

**UNIVERSITÉ DE NANTES**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**

---

**ANNÉE 2004**

**N°01**

**THÈSE**  
**Pour le**  
**DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Par

**Mademoiselle BAUDRY Sabrina**

Présentée et soutenue publiquement le 5 janvier 2004

**LES ANTAGONISTES DE LA GnRH : UTILISATIONS**  
**DANS LES PROTOCOLES DE FECONDATION *IN***  
***VITRO***

**Président** : Madame ALLIOT A., Maître de Conférence de Parasitologie.

**Membres du jury** : - Madame GRIMAUD N., Maître de Conférences de Pharmacologie.

- Madame MIRALLIE S., Praticien Hospitalier en Biologie de la  
reproduction.

## **REMERCIEMENTS.**

Je tiens tout d'abord à remercier Mme ALLIOT d'avoir accepté d'être mon Président de Jury.

J'aimerais aussi remercier Mme GRIMAUD pour avoir su m'accompagner et me guider tout au long de l'élaboration de cette thèse.

Un grand merci également à Mme MIRALLIE pour sa disponibilité, sa gentillesse et ses précieuses explications dans l'utilisation des protocoles thérapeutiques.

Enfin, je ne peux oublier toute l'aide et le soutien de Frédéric dans l'utilisation de l'informatique et mes parents qui m'ont permis d'en arriver là.

## LISTE DES ABREVIATIONS

AMP	Assistance Médicale à la Procréation
E <sup>2</sup>	Estradiol
FCS	Fausse Couche Spontanée
GnRH	Gonadotrophin Releasing Hormon
FIV	Fécondation <i>In Vitro</i>
FSH	Follicle Stimulating Hormon
GEU	Grossesse Extra Utérine
hCG	human Chorionic Gonadotrophin
hMG	human Menopausal Gonadotrophin
HS	Syndrome d'Hyperstimulation Ovarienne
IAC	Insémination Avec sperme de Conjoint
IAD	Insémination avec sperme de Donneur
ICSI	Intra Cytoplasmic Sperm Injection
IIU	Insémination Intra Utérine
LH	Luteinizing Hormon
LH-RH (=GnRH)	Luteinizing Hormon Releasing Hormon
OPK	Ovaires Poly Kystiques

## **INTRODUCTION**

En France, environ 15% des couples consultent pour des difficultés à concevoir.

Les nouveaux modes de vie, le stress, les études, les familles recomposées, la mésinformation se surajoutent aux causes classiques d'infertilité et diminuent les capacités physiques de procréer.

Pour mieux appréhender et comprendre le long cheminement de la prise en charge médicale de ces couples, il est nécessaire tout d'abord, de faire un rappel sur l'infertilité et la physiologie humaine.

Puis il sera présenté les solutions thérapeutiques classiques avec leurs résultats mais également leurs limites.

Enfin, la récente classe thérapeutique des antagonistes de la GnRH sera analysée, comparée au traitement de référence ( les agonistes de la GnRH) et documentée avec des cas cliniques du service de Biologie de la Reproduction du CHU de Nantes..

Ces nouveaux traitements ont-ils un avenir ?

**PREMIERE PARTIE :**

**L'INFERTILITE**

# I. INFERTILITÉ

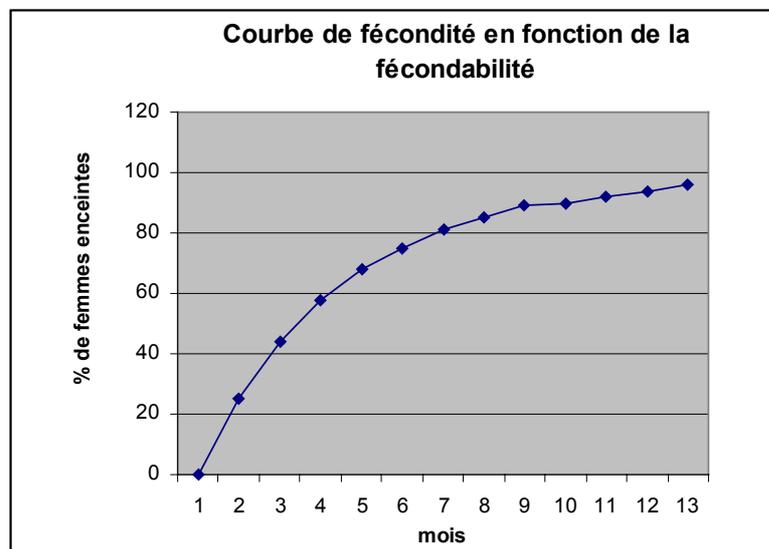
## A. Définitions

**La fertilité ou fécondité** est définie comme la potentialité à obtenir une grossesse. Un couple est donc dit fertile s'il est susceptible d'obtenir une grossesse. Dans le cas contraire il est dit infertile.

**La fécondabilité** est la probabilité mensuelle d'obtenir une grossesse. Dans l'espèce humaine elle est d'environ 25%. Toutefois, elle est très variable dans la population. Lorsque cette probabilité est nulle on parle de stérilité (incapacité totale de procréer naturellement). Lorsqu'elle est faible on parle d'hypofertilité. De cette notion découle celle de délai nécessaire pour concevoir, c'est-à-dire le temps qui s'écoule entre l'arrêt de toute contraception et l'obtention de la grossesse. Il est en moyenne de 5 mois et l'on ne considère pathologique qu'un délai supérieur à 2 ans. Ce n'est en général qu'à ce terme que sont réalisés les explorations et les traitements d'infertilité.

La fécondabilité varie en fonction de la date des rapports sexuels dans le cycle menstruel. Elle est maximale 2 jours avant l'ovulation et jusqu'à l'ovulation c'est-à-dire entre J12 et J14 pour un cycle de 28 jours.

**L'infertilité** représente un réel problème de santé publique puisque environ 14% des couples consultent un médecin au moins une fois pour un problème d'infertilité. (27)



**Figure 1 : Pourcentage de grossesses au fil des mois chez des couples ayant une fécondabilité normale.**

## B. Facteurs influençant la fertilité

### 1) Chez la femme

Ils peuvent être infectieux, mécaniques ou généraux.

-**l'infection génitale** est le facteur de risque principal. On estime à environ 28000 cas par an en France le nombre d'infections génitales à *Chlamydia trachomatis* ou à *Neisseria gonorrhoeae* entraînant une occlusion tubaire.

-**les antécédents chirurgicaux** (y compris l'appendicectomie). (3)

#### -l'âge de la femme

Les enquêtes épidémiologiques aussi bien que les résultats obtenus avec l'assistance médicale à la procréation ont démontré que la fertilité féminine passe par un maximum entre 20 et 30 ans, avec une fécondabilité effective (naissances) de l'ordre de 25% puis décroît ensuite progressivement. Les statistiques de l'IAD (Insémination Avec Donneur) confirment que la chute est sensible dès 31 ans, s'aggrave plus nettement à partir de 35 ans et dépasse 50 % à partir de la quarantaine, tandis que le taux d'avortements spontanés est 2 à 3 fois plus élevé.

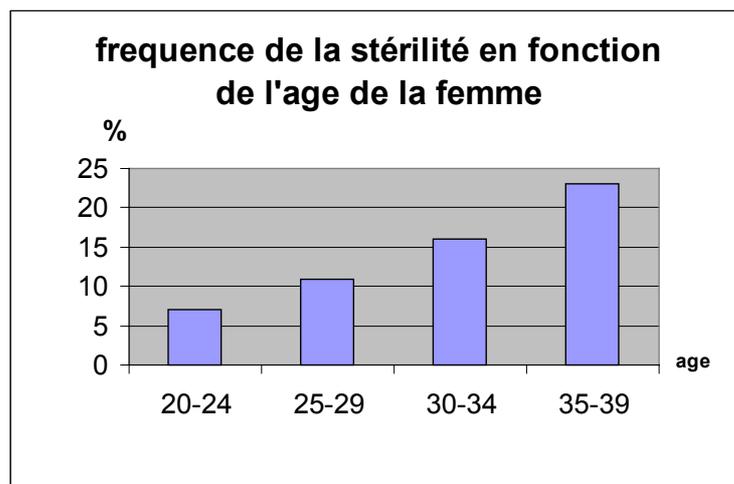


Figure 2: Fréquence de la stérilité en fonction de l'âge de la femme

Cette influence négative de l'âge se situe essentiellement au niveau de l'ovaire, avec diminution du capital folliculaire et de la qualité des ovocytes. L'altération de qualité ovocytaire a pu être démontrée par la cytogénétique, qui retrouve une augmentation significative des anomalies chromosomiques après 35 ans, et aussi par la pratique des dons d'ovocytes, où les taux de grossesses et d'avortements spontanés sont liés à l'âge de la donneuse et non celui de la receveuse. Au niveau de l'utérus les données sur l'influence de l'âge sont contradictoires. Enfin le temps qui passe augmente les risques d'exposition aux maladies infectieuses, notamment les MST (Maladies Sexuellement Transmissibles), et le développement de lésions endométriosiques. Au-delà de l'implantation et du développement embryonnaire précoce, la pathologie obstétricale augmente avec l'âge, notamment les risques de toxémie, d'hypotrophie fœtale, de diabète gestationnel, de même que la mortalité maternelle.

-**la prise de *distillbène*** (DES) pendant la grossesse chez la mère entraîne très fréquemment une dysmucorrhée importante avec adénose vaginale, un utérus hypotrophique en S avec altérations endométriales chez la fille. Il en résulte souvent une infertilité avec risque de fausse couche et d'accouchement prématuré augmentés. (10).

## 2) Chez l'homme

Ils peuvent être classés en facteurs spermatiques et facteurs généraux.

- Plusieurs études portant sur le sperme d'hommes féconds ou inféconds ont montré que la **qualité du sperme** est en relation directe avec la fécondité.
- **les antécédents traumatiques** (torsion, traumatismes...) augmentent le risque d'hypofertilité.
- **les antécédents de MST** augmentent le risque d'infécondité.
- **l'effet de l'âge** : les caractéristiques du sperme (numération, mobilité, morphologie) ont quelques signes de vieillissement à partir de la trentaine : diminution de vascularisation, épaississement de la barrière hématotesticulaire, raréfaction des cellules de Sertoli. Cependant la qualité du sperme permet un pouvoir fécondant jusqu'à un âge avancé. Il n'y a pas chez l'homme de phénomène analogue à la ménopause féminine ; seulement une augmentation du risque de mutations génétiques et aussi une élévation du risque de trisomie 21.
- **les antécédents chirurgicaux** (hernie inguinale, ectopie testiculaire).

### 3) La fertilité du couple.

La fertilité du couple diminue par sommation des altérations féminines et masculines mais également par diminution du nombre de rapports sexuels (avec un rapport hebdomadaire le délai nécessaire pour concevoir est de un an). De même le moment du rapport est essentiel. En effet le jour le plus fécond se situe avant l'ovulation. L'ovulation correspond au point le plus bas de la courbe de température. Des études montrent que la probabilité de concevoir est nulle dès le lendemain de l'ovulation.

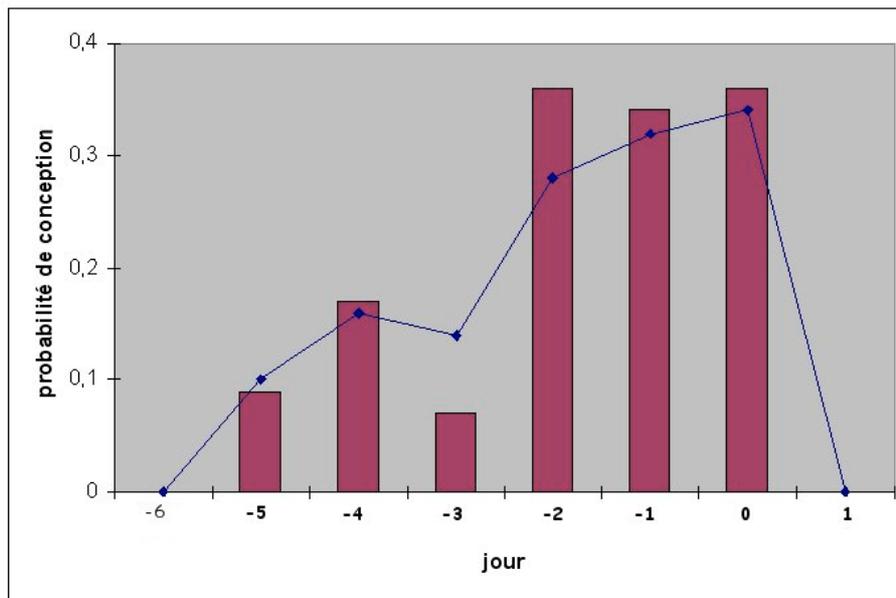


Figure 3: Probabilité de conception en fonction du jour de l'ovulation.

### 4) Influence du tabac.

Son action sur la fertilité masculine est controversée : le tabac diminuerait la mobilité des spermatozoïdes, la proportion de forme normale de spermatozoïdes, modifierait les paramètres hormonaux (diminution de la testostérone, augmentation de la FSH) et aurait également un effet néfaste sur l'ADN des spermatozoïdes.

Par contre, on note une hypofécondité des fumeuses avec un délai accru pour obtenir une grossesse, un taux élevé de fausses couches, une diminution de la réserve ovarienne, un taux plus élevé de GEU (Grossesse Extra-Utérine) et une diminution de la qualité ovocytaire.

### C. Causes d'infertilité. (18-29)

Dans environ 34% des cas, il est trouvé une cause uniquement féminine, dans 20% des cas une cause uniquement masculine, dans 38% des cas à la fois une cause féminine et une cause masculine et dans 8% des cas aucune cause n'est trouvée.

#### 1) Causes féminines :

- **Anomalies de l'ovulation (32%)** : l'ovulation peut être totalement inexistante (anovulation) ou présente mais de mauvaise qualité (dysovulation). Ceci se traduit par l'absence de production d'un ovocyte fécondable. Les troubles de l'ovulation peuvent être

dus à un dysfonctionnement des ovaires ou des structures cérébrales qui contrôlent leur activité : hypothalamus et hypophyse.

- **Anomalies des trompes (26%)** : les trompes peuvent être obturées ou altérées, ce qui va empêcher la rencontre de l'ovocyte et des spermatozoïdes. Ces anomalies des trompes sont pour la plupart dues à des infections génitales. Outre leurs implications dans l'infertilité, elles peuvent causer des GEU (Grossesse Extra-Utérine).
- **Dysmucorrhées (4%)** : La glaire cervicale peut être sécrétée de façon incorrecte (quantité, qualité, pH). Ces anomalies peuvent être dues à des infections, un dysfonctionnement des glandes endocervicales ou être consécutives à des traitements de lésions du col de l'utérus (conisation, électrocoagulation).
- **Endométriose (4%)** : elle est caractérisée par des localisations anormales de tissu endométrial hors de la cavité utérine (ovaire, trompes, cavité péritonéale). L'endométriose déclenche dans l'organisme la sécrétion de substance défavorable à la fécondation et au développement de l'embryon et peut être responsable d'une infertilité.

## 2) Causes masculines

- **Azoospermie (9%)** : dans ce cas là, il n'y a aucun spermatozoïdes dans le sperme. Il peut s'agir d'une absence de production par les testicules (azoospermie sécrétoire ou non obstructive) ou d'une obturation des canaux permettant l'extériorisation des spermatozoïdes (épididyme, canaux déférents ou canaux éjaculateurs) malgré une production normale de spermatozoïdes par les testicules (azoospermie excrétoire ou obstructive). Dans ce dernier cas, il peut s'agir d'une anomalie congénitale (souvent génétique associée à la présence de la mutation de la mucoviscidose) soit d'une séquelle d'infection (acquise).
- **Asthénospermie (17%)** : ou défaut de mobilité des spermatozoïdes. Il y a normalement au moins 40% des spermatozoïdes mobiles dans le sperme. En dessous de ce seuil, on parle d'asthénospermie. Il peut également y avoir des anomalies de mouvements des spermatozoïdes (vitesse, trajectoire) et dans ce cas on parle de dyskinésie flagellaire. Quand aucun spermatozoïde n'est mobile il s'agit d'une akinétospermie. Ces anomalies peuvent être dues à des anomalies de structure des spermatozoïdes (défaut de production) ou des infections.
- **Nécrospermie** : la nécrospermie est caractérisée par un pourcentage élevé de spermatozoïdes morts (>50%), elle est souvent due à des infections.
- **Oligospermie (2%)** : ou nombre faible de spermatozoïdes. Habituellement il y a au moins 20 millions de spermatozoïdes par mL de sperme. On considère généralement qu'un nombre inférieur à 10 millions par mL peut être responsable d'une infertilité.
- **Tératospermie (10%)** : il s'agit ici de la présence d'un taux anormalement élevé de spermatozoïdes anormaux. Selon les classifications employées, le pourcentage minimum

de spermatozoïdes normaux dans un sperme normal varie entre 15 et 50%. Ces anomalies peuvent intéresser toutes les parties du spermatozoïde (tête, flagelle) et sont généralement dues à un dysfonctionnement de la spermiogénèse.

- **Anticorps anti-spermatozoïdes (2%)** : dans certains cas (traumatismes) les hommes peuvent s'immuniser contre leurs propres spermatozoïdes, ce qui va entraîner une diminution de leur mobilité et de leur capacité fécondante.
- **Les dysfonctionnements de l'éjaculation** : dans certains cas, le sperme peut être éjaculé non pas vers l'extérieur mais vers la vessie, c'est l'éjaculation rétrograde. Ces troubles sont liés à des maladies neurologiques, souvent dues à des complications du diabète. Les blessés médullaires présentent des dyséjaculations par électroéjaculations, vibromassages...

## II. EXPLORATION DU COUPLE INFERTILE

Pour appréhender au mieux les problèmes d'hypofécondité, le médecin se doit de bien connaître les données épidémiologiques de l'infertilité, de savoir conduire la première consultation avec le couple et planifier les examens complémentaires nécessaires. Les données recueillies devront permettre la mise en route de la thérapeutique la plus adaptée. (10)

### A. Première consultation

La première consultation consiste à écouter la demande du désir d'enfant. Elle doit informer le couple sur les différentes étapes d'une prise en charge qui n'est pas toujours médicale.

#### 1) Données communes au couple

Le médecin aura d'abord à estimer la motivation du couple : le désir de chacun d'eux individuellement. En effet la qualité du couple et une motivation solide seront nécessaires pour affronter les investigations et des traitements pas toujours faciles.

On devra se renseigner avec précision sur la durée de l'infertilité, la date des premiers rapports sans précautions et les méthodes contraceptives utilisées antérieurement. L'âge des partenaires est également une question importante ; il ne faut pas oublier que la fécondabilité de la femme diminue surtout après 38 ans et que cette notion peut faire apparaître un caractère d'urgence à un quelconque traitement.

Enfin on n'oubliera pas d'évaluer les connaissances du couple en matière de fertilité : une infécondité peut être due à de mauvaises informations sur les périodes du cycle les plus propices à une grossesse.

#### 2) L'interrogatoire de la femme

L'interrogatoire va comporter un certain nombre de paramètres et notamment la notification des antécédents :

-**Antécédents médicaux** : les maladies générales pouvant influencer sur le déroulement de la grossesse et inversement (diabète, hypertension artérielle, obésité, maladies thyroïdiennes, épilepsie, maladies dégénératives neurologiques), allergies médicamenteuses, antécédent psychiatrique et les traitements en cours.

-**Recherche d'une étiologie** : une anomalie de l'ovulation, des trompes ou une endométriose, une tuberculose, une infection ancienne du col, du vagin ou une salpingite.

-**Antécédents chirurgicaux** : appendicite, salpingite (elle multiplie par 45 les risques d'infertilité), une intervention des trompes, de l'utérus, des ovaires.

-**Antécédents obstétricaux** : grossesses antérieures, s'il s'agissait du même partenaire, si l'assistance médicale à la procréation avait déjà été sollicitée et l'issue de la grossesse.

### 3) L'interrogatoire de l'homme

Il se fera de la même manière sur un certain nombre de sujets.

**-La puberté** s'est-elle bien déroulée au niveau physiologique ?

**-Antécédents infectieux** : notamment les oreillons à la puberté avec orchite, les infections génito-urinaires.

**-Antécédents médicaux** : maladies générales (diabète compliqué avec éjaculation rétrograde, troubles de l'érection...), traitements en cours.

**-Antécédents chirurgicaux** : avec peut-être des lésions, des traumatismes testiculaires.

**-Mode de vie** : l'intoxication peut être médicamenteuse en cas de prise prolongée de certaines classes médicamenteuses, professionnelle (plomb, dibromochloropropane, DDT, chaleur, benzène), l'absorption excessive d'alcool, la prise de drogues (marijuana), l'exposition à la radioactivité sont également des facteurs reconnus altérant la spermatogénèse.(10)

<b>Famille de médicaments</b>	<b>Noms commerciaux</b>
Amoebicides	Ambilhar Bémarsal
Anti-hypertenseurs	Catapressan Aldomet Isméline Résérpine Bêtabloquants
Chimiothérapie	Misulban Endoxan Chloraminophène Méthotrexate Thiotépa Colchicine
Hormones	Farlital Androcur Estrogènes, Androgènes
Anti-infectieux	Bactrim Furadantine Tous les sulfamides (salazopyrine)
Système nerveux	IMAO Lithium Di-hydan Dilantin
Hypolipémiants	Fibrates : Lipanthyl, Lipur Inhibiteurs HMG COA : Vasten, Zocor
Diurétiques	Aldactone
Anti-ulcéreux	Tagamet
Toxiques	Alcool, tabac Arsenic, benzène, plomb Marijuana DDT

**Tableau 1 : Médicaments perturbant la spermatogénèse.**

#### **4) Examen clinique de la femme.**

Cet examen commence par la mesure du poids, de la taille, le calcul du BMI (= Body Mass Index) : une obésité ou une anorexie peut entraîner des troubles hormonaux importants, mais également la tension artérielle et le pouls. Il se poursuit par un examen gynécologique banal c'est-à-dire une auscultation des seins, de la pilosité, de la vulve, du col et de la glaire ; une évaluation du volume de l'utérus ainsi que de sa position (anté ou rétroversée), et l'existence ou non d'une masse annexielle.

Cela doit permettre de repérer une cause évidente d'infécondité mais le plus souvent tout est normal. (3).

#### **5) Examen clinique de l'homme.**

L'examen doit se porter sur différents aspects de l'homme :

-son morphotype : (poids, taille), sa tension artérielle, le pouls, la pilosité, la présence éventuelle d'une gynécomastie.

-le scrotum

-palpation de l'épididyme

-recherche du déférent des deux côtés

-recherche de varicocèle : varice de la veine spermatique (elle multiplie par 28 l'infertilité primaire et par 4 l'infertilité secondaire).

-examen de la verge

-examen de la prostate et des vésicules séminales par toucher rectal. (3)

#### **6) Conclusion.**

A ce stade il y a 3 possibilités

1) découverte d'une cause évidente au cours de ces premières investigations (ce qui est rare). Elles seront donc complétées afin d'aboutir à des possibilités thérapeutiques.

2) cause possible : elle permet d'orienter le bilan pour prouver l'étiologie.

3) aucun résultat concluant : ceci est le cas le plus souvent retrouvé ; on poursuivra donc par un bilan d'orientation. (3).

### **B. Bilan d'orientation chez la femme**

#### **1) Courbe thermique**

Cette courbe se fait sur au moins 3 mois. Il s'agit de prendre la température avant de se lever à heure fixe et à partir du 1<sup>er</sup> jour du cycle. Cette mesure permet le diagnostic de troubles de l'ovulation. Il sera donc mis en évidence un cycle régulier, une ovulation (par le décalage thermique) et un corps jaune adéquat (par la durée du plateau).

Lorsque l'ovulation est normale, la courbe est biphasique, soit, pour un cycle de 28 jours :

- première phase hypothermique : température < 37°C, pendant les 12 à 14 premiers jours que dure la phase folliculaire ;
- nadir (dernier point bas de la courbe). Il a longtemps été considéré comme le jour de l'ovulation. Les dosages hormonaux, l'échographie et la cœlioscopie ont montré que cette précision était bien loin d'être réelle ;

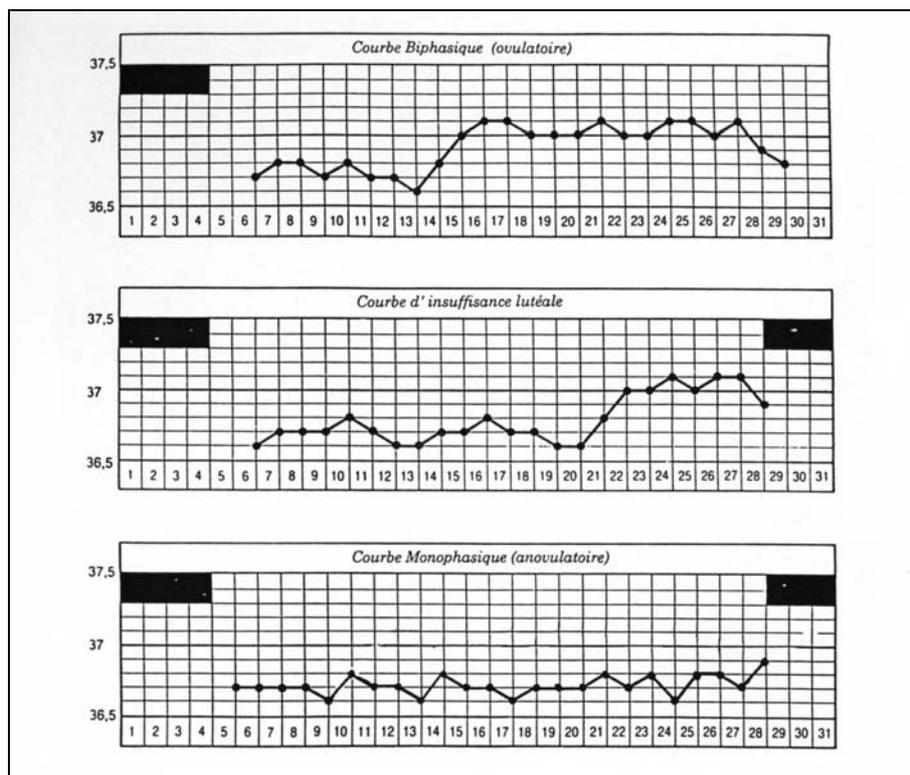
- deuxième phase hyper thermique : température > 37°C, pendant 12 à 14 jours (plateau). Cette hyperthermie de la phase lutéale est due à l'action du pregnandiol, métabolite de la progestérone, sur le centre thermorégulateur bulbaire.

Le plateau se mesure à partir du nadir (et non à partir du moment où la température atteint son maximum, 37°C ou plus). Il inclut donc la partie ascendante qui peut durer plusieurs jours.

L'aspect de la courbe n'est pas corrélé aux taux de progestérone, c'est-à-dire à la qualité du corps jaune :

- le décalage entre 1° et 2° phase est de 0.3 à 0.5 °C. Il n'est pas proportionnel au taux de progestérone circulant ;
- Le taux de progestérone nécessaire au décalage est variable d'une femme à l'autre. Il peut être bas (<5ng/mL) et le plateau peut être normal en cas d'insuffisance lutéale ;
- A l'inverse, la courbe peut rester plate alors que le corps jaune est normal, et même en début de grossesse ;
- La montée de température peut se faire rapidement (24 heures) ou lentement (2 à 3 jours). Une « montée lente » n'a aucune signification quant à la qualité du corps jaune.

Les progestatifs ont le même effet hyperthermisant, à l'exception de la rétro-progestérone (Duphaston®), ce qui rend son utilisation fréquente dans les traitements de l'infertilité puisque la surveillance ménothermique de l'ovulation pourra être poursuivie. (26)



**Figure 4: Différentes courbes de températures (11)**

## 2) Test de HUNHER

Ce test apprécie la qualité de la glaire cervicale, la présence de spermatozoïdes et leur comportement dans la glaire. Il est pratiqué à la fin de la phase folliculaire (1 à 2 jours avant l'ovulation), après 2-3 jours d'abstinence, 8 à 12 heures après un rapport sexuel normal.

Si ce test est normal, on fera un spermogramme et on étudiera la possibilité d'anomalie de la perméabilité tubaire.

S'il est anormal, on recherchera une infection que l'on pourra traiter par des antibiotiques ; si la glaire n'est pas assez abondante on prescrira des œstrogènes à petites doses ou bien on cherchera à améliorer la maturation folliculaire si la courbe de température est anormale.

## 3) Bilan gynécologique

Dans ce bilan on étudie la morphologie et la perméabilité tubaire de la femme par :

- hystérosalpingographie pour déceler des anomalies tubaires congénitales ou acquises.
- hystéroscopie.
- échographie.
- cœlioscopie pour confirmer des lésions tubaires, des séquelles d'infection ou d'endométriase.

## 4) Bilan hormonal. (10-26)

Ce bilan se fait au 3<sup>o</sup> jour du cycle à partir de la courbe thermique :

- si elle est plate, il y a anovulation : on fera donc des dosages de FSH, LH, testostérone, œstradiol et prolactine au 3<sup>o</sup> ou 4<sup>o</sup> jour du cycle.
- si elle est biphasique avec un plateau trop court : il y a insuffisance lutéale
- si elle est biphasique avec plateau de 14 jours : c'est normal.

Il faut être alerté quand la FSH dépasse 10UI/L en dosage radioimmunologique (RIA) et 13UI/L en dosage immunoenzymologique dans un laboratoire de référence. Le dosage peut être répété pour confirmation. Une œstradiolémie élevée (>75pg/mL) associée ou non à l'augmentation de FSH est péjorative pour les chances de grossesse ; elle traduit sûrement une maturation ovocytaire accélérée et de mauvaise qualité. L'inhibine B peut alors être dosée en complément. Si elle est basse (<45pg/mL), les chances de grossesse sont diminuées.

Quatre situations peuvent être décrites :

- FSH<10UI/L (RIA), E<sup>2</sup> (œstradiol) normal ou bas : réserve ovocytaire correcte ;
- FSH<10UI/L, E<sup>2</sup>>75pg/mL, LH normal : troubles de maturation ovocytaire et chance de grossesse diminuée ;
- FSH>10UI/L, E<sup>2</sup> normal ou bas : réserve altérée et chance de grossesse diminuée ;
- FSH>10UI/L, E<sup>2</sup>>75pg/mL et/ou inhibine B<45pg/mL : pronostic très réservé, quelle que soit la thérapeutique, situation de pré-ménopause, chances de grossesse évolutive quasiment nulles.

Lorsque le dosage de FSH à J3 est augmenté, un certain nombre de tests dynamiques peuvent être proposés pour affiner le pronostic.

**Le premier test** est validé sur une population infertile et le plus ancien est le test au *Citrate de clomifène*. L'administration de clomifène en début de cycle provoque une libération de FSH (par activité anti-œstrogène hypothalamique qui inhibe le rétrocontrôle négatif de l'œstradiol) qui stimule l'ovaire. La granulosa produit de l'œstradiol et de l'inhibine qui freine l'hypophyse entraînant une baisse secondaire de la FSH. En cas d'insuffisance ovarienne,

c'est-à-dire de mauvaise qualité folliculaire, cette freination est absente et la FSH reste élevée ou augmentée au lieu de diminuer. Un dosage de FSH plasmatique est programmé au troisième jour du cycle ; 2 comprimés sont donnés du 5<sup>o</sup> au 9<sup>o</sup> jour du cycle et un nouveau dosage de FSH est réalisé au dixième jour du cycle ; si le dosage de FSH à J10 est supérieur à 10UI/l (RIA) ou si la somme des deux dosages dépasse 26UI/L, le pronostic est réservé.

**Le deuxième test** est le test au Décapeptyl® (agoniste de la GnRH) utilisant l'effet flare-up de l'agoniste. Un dosage d'estradiol est réalisé au troisième jour du cycle, puis 0.1mg de Décapeptyl® est injecté en SC le soir à J3 et J4 ; deux nouveaux dosages d'estradiol sont pratiqués à J4 et J5. Quatre situations possibles :

- l'estradiol à J4 double par rapport à sa valeur de base et s'élève encore d'au moins 35% à J5 (réponse normale)
- l'estradiol à J4 double par rapport à sa valeur de base, puis on observe un plateau à J5 (augmentation inférieure à 33%) ;
- l'estradiol double par rapport à sa valeur de base à J4, puis baisse de plus de 33% à J5 ;
- l'estradiol à J4 est inférieure à sa valeur de base et ne s'élève pas à J5.

Dans les trois premières situations, la capacité de réponse au traitement inducteur est sensiblement correcte. L'importance de la stimulation et le protocole de traitement seront adaptés en fonction de la réponse à J5. La 4<sup>o</sup> réponse est particulièrement péjorative.

**Le troisième test** est le test à la FSH (ou test à la fertiline). Un premier dosage d'estradiol est fait à J3, puis 4 ampoules de 75UI de FSH sont administrées le soir. Le dosage d'estradiol à J4 doit avoir doublé.

Le dosage plasmatique de LH recherche une pathologie de type ovaire poly kystiques (OPK). Une association à la visualisation de plus de 10 follicules < 10mm répartis en couronne sur la périphérie ovarienne à l'échographie en début de cycle conforte le diagnostic.

Le dosage plasmatique de prolactine à J3-J4 est classique en cas d'aménorrhée, galactorrhée ou d'insuffisance lutéale. Si le taux est très élevé (>50ng/mL), il faudra suspecter un adénome hypophysaire.

## **C. Étude andrologique chez l'homme**

### **1) Bilan spermiologique**

Ce bilan s'effectue à partir d'un spermogramme dont on étudie les critères de normalité définis par l'OMS en 1987. Trois caractères sont essentiels :

- le nombre de spermatozoïdes : >20 millions par mL
- la mobilité >50%
- les formes normales >50%

On notera également le volume du sperme (1 à 6 mL), le pH (7-7.6), la vitalité (>75%), les cellules germinales (<10%) et les leucocytes < 100000.

### **2) Explorations fines**

- **fonction flagellaire** ou mouvement des spermatozoïdes par une étude de l'interaction avec le mucus et une analyse du mouvement.

- **fonction acrosomiale** par un test de capacitation.

La capacitation est le relargage de protéines de revêtement et /ou la transformation des lipides membranaire aboutissant à :-la transformation du mouvement des spermatozoïdes en mouvement caractérisé par une forte amplitude.

- la fixation et pénétration de la zone pellucide de l'ovocyte.
- la réalisation de la réaction acrosomiale.

- **fonction fusionnelle** par une comparaison de la capacité de fixation par rapport à une population témoin (homo ou hétérosécificique).

- évaluation de la **maturité nucléaire** du sperme.

- **test de fécondance** lors de FIV.

### **3) Examen biomorphologique et exploration des voies génitales**

- recherche de sperme dans les urines (par éjaculation rétrograde).
- étude de biochimie du plasma séminal.
- étude de marqueurs.
- échographie.

### **4) Examen bactériologique.**

La spermoculture peut être demandée sur des éléments d'orientation clinique, antécédents d'infection urinaire ou génitale, écoulement matinal, dysurie, douleurs sus pubienne, inguinale, ou lors d'éjaculation. Lors de l'examen, un épидидyme tendu, sensible, une prostate irrégulière et douloureuse peuvent évoquer une infection.

L'interprétation des résultats est difficile : en effet la spermoculture objective presque toujours des bactéries saprophytes présentes au niveau de l'urètre ou sur le gland. Il faut en fait apprécier la concentration des bactéries. La majorité des auteurs admet comme seuil de bactériospermie significatif  $3 \cdot 10^3$  bactéries par mL pour les bactéries réputées pathogènes (colibacilles, entérocoques) et  $10^4$  par mL pour les bactéries saprophytes ou commensales (Staphylocoque epidermidis). Les gonocoques et chlamydia sont toujours considérés pathogènes quelque soit leur numération.

### **5) Dosages hormonaux**

- la FSH peut démontrer un caractère sécrétoire d'une oligospermie ou azospermie
- la testostérone témoigne de la fonction endocrine des testicules
- la LH élimine une atteinte haute
- la prolactine peut révéler un adénome hypophysaire. (10)

### **6) Examen génétique**

Cet examen se fait à partir d'un caryotype qui pourra déceler une anomalie chromosomique comme un syndrome de KLINEFELTER (XXY) donnant une azospermie sécrétoire, ou une anomalie autosomale (translocation) pouvant causer une oligoasthénospermie.

## D. Conclusion :

Suivant les cas différentes opportunités pourront se présenter :

➤ Si l'infertilité est féminine, on pourra :

- Améliorer ou stimuler l'ovulation en cas de dysovulation (ce qui améliore théoriquement la glaire)
- Désobstruer les trompes
- Traiter médicalement ou chirurgicalement une endométriose

Envisager une FIV en cas de lésions tubaires majeures ou absence de trompes.

➤ Si infertilité par azoospermie :

- si hypogonadisme (FSH, LH élevés) : IAD (Insémination Avec Donneur), ou ICSI
- si hypogonadisme avec une petite verge, une faible pilosité, FSH et LH basses : traitement par FSH et LH
- si normal mais obstruction : désobstruction
- si azoospermie à volume testiculaire subnormal associée à des dosages FSH et LH normaux, une échographie et une biochimie normales : orientation du patient vers une biopsie testiculaire pour savoir si une ICSI est possible.

➤ Si oligoasthénospermie : orientation du couple vers une IAC (Insémination Artificielle avec sperme du Conjoint) si la qualité du sperme est suffisante, le test de pénétration dans la glaire est satisfaisant et la fertilité de la femme à priori normale.

### **III. ASSISTANCE MÉDICALE A LA PROCRÉATION : Techniques, indications et résultats. (26)**

L'ASSISTANCE MÉDICALE A LA PROCRÉATION est définie et sa pratique réglementée en France par la loi dite de « bioéthique » du 29/07/94. « L'ASSISTANCE MÉDICALE A LA PROCRÉATION s'entend des pratiques cliniques et biologiques permettant la conception *in vitro*, le transfert d'embryon et l'insémination artificielle, ainsi que toute technique d'effet équivalent permettant la procréation en dehors du processus naturel. »

Les techniques peuvent se classer en 2 grandes catégories :

Nous détaillerons tout d'abord celles qui se limitent à favoriser la fécondation *in vivo* en rapprochant simplement les gamètes de l'ampoule tubaire, site physiologique de leur rencontre : insémination cervicale, intra utérine, tubaire ou péritonéale ; GIFT.

Puis nous nous intéresserons à celles qui réalisent artificiellement la fécondation *in vitro* :

- Fécondation spontanée après simple mise en contact des gamètes : FIV classique.
- Fécondation assistée par l'injection du spermatozoïde dans l'ovocyte : ICSI.

#### **A. Bilan préalable.**

L'indication d'une assistance médicale à la procréation est posée en commun par le clinicien et le biologiste au terme d'un bilan préalable complet, masculin et féminin.

Quelle que soit la méthode utilisée, chaque cycle d'assistance médicale à la procréation doit être précédé de contrôles bactériologiques et sérologiques pour éliminer tout risque infectieux.

Chez la femme : prélèvement bactérien cervicovaginal avec recherche de mycoplasme et chlamydiae par culture et sérologies syphilis, chlamydiae, HBV, HCV, HIV1, HIV2, rubéole et toxoplasmose.

Chez l'homme : spermoculture avec recherche mycoplasme et chlamydiae et sérologies syphilis, chlamydiae, HBV, HCV, HTLV, HIV1, HIV2.

#### **B. Préparation du sperme.**

Les spermatozoïdes utilisés pour l'assistance médicale à la procréation sont préparés selon plusieurs techniques qui ont toutes pour objectif de recueillir le maximum de spermatozoïdes à mobilité fléchante tout en éliminant le plasma séminal et ses autres composants : leucocytes, cellules mortes, débris cellulaires.

La préparation n'est autorisée que dans les laboratoires agréés. Seul le sperme du conjoint peut-être utilisé extemporanément.

Ce recueil peut se faire sur :

- sperme éjaculé après 2-3 jours d'abstinence
- sperme urinaire si éjaculation rétrograde
- recueil chirurgical.

## C. Techniques.

### 1) Insémination artificielle.

Elle consiste à introduire instrumentalement les spermatozoïdes dans le tractus génital féminin, soit au niveau du col soit au-delà dans la cavité utérine ou les trompes voire la cavité péritonéale. Elle utilise le sperme du conjoint ou d'un donneur.

#### a) Insémination intra-cervicale.

**Indications** :- dyséjaculation des blessés médullaires.

-avec tiers donneur (IAD) : manière la plus simple et la moins médicalisée avec sperme de donneur.

**Technique** : l'insémination doit avoir lieu juste avant l'ovulation.

Quand les cycles sont réguliers, le moment propice peut être déterminé cliniquement grâce aux courbes ménothermiques et au contrôle de la glaire. Ce moment est le nadir, c'est-à-dire le jour le plus bas de la courbe, qui précède le décalage de température. La glaire est alors abondante, limpide et filante.

Quand les cycles sont irréguliers, le monitoring par échographie et dosages hormonaux devient indispensable, de même qu'en cycles stimulés. Dans ce cas, le bon moment est 36 heures après le déclenchement de l'ovulation, ou le lendemain d'un pic spontané de LH.

**Résultats** : les statistiques sont anciennes car la technique a tendance à être abandonnée dans la routine clinique au profit de l'insémination intra-utérine, réputée donner de meilleurs résultats. Elle est pourtant très efficace lorsqu'elle vise simplement à corriger un défaut de rencontre alors que la glaire, le sperme et l'ovulation sont normaux. Les taux de grossesse sont de l'ordre de 15 à 20% par cycle.

L'IAD donne, en cycles spontanés, un taux de grossesses à 8.8% en moyenne (CECOS 1996).

#### b) Insémination intra-utérine.

**Indications** : l'indication électorale de l'insémination intra-utérine est la stérilité cervicale, par absence de glaire ou glaire hostile, car la manœuvre permet de franchir l'obstacle que constitue le col. Il s'agit d'une éventualité rare, que ne présente qu'une infime partie des innombrables inséminations intra-utérine réalisées en pratique courante.

Les autres indications, stérilités féminines à trompes perméables, masculines, immunologiques ou idiopathiques reposent sur une logique moins solidement établie ; dans ces cas l'idée générale est d'assurer la présence dans les trompes du nombre maximum de spermatozoïdes au moment précis de l'ovulation afin d'optimiser les chances de fécondation. Il faut injecter au moins 500 000 spermatozoïdes pour espérer obtenir une grossesse, et au moins 1 000 000 pour avoir de bonne chance de succès.

**Technique** :

1-Préparation du sperme : l'insémination intra-utérine n'emploie que les seuls spermatozoïdes capables, préalablement extraits de sperme frais ou congelé. Ils sont mis en suspension dans un faible volume de milieu (0.25 à 0.30 mL), juste suffisant pour remplir la cavité utérine.

2-Induction de l'ovulation : l'insémination intra-utérine en cycle spontané n'a démontré son efficacité que dans la stérilité cervicale vraie, indication rare.

Dans tous les autres cas, elle ne donne de bons résultats qu'associée à, une stimulation de l'ovulation. La stimulation doit être mono-folliculaire et monitorée pour réduire le risque de grossesse multiple.

3-Insémination : la préparation est introduite au niveau du corps utérin à l'aide d'un fin cathéter qui franchit le col et l'isthme. Le moment de l'insémination est un des facteurs essentiels du succès : 36 heures après le déclenchement artificiel de l'ovulation, ou le lendemain d'un pic spontané de LH.

**Résultats** : ils dépendent de très nombreux facteurs : l'indication, l'âge des patients, le rang de la tentative, le type de stimulation ovarienne si elle est associée, le monitoring du cycle et la chronologie de l'insémination par rapport à l'ovulation, la méthode de préparation du sperme, la qualité du sperme avant et après la préparation, le nombre de spermatozoïdes inséminés,... il en résulte une grande diversité de résultats.

Dans les séries contrôlées, toutes indications confondues, les taux de grossesses vont de 0 à 23% par cycle avec en moyenne 8%. Les meilleurs résultats sont obtenus dans la stérilité cervicale (15%) et dans les stérilités idiopathiques (13%). En revanche les résultats sont mauvais dans les indications masculines (5%).

Avec une stimulation plurifolliculaire, les taux de grossesses sont le plus souvent aux alentours de 15 à 18% par cycle avec 20% de grossesses multiples dont un nombre imprécis de triplés, jusqu'à 6% dans certaines statistiques.

Avec une stimulation monofolliculaire, il est possible d'obtenir un taux de grossesse d'environ 12% par cycle en évitant les complications : hyperstimulation gémellaire inférieure à 5% et aucun triplés. Un point remarquable est que la quasi-totalité des grossesses est obtenue au cours des 4 à 6 premiers cycles d'insémination intra-utérine. En cas d'échec il n'est pas recommandé d'aller au-delà.

#### c) Insémination intra-tubaire.

**Indications** : ce sont les mêmes que pour l'insémination intra-utérine. Elle est peu utilisée en raison du surcoût et de l'alourdissement technique par rapport à l'insémination intra-utérine compte tenu des résultats.

**Technique** : les spermatozoïdes sont dilués dans 3 mL de liquide de transport et la préparation est injectée dans les trompes. La conduite des cycles d'insémination intra-tubaire est la même que celle des cycles pour insémination intra-utérine.

**Résultats** : ils semblent identiques à ceux de l'insémination intra-utérine.

#### d) Transfert intra-tubaire des gamètes (GIFT).

**Indications** : au départ proposée dans le traitement de stérilité idiopathique, le GIFT a vu ses indications s'étendre à toutes les formes de stérilité non obstructives, sans faire l'objet de consensus. En France, le GIFT ne représente que 0.9% des cycles d'assistance médicale à la procréation réalisés entre 1992 et 1996. Sa pratique tend à se restreindre, car il peut être avantageusement remplacé par l'insémination intra-utérine dans les mêmes indications.

**Technique** : cela consiste à placer les spermatozoïdes et les ovocytes dans l'ampoule tubaire au cours d'une coelioscopie avec anesthésie générale. Les ovocytes sont prélevés par ponction folliculaire sous contrôle coelioscopique, 36 heures après déclenchement par hCG, à l'issue d'une stimulation plurifolliculaire.

**Résultats** : cette méthode est remarquablement efficace dans son indication princeps, la stérilité idiopathique, avec des taux de grossesse entre 20 et 30% par cycle.

## 2) Fécondation in vitro classique (FIV).

La FIV consiste à réaliser l'union des gamètes hors du tractus génital féminin, en les mettant simplement en présence l'un de l'autre dans un milieu de culture. Les embryons obtenus sont transférés *in utero* et les embryons surnuméraires congelés pour une prochaine tentative.

**Indications** :-stérilité tubaire définitive : trompes obturées et inopérables, lésions plurifocales, échec d'interventions antérieures, tuberculose, trompes absentes, salpingectomie pour grossesse extra-utérine, lésions infectieuses ou endométriose.  
-insuffisance spermatique.

### Technique :

La FIV classique comprend cinq étapes successives ; maturation folliculaire, recueil et préparation des gamètes, fécondation *in vitro* et culture embryonnaire, transfert des embryons et enfin soutien de la phase lutéale.

#### a) Maturation folliculaire.

- FIV en cycle spontané.

La FIV peut être réalisée en cycle spontané à la condition qu'il soit normal.

Le monitoring associant les dosages quotidiens d'estradiol et de LH et l'échographie permet de repérer le follicule préovulatoire, de déclencher l'ovulation par une injection d'hCG avant que ne survienne le pic spontané de LH, et de programmer la ponction 36 heures après. En cas de pic de LH, le recueil d'un ovocyte mûr est beaucoup plus aléatoire.

L'avantage du cycle spontané est sa relative simplicité qui rend possible des tentatives d'un mois sur l'autre ; par ailleurs, la fécondation d'un seul ovocyte donne des résultats très inégaux et pour la plupart des équipes largement inférieurs à ceux obtenus avec des cycles stimulés. De plus la limitation du nombre de FIV fait que la FIV en cycle spontané est devenue une exception.

- FIV en cycle stimulé.

Dans la quasi-totalité des cas, les ovaires sont donc fortement stimulés afin d'obtenir le développement de plusieurs follicules. L'objectif est de recueillir un nombre suffisant d'ovocytes matures pour être aussi certain que possible d'avoir des embryons à transférer. Le taux moyen de fécondation étant de 60%, il est souhaitable d'avoir au moins quatre ou cinq ovocytes fécondables pour espérer disposer de deux ou trois embryons.

Les protocoles thérapeutiques sont nombreux. Les plus utilisés associent les gonadotrophines aux analogues de la GnRH. Ces molécules vont d'abord stimuler l'hypophyse puis par rétrocontrôle négatif l'inhiber. Le principal intérêt des analogues est d'éviter le déclenchement spontané de l'ovulation, qui survient sans eux dans 15% des cas, et obligeant le plus souvent l'abandon. Ils permettent aussi la programmation des ponctions.

La stimulation ovarienne nécessite un monitoring précis, associant dosages hormonaux (estradiol, éventuellement LH et progestérone) et échographies, pour diriger la croissance des follicules, décider du déclenchement par hCG et diminuer les risques d'hyper stimulation. Quand au moins deux follicules sont arrivés à maturité, l'ovulation est déclenchée par une injection d'hCG. Celle-ci entraîne la reprise de la méiose, avec émission du premier globule polaire. La ponction doit avoir lieu avant la rupture folliculaire, qui surviendra sinon 40h environ après le déclenchement.

b) Recueil et préparation des gamètes

- Les ovocytes.

Ils sont obtenus par ponction environ 36h après le déclenchement par hCG. Les complexes cumulo-ovocytaires sont isolés du liquide folliculaire, mis dans un milieu de culture et conservés dans une étuve à 37°C sous atmosphère de 5% de CO2 dans l'air.

- Les spermatozoïdes.

Le recueil et la préparation des spermatozoïdes sont les mêmes que dans les autres techniques.

c) Fécondation in vitro et culture embryonnaire.

Les ovocytes sont inséminés quelques heures après la ponction, pour laisser à leur maturation le temps de se compléter. Après mise en contact la préparation est remise à l'étuve. Au bout d'environ 17 heures, on peut observer le zygote qui doit être à ce moment au stade de deux pronuclei, l'un des noyaux étant celui de l'ovocyte, l'autre correspondant à la tête du spermatozoïde, attestant de la fécondation. Les zygotes ayant plus de deux pronuclei (polyspermie) sont éliminés à ce stade car, bien que non viables, ils peuvent cliver normalement et seront ultérieurement impossible à distinguer des embryons normaux. Les autres sont remis à l'étuve.

Au bout de 24 heures, une nouvelle observation retrouve les embryons au stade de deux ou quatre cellules et permet de les classer, habituellement en quatre types.

Type d'embryons	Blastomères	Embryons avec fragments cytoplasmiques
A	Égaux et réguliers	Absence
B	Égaux et réguliers	<20%
C	Inégaux	21-50%
D	Inégaux	>50%

**Figure 5: Classification des embryons**

d) Transfert embryonnaire.

- Transfert immédiat.

Les embryons sont habituellement transférés dès l'obtention des premières divisions, c'est-à-dire le surlendemain de la ponction, éventuellement un jour plus tard. Au-delà le milieu de culture utilisé pour la FIV n'est plus adéquat pour assurer leur croissance.

Les embryons de type A et B, dont les taux d'implantation sont équivalents, sont utilisés en priorité, car ils donnent les meilleures chances de grossesse. Dans ce cas, un à deux embryons

seulement sont replacés pour éviter le risque de grossesse multiple et les embryons A et B restants sont congelés.

Les embryons C et D donnent peu de grossesse et ne résistent pas à la congélation. Ils ne sont donc utilisés que par défaut et à l'état frais.

- Transfert retardé (culture prolongée).

Le transfert peut être plus tardif, 5 à 6 jours après la fécondation, si les embryons sont gardés en culture jusqu'au stade blastocyste. Ces cultures prolongées nécessitent le recours à des milieux spéciaux.

L'avantage du transfert au stade blastocyste est de permettre un contrôle du début de croissance embryonnaire, stade critique de la mise en marche du génome embryonnaire où surviennent de nombreux arrêts. Cette sélection des embryons permet de n'en transférer qu'un ou deux pour réduire le taux de grossesses multiples.

#### e) La phase lutéale

La phase lutéale est en général soutenue par un traitement associant un progestatif pendant 15 jours, le plus souvent en France progestérone micronisée (Utrogestan®) 400mg par jour, et hCG à raison d'une à deux injections de 1500UI dans la semaine qui suit le transfert. L'injection d'hCG est contre-indiquée s'il existe un risque d'hyperstimulation connue (estradiol > 3000pg/mL le jour du déclenchement, ovaires micropolykystiques) ou dépisté par l'examen clinique et éventuellement échographique en phase lutéale (gros ovaires douloureux, ballonnement, épanchement intra abdominal).

#### f) Diagnostic et surveillance de la grossesse au début.

La grossesse débutante, dont le premier signe est la persistance de l'aménorrhée, est affirmée par le dosage d'hCG vers le 15<sup>e</sup> jour après la ponction. Ce dosage doit être systématique, car bon nombre de grossesses FIV s'accompagnent de métrorragies au début, qu'elles soient pathologiques (implantations fugaces, avortements spontanés, grossesses ectopiques) ou finalement évolutives. Une échographie, faite la 6<sup>e</sup> semaine de grossesse permet le contrôle de l'évolutivité et le dépistage précoce des grossesses multiples et ectopiques.

### **Résultats.**

Environ 10% des embryons produits par fécondation *in vitro* s'implantent après transfert intra-utérin. Le transfert d'un seul embryon donne donc environ 10% de grossesse, celui de deux embryons 20%, etc. les raisons qui expliquent que 90% des embryons ne s'implantent pas sont loin d'être élucidées :

- la mauvaise qualité embryonnaire semble être le facteur principal : des anomalies chromosomiques sont retrouvées chez 40 à 60% des embryons ;
- les modalités du transfert jouent un rôle important : difficulté à franchir le col, saignements, douleurs, contraction. Les résultats sont clairement opérateur dépendant ;
- un défaut d'éclosion est sans doute en cause dans quelques cas ;
- en revanche, le rôle d'anomalies de l'implantation proprement dites n'est pas clairement documenté, hormis les cas où il existe une pathologie endo-utérine : endométrite surtout, polypes, myomes sous muqueux, synéchies.

Globalement 10 à 15% des cycles de FIV aboutissent à une naissance, 20 à 25 % des grossesses se terminent par un avortement spontané, et 2 à 5% sont ectopiques.

Les chances de succès dépendent principalement de 3 facteurs : l'indication, le nombre d'embryons transférés et l'âge de la femme.

Age (ans)	% grossesse	% accouchement
<=35	20.5	16.15
36-37	18.6	14.1
38-39	15.5	12.0
40-41	13.1	8.7
>=42	8.0	5.3

**Tableau 2 : Taux de grossesse par ponction en FIV classique selon l'âge de la femme (d'après FIVNAT 1997)**

### **3) Fécondation in vitro avec micro-injection (ICSI).**

La fécondation in vitro avec micro-injection ou ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection) n'utilise qu'un seul spermatozoïde qui est introduit dans le cytoplasme ovocytaire à l'aide d'une micropipette.

#### **Indications**

L'indication essentielle de l'ICSI est l'infertilité masculine, lorsque le nombre de spermatozoïdes mobiles recueillis, le TMS, est égal ou inférieur à 300 000, ou lorsqu'il est compris entre 0.3 et 0.5 millions mais associé à d'autres anomalies (téatospermie, anticorps anti-spermatozoïdes). C'est le cas des oligo-astheno-téatospermies graves, des azoospermies sécrétoires, de la plupart des azoospermies excrétoires. Elle est également indiquée en cas de téatospermie extrême, d'auto-immunisation sévère.

#### **Technique :**

L'ICSI comporte la même séquence de cinq étapes que la FIV classique : maturation folliculaire, recueil et préparation des gamètes, fécondation in vitro et culture embryonnaire, transfert des embryons et enfin soutien de la phase lutéale.

La micro-injection est réalisée à l'aide d'un micromanipulateur, appareillage complexe qui comprend deux bras : l'un tient une pipette de contention servant à immobiliser l'ovocyte par aspiration contre son extrémité mousse ; l'autre tient la micropipette d'injection. La micropipette, chargée d'un seul spermatozoïde, est introduite dans le cytoplasme ovocytaire, qui est aspiré en partie pour vérifier la pénétration, puis refoulé à sa place en même temps que le spermatozoïde. La préparation est remise à l'étuve. le lendemain matin, au bout de 17 heures environ, un nouvel examen permet de repérer les deux pronucléi, l'un des noyau étant celui de l'ovocyte, l'autre correspondant à la tête du spermatozoïde injecté. Certains ovocytes s'atrécient après la micromanipulation. Le surlendemain, les embryons, au stade de deux ou quatre cellules sont classés comme habituellement en quatre types (A, B, C, D).

#### **Résultats :**

Comme pour la FIV classique, les résultats de l'ICSI dépendent principalement de l'indication, du nombre d'embryons transférés, et de l'âge de la femme.

Les meilleurs taux de succès sont obtenus dans la stérilité masculine pure, où l'objectif est simplement de court-circuiter les obstacles que constituent la pellicule et la paroi cytoplasmique de l'ovocyte, obstacle que les spermatozoïdes sont incapables de franchir lorsque leur nombre, leur mobilité ou leur morphologie sont trop anormales.

**DEUXIÈME PARTIE :**

**PROTOCOLES DE STIMULATION DE  
L'OVULATION DANS LES TRAITEMENTS  
DE L'INFERTILITÉ**

## I. Introduction.

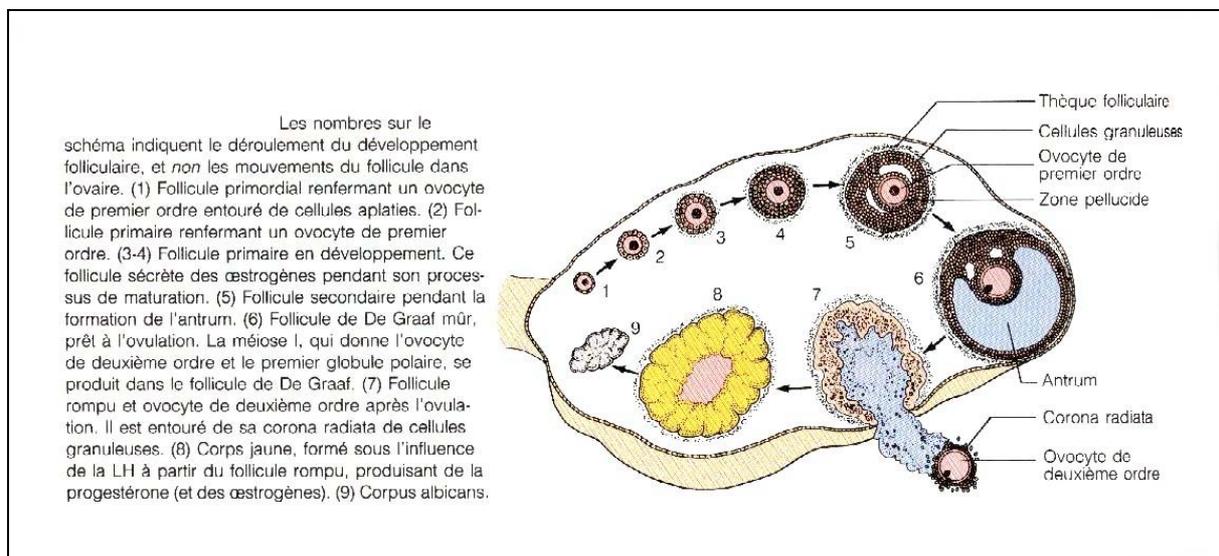
Chez la femme le cycle ovarien dépend d'un certain nombre de structures hormonales. On notera surtout l'hypothalamus, l'hypophyse, et les ovaires. Ces trois éléments fonctionnent par contrôle et rétrocontrôle les uns sur les autres. Il est donc primordial de bien comprendre le cycle ovarien avec toutes ses implications pour en maîtriser tous les paramètres.

## II. Rappels physiologiques. (11-14)

La femme, contrairement à l'homme, a un appareil génital fonctionnant sous une forme cyclique. Le déroulement de ce cycle se fait grâce aux sécrétions hormonales de l'ovaire, on parle donc de cycle ovarien.

Le cycle ovarien est divisé en trois phases :

1. La phase folliculaire est la période de croissance du follicule qui s'étend du jour 1 au jour 10 du cycle
2. La phase ovulatoire va du jour 11 au jour 14 et se termine par l'ovulation
3. La phase lutéale est la période d'activité du corps jaune s'étendant des jours 14 à 28.



**Figure 6: Développement des follicules ovariens.**

Le cycle ovarien typique recommence à intervalles de 28 jours et l'ovulation se produit au milieu du cycle. Cependant, des cycles aussi longs que 40 jours ou aussi courts que 21 jours sont courants. Dans ces cycles la longueur de la phase folliculaire et le moment de l'ovulation changent, mais la phase lutéale reste la même, c'est-à-dire qu'il y a toujours théoriquement 14 jours entre l'ovulation et la fin du cycle.

Parce qu'il est régi par deux hormones interactives sécrétées selon un mode cyclique, le fonctionnement des ovaires est complexe.

La gonadolibérine (LH-RH ou GnRH), les gonadotrophines hypophysaires (FSH et LH) et les œstrogènes et la progestérone interagissent afin de produire le cycle de la croissance folliculaire et celui de l'apparition et de disparition du corps jaune

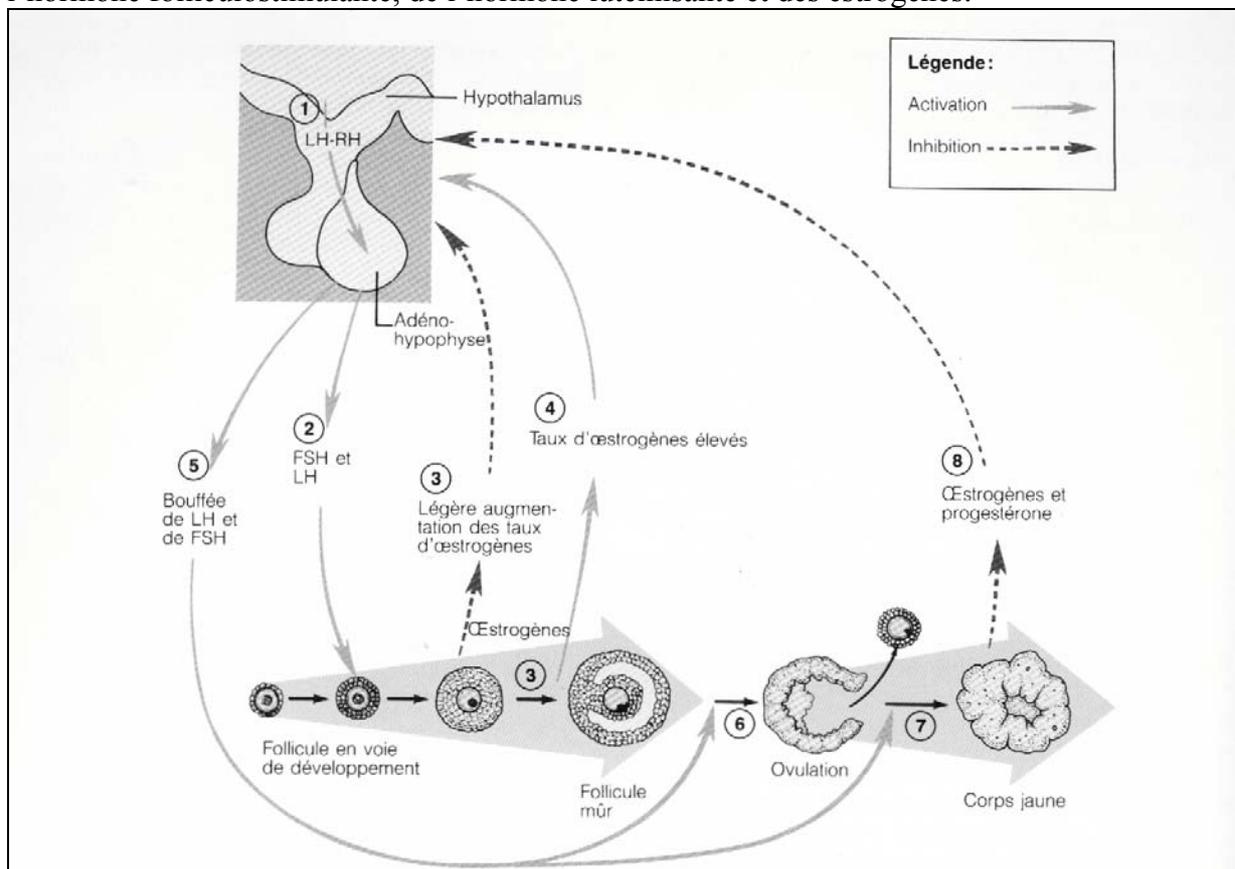
### A. Apparition du cycle ovarien.

Pendant toute l'enfance, les ovaires croissent et sécrètent continuellement un peu d'œstrogènes, qui inhibent la libération de GnRH par l'hypothalamus. A l'approche de la puberté, l'hypothalamus devient moins sensible aux œstrogènes, et commence à sécréter de la GnRH selon un mode cyclique. La GnRH stimule la libération de FSH et de LH par l'hypophyse. Ce sont deux hormones qui agissent sur les ovaires.

A un moment donné, le cycle de sécrétions de l'adulte est atteint et les interactions hormonales se stabilisent : c'est alors que la jeune femme a sa première menstruation aussi appelée ménarche.

### B. Interactions hormonales au cours du cycle ovarien

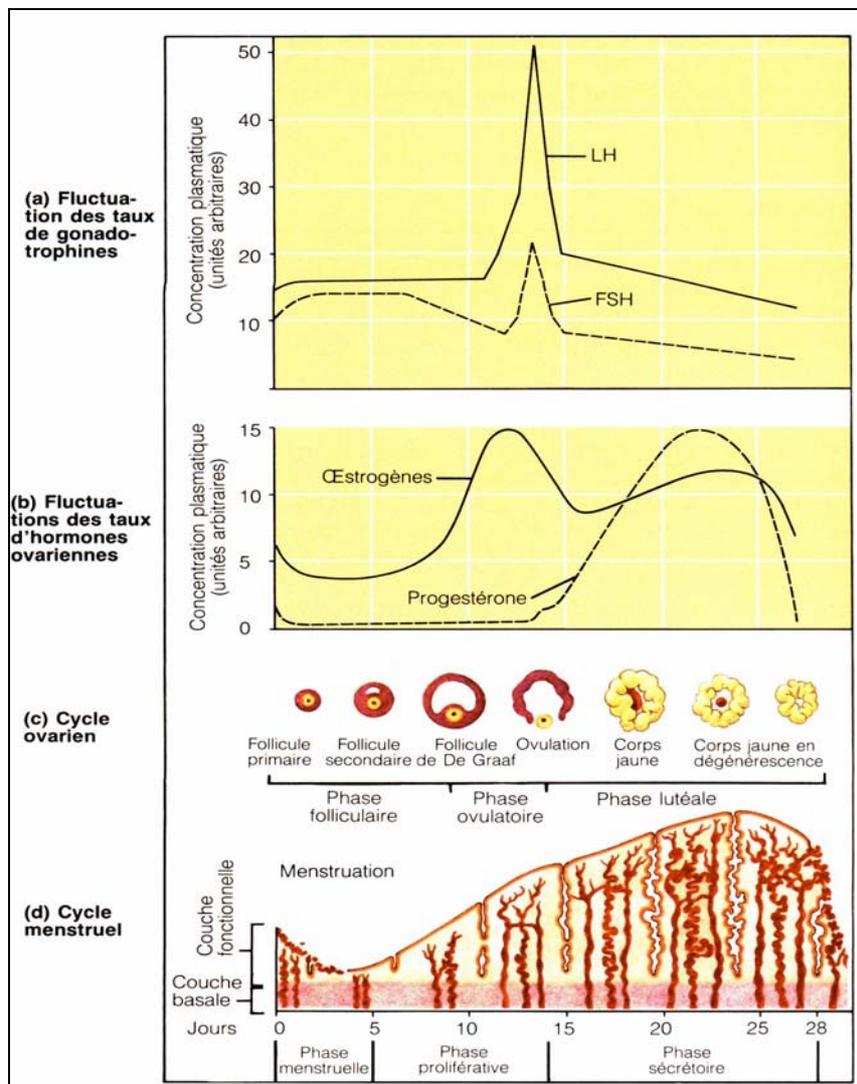
La croissance folliculaire et la maturation de l'ovocyte sont régies par l'interaction de l'hormone folliculostimulante, de l'hormone lutéinisante et des œstrogènes.



**Figure 7: Enchaînement des rétroactions réglant la fonction ovarienne.**

1. Le jour 1 du cycle, l'augmentation du taux de GnRH sécrétée par l'hypothalamus stimule la sécrétion et la libération de FSH et de LH par l'hypophyse.
2. La FSH et la LH stimulent la croissance et la maturation du follicule. La FSH agit surtout sur les cellules folliculaires, alors que la LH agit plus spécifiquement sur les cellules thécales (du moins au début). Quand le follicule a grossi, il commence à sécréter des estrogènes sous l'action de la LH et de la FSH. (La LH stimule les cellules thécales, qui sécrètent alors des androgènes diffusant à travers la membrane basale jusqu'aux cellules granuleuses. Les androgènes y sont transformés en estrogènes par les cellules granuleuses sensibilisées par la FSH. Seule une infime quantité d'androgènes pénètre dans la circulation sanguine, car ils sont presque totalement transformés en estrogènes dans les ovaires).
3. A mesure que la concentration plasmatique d'estrogènes augmente, elle exerce une rétro-inhibition sur l'hypophyse. Cette rétroaction empêche l'hypophyse de libérer davantage de FSH et de LH, mais elle le pousse à synthétiser et à accumuler ces gonadotrophines. Dans l'ovaire, les estrogènes renforcent l'effet de la FSH sur la croissance et la maturation du follicule, et augmentent ainsi la sécrétion d'estrogènes.
4. La petite augmentation initiale du taux sanguin d'estrogènes inhibe l'axe hypothalamo-hypophysaire, tandis que le taux élevé d'estrogènes a l'effet contraire. Lorsque la concentration d'estrogènes atteint un certain seuil, elle exerce une rétroactivation sur l'hypothalamus et l'hypophyse.
5. Les effets stimulants des concentrations élevées d'estrogènes déclenchent une cascade d'événements. Ils provoquent d'abord la brusque libération de la LH (et, dans une certaine mesure, de la FSH) accumulée par l'hypophyse. Ce phénomène se produit à peu près au milieu du cycle.
6. Le pic de LH provoque la reprise de la méiose dans l'ovocyte du premier ordre du follicule mûr, qui termine alors la première division méiotique. L'ovocyte de deuxième ordre ainsi formé se rend jusqu'à la métaphase. La LH déclenche également les phénomènes qui mènent à la rupture de la paroi ovarienne, et l'ovulation se produit le jour 14 ou vers ce jour. Le ralentissement puis l'arrêt de la circulation sanguine dans la région saillante du follicule succède à ce phénomène. En moins de cinq minutes, cette région s'amincit et forme une projection conique appelée stigma, qui se rompt ensuite brusquement. Peu après l'ovulation, le taux d'estrogènes commence à descendre, ce qui traduit probablement les dommages subis par le follicule dominant (qui sécrète des estrogènes) pendant l'ovulation.
7. La LH favorise également la transformation du follicule rompu en corps jaune. La LH stimule le corps jaune de sorte qu'il produit de la progestérone et une plus petite quantité d'estrogènes presque aussitôt après sa formation.
8. L'augmentation des concentrations sanguines de progestérone et d'estrogènes exerce une puissante rétro-inhibition sur la libération de la LH et de la FSH par l'hypophyse. Au cours de la phase lutéale, la baisse de la LH et de la FSH empêche le développement de nouveaux follicules. La baisse de la LH prévient en outre la libération d'autres ovocytes.
9. La diminution graduelle du taux sanguin de LH supprime le stimulus de l'activité du corps jaune qui commence alors à dégénérer. L'arrêt de l'activité du corps jaune s'accompagne de l'arrêt de la sécrétion d'hormones ovariennes, et les concentrations sanguines d'estrogènes et de progestérone diminuent brusquement. (Si un embryon s'est implanté dans l'utérus, l'activité du corps jaune est maintenue par une hormone semblable à la LH, la gonadotrophine chorionique humaine, sécrétées par l'embryon.

10. Une diminution prononcée des hormones ovariennes à la fin du cycle (jour 26 à 28) met fin à l'inhibition de la sécrétion de FSH et de LH, et un nouveau cycle peut se mettre en place.



**Figure 8: Le cycle menstruel et ses relations avec le cycle ovarien.**

Même si l'utérus est une cavité destinée à l'implantation et au développement de l'embryon, il n'est réceptif à l'embryon que pendant une très courte période chaque mois. Ce bref intervalle coïncide exactement avec le moment où l'embryon en voie de développement atteint normalement l'utérus, environ sept jours après l'ovulation. Les modifications de l'endomètre sont réglées et coordonnées par les taux d'œstrogènes et de progestérone libérée au cours du cycle ovarien.

Donc en fin de phase lutéale du cycle précédent et en début de phase folliculaire la FSH permet la croissance du follicule prédestiné à ovuler et éventuellement son sauvetage de l'atrophie. En fin de phase folliculaire, la FSH continue d'exercer son action mais la LH affine la maturation immédiatement avant la décharge ovulante. Améliorer un cycle revient donc à mimer ou amplifier la physiologie en privilégiant l'action de la FSH, instrument majeur de la croissance et de la maturation folliculaire.

### III. Les protocoles.

Le but essentiel de la stimulation de l'ovulation pour fécondation *in vitro* est d'augmenter le nombre d'ovocytes recrutés, maturés et donc susceptibles d'être fécondés car le transfert de plusieurs embryons augmente les chances d'obtenir une grossesse. La stimulation de l'ovulation diffère donc de l'induction de l'ovulation : le but de l'induction de l'ovulation est d'amener une patiente anovulatoire ou dysovulatoire à ovuler en se rapprochant le plus possible de ce que serait une ovulation physiologique c'est-à-dire en provoquant la maturation et l'ovulation d'un seul follicule, c'est-à-dire une **mono ovulation**. Inversement, le but de la stimulation de l'ovulation est d'augmenter les phénomènes naturels de façon à permettre la maturation simultanée de plusieurs follicules. Ainsi, en recueillant plusieurs ovocytes les chances d'obtenir une fécondation et une nidation sont d'autant plus grandes.

Il faut dans ces cas mimer la physiologie en proposant une stimulation modérée « paucifolliculaire » ou la moins plurifolliculaire possible.

La stimulation de l'ovulation est une **poly ovulation** qui doit être réservée à la fécondation *in vitro* ou à l'ICSI, qui, seules permettent de maîtriser le risque de grossesse multiple en limitant le nombre d'embryons transférés. C'est la raison principale pour laquelle la stimulation de l'ovulation a été un des facteurs essentiels de la progression thérapeutique de la FIV.

Les avantages de la stimulation de l'ovulation en plus de permettre une augmentation des chances de grossesse sont de pouvoir contrôler le cycle et donc de ne plus être soumis aux phénomènes endocriniens spontanés de la patiente et de réaliser le prélèvement ovocytaire à l'heure choisie par l'équipe.

Un des inconvénients de la stimulation de l'ovulation est de réaliser une maturation ovocytaire sans doute moins complète et globalement de moins bonne qualité que si les processus de régulation physiologique sont conservés. En particulier, parmi les ovocytes réactivés tous ne sont pas au même stade de maturation. Il y a une relative hétérogénéité de la cohorte ovocytaire recrutée, ce qui se traduit par un taux de fécondation plus faible que celui constaté lorsque le recueil ovocytaire a été réalisé par maturation physiologique (cycle spontané).(12).

#### A. La mono ovulation. (26)

Son objectif est d'obtenir la croissance et la maturation d'un seul ou de deux follicules tout au plus. Elle utilise la dose de FSH nécessaire et suffisante pour mettre en route et maintenir la croissance du follicule dominant, en laissant les autres s'atrophier.

C'est la méthode à utiliser obligatoirement hors FIV pour prévenir les risques d'hyperstimulation et de grossesse multiples, et éviter la réduction embryonnaire' geste éthiquement discutable et lourd de conséquences psychologiques. Le monitoring guide le choix des doses d'inducteurs à administrer pour qu'il en soit bien ainsi.

La mono ovulation est bien codifiée et quelques règles générales permettent d'optimiser les résultats et de prévenir efficacement les complications :

- identification préalable du trouble et traitement adapté ;
- prise en compte des autres facteurs (tubaires, masculins) ;
- traitement des troubles associés : prise en charge psychologique, correction d'un déséquilibre pondéral, traitement d'une hyperprolactinémie, traitement d'une autre pathologie endocrinienne ou générale ;
- débiter par les traitements les plus simples et les moins onéreux ;

- en cas d'échec : analyser les causes de l'insuccès (monitorage). Vérifier à nouveau les autres facteurs de fertilité ;
- pas d'hyperstimulation en dehors de la FIV ;
- pas de protocole standard « à l'aveugle ».

### 1) Bilan pré-thérapeutique. (10)

Il est fondamental et a deux objectifs :

- Reconnaître le trouble de l'ovulation et en préciser l'origine ;
- dépister d'autres facteurs d'infertilité dans le couple qui peuvent modifier les options thérapeutiques.

#### a) Affirmer l'ovulation.

Le diagnostic de l'anovulation ne pose guère de problème :

- Il est évident quand les troubles du cycle sont majeurs : spanioménorrhée ou aménorrhée ;
- Lorsque les cycles sont irréguliers, c'est l'examen de la courbe ménothermique, plate, sans décalage, qui permet le diagnostic.

Les troubles mineurs (dysovulation) peuvent être plus difficiles à reconnaître : c'est souvent devant des anomalies de la phase lutéale (plateau thermique court, progestéronémie <10ng /mL au 6° jour du plateau) que l'on recherchera un trouble de la croissance folliculaire. Le monitoring échographique d'un cycle non traité prend ici tout son intérêt.

#### b) Classification des anovulations.

Elle est essentielle pour le choix thérapeutique et repose sur deux notions :

##### - *La profondeur du trouble.*

On distingue :

- Les anovulations eugonadiques où la sécrétion estrogénique est conservée (cycles irréguliers, aménorrhée avec test aux progestatifs positif).

Rq : le test à la progestérone est un test clinique simple qui donne des renseignements précieux en cas d'aménorrhée. Il consiste à donner un progestatif dénué d'effet estrogénique durant 8 à 10 jours. La survenue d'une hémorragie de privation à l'arrêt signe une imprégnation minimale de l'ordre de 40 à 50 pg/mL d'E<sup>2</sup>, fait intéressant à connaître car c'est également le taux minimum requis pour espérer une action des anti-estrogènes. Un test positif élimine une hypoestrogénie et traduit souvent mieux l'état hormonal qu'un dosage ponctuel. (26).

- Les anovulations hypogonadiques avec carence estrogénique (aménorrhée avec test au progestatif négatif).

	<b>Estradiol</b>	<b>Gonadotrophines</b>	<b>Remarques</b>
<b>Type I</b>	Bas	Normales ou basses	Anomalies hautes stade III de Leyenbecker
<b>Type IIa</b>	Normal	normales	Anovulation haute, stade I ou II de Leyenbecker
<b>Type IIb</b>	Normal	LH>FSH hyperandrogénie	Syndrome des ovaires poly kystiques
<b>Type III</b>	Normal ou bas	élevées	Insuffisance ovarienne

**Tableau 3 : Classification des anovulations selon l'OMS**

- *L'étiologie.*

Elle est déterminée grâce à une démarche simple basée sur :

- la clinique : l'histoire du trouble du cycle, le poids et ses variations éventuelles, l'existence de bouffées de chaleurs, un hirsutisme, une galactorrhée permettent souvent un diagnostic dès la première consultation.
- Les dosages hormonaux sont indispensables et comprennent un dosage de l'estradiol, de la prolactine, de la FSH, de la LH et éventuellement des androgènes (testostérone, 4-androstène dione). Si la patiente est réglée cela se fera au 3<sup>o</sup> jour du cycle.
- L'échographie ovarienne est surtout intéressante pour le diagnostic du syndrome des ovaires poly kystiques.

Les étiologies des anovulations sont principalement :

**L'insuffisance ovarienne** où la sécrétion de FSH est plus élevée. Tout traitement inducteur est contre-indiqué car inutile. Le don d'ovocyte est souvent la solution pour ces patientes ;

**Les hyper prolactinémies** relevant d'un traitement spécifique (Bromocriptine ou chirurgie) ;

**Le syndrome des ovaires poly kystiques**, cause fréquente d'anovulation. Le diagnostic repose sur des critères cliniques (spanioménorrhée avec test au progestatif positif, hirsutisme et obésité androïde plus inconstants) biologiques (hyper androgénie, élévation de LH avec FSH normal) et échographique (ovaires augmentés de volume avec un stroma dense, hyperéchogène et de nombreux petits follicules disposés en couronne à la périphérie de l'ovaire) ;

**Les anovulations hypothalamo-hypophysaires** : elles peuvent être organiques, qu'il s'agisse de tumeurs, de maladies infiltratives, d'une insuffisance antéhypophysaire, d'un déficit congénital en GnRH, mais les aménorrhées hypothalamiques fonctionnelles sont de loin les plus fréquentes. Le contexte clinique (insuffisance pondérale, troubles du comportement alimentaire, stress, exercice physique intense) est un élément clé du diagnostic ; le bilan hormonal est peu modifié, les gonadotrophines sont normales ou basses.

	test au Citrate de clomifène	test au progestatif	test au GnRH
Stade I	+	+	Normal
Stade II	-	+	Normal
Stade IIIa	-	-	Normal
Stade IIIb	-	-	FSH>LH
Stade IIIc	-	-	pas de réponse

**Tableau 4 : Classification des aménorrhées hypothalamiques selon Leyenbecker.**

Leyenbecker a proposé une classification en 5 stades, de gravité croissante, selon l'imprégnation estrogénique, la réponse au citrate de clomifène et la réponse lors du test à la GnRH.

## 2) Les anti-estrogènes. (15)

Les anti-estrogènes sont des composés qui bloquent l'action des estrogènes par inhibition compétitive au niveau de leurs récepteurs.

Les plus utilisés en pratique clinique sont :

-le Tamoxifène utilisé dans les traitements des cancers hormono-dépendants comme le cancer du sein.

-le citrate de Clomifène (CC) utilisé dans l'induction de l'ovulation.

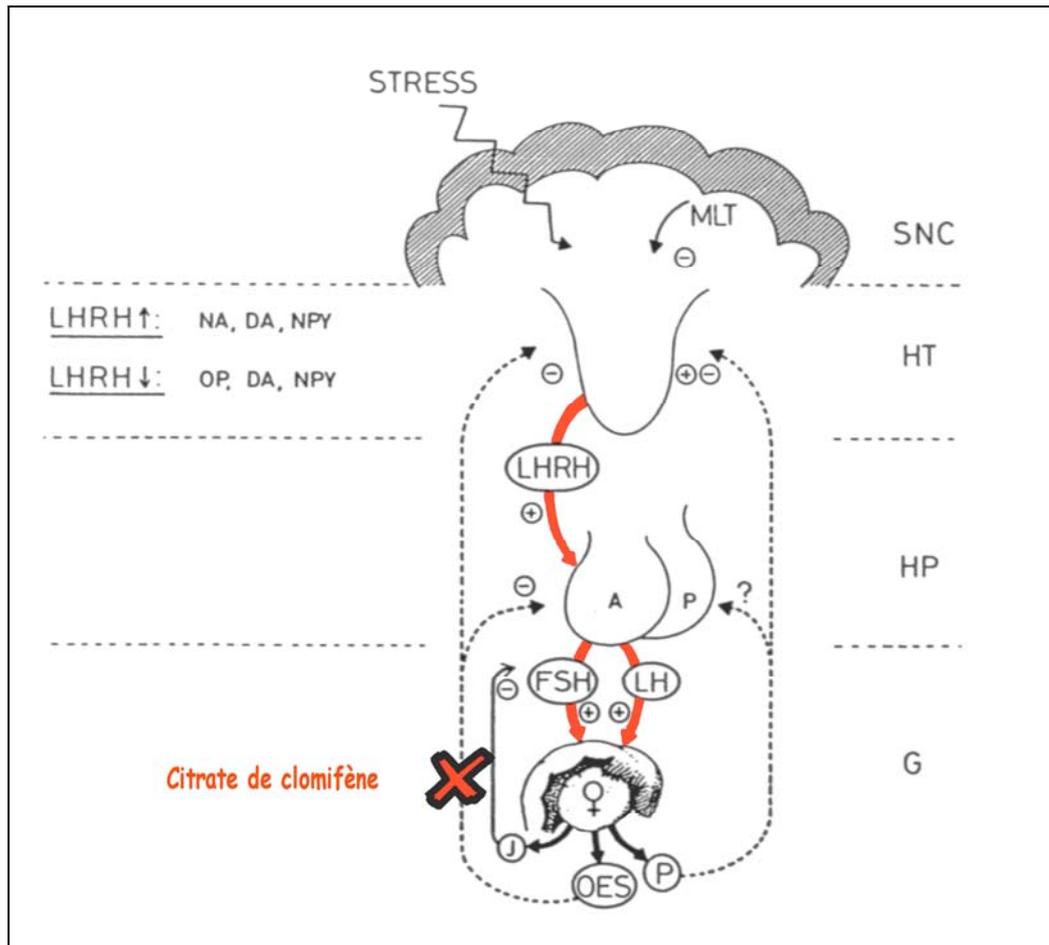
Synthétisé en 1956, utilisé depuis 1961, commercialisé depuis 1967, le citrate de clomifène, reste très apprécié pour sa simplicité d'utilisation, ses bons résultats et la rareté de ses complications.

Le citrate de clomifène n'était quasiment plus utilisé en FIV avant l'apparition des antagonistes de la GnRH, mais demeure le traitement de première intention pour la stimulation avant rapport ou insémination. C'est un traitement simple avec peu de contre-indication mais le citrate de clomifène est parfois mal toléré, peut avoir un effet péjoratif sur la glaire cervicale, ou engendrer un taux de LH trop élevé, réputé délétère quant à la qualité ovocytaire et surtout à l'implantation.

### **Mécanisme d'action :**

Le mode d'action des anti-estrogènes est incomplètement élucidé. Ils agissent principalement par inhibition compétitive en se fixant sur les récepteurs de l'estradiol. Leurs effets sont variables, agonistes ou antagonistes, selon les tissus et les taux d'estrogènes circulants. Le complexe citrate de clomifène-récepteur est stable à l'inverse du complexe E<sup>2</sup>-récepteur.

On admet que le citrate de clomifène agit principalement au niveau hypothalamo-hypophysaire, en antagonisant l'action freinatrice exercée par les estrogènes endogènes : en déplaçant l'estradiol de sa liaison avec le récepteur et en empêchant une liaison ultérieure, le citrate de clomifène supprime l'information estrogénique de freination des gonadotrophines ; celles-ci peuvent être libérées et un développement folliculaire normal être initié grâce à la restauration d'un rapport FSH /LH favorable.



**Figure 9: Mécanisme d'action du citrate de clomifène.**

J : inhibine

OES : estrogènes

P : progestérone

NA : noradrénaline, DA : dopamine, NPY : neuropeptide Y, OP : opioïdes,

MLT : mélatonine.

Ainsi les anti-estrogènes permettent de rompre un cercle vicieux de freinage permanent de LH et de FSH, secondaire à une sécrétion tonique d'estradiol qui signe une maturation folliculaire de mauvaise qualité. Cet effet anti-estrogène paraît majoritaire aux doses habituellement employées et explique les résultats thérapeutiques dans les anovulations où persiste une sécrétion endogène d'estradiol (test au progestatif positif). Il est possible que son mode d'action passe par un effet estrogénique permettant d'augmenter la sensibilité à la GnRH au niveau hypophysaire ; cela permettrait d'expliquer son activité lors d'une sécrétion basale faible d'estradiol. Cependant son efficacité est surtout observée quand il existe un taux d'estrogènes circulants non négligeable et implique, par conséquent, surtout le premier mécanisme évoqué.

#### **Indications :**

Les anti-estrogènes doivent toujours être tentés en première intention dans l'induction de l'ovulation. L'emploi de ces produits implique qu'il existe des ovaires conservant un certain capital folliculaire et un axe hypothalamo-hypophysaire indemne de toutes lésions organiques. Ainsi seront exclues les défaillances ovariennes (ménopause précoce, dysgénésie gonadique),

pour lesquelles le traitement est totalement inefficace, et les atteintes hypophysaires, et notamment tumorales ou radiothérapeutiques. Les hyperprolactinémies seront également exclues, relevant d'un traitement spécifique par les agents antiprolactinémisants.

Ce traitement s'adresse à des femmes ayant un désir de grossesse. Il ne peut être envisagé dans l'indication de régularisation des cycles de patientes en aménorrhée.

Les meilleures indications de cette thérapeutique sont les anovulations avec ou sans aménorrhée, mais où persiste une sécrétion endogène d'estradiol, et le syndrome de Stein Leventhal.

Il est souhaitable de ne prescrire ces produits qu'un mois sur deux : d'une part, une ovulation peut être obtenue sans traitement, par recrutement lors du cycle précédent d'une cohorte de follicules de meilleure qualité ; d'autre part, il a ainsi moins de risque d'aggravation des dystrophies.

#### a) Conduite de la stimulation

##### *i) Principes généraux*

- La dose.

Le début se fait à dose faible : 50 mg (un comprimé) par jour voire 25 mg dans certaines dystrophies ovariennes poly kystiques. L'augmentation est progressive par paliers de 50 mg en cas d'anovulation persistante. Le monitoring peut aider à ajuster les doses. La dose individuelle efficace ne peut être déterminée à l'avance. Ni le poids de la patiente, ni le bilan hormonal ne sont prédictifs. 75 % des ovulations seront obtenues avec une dose inférieure ou égale à 100mg par jour pendant 5 jours. Des doses supérieures sont souvent nécessaires en cas d'obésité.

- La date

Le traitement sera débuté entre le 2° et le 5° jour des règles spontanées ou induites par de la progestérone ou par un progestatif.

- La durée

La durée est habituellement de 5 jours. Elle peut être augmentée jusqu'à 10 jours, en particulier dans la dystrophie ovarienne micro poly kystique où il est préférable d'augmenter la durée de traitement plutôt que d'augmenter les doses sur 5 jours et donc augmenter le recrutement induit par une plus forte dose.

- La surveillance

Elle consiste à vérifier la courbe de température et la survenue des règles :

- Absence de réponse : ni décalage thermique, ni hémorragie de privation ; la dose employée n'a pas permis le développement folliculaire ;

- Réponse estrogénique isolée : hémorragie de privation mais pas de décalage thermique. Il y a un début de maturation folliculaire avec sécrétion d'estradiol mais sans ovulation. L'absence de décharge ovulante de LH peut être liée à une maturation folliculaire insuffisante ou une absence de feed-back positif ;

- Réponse complète : décalage de température et survenue de règle. L'ovulation a eu lieu, mais il n'y a pas de grossesse. Un plateau thermique court témoigne d'une insuffisance lutéale, en rapport avec une folliculogénèse anormale. Un plateau de longueur normal ne suffit pas pour affirmer que le corps jaune est normal ;

- Grossesse : plateau thermique persistant et absence de règle.

Cette surveillance minimale doit être associée à un monitoring (échographie, estradiolémie). Il est tout à fait étonnant de voir le nombre de cycle de traitement effectué sans aucun monitoring de l'ovulation. Les traitements sont administrés et la patiente ne fait ni échographie, ni dosage, ni même de courbe de température. La programmation est alors faite « au petit bonheur la chance » pouvant aboutir à des chances quasiment nulles de grossesse car le couple n'est pas guidé vers le meilleur moment pour avoir un rapport sexuel ou pour programmer l'insémination artificielle. De plus le monitoring permet au mieux de choisir et de modifier le traitement proposé en évitant la répétition d'un traitement identique non optimal. Le monitoring est également essentiel pour la prévention du risque d'hyperstimulation. Sa facilité d'emploi n'autorise pas un emploi indéfini du traitement : l'analyse des échecs va le plus souvent permettre de comprendre leurs causes et orienter la conduite à tenir pour améliorer les résultats.

*ii) Conduite pratique :*

- Premier cycle :

- citrate de clomifène de J2 à J6 (J1 étant le premier jour des règles), courbe de températures, monitoring et échographie.

- 1 comprimé par jour quand il s'agit d'une insuffisance lutéale, d'une anovulation avec risque d'hyperstimulation, d'une dystrophie.

- 2 comprimés par jour quand l'anovulation est sans risque d'hyperstimulation.

- consultation au bout d'un mois avec la courbe de température.

- Deuxième cycle.

2 cas :

Si ovulation au premier cycle :

- Plateau thermique normal : même dose et test de Hunher à la date présumé de l'ovulation.
- Plateau thermique court : augmentation de la dose.

Si absence d'ovulation au premier cycle : augmentation de la dose.

- Troisième cycle :

- Si ovulation au deuxième cycle : même dose et test de Hunher.

- Si absence d'ovulation : on augmentera la dose, ou mieux, la durée de traitement en cas de risque de recrutement trop important. On fera un dosage d'estradiol et une échographie à j11-j12 afin de compléter la stimulation par hCG ou par FSH + hCG. Attention, on ne fera jamais de déclenchement sans échographie préalable.

- Au-delà du troisième cycle ovulatoire sans grossesse.

L'absence de grossesse malgré le rétablissement de l'ovulation est une éventualité fréquente et caractéristique de la stimulation par le citrate de clomifène.

<b>Dose en mg</b>	<b>Taux d'ovulation %</b>	<b>Taux de grossesse %</b>
50	50-60	50
100	20-30	20-25
150	10-20	10-15
200	5-15	10-15
<b>Total</b>	70	40

**Tableau 5 : Résultat du traitement par citrate de clomifène.**

Cette discordance peut avoir plusieurs explications. Il est indispensable de les rechercher et de les corriger afin de ne pas poursuivre à l'aveugle un traitement inutile :

- insuffisance de la glaire.
- insuffisance lutéale.
- insuffisance de maturation folliculaire.
- LUF-syndrôme : absence de rupture folliculaire après le pic de LH (rarissime).
- hypertonie de la LH (néfaste sur la qualité ovocytaire et la nidation).
- réévaluation des autres facteurs de stérilité : perméabilité tubaire, sperme, test de Hunher.

b) Résultats :

La caractéristique principale de la stimulation par le citrate de clomifène est la différence qui existe entre les taux d'ovulation par cycle, qui sont bons, et les taux de grossesse qui sont significativement inférieurs ; cette discordance a plusieurs explications, à rechercher systématiquement.

Les complications du traitement par le citrate de clomifène sont peu fréquentes :

- Bouffées de chaleurs et céphalées en rapport avec l'effet anti-estrogène ;
- Troubles visuels : 2% des patientes (imposant l'arrêt du traitement) ;
- Ballonnement abdominal, kystes ovariens, traduisant un certain degré d'hyperstimulation, rarement important si la règle d'une posologie progressive a été respectée ;
- Grossesses multiples : 5 à 10% des femmes traitées, généralement des grossesses gémellaires.
- Avortements spontanés, de l'ordre de 25%. Leurs fréquences seraient plus importantes lorsque la LH est élevée pendant la phase folliculaire.
- Un risque d'augmentation de la fréquence de tumeurs ovariennes invasives ou *borderline* a été décrit en cas de traitement de plus de 12 mois, indépendamment de l'obtention d'une grossesse.

### 3) Les gonadotrophines.

(3-10-26)

Trois gonadotrophines ont été décrites : FSH, LH et hCG.

#### a) Structure

La FSH et la LH sont d'origine hypophysaire et hCG d'origine trophoblastique. Ces gonadotrophines appartiennent à un groupe d'hormones glycoprotéiques comprenant la LH, la FSH, la TSH et l'hCG. Il s'agit d'hétéro dimères de 2 sous unités alpha et  $\beta$  unies de manière non covalente. Les sous unités alpha proviennent d'un seul gène et sont identiques (92 Acides Aminés) pour les quatre hormones. En revanche les sous unités  $\beta$  proviennent de gènes différents et présentent des séquences d'acides aminés spécifiques. Les sous unités  $\beta$  sont responsables de l'activité spécifique et l'association entre les deux sous unités est indispensable à l'expression du pouvoir biologique de l'hormone.

La glycosylation est présente sur les deux sous unités par l'attachement de chaînes glucidiques sur les résidus Asparagine. Les oligosaccharides présents sur les chaînes alpha sont toujours fixés sur les résidus 52 et 78, mais ont une structure différente dans les différentes gonadotrophines.

Les étapes dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi aboutissent à la sécrétion d'isoformes moléculaires des hormones de composition saccharidique différente. Il convient d'insister sur le fait que les chaînes saccharidiques influencent l'activité biologique de l'hormone en intervenant dans son affinité au récepteurs, la transduction du signal et sa demi-vie plasmatique (courte pour la LH : 6 h, et longue pour la FSH : 96 h). Il existe au cours du cycle menstruel, une variation de la répartition des différentes isoformes des gonadotrophines, FSH et LH, ce qui entraîne des variations dans leur bioactivité.

Ces gonadotrophines ont une activité prépondérante dans la croissance folliculaire. Lorsque les follicules entrent en croissance, leur diamètre s'accroît par prolifération des cellules de la granulosa, il est appelé follicule secondaire. Lorsque ce dernier atteint un diamètre compris entre 80 et 100 $\mu$ m, un réseau capillaire apparaît dans le stroma adjacent au follicule. Cette vascularisation est physiologiquement importante puisque dès lors, le follicule devient directement exposé aux facteurs circulants dans le sang.

Chez la femme, la thèque devient visible à l'extérieur du follicule lorsque le diamètre de ce dernier atteint environ 120 $\mu$ m, et c'est lorsque quelques-unes de ces cellules thécales acquièrent un aspect épithélioïde que le follicule secondaire devient préantral. Il est alors entouré d'une thèque externe composée de cellules fibroblastiques et d'une thèque interne renfermant des cellules épithélioïdes et leurs cellules souches.

L'intervalle de temps nécessaire à un follicule pour atteindre le stade préantral est probablement de plusieurs mois chez la femme.

Dès lors qu'il possède une thèque interne et des cellules épithélioïdes, le follicule préantral devient sensible à la LH et à la FSH puisque les récepteurs à LH sont présents dans la thèque interne et les récepteurs à FSH dans les cellules de la granulosa où ils sont apparus dès le stade de follicule primaire.

b) Sécrétion.

La FSH et la LH sont toutes deux sécrétées par les mêmes cellules de l'antéhypophyse : les cellules gonadotropes.

La sécrétion de gonadotrophines est pulsatile, en miroir de celle de la GnRH. L'amplitude des pulses de LH varie au cours du cycle. Celle des pics de FSH ne peut être déterminée en raison de la demi-vie trop longue de l'hormone.

c) Régulation.

Comme l'hypothalamus, l'hypophyse est au centre d'un système complexe d'interactions :

- longues, avec l'ovaire, par l'intermédiaire des stéroïdes et de l'inhibine, qui ont un rôle freinateur ;
- courtes, avec l'hypothalamus, par l'intermédiaire de la GnRH, dont l'effet varie selon la fréquence des pulses ;
- ultracourtes, au sein de l'antéhypophyse, avec les autres cellules sécrétantes, lactotropes, thyrotropes, corticotropes.

L'ensemble est modulé par de nombreux facteurs centraux et périphériques.

d) Action des gonadotrophines.

*i) Rôle de la FSH :*

La FSH n'agit qu'au niveau de la granulosa, seul tissu ovarien à posséder des récepteurs pour cette gonadotrophine. Elle a une double action de prolifération et de différenciation.

• La prolifération.

La FSH induit une multiplication des cellules de la granulosa. Elle est de ce fait responsable de la croissance folliculaire. Dans la phase terminale, elle fait aussi passer en 5 à 6 doublings, le nombre de cellules de la granulosa de 1 million dans le follicule sélectionnable à 50 millions dans le follicule préovulatoire. La FSH agit de façon dose dépendante et la sensibilité des follicules à son action dépend du nombre de récepteurs, proportionnel au nombre de cellules de la granulosa.

De ces deux facteurs découle la notion de seuil de réceptivité qui trouve une application importante en phase folliculaire, dans les mécanismes du recrutement et de la sélection : seront sélectionnables et donc recrutés seulement les follicules dont le seuil de sensibilité est suffisant, et seul le follicule le plus sensible sera apte à poursuivre sa croissance malgré la baisse de la FSH.

• La différenciation.

La différenciation correspond à l'acquisition par les cellules de la granulosa de leurs compétences fonctionnelles : stéroïdogénèse, synthèse de l'inhibine, expression des récepteurs à LH.

Le follicule sélectionné est celui qui, présentant le plus grand nombre de récepteurs à FSH et ainsi la plus grande activité aromatasique (dans la granulosa), va poursuivre sa croissance dans un micro environnement à prédominance estrogénique (puisque l'aromatase transforme les androgènes en estrogènes). A contrario, les autres follicules de la cohorte, à activité aromatasique moindre, sont dans un climat à prédominance androgénique, facteur atrophisant amplifié par la diminution du taux de FSH circulante dès le 5<sup>e</sup> jour du cycle sous l'effet du rétrocontrôle négatif de l'estradiol.

En phase folliculaire tardive, la FSH induit les récepteurs à LH dans la granulosa afin de répondre de la production de progestérone.

*ii) Rôle de la LH.*

Les récepteurs à la LH sont constamment présents sur les cellules de la thèque interne. Sur la granulosa, en revanche, ils n'apparaissent, sous l'influence de la FSH, que vers le 10<sup>e</sup> jour du cycle, c'est-à-dire vers la fin de la période de sélection, alors que le follicule mesure plus de 10mm de diamètre.

- **La thèque interne.**

Au niveau de la thèque interne, la LH stimule la synthèse des androgènes dès le stade préantral. Ces androgènes servent de précurseurs pour la synthèse des estrogènes de la granulosa.

- **La granulosa.**

Au niveau de la granulosa, la LH stimule la production d'inhibine et de stéroïdes, et exerce ainsi, en seconde partie la phase folliculaire une action comparable à celle de la FSH, elle bloque la prolifération cellulaire, mettant ainsi un terme à la croissance du follicule.

*iii) Le rôle de l'hCG.*

L'hCG sécrétée très précocement par le trophoblaste transforme le corps jaune progestatif en corps jaune gestatif. L'action lutéotrope de l'hCG est renforcée par une affinité supérieure à celle de la LH aux récepteurs ovariens ainsi que par une demi-vie plus longue.

Un rôle de l'hCG dans l'immunomodulation nécessaire à la nidation et au maintien de la grossesse a également été proposé.

L'utilisation clinique de l'hCG repose sur ses actions lutéotropes :

- En mimant le pic LH par une injection à doses suffisantes, permettant le déclenchement de l'ovulation d'un ou plusieurs follicules matures ;
- En renforçant la sécrétion de progestérone par le corps jaune par des injections successives en phase lutéale.

Les gonadotrophines urinaires contiennent des protéines parasites qui peuvent représenter jusqu'à 90% de la préparation. Les hormones recombinantes en sont dépourvues. (26)

<b>Activité</b>	<b>DCI</b>	<b>Origine</b>	<b>Spécialités</b>	<b>Composition</b>
<b>FSH</b>	Ménotropine, hMG	recombinante	Ménopur®	FSH :75UI+ LH : 75UI
<b>FSH</b>	Follitropine $\alpha$	recombinante	Gonal F®	rFSH :37.5, 75,150,600UI
<b>FSH</b>	Follitropine $\beta$	recombinante	Puregon®	rFSH : flacon :50,75,1001 50,200UI cartouche :300, 600UI
<b>LH</b>	Gonadotrophine chorionique	urinaire	Gonadotrophine Chorionique Endo®	HCG :500,1500,5000UI
<b>LH</b>	Lutropine $\alpha$	recombinante	Luveris®	75UI

**Tableau 6 : Gonadotrophines. (25)**

e) Pharmacocinétique.

Les gonadotrophines, qu'elles soient urinaires ou recombinantes, ont les même propriétés pharmacocinétiques.

Après injection Intramusculaire (IM), ou Sous-cutané (SC), leur demi-vie comprend deux parties :

- Une première partie rapide correspondant à l'espace de diffusion extracellulaire ;
- Une seconde partie plus lente, correspondant à leur métabolisme : elle est très courte pour la LH, très longue pour la FSH.

	<b>Rapide</b>	<b>Lente</b>
<b>LH</b>	2-4	6
<b>FSH</b>	2-4	70
<b>hCG</b>		96

**Tableau 7: Demi-vie des gonadotrophines (en heures)**

La demi-vie longue dépend de la quantité des résidus d'acide sialique : l'augmentation de l'acidité augmente la demi-vie, mais l'affinité pour les récepteurs et l'action biologique diminue. Il sera possible ainsi de produire des formes de demi-vie différentes.

En pratique clinique, il est surtout important de retenir que la demi-vie de la FSH est supérieure à 24h et que les doses que l'on injecte s'accumulent. Le plateau étant obtenue en 3 à 5 jours lorsque les doses injectées ne sont pas modifiées. Lorsque l'on augmente ou que l'on diminue les doses quotidiennes, le nouveau plateau est atteint dans le même laps de temps.

f) Protocoles de stimulation par les gonadotrophines.

*i) Historique.*

1930 : première préparation utilisée dans l'induction de l'ovulation avec des gonadotrophines extraites de sérum de jument gravide, mais problème d'antigénicité.

1958 : utilisation de gonadotrophines extraites post mortem d'hypophyse humaine suivie d'administration d'hCG, mais coût élevé et problème d'approvisionnement.

1962 : gonadotrophines extraites de l'urine de femmes ménopausées (hMG : FSH +LH) suivie d'une administration d'hCG. L' hMG est retiré en France en juin 1999 pour des raisons de sécurité sanitaire, puis recommercialisée.

Puis on a utilisé des FSH pures c'est-à-dire extraites de l'urine de femmes ménopausées appauvrie en activité LH par passage sur une colonne comportant des anticorps anti-hCG et retenant ainsi la LH mais la FSH ne constituait que 2% des protéines totales.

Sont alors apparues les FSH ultra-pures (FSH –HP : hautement purifiées) obtenues après passage sur une colonne de haute affinité contenant des anticorps anti-FSH ; on obtient alors une FSH qui constitue 95% du produit et une activité multipliée par 60.

2002 : on note deux catégories selon leur activité biologique :

- Des gonadotrophines à action FSH d'origine synthétique c'est-à-dire des FSH recombinantes produites par génie génétique à partir de cellules d'ovaire de hamster chinois : on obtient des follitropines  $\alpha$  et  $\beta$ .
- Des gonadotrophines à action LH : soit d'origine urinaire, extraite d'urine de femmes enceintes : hCG, soit d'origine synthétique, la LH recombinante ( Luveris®) et hCG recombinante (Ovitelle®).

*ii) Indications.*

Les gonadotrophines agissent directement au niveau des follicules possédant des récepteurs. Elles peuvent donc être utilisées dans tous les types de troubles de l'ovulation dès lors qu'il existe des follicules antraux. La seule condition est la fonctionnalité d'un ovaire : FSH et LH élevé, la ménopause précoce, la dysgénésie gonadique et l'hyperprolactinémie sont des situations excluant le traitement par les gonadotrophines.

Dans le cas des ovaires poly kystiques de type I, il faudra prendre en compte le risque d'hyperstimulation et l'aggravation des lésions ovariennes.

Dans le cas d'une insuffisance de la glaire, on utilisera les gonadotrophines à petites doses aux 9<sup>e</sup>, 11<sup>e</sup> et 13<sup>e</sup> jours du cycle en stimulant le follicule pour augmenter la sécrétion d'estradiol et améliorer la glaire.

Elles pourront être utilisées si :

- Échec ou contre indications au citrate de clomifène ;
- Échec de la pompe à GnRH ou insuffisance hypothalamique profonde ;
- En première intention dans l'insuffisance hypophysaire ;
- Comme « coup de pouce »chez la femme ovulante.

### iii) Conduite pratique de la stimulation

#### • Principe de la stimulation.

Le risque majeur de ce type de traitement est l'hyperstimulation. La rigueur de la thérapeutique doit donc être irréprochable. La réponse est toujours individuelle et la dose efficace est imprévisible, aussi bien d'une patiente à l'autre que pour une même personne d'un cycle à l'autre.

Plusieurs schémas thérapeutiques ont été proposés : soit des doses fixes de durées variables, soit des traitements progressifs et/ou adaptés à la réponse clinique. Cette dernière attitude paraît plus adaptée pour palier la grande variabilité de réponse de l'ovaire à la stimulation.

#### ◇ Début :

L'initiation du traitement se fera à différents moments suivant le profil de la patiente.

On définit différents groupes :

- Les patientes dites « normo-répondeuses » : le taux de FSH à J3 <5mUI/L, le taux de LH à J3 < 6UI/L, l'estradiol <30pg/mL. L'échographie endovaginale rend compte d'ovaires normaux en taille avec moins de 10 follicules régulièrement répartis et un stroma peu dense et peu échogène.
- Les dystrophies ovariennes de types polykystiques ou pseudo-polykystiques réputées « hyper répondeuses » : FSH normale, la LH >6UI/L, l'estradiol >30pg mais <70pg/mL. L'échographie découvre sur chaque ovaire plus de 10 follicules répartis à la périphérie et un stroma ovarien très échogène. Le taux de prolactine est normal à peu élevé et l'hyperandrogénie mixte (surréalisme et ovarienne) est inconstante.
- Les dites « mauvaises répondeuses » : FSH comprise entre 5 et 15 UI /mL, l'estradiol entre 45 et 70pg/mL ou >70pg/mL avec un taux de FSH quasi normal.
- Les péri ménopauses : FSH est élevée, l'estradiol est bas, ou élevé lorsque la FSH est normale et les cycles menstruels sont raccourcis. Il existe déjà, même discrètement, un cortège de petits signes vasomoteurs. On retrouve à l'échographie de petits ovaires peu fonctionnels dystrophiques. Souvent on découvre ces états péri ménopausiques après une réponse inadéquate à une stimulation, quel que soit l'âge de la patiente.

On débutera le traitement de façon précoce (J3) pour les mauvaises répondeuses et tardive, (J5 à J6 voire plus tard) après le recrutement et la sélection en cas d'insuffisance lutéale, d'ovaires polykystiques.

Il est indifférent pour l'aménorrhée hypogonadotrophique.

#### ◇ .Doses.

Les doses sont :

- Faibles (50 ou 75UI) en cas de dysovulation et de dystrophie ovarienne ;
- Plus forte (75 ou 100UI) en cas d'anovulation sans risque d'hyperstimulation ;
- Forte (150 ou 200 I) en cas de mauvaises répondeuses. Des ajustements seront possibles au cours des cycles successifs. La surveillance débutera d'autant plus tôt que l'on craint une réponse précoce et donc une hyperstimulation.

- Recrutement. (10)

En physiologie, c'est l'élévation de la FSH à la fin de la phase lutéale qui permet de recruter quelques follicules avec parmi eux le futur follicule ovulatoire.

Ce recrutement ne peut se faire que si la sécrétion de FSH est suffisante, au-dessus d'un certain seuil, variable d'une patiente à l'autre.

Il persiste tant que le taux de FSH se maintient au-dessus de ce seuil. Mais au cours de la phase folliculaire, la production croissante d'estradiol et d'inhibine entraîne une diminution de la FSH qui limite le recrutement. Dans les jours qui précèdent l'ovulation, la FSH est basse et seul le follicule dominant, hypersensible à la FSH peut terminer sa croissance tandis que les autres sélectionnés vont évoluer vers l'atrésie.

Dans le cycle stimulé :

Soit la dose initiale est proche de la dose seuil : un seul follicule est sélectionné sans follicule surnuméraire. Il n'y a pas d'atrésie à rechercher.

Soit l'apport de FSH est supérieur à la dose seuil et plusieurs follicules débutent leur croissance. Il est possible d'obtenir l'atrésie des follicules les moins sensibles en réduisant la dose de FSH, à condition d'agir précocement.

Au niveau du monitoring, les caractéristiques de cette phase sont :

- Une élévation minime de l'estradiol, souvent seule, à ce stade, à signaler le démarrage d'un follicule.
- Des petits follicules stables à l'échographie.

L'observation d'un follicule qui dépasse la taille de 10 mm sera le premier signe pour les cliniciens qui ne font que peu de dosages mais ce signe peut être plus tardif.

Cette phase peut être plus ou moins longue. Sa prolongation est sans incidence sur le résultat final. L'estradiol n'augmente pas au début du traitement quand la dose administrée est inférieure à la dose seuil. Il conviendra alors de l'augmenter progressivement et plus ou moins rapidement.

- Sélection.

La période de sélection (J5-J10) est le moment crucial de la stimulation : il faut rechercher la dose minimum de gonadotrophines pour assurer la croissance d'un seul follicule dominant sans empêcher l'atrésie des follicules surnuméraires. L'échographie comptabilise le nombre de follicules de 10-12mm, reflet du recrutement, mais elle est incapable d'en évaluer la qualité : une image de 10-12mm à l'échographie peut être un follicule destiné à grossir (futur follicule dominant) ou correspondre à un follicule atrétique.

Ultérieurement, une image liquidienne plus importante peut aussi bien être un follicule mature qu'une structure kystique ou non fonctionnelle. L'échographie ne permet donc pas de préciser quels sont les follicules susceptibles de poursuivre leur maturation.

La courbe d'estradiol peut donner cette information, de façon toutefois variable.

La pente d'estradiol est le reflet fidèle de la maturation du follicule lorsqu'il est seul.

Il est alors aisé de juger des bons critères de maturité pour décider du meilleur moment du déclenchement. Si plusieurs follicules se développent, leurs sécrétions s'additionnent et la corrélation devient moins étroite. Cependant, une pente normale, c'est-à-dire une augmentation d'environ 30% par jour est un bon indice de développement d'un seul follicule

dominant. A l'opposé, lorsque plusieurs follicules sont sélectionnés (avec plusieurs images qui grossissent à l'échographie et des taux d'estradiol qui s'élèvent fortement) et que l'on tente d'en obtenir l'atrésie en diminuant les doses, les moyens actuels de monitoring deviennent insuffisants pour maîtriser complètement la situation : l'atrésie des follicules en excès, la croissance et la maturation d'un follicule dominant sont difficiles à évaluer. Or, de la bonne sélection dépend la certitude d'une grossesse mono embryonnaire et les risques moindres d'hyperstimulation, et des bons critères de maturité dépendent les chances de grossesse évolutives, deux objectifs essentiels de la stimulation ovarienne hors FIV.

En conclusion, il est préférable d'agir sur la sélection le plus tôt possible, car l'échographie et l'estradiol plasmatique seront plus aisément interprétables, la stimulation plus simple à conduire et l'objectif plus assurément atteint.

En fonction de ces données, la dose de FSH pourra être maintenue identique à la dose initiale, ou diminuée si plusieurs follicules sont recrutés : pente rapide d'estradiol, plusieurs images à l'échographie. Enfin elle pourra être augmentée quand les critères morphologique (diamètre) et fonctionnel (taux d'estradiol) du follicule dominant sont discordants.

- **Dominance.**

C'est la période où le follicule dominant termine sa maturation cytoplasmique et nucléaire. Il sécrète de grande quantité d'estradiol, sa taille à l'échographie dépasse le plus souvent 14 mm.

Les critères disponibles actuellement (échographie + dosage unique d'estradiol) peuvent être insuffisant pour évaluer la maturation finale.

La durée de la maturation est un élément important, comme en témoigne la survenue fréquente d'une phase lutéale courte si la montée d'estradiol a été courte.

Une élévation d'estradiol sur 5-6 jours (identique à celle d'un cycle physiologique) semble être le critère à respecter. C'est d'ailleurs la date à laquelle le pic de LH se déclenche fréquemment de manière spontanée.

- **Déclenchement de l'ovulation.**

- ◇ *Critères de déclenchement.*

On note :

- une glaire ovulatoire en l'absence de pathologie cervicale ;
- estradiol qui s'élève depuis 5-6 jours et qui atteint 250pg/mL ou plus ;
- un ou deux follicules de plus de 18 mm ;
- épaisseur de l'endomètre supérieure à 7 mm.

- ◇ *Modalités.*

En routine, on prescrit de l'hCG 5000UI en une seule injection pour minimiser le risque de poly ovulation et le déclenchement peut être annulé en cas de risque de grossesse multiple ou d'hyperstimulation. L'ovulation survient dans les 36h à 48h suivantes. On conseille les rapports dans cet intervalle.

On a proposé des doses plus faibles (2500 à 3500UI) : si elles assurent le plus souvent la maturation ovocytaire, elles peuvent être insuffisantes pour déclencher le processus ovulatoire et obtenir un corps jaune de bonne qualité. Des doses plus fortes (10000UI) ou répétées sont inutiles dans la plupart des cas et augmente le risque d'hyperstimulation.

Plus récemment, on utilise l'effet 'flare up' des agonistes du GnRH pour provoquer le pic de LH endogène et obtenir ainsi une ovulation plus physiologique. La triptoréline (Décapeptyl®), utilisée à 0.1mg, entraîne dans les 20 minutes qui suivent un pic de FSH et de LH.

L'intérêt de cette technique est de diminuer les risques d'hyperstimulation mais la diminution du risque de grossesse multiple n'est pas clairement établie. Son principal inconvénient est d'obtenir un pic de LH plus précoce et plus bref que le pic physiologique, source de LUF-syndrôme et d'insuffisance lutéale ; il est donc conseillé de compléter la phase lutéale.

- **La phase lutéale.**

Le corps jaune sera avantageusement soutenu par :

- hCG 1500UI : 1 à 3 injections chaque fois que le volume ovarien, l'échographie préovulatoire et le taux d'estradiol permettent d'éliminer un risque d'hyperstimulation ;
- progestérone : Utrogestan® 200 à 400 mg par jour par voie intra-vaginale.

#### **4) La pompe à GnRH. (15)**

Cette technique thérapeutique est apparue dans les années 80. Elle est fondée sur la démonstration de KNOBIL rapportant la nécessité d'administrer de la GnRH selon un mode pulsatile chez les singes primates, dont la source de GnRH endogène a été détruite, pour restaurer un cycle menstruel normal. LEYENBECKER applique ces notions au traitement des aménorrhées hypothalamiques et suprahypothalamiques en mettant au point une petite pompe capable d'administrer de la GnRH exogène à dose constante selon un mode intermittent. La fréquence choisie a été d'une décharge toutes les 90 minutes. La pulsativité de la LH et de la FSH ont été étudiées au cours du cycle menstruel. En phase folliculaire, elle se situe entre 70 et 90 minutes, alors qu'en phase lutéale la fréquence diminue sous l'action de la progestérone.

##### **a) Indications. (15-26)**

Pour être efficace, la pompe nécessite une intégrité organique et fonctionnelle de l'hypophyse et des ovaires. Elle a l'avantage de préserver les mécanismes régulateurs de la folliculogénèse rendant faible les risques d'hyperstimulation et de grossesses multiples.

L'indication principale est l'aménorrhée par anovulation d'origine hypothalamique. Elle est liée à une absence ou à une altération de la sécrétion pulsatile de GnRH comme le syndrome de KALLMANN (anomalie de la migration des neurones à GnRH à partir de la placode olfactive) ; à distinguer des déficits gonadotropes isolés d'origine pituitaire par exemple par mutation du récepteur de la GnRH ou par mutation de la  $\beta$  FSH qui relève d'une stimulation ovarienne directe et non d'un traitement par la GnRH.

Les atteintes hypothalamiques acquises sont plus faciles à reconnaître lorsqu'elles sont organiques : processus tumoraux, maladies infiltratives et radiothérapie. Les atteintes fonctionnelles, assez fréquentes chez la femme jeune, relèvent classiquement d'une anorexie mentale, d'un stress psychologique ou d'exercice physique intense. Il semble en fait que, dans tous les cas, la cause essentielle de l'atteinte gonadotrope, soit représentée par une alimentation insuffisante par rapport aux dépenses énergétiques.

En l'absence de désir de grossesse, un traitement estroprogestatif permet d'éviter les conséquences de la carence hormonale, d'obtenir régulièrement des hémorragies de privation et de permettre des rapports sexuels normaux. En cas de désir de grossesse, le test au citrate de clomifène est presque toujours négatif lorsqu'il y a atteinte hypothalamique et que le taux d'estradiol est inférieur à 25pg/mL.

Les indications se sont ensuite étendues à quasiment tous les troubles de l'ovulation mais avec des succès variables, car la persistance d'une sécrétion endogène de gonadotrophines n'est pas un facteur favorable et augmente le risque de grossesses multiples :

- Dérèglement hypothalamo-hypophysaire : insuffisance lutéale, dysovulation, anovulation ;
- Dystrophie ovarienne micro poly kystique.

#### b) Conduite de la stimulation. (26)

La GnRH (gonadoréline : Lutrelf® et Pulstim® dans les hôpitaux) est administrée par une pompe programmable placée à la ceinture de la patiente et reliée par un cathéter à une aiguille pour injection sous cutanée ou intra veineuse.

##### *i) Voies d'administration.*

Les voies sont :

- Intraveineuse : dans une veine du bras. La plus efficace (90% d'ovulation et 28% de grossesse par cycle ovulatoire) mais la maintenance est délicate, il y a des risques d'obturation du cathéter, d'inflammation et de thrombose de la veine ;
- Sous cutanée : dans la paroi abdominale. Moins efficace (75% d'ovulation, 30% de grossesse par cycle ovulatoire). Simple, de maintenance facile, mais elle nécessite des doses quatre fois plus fortes, surtout en cas de surcharge pondérale.

En première intention le choix se porte fréquemment sur la voie sous-cutanée et ce n'est qu'en cas d'échec que le cathéter IV sera utilisé.

##### *ii) Fréquences des pulses.*

La fréquence des pulses est calquée sur le cycle physiologique : toutes les 60 à 90 minutes durant la phase folliculaire sans différence de résultat. Elle peut être plus rapide à la fin de cette phase. Une fréquence trop rapide risque de désensibiliser l'hypophyse ; une fréquence trop lente risque de ne pas assurer la croissance d'un follicule dominant. Pendant la phase lutéale, la fréquence peut être diminuée jusqu'à un pulse toutes les 240 minutes.

Une fréquence basse favorise une réponse FSH prépondérante, une fréquence élevée, une réponse LH dominante. Mais une fréquence supérieure à un pulse toutes les 30 minutes désensibilise l'hypophyse.

##### *iii) Intensité des pulses.*

La dose nécessaire dépend avant tout de la profondeur du trouble (2.5 à 5µg par voie intraveineuse dans les groupes II, IIIa, IIIb ; 15 à 20µg dans le groupe IIIc).

Pour une femme de poids normal, avec une aménorrhée hypogonadotrophique, par voie sous-cutanée :

- Premier cycle : 5µg par pulse (souvent insuffisant, mais prudence justifiée par la survenue au premier cycle de la plupart des grossesses multiples) ;
- Second cycle : 10µg par pulse.

La voie sous-cutanée, 20 à 30µg par pulse sont nécessaires.

*iv) Soutien de la phase lutéale.*

Il est systématique, car l'insuffisance lutéale est fréquente par maturation folliculaire inadéquate ou pic de LH insuffisant. Il y a deux possibilités :

- Maintien de la pompe, en espaçant les bolus, jusqu'à l'épuisement du LH-RH ;
- Gonadotrophine chorionique 1000 ou 1500 UI, tous les 2 à 3 jours.

*v) Surveillance.*

Le monitoring (estradiol - échographie) peut être utilisé pour dépister et corriger des anomalies (anovulation, insuffisance lutéale).

c) Résultats.

*i) Aménorrhées hypothalamiques avec hypogonadisme.*

Le résultat est de 80 à 95% d'ovulation avec une phase folliculaire d'autant plus longue que le trouble est profond.

*ii) Aménorrhées sans hypogonadisme.*

Les complications, hyperstimulation et grossesses multiples, ne sont pas rares, en particulier lorsqu'il existe une sécrétion endogène de gonadotrophines, ce qui limite classiquement les indications de la pompe à la seule aménorrhée hypothalamique.

Pour palier cet inconvénient, il est possible d'induire un hypogonadisme artificiel par analogue de la GnRH dans les semaines qui précèdent l'installation de la pompe.

*iii) Dystrophie ovarienne micro poly kystique.*

Le résultat est de 50 à 75% d'ovulation et 30 à 40% de grossesses par cycle ovulatoire.

Il y a des risques accrus d'hyperstimulation et de grossesses multiples :

- La surcharge pondérale, l'hyperandrogénie et une LH élevée sont des facteurs péjoratifs ;

Un traitement préalable par agoniste de la GnRH peut être utilisé pour faire baisser la LH et le taux d'androgènes intra-ovariens avant l'installation de la pompe. De bons résultats ont été rapportés.

## B. La poly ovulation.

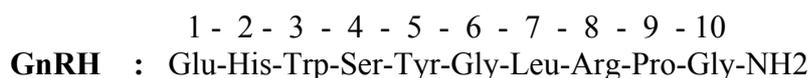
La poly ovulation, contrairement à la mono ovulation, cherche l'hyperstimulation ovarienne. Les protocoles permettent la formation de plusieurs follicules tout en contrôlant le nombre d'embryons par la fécondation *in vitro*, qui seule permet de maîtriser le risque de grossesse multiple en limitant le nombre d'embryons transférés.

Dans ces protocoles intervient la notion de blocage de l'ovulation par des analogues ou par des antagonistes de la GnRH. (26).

### 1) Les agonistes de la GnRH.

#### a) Structure. (3-10)

Les agonistes de la GnRH ont été commercialisés pour la première fois dans les années 80, après la synthèse du décapeptide GnRH.



**Figure 10: Structure de la GnRH.**

Parmi les 10 acides aminés de la molécule native :

- Les acides aminés C et N terminaux représentent le site de fixation au récepteur ;
- Les acides aminés 2 et 3 (histidine et tryptophane) sont responsables de l'expression de l'activité biologique de l'hormone ;
- Le résidu Glycine en 6 est le site de protéolyse physiologique qui dégrade la molécule. La substitution en 6, notamment par un acide aminé dextrogyre augmente la durée de vie de la molécule en diminuant sa sensibilité aux protéases. En augmentant également l'affinité de l'analogue pour les récepteurs, il est ainsi obtenu des analogues agonistes du GnRH.

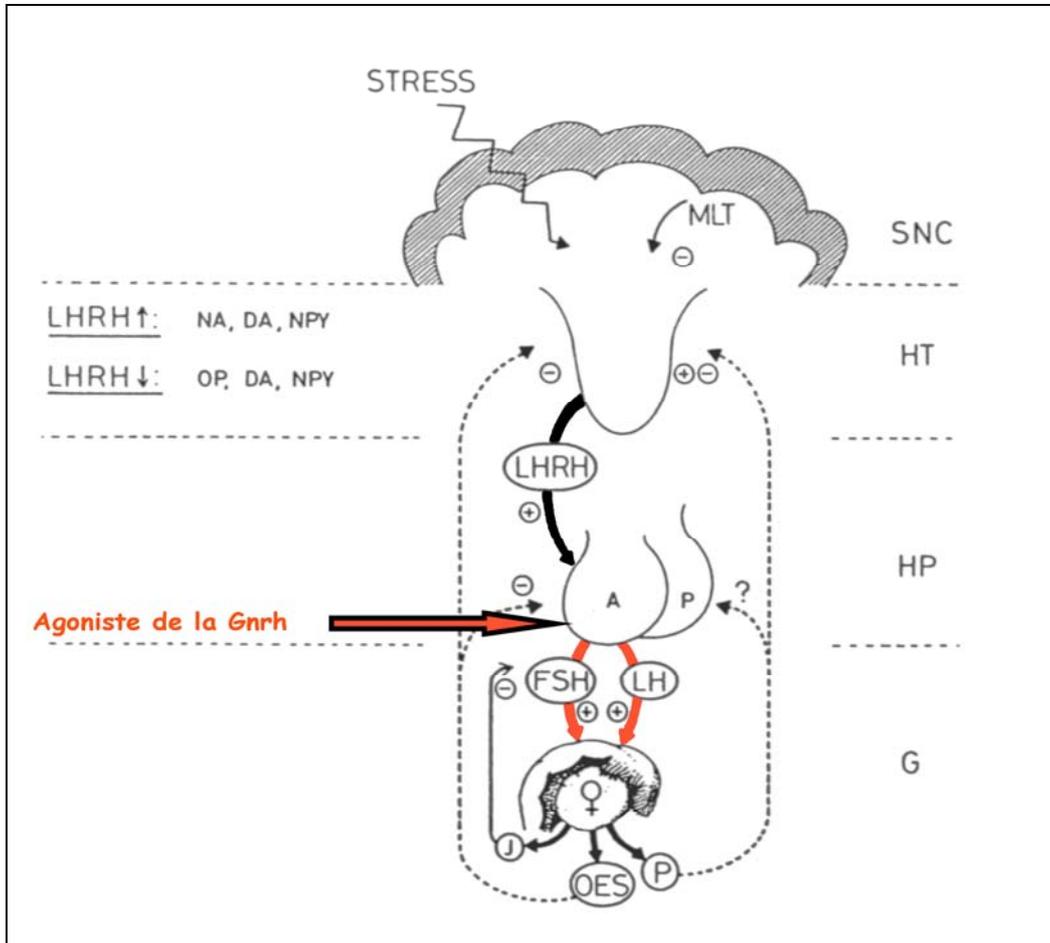
La demi vie des agonistes du GnRH est de l'ordre de quelques heures. Elle est donc nettement supérieure à celle du décapeptide natif qui est de 3 à 6 minutes. C'est pourquoi l'administration d'un analogue mime l'action d'une administration continue et non pulsatile de GnRH.

DCI	SPECIALITES
Triptoréline	Décapeptyl® 0.1mg SC 3mg LP IM
Nafaréline	Synarel® 0.2mg/dose (solution endonasale)
Buséréline	Suprefact® 1mg/mL SC

**Tableau 8 : agonistes de la GnRH ayant l'AMM pour l'induction de l'ovulation au VIDAL 2002**

b) Mécanisme d'action.

L'utilisation aiguë d'analogue agoniste mime l'action du GnRH natif et entraîne une libération de LH et de FSH par les cellules gonadotropes de l'hypophyse : c'est l'effet *flare up*.



**Figure 11: Mécanisme d'action des agonistes de la GnRH. (9)**

Après 48 heures environ, de stimulation gonadotrope hypophysaire, une désensibilisation hypophysaire est induite. En effet la cellule gonadotrope ne pouvant répondre qu'à une stimulation pulsatile de GnRH il s'en suit un effet anti-gonadotrope. L'activité biologique de la LH et de la FSH est effondrée.

L'arrêt de la sécrétion hypophysaire, entraîne à son tour un hypogonadisme avec un effondrement du taux d'estradiol. Le résultat final est une véritable « castration médicale » dont la caractéristique est d'être parfaitement réversible à l'arrêt du traitement.(26)

c) Clinique. (26)

Dans le cas d'utilisation d'agoniste de la GnRH, l'effet se déroule toujours en deux étapes, d'abord une stimulation, avec libération de FSH et de LH, puis une inhibition avec hypogonadisme.

*i) Stimulation initiale.*

L'effet est une libération brutale de FSH (+100% du taux de base) et surtout de LH (+400%). La réponse ovarienne (notamment l'apparition de métrorragies) dépend de la phase du cycle où a lieu l'injection initiale :

- avant J5 : pas de métrorragies secondaires ;
- J5-J10 : hémorragie de privation au bout d'une dizaine de jours ;
- J10-J14 : LUF syndrome ou ovulation suivant le degré de maturité du follicule dominant.
- Phase lutéale : stimulation transitoire du corps jaune sans traduction clinique. Les règles surviennent à la date prévue, parfois un peu en avance ou en retard, puis l'hypogonadisme s'installe.

*ii) Inhibition secondaire.*

Cliniquement, après cette libération massive de FSH et de LH, il y a aménorrhée accompagnée de bouffées de chaleur, sécheresse vaginale, diminution de la libido et dyspareunies, quasiment de façon constante et liées au blocage hypophysio-ovarien. Biologiquement, il s'installe un hypogonadisme ( $E^2 < 50 \text{pg/mL}$ ).

d) Protocoles.(10-26)

Les deux temps, stimulation puis inhibition, de l'action des analogues peuvent être mis à profit pour l'induction de l'ovulation. Il existe ainsi deux types de protocoles associant les analogues de la GnRH et les gonadotrophines : les protocoles longs et les protocoles courts.

*i) Les protocoles longs.*

C'est le protocole le plus employé par les différentes équipes de FIV du monde. Le nombre de follicules et d'ovocytes recueillis est en moyenne plus important et le taux de grossesse supérieur à ceux des autres protocoles (protocoles courts et sans agoniste).

Dans les protocoles longs, le principe est de bloquer d'abord l'hypophyse et de ne commencer la stimulation par les gonadotrophines que lorsque l'hypogonadisme est complet ( $E^2 < 50 \text{pg/mL}$ ). La situation créée est alors identique à l'hypogonadisme hypogonadotrophique notamment connue comme étant celle où la situation est la plus facile, car il n'y a aucune interférence des gonadotrophines endogènes et en particulier aucun risque de pic spontané de LH.

Une désensibilisation hypophysaire complète est réalisée dans un premier temps par l'administration d'un analogue du GnRH. Le premier jour d'administration peut être situé en milieu de phase lutéale (3 à 5 jours avant la date des règles ou en tout début de cycle : J2 ou J3). On aura recours soit à une seule injection de triptoréline 3mg soit à une administration quotidienne de préparation à action courte (triptoréline 0,1 mg SC 2 fois par jour).

La chute de la LH plasmatique et conjointement de l'estradiolémie est assurée en moyenne au bout de 10 à 14 jours. Le contrôle du blocage se fera après les règles si début en phase lutéale, 15-20 jours après si celle-ci a été faite en phase folliculaire. Les dosages plasmatiques d'estradiol et de progestérone doivent être bas ( $< 50 \text{pg/mL}$  et  $1 \text{ng/mL}$ , respectivement) et l'échographie ne doit retrouver aucun follicule supérieur à 12 mm.

L'effet flare up peut provoquer l'apparition d'un kyste fonctionnel. Dans ce cas, l'estradiol reste élevé. L'échographie confirme la présence du kyste. Il disparaîtra spontanément au bout d'une dizaine de jours ou plus rapidement avec une ponction écho guidée.

La programmation préalable par un progestatif ou un estroprogestatif pourrait diminuer l'incidence de kystes fonctionnels chez les patientes à risque. Ces kystes apparaissent chez environ 5 à 10% des patientes. Ils s'accompagnent presque toujours dans un premier temps d'une hyperestradiolémie ; la patiente signale souvent des métrorragies concomitantes.

La stimulation par hormones gonadotropes est alors débutée ; l'analogue est poursuivi jusqu'au déclenchement de l'ovulation par l'hormone gonadotrophine chorionique.

Les doses d'hormones gonadotropes utilisées sont décidées au cas par cas en fonction du profil hormonal de la patiente, préalablement établi dans le bilan initial. Celui-ci prend en compte son âge, l'étude des cycles sur la courbe de température, les dosages hormonaux (FSH, LH, estradiol de base et éventuellement androgènes), les antécédents chirurgicaux ovariens ou les résultats d'une précédente FIV.

FSH : 150 à 400 UI par jour pendant 4 jours et ensuite en fonction du monitoring.

La dose de FSH nécessaire est en moyenne 3000UI.

Le monitoring se fera à partir de J3 (3<sup>e</sup> jour de stimulation) par dosage de E<sup>2</sup> quasi quotidiennement et échographie (2 ou 3 par cycle).

Le déclenchement par hCG 5000UI ou 10000UI se fait quand :

- au moins 2 follicules de diamètre supérieur à 17 mm
- rapport (E<sup>2</sup>/ nombre de follicules >15mm)>200pg/mL
- endomètre mature.

Pendant la phase lutéale, on pourrait compléter le traitement par :

- progestérone micronisée 400mg par jour par voie vaginale ;
- hCG 1500 (1 à 3 fois) en l'absence de risque d'hyperstimulation.

Il existe également une variante du protocole long avec micro dose d'analogue.

Le blocage hypophysaire se fait par injection d'analogue en fin de cycle ou en phase folliculaire précoce, 3 à 5 jours avant les règles avec du Décapeptyl® 0.1mg SC puis une demi dose à partir du premier jour de stimulation par FSH.

La stimulation se fait par FSH mais seulement 150 à 225UI par jour pendant 4 jours en fonction du monitoring.

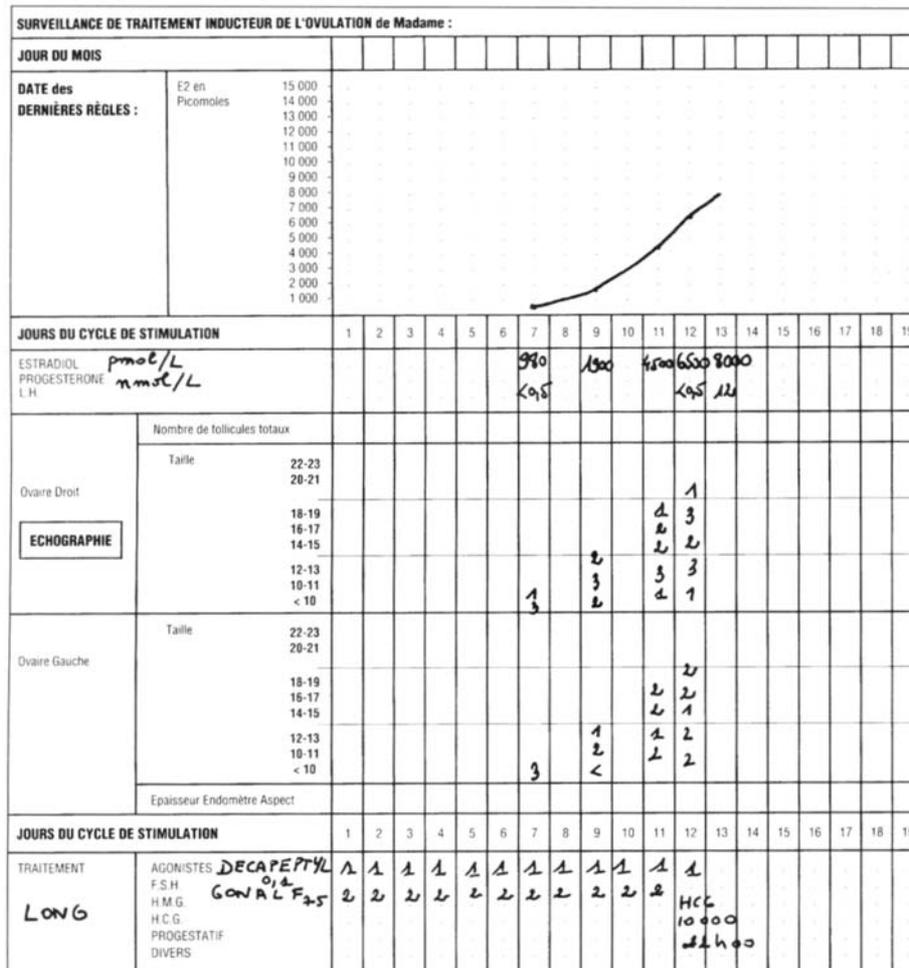


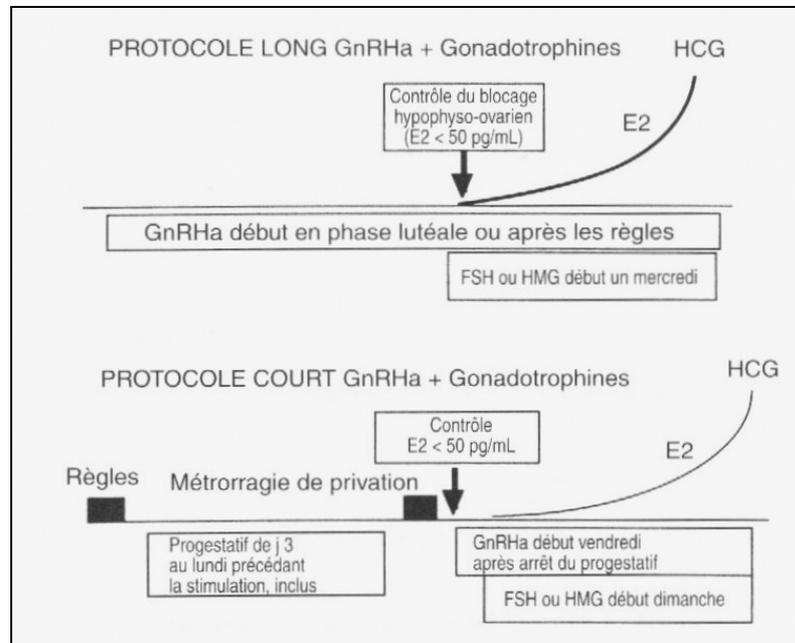
Figure 12 : Réponse harmonieuse à la stimulation.

La dose de FSH nécessaire est théoriquement moins forte, en moyenne 1500 à 2250UI. Ce type de protocole est utilisé dans le cadre de ‘mauvaises répondeuses’ qui répondent faiblement en protocole long classique. Pour ces femmes il faut beaucoup de gonadotrophines pour obtenir seulement quelques follicules et en plus avec un taux de grossesse paradoxalement bas causé par une mauvaise qualité d’ovocytes et d’embryons. De hautes doses fixes de gonadotrophines semblent être recommandées mais des doses décroissantes semblent être efficaces et moins coûteuses chez les mauvaises répondeuses. (5)

ii) Protocoles courts. (10-26)

Dans tous les protocoles courts, l’administration des gonadotrophines débute en même temps que celle des analogues, ce qui permet de profiter de l’action des gonadotrophines endogènes libérées par l’effet flare up de l’agoniste dans les 48 premières heures de son administration. L’analogue initie le recrutement folliculaire. Il est commencé entre le 1° et le 3° jour du cycle et poursuivi jusqu’au déclenchement de l’ovulation. Ce cycle peut être spontané ou programmé par un progestatif.

Le protocole court classique superpose le traitement pour le blocage hypophysaire par l'analogue de la GnRH et la stimulation par FSH à J2 ou J3 (J1=1° jour des règles) pour la stimulation. La FSH est administrée à une dose de 50 à 225UI en fonction du monitoring. La dose de FSH nécessaire en moyenne est de 1500UI.



**Figure 13 : Protocole long et protocole court.**

On pourra également noter la possibilité d'un protocole ultracourt. Il s'adresse aux patientes mauvaises répondeuses et également théoriquement, aux patientes présentant un trouble de la folliculogénèse. Chez ces dernières, la cinétique de croissance folliculaire peut paraître satisfaisante avec en revanche un recueil ovocytaire médiocre ou de mauvaise qualité. Un effet délétère de l'analogue peut être avancé.

L'analogue est débuté au 1° ou 2° jour du cycle mais dure moins de 7 jours dans le but d'éliminer la nocivité de l'analogue. Le schéma d'administration des hormones gonadotropes est identique au protocole court classique.

Pour les auteurs qui le préconisent, la durée d'injection serait suffisante pour prévenir un pic endogène de LH et permettrait l'amélioration de la réponse ovarienne. Cependant une chute ou une stagnation de l'estradiolémie est très souvent retrouvée à l'arrêt de l'analogue, nécessitant une augmentation des doses d'hormones gonadotropes.

### **C. Les complications des assistances médicales à la procréation.**

En plus des complications spécifiques à chacune des techniques d'assistance médicale à la procréation et qui sont dans l'ensemble rares, l'assistance médicale à la procréation expose à certains risques bien identifiés à court terme, hypothétique à long terme.(15)

## 1) Les complications à court terme.

### a) Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne. (26)

Décrit dès le début de l'induction de l'ovulation, le syndrome d'hyperstimulation ovarienne peut compliquer tous les types de stimulation.

#### *i) Définition.*

Le syndrome d'HS se définit comme une augmentation de volume des ovaires en rapport avec la formation de nombreux kystes lutéiniques, et une extravasation sanguine entraînant la formation d'un épanchement dans les cavités séreuses : abdominales essentiellement, mais aussi pleurale et péricardique.

Son mécanisme principal réside dans la production par les follicules lutéinisés d'un facteur qui augmenterait la perméabilité capillaire.

L'hyperstimulation ne survient donc qu'après la lutéinisation : soit par le pic spontané de LH, soit plus fréquemment après le déclenchement d'hCG, dont la demi vie longue a un effet plus prononcé. Assez souvent elle apparaît encore plus tardivement ou s'aggrave au moment de l'implantation lorsque l'installation d'une grossesse entraîne un afflux d'hCG trophoblastique. (26)

Sa forme grave est assez rare : 0,5 à 2,6% selon les séries. Elle associe gros ovaires polykystiques, ascite, insuffisance rénale fonctionnelle, hémocoagulation, hypercoagulabilité et nécessite impérativement l'hospitalisation car le pronostic vital peut être en jeu.

En revanche les hyperstimulations mineures sont fréquentes : ovaires multikystiques, lame d'ascite et ballonnement abdominal. Elles constituent souvent les premiers signes d'une grossesse et cèdent au simple repos et à la glace sur le ventre. (15)

Les signes cliniques apparaissent dans les 3 à 10 jours qui suivent l'injection d'hCG voire beaucoup plus tard.

#### *ii) Complications :*

Le risque de complication est proportionnel au degré de gravité :

- torsion ou rupture de kyste ovarien ;
- troubles respiratoires en rapport avec l'ascite et l'hydrothorax ;
- accidents thromboemboliques par hypercoagulabilité ;
- insuffisance rénale fonctionnelle par hypovolémie ;
- cytolyse et insuffisance hépatique sont des signes d'extrême gravité.

#### *iii) Traitements.*

##### • Préventif

Le syndrome d'HS n'est pas toujours évitable, mais il est exceptionnel qu'il ne soit pas prévisible.

La prévention commence d'une part par la détection des femmes à risque :

- femme jeune, aménorrhéique ou anovulante ;
- taux élevé de LH et/ou rapport LH/FSH élevé ;
- ovaire multifolliculaire ;

- dystrophie ovarienne micropolykystique connue.
- D'autre part, il faut savoir dépister des situations à risque en cours de stimulation :
- présence de nombreux follicules de 12 mm ou plus à l'échographie ;
  - taux d'estradiol élevé et pente rapide ;
  - polyovulation hors FIV.

Face à ces signes il faudra adapter le traitement :

- interruption des injection de gonadotrophines plusieurs jours avant le déclenchement pour obtenir l'atrésie des follicules surnuméraires ;
- déclenchement par analogue de la GnRH donnant un pic de LH au cours d'une induction pour FIV n'utilisant pas les analogues semble réduire le risque d'HS sans altérer les chances de grossesse ;
- ponction des follicules en excès avant le déclenchement de l'ovulation ;
- abandon du déclenchement en cas de danger ;
- pas d'hCG en phase lutéale quand les ovaires seront augmentés de volume ;
- en cas de FIV : transfert différé et congélation des embryons.

SURVEILLANCE DE TRAITEMENT INDUCTEUR DE L'OVULATION de Madame :																					
JOUR DU MOIS																					
DATE des DERNIÈRES RÈGLES :	E2 en Picomoles	15 000																			
		14 000																			
		13 000																			
		12 000																			
		11 000																			
		10 000																			
		9 000																			
		8 000																			
		7 000																			
		6 000																			
		5 000																			
	4 000																				
	3 000																				
	2 000																				
	1 000																				
JOURS DU CYCLE DE STIMULATION		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
ESTRADIOL									2500	5000											
PROGESTERONE									105												
L.H.																					
Ovaire Droit	Nombre de follicules totaux																				
	ECHOGRAPHIE	Taille	22-23																		
			20-21																		
			18-19																		
			16-17							3	3										
			14-15						3	3											
		12-13						3	4												
		10-11						3	2												
		< 10						2	3												
	Ovaire Gauche		Taille	22-23																	
		20-21																			
		18-19																			
		16-17																			
		14-15							3	4											
		12-13							3	3											
		10-11							3	3											
		< 10							3	3											
Epaisseur Endomètre Aspect																					
JOURS DU CYCLE DE STIMULATION		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
TRAITEMENT	AGONISTES	SUPREFACT	3mg	2	2	2	2	2	2												
	F.S.H.	GONAL F	3	3	2	2	2	2	1												
	H.M.G.																				
	H.C.G.																				
	PROGESTATIF																				
	DIVERS																				

Figure 14: Arrêt du traitement en raison d'une reprise excessive au traitement.

- Curatif.

- forme légère à modérée : on conseillera du repos au lit, de la glace sur le ventre, des antispasmodiques et une surveillance rigoureuse afin de dépister les signes de gravité (augmentation rapide du poids, œdème, tension abdominale, diminution de la diurèse).
- forme sévère : on orientera vers une hospitalisation d'urgence en unité de soins intensifs avec restriction hydrique pour éviter la reconstitution des épanchements, évacuation de l'ascite si gêne respiratoire, ponction échoguidée des kystes ovariens pour raccourcir l'évolution de la pathologie. (3)

b) Les complications obstétricales.

*i) Les grossesses multiples.*

Le risque de grossesse multiple, en particulier de « haut rang » (triplés et plus) est inhérent à toutes les techniques d'assistance médicale à la procréation, dans la mesure où elles sont associées à une stimulation ovarienne, surtout si elle induit délibérément la maturation de plusieurs follicules.

Entre 1986 et 1993, 27,2% des grossesses par FIV étaient multiples : gémellaire (23.5%), triplés (3.6%) ou au-delà (1.5%).

En France la tendance est de limiter à 2 ou 3 le nombre d'embryons remplacés.

Rq : À partir de la grossesse triple se discute l'indication de « réduction embryonnaire ». Cette manœuvre est réalisable tardivement, vers la 10 ou 12<sup>e</sup> semaine par injection intra embryonnaire de KCl ou de sérum hypertonique.(15)

*ii) Avortement spontané.*

Un avortement spontané survient dans 20 à 25% des grossesses obtenues après fécondation *in vitro*, GIFT ou insémination intra utérine. Le risque de fausse couche est fortement corrélé à l'âge de la mère et atteint 50% environ après 40 ans.

*iii) Grossesse extra-utérine ou GEU.*

La fréquence de la GEU est beaucoup plus grande chez les patientes traitées par FIV (jusqu'à 4.5%) ou GIFT (1 à 2%) que dans la population générale (0.84% en 1978 d'après le CDC d'Atlanta). la différence entre GIFT et FIV s'explique sans doute par un biais de recrutement, les patientes traitées par GIFT ayant en principe des trompes en bon état. De plus, certaines formes de GEU naturellement rares sont fréquentes après assistance médicale à la procréation, en particulier les GEU multiples dans les grossesses hétéro topiques associant nidation intra et extra utérine (rarissime).

*iv) Autres complications gravidiques.*

Les grossesses obtenues par FIV sont plus souvent compliquées que les grossesses spontanées, avec davantage de toxémies gravidiques, de retard de croissance *in utero*, de prématurité, de césariennes. Ces complications sont liées à l'âge moyen des mères plus élevé dans le cas de grossesses FIV, à la primiparité, et surtout aux grossesses multiples.

## **2) Les complications à long terme.**

Les études épidémiologiques ont bien montré l'effet protecteur des estroprogestatifs vis à vis du cancer de l'ovaire, probablement par le biais de l'anovulation. Les techniques d'assistance médicale à la procréation, au contraire, provoquent une hyperstimulation répétée. On peut donc se poser la question de savoir si ces techniques ne peuvent pas être responsables dans l'avenir d'une augmentation de l'incidence des cancers de l'ovaire chez les patientes traitées. (3).

Avec plus de 15 ans de recul, aucune complication spécifique n'a été identifiée à long terme pour l'induction de l'ovulation en assistance médicale à la procréation et hors assistance médicale à la procréation. Des interrogations subsistent en ce qui concerne le cancer de l'ovaire, du sein et la survenue d'une ménopause précoce.

S'il paraît logique de rassurer les patientes, il faut rester vigilant, éviter les inductions inutiles ou prolongées (supérieures à 12 cycles surtout pour le citrate de clomifène) et surveiller dans une étude prospective les patientes soumises à de nombreux traitement inducteurs d'autant plus que l'infertilité est en soi un facteur de risque de cancer de l'ovaire. En l'absence de méthode de dépistage du cancer de l'ovaire il faut facilement évoquer ce diagnostic chez une femme infertile traitée ou non qui présente des signes cliniques ou échographiques évocateurs.(3)

## **TROISIEME PARTIE :**

### **LES ANTAGONISTES DE LA GnRH**

La GnRH induit la sécrétion de la FSH et de la LH par les cellules de l'hypophyse pour contrôler la fonction gonadique et maintenir le cycle ovarien.

La conséquence logique de la découverte de la séquence d'acides aminés de la GnRH en 1967 est le développement d'agonistes et d'antagonistes synthétiques.

Au début, les antagonistes semblaient simples à synthétiser en modifiant seulement 1 ou 2 acides aminés mais cela a pris 30 ans avant d'obtenir des antagonistes avec une cinétique, une sécurité et un profil commercial acceptable.

Nous détaillerons tout d'abord la structure des antagonistes, leur mode d'action et les protocoles, puis l'intérêt de ces nouvelles molécules dans l'arsenal thérapeutique existant.

## **I. Structure et récepteurs. (13-16)**

### **A. La GnRH.**

La GnRH est un décapeptide isolé et caractérisé par les groupes de A V Scally et R C L Guillemin, les lauréats du prix Nobel 1977.

La démonstration des différentes structures de GnRH chez les vertébrés a conduit à l'identification de 11 structures différentes dont au moins 2 structures de GnRH retrouvés dans beaucoup d'espèces de vertébrés.

La GnRH de type I est le facteur neuroendocrine classique de la reproduction. Elle est synthétisée dans le cytoplasme des cellules du diencephale, enveloppée dans les granules de l'appareil de Golgi et enfin transportée par les axones au neurone terminal d'où elle est libérée de façon pulsatile dans les capillaires de la circulation porte hypophysaire.

Une observation particulière était la présence quasi universelle d'une autre forme de GnRH découverte dans le cerveau d'un poulet et désignée « chicken GnRH II » et désormais « GnRH II ». Il fût rapidement désigné comme ayant une importante fonction, probablement comme neuromédiateur au niveau du système nerveux central et périphérique.

L'ARNm de la GnRH a été trouvé dans l'hypophyse et dans des tissus extra- hypophysaires comme le placenta, les ovaires, le myomètre, l'endomètre, la prostate et les cellules mononuclées du sang, indiquant un rôle autocrine / paracrine.

Les gènes des GnRH I et II humaines sont issus respectivement des chromosomes 8 et 20.

Le récepteur de la GnRH fait partie de la famille des récepteurs « rhodopsine like » couplé à la protéine G. Beaucoup de vertébrés ont 2 types de récepteurs à la GnRH.

Le clonage du récepteur à la GnRH de type II montre que seulement 41% est identique au récepteur de type I, il a un groupement terminal carboxyle qui est important pour une rapide désensibilisation.

Le récepteur de type II est plus largement distribué que le récepteur de type I. Il s'exprime dans tout le cerveau incluant l'hypophyse et dans divers tissus reproductifs et non nerveux suggérant de nombreuses fonctions.

## B. Les modifications structurales.

Pour synthétiser ces antagonistes à partir de la GnRH, les substitutions simples d'acides aminés ne permettaient pas d'obtenir une affinité et une activité acceptable.

La structure des antagonistes de la GnRH fût revue de nombreuses fois :

La première génération était hydrophile et substituait l'His (Histidine) en position 2 avec le Trp (Tryptophane) en position 3.

Dans la deuxième génération comme Détérelix, l'activité inhibitrice a augmenté après l'incorporation d'un D acide aminé en position 6 mais a augmenté également l'activité histaminergique dont résultait une réaction anaphylactique.

Dans la troisième génération, les effets indésirables d'œdème sont éliminés par remplacement de l'Arg (Arginine) en position 6 par un acide aminé neutre (un D acide aminé uréidoalkyl) pour produire des composés comme Cétrorélix, Itrurélix, Azaline B, Ganirelix, Abarélix et Antarélix. Ganirelix et Cétrorélix sont les deux seuls antagonistes commercialisés en France à ce jour.

Name	Aminoacid found at position:									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH-I	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>
GnRH-II	1	2	3	4	His	6	Trp	Tyr	9	10
Abarelix	D-Ala	D-Phe	D-Ala	4	5	D-Asp	7	Lys(iPr)	9	D-Ala
Antarelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	Phe	D-Hcit	7	Lys(iPr)	9	D-Ala
Cetrorelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	5	D-Cit	7	8	9	D-Ala
Ganirelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	5	D-hArg	7	hArg	9	D-Ala
Iturelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	NicLys	D-NicLys	7	Lys(iPr)	9	D-Ala
Nal-Glu	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	D-Glu	D-Glu	7	8	9	D-Ala

Tableau 9 : Structure de la GnRH et de la troisième génération d'antagonistes (13)

## II. Mécanisme d'action. (26)

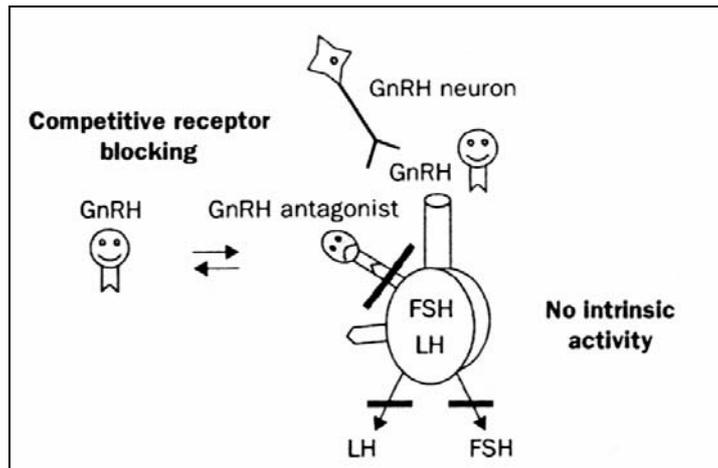
### A. Mode d'action. (1-15)

Contrairement aux agonistes, les antagonistes n'induisent pas de stimulation initiale (d'effet *flare up*) avant d'obtenir une désensibilisation des cellules gonadotropes.

Les antagonistes inhibent de façon compétitive et, avec une très forte affinité les récepteurs de la GnRH, empêchant ainsi la GnRH endogène d'exercer son action sur les cellules hypophysaires gonadotropes.

Il s'agit d'un effet rapide, dose dépendant, différent de celui des agonistes de la GnRH.

Leur administration est possible par voie SC.



**Figure 15: Mécanisme d'action des antagonistes de la GnRH. (13)**

### **B. La cinétique.**

La concentration maximale absorbée (Cmax) est dose dépendante. L'élimination est métabolique et hépatique. Son seul facteur limitant est l'absorption.

Les antagonistes sont liés à 80% aux protéines plasmatiques et le temps de demi vie plasmatique varie entre 5 et 30 heures, après une seule administration SC et augmente après plusieurs administrations.

### **C. La pharmacodynamie. (1)**

Environ 6 heures après l'administration d'antagonistes de la GnRH, la concentration en LH plasmatique chute de 70% et la FSH plasmatique de 30%.

L'importance et la durée de la suppression sont dose dépendante. En assistance médicale à la procréation, l'administration d'une dose unique de 3 mg est efficace durant 96 heures. L'administration d'une dose quotidienne de 0.25mg est efficace durant 24 heures. Des doses plus importantes entraînent une diminution des taux d'implantation embryonnaires et de grossesses.

On a une complète réversibilité du traitement en 24 à 72 heures. L'administration d'un antagoniste en phase lutéale fait chuter le taux de progestérone et d'estradiol puis celui ci remonte très rapidement. Il n'y a donc pas d'effet de privation gonadotrope prolongée.

Chez des femmes avec des cycles réguliers, la chute de LH est la meilleure au moment de l'ovulation, mais le fait que la diminution de FSH soit moins importante que la diminution de LH fait supposer des facteurs non GnRH dépendant dans le mécanisme.

### **D. La tolérance.**

Avec la troisième génération d'antagonistes, le potentiel de réaction histaminergique a beaucoup diminué. Des études toxicologiques ont confirmé l'innocuité de cette troisième génération de médicaments.

Il n'y a aucune preuve d'atrophie des organes cibles irréversible, ou d'effets cancérogènes potentiels. De nombreux patients ont été traités par Ganirélix, Cétrorélix, (ou Abarélix dans le traitement du cancer de la prostate) sans preuve de réaction anaphylactique.

Les effets indésirables des antagonistes de la GnRH sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus avec les agonistes et sont attribués à l'hypoestrogénisme. Ce sont généralement des bouffées de chaleur, des changements d'humeur, des maux de tête, et une diminution de la libido.

Après une exposition prolongée, on peut noter une déminéralisation osseuse de 2 à 8% après 6 mois sous agonistes.

Un effet indésirable fréquent est la réaction au point d'injection avec rougeur et douleur qui disparaît en une heure, mais cela semblerait être moins fréquent avec les antagonistes que les agonistes.

Aucun changement dans la formule sanguine n'a été noté.

Toutes les expériences cliniques ont montré que les antagonistes sont sans danger et bien tolérés.

Seulement, depuis la découverte de récepteurs à la GnRH extra hypophysaires, il plane un certain doute sur une éventuelle action des antagonistes de la GnRH sur les ovaires, les oocytes, les cellules de la granulosa, l'embryon, sur la stéroïdogénèse ovarienne humaine.

### **III. Les protocoles de stimulation de l'ovulation utilisant les antagonistes. (1-15)**

Des études cliniques ont permis l'élaboration des règles d'utilisation des antagonistes de la GnRH en FIV et ont conduit à l'Autorisation de Mise sur le Marché de 2 produits dans cette indication : le Cétrorélix et le Ganirelix.

Deux schémas d'administration différents ont été développés avec le Cétrorélix : un protocole doses multiples avec une administration quotidienne de l'antagoniste et un protocole dose unique avec une seule injection jusqu'au déclenchement.

Pour le Ganirelix, les études ont concerné uniquement le schéma doses multiples.

Pour chaque molécule, la démarche a consisté, tout d'abord à déterminer la dose minimale efficace pour prévenir le pic ovulatoire de LH tout en assurant des résultats satisfaisants en terme de grossesse. Dans un second temps, il est intéressant de voir si on peut affiner l'utilisation de ces protocoles pour les rendre plus efficaces, plus pratiques et mieux adaptés à certains types de réponses ovariennes.

#### **A. Études doses / réponses.**

Des études concernant 294 patients ont été menées pour tester des doses de 3 ; 1 ; 0.5 ; 0.25 et 0.1mg /jour de Cétrorélix en schéma doses multiples et 5 ; 3 ; 2mg en schéma dose unique. Pour le Ganirelix, une étude incluant 329 patients a comparé 2 ; 1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.15 ; 0.0625mg/ jour en schéma doses multiples.

La dose minimale efficace pour prévenir le pic ovulatoire de LH est de 0.25mg/ jour pour les deux molécules en administration quotidienne et de 3 mg en injection unique pour le Cétrorélix, avec une durée de protection de 4 jours au delà de laquelle il faut ajouter des injection quotidiennes de 0.25mg si le déclenchement ne peut être effectué.

#### **B. Protocole du Cétrorélix ou Cétrotide®. (20)**

La stimulation est conduite exactement comme une stimulation classique par gonadotrophines seules.

L'antagoniste est administré en fin de cycle, à partir de J8 (J1 :1° jour des règles), essentiellement sur des critères échographiques.

##### **1) Dose de FSH.**

La dose initiale est adaptée au profil de la patiente, comme pour les agonistes.

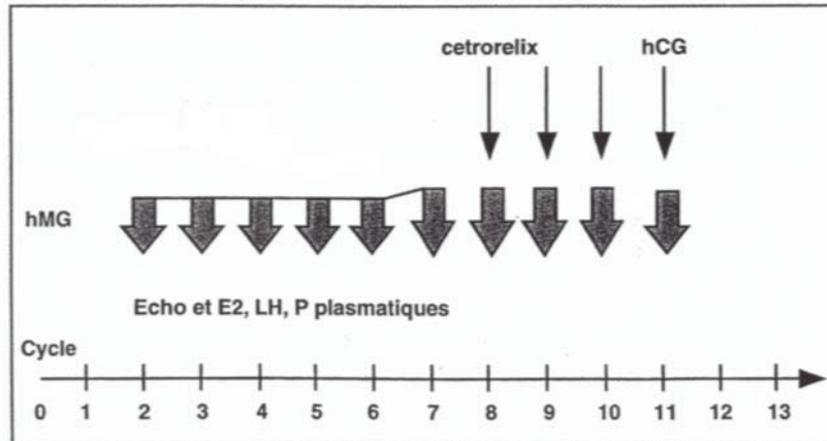
Pour les normo-répondeuses, il convient de démarrer la stimulation avec une dose de 150UI ou 225UI à J2 (le 2° jour des règles).

Lors de l'introduction du Cétrorélix, la phase de recrutement étant terminée, il n'est pas nécessaire d'adapter les doses de FSH.

## 2) L'antagoniste.

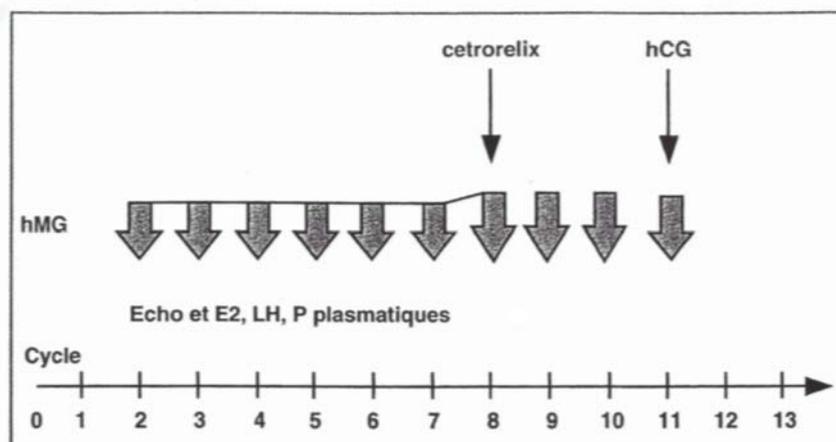
Pour éviter un pic prématuré de LH, il est nécessaire que la durée d'action du Cétrorélix couvre le jour du déclenchement. La durée d'action du Cétrorélix 0.25mg est de 24h et celle du Cétrorélix 3mg de 96h (4 jours).

La durée moyenne de traitement doses multiples par Cétrorélix 0.25mg est de 6 jours, lorsqu'il est débuté le 6<sup>o</sup> jour de la stimulation (soit à J8).



**Figure 16: Protocole antagoniste doses multiples. (21)**

Dans le cadre du protocole dose unique, si la croissance du follicule ne permet pas le déclenchement de l'ovulation le 4<sup>o</sup> jour qui suit l'injection de Cétrorélix 3mg, des injections journalières supplémentaires de Cétrorélix 0.25mg seront administrées en commençant 96h après l'injection de Cétrorélix 3mg jusqu'au jour du déclenchement de l'ovulation. 90% des patientes ne nécessitent pas d'injection supplémentaire de Cétrorélix 0.25mg lorsque Cétrorélix 3mg est débuté le 7<sup>o</sup> jour de la stimulation.



**Figure 17 : Protocole antagoniste de la GnRH dose unique (21)**

### **3) Le déclenchement.**

Le déclenchement de l'ovulation peut se faire comme dans le cas des agonistes avec l'hCG. Toutefois la possibilité de déplacer l'antagoniste de la GnRH des récepteurs par compétition avec un agoniste, rend possible le déclenchement du pic ovulatoire de LH et de FSH par un agoniste après une stimulation ovarienne, avec prévention d'un pic de LH par administration d'un antagoniste.

Cette propriété trouve son application dans les cas de réponses fortes à la stimulation avec un risque d'hyperstimulation ovarienne car le pic de LH déclenché par l'agoniste a une durée de vie plus brève que le pic d'hCG obtenu après injection de cette hormone.

### **4) Quelles patientes ?**

Certains ont dans un premier temps réservé les antagonistes de la GnRH aux mauvaises répondeuses, avec des résultats variables. Les mauvaises répondeuses à la stimulation par gonadotrophines sont caractérisées par un recrutement folliculaire inadéquat et un niveau bas d'estradiol, prédisant un mauvais pronostic en matière de reproduction.

En fait les protocoles avec antagonistes ne paraissent pas constituer une solution. En effet, ces femmes ont fréquemment une maturation folliculaire raccourcie avec des ovulations précoces et les protocoles de stimulation sans freinage renforcent le plus souvent cette tendance spontanée au lieu de la corriger. Il existe cependant un certain nombre de patientes qui, pour des raisons encore peu claires, réagissent mal aux protocoles avec agonistes et ont des réponses plus satisfaisantes avec des protocoles antagonistes.

Les antagonistes permettant de diminuer les hyperstimulations, il est intéressant de les utiliser chez les patientes hyper répondeuses. Chez les OPK (Ovaires Poly kystiques), les antagonistes, notamment par leur action sur la LH, peuvent se révéler un outil intéressant.

### **5) Quel protocole ?**

Les protocoles publiés, et ayant permis d'obtenir les AMM, préconisent une utilisation standardisée avec début de l'antagoniste au 6<sup>o</sup> ou au 7<sup>o</sup> jour de stimulation. Mais cette date peut être choisie en fonction de critères de monitoring, en particulier, de la taille folliculaire à l'échographie qui peut varier un peu d'une patiente à l'autre. Une taille de 15-16 mm ou, en cas de recrutement folliculaire important, une estradiolémie élevée sont des critères de décision d'injection de l'antagoniste pour éviter la survenue d'ovulation spontanée prématurée.

Les protocoles doses multiples et dose unique donnent des résultats comparables.

Le protocole doses multiples comporte plus d'injection et est plus sensible à l'oubli d'une dose, avec réel risque de pic de LH. (1).

## IV. Avenir des antagonistes.

L'arrivée des antagonistes sur le marché impose une question :  
Présentent-ils un réel progrès par rapport au traitement de référence, les agonistes ?

Un nouveau médicament doit tout d'abord être efficace et sans danger, mais également apporter, en plus du traitement de référence, un bénéfice en terme de résultats ou de confort pour le patient.

### A. Blocage du pic de LH. (1-4-21-23-27)

Les antagonistes obtiennent une rapide inhibition de la LH et ceci sans effet *flare up* (augmentation des gonadotrophines). La suppression de production de LH endogène est immédiate (4h après l'injection) et une concentration stable est obtenue en 2 à 3 jours.

De plus, on a un retour rapide et complet de la fonction hypophysaire après arrêt du traitement.

Deux grandes études ont été conduites avec le Cétrorélix en protocole doses multiples 0.25mg /j et en protocole dose unique 3mg, en association avec diverses préparations de gonadotrophines contenant ou non de la LH. Ces études réalisées sur un grand nombre de patientes ont permis de confirmer l'efficacité de ces deux protocoles pour prévenir le pic prématuré de LH, avec une incidence de l'ordre de 1% pour la forme 0.25mg (de 0 pour la forme 3 mg)

Comme les agonistes de la GnRH, les antagonistes préviennent le pic prématuré de LH, mais ils peuvent également l'interrompre grâce à leur rapidité d'action.

### B. Les effets indésirables.

#### 1) La tolérance locale. (27)

On a, dans l'ensemble, une meilleure tolérance des antagonistes ; des rougeurs fugaces sont localisées au niveau du point d'injection.

#### 2) La carence hypo-estrogénique.

Les effets indésirables issus de la carence hormonale sont sensiblement identiques entre agonistes et antagonistes de la GnRH. Ceci inclut les bouffées de chaleur, les changements d'humeur, les maux de tête et la diminution de la libido.

#### 3) Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne. (4-20-27)

L'absence de programmation dans les protocoles avec antagonistes joue un rôle sur l'homogénéité de la cohorte de follicules recrutés.

Les follicules commencent leur croissance à des niveaux différents les uns des autres.

Il en résulte donc une petite cohorte de follicules mûrs (>15mm) à la fin de la stimulation et une quantité d'estradiol produite moindre par rapport aux patientes traitées par les agonistes.

Toutefois, l'obtention d'un petit nombre de follicules mûrs présente l'avantage de réduire également les risques d'hyperstimulations ovariennes en augmentant également l'atrésie des petits follicules.

Dans son étude comparant une stimulation avec agonistes en protocole long (n=85) à une stimulation avec Cétrotide® 0.25mg (n=188), LUDWIG a retrouvé une incidence d'hyperstimulation ovarienne (stade II et III), significativement plus basse dans le groupe Cétrotide® :1.1% versus 6.5% (p=0.03).

L'étude Albano en 1997, comparant le Cétrorélix à un protocole long agoniste, donne respectivement des résultats de 4.1% versus 13.5% d'hyperstimulations ; de même Ganirelix (2.4%) versus Buserelin (5.9%) ou Cétrorélix (4%) versus Triptoréline (11%).

Ces taux plus faibles, bien que non significatifs, d'hyperstimulation sont également retrouvés dans l'étude de F. OLIVIENNES et celle de R. ROULIER, toutes deux réalisées avec Cétrotide® 3mg.

Ceci s'explique par un nombre de follicules intermédiaires moins élevé et donc un taux d'estradiol plus bas.

Cette réduction du risque d'hyperstimulation ovarienne constitue un des avantages majeurs de Cétrotide®.

#### 4) **Les autres effets indésirables.** (7-15)

On peut également noter de légères différences dans d'autres types d'effets indésirables :

	<b>Ganirelix</b>	<b>Buseriline</b>
Douleurs abdominales	4.8%	3.4%
Céphalées	3%	9.7%
Métrorragies	1.8%	3.4%
Fausses couches spontanées	3.7%	5.5%

**Tableau 10 : Comparaison des effets indésirables entre antagoniste et agoniste.**

Les antagonistes de la GnRH sont donc bien tolérés et présente l'avantage par rapport aux agonistes de diminuer le risque d'hyperstimulation ovarienne. Mais il est également important d'obtenir des résultats avec ces nouvelles molécules.

### **C. Comparaison des résultats.** (4-20-27).

Il paraît intéressant de noter les différences de résultats entre agonistes et antagonistes aux différentes étapes de la FIV.

#### **1) Les ovocytes.**

On a donc, avec les protocoles antagonistes, moins de follicules sélectionnés qu'avec les agonistes.

Toutefois, rien ne permet d'indiquer une atteinte de la qualité ovocytaire. La bonne qualité des ovocytes est reflété par un pourcentage d'ovocytes en métaphase II et un pourcentage de fertilisation respectivement de 83 et 62.1% dans les deux groupes (agonistes et antagonistes).

La qualité et la quantité des ovocytes recueillis sont donc comparables.

## **2) La fécondation.**

De nombreuses expériences montrent qu'il n'y a pas de différences significatives des taux de fécondation entre les deux types de molécules. (23)

## **3) L'implantation. (1-23)**

Même s'il n'est pas significativement différent, le taux d'implantation est en général plus bas avec l'antagoniste qu'avec l'agoniste (15.7% versus 21.8%).

Par ailleurs des études ont permis de mettre en évidence que le taux circulant de LH résiduelle était d'autant plus bas que les doses d'antagonistes utilisées étaient importantes. Cela ne semble pas affecter le développement folliculaire avec un nombre similaire d'ovocytes recueillis, mais cette baisse de la LH résiduelle s'accompagne d'un taux significativement plus faible d'estradiol au moment du déclenchement avec les doses d'antagonistes plus fortes.

Dans les études du Cétrorélix, on observe une diminution du taux de fécondation avec des doses quotidiennes supérieures à 1mg /j . Dans l'étude du Ganirelix, il n'y a pas de différence dans le taux de fécondation mais une chute des taux d'implantation par embryon pour des doses supérieures à 0.5mg/j.

Ces observations ont donc soulevé l'hypothèse d'un effet délétère des antagonistes de la GnRH à fortes doses sur l'implantation. En effet, les récepteurs de la GnRH sont présents non seulement au niveau hypophysaire mais également dans un grand nombre de tissus et de cellules du système reproducteur (follicules, ovocytes, endomètre et même les embryons). Par l'intermédiaire de ces récepteurs, la GnRH ou des peptides similaires produits localement, jouent un rôle paracrine important dans la fonction de ce système.

Les antagonistes de la GnRH aux doses où ils sont utilisés en clinique peuvent agir sur ces récepteurs extra hypophysaires. Or, il a été montré *in vitro* que les antagonistes de la GnRH sont des inhibiteurs de croissance cellulaire diminuant la synthèse de facteurs de croissance produits localement.

L'impact négatif des antagonistes sur l'implantation pourrait donc être secondaire à une altération de la prolifération endométriales en 2<sup>o</sup> partie de phase folliculaire, lié à l'utilisation de l'antagonistes lui même et aggravé par la présence de concentration sous optimales d'estradiol en rapport avec la chute de LH.

## **4) La grossesse. (20-22-23)**

Dans les premières études validant les protocoles Cétrotide® versus un groupe contrôle recevant un agoniste, les taux de grossesse clinique par ponction sous Cétrotide® étaient légèrement inférieurs (environ 5%) aux taux de grossesse sous agonistes, cette différence n'étant pas significative.

<b>Antagoniste/taux de grossesse par transfert</b>	<b>Agoniste long/ taux de grossesse par transfert</b>	<b>Références</b>
Cétrorélix MD / 22.3%	Buséreléline / 25.9%	Albano
Cétrorélix SD / 22.6%	Triptoréline / 28.2%	Oliviennes
Ganirélix MD / 20.3%	Buséreléline / 25.7%	Mannaerts
Cétrorélix MD / 20.2%	Buséreléline / 19.2%	Felberbaum

**Tableau 11 : Résultats des principales études publiées en 2000 dans la littérature (Dose Unique SD ou MultiDose MD). (15)**

Pour expliquer cette différence, plusieurs hypothèses sont proposées :

- La courbe d'apprentissage de l'utilisation de nouveaux protocoles ; le taux de grossesse augmente avec la pratique des centres. Les résultats du registre allemand (pays qui dispose des antagonistes depuis 1999) retrouvent des taux de grossesses identiques sur une large utilisation (30% des cycles avec antagonistes).
- Les études réalisées n'étaient pas destinées à comparer les taux de grossesse et les critères de randomisation n'étaient pas parfaits.
- La petite différence du nombre total d'embryons obtenus pourrait également participer à cette différence ; la modification de la phase lutéale destinée à la fois à synchroniser la cohorte folliculaire pourrait améliorer ce paramètre.

Les dernières études ont retrouvé des taux de grossesse équivalents entre les patientes ayant reçu Cétrotide® et les patientes ayant reçu un agoniste :

Dans une série prospective randomisée de 671 cycles dont 307 sous Cétrotide® 3 mg et 364 sous agoniste retard, ROULIER et al ont retrouvé un taux de grossesse par ponction équivalent : soit 24.8% pour Cétrotide® et 24.4% pour l'agoniste.

### **5) Cas particuliers des mauvaises répondeuses.**

Il y a peu d'études réalisées avec Cétrotide chez les mauvaises répondeuses.

Dans sa première étude, AKMAN a comparé des cycles stimulés sans analogues à, des cycles stimulés avec Cétrotide® 0.25mg, 20 patientes dans chaque groupe. Le taux de grossesse par transfert était de 6.3% dans le groupe sans analogue et de 20% dans le groupe Cétrotide®.

Dans sa deuxième étude, AKMAN a comparé des cycles sous agonistes en protocoles court et des cycles sous Cétrotide® 0.25mg, 24 patientes dans chaque groupe. Le taux de grossesse par transfert ne différait pas significativement entre les deux groupes : 26.3% sous agonistes versus 22.2% sous Cétrotide®.

FERRARETTI a comparé un protocole associant FSH (450UI) et Cétrotide 0.25mg (49patientes) à un protocole sans analogue avec la même dose de FSH (28 patientes). Le taux de grossesse par transfert était de 43% dans le groupe Cétrotide et de 20% dans l'autre groupe.

Ce traitement par antagoniste reste un réel espoir chez les mauvaises répondeuses car il permet d'allier différentes armes : Cétrorélix + Citrate de clomifène + r-FSH et d'obtenir des résultats encourageants : en moyenne 16.3% de grossesse par ponction sur 376 cycles. (2)

De plus, il a été montré un taux de cycles annulé moins important, bien que non significatif dans le groupe Cétrotide® : 31% versus 50%.

Ces résultats sont également retrouvés dans l'étude de BROOK :

- 12% de cycles annulés dans le groupe Cétrotide versus 35% dans le groupe agoniste.
- 9.9% de grossesses dans le groupe Cétrotide® versus 3.5% de grossesses dans le groupe agonistes.

## D. Autres facteurs. (15)

### 1) La durée du traitement.

Contrairement aux antagonistes, les agonistes ont un mécanisme d'action imposant une période de désensibilisation avant d'obtenir un freinage puis l'arrêt de production de gonadotrophines endogènes. Cette période allonge donc d'autant la durée du traitement.

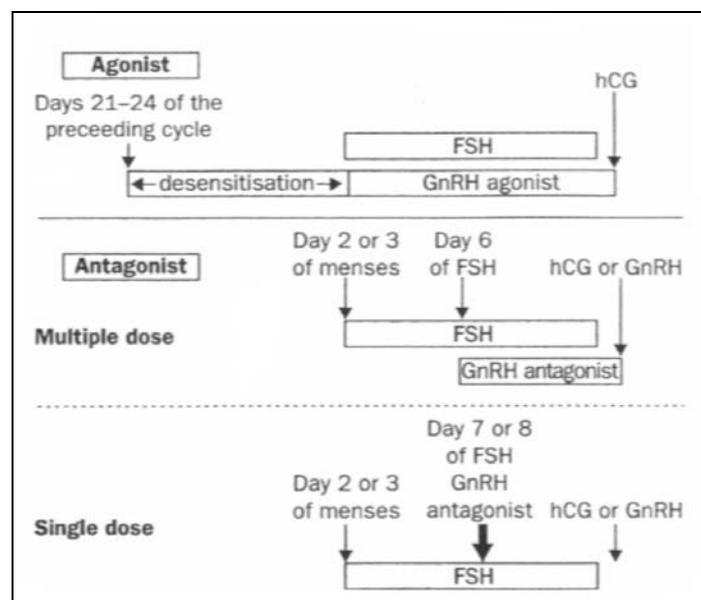


Figure 18: Comparaison des protocoles agoniste et antagoniste. (13)

Cet allongement de la durée de traitement n'est pas négligeable en terme de qualité de vie des patientes car il ne faut pas oublier que ces traitements induisent une injection quotidienne et la venue d'une infirmière et dans le meilleur des cas l'utilisation de spray nasal de Nafaréline (Synarel®).

On passe donc de 10-11 jours de traitement avec l'antagoniste à 3-4 semaines avec le Décapeptyl®.

A la question de savoir quel type de traitement les patientes souhaiteraient recevoir au cours d'une nouvelle tentative, la majorité des patientes a répondu en faveur des protocoles antagonistes.

### 2) Le coût du traitement. (13-15-21-22)

Cette durée de traitement plus courte dans le cas des antagonistes semblerait faire diminuer le coût du traitement ; d'autant plus que la durée de stimulation par gonadotrophines est en moyenne plus courte d'une journée avec les antagonistes.

En effet, le protocole antagoniste utilise la production de gonadotrophines endogènes avant d'introduire les antagonistes. Le besoin de gonadotrophines exogènes en est donc d'autant diminué.

Toutefois, malgré cette réduction du nombre d'ampoules de gonadotrophines, les traitements par antagonistes garde un coût de revient largement supérieur aux protocoles longs car le *Cérorélix* reste très cher.

Il y a donc une hésitation pour l'utilisation des protocoles antagonistes en première intention.

<b>Molécules</b>	<b>Prix</b>
Gonadotrophines : Puregon 150UI®	72.89 €
Agoniste : Décapeptyl 3mg®	134.80 €
Antagoniste : Cétrotide 0.25mg®	54.47 €
Cétrotide 3mg®	249.47 €

**Tableau 12 : Prix au VIDAL 2002**

### **3) La programmation et le soutien de la phase lutéale.(15-21)**

Le principal problème des traitements par antagonistes est la programmation des tentatives de FIV. On ne peut choisir la date de début du traitement car il faut attendre le deuxième jour du cycle (c'est-à-dire le deuxième jour de règles) pour débiter le traitement par gonadotrophines. Ce problème ne se pose pas avec les agonistes car la désensibilisation demande moins de précision dans la date de début de traitement (au milieu de la phase lutéale du cycle précédent).

Cette programmation nécessite donc la modification de la phase lutéale du cycle précédent par l'utilisation de progestatif, d'estrogène ou d'estroprogestatif.

Il convient également de supplémenter la phase lutéale suivant la FIV en progestérone (de la même manière que pour les traitements par agonistes). Aucune étude n'évoque la possibilité d'éliminer ce soutien avec les antagonistes.

Les quelques cycles réalisés en absence de soutien de phase lutéale en FIV n'ont pas permis d'obtenir de grossesses.

### **4) Le déclenchement. (6)**

L'hCG est la référence en terme de substitution du pic de LH endogène pour induire la phase finale de maturation de l'ovocyte dans les protocoles d'hyperstimulation ovarienne des FIV.

Mais il est aussi désigné comme étant le responsable de syndrome d'hyperstimulation car il a une demi vie très longue par rapport à la LH endogène.

Une alternative serait l'administration d'agoniste de la GnRH pour induire un pic de LH et FSH naturel.

L'induction d'un pic endogène de LH est beaucoup plus physiologique comparé à l'administration d'une hCG exogène et réduirait le risque d'hyperstimulation par diminution de la demi vie plasmatique.

Mais l'agoniste serait-il assez efficace ?

Les études ont montré pour la première fois que la maturation finale de l'oocyte peut être déclenchée par des agonistes de la GnRH plutôt que par hCG après hyperstimulation en utilisant le *Ganirelix* pour prévenir le pic spontané de LH.

Une réponse hypophysaire adéquate en terme d'augmentation endogène de LH et de FSH a été observée après administration soit de 0.2mg de *triptoréline*, soit de 0.5mg de leuproréline et le niveau de stéroïdes en phase lutéale était également proche des niveaux physiologiques. Les doses d'agonistes de la GnRH administrées 12h après la dernière injection d'antagonistes semble suffisantes pour déplacer le *Ganirelix* de ses récepteurs. Les concentrations maximales de LH et FSH sont comparables aux concentrations relevées au milieu d'un cycle naturel.

Et on peut même aller plus loin en proposant directement l'utilisation de LH recombinante pour déclencher la maturation de l'oocyte. Une publication a montré la complète absence d'hyperstimulation chez des femmes ayant reçu une seule dose de LH recombinante de 30 000 UI.

La demi vie prolongée de l'hCG comparé à la LH est responsable du soutien continu du corpus luteinum. Le niveau de stéroïdes dans cette phase lutéale bien au-dessus du niveau physiologiques supprimerait la libération de gonadotrophines requises pour le soutien de la phase lutéale et perturberait la réceptivité endométriales.

En résumé, une approche plus physiologique pour induire la maturation de l'oocyte après les antagonistes induirait une alternative plus sûre et plus efficace pour les patientes en FIV ayant un risque de développer une hyperstimulation ovarienne.

## **V. Conclusion :**

Les antagonistes de la GnRH offrent au praticien une arme supplémentaire dans l'arsenal thérapeutique de la stimulation ovarienne. La possibilité de bloquer immédiatement l'ovulation, sans délai d'attente, est un atout considérable dont on ne saurait se passer dans l'avenir. Pour les patientes ces molécules permettent des traitements plus courts, nécessitant moins d'injections et comportant moins de risques de complications. Même si les grandes études randomisées qui ont conduit à la mise sur le marché de ces molécules laissent planer des doutes sur un effet délétère potentiel sur les taux de grossesses, il est fort probable que l'affinement des protocoles d'utilisation et, en particulier, le commencement plus tardif de l'antagoniste dans le cycle, devrait permettre de combler ce handicap. Tout le champ de leur utilisation dans des indications spécifiques (mauvaises répondeuses, OPK (ovaires poly kystiques), INSÉMINATION INTRA-UTERINE, etc.) reste à explorer de façon plus large.

(1)

**QUATRIEME PARTIE :**

**DOSSIERS CLINIQUES**

Cette étude ne serait pas complète sans l'analyse de dossiers cliniques réels. En effet, la théorie et la pratique sont très éloignées l'une de l'autre. Chaque protocole est analysé voire réadapté au fil des examens de suivi de la stimulation ovarienne.

Nous allons donc étudier différents dossiers cliniques du service de Biologie de la Reproduction du CHU de Nantes.

Nous verrons dans un premier temps, des dossiers de patiente normo-répondeuse, mauvaises répondeuses, puis un dossier de patiente hyper répondeuse ; et comment, dans ces cas difficiles les antagonistes peuvent être utilisés. (28)

## I. Une normo-répondeuse.

### A. Anne C.

**TABLEAU CLINIQUE :**

<b>Age</b>	29 ans
<b>Type d'infécondité</b>	Primaire
<b>Durée</b>	4 ans
<b>Origine</b>	Oligo-asthénospermie modérée
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 7.2 mUI/mL, LH : 6.5 mUI/mL, E <sup>2</sup> : 19pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	32 jours
<b>Traitements précédents</b>	inséminations

Anne est donc une femme jeune avec un bilan hormonal normal. L'origine de l'infertilité semble être l'oligo-asthénospermie de son conjoint.

Les premières tentatives se font par des inséminations artificielles avec le sperme du conjoint (IAC).

Après quelques inséminations qui ne donnent aucune grossesse, la FIV est envisagée avec un traitement par antagoniste : le Cétrorélix.

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	J	V	S	D	L	M	M	M	J	V	S	D	L
date	29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	12
CC													Ponction à 9 h
antagoniste							3mg				0.25		
FSH hMG		150	150	150	150	225	225	187.5	75	5000 hCG			
Échographie					*								
Ovaire G Taille nombre					10 <10*2 <7*5 <5*5		16 13 11*2 10*3 <10*3 <7	17 15 13*3 12 11*2 10*2 <10 <7					
Ovaire D Taille Nombre					<10 <7*2 <5*2		13 10*2 <7	16 13 11 10*2 <10 <7					
Estradiol (pg/mL)					533	756	1274	2286	3985	4483			
LH					3.01	17.8	<0.30	<0.30	3.5	4.8			

Cette tentative ne donne toujours pas de grossesse.

## II. Les mauvaises répondeuses.

On appelle « mauvaises répondeuses » des femmes qui présentent un ou plusieurs facteurs de risque de mauvaise réponse.

On tout d'abord des facteurs de risques cliniques comme l'âge, l'indice de masse corporelle, le raccourcissement des cycles, des antécédents d'arrêt de stimulation...

Mais on note également des facteurs de risques biologiques avec une FSH >9.5UI/L, et une E<sup>2</sup><20pg/mL ou >80 pg/mL. (56)

### A. Vanessa B.

#### TABLEAU CLINIQUE :

<b>Age</b>	23 ans
<b>Type d'infécondité</b>	Primaire
<b>Durée</b>	1 an
<b>Origine</b>	Masculine : azoospermie sécrétoire
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 7.7 mUI/mL, LH : 3.67mUI/mL, E <sup>2</sup> :76 pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	24-28 jours
<b>Traitements précédents</b>	aucun

L'origine principale de l'infécondité est l'azoospermie sécrétoire, on s'orientera donc vers une ICSI. Mais le bilan hormonal de Vanessa complique la situation.

Un estradiol supérieur à 75pg/mL note la présence de troubles de la maturation ovocytaire. De plus, une durée des cycles inférieure à 28 jours ajoute un avis péjoratif aux tentatives de FIV. Les cycles devront être programmés par du Provames®.

Une première tentative (03/02/2003) est faite avec du citrate de clomifène du 2<sup>o</sup> au 6<sup>o</sup> jour du cycle et de la FSH (150UI puis 225UI par jour), mais on obtient peu de résultats : peu de follicules et de petites tailles. Le protocole est donc arrêté (avant l'utilisation des antagonistes).

**FICHE DE STIMULATION EN FIV : 03/02/2003**

date	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J
Jour	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CC		*	*	*	*	*				
antagoniste										
FSH hMG		150	150	150	225	225	225	225		
Échographie							*		*	
Ovaire G Taille nombre							<10 <7 <5*5		12 <7	
Ovaire D Taille Nombre							17 14 <5*2		20 18 <5	
Estradiol (pg/mL)							228		372	
LH							5.5		3.8	

Une deuxième tentative est débutée 3 mois plus tard. On réutilise un protocole antagoniste (Cérorélix) avec citrate de clomifène et des doses élevées de FSH (GONAL F 75®).



## B. Jessica F.

### TABLEAU CLINIQUE :

<b>Age</b>	22 ans
<b>Type d'infécondité</b>	Primaire
<b>Durée</b>	
<b>Origine</b>	Deux cancers testiculaires : paillettes d'autoconservation
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 7.4 mUI/mL, LH : 5.3 mUI/mL, E <sup>2</sup> : 72pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	45 jours
<b>Traitements précédents</b>	3 inséminations

La technique employée sera donc une ICSI.

Comme on observe un estradiol un peu élevé, on tente de stimuler les ovaires avec un protocole long (07/06/2001). Ce traitement sera programmé par du Provames®, étant donné la durée moyenne des cycles.

Ce protocole donne 5 ovocytes mais pas d'embryon ré implantable.

Pour la deuxième ICSI, la stimulation associe FSH (GONAL F ®) et citrate de clomifène (Pergotime ®).

La croissance folliculaire est de bonne qualité. Le prélèvement rapporte 7 ovocytes et 3 embryons ré implantés.

Toutefois, aucune grossesse ne démarre à cette stimulation, ni à la suivante du même type.

La grossesse ne démarrera qu'à la quatrième ICSI avec 3 embryons transférés.

## C. Claire S.

### TABLEAU CLINIQUE :

<b>Age</b>	29 ans
<b>Type d'infécondité</b>	Primaire
<b>Durée</b>	1.5 ans
<b>Origine</b>	Masculine : azoospermie
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 5.27mUI/mL, E <sup>2</sup> : 56pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	28 jours
<b>Traitements précédents</b>	2 protocoles longs

Dans ce cas, le seul facteur d'infécondité semble être l'azoospermie. En effet, le bilan hormonal de Claire est normal. Il a donc été envisager une ICSI avec un protocole long.

Les 2 protocoles longs ne donnant que des embryons de mauvaise qualité, il est entrepris un protocole antagoniste (Orgalutran®) qui freine moins la croissance folliculaire.

**FICHE DE STIMULATION :**

jour	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S
Date	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CC											Ponction à 10h15	
antagoniste								0.25	0.25			
FSH hMG		150	150	150	225	225	225	300	5000			
Échographie							*		*			
Ovaire G Taille nombre							15 13 11 10 <10*4 <7*2		20 17*2 15 12*2 11 10*2 <10			
Ovaire D Taille Nombre							12*2 11 10*2 <10*3		20 19 18 16*2 13 12*2 10 <10			
Estradiol (pg/mL)			80				630		1707			
LH			4.6				1.15		0.83			

A cette troisième tentative, la réponse des ovaires est de meilleure qualité et 3 embryons sont transférés.

Une grossesse résulte de ce protocole.

## D. Nathalie C.

### TABLEAU CLINIQUE :

<b>Age</b>	27 ans
<b>Type d'infécondité</b>	Primaire
<b>Durée</b>	5 ans et demi
<b>Origine</b>	Mixte : trompes défectueuses et sperme de mauvaise qualité
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 9.54 mUI/mL, E <sup>2</sup> :31pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	28-30 jours
<b>Traitements précédents</b>	5 inséminations

Les inséminations ne donnent pas de résultats.

On passe alors à la FIV : le premier essai en protocole court ne donne pas de follicule. Une stimulation plus importante des ovaires est donc nécessaire avec Pergotime ® et GONAL F ® à hautes doses.

**FICHE DE STIMULATION :**

jour	M	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D
Date	25	26	27	28	29	30	1	2	3	4	5	6	12	13
CC	1	2	3	4	5	6	*							
antagoniste								3mg						Pon ctio n à 9h3 0
FSH hMG		150	300	300	300	300	300	300	300	5000	à 22h30			
Échographie								*		*				
Ovaire G Taille nombre								16 15 11 10 <5*2		20 18 16 13 <7*2				
Ovaire D Taille Nombre								24 14 <7		21 18 15 <10 <7				
Estradiol (pg/mL)			41	136			564	1235		1103	1554			
LH			2.20	3.9			4	3.3		0.25				

De cette tentative et de la suivante, il ne résulte respectivement qu'un et trois embryons transférés mais pas de grossesse.

Il est tenté un troisième cycle avec citrate de clomifène, FSH et antagoniste :

**FICHE DE STIMULATION :**

jour		L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J
date		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CC		*	*	*	*	*						
antagoniste						3mg						
FSH hMG		225	225	225	225	300	300	300		5000 hCG		
Échographie					*			*		Déclenchemen t pour IAC		
Ovaire G Taille nombre					13 <10 <5*4			20 <10 <7*4				
Ovaire D Taille Nombre					14 13 <10 <7*3			21 19 <10*2 <7 <5				
Estradiol (pg/mL)			228		269			240				
LH			5		4.60			<0.3				

N'ayant obtenu que peu de follicules, le cycle n'a pas été abandonné mais transformé en IAC. Une grossesse a alors démarré miraculeusement, pour s'arrêter par une fausse couche. Le couple a ensuite décidé de stopper les programmations.

## E. Mesmine L.

### TABLEAU CLINIQUE :

<b>Age</b>	28 ans
<b>Type d'infécondité</b>	
<b>Durée</b>	
<b>Origine</b>	Vasectomie avec paillettes de spermatozoïdes congelés
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 8.6 mUI/mL, LH : 3.6 mUI/mL, E <sup>2</sup> :27pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	30-35 jours
<b>Traitements précédents</b>	0

La première tentative d'ICSI se fait avec un protocole long demi dose :

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S
date	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
CC														
agoniste	0.1mg	0.1mg	Ponction											
FSH hMG	225	225	225	225	225	225	225	225	225	225	225	5000 hCG		
Échographie												*		
Ovaire G Taille nombre												20*2 18*2 16*3		
Ovaire D Taille Nombre												23 12*3 10*4 <7		
Estradiol (pg/mL)			54						519	937	1150	2112		
LH														

Dans ce protocole, la croissance folliculaire suivie par le dosage d'estradiol est très lente.

On obtient quelques gros follicules mais ils ne sont pas assez nombreux : 5 ovocytes recueillis et 1 seul embryon obtenu et réimplanté. On n'obtient aucune grossesse.

Pour stimuler davantage les ovaires, ou plutôt moins les freiner, on utilise dans un second temps un antagoniste.

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	
date															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
CC												Ponction à 9h30			
antagoniste						3mg									
FSH hMG	150	225	225	225	225	300	300	300	300	5000 hCG à 22h30					
Échographie					*			*		*					
Ovaire G Taille nombre					14 <10* 2 <7 <5			19 13 12 10 <10*2 <7*3		24 17 16 13 11*2 <10					
Ovaire D Taille Nombre					14 10*2 <10 <5*5			19 17 16 12 <10*5		22 19 18 12 10*3 <10					
Estradiol (pg/mL)		59		156	304			1070	1412	2824	3232				
LH		0.22			0.46			2.01							

On obtient ainsi 9 ovocytes, 2 embryons et une grossesse.

## F. Muriel B.

### TABLEAU CLINIQUE :

<b>Age</b>	39 ans
<b>Type d'infécondité</b>	
<b>Durée</b>	7 ans
<b>Origine</b>	Dysovulation
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 4.4mUI/mL, E <sup>2</sup> :41pg/mL mais test au Clomid® avec FSH : 26mUI/mL et E <sup>2</sup> :23pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	
<b>Traitements précédents</b>	

Le résultat du test au citrate de clomifène donne un pronostic réservé. En effet, après administration de citrate de clomifène, la quantité de FSH doit d'abord augmenter puis, par production important d'inhibine par l'ovaire, doit diminuer.

Dans ce cas, la FSH reste élevée. Il y a donc une insuffisance ovarienne soulignée par une sécrétion faible d'inhibine.

Le protocole engagé devra donc stimuler un maximum les ovaires. Le protocole antagoniste avec citrate de clomifène est alors choisi.

A cette tentative, on obtient 3 ovocytes, 3 embryons transférés et une grossesse.

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S
date	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	1
J du cycle	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
CC	2	2	2	2	2													
antagoniste												3mg						
FSH hMG	150	150	150	225	225	225	225	225	225	225	225	300	300	300	300	5000 hCG à 23h30		Ponction à 10h30
Échographie									*	*					*			
Ovaire G Taille nombre									12	15.5	19							
									10	13.5	13							
									3.5*2	7	12							
									3	6	8							
										5.5	5							
Ovaire D Taille Nombre									0	5.5	9							
										3	5.5							
Estradiol (pg/mL)				22					98	150			455	571	736	1061	1177	
LH				6.6					7.8	6.30			1.7	1.86	3.56			

### III. Une hyper répondeuse :

#### A. Frédérique C.

**TABLEAU CLINIQUE :**

<b>Age</b>	29 ans
<b>Type d'infécondité</b>	Primaire
<b>Durée</b>	
<b>Origine</b>	KLINFELTER (avec quelques spermatozoïdes)
<b>Bilan hormonal</b>	FSH : 5.5 mUI/mL, LH : 2.7, mUI/mL E <sup>2</sup> :62pg/mL
<b>Durée des cycles</b>	28 jours
<b>Traitements précédents</b>	Protocoles longs

L'origine de l'infertilité étant une maladie génétique, le syndrome de KLINFELTER, engendrant une azoospermie sécrétoire ou une oligoasthénospermie, la technique envisagée est l'ICSI.

Le bilan hormonal est normal ; la première stimulation mise en route est un protocole agoniste long :

On se rend très vite compte sur cette stimulation, que Frédérique répond très fortement au protocole : on obtient très rapidement un grand nombre de follicules, qui, malgré la diminution de la dose de FSH, ne s'atrésient pas.

Il en résulte une hyperstimulation ovarienne : la jeune femme éprouve une douleur abdominale importante et ce cycle ne pourra être déclencher ; le risque de syndrome d'hyperstimulation est trop important.

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J
date	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CC														
antagoniste														
FSH hMG	200	200	200	200	200	200	200	150	125	100	0	0	50	
Échographie								*						
Ovaire G Taille nombre								12 11*2 10*2 <10*3 <7*3			14*2 13*2 12*2 11 10*2 <10*2			19*3 18 17 16 15*2 14
Ovaire D Taille Nombre								11*2 10*2 <10*5 <7*2			14 13*3 12*2 11*3 10*2 <10*2			19 18*2 17*2 16 15 14*2 12*2 8*2
Estradiol				147	224		650	1220	1990		5416	5720		12420
LH														

Une seconde tentative se fait donc, un peu plus tard, avec des doses moins importantes de FSH afin de limiter la stimulation.

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	M	J	V	S	D	L	M	M	M	J	V	S	D	L	M
date	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	1	2	3	4	
CC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
antagoniste															
FSH hMG	150	150	150	125	125	100	50	25	0	0	0	0	5000 hCG		
Échographie							*							*	
Ovaire G Taille nombre							12 10*2 <10*6 <7*7 <5		14*2 13*2 11*3 <10*7 <7 <5					21 18 17 16 14*2 13*2 12*2 10*4 <10	
Ovaire D Taille Nombre							11*2 10*6 <10*6 <7*5 <5		15 14*3 13*2 11*2 10*3 <10*4 <7*5					21*2 19*2 16*2 15*2 14*2 12*2 10*4 <10*2	
Estradiol (pg/mL)			143			843	1069	3153	3035	6100	8010			2373	7200
LH															

Dans ce protocole, la diminution et l'arrêt plus précoce des doses de FSH permettent le déclenchement (malgré de nombreux follicules).

6 ovocytes sont recueillis ; un seul embryon est obtenu et transféré.  
Cette tentative ne donnera pas lieu à une grossesse.

Est alors tentée un autre protocole incluant un antagoniste :  
Le Cétrorélix est utilisé dans le but d'attrésier de manière plus importante les follicules de petites tailles.

**FICHE DE STIMULATION EN FIV :**

jour	L	M	M	J	V	S	D	L	M	M	J	V	S	D
date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CC														
antagoniste							3mg						0.25	
FSH hMG		150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	5000 hCG	
Échographie					*			*		*				
Ovaire G Taille nombre					<7*4 <5*4			12 10 <10*3 <7*4		15 14 12*2 10 <10* 2 <7		17 16*2 15*2 13 10*2 <10		
Ovaire D Taille Nombre					<10 <7*4 <5*5			12*2 10*2 <10*2 <7		13 12 10*2 <10* 2		17 16*2 14*2 13 12*2 <10		
Estradiol (pg/mL)				140	137			434		774		1826	3010	
LH				1.5	0.8			<0.3		<0.3		<0.3	<0.1	

Dans ce troisième cycle, 13 ovocytes sont recueillis, 4 embryons sont obtenus, dont 3 sont réimplantés, pour avoir une grossesse.

## **Conclusion :**

Le blocage du pic de LH par les antagonistes de la GnRH est un traitement récent dans les prises en charge de l'infertilité. Ce protocole est encore peu utilisé (10% des protocoles en moyenne en France).

Son ASMR (Amélioration du Service Médical Rendu) est très discuté : la plupart des équipes médicales préfèrent utilisées les agonistes de la GnRH, molécules beaucoup plus documentées et ayant prouvé largement leur efficacité. Seulement, toutes les patientes ne répondent pas aux traitements classiques et ces cas difficiles ne trouvent pas toujours d'équipes pour les prendre en charge.

Les antagonistes permettent d'avoir un dernier espoir pour les patientes ayant un tableau clinique péjoratif et des antécédents d'échecs.

A Nantes, le service de biologie de la reproduction a décidé de donner une chance à ces couples, a priori sans espoir, par l'utilisation des antagonistes représentant 60% de leurs protocoles.

Bien sûr, le résultat n'est pas garanti, mais les antagonistes ont permis d'obtenir quelques grossesses miracles prouvant l'intérêt de ces dernières molécules.

## **LISTE DES TABLEAUX :**

Tableau 1 : Médicaments perturbant la spermatogénèse. ....	13
Tableau 2 : Taux de grossesse par ponction en FIV classique selon l'âge de la femme (d'après FIVNAT 1997).....	26
Tableau 3 : Classification des anovulations selon l'OMS .....	34
Tableau 4 : Classification des aménorrhées hypothalamiques selon Leyenbecker. ....	35
Tableau 5 : Résultat du traitement par citrate de clomifène. ....	39
Tableau 6 : Gonadotrophines .....	43
Tableau 7: Demi-vie des gonadotrophines (en heures).....	43
Tableau 8 : Agonistes de la GnRH ayant l'AMM pour l'induction de l'ovulation au VIDAL 2002.....	51
Tableau 9 : Structure de la GnRH et de la troisième génération d'antagonistes	63
Tableau 10 : Comparaison des effets indésirables entre antagoniste et agoniste	70
Tableau 11 : Résultats des principales études publiées en 2000 dans la littérature (Dose Unique SD ou MultiDose MD). ....	72
Tableau 12 : Prix au VIDAL 2002 .....	74

## **LISTE DES FIGURES :**

Figure 1 : Pourcentage de grossesses au fil des mois chez des couples ayant une fécondabilité normale. ....	5
Figure 2: Fréquence de la stérilité en fonction de l'âge de la femme.....	6
Figure 3: Probabilité de conception en fonction du jour de l'ovulation.....	8
Figure 4: Différentes courbes de températures (34).....	15
Figure 5: Classification des embryons .....	24
Figure 6: Développement des follicules ovariens. ....	28
Figure 7: Enchaînement des rétroactions réglant la fonction ovarienne.....	29
Figure 8: Le cycle menstruel et ses relations avec le cycle ovarien. ....	31
Figure 9: Mécanisme d'action du citrate de clomifène. ....	36
Figure 10: Structure de la GnRH.....	51
Figure 11: Mécanisme d'action des agonistes de la GnRH.....	52
Figure 12 : Réponse harmonieuse à la stimulation. ....	55
Figure 13 : Protocole long et protocole court.....	56
Figure 14: Arrêt du traitement en raison d'une reprise excessive au traitement. 58	
Figure 15: Mécanisme d'action des antagonistes de la GnRH. (49) .....	64
Figure 16: Protocole antagoniste doses multiples. (47) .....	67
Figure 17 : Protocole antagoniste de la GnRH dose unique (47) .....	67
Figure 18: Comparaison des protocoles agoniste et antagoniste. (49).....	73

## Bibliographie :

1. AVRIL C., CEDRIN-DURNERIN I., PARNEIX I., ANTOINE J-M.  
Conceptions, le journal de l'ISFR (Institut Serono pour la Fertilité et la Reproduction).  
Le Dossier : les antagonistes de la LH-RH.
2. BARRIERE P. : CHU Nantes, Rennes, Brest.  
Congrès de Amsterdam 2003. Toward a better cost effectiveness ratio in ' poor responders' .  
Cetrorelix 3 mg combined with CITRATE DE CLOMIFENE et r-FSH.
3. BARRIERE P., CLOUET M-L., HAMAMAH S., LANSAC J., LE LANNOU D. ,  
ROYERE D..  
Pratique de l'assistance médicale à la procréation. Edition MASSON. Novembre 1998.  
P14-213.
4. BORM G., MANNAERTS B. ...: The European Orgalutran Study Group.  
Treatment with gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women  
undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective,  
safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. Human  
Reproduction Vol.15, p1490-1498, 2000.
5. CEDRIN-DURNERIN I. , BSTDANDIG B., HERVE F., WOLF J-P,....  
A comparative study of high fixed-dose and decremental-dose regimens of gonadotrophins  
in a minidose GnRH agonist flare protocol for poor responders.  
Fertility and Sterility, vol 73 n°5, May 2000, p1055-1056.
6. FAUSER B-C., de JONG D., OLIVIENNES F., WRAMSBY H., TAY C., ITSKOVITZ-  
ELDOR J., van HOORENH-G..  
Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after  
cotreatment with the GnRH antagonist Ganirelix during ovarian hyperstimulation for *in*  
*vitro* fertilization. The journal of clinical Endocrinology and Metabolism 87 (2) :709-715.

7. FLUKER M., GRIFO J., LEADER A., LEVY M., MELDRUM D : The north American Ganirelix Study Group.  
Efficacy and safety of Ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Fertility and Sterility* Vol.75, No1, p38-45, january 2001.
8. GRIMAUD N.  
ED Pharmacologie (2000-2001) 4° année de pharmacie.
9. HAMAMAH S., MENEZO Y.  
Ovocytes et embryons, de la physiologie à la pathologie. . Avril 1999. p291.
10. HAMAMAH S., SALIBA E., BENHAMED M., GOLD F.  
Médecine et biologie de la reproduction. Edition MASSON. Décembre 2001. p 17-229.
11. HAZOUT A.  
Assistance médicale à la procréation- Stimulation de l'ovulation- p.68-69- Edition MASSON-Paris\_ mai 1998.
12. HEDON B., MADELENAT P., DARGENT D., FRYDMAN R..  
Gynécologie. PartieVII. Chap 2.p403-413.
13. HUIRNE J-A-F, LAMBALK C-B, Division of reproductive medicine.  
Gonadotrophin releasing hormone- receptor antagonists *The LANCET*. Vol 358, November 24, 2001.
14. MARIEB.  
Anatomie et physiologie humaines- Perpétuation- Edition du Renouveau pédagogique- 1993. P932-969.
15. MAUVAIS-JARVIS Pierre, SCHAISON Gilbert, TOURAINE Philippe.  
Médecine de la reproduction. 3° Edition. p 534-606.

16. MERVIEL P., ALBY J-D., ANTOINE J-M., UZAN S.  
Les antagonistes de la GnRH. Gynécol Obstét Fertil 2002 ; 30 : 71-8.
17. MILLAR R, CONKLIN D., LOFTON-DAY C., HUTCHINSON E., TROSKIE B., ILLING N., SEALFON S.C., HAPGOOD J..  
A novel human GnRH receptor homolog gene: abundant and wide tissue distribution of the antisense transcript. Journal of endocrinology (1999) 162, 117-126.
18. MIRALLIE S.  
ED de physiologie : Fertilité et Reproduction. 4<sup>o</sup> année (2000-2001).
19. MIRALLIE S., COLOMBEL A., JEAN M., BARRIERE P. Mauvaises réponses... mauvaises répondeuses. Communication à AIX le 25 octobre 2003.
20. OLIVIENNES F.  
Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur Cétrotide....SERONO France. Sept 2001.
21. OLIVIENNES F., FRANCHIN R., FRYDMAN R..  
Utilisation des antagonistes de la GnRH en fécondation *in vitro*  
Réalités en gynécologie- obstétrique- No 46- décembre 1999.
22. OLIVIENNES F., FRANCHIN R., LEDEE N., RIGHINI C., BOUCHARD P., FRYDMAN R.  
Les antagonistes de la GnRH en FIV. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2001; 30: 657-663.
23. OLIVIENNES F., HAZOUT A., FRYDMAN R..  
Assistance médicale à la procréation. Stimulation de l'ovulation. Edition MASSON.  
Mai 1998. P68-80.
24. ORTMANN O., WEISS J-M., DIEDRICH K..  
Embryo implantation and GnRH antagonists.  
Human Reproduction Vol.16, No4, p608-611.
25. VIDAL 2003.

26. ZORN J.R., SAVALE M.

La stérilité du couple. Induction de l'ovulation. Edition MASSON. Mai 1998. p 24-300.

27. The European and Middle East Orgalutran Study Group.

Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surge in women undergoing ovarian stimulation.

Human Reproduction Vol.16, No 4, p644-651, 2001.

28. Dossiers cliniques du CHU de NANTES au service de Biologie de la reproduction.

29. <http://www.bebesitting.com/stérilité/stérilité.htm>.

## TABLE DES MATIÈRES :

<b>PREMIÈRE PARTIE : <u>L'INFERTILITÉ</u></b> .....	<b>4</b>
I. INFERTILITÉ .....	5
A. Définitions .....	5
B. Facteurs influençant la fertilité.....	6
1) Chez la femme .....	6
2) Chez l'homme.....	7
3) La fertilité du couple.....	8
4) Influence du tabac.....	8
C. Causes d'infertilité. ....	8
1) Causes féminines : .....	8
2) Causes masculines .....	9
II. EXPLORATION DU COUPLE INFERTILE .....	11
A. Première consultation .....	11
1) Données communes au couple .....	11
2) L'interrogatoire de la femme.....	11
3) L'interrogatoire de l'homme .....	12
4) Examen clinique de la femme. ....	14
5) Examen clinique de l'homme. ....	14
6) Conclusion. ....	14
B. Bilan d'orientation chez la femme.....	14
1) Courbe thermique .....	14
2) Test de HUNHER.....	16
3) Bilan gynécologique.....	16
4) Bilan hormonal .....	16
C. Etude andrologique chez l'homme .....	17
1) Bilan spermiologique.....	17
2) Explorations fines.....	17
3) Examen biomorphologique et exploration des voies génitales .....	18
4) Examen bactériologique. ....	18
5) Dosages hormonaux .....	18
6) Examen génétique.....	18
D. Conclusion : .....	19
III. ASSISTANCE MÉDICALE A LA PROCRÉATION : TECHNIQUES, INDICATIONS ET RÉSULTATS. ....	20
A. Bilan préalable. ....	20
B. Préparation du sperme.....	20

C. <i>Techniques</i> .....	21
1) Insémination artificielle.....	21
2) Fécondation in vitro classique (FIV).....	23
3) Fécondation in vitro avec micro-injection (ICSI).....	26

**DEUXIÈME PARTIE : PROTOCOLES DE STIMULATION DE L’OVULATION DANS LES TRAITEMENTS DE L’INFERTILITÉ..... 27**

I. INTRODUCTION.....	28
II. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES .....	28
A. <i>Apparition du cycle ovarien</i> .....	29
B. <i>Interactions hormonales au cours du cycle ovarien</i> .....	29
III. LES PROTOCOLES.....	32
A. <i>La mono ovulation</i> .....	32
1) Bilan pré-thérapeutique.....	33
2) Les anti-estrogènes.....	35
3) Les gonadotrophines.....	40
4) La pompe à GnRH.....	48
B. <i>La poly ovulation</i> .....	51
1) Les agonistes de la GnRH.....	51
C. <i>Les complications des assistances médicales à la procréation</i> .....	56
1) Les complications à court terme.....	57
2) Les complications à long terme.....	60

**TROISIÈME PARTIE : LES ANTAGONISTES DE LA GNRH..... 61**

I. STRUCTURE ET RÉCEPTEURS.....	62
A. <i>La GnRH</i> .....	62
B. <i>Les modifications structurales</i> .....	63
II. MÉCANISME D’ACTION.....	63
A. <i>Mode d’action</i> .....	63
B. <i>La cinétique</i> .....	64
C. <i>La pharmacodynamie</i> .....	64
D. <i>La tolérance</i> .....	64

III. LES PROTOCOLES DE STIMULATION DE L'OVULATION UTILISANT LES ANTAGONISTES.....	66
A. <i>Etudes doses / réponses</i> .....	66
B. <i>Protocole du Cétrorélix ou Cétrotide®</i> .....	66
1) Dose de FSH.....	66
2) L'antagoniste.....	67
3) Le déclenchement.....	68
4) Quelles patientes ?.....	68
5) Quel protocole ?.....	68
IV. AVENIR DES ANTAGONISTES.....	69
A. <i>Blocage du pic de LH</i> .....	69
B. <i>Les effets indésirables</i> .....	69
1) La tolérance locale.....	69
2) La carence hypo-estrogénique.....	69
3) Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne.....	69
4) Les autres effets indésirables.....	70
C. <i>Comparaison des résultats</i> .....	70
1) Les ovocytes.....	70
2) La fécondation.....	71
3) L'implantation.....	71
4) La grossesse.....	71
5) Cas particuliers des mauvaises répondeuses.....	72
D. <i>Autres facteurs</i> .....	73
1) La durée du traitement.....	73
2) Le coût du traitement.....	73
3) La programmation et le soutien de la phase lutéale.....	74
4) Le déclenchement.....	74
V. CONCLUSION :.....	75
<b>QUATRIÈME PARTIE : <u>DOSSIERS CLINIQUES</u>.....</b>	<b>76</b>
I. UNE NORMO-RÉPONDEUSE.....	77
A. <i>Anne C.</i> .....	77
II. LES MAUVAISES RÉPONDEUSES.....	79
A. <i>Vanessa B.</i> .....	79
B. <i>Jessica F.</i> .....	82
C. <i>Claire S.</i> .....	82
D. <i>Nathalie C.</i> .....	84
E. <i>Mesmine L.</i> .....	87
F. <i>Muriel B.</i> .....	91

III. UNE HYPER RÉPONDEUSE : .....	93
<i>A. Frédérique C.</i> .....	93
CONCLUSION : .....	98
BIBLIOGRAPHIE : .....	101

Vu, Le Président du Jury

Vu, Le Directeur de Thèse

Vu, le Directeur de L'U.E.R

BAUDRY Sabrina

Les antagonistes de la GnRH : Utilisations dans les protocoles de Fécondation *in vitro*

---

L'infertilité est aujourd'hui un problème de santé publique rencontré par environ 15% des couples. Ces dernières années, avec la Fécondation *in vitro* notamment, les possibilités thérapeutiques se sont beaucoup améliorées. Les gonadotrophines, les agonistes de la GnRH apportent des réponses à certaines femmes, et les cas difficiles d'infertilité comme les mauvaises répondeuses ont trouvé récemment un nouvel « espoir » dans l'apparition des antagonistes de la GnRH.

Encore controversés aujourd'hui, les antagonistes de la GnRH ne font pas l'unanimité dans les équipes de Biologie de la Reproduction.

Toutefois des équipes médicales comme celles de Nantes, prenant en charge ces mauvaises répondeuses, obtiennent quelques grossesses « miracles ».

---

**MOTS CLES :**

- Infertilité
- Procréation médicalement assistée
- Antagoniste de la GnRH
- Mauvaises répondeuses

---

**JURY :**

Président : Mme ALLIOT A., Maître de Conférences de Parasitologie

Faculté de Pharmacie de Nantes

Assesseurs : Mme GRIMAUD N., Maître de Conférences de Pharmacologie

Faculté de Pharmacie de Nantes

Mme MIRALLIE S., Praticien Hospitalier

Service de Biologie de la Reproduction

---

**Adresse de l'auteur :** 37 quai de Versailles  
44100 NANTES