comme pertinent dans le cadre d'une aide médicale à la procréation en 2^{ème} intention chez les patientes mauvaises répondeuses au protocole FSH, il faut que le nombre d'ovocytes retenus suite au protocole mixte soit supérieur à celui retenu après un protocole FSH chez plus de 50% de ces patientes. L'étude pilote qui a été menée de façon rétrospective a permis d'estimer les paramètres nécessaires au calcul du nombre de couples à inclure. Dans cette étude, le protocole mixte a permis de retenir plus d'ovocytes que le protocole FSH chez 70% des patientes mauvaises répondeuses au protocole FSH.

Pour un risque alpha de 5% et une puissance de 80%, il faudra inclure 91 patientes. Le service de procréation médicale assistée de la maternité régionale universitaire de Nancy prend en charge chaque année environ 60 couples dont la patiente est mauvaise répondeuse au protocole FSH, soit une durée d'inclusion prévue de 18 mois. La durée de suivi des couples étant d'environ 1 an (4 semaines de protocole de stimulation et 9 mois de grossesse), la durée prévue de l'étude est de 2,5 ans environ.

i) Aspects logistiques et réglementaires

- Droit de refus de participation

Les couples pourront refuser d'emblée de participer à l'étude ou interrompre leur participation à tout moment, sans que leur prise en charge ne soit modifiée. Si un transfert d'embryon frais a été réalisé, la tentative entrera cependant dans le décompte des FIV remboursées par la sécurité sociale (4 au total).

- Modalités de recrutement

Les couples seront recrutés en consultation d'AMP. Le praticien qui les suit leur proposera le protocole avec apport de LH lorsqu'une mauvaise réponse aura été observée avec un protocole FSH et que les couples correspondront aux critères d'inclusion.

Les couples seront informés qu'il s'agit d'une prise en charge habituelle et que seul un dosage supplémentaire sera effectué mais que cela n'induit pas de prélèvement supplémentaire. Le protocole leur sera expliqué oralement, à l'aide d'un schéma qui leur sera délivré, puis le consentement des deux membres du couple sera recueilli, comme avant toute nouvelle tentative de FIV.

Une fiche d'information signée par le médecin sera distribuée aux couples, avec un double qui restera dans le dossier médical pour prouver que l'étude a été expliquée et que le couple a eu la possibilité de refuser d'y participer.

Puis le dossier du couple sera présenté en staff d'inclusion avant l'envoi définitif des ordonnances pour démarrer le nouveau cycle de FIV.

- Effets indésirables

Nous n'attendons pas d'effets indésirables liés à la recherche. Les effets indésirables éventuels seront identiques à ceux de la prise en charge classique et seront de ce fait traités comme d'habitude.

En effet, l'étude pourra être interrompue après avis médical en cas d'intolérance sévère à l'un des traitements administrés ou en cas d'hyperstimulation ovarienne avec indication de différer le transfert d'embryon frais et de congeler tous les embryons.

Le suivi des patientes sera assuré dans l'unité clinique +/- biologique en cas de complications liées au traitement ou d'hyperstimulation ovarienne, la durée de surveillance étant déterminée par le clinicien en fonction de la gravité des symptômes. L'évolution clinique et biologique sera recueillie dans le dossier clinique jusqu'à l'arrêt de la surveillance.

- Accès aux données et documents sources :

Cette étude étant monocentrique, les données resteront dans l'établissement. Seuls les professionnels habilités à prendre en charge les couples pourront accéder aux données à partir de postes informatiques dont l'accès est sécurisé par un login et un mot de passe personnalisés.

Les bordereaux de recueil de données seront conservés aux archives de la maternité régionale de Nancy.

Par ailleurs, les couples pourront accéder à leur dossier médical en contactant le médecin qui les prend en charge habituellement en PMA, selon la procédure habituelle.

- Autorisations réglementaires et aspects éthiques

Notre recherche ayant pour objectif d'évaluer des soins courants, il n'y aura pas de modification de la prise en charge habituelle ni de gestes supplémentaires.

4. Premiers résultats

a) Premières inclusions

Les premières inclusions ont eu lieu au mois de juin 2011. Il y a actuellement 6 patientes incluses, qui ont débuté pour certaines leur stimulation ovarienne. Nous n'avons à l'heure actuelle pas encore de résultats pour ces patientes, puisqu'elles n'ont pas encore atteint l'étape de la ponction ovarienne.

b) Premières difficultés

Plusieurs problèmes ont déjà été soulevés depuis le début des inclusions...

Tout d'abord, il est apparu que toutes les mauvaises répondeuses répondant aux critères d'inclusion n'ont pas forcément été incluses dans l'étude pour leur nouvelle tentative. En effet, seules les premières inclusions en FIV sont systématiquement présentées au staff. La décision de présenter les deuxièmes, troisièmes ou quatrièmes tentatives appartient à chaque clinicien.

Et même quand le dossier d'inclusion passe au staff, il n'est pas forcément acquis qu'une mauvaise répondeuse soit incluse de manière automatique.

Ensuite, il est souvent difficile pour les cliniciens de se conformer à la rigueur du protocole, notamment concernant les doses de FSH de départ, qui ne doivent dépendre que du BMI de la patiente et non des résultats de la tentative précédent, comme habituellement.

Par ailleurs, concernant le déroulement de la tentative, le dosage systématique de la LH a déjà été oublié pour une des patientes en fin de désensibilisation ovarienne.

c) Premières solutions

Pour éviter que les mauvaises répondeuses ne soient oubliées, nous avons décidé de faire un relevé mensuel des patientes ayant eu moins de 5 ovocytes lors des ponctions ovariennes du mois écoulé. Nous retournons ensuite dans leur dossier informatisé dans le logiciel Médifirst pour vérifier si elles entrent bien dans les critères d'inclusion. Si c'est le cas, nous laissons un message écrit au praticien qui précise que la patiente pourrait être incluse dans l'étude et à quelle dose il conviendrait de démarrer la stimulation ovarienne.

Nous avons également inséré la fiche d'information pour les patientes dans la liste des ordonnances pré-remplies imprimables sur le logiciel Médifirst.

Enfin, nous avons effectué plusieurs présentations orales du protocole lors des staffs, avec une distribution du protocole et de son résumé.

Conclusion

Notre travail nous a permis de mettre en évidence le rôle capital de la LH au cours du cycle menstruel.

En Fécondation In Vitro cependant, il nous apparaît désormais évident qu'il n'est pas nécessaire d'ajouter de la LH recombinante à toutes les patientes qui bénéficient d'un traitement de mise au repos par un agoniste de la GnRH et d'une stimulation par FSH recombinante.

Le seul sous-groupe qui a manifestement un intérêt à l'apport de LH est celui des mauvaises répondeuses. Ceci est d'autant plus intéressant que les équipes d'AMP sont quotidiennement confrontées à cette catégorie de patientes. Nous espérons que la mise en place de notre étude prospective permettra de confirmer nos premiers résultats prometteurs et éventuellement, du fait du dosage supplémentaire de LH, de détecter un seuil de LH endogène pour lequel l'apport de LH sera déterminant.

Le critère principal sera le nombre d'ovocytes obtenus, même si nous nous intéresserons également de près au taux d'accouchement, le but de la FIV restant la naissance d'un enfant vivant et en bonne santé. La LH recombinante n'a à l'heure actuelle aucun potentiel tératogène reconnu, mais le suivi des cohortes d'enfants nés après FIV et ICSI devra se poursuivre pour éliminer tout effet adverse des nouveaux traitements utilisés lors des stimulations ovariennes.

L'autre aspect de ce travail a été la découverte du cheminement nécessaire à la mise en place d'une étude prospective de soins courants. Nous avons tiré de nombreux enseignements de chaque étape, de l'étude rétrospective aux premières inclusions dans l'étude prospective, en passant par l'obtention des avis des différents comités scientifiques consultés.

Bibliographie

1. Biomédecine, A.d.l., *Rapport d'Activité Annuel de l'Assistance Médicale à la Procréation*. 2010.
2. Hillier, S.G., *Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development*. Mol Cell Endocrinol, 2001. **179**(1-2): p. 39-46.
3. Fanchin, R., *Rôle revisité de la LH sur le développement folliculaire*. Gynecol Obstet Fertil, 2002. **30**(10): p. 753-64.
4. Dubest, C. and M. Pugeat, *Gonadotrophines hypophysaires : physiologie et exploration fonctionnelle*. EMC Endocrinologie-Nutrition, 2005. **10**(O): p. 10-017.
5. Fiddes, J.C. and H.M. Goodman, *The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones*. J Mol Appl Genet, 1981. **1**(1): p. 3-18.
6. Talmadge, K., N.C. Vamvakopoulos, and J.C. Fiddes, *Evolution of the genes for the beta subunits of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone*. Nature, 1984. **307**(5946): p. 37-40.
7. Pigny, P., et al., *Hormones glycoprotéiques, glycosylation et activité biologique*. Ann Biol Clin (Paris), 1992. **50**(8): p. 557-64.
8. Murdoch, A.P., et al., *Determination of the frequency of pulsatile luteinizing hormone secretion by time series analysis*. Clin Endocrinol (Oxf), 1985. **22**(3): p. 341-6.
9. Tsutsumi, R. and N.J. Webster, *GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction*. Endocr J, 2009. **56**(6): p. 729-37.
10. Steele, P.A., L.F. McDonnell, and S.J. Judd, *Activity of gonadotropin-releasing hormone neurons during the preovulatory luteinizing hormone surge*. Fertil Steril, 1986. **45**(2): p. 179-84.
11. Belchetz, P.E., et al., *Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone*. Science, 1978. **202**(4368): p. 631-3.
12. Antelli, A., et al., *Two novel GnRHR gene mutations in two siblings with hypogonadotropic hypogonadism*. Eur J Endocrinol, 2006. **155**(2): p. 201-5.
13. de Roux, N., et al., *A family with hypogonadotropic hypogonadism and mutations in the gonadotropin-releasing hormone receptor*. N Engl J Med, 1997. **337**(22): p. 1597-602.
14. Nagahara, Y., et al., *Possible site of negative and positive feedback action of oestrogen on gonadotrophin secretion in normal women*. Acta Endocrinol (Copenh), 1985. **108**(4): p. 440-4.
15. Goodman, R.L., et al., *The endocrine basis of the synergistic suppression of luteinizing hormone by estradiol and progesterone*. Endocrinology, 1981. **109**(5): p. 1414-7.
16. Maruncic, M. and R.F. Casper, *The effect of luteal phase estrogen antagonism on luteinizing hormone pulsatility and luteal function in women*. J Clin Endocrinol Metab, 1987. **64**(1): p. 148-52.
17. McCartney, C.R., S.K. Blank, and J.C. Marshall, *Progesterone acutely increases LH pulse amplitude but does not acutely influence nocturnal LH pulse frequency slowing during the late follicular phase in women*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007. **292**(3): p. E900-6.
18. Soules, M.R., et al., *Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal women*. J Clin Endocrinol Metab, 1984. **58**(2): p. 378-83.

19. Brensing, K.A., et al., *Luteinizing hormone (LH) pulsatility during the oestradiol- and oestradiol/progesterone-induced LH surge in the human female*. Hum Reprod, 1993. **8 Suppl 2**: p. 72-6.
20. Stewart-Bentley, M., W. Odell, and R. Horton, *The feedback control of luteinizing hormone in normal adult men*. J Clin Endocrinol Metab, 1974. **38**(4): p. 545-53.
21. Knight, P.G. and C. Glistner, *Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatin in the ovary*. Reproduction, 2001. **121**(4): p. 503-12.
22. Loucks, A.B. and E.M. Heath, *Dietary restriction reduces luteinizing hormone (LH) pulse frequency during waking hours and increases LH pulse amplitude during sleep in young menstruating women*. J Clin Endocrinol Metab, 1994. **78**(4): p. 910-5.
23. Loucks, A.B. and J.R. Thuma, *Luteinizing hormone pulsatility is disrupted at a threshold of energy availability in regularly menstruating women*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(1): p. 297-311.
24. McCartney, C.R., et al., *Maturation of luteinizing hormone (gonadotropin-releasing hormone) secretion across puberty: evidence for altered regulation in obese peripubertal girls*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(1): p. 56-66.
25. Jain, A., et al., *Pulsatile luteinizing hormone amplitude and progesterone metabolite excretion are reduced in obese women*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(7): p. 2468-73.
26. Fenichel, R.M., et al., *Leptin levels and luteinizing hormone pulsatility in normal cycling women and their relationship to daily changes in metabolic rate*. Fertil Steril, 2008. **90**(4): p. 1161-8.
27. Teirmaa, T., et al., *Correlation between circulating leptin and luteinizing hormone during the menstrual cycle in normal-weight women*. Eur J Endocrinol, 1998. **139**(2): p. 190-4.
28. Rodriguez-Pacheco, F., et al., *Regulation of pituitary cell function by adiponectin*. Endocrinology, 2007. **148**(1): p. 401-10.
29. El-Eshmawy, M.M., I.A. Abdel Aal, and A.K. El Hawary, *Association of ghrelin and leptin with reproductive hormones in constitutional delay of growth and puberty*. Reprod Biol Endocrinol, 2010. **8**: p. 153.
30. Ascoli, M., F. Fanelli, and D.L. Segaloff, *The lutropin/choriogonadotropin receptor, a 2002 perspective*. Endocr Rev, 2002. **23**(2): p. 141-74.
31. Shenker, A., et al., *A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty*. Nature, 1993. **365**(6447): p. 652-4.
32. Toledo, S.P., et al., *An inactivating mutation of the luteinizing hormone receptor causes amenorrhea in a 46,XX female*. J Clin Endocrinol Metab, 1996. **81**(11): p. 3850-4.
33. Kremer, H., et al., *Male pseudohermaphroditism due to a homozygous missense mutation of the luteinizing hormone receptor gene*. Nat Genet, 1995. **9**(2): p. 160-4.
34. Latronico, A.C., et al., *Brief report: testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone-receptor gene*. N Engl J Med, 1996. **334**(8): p. 507-12.
35. Dubois, P.M., *Ontogenese des cellules gonadotropes*. Ann Endocrinol (Paris), 1990. **51**(2): p. 47-53.
36. Wennink, J.M., et al., *Luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion patterns in girls throughout puberty measured using highly sensitive immunoradiometric assays*. Clin Endocrinol (Oxf), 1990. **33**(3): p. 333-44.
37. Downs, J.L. and P.M. Wise, *The role of the brain in female reproductive aging*. Mol Cell Endocrinol, 2009. **299**(1): p. 32-8.

38. Genazzani, A.D., et al., *Difference of LH and FSH secretory characteristics and degree of concordance between postmenopausal and aging women*. Maturitas, 1997. **26**(2): p. 133-8.
39. Coussieu, C., *Hormone lutéinisante (HL)*. EMC Biologie médicale, 2006. **90-10-0550**.
40. Wide, L., et al., *The common genetic variant of luteinizing hormone has a longer serum half-life than the wild type in heterozygous women*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(1): p. 383-9.
41. Roger, M. and N. Lalhou, *Heterogeneity of plasma gonadotropins. Consequences on immunological properties of LH*. Nucl Med Biol, 1994. **21**(3): p. 349-57.
42. CNGOF, *Recommandations pour la prise en charge du couple infertile*. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, 2010. **39**: p. 113-18.
43. Leyendecker, G. and L. Wildt, *Induction of ovulation with chronic intermittent (pulsatile) administration of Gn-RH in women with hypothalamic amenorrhoea*. J Reprod Fertil, 1983. **69**(1): p. 397-409.
44. Gougeon, A., *Physiologie ovarienne*. EMC Gynécologie, 1998.
45. Howles, C.M., *Role of LH and FSH in ovarian function*. Mol Cell Endocrinol, 2000. **161**(1-2): p. 25-30.
46. Hugues, J.N. and I. Cedrin-Durnerin, *Le rôle de l'hormone lutéinisante dans la physiologie du follicule et du corps jaune*. Gynecol Obstet Fertil, 2000. **28**(10): p. 738-44.
47. Hillier, S.G., *Rôle de la LH sur la folliculogenèse dans le cycle menstruel*. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2002. **31**(2 Pt 2): p. 1S12-1S4.
48. Loumaye, E., et al., *Assessment of the role of serum luteinizing hormone and estradiol response to follicle-stimulating hormone on in vitro fertilization treatment outcome*. Fertil Steril, 1997. **67**(5): p. 889-99.
49. Merviel, P. and R. Cabry, *Cycle menstruel*. EMC Gynécologie, 2011.
50. Filicori, M., et al., *Stimulation and growth of antral ovarian follicles by selective LH activity administration in women*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(3): p. 1156-61.
51. Hull, M., et al., *Recombinant human luteinising hormone: an effective new gonadotropin preparation*. Lancet, 1994. **344**(8918): p. 334-5.
52. Regan, L., E.J. Owen, and H.S. Jacobs, *Hypersecretion of luteinising hormone, infertility, and miscarriage*. Lancet, 1990. **336**(8724): p. 1141-4.
53. Shoham, Z., *The clinical therapeutic window for luteinizing hormone in controlled ovarian stimulation*. Fertil Steril, 2002. **77**(6): p. 1170-7.
54. Tesarik, J. and C. Mendoza, *Effects of exogenous LH administration during ovarian stimulation of pituitary down-regulated young oocyte donors on oocyte yield and developmental competence*. Hum Reprod, 2002. **17**(12): p. 3129-37.
55. Rani, C.S., A.R. Salhanick, and D.T. Armstrong, *Follicle-stimulating hormone induction of luteinizing hormone receptor in cultured rat granulosa cells: an examination of the need for steroids in the induction process*. Endocrinology, 1981. **108**(4): p. 1379-85.
56. Levy, D.P., et al., *The role of LH in ovarian stimulation: exogenous LH: let's design the future*. Hum Reprod, 2000. **15**(11): p. 2258-65.
57. Shoham, Z., *Treatment of female infertility with recombinant human luteinising hormone: is there a benefit over other available drugs?* Expert Opin Pharmacother, 2003. **4**(11): p. 1985-94.
58. Filicori, M., *The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction*. Fertil Steril, 1999. **71**(3): p. 405-14.
59. Shemesh, M., *Actions of gonadotrophins on the uterus*. Reproduction, 2001. **121**(6): p. 835-42.

60. Rao, C.V., *Multiple novel roles of luteinizing hormone*. Fertil Steril, 2001. **76**(6): p. 1097-100.
61. Dechaud, H., et al., *Fécondation in vitro et injection intra cytoplasmique du spermatozoïde (ICSI)*. Encyclopédie Médico-Chirurgicale Gynécologie, 2003.
62. Amar-Hoffet, A., B. Hedon, and J. Belaisch-Allart, *Place des techniques d'assistance médicale à la procréation*. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2010. **39**(8 Suppl 2): p. S88-99.
63. Kennedy, S., et al., *ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis*. Hum Reprod, 2005. **20**(10): p. 2698-704.
64. CNGOF, *Prise en charge de l'infertilité associée à l'endometriose*. Recommandations pour la Pratique Clinique, 2006.
65. Lainas, T.G., et al., *Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT)*. Hum Reprod, 2010. **25**(3): p. 683-9.
66. Reh, A., L. Krey, and N. Noyes, *Are gonadotropin-releasing hormone agonists losing popularity? Current trends at a large fertility center*. Fertil Steril, 2010. **93**(1): p. 101-8.
67. Reyftmann, L., et al., *Le cycle naturel en fécondation in vitro chez les mauvaises repondeuses*. Gynecol Obstet Fertil, 2007. **35**(4): p. 352-8.
68. *révision des lois de bioéthique*. LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique, 2011. **article 29**.
69. Bachelot-Narquin, R., *arrêté du 3 août 2010 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation*. Journal Officiel de la République Française, 2010.
70. Gianaroli, L., et al., *Pronuclear morphology and chromosomal abnormalities as scoring criteria for embryo selection*. Fertil Steril, 2003. **80**(2): p. 341-9.
71. Boyer, P. and M. Boyer, *Evaluation non invasive de l'embryon : morphologie embryonnaire préimplantatoire*. Gynecol Obstet Fertil, 2009. **37**(11-12): p. 908-16.
72. Galeraud-Denis, I., et al., *Classical freezing techniques*. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, 2007. **36**: p. 39-43.
73. Van Royen, E., et al., *Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer*. Hum Reprod, 1999. **14**(9): p. 2345-9.
74. Frattarelli, J.L., et al., *Low-dose aspirin use does not improve in vitro fertilization outcomes in poor responders*. Fertil Steril, 2008. **89**(5): p. 1113-7.
75. Duvan, C.I., et al., *Oral contraceptive pretreatment does not improve outcome in microdose gonadotrophin-releasing hormone agonist protocol among poor responder intracytoplasmic sperm injection patients*. J Assist Reprod Genet, 2008. **25**(2-3): p. 89-93.
76. Kucuk, T., H. Kozinoglu, and A. Kaba, *Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol in patients with poor ovarian response: a prospective, randomized, clinical trial*. J Assist Reprod Genet, 2008. **25**(4): p. 123-7.
77. Dilbaz, S., et al., *Does 75 IU difference improve the cycle performance in poor responders? Comparison of daily 375 versus 450 IU gonadotrophin doses*. Gynecol Endocrinol, 2011.
78. Mochtar, M.H., et al., *Recombinant Luteinizing Hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(2): p. CD005070.
79. Cai, Q.F., et al., *Factors predicting the cumulative outcome of IVF/ICSI treatment: a multivariable analysis of 2450 patients*. Hum Reprod, 2011. **26**(9): p. 2532-40.
80. De Placido, G., 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, 2005. 20(2): p. 390-6.*
81. Marrs, R., et al., *Randomized trial to compare the effect of recombinant human FSH (follitropin alfa) with or without recombinant human LH in women undergoing assisted reproduction treatment. Reprod Biomed Online, 2004. 8(2): p. 175-82.*
 82. Ferraretti, A.P., et al., *ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Hum Reprod, 2011. 26(7): p. 1616-24.*
 83. Krause, B.T., R. Ohlinger, and A. Haase, *Lutropin alpha, recombinant human luteinizing hormone, for the stimulation of follicular development in profoundly LH-deficient hypogonadotropic hypogonadal women: a review. Biologics, 2009. 3: p. 337-47.*
 84. Shoham, Z., et al., *Results of ovulation induction using human menopausal gonadotropin or purified follicle-stimulating hormone in hypogonadotropic hypogonadism patients. Fertil Steril, 1991. 56(6): p. 1048-53.*
 85. *Recombinant human luteinizing hormone (LH) to support recombinant human follicle-stimulating hormone (FSH)-induced follicular development in LH- and FSH-deficient anovulatory women: a dose-finding study. The European Recombinant Human LH Study Group. J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(5): p. 1507-14.*
 86. Loumaye, E., *Stimulation ovarienne: la LH exogene est-elle necessaire chez toutes les patientes? Gynecol Obstet Fertil, 2002. 30(11): p. 890-5.*
 87. Franco, J.G., Jr., et al., *Effects of recombinant LH supplementation to recombinant FSH during induced ovarian stimulation in the GnRH-agonist protocol: a matched case-control study. Reprod Biol Endocrinol, 2009. 7: p. 58.*
 88. Sills, E.S., et al., *A prospective, randomized comparison of ovulation induction using highly purified follicle-stimulating hormone alone and with recombinant human luteinizing hormone in in-vitro fertilization. Hum Reprod, 1999. 14(9): p. 2230-5.*
 89. Durnerin, C.I., et al., *Effects of recombinant LH treatment on folliculogenesis and responsiveness to FSH stimulation. Hum Reprod, 2008. 23(2): p. 421-6.*
 90. Imthurn, B., et al., *Nuclear maturity and oocyte morphology after stimulation with highly purified follicle stimulating hormone compared to human menopausal gonadotrophin. Hum Reprod, 1996. 11(11): p. 2387-91.*
 91. Tarlatzis, B., et al., *The use of recombinant human LH (lutropin alfa) in the late stimulation phase of assisted reproduction cycles: a double-blind, randomized, prospective study. Hum Reprod, 2006. 21(1): p. 90-4.*
 92. Soderstrom-Anttila, V., T. Foudila, and O. Hovatta, *A randomized comparative study of highly purified follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotrophin for ovarian hyperstimulation in an oocyte donation programme. Hum Reprod, 1996. 11(9): p. 1864-70.*
 93. Westergaard, L.G., et al., *The effect of human menopausal gonadotrophin and highly purified, urine-derived follicle stimulating hormone on the outcome of in-vitro fertilization in down-regulated normogonadotrophic women. Hum Reprod, 1996. 11(6): p. 1209-13.*
 94. Gordon, U.D., et al., *A randomized prospective assessor-blind evaluation of luteinizing hormone dosage and in vitro fertilization outcome. Fertil Steril, 2001. 75(2): p. 324-31.*
 95. Lisi, F., et al., *Use of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal F) and recombinant luteinizing hormone (Luveris) for multiple follicular stimulation in patients with a suboptimal response to in vitro fertilization. Fertil Steril, 2003. 79(4): p. 1037-8.*

96. Filicori, M., et al., *Luteinizing hormone activity in menotropins optimizes folliculogenesis and treatment in controlled ovarian stimulation*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(1): p. 337-43.
97. Ferraretti, A.P., et al., *Exogenous luteinizing hormone in controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction techniques*. Fertil Steril, 2004. **82**(6): p. 1521-6.
98. Gorgy, A. and M. Taranissi, *Defining and predicting the poor responder!* Fertil Steril, 2001. **75**(1): p. 226-7.
99. Fleming, R., et al., *Purified urinary follicle stimulating hormone induces different hormone profiles compared with menotrophins, dependent upon the route of administration and endogenous luteinizing hormone activity*. Hum Reprod, 1996. **11**(9): p. 1854-8.
100. Commenges-Ducos, M., et al., *Recombinant follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin in the late follicular phase during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization*. Fertil Steril, 2002. **78**(5): p. 1049-54.
101. Westergaard, L.G., S.B. Laursen, and C.Y. Andersen, *Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation in normogonadotrophic women undergoing assisted reproduction*. Hum Reprod, 2000. **15**(5): p. 1003-8.
102. Esposito, M.A., et al., *Role of periovulatory luteinizing hormone concentrations during assisted reproductive technology cycles stimulated exclusively with recombinant follicle-stimulating hormone*. Fertil Steril, 2001. **75**(3): p. 519-24.
103. Fleming, R., et al., *Effects of profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation on follicular activity, oocyte and embryo function in cycles stimulated with purified follicle stimulating hormone*. Hum Reprod, 1998. **13**(7): p. 1788-92.
104. Sagle, M., et al., *Recurrent early miscarriage and polycystic ovaries*. BMJ, 1988. **297**(6655): p. 1027-8.
105. Homburg, R., et al., *Influence of serum luteinising hormone concentrations on ovulation, conception, and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome*. BMJ, 1988. **297**(6655): p. 1024-6.
106. Houssin, D., *Arrêté du 9 mars 2007 fixant la composition du dossier de demande d'avis au comité de protection des personnes pour les recherches visant à évaluer les soins courant mentionnées au 2° de l'article L.1121-1 du code de la santé publique*. Journal Officiel de la République Française, 2007.

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique
AMP : Aide Médicale à la Procréation
BMI : Body Masse Index
CCO : Complexes Cumulo-Ovocytaires
CFA : Compte des Follicules Antraux
CG : Cellules de la Granulosa
CT : Cellules de la Thèque
CMV : CytoMégaloVirus
CNIL : Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CPP : Comité de Protection des Personnes
CREEM : Commission de Recherche, d'Enseignement et d'Ethique Médicale
DIM : Département d'Information Médicale
ESHRE : European Society of Human Reproduction and Embryology
E2 : Oestradiol
FIV : Fécondation In Vitro
FSH : Hormone Folliculo-Stimulante
FSHr : Hormone Folliculo-Stimulante recombinante
FSHu : Hormone Folliculo-Stimulante urinaire
GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone
hCG : hormone gonadotrophine chorionique
hMG : human Menopausal Gonadotrophine
HTLV : Virus T-Lymphotrope humain
ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection
IGF : Facteurs de Croissance Insuline-like
LH : Hormone Lutéinisante
LHr : Hormone Lutéinisante recombinante
MRAP : Maternité Universitaire de Nancy
OATS : Oligo-Asthéno-Térato-Spermie
PN : ProNucléi
PVP : PolyVinylPyrrolidone
R-LH : récepteur de la LH
SA : Semaines d'Aménorrhées
SOPK : Syndrome des Ovaires Poly-Kystiques
TI : Thèque Interne
VEGF : Facteurs de Croissance de l'Endothélium Vasculaire
VHB : Virus de l'Hépatite B
VHC : Virus de l'Hépatite C
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

FIGURES ET TABLEAUX

FIGURES

Figure 1 : Homologie entre les sous-unités β des gonadotrophines, de l'hCG et de la TSH ...	26
Figure 2 : Schéma de la GnRH.....	28
Figure 3 : schéma du récepteur de la LH.....	31
Figure 4 : Réponses des sécrétions de LH, FSH et prolactine après un bolus de 100 μ g de GnRH chez des patientes en aménorrhée d'origine hypothalamique	37
Figure 5 : Schéma du développement du follicule primordial en follicule primaire	41
Figure 6 : Schéma d'un follicule secondaire.....	42
Figure 7 : Schéma d'un follicule tertiaire	42
Figure 8 : Schéma de synthèse de l'action de la LH	48
Figure 9 : Boîte d'ICSI (sous huile minérale)	62
Figure 10 : Classification de Gianaroli [70]	65
Figure 11 : Classification de la qualité embryonnaire.....	66
Figure 12 : Schéma d'une paillette de congélation d'embryons	70
Figure 13 : Comparaison de l'âge des patientes de l'étude par rapport à toutes celles ayant eu une ponction durant la même période	77
Figure 14 : Répartition des étiologies de l'infertilité	78

TABLEAUX

Tableau I : Réponses caractéristiques au test à la LH-RH	36
Tableau II : Récapitulatif de l'action de la LH durant les différentes phases du cycle menstruel	47
Tableau III : Effectifs des protocoles utilisés lors des tentatives sans, puis avec LH	79
Tableau IV : Doses totales de FSH nécessaire et durée moyenne de stimulation lors des deux tentatives, dans la population générale, chez les mauvaises répondeuses et chez les patientes >35 ans.....	81
Tableau V : Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux selon la réponse ovocytaire lors de la tentative avec FSH seule	82
Tableau VI : Caractéristiques cliniques des couples et résultats principaux selon la réponse lors de la tentative avec apport de LH	83
Tableau VII : Résultats de la tentative de FIV sans apport de LH en fonction des caractéristiques cliniques des couples.....	84
Tableau VIII : Résultats de la tentative de FIV avec apport de LH en fonction des caractéristiques cliniques des couples.....	85
Tableau IX : Résultats des deux tentatives en fonction de l'âge de la patiente, de son BMI et du rang de la tentative	86
Tableau X : Comparaison des réponses aux deux tentatives de FIV en séparant les bonnes réponses (≥ 5 ovocytes recueillis) et les mauvaises réponses (< 5 ovocytes).....	87
Tableau XI : Quantité et qualité ovocytaires lors des deux tentatives, dans la population générale puis chez les mauvaises répondeuses et les patientes de plus de 35 ans	87
Tableau XII : Nombre médian d'embryons obtenus à J3, de bonne qualité, transférés frais et congelés lors de chaque tentative, dans la population générale puis chez les mauvaises répondeuses et chez les patientes de plus de 35 ans	88
Tableau XIII : Taux de grossesses biochimiques et évolutives lors de chaque tentative, dans la population générale puis chez les mauvaises répondeuses et les patientes de plus de 35 ans	89

ANNEXE 1 : Fiche d'information

Madame, Monsieur,

Le service d'Assistance Médicale à la Procréation de la Maternité Universitaire de Nancy réalise actuellement une étude sur l'intérêt de l'apport de LH pour améliorer la réponse ovarienne dans le cadre de la prise en charge des troubles de la fertilité.

L'**objectif** de cette étude est de démontrer l'intérêt d'une stimulation ovarienne mixte par FSH et LH après une tentative peu satisfaisante avec de la FSH seule.

Déroulement des soins et nature de votre participation : le déroulement de votre FIV / ICSI sera similaire au cycle précédent, si ce n'est que votre traitement comprendra cette fois-ci une combinaison de 2 gonadotrophines (LH et FSH). Ce protocole de prise en charge est proposé de façon régulière dans le service depuis 2 ans chez les patientes pour lesquelles la prise en charge par FSH seule a été jugée peu satisfaisante.

Dans le cadre de cette étude, la seule nouveauté pour vous par rapport à la prise en charge habituelle consiste à réaliser un dosage hormonal supplémentaire. Ce dosage n'impliquera pas pour vous de contraintes supplémentaires car il sera réalisé sur un prélèvement sanguin qui est fait de façon systématique.

Votre participation nous permettra d'utiliser les informations de votre dossier médical (notamment vos antécédents médicaux et le résultat de votre prise en charge) pour les prendre en compte dans notre étude. Par contre, cela ne changera en aucun cas le déroulement des soins dont vous bénéficierez dans notre service.

Droit de refus de participation : vous avez le droit de refuser de participer à cette étude à tout moment, dès aujourd'hui ou à n'importe quel moment de votre prise en charge. Cette décision ne modifierait en aucun cas le déroulement des soins qui vous seraient proposés mais les données de votre dossier médical ne pourraient alors pas être utilisées pour l'étude.

Anonymat : l'utilisation des informations contenues dans votre dossier médical dans le cadre de cette étude sera effectuée de manière totalement anonyme. Seuls les médecins participant à votre prise en charge pourront y accéder.

Ethique : la Commission de Recherche, d'Enseignement et d'Ethique Médicale de la Maternité Universitaire de Nancy a donné son accord pour la réalisation de cette étude et le recueil de données a été déclaré à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés. L'avis favorable du CPP-EST III (Comité de Protection des Personnes) a par ailleurs été obtenu.

Nous vous remercions pour votre contribution à ce travail de recherche.

Dr. Annie ZACCABRI
Médecin responsable de l'étude

Information délivrée à Nancy le |__|/|__|/|__|, par le Dr.

La patiente a refusé de participer : ☐ Non ☐ Oui

ANNEXE 2 : Bordereau de recueil de l'étude rétrospective

1. Caractéristiques cliniques initiales du couple

A. Paramètres démographiques

1. Age de la patiente : |__|_| ans
2. BMI : |__| , |__|_| kg/m²

B. Facteurs de risque et antécédents du couple

3. Statut tabagique de la patiente :
☐ Tabagisme actif ☐ Non fumeuse
4. Origine de l'infertilité :
☐ Masculine ☐ Féminine ☐ Mixte
5. Facteurs féminins de stérilité :
☐ Oui ☐ Non
6. **Si oui**, préciser quel(s) est (sont) le(s) facteur(s) féminin(s) en cause :
☐ Tubaire ☐ Endométriose ☐ Malformation utérine
☐ Dysovulation ☐ Autre, préciser :
7. Facteurs masculins de stérilité :
☐ Oui ☐ Non
8. **Si oui**, préciser quel est le facteur masculin en cause :
☐ OATS ☐ autre

2. Protocole FSH précédent

A. Technique mise en œuvre

9. Tentative réalisée à la Maternité régionale:
☐ Oui ☐ Non
10. Technique de FIV :
☐ Classique ☐ ICSI

11. Protocole utilisé :

- | | |
|---|--|
| ☐ Agoniste court | ☐ Agoniste long |
| ☐ Antagoniste | ☐ Cycle semi-spontané |

12. Type de sperme utilisé :

- | | | |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| ☐ Frais | ☐ Congelé | ☐ Donneur |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|

13. Durée de la stimulation : |__|_| jours

14. Dose totale de FSH utilisée : |__|_|_|_| UI

15. Rang de la FIV : |__|_|

B. Résultats de la stimulation

16. Nombre d'ovocytes recueillis : |__|_|

17. Nombre d'ovocytes retenus : |__|_|

18. Nombre d'embryons transférés frais : |__|_|

19. Nombre d'embryons congelés : |__|_|

20. Nombre d'embryons à J3 : |__|_|

21. Nombre d'embryons de bonne qualité (= 18 + 19) : |__|_|

22. Une grossesse biochimique +/- clinique a-t-elle été diagnostiquée après transfert frais ?

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| ☐ Oui | ☐ Non |
|------------------------------|------------------------------|

23. Une grossesse évolutive > 12 semaines d'aménorrhée a-t-elle été observée ?

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| ☐ Oui | ☐ Non |
|------------------------------|------------------------------|

3. Protocole mixte (FSH + LH)

A. Technique mise en œuvre

24. Technique de FIV :

- | | |
|------------------------------------|-------------------------------|
| ☐ Classique | ☐ ICSI |
|------------------------------------|-------------------------------|

25. Protocole utilisé :

- | | |
|---|--|
| ☐ Agoniste court | ☐ Agoniste long |
| ☐ Antagoniste | ☐ Cycle semi-spontané |

26. Type de sperme utilisé :

☐ Frais ☐ Congelé ☐ Donneur

27. Durée de la stimulation : |__|_| jours

28. Dose totale de FSH utilisée : |__|_|_|_| UI

29. Rang de la FIV en cours (protocole mixte) : |__|_|

B. Résultats de la stimulation

30. Nombre d'ovocytes recueillis : |__|_|

31. Nombre d'ovocytes retenus : |__|_|

32. Nombre d'embryons transférés frais : |__|_|

33. Nombre d'embryons congelés : |__|_|

34. Nombre d'embryons à J3 : |__|_|

35. Nombre d'embryons de bonne qualité (= 32 + 33) : |__|_|

36. Une grossesse biochimique +/- clinique a-t-elle été diagnostiquée après transfert frais ?

☐ Oui ☐ Non

37. Une grossesse évolutive > 12 semaines d'aménorrhée a-t-elle été observée ?

☐ Oui ☐ Non

38. Nombre d'embryons congelés restants : |__|_|

ANNEXE 3 : Bordereau de recueil de l'étude prospective

Intérêt de l'apport de LH chez les mauvaises répondeuses en FIV

I. Caractéristiques cliniques initiales du couple

A. Paramètres démographiques (consultation d'inclusion)

1. Age de la patiente : |__|_| ans
2. Poids de la patiente : |__|_|_| , |__| kg
3. Taille de la patiente : |__|_|_| cm
4. Age du conjoint : |__|_| ans

B . Facteurs de risque et antécédents du couple

5. Statut tabagique de la patiente :
☐ Tabagisme actif ☐ Tabagisme ancien (sevré depuis au moins 3 mois) ☐ N'a jamais fumé
6. Type d'infertilité pour le couple :
☐ Primaire ☐ Secondaire
7. Durée de l'infertilité pour le couple (au jour de la ponction) : |__|_|_| mois
8. Origine de l'infertilité :
☐ Masculine ☐ Féminine ☐ Mixte
9. Facteurs féminins de stérilité :
☐ Oui ☐ Non
10. Si oui, préciser quel(s) est (sont) le(s) facteur(s) féminin(s) en cause :
☐ Tubaire ☐ Endométriose ☐ Malformation utérine
☐ Troubles de l'ovulation (hors SOPK) ☐ Autre, préciser :
11. Compté folliculaire antral : |__|_| follicules observés
12. Qualité du sperme :
☐ Normale ☐ OATS mineure ☐ OATS majeure

II. Protocole FSH précédent

A. Technique mise en œuvre

13. Tentative réalisée à la Maternité régionale:
☐ Oui ☐ Non
14. Technique de FIV :
☐ Classique ☐ ICSI
15. Protocole utilisé :
☐ Agoniste court ☐ Agoniste long
☐ Antagoniste ☐ Cycle semi-spontané
16. Type de sperme utilisé :
☐ Frais ☐ Congelé ☐ Donneur
17. Durée de la stimulation : |__|_| jours
18. Dose totale de FSH utilisée : |__|_|_|_| UI

B. Résultats de la stimulation

19. Nombre d'ovocytes recueillis : |__|_|
20. Nombre d'ovocytes retenus : |__|_|
21. Nombre d'ovocytes transférés frais : |__|_|
22. Nombre d'ovocytes congelés : |__|_|
23. Une grossesse biochimique +/- clinique a-t-elle été diagnostiquée après transfert frais ?
☐ Oui ☐ Non
24. Une grossesse évolutive > 12 semaines d'aménorrhée a-t-elle été observée ?
☐ Oui ☐ Non
25. Un enfant vivant est-il rentré à domicile ?
☐ Oui ☐ Non

III. Protocole mixte (FSH + LH)

A. Technique mise en œuvre

26. Technique de FIV :
☐ Classique ☐ ICSI

27. Rang de la FIV en cours (protocole mixte) :
28. Protocole utilisé :
- ☐ Agoniste court ☐ Agoniste long
- ☐ Antagoniste ☐ Cycle semi-spontané
29. Type de sperme utilisé :
- ☐ Frais ☐ Congelé ☐ Donneur
30. Dosage d'oestradiol réalisé le jour de l'échographie de désensibilisation : pg/ml
31. Dosage de LH réalisé le jour de l'échographie de désensibilisation : UI/l
32. Dosage d'oestradiol réalisé à S6 : pg/ml
33. Dosage de LH réalisé à S6 : UI/l
34. Nombre de follicules de 8mm ou plus observés à S6 :
35. Dosage d'oestradiol réalisé le jour du déclenchement : pg/ml
36. Dosage de LH réalisé le jour du déclenchement : UI/l
37. Nombre de follicules de 17mm ou plus observés le jour du déclenchement :
38. Nombre de follicules de 15 ou 16mm observés le jour du déclenchement :
39. Epaisseur de l'endomètre observée le jour du déclenchement :
40. Durée de la stimulation : jours
41. Dose totale de FSH utilisée : UI

B. Résultats de la stimulation

42. Nombre d'ovocytes recueillis :
43. Nombre d'ovocytes micro-injectés :
44. Aspect des zygotes à J1, le matin :
- | | | |
|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 0 PN : <input type="text"/> | 1 PN : <input type="text"/> | 2 PN : <input type="text"/> |
| 3 PN : <input type="text"/> | ≥ 4 PN : <input type="text"/> | 2 cellules : <input type="text"/> |

45. Aspect des zygotes à J1 (*25^{ème} heure en ICSI, 27^{ème} heure en FIV*) :

0 PN : |__|_|

2 PN : |__|_|

2 cellules : |__|_|

46. Aspect des embryons le jour du transfert :

Type I : |__|_|

Type II : |__|_|

Type III ($\leq 25\%$ de
fragmentation) : |__|_|

Type III ($> 25\%$ de
fragmentation) : |__|_|

Type IV : |__|_|

47. Nombre d'embryons transférés : |__|_|

48. Nombre d'embryons congelés : |__|_|

49. Une grossesse biochimique +/- clinique a-t-elle été diagnostiquée après transfert frais ?

☐

Oui

☐

Non

50. Une grossesse évolutive > 12 semaines d'aménorrhée a-t-elle été observée ?

☐

Oui

☐

Non

51. Un enfant vivant est-il rentré à domicile ?

☐

Oui

☐

Non

VU

NANCY, le 7 novembre 2011

Le Président de Thèse

NANCY, le 8 novembre 2011

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Par délégation

Professeur B. FOLIGUET

Professeur M. BRAUN

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/3830

NANCY, le 17 novembre 2011

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Par délégation

Madame C. CAPDEVILLE-ATKINSON

RÉSUMÉ

Malgré de nombreux progrès dans le domaine de la recherche thérapeutique, les taux de succès en Fécondation In-Vitro stagnent depuis plusieurs années. Le sous-groupe des patientes âgées et des mauvaises répondeuses notamment pose le problème d'une stimulation ovarienne souvent décevante et de taux de grossesses déplorables. Une des solutions proposées actuellement est l'apport de LH (Hormone Lutéinisante) au traitement habituel composé de FSH (Hormone Folliculo-Stimulante) exclusivement.

Après avoir rappelé les caractéristiques et le rôle de la LH, nous en avons évalué l'intérêt dans les stimulations ovariennes pour FIV à la fois grâce à une étude de la bibliographie internationale, puis à l'aide d'une étude rétrospective dans notre service d'AMP.

C'est ainsi que nous avons pu mettre en évidence un sous groupe de patientes pour lesquelles l'apport de LH est particulièrement intéressant, puisqu'il permet de recueillir plus d'ovocytes de bonne qualité de façon statistiquement significative. Il s'agit des mauvaises répondeuses avérées, c'est-à-dire repérées pour leurs mauvais résultats après une stimulation ovarienne par FSH seule.

Notre étude comportant de multiples biais, nous avons mis en place une étude prospective plus rigoureuse et ciblée uniquement sur les mauvaises répondeuses. Cette étude devra inclure 90 mauvaises répondeuses pour pouvoir démontrer un intérêt net d'un ajout de LH. Elle devrait donc s'étendre sur environ 2 ans et demi.

TITRE EN ANGLAIS

CONTRIBUTION OF EXOGENIC LUTEINIZING HORMONE IN IN VITRO FERTILIZATION

THÈSE DE MÉDECINE SPÉCIALISÉE – Année 2011

Mots-clefs : LH, gonadotrophines, folliculogénèse, FIV, mauvaises répondeuses

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY-1

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex