

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu devant le jury interrégional
le 22 septembre 2010

par **Hélène CAILLON**

Conformément aux dispositions de l'arrêté
du 6 mai 1987 tient lieu de :

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE

CARACTÉRISATION DE LA DYSRÉGULATION DES HORMONES ADIPOCYTAIRES ASSOCIÉE A L'OBÉSITÉ ET AUX TROUBLES DE LA REPRODUCTION
--

Président :	Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD
Membres du jury :	Monsieur le Docteur Damien MASSON
	Monsieur le Professeur Marc DENIS
	Monsieur le Professeur Paul BARRIÈRE
	Monsieur le Docteur Thomas FRÉOUR

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	5
LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES ABREVIATIONS	8
 INTRODUCTION.....	 10
 I. GENERALITES.....	 12
1. Effets de l'obésité sur la fertilité	12
1.1. Généralités	12
1.1.1. Infertilité	12
1.1.2. Obésité	13
1.1.3. Conséquences de l'obésité sur la santé	16
1.2. Interactions obésité-fertilité	17
1.2.1. Effets de l'obésité sur la physiologie de l'axe gonadotrope et la folliculogénèse.....	18
1.2.2. Effets de l'obésité sur l'ovulation et la qualité ovocytaire	20
1.2.3. Effets de l'obésité sur l'embryogénèse	21
1.2.4. Effets de l'obésité sur l'implantation et la grossesse	21
1.2.5. Conséquences obstétricales et issues de grossesse	22
1.3. Obésité et syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)	25
2. Mécanismes moléculaires associés à l'interaction obésité-fertilité.....	27
2.1. Rôle des adipokines.....	27
2.1.1. La leptine	28
2.2.1.1. Protéine et récepteur	28
2.2.1.2. Rôle dans la fonction de nutrition.....	30
2.2.1.3. Leptine, fertilité et obésité	31
2.2.1.3.1. Axe gonadotrope, folliculogénèse et ovulation.....	32
2.2.1.3.2. Embryogénèse, implantation et issue de grossesse	35
2.1.2. L'adiponectine	37

2.1.2.1. Protéine et récepteur	37
2.1.2.2. Rôles métaboliques	38
2.1.2.3. Adiponectine, fertilité et obésité	39
2.1.2.3.1. Axe gonadotrope, folliculogénèse et ovulation	40
2.1.2.3.2. Embryogénèse, implantation et issue de grossesse	41
2.1.3. <i>La résistine</i>	42
2.1.4. <i>Le PAI-1</i>	43
2.1.5. <i>Les autres adipokines</i>	44
2.2. Rôle des cytokines de l'inflammation	45
2.2.1. <i>L'interleukine 6</i>	46
2.2.2. <i>Le TNF-α</i>	48
2.3. Rôle des entérokinines	49
2.3.1. <i>La ghréline</i>	49
2.3.2. <i>Le peptide YY3-36</i>	51
II. OBJECTIFS	55
1. Etude rétrospective	55
2. Etude prospective	55
III. MATÉRIELS ET MÉTHODES	58
1. Étude rétrospective	58
2. Étude prospective	60
2.1. Critères d'inclusion	61
2.2. Constitution d'une population de femmes présentant un bilan hormonal favorable à J3	62
3. Protocole de stimulation	63
4. Techniques de dosages	64
4.1. Bilan hormonal standard	64
4.2. Bilan adipocytaire et inflammatoire	65
5. Exploitation statistique des résultats	69

IV. RESULTATS.....	71
1. Étude rétrospective	71
1.1. Caractéristiques de la population étudiée.....	71
1.2. Caractéristiques des cycles de stimulation	72
1.3. Issues de stimulation	74
2. Étude prospective	75
2.1. Caractéristiques des groupes étudiés	75
2.2. Comparaison du profil hormonal adipocytaire des deux groupes	76
2.3. Comparaison des issues de stimulation.....	78
2.4. Évaluation de l'impact du profil adipocytaire et inflammatoire sur les issues de stimulation	80
2.5. Cas des syndromes OPK	91
V. DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	93
1. Impact de l'obésité sur la prise en charge en FIV	93
2. Place des adipokines à l'interface entre le métabolisme adipocytaire et la fertilité.....	97
3. Prise en charge de l'obésité dans un contexte de FIV	101
CONCLUSION.....	106
ANNEXE	107
BIBLIOGRAPHIE	108

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Évolution de la prévalence de l'obésité dans la population française depuis 1997 (INSERM / TNS Healthcare / Roche, 2009).....	15
<u>Figure 2</u> : Répartition de la population féminine par niveau de BMI et par tranche d'âge depuis 1997 (INSERM / TNS Healthcare / Roche, 2009)	16
<u>Figure 3</u> : Distribution des cellules hypothalamiques exprimant des transcrits Kiss1.....	18
<u>Figure 4</u> : Effets des kisspeptines sur l'axe gonadotrope (Popa et al., 2008).....	19
<u>Figure 5</u> : Structure cristalloïde de la leptine (a) représentation dans une conformation à quatre hélices, avec une petite hélice E dans la boucle CD (b) structure de surface de la leptine (Zhang et al., 2005)	28
<u>Figure 6</u> : Mécanismes de transduction du signal après liaison de la leptine à son récepteur (Israel and Chua, 2009)	29
<u>Figure 7</u> : Variation de la concentration plasmatique en leptine pendant le cycle menstruel chez 9 femmes ayant un BMI de $23.9 \pm 1.8 \text{ kg/m}^2$ et présentant des cycles réguliers.....	30
<u>Figure 8</u> : Interactions de la leptine avec l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.....	35
<u>Figure 9</u> : ① Structure cristalloïde du domaine globulaire de trimérisation de l'adiponectine (Shapiro and Scherer, 1998), ② Formes multimériques de l'adiponectine (Waki et al., 2003)	37
<u>Figure 10</u> : Effets connus de l'adiponectine sur la physiologie ovarienne.....	42
<u>Figure 11</u> : Interactions connues de l'IL-6 avec l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.....	48
<u>Figure 12</u> : Récapitulatif des interactions entre les principales adipokines, cytokines et entérokinines et l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.....	53
<u>Figure 13</u> : Principe de dosage en technologie Luminex™ (d'après Luminex™).....	66
<u>Figure 14</u> : Représentation des deux lasers et de leurs cibles respectives (d'après Luminex™)	66
<u>Figure 15</u> : Exemple de graphique affiché par le logiciel d'exploitation montrant l'identification des billes (①) et le suivi du nombre de billes (②) identifiées par le cytomètre au sein des différentes régions définies lors de la calibration	67
<u>Figure 16</u> : Exemple de courbe de calibration obtenue sur Fidis™ Luminex™.....	68
<u>Figure 17</u> : Représentation de l'appareil Fidis™ Luminex™ constitué de trois éléments : la pompe, le cytomètre, et le système d'exploitation permettant l'acquisition des données	68

<u>Figure 18</u> : Concentrations sériques en leptine en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne).....	82
<u>Figure 19</u> : Évaluation de la stimulation ovarienne : corrélation entre le nombre d'unités de FSH recombinante administrée par jour de stimulation (A), par ovocyte ponctionné (B) et la concentration sérique en leptine	84
<u>Figure 20</u> : Concentrations sériques en adiponectine en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne)	85
<u>Figure 21</u> : Corrélation entre l'adiponectinémie et l'insulinorésistance appréciée par le HOMA au sein de la cohorte Adipofert ($p=0.0235$, $r=-0.5038$).....	86
<u>Figure 22</u> : Concentrations sériques en PAI-1 en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne).....	87
<u>Figure 23</u> : Concentrations sériques en TNF- α en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne).....	89
<u>Figure 24</u> : Concentrations sériques en CRP en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne).....	90

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Classification internationale du sous-poids, du surpoids, et de l'obésité chez l'adulte en fonction du BMI applicable aux individus âgés de plus de 18 ans, et de préférence de moins de 65 ans (World Health Organization, 2000).....	14
<u>Tableau 2</u> : Effets du surpoids et de l'obésité sur les résultats d'AMP : d'après une revue systématique (Robker, 2008).....	24
<u>Tableau 3</u> : Répartition des effectifs de la population d'étude en fonction de la classification OMS du sous-poids, du surpoids et de l'obésité (2000)	60
<u>Tableau 4</u> : Critères de sélection de la population témoin	63
<u>Tableau 5</u> : Caractéristiques techniques de l'analyse sur Luminex™, coffrets Millipore™ (selon les données du fournisseur)	69
<u>Tableau 6</u> : Caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques de la population d'étude	71
<u>Tableau 7</u> : Paramètres du cycle de stimulation pour les deux groupes étudiés	73
<u>Tableau 8</u> : Issues de cycle de stimulation des deux groupes étudiés	74
<u>Tableau 9</u> : Caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques de la population Adipofert et de la population témoin.....	75
<u>Tableau 10</u> : Résultats des dosages sériques d'adipokines, cytokines et entérokinines effectués par technique Luminex™ et par néphélémétrie	77
<u>Tableau 11</u> : Etat des prises en charge des effectifs Adipofert et témoins lors des dosages des marqueurs adipocytaires et inflammatoires.....	78
<u>Tableau 12</u> : Caractéristiques des cycles de stimulation des populations Adipofert et témoin ayant bénéficié d'un cycle de stimulation	79
<u>Tableau 13</u> : Comparaison des résultats de l'étude rétrospective avec ceux des principales études déjà publiées.....	96

LISTE DES ABREVIATIONS

ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
AE-PCOS	<i>Androgen Excess and PolyCystic Ovarian Syndrom</i>
AgRP	<i>Agouti Related Protein</i>
AMH	<i>Anti-Müllerian Hormon</i>
AMP	<i>Assistance Médicale à la Procréation</i>
ARC	<i>ARCuate</i>
ARNm	<i>Acides RiboNucléiques messagers</i>
AVPV	<i>AnteroVentral PeriVentricular</i>
BFM	<i>Body Fat Mass</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i>
BNTMII	<i>Behring NephelometerTM II</i>
CFA	<i>Compte de Follicules Antraux</i>
COC	<i>Cell-Oocyte Complex</i>
COX-2	<i>Cyclo-OXYgénase 2</i>
CRP	<i>C-Reactive Protein</i>
CRP_{us}	<i>C-Reactive Protein ultrasensible</i>
DNC	<i>Délai Nécessaire à Concevoir</i>
E₂	<i>Estradiol</i>
ELISA	<i>Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
ESHRE	<i>European Society of Human Reproduction and Embryology</i>
FARO	<i>Fonds d'Aide à la Recherche Organon[®]</i>
FIV	<i>Fécondation In Vitro</i>
FSH	<i>Follicle Stimulating Hormon</i>
GH	<i>Growth Hormon</i>
GHS-R	<i>Growth Hormon Secretagogue-Receptor</i>
GnRH	<i>Gonadotropin Releasing Hormon</i>
GPR54	<i>G-Protein coupled Receptor 54</i>
hCG	<i>human Chorionic Gonadotropin</i>
HAS	<i>Haute Autorité de Santé</i>
HOMA	<i>Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance</i>
ICMART	<i>International Committee for Monitoring Reproductive Assisted Technology</i>
ICSI	<i>IntraCytoplasmic Sperm Injection</i>
IUI	<i>Insémination Intra-Utérine</i>
IL-6	<i>Interleukine-6</i>
IL-6ST	<i>IL-6 Signal Transducer</i>
IMC	<i>Indice de Masse Corporelle</i>
INSERM	<i>Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale</i>
IRMA	<i>ImmunoRadioMetric Assay</i>
IS	<i>Induction Simple</i>
J3	<i>3ème jour du cycle menstruel</i>

kDA	kiloDaltons
KISSR1	<i>KISS1 Receptor</i>
LH	<i>Luteinizing Hormon</i>
LIF	<i>Leukemia Inhibitory Factor</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
mTOR	<i>mammalian Target Of Rapamycin</i>
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NPY	NeuroPeptide Y
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAI-1	<i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PE	PhycoÉrythrine
PGE	ProstaGlandine E
POMC	Pro-Opio-MélanoCortine
PPARγ	<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ</i>
PYY3-36	Peptide YY3-36
RIA	<i>Radio-Immuno-Assay</i>
RTH	Rapport Taille-Hanches
SNC	Système Nerveux Central
SOPK	Syndrome des Ovaires PolyKystiques
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TNFR1	<i>TNF Receptor 1</i>
t-PA	<i>tissue Plasminogen Activator</i>
vs	<i>versus</i>
WHR	<i>Waist-to-Hip Ratio</i>

INTRODUCTION

L'obésité est un phénomène devenu ces dernières années épidémique, en particulier dans les pays développés. Ses conséquences pathologiques sont nombreuses et n'épargnent pas la fonction de reproduction. Ainsi, il apparaît désormais clairement que l'accroissement du BMI (*Body Mass Index*) retentit sur la fertilité, en particulier sur la fertilité féminine, que ce soit sur la folliculogénèse, la qualité ovocytaire et embryonnaire, l'implantation, et l'issue de grossesse, y compris sur les résultats des protocoles d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Ces effets sont médiés par un certain nombre d'hormones qui interviennent dans la régulation du métabolisme énergétique et dont les concentrations circulantes sont modifiées chez les femmes en surpoids ou obèses. Certaines de ces hormones comme la leptine ou l'adiponectine sont déjà largement décrites, d'autres comme la ghréline, la résistine ou quelques cytokines de l'inflammation apparaissent également impliquées mais leur rôle exact reste mal défini.

Dans ce cadre, afin d'approfondir l'impact de l'obésité sur les résultats de la stimulation ovarienne en AMP, deux études distinctes ont été réalisées en collaboration avec le centre d'AMP du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Nantes (Dr M.Jean – Pr P.Barrière).

Dans un premier temps, l'exploitation des données clinico-biologiques concernant les patientes prises en charge à partir de 2006 a permis de déterminer leur profil hormonal en fonction de leur BMI, et d'évaluer les conséquences du surpoids et de l'obésité sur les issues de stimulation ovarienne.

Le second axe de travail a porté sur une population plus restreinte de patientes obèses incluses dans le protocole Adipofert. Le but de cette étude est de caractériser la dysrégulation des hormones et cytokines adipocytaires associées à l'obésité et aux troubles de la reproduction, et, à terme, de connaître leur intérêt prédictif du succès de la stimulation ovarienne.

GÉNÉRALITÉS

I. GENERALITES

1. Effets de l'obésité sur la fertilité

1.1. Généralités

1.1.1. Infertilité

L'infertilité est caractérisée par la difficulté ou l'incapacité d'un couple à concevoir un enfant. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit l'infertilité comme l'incapacité d'un couple à procréer ou à mener une grossesse à terme au bout d'une année ou plus de rapports sexuels réguliers non protégés. On distingue l'infertilité primaire pour une femme qui n'a jamais eu de grossesse antérieure, et l'infertilité secondaire, lorsqu'une ou plusieurs grossesses ont déjà été obtenues.

L'infertilité est d'origine féminine pour 30 % des couples, masculine pour 20 % d'entre eux et mixte pour 40 %. Enfin, dans 10 % des cas, aucune étiologie n'est retrouvée et l'infertilité demeure inexpliquée.

Parmi les étiologies féminines, on retrouve : des anomalies de l'ovulation (anovulation ou dysovulation), des anomalies des trompes (obturées ou altérées), des anomalies de l'utérus, des étiologies cervicales (dysfonctionnement des glandes endocervicales ou lésions du col), des infections, ou encore l'endométriose.

De nombreux facteurs peuvent modifier la fertilité, au premier rang desquels l'âge maternel. La fertilité féminine diminue en effet rapidement après 35 ans, ainsi que les taux de succès de tous les traitements de l'infertilité. L'alcool et le tabac diminuent aussi la fertilité, tant chez l'homme que chez la femme (Tolstrup et al., 2003) (Saleh et al., 2002).

L'excès de poids, tout comme le déficit de poids, réduisent également la fertilité féminine.

Actuellement, environ 13 à 15% des couples consultent pour des difficultés à concevoir, d'où un recours de plus en plus fréquent aux techniques d'AMP (Kamel, 2010).

En 2009, le Comité International pour le Monitoring des Techniques d'Assistance à la Reproduction (ICMART) rapporte une hausse du nombre de recours aux techniques d'AMP de plus de 25% entre 2000 et 2002, grâce à des données colligées dans 53 pays. En 2002, environ 230 000 enfants sont nés dans le monde grâce à une prise en charge en AMP. En France, plus de 53 000 procédures ont été initiées en 2002 pour 11 184 naissances, soit une hausse de 5% par rapport à l'année 2000 (de Mouzon et al., 2009).

Selon le rapport préliminaire annuel de la Société Européenne de Reproduction Humaine et d'Embryologie (ESHRE) publié en juin 2010 sur les données de l'année 2006, le nombre de recours à l'AMP dans 32 pays européens a augmenté de 9.7 % par rapport à l'année précédente, cette hausse étant pour partie liée à l'augmentation du nombre de pays étudiés (de Mouzon et al., 2010).

1.1.2. Obésité

Dans le monde, actuellement, 300 millions de personnes sont considérées comme obèses, et ce nombre pourrait doubler d'ici 2025. Un milliard de personnes sont de plus en surpoids.

Au début du XXIème siècle, l'obésité est devenue la maladie métabolique la plus répandue dans le monde. La situation est telle que l'OMS considère l'obésité comme une épidémie mondiale. Elle ne concerne pas seulement les pays industrialisés mais aussi les pays en voie de développement.

Différents paramètres permettent d'évaluer l'obésité. Le BMI (*Body Mass Index*) ou IMC (Indice de Masse Corporelle) correspond au rapport entre le poids et la taille élevée au carré. Il s'agit de l'indicateur le plus utilisé. Il permet de mesurer la corpulence d'un individu en traduisant à la fois la masse musculaire et la masse grasse de l'organisme. L'obésité est définie par un BMI supérieur ou égal à 30 kg/m² et l'obésité morbide par un BMI supérieur ou égal à 40 kg/m².

La classification des individus selon leur BMI est reportée dans le Tableau 1 (World Health Organization, 2000).

Tableau 1 : Classification internationale du sous-poids, du surpoids, et de l'obésité chez l'adulte en fonction du BMI applicable aux individus âgés de plus de 18 ans, et de préférence de moins de 65 ans (World Health Organization, 2000)

Classification	BMI (kg/m²)
Sous-poids	< 18.50
Maigreur extrême	< 16.00
Maigreur modérée	16.00 à 16.99
Maigreur mineure	17.00 à 18.49
Poids normal	18.50 à 24.99
Surpoids	≥ 25.00
Pré-obésité	25.00 à 29.99
Obésité	≥ 30.00
Obésité classe I	30.00 à 34.99
Obésité classe II	35.00 à 39.99
Obésité classe III	≥ 40.00

Les classes construites par l'OMS et les seuils correspondants traduisent des niveaux de risque pour la santé. Ils ont néanmoins leurs limites notamment concernant l'âge, le sexe ou la masse musculaire.

Le *Waist-to-Hip Ratio* (WHR) ou rapport taille-hanches (RTH) est également utilisé pour l'évaluation de l'obésité. Il correspond au rapport entre le tour de taille et le tour de hanche et caractérise la répartition tronculaire de l'excès pondéral. Cet indicateur est davantage utilisé pour la caractérisation des syndromes métaboliques. Un certain nombre d'études épidémiologiques ont en particulier montré la puissance du WHR comme marqueur prédictif d'infarctus du myocarde ou d'accident ischémique (Yusuf et al., 2005) (Winter et al., 2008).

L'OMS considère un individu comme obèse lorsque le WHR est supérieur à 0.9 chez l'homme et 0.85 chez la femme (World Health Organization, 1999).

La prévalence de l'obésité est actuellement en forte augmentation. Selon l'enquête épidémiologique nationale ObÉpi-Roche réalisée en 2009, 31.9 % des Français adultes de 18 ans et plus sont en surpoids et 14.5 % sont obèses.

De plus, la prévalence de l'obésité est plus élevée chez les femmes (15.1 % vs 13.9 % pour les hommes) (Figure 1). La France compte ainsi plus de 6 millions d'adultes obèses en 2009.

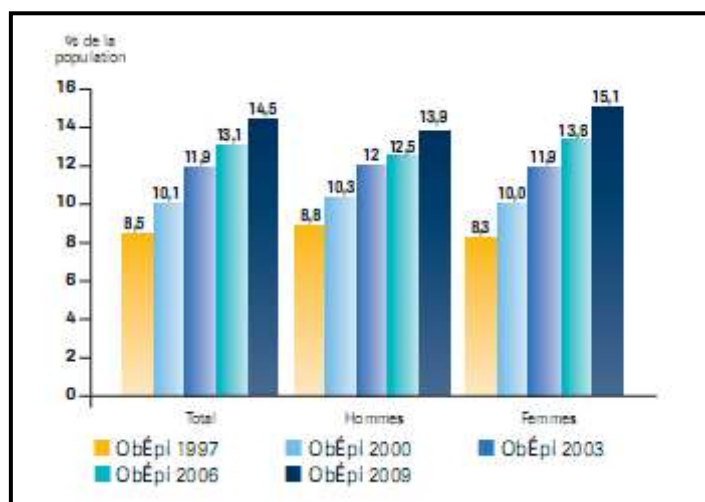


Figure 1 : Évolution de la prévalence de l'obésité dans la population française depuis 1997 (INSERM / TNS Healthcare / Roche, 2009)

L'augmentation relative moyenne de la prévalence de l'obésité depuis 12 ans est estimée à 5.9 % par an et touche toutes les catégories socio-professionnelles.

La prévalence de l'obésité augmente par ailleurs avec l'âge. La Figure 2 représente l'évolution de la répartition du BMI dans la population féminine par tranche d'âge : pour les femmes âgées de 18 à 24 ans, de 25 à 34 ans et de 35 à 44 ans, la prévalence de l'obésité est respectivement de 5 %, 12 % et 14.5 %.

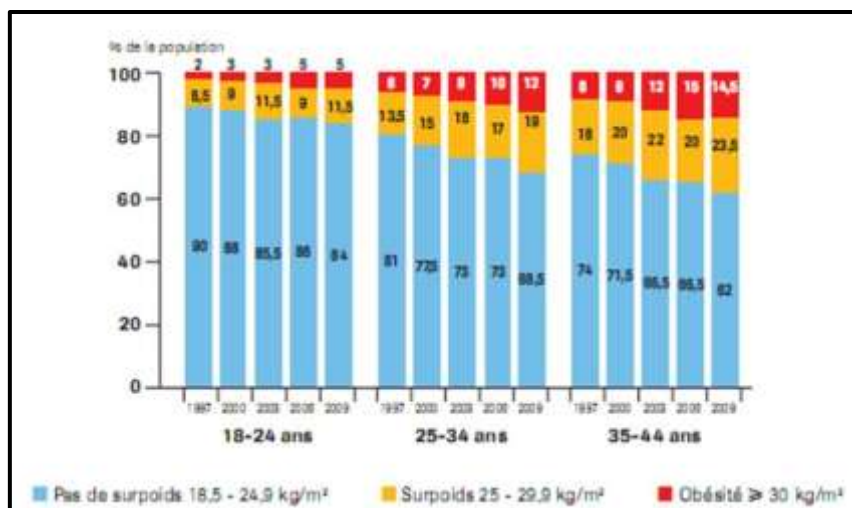


Figure 2 : Répartition de la population féminine par niveau de BMI et par tranche d'âge depuis 1997 (INSERM / TNS Healthcare / Roche, 2009)

Concernant la répartition géographique de l'obésité, le nord de la France, l'est et le bassin parisien sont actuellement les régions les plus touchées (prévalences respectives de 20,5, 17,0 et 16,6 %). A l'inverse, la zone méditerranéenne, la région Rhône-Alpes et la Bretagne présentent la prévalence la plus faible avec moins de 12,5 % d'obèses. Les disparités entre zones géographiques se sont ainsi accentuées au cours des deux dernières décennies. Le BMI moyen est en 2009 de 24,3 kg/m² soit une augmentation de 1 kg/m² en 12 ans. Cette tendance s'observe à tous les âges et à un rythme comparable, signe que l'augmentation de la corpulence n'est pas seulement liée au vieillissement de la population.

1.1.3. Conséquences de l'obésité sur la santé

L'obésité expose à de nombreuses complications de type :

- cardio-vasculaire (hypertension artérielle, infarctus du myocarde, ...)
- respiratoire (dyspnée d'effort, apnée du sommeil, ...)
- métabolique : diabète de type II (il concerne un obèse sur six), dyslipidémie, hyperuricémie
- digestif (stéatose hépatique, ...)

- ostéoarticulaire : mobilité limitée, lombalgies, arthrose du genou
- rénale : glomérulopathie, insuffisance rénale
- risques accrus pour certains cancers : prostate, colo-rectum, utérus, ovaire, sein, voies biliaires (Pan et al., 2004)
- psychologique : difficultés psycho-sociales et professionnelles

(Formiguera and Canton, 2004).

Enfin, l'obésité est à l'origine de complications portant sur la fonction de reproduction telles que l'infertilité, les dysovulations ou les troubles sexologiques. De plus, pour les femmes ayant un désir de grossesse, l'obésité s'accompagne d'une majoration des risques de diabète gestationnel, de pré-éclampsie, et d'accouchement par césarienne (Dokras et al., 2006).

1.2. Interactions obésité-fertilité

La baisse de la fertilité chez les femmes obèses a été rapportée par plusieurs études. Elle est probablement liée à de nombreux facteurs, dont des anomalies des fonctions métaboliques et endocrines qui peuvent affecter tant la croissance folliculaire que l'implantation (Sneed et al., 2008) (Pasquali et al., 2003) (Fedorcsak et al., 2004). De fait, les femmes obèses présentent un allongement du délai nécessaire à concevoir (DNC) et un taux de grossesse plus faible. Elles sont d'ailleurs de plus en plus nombreuses à avoir recours aux techniques d'AMP. Les facteurs influençant la dysovulation chez les patientes obèses pourraient aussi affecter le développement folliculaire, qui pourrait à son tour altérer la qualité ovocytaire puis le développement embryonnaire.

La fertilité féminine est très sensible au poids. En effet, un poids critique est indispensable aux jeunes femmes pour débiter leur période pubertaire et les maigreurs extrêmes sont associées à des aménorrhées. De même, un poids excessif a des effets délétères sur la fertilité. Plusieurs études ont associé l'obésité à une fertilité réduite (Pasquali et al., 2003) et à des taux de succès plus bas chez les patientes ayant recours à la Fécondation *In Vitro* (FIV).

Les effets de l'obésité se manifestent par une altération des taux de gonadotrophines hypophysaires, une dysovulation, une altération de la synthèse des stéroïdes conduisant à des

taux de conception diminués, un allongement du délai nécessaire à concevoir, une augmentation des taux d'échec de grossesse, ainsi qu'à une majoration des risques de complications obstétricales et une augmentation de l'incidence des anomalies fœtales.

1.2.1. Effets de l'obésité sur la physiologie de l'axe gonadotrope et la folliculogénèse

La physiologie de l'axe gonadotrope est étayée depuis très longtemps ; en revanche, le lien présumé entre fertilité et métabolisme adipocytaire restait jusqu'alors méconnu. L'identification récente, en 2006, des kisspeptines a permis d'établir cette interface manquante.

Les kisspeptines constituent en effet un ensemble de neuropeptides codés par le gène *KISS1* jouant un rôle clé dans le contrôle de l'axe gonadotrope et la régulation métabolique du déclenchement de la puberté et de la fertilité. Le gène *KISS1* code pour une protéine précurseur de 145 acides aminés clivée ensuite en plusieurs petits peptides (Popa et al., 2008). Les neurones exprimant des kisspeptines sont retrouvés au niveau de l'hypothalamus, en particulier au niveau des noyaux arqués (ARC) et antéro-ventraux périventriculaires (AVPV) (Figure 3).

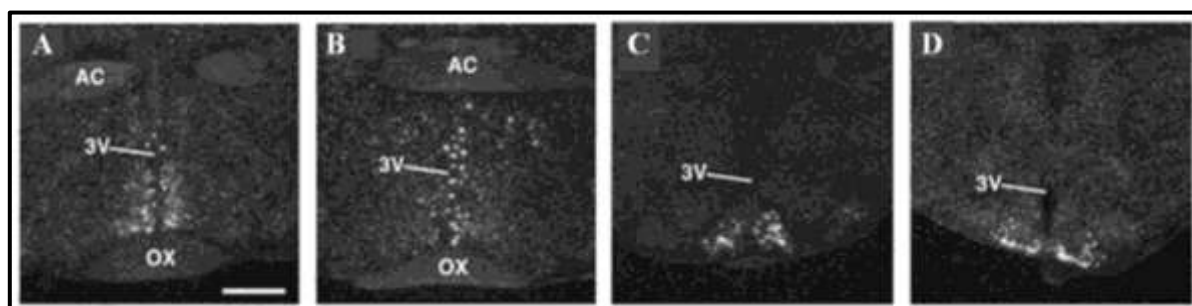


Figure 3 : Distribution des cellules hypothalamiques exprimant des transcrits Kiss1 (Technique d'hybridation *in situ* sur modèle murin). Les groupes de points blancs correspondent aux zones d'hybridation de la sonde Kiss1. Les cellules exprimant des transcrits Kiss1 ont été observées au niveau des noyaux antéro-ventraux périventriculaires (A), périventriculaires (B), et arqués (C et D) (AC : commissure antérieure, 3V : troisième ventricule, OX : chiasma optique) (Gottsch et al., 2004)

Les kisspeptines se fixent sur un récepteur couplé à une protéine GPR54 (ou KISS1R) et induisent la sécrétion de GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormon*) (Figure 4).

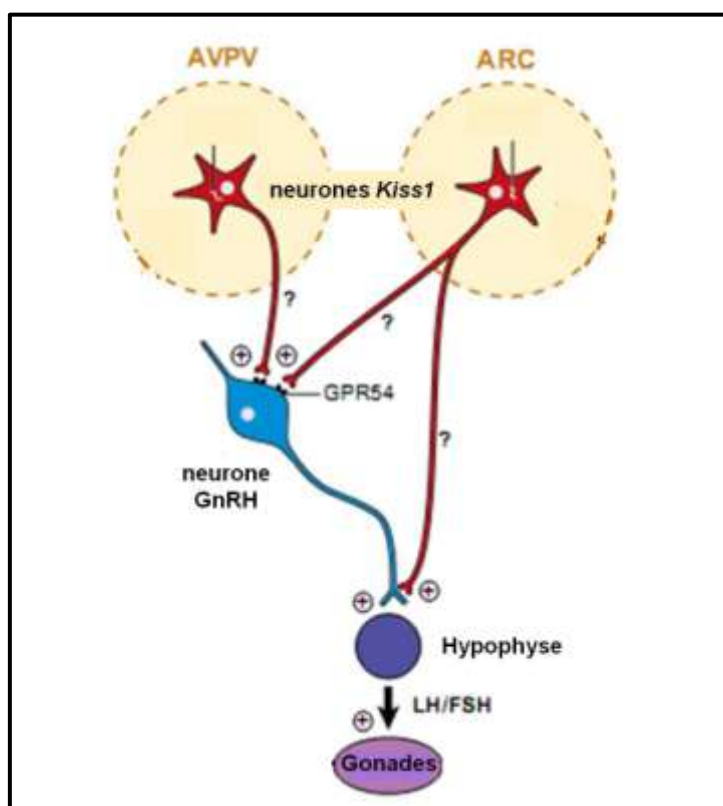


Figure 4 : Effets des kisspeptines sur l'axe gonadotrope (Popa et al., 2008)
(AVPV : noyaux antéro-ventraux périventriculaires; ARC : noyaux arqués)

Les kisspeptines sont indispensables à l'initiation de la puberté. Elles participent de façon obligatoire à la survenue du pic pré-ovulatoire de LH (*Luteinizing Hormon*) nécessaire à l'ovulation (Colledge and d'Anglemont de Tassigny, 2010).

En dehors du rôle central important des kisspeptines dans la régulation de l'axe gonadotrope, des travaux effectués sur le profil d'expression de *KISS1* et *GPR54* suggèrent qu'elles pourraient aussi avoir des fonctions directes sur l'ovaire et le placenta. En particulier, des données préliminaires sur la souris montrent que des mutations *Kiss1* et *Gpr54* pourraient conduire à une réduction des concentrations en progestérone chez les souris mutées par rapport aux souris sauvages. Ces concentrations doivent être normalisées en vue de

l'implantation, mais ne suffisent pas à maintenir la gestation obtenue y compris après l'administration de progestérone (Colledge and d'Anglemon de Tassigny, 2010).

Un certain nombre d'observations, notamment les variations des niveaux transcriptionnels hypothalamiques de KISS1 en fonction de différentes circonstances énergétiques ou de stress métabolique, suggèrent un rôle majeur des kisspeptines à l'interface des axes métabolique et gonadotrope. Elles pourraient en effet agir comme régulateur-clé et convoyeur neuroendocrine de l'information métabolique aux centres de la reproduction, tels que les neurones sécrétant la GnRH.

1.2.2. Effets de l'obésité sur l'ovulation et la qualité ovocytaire

Plusieurs études permettent d'affirmer que l'obésité peut altérer la qualité ovocytaire. L'équipe de Wittemer *et al* a démontré que le nombre d'ovocytes de bonne qualité (c'est-à-dire en métaphase I ou II) était significativement réduit lorsque le BMI était supérieur à 25 kg/m² par rapport au nombre d'ovocytes de bonne qualité retrouvé chez des femmes présentant un BMI compris entre 20 et 25 kg/m² (Wittemer et al., 2000).

Dokras *et al* ont mis en évidence, grâce à une étude plus vaste, un nombre d'ovocytes matures significativement plus faible chez les femmes obèses morbides en dépit de l'absence de différence significative du nombre de follicules aspirés (Dokras et al., 2006).

Contrairement à la maturité ovocytaire qui est rarement documentée dans les études de résultats de FIV, la fécondation est facilement évaluée : elle est habituellement jugée normale chez les femmes obèses, à l'exception notable de deux études (van Swieten et al., 2005) (Salha et al., 2001) qui montrent une diminution du taux de fécondation dans le groupe des femmes obèses (Robker, 2008).

Cette constatation doit être nuancée car la fécondation ne doit pas être considérée comme un marqueur adéquat de qualité ovocytaire : en effet, les différences entre les ovocytes n'apparaissent que tardivement au cours du développement, lorsqu'elles se traduisent par une altération de la qualité embryonnaire (Robker, 2008).

1.2.3. Effets de l'obésité sur l'embryogénèse

A ce jour, aucune étude à notre connaissance n'a porté sur la qualité embryonnaire chez les femmes obèses, ce qui représente une lacune importante dans notre compréhension des conséquences à long terme et transgénérationnelles de l'obésité (Robker, 2008).

Occasionnellement des différences non significatives de qualité des embryons transférés chez des femmes obèses par rapport à des femmes minces sont rapportées (Robker, 2008). Or cela ne permet pas d'affirmer que la qualité embryonnaire moyenne du pool ovocytaire ponctionné est affectée par l'obésité. Deux observations sont néanmoins rapportées. Carrell *et al* ont montré que le stade embryonnaire moyen diminuait pour un BMI supérieur à 30 kg/m² par rapport au groupe de femmes ayant un BMI compris entre 20 et 30 kg/m² (Carrell et al., 2001).

Metwally *et al* ont étudié 426 cycles de FIV ou ICSI (*IntraCytoplasmic Sperm Injection*), classés d'une part selon le BMI et d'autre part selon l'âge (plus ou moins de 35 ans) et évalués concernant la qualité embryonnaire obtenue. Seul le groupe de femmes jeunes (moins de 35 ans) présentait un effet défavorable de l'obésité sur les marqueurs de la qualité embryonnaire étudiés (grade embryonnaire moyen plus faible, nombre d'embryons congelés et transférés diminué). Aucune différence de qualité embryonnaire n'a été observée entre les groupes de BMI pour les femmes âgées de 35 ans et plus (Metwally et al., 2007).

1.2.4. Effets de l'obésité sur l'implantation et la grossesse

L'ensemble des observations citées jusqu'à présent suggère que l'altération de la qualité ovocytaire et embryonnaire induite par l'obésité pourrait être à l'origine de taux de grossesse plus bas chez les patientes obèses. Cependant, le mécanisme par lequel le taux de grossesse diminue avec l'obésité doit être approfondi. S'agit-il uniquement d'embryons de qualité sous-optimale du fait de l'obésité maternelle qui ne s'implantent pas dans la muqueuse utérine ? Ou bien y a-t-il des altérations supplémentaires de l'endomètre qui ne permettent pas l'implantation ? (Robker, 2008).

Pour répondre à cette question spécifique, des études ont été menées chez des femmes prises en charge dans le cadre d'un don d'ovocytes (donneuses ayant un BMI normal) : deux auteurs ne retrouvent pas d'effet du BMI sur le taux d'implantation (Wattanakumtornkul et al., 2003) (Styne-Gross et al., 2005). Cependant, Bellver *et al* ont montré que des femmes obèses bénéficiant d'un don d'ovocytes avaient tendance à présenter des taux d'implantation plus faibles, néanmoins les altérations de l'endomètre chez les patientes obèses sont pour ces auteurs trop subtiles par rapport à l'impact de l'obésité au niveau ovarien (Bellver et al., 2003) (Bellver et al., 2007).

1.2.5. Conséquences obstétricales et issues de grossesse

Lintsen *et al* en 2005 ont montré qu'un BMI supérieur à 27 kg/m² réduisait les chances de naissances vivantes de 33% (Lintsen et al., 2005). D'autres études ont mis en évidence une décroissance du taux de grossesse et du taux de naissances vivantes chez les femmes obèses ou en surpoids par rapport aux femmes de poids normal (Loveland et al., 2001) (Wang et al., 2000) (Nichols et al., 2003) (Fedorcsak et al., 2004) (Ferlitsch et al., 2004) alors que d'autres n'ont trouvé aucune différence (Lashen et al., 1999) (Wittermer et al., 2000) (Frattarelli and Kodama, 2004) (Spandorfer et al., 2004) (van Swieten et al., 2005) (Dokras et al., 2006). Maheshwari *et al* au cours d'une revue systématique parue en 2007 rapportent que les effets du BMI sur les naissances vivantes, les annulations de cycle, le nombre d'ovocytes ponctionnés et la survenue d'un syndrome d'hyperstimulation ovarienne sont insuffisamment évidents. En revanche, l'obésité et le surpoids sont associés à une diminution du taux de grossesse, à un recours plus fréquent à des doses plus fortes de gonadotrophines et à un taux d'échec plus élevé, et ce dès que le BMI est supérieur ou égal à 25 kg/m² (Maheshwari et al., 2007).

De plus, une réduction linéaire de la fécondité avec l'augmentation du BMI a été démontrée par Wang *et al* : le taux de grossesse des femmes présentant un BMI supérieur à 35 kg/m² était réduit de moitié par rapport à celui des femmes ayant un BMI compris entre 20 et 24,9 kg/m² (Wang et al., 2000). Ferlitsch *et al* ont rapporté une corrélation négative entre le

taux de grossesse en FIV et le poids : l'augmentation d'une unité du BMI entraînait la décroissance du taux de grossesse d'un facteur 0,84 (Ferlitsch et al., 2004).

Deux études indépendantes (Wass et al., 1997) (Zaadstra et al., 1993) ont prouvé que la répartition de l'excès de poids était un facteur supplémentaire dans la détermination des effets de l'obésité sur le taux de grossesse. En particulier, l'analyse du taux de grossesse de 500 femmes bénéficiant d'un don d'ovocytes a montré que le WHR, serait un meilleur marqueur que le BMI pour la prédiction de l'obtention de la grossesse (Zaadstra et al., 1993).

Pour Sneed *et al*, un BMI élevé a une influence négative importante sur la fertilité chez les femmes jeunes, âgées de moins de 35 ans (Sneed et al., 2008). Cependant, cet effet s'estompe lorsque l'âge de la patiente augmente. Le taux de grossesse diminue avec l'âge et avec l'accroissement du BMI. Après 36 ans, l'impact du BMI est minimal, et c'est l'âge qui a un effet dominant sur la fertilité et les résultats en FIV. En revanche, cette étude n'a pas retrouvé de majoration statistiquement significative du taux d'échec des FIV avec des BMI élevés contrairement à d'autres auteurs (Fedorcsak et al., 2004) (Spandorfer et al., 2004) (van Swieten et al., 2005) (Dokras et al., 2006).

Plusieurs auteurs ont mis en évidence un accroissement du taux de fausses-couches précoces avec l'augmentation du BMI (Wang et al., 2000) (Fedorcsak et al., 2004). Plusieurs mécanismes peuvent être incriminés comme l'effet de l'obésité sur des facteurs endocrines et biochimiques qui affecteraient la fonction du corps jaune, la réceptivité de l'endomètre ou le développement embryonnaire précoce.

De plus, une étude rétrospective de Dokras *et al* démontre une relation linéaire significative entre le risque de pré-éclampsie, de diabète gestationnel et de césarienne au cours d'une grossesse obtenue par FIV, et l'augmentation du BMI (Dokras et al., 2006).

Le Tableau 2 issu d'une méta-analyse (Robker, 2008) reprend les résultats des différentes études déjà publiées :

Tableau 2 : Effets du surpoids et de l'obésité sur les résultats d'AMP : d'après une revue systématique (Robker, 2008)

Étude	Patientes (obèses)	BMI définissant l'obésité (kg/m ²)	Dose de gonadotrophines	Taux d'annulation	Pic d'E ₂ *	Nombre d'ovocytes	Maturité ovocytaire	Taux de fécondation	Nombre d'embryons	Qualité embryonnaire	Taux d'implantation	Taux de grossesse
Lewis 1990	368 (36)	27.6	↔		↔	↓		↔				
Crosignani 1994	111 (44)	22 ^a		↑		↓						
Lashen 1999	333 (76)	27.9	↔		↓	↔		↔			↔	↔
Wittermer 2000	398 (48)	28	↑		↔	↓ ^b	↓					↔
Wang 2000	3586 (421)	30										↓
Fedorcsak 2000	383 (79)	25	↔			↓		↔				↓
Carell 2001	247 (34)	30			↔	↔	↓ ^c			↓		↓
Loveland 2001	139 (69)	25	↑ ^c	↔	↔	↔					↓	↓
Salha 2001	100 (50)	26	↑		↓	↓		↓				↓
Nichols 2003	372	28	↔		↓	↔					↓	↓
Fedorcsak 2004	2660 (241)	30	↑	↑	↔	↓		↔			↔	↓
Spandorfer 2004	920 (148)	27	↔	↑	↓	↓						↔
Van Swieten 2005	162 (29)	30	↔	↑ ^c		↔		↓				↔
Dechaud 2005	573 (36)	30	↑	↔	↔	↔		↔			↔	↔
Ku 2005	164	24 ^d	↑		↔	↔					↓ ^c	↓
Dokras 2005	1293 (315)	30	↑	↑	↓	↔	↓	↔	↓ ^c			↔
Metwally 2007	426 (72)	30	↑ ^e	↑ ^f	↔	↔		↔	↓ ^e	↓ ^e		↔
Bellver 2008	6500 (419)	30	↑		↔	↔		↔			↓	↓
Sneed 2008	1273 (307)	30		↔		↔		↔			↔	↔
Robker 2009	96 (32)	30				↓		↔	↓			↔
Orvieto 2009	516 (78)	30	↑		↓	↔		↓				↓

(↑) : augmentation ; (↓) : diminution ; (↔) : pas de différence par rapport à des femmes ayant un poids modéré ; * pic d'E₂ le jour de l'administration d'hCG

^a BMI le plus élevé au troisième percentile

^b uniquement avec un protocole long de stimulation, c'est-à-dire par un agoniste de la GnRH débuté à la fin de la phase lutéale du cycle précédent

^c tendance non statistiquement significative

^d population asiatique ; ^e patientes strictement âgées de moins de 35 ans seulement ; ^f patientes âgées de 35 ans ou plus seulement

Pour toutes ces études, Maheshwari *et al* soulignent les nombreux biais tant cliniques que méthodologiques ou statistiques qui rendent difficiles la comparaison des travaux effectués (Maheshwari et al., 2007). Des différences portent également sur le choix des sujets (par exemple femmes atteintes de SOPK ou non), les protocoles de stimulation, l'expression des résultats... rendant difficile l'établissement de consensus.

1.3. Obésité et syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) a été décrit pour la première fois en 1935 par Stein et Leventhal. En dépit des difficultés rencontrées pour vérifier sa prévalence parmi les femmes, des données convaincantes permettent aujourd'hui d'affirmer qu'il touche 6 à 8% des femmes dans le monde entier (selon les critères diagnostiques NIH *National Institutes of Health* 1990) (Azziz et al., 2009). Il est ainsi considéré comme la plus fréquente des dysrégulations endocriniennes féminines et représente la première cause d'infertilité par dysfonctionnement ovarien.

Sa définition et son diagnostic ont toujours été controversés du fait en particulier de son expression clinique très hétérogène. Il doit être considéré comme un syndrome, c'est-à-dire comme la conjonction de plusieurs signes et critères ; de plus, il s'agit d'un diagnostic d'exclusion. Selon les critères de l'AE-PCOS Society (*Androgen Excess and PolyCystic Ovarian Syndrome Society*) publiés en février 2009, il doit être défini par l'association d'un hyperandrogénisme (clinique et/ou biochimique), d'une dysfonction ovarienne (oligo-anovulation et/ou présence d'ovaires polykystiques) et par l'exclusion des autres diagnostics envisageables.

L'hyperandrogénisme peut se manifester par un hirsutisme, de l'acné, une alopécie. Biologiquement, l'hyperandrogénémie peut être mise en évidence par le dosage de plusieurs hormones : la testostérone (libre ou totale) et la $\Delta 4$ -androstènedione. En effet, approximativement 70% des femmes atteintes de SOPK présentent une concentration en testostérone sérique augmentée.

Concernant le dysfonctionnement ovarien, une étude prospective menée sur 400 femmes non sélectionnées a montré que 60% des femmes pour lesquelles un SOPK a été détecté présentaient des troubles menstruels cliniquement évidents, alors que 40% d'entre elles souffraient d'oligoanovulation en dépit de cycles menstruels en apparence réguliers (Azziz et al., 2004).

Les troubles menstruels au cours du SOPK sont généralement caractérisés par une oligoménorrhée voire une aménorrhée. Ils concernent 60 à 75% des femmes atteintes de SOPK et peuvent débuter dès la puberté.

Pour caractériser la présence d'ovaires polykystiques, trois critères sont habituellement requis : la taille et le volume des ovaires (volume ovarien supérieur à 10 mL), le volume du stroma, le nombre et la taille des follicules (12 follicules ou plus mesurant 2 à 9 mm de diamètre par ovaire).

En revanche, la seule présence d'ovaires polykystiques sans autres symptômes ou critères évoqués ne suffit pas à affirmer le diagnostic de SOPK.

Enfin, avant de poser le diagnostic de SOPK, il convient d'avoir exclu les autres étiologies possibles de l'hyperandrogénisme et/ou des troubles menstruels.

A côté de ces critères diagnostiques, d'autres perturbations peuvent être mises en évidence au cours du SOPK. En effet, ses composants sont multiples : reproductifs, métaboliques, et cardiovasculaires. Bien qu'elles n'entrent pas dans les critères diagnostiques principaux du SOPK, une insulino-résistance et une dyslipidémie s'associent dans 50% à 70% des cas à l'hyperandrogénisme et à l'anovulation chronique (Azziz et al., 2009). L'excès d'androgènes et la résistance à l'insuline, probablement d'origine génétique, sont à la base d'une grande partie de la symptomatologie clinique. L'ensemble des facteurs de risque entrant dans la définition du syndrome métabolique sont présents chez un grand nombre de patientes pour lesquelles le diagnostic de SOPK a été porté.

Environ 50% des femmes atteintes de SOPK sont obèses et une proportion croissante d'entre elles sont obèses morbides. Le surpoids est alors le plus souvent localisé au niveau abdominal. Par ailleurs, les femmes atteintes de SOPK qui ne sont ni en surpoids ni obèses ont souvent un tour de hanche plus élevé que les autres femmes de même groupe ethnique.

L'hypothèse physiopathologique du SOPK semble être une anomalie intrinsèque des cellules thécales sur la stéroïdogénèse, influencée par l'environnement, l'insuline, le surpoids.

Il s'agirait d'une maladie multigénique et environnementale. A l'heure actuelle, plusieurs gènes candidats sont à l'étude (Goodarzi and Azziz, 2006).

2. Mécanismes moléculaires associés à l'interaction obésité-fertilité

A l'interface entre la fertilité et les dysrégulations liées à l'obésité interviennent un certain nombre d'hormones dont le rôle pour certaines d'entre elles est de mieux en mieux connu.

Les adipokines sont des protéines exprimées de façon prédominante ou exclusive par le tissu adipeux. Cependant, d'autres sites de synthèse ont été révélés par des techniques plus sensibles ce qui peut laisser supposer l'existence d'effets paracrines.

Plusieurs adipokines sont actuellement décrites : la leptine, l'adiponectine, la résistine, le *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), la visfatine, l'omentine, ou encore la vaspine.

Le tissu adipeux est également capable de sécréter des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 6 (IL-6) ou le *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α).

D'autres hormones appelées entérokinines, comme la ghréline et le peptide YY3-36, et sécrétées par des tissus de l'appareil gastro-intestinal, ont un rôle qui apparaît de plus en plus important.

2.1. Rôle des adipokines

Des arguments bien étayés plaident pour un rôle important de certaines adipokines dans la physiologie ovarienne et placentaire. La littérature est déjà riche pour la leptine et l'adiponectine. Concernant les autres hormones, les travaux démontrant leur implication sont plus limités et leurs rôles respectifs doivent être définis plus précisément.

2.1.1. La leptine

2.2.1.1. Protéine et récepteur

La leptine est une hormone de nature protéique de 16 kDa encore appelée facteur de satiété, découverte en 1994 par l'équipe de Zhang. Elle est codée par le gène *ob* ou gène de l'obésité, qui s'exprime principalement au niveau du tissu adipeux. Un niveau d'expression plus faible a été montré dans d'autres organes comme l'hypothalamus, l'hypophyse, l'épithélium gastrique, les muscles squelettiques, les glandes mammaires, les gonades et le placenta (Budak et al., 2006).

La Figure 5 représente la structure de la leptine.

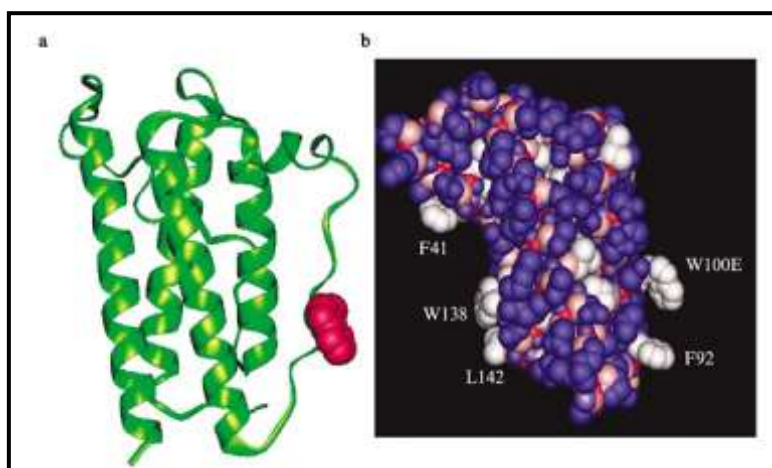


Figure 5 : Structure cristalloïde de la leptine (a) représentation dans une conformation à quatre hélices, avec une petite hélice E dans la boucle CD (b) structure de surface de la leptine (Zhang et al., 2005)

La leptine circule dans le sérum sous forme libre et sous forme liée, principalement au récepteur soluble Ob-Re.

Différentes isoformes (Ob-Ra, b, c, d, e, et f) du récepteur de la leptine ont été caractérisées. Ces isoformes présentent un domaine extracellulaire commun, mais différent par leur domaine transmembranaire ou par la longueur de leur région intracytoplasmique (Budak et al., 2006).

L'isoforme Ob-Re est uniquement constituée du domaine de liaison extracellulaire du récepteur. Elle joue un rôle majeur de régulation de la bioactivité de la leptine (Lammert et al., 2001).

La liaison de la leptine à son récepteur active une voie de signalisation intracellulaire impliquant des facteurs de transcription dont STAT3, conduisant à la régulation de l'expression de gènes-cibles tels que *SOCS3*, *AGRP* ou encore le gène codant pour la pro-opiomélanocortine (POMC). *SOCS3* représente une protéine suppresseur de signal cytokinique ; *l'Agouti Related Protein* ou AgRP est un peptide synthétisé par les neurones hypothalamiques et coexprimé avec le neuropeptide Y.

La transduction du signal induit par la fixation de la leptine à son récepteur est résumée dans la Figure 6.

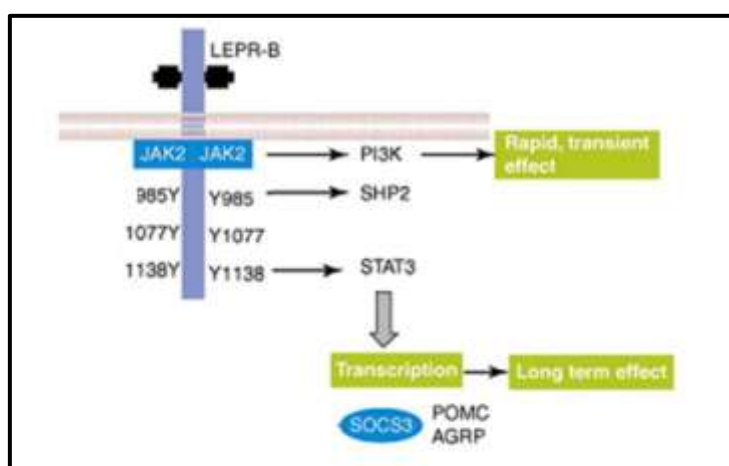


Figure 6 : Mécanismes de transduction du signal après liaison de la leptine à son récepteur (Israel and Chua, 2009)

La concentration sérique de la leptine subit des variations circadiennes et des variations au cours du cycle menstruel (Figure 7). Au cours du cycle menstruel, sa concentration est maximale au moment du pic de LH (Messinis et al., 1998).

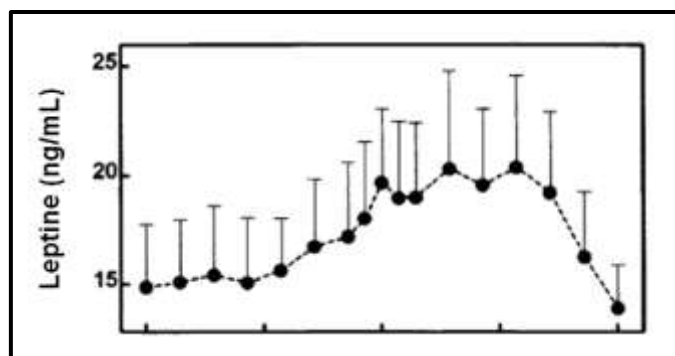


Figure 7 : Variation de la concentration plasmatique en leptine pendant le cycle menstruel chez 9 femmes ayant un BMI de $23.9 \pm 1.8 \text{ kg/m}^2$ et présentant des cycles réguliers (Riad-Gabriel et al., 1998)

Les fonctions de la leptine ne sont pas encore toutes élucidées mais apparaissent multiples.

2.2.1.2. Rôle dans la fonction de nutrition

La leptine joue un rôle central dans la régulation du poids et de l'homéostasie énergétique ; elle participe au contrôle de la consommation alimentaire et de la masse de tissu adipeux. Elle régule l'appétit et le poids corporel en envoyant des signaux indiquant le statut énergétique corporel au Système Nerveux Central (SNC).

Il existe en effet une relation étroite entre les concentrations sériques en leptine et le statut nutritionnel. Cette interaction a été démontrée d'une part par une association positive entre la leptinémie et le pourcentage de masse grasse ou BFM (*Body Fat Mass*), et d'autre part par une augmentation de la leptinémie au cours des suralimentations aiguës et chroniques. De plus, une diminution de la leptinémie avec la perte de poids, le déficit nutritionnel et des dépenses énergétiques accrues a été mise en évidence (Butzow et al., 1999).

Indépendamment de l'adiposité, les femmes obèses présentent un niveau d'expression transcriptionnelle du gène *ob* plus important dans les adipocytes ainsi que des concentrations sériques en leptine plus fortes que les hommes obèses.

La leptine est également considérée comme un lien possible entre les fonctions de nutrition et de reproduction. En effet, la fonction de reproduction féminine est perturbée lorsque surviennent des modifications sévères du statut nutritionnel et de la disponibilité énergétique, à la fois dans des circonstances de sous-nutrition et de surnutrition. Ces changements sont réversibles lorsque le statut nutritionnel se normalise.

2.2.1.3. *Leptine, fertilité et obésité*

Plusieurs observations effectuées chez l'homme et l'animal suggèrent que la leptine pourrait signaler au cerveau les réserves énergétiques adéquates disponibles pour la reproduction.

Les travaux effectués sur les modèles animaux montrent que des souris homozygotes *ob/ob* présentant un déficit congénital en leptine sont obèses et infertiles. Leur traitement par la leptine augmente les concentrations de LH et le poids des organes génitaux (Budak et al., 2006).

Des souris *db/db* présentant des récepteurs à la leptine défectueux sont elles aussi obèses et infertiles.

Par ailleurs, la restriction alimentaire et la perte de poids exercent vraisemblablement leur effet sur la reproduction via la leptine. En effet, chez des rongeurs prépubères, l'administration de leptine est capable de partiellement inverser les effets de la restriction alimentaire sur le délai de maturation pubertaire.

Chez l'homme, un certain nombre de constatations corroborent ces hypothèses. Une minorité de cas d'obésité humaine est liée à un déficit en leptine ou à des mutations du récepteur de la leptine (Mantzoros et al., 2000). Les individus concernés sont obèses, demeurent prépubères et présentent un hypogonadisme hypogonadotrope.

Dans la plupart des cas d'obésité humaine, une hyperleptinémie est observée, traduisant probablement une résistance à la leptine (Budak et al., 2006).

A l'opposé, les femmes anorexiques aménorrhéiques présentent des concentrations basses en leptine, ces concentrations augmentant avec l'alimentation. Cette augmentation est

immédiatement suivie par celle de la LH et par la reprise des menstruations lorsque la concentration en leptine dépasse le seuil de 2 ng/mL (Mantzoros et al., 2000).

2.2.1.3.1. Axe gonadotrope, folliculogénèse et ovulation

La leptine affecte la fonction de reproduction en régulant l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique : en effet, elle induit la libération de GnRH par l'hypothalamus et la libération de LH et de FSH (*Follicle Stimulating Hormon*) par l'antéhypophyse.

Des récepteurs à la leptine ont été caractérisés au niveau de l'hypothalamus, de l'hypophyse antérieure et des ovaires (Budak et al., 2006). La leptine interagit avec l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique en particulier grâce aux kisspeptines. Elle est en effet impliquée dans la modulation de l'expression du gène *KISS1* : l'augmentation de l'expression de transcrits *KISS1* a été montrée dans des neurones hypothalamiques murins ainsi que dans des cellules neuroblastiques humaines sécrétant la GnRH (Tena-Sempere, 2010). Différentes voies de signalisation dont celle impliquant mTOR (*mammalian Target Of Rapamycin*) pourraient participer à la régulation leptine-induite de l'expression des kisspeptines agissant sur la sécrétion de GnRH (Tena-Sempere, 2010).

La sécrétion de leptine est pulsatile, synchrone à la sécrétion de LH et maximale au pic de LH. Ses variations sont corrélées avec celles de la LH.

Des transcrits de leptine et une synthèse de leptine ont été découverts dans les cellules de la granulosa ovarienne, dans les ovocytes et durant les stades précoces du développement embryonnaire notamment, au niveau du tissu placentaire.

Sur la base d'observations effectuées chez des rongeurs (Mantzoros et al., 2000), on peut supposer que de fortes concentrations en leptine pourraient, dans l'ovaire, supprimer la synthèse d'estradiol et interférer avec le développement de follicules dominants et la maturation ovocytaire. Elle agirait alors comme une gonadotrophine co-inhibitrice sur l'ovaire, et réduirait la capacité de réponse ovarienne aux gonadotrophines. Elle pourrait expliquer ainsi en partie que des femmes obèses aient recours à des doses plus élevées de

gonadotrophines au cours d'un cycle de FIV que des femmes minces pour parvenir au succès de la stimulation ovarienne.

Pour mieux comprendre le rôle de la leptine dans le contrôle de la reproduction physiologique, Bützow *et al* en 1999 ont étudié les concentrations en leptine dans le sérum de 52 femmes subissant une down-régulation hypophysaire et une hyperstimulation ovarienne en vue d'une FIV. Ils ont constaté une augmentation de 60% de la concentration sérique en leptine entre la phase de down-régulation maximale et l'hyperstimulation ovarienne maximale, démontrant ainsi que le stade fonctionnel ovarien pouvait affecter les concentrations sériques en leptine. Mais, ils ont montré que l'augmentation relative de la leptine sérique était négativement associée à la réponse ovarienne à l'hyperstimulation, appréciée par le nombre de follicules et le nombre d'ovocytes ponctionnés. Cette étude suggère, d'une part, que la production de leptine serait influencée par le stade fonctionnel ovarien, et, d'autre part, que l'augmentation de la production de leptine au cours de l'hyperstimulation ovarienne serait liée à l'adiposité et à une réponse ovarienne réduite à l'administration de FSH (Bützow *et al.*, 1999).

Dans le même objectif, Gurbuz *et al* ont travaillé sur une cohorte de 65 femmes subissant une hyperstimulation ovarienne en vue d'une FIV. Ils ont constaté une augmentation d'environ 66.4 % de la concentration en leptine sérique le jour de la ponction ovocytaire par rapport à la concentration basale, résultat concordant avec celui obtenu par l'équipe de Bützow (60 %) (Gurbuz *et al.*, 2005). D'autres études ont également rapporté des pourcentages d'augmentation similaires : 40 à 50 % pour Zhao *et al* entre la concentration basale et celle obtenue le jour de l'administration d'hCG (*human Chorionic Gonadotropin*) (Zhao *et al.*, 2000), 40 % pour Strowitzki *et al* entre la concentration à J3 et celle mesurée à J9 du cycle (Strowitzki *et al.*, 1998).

Cet accroissement de la leptine sérique pourrait trouver son origine dans une sécrétion adipocytaire ou ovarienne. L'équipe de Gurbuz émet l'hypothèse d'une sécrétion majorée de leptine par les cellules de la granulosa de follicules devenus trop grands suite à l'administration de FSH au cours de l'hyperstimulation ovarienne.

Anifandis *et al* démontrent une corrélation négative entre le pourcentage d'augmentation de la leptine en réponse à l'administration de FSH et une réponse ovarienne réduite, suggérant une inhibition possible de la génération d'ovocytes et de la synthèse d'estradiol par de fortes

concentrations en leptine (Anifandis et al., 2005b). Cette corrélation a été confirmée également par d'autres études (Butzow et al., 1999).

Messinis *et al* proposent un modèle selon lequel l'estradiol pourrait exercer un premier effet de sensibilisation du tissu adipeux à la leptine, rendant ainsi les adipocytes plus réceptifs pour d'autres signaux tels que la progestérone. Cet effet pourrait ainsi expliquer la persistance de concentrations élevées en leptine circulante au cours de la phase lutéale du cycle (Messinis et al., 2000).

Au vu des connaissances déjà acquises et relatées précédemment, l'équipe de Gurbuz a conclu à une majoration de la sécrétion de leptine d'origine adipocytaire. Ainsi, l'estradiol augmenterait la production de leptine à un niveau déterminé, au-delà la leptine pourrait limiter la génération d'ovocytes et la synthèse d'estradiol suite à un mécanisme de feed-back négatif.

L'ensemble de ces données indique que des concentrations élevées en leptine supprimeraient la production d'estradiol, inhiberaient le développement de follicules dominants et la maturation ovocytaire.

La Figure 8 récapitule sur la base des observations relatées les différentes interactions de la leptine avec l'axe gonadotrope.

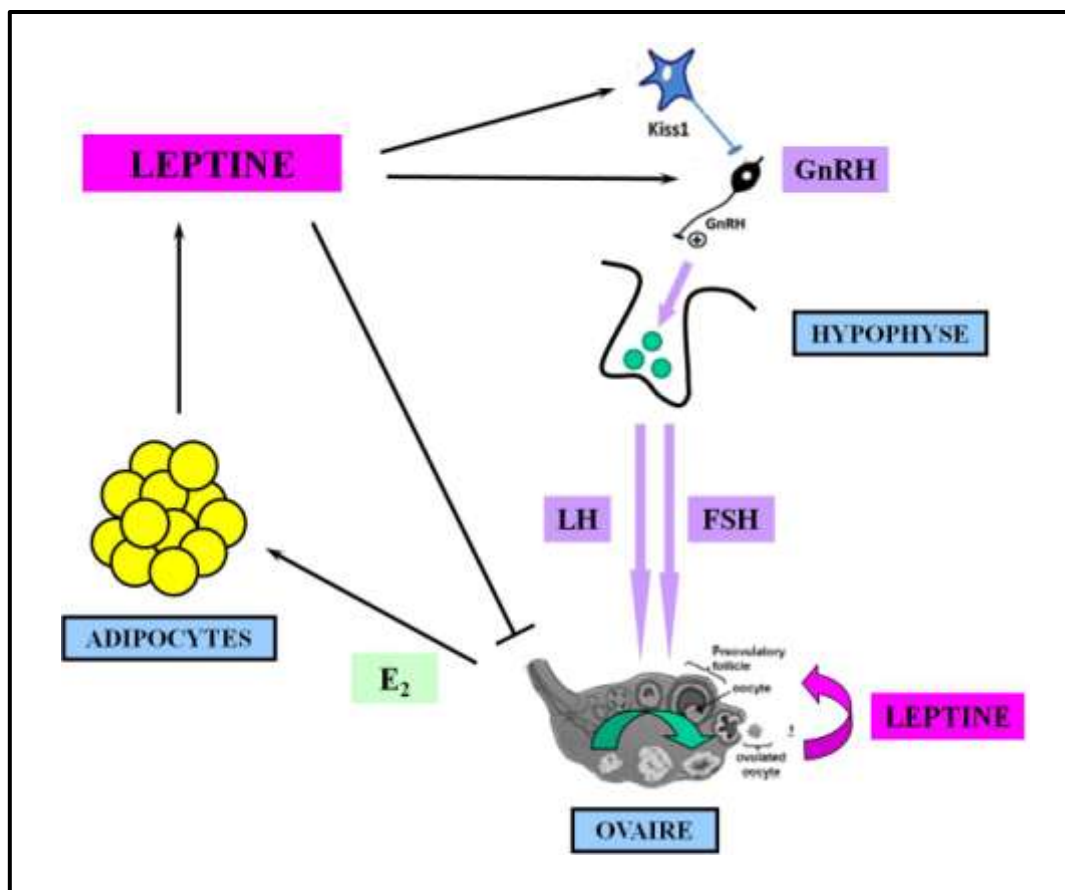


Figure 8 : Interactions de la leptine avec l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien

2.2.1.3.2. Embryogénèse, implantation et issue de grossesse

Jusqu'à présent, des embryons de bonne qualité représentaient un marqueur pronostique de succès de grossesse. Cependant de nombreux facteurs influencent cette qualité et sont encore mal compris : en particulier le BMI, dont le régulateur majeur est la leptine.

Anifandis *et al* ont montré sur une série de 100 femmes, des concentrations sériques en leptine plus basses chez des femmes ayant des embryons de bonne qualité (50.05 ± 5.60 ng/mL) par rapport à celles ayant des embryons de qualité médiocre (59.48 ± 7.6 ng/mL). De même, des concentrations sériques élevées en leptine de 56.87 ± 5.52 ng/mL (groupes contrôles avec β hCG positive : 41.49 ± 5.8 ng/mL) sont associées à un échec de grossesse.

Ces résultats suggèrent que des concentrations sériques en leptine obtenues 36 à 38 heures après l'injection d'hCG pourraient constituer des indicateurs pronostiques utiles pour l'issue de la FIV (Anifandis et al., 2005b).

Anifandis *et al* ont également étudié une cohorte de 200 femmes prises en charge pour une première FIV : ils ont en particulier examiné les concentrations sériques en estradiol et les concentrations sériques et folliculaires en leptine au moment de l'administration d'hCG et de la ponction d'ovocytes. L'objectif était d'évaluer leur valeur prédictive concertée sur la qualité embryonnaire et le pronostic de la FIV. Plusieurs constatations ont été effectuées.

Le succès d'implantation et de grossesse a été maximal lorsque la concentration sérique en estradiol était comprise entre 1001 et 2000 pg/mL, et la concentration sérique en leptine de 46.49 ± 8.4 ng/mL (60.3 ± 5.8 ng/mL pour les taux d'implantation et de grossesse les plus faibles). Cela pourrait suggérer d'une part, une valeur pronostique plus forte pour ces deux paramètres réunis que pour chacun pris isolément, et d'autre part, que des concentrations élevées en leptine pourraient réduire la réceptivité de l'endomètre et la capacité d'implantation embryonnaire (Anifandis et al., 2005a).

Au-delà d'un seuil de concentration proche de 50 ng/mL, la leptine exerce une influence négative sur la qualité embryonnaire et les résultats de FIV (Anifandis et al., 2005b).

La leptine et l'estradiol pourraient interagir de façon coordonnée et concentration-dépendante. Ainsi, par sa capacité de modulation estradiol-dépendante de la qualité embryonnaire, la leptine apparaît comme un marqueur pronostique supplémentaire des succès de FIV.

Sur l'ensemble de ces éléments, la leptine constitue un acteur-clé de l'homéostasie énergétique et de la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien, et intervient notamment dans la régulation de la synthèse d'estradiol, en particulier chez les femmes obèses.

Il est de ce fait légitime d'envisager l'adipocyte comme une possible cible thérapeutique.

2.1.2. *L'adiponectine*

2.1.2.1. *Protéine et récepteur*

L'adiponectine est une protéine découverte en 1995, appartenant à la famille des protéines C1q-like. Elle est sécrétée par le tissu adipeux sous la forme d'un homotrimère de 3 sous-unités de 25 à 30 kDa. Ses caractéristiques structurales incluent un domaine collagène et un domaine globulaire de trimérisation. Les trimères d'adiponectine peuvent s'associer pour former des hexamères ou des multimères (Figure 9). L'analyse du domaine globulaire par cristallographie aux rayons X montre une homologie structurale importante avec le TNF- α .

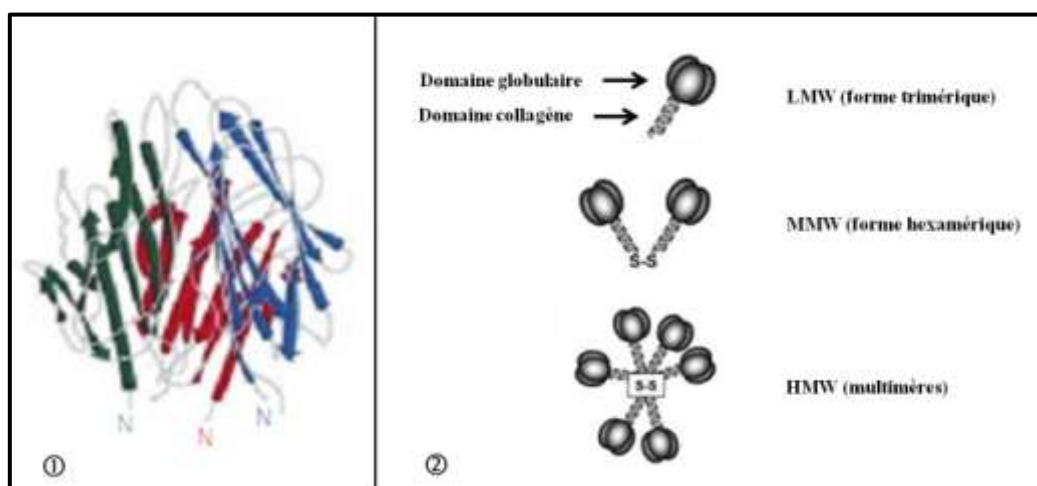


Figure 9 : ① Structure cristallographique du domaine globulaire de trimérisation de l'adiponectine (Shapiro and Scherer, 1998), ② Formes multimériques de l'adiponectine (Waki et al., 2003)

L'adiponectine circule sous une forme multimérique dans le plasma, à la concentration de 8 à 25 $\mu\text{g/mL}$ (Ledoux et al., 2006). Sa sécrétion, contrairement à la leptine, ne subit pas de variations nyctémérales.

Trois récepteurs possibles de l'adiponectine ont été identifiés. AdipoR1 et AdipoR2 sont des protéines à sept domaines transmembranaires, issues de différents gènes et exprimées dans les différents tissus des mammifères. La T-cadhérine a été identifiée comme le récepteur des formes hexamériques et de haut poids moléculaire de l'adiponectine.

Chabrolle *et al* ont rapporté la présence, grâce à des techniques d'immunohistochimie, de l'adiponectine et des récepteurs AdipoR1 et AdipoR2 dans les cellules de la thèque interstitielle, le corps jaune, les ovocytes, et en moindre quantité dans les cellules de la granulosa (Chabrolle et al., 2007). Des récepteurs à l'adiponectine ont également été mis en évidence au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse (Chabrolle et al., 2009).

La nature pléiotropique des interactions de l'adiponectine sur les différents tissus suggère l'implication de multiples voies de signalisation intracellulaire.

Les différentes formes d'adiponectine exercent ainsi des activités biologiques multiples. La forme multimérique est très active dans le foie et les cellules endothéliales. La forme trimérique et celle de longueur maximale sont actives dans un grand nombre de tissus, agissant via la cascade MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). La forme globulaire, produit protéolytique exempt du domaine collagène, a des effets similaires à l'adiponectine de longueur maximale dans certains contextes cellulaires.

La voie MAPK via la phosphorylation de ERK1/2 constitue la principale voie de signalisation intracellulaire impliquée dans la médiation du signal adiponectine notamment dans les cellules ovariennes de la granulosa (Ledoux et al., 2006).

La synthèse et la sécrétion d'adiponectine sont contrôlées par différents mécanismes, qui ne sont pas tous encore parfaitement élucidés.

La concentration en adiponectine est plus forte en cas de sous-poids et de restriction calorique chronique. Elle est en revanche plus basse chez les sujets obèses ou diabétiques. L'hypoadiponectinémie est associée chez l'homme à l'insulinorésistance ainsi qu'au développement du diabète de type 2 (Ledoux et al., 2006).

2.1.2.2. Rôles métaboliques

L'adiponectine induit de multiples effets sur ses tissus-cibles. Elle provoque une augmentation de la sensibilité à l'insuline et réduit la néoglucogénèse hépatique.

Ses effets métaboliques ont été démontrés sur des modèles animaux : des souris knock-out pour l'adiponectine développent un profil d'insulinorésistance et d'intolérance au glucose après un régime riche en graisses (Gosman et al., 2006). L'administration d'adiponectine

recombinante à des modèles de rongeurs obèses et diabétiques permet d'améliorer la sensibilité à l'insuline et la tolérance au glucose (Yamauchi et al., 2001).

L'adiponectine présente également une activité anti-inflammatoire, en particulier sur les cellules endothéliales et les macrophages (Chabrolle et al., 2007). Elle est en effet capable de réduire l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α par le tissu adipeux, alors que ces cytokines inhibent l'expression de l'adiponectine (Giannessi et al., 2007).

Ces observations ont amené Matsuzawa à conclure qu'un déficit en adiponectine, du à une variation génétique ou à une prise de poids, est un facteur principal dans le développement du syndrome métabolique (Matsuzawa, 2006). Chacun des symptômes définissant le syndrome métabolique (obésité, insulino-résistance, dyslipidémie et augmentation de la tension artérielle) est corrélé avec une hypoadiponectinémie.

La synthèse de l'adiponectine est réduite au cours de l'obésité et cette réduction pourrait être impliquée au cours de l'apparition de dysfonctionnements ovariens liés à l'obésité.

2.1.2.3. Adiponectine, fertilité et obésité

Les souris n'exprimant pas le gène de l'adiponectine sont fertiles, suggérant que cette protéine ne soit pas absolument essentielle à la fonction ovarienne. Elle est cependant indispensable pour l'ovulation de certaines espèces ou exerce un rôle complémentaire chez les mammifères, en agissant directement sur l'ovulation ou en augmentant la sensibilité à l'insuline et aux gonadotrophines, influençant ainsi le processus ovulatoire (Ledoux et al., 2006).

De fait, des études portant sur l'inactivation du gène de l'adiponectine et ses conséquences sur la fertilité ont conduit à des résultats ambigus. Ils n'ont pas permis de conclure à un rôle nécessaire ou facultatif de l'adiponectine dans ce processus.

2.1.2.3.1. Axe gonadotrope, folliculogénèse et ovulation

Des données obtenues chez l'animal suggèrent que l'adiponectine exerce un rôle de régulation de l'expression des récepteurs à la GnRH (Chabrolle et al., 2009).

Des effets directs de l'adiponectine ont également été mis en évidence sur les stades tardifs de la folliculogénèse et des interactions avec l'insuline et les gonadotrophines semblent impliquées dans l'induction de modifications périovulatoires des follicules ovariens. De plus, des études cliniques et génétiques associent l'hypoadiponectinémie avec des troubles de la reproduction liés à l'obésité, dont le SOPK.

Ledoux *et al* ont démontré que l'adiponectine, à des taux physiologiques appropriés (10 à 25 µg/mL) régule l'expression de gènes associés au remodelage périovulatoire du follicule sur une période de 6 à 24 heures. Sont concernées en particulier les voies de synthèse des prostaglandines avec la cyclo-oxygénase 2 (ou cox-2) et la prostaglandine E (ou PGE) synthase. L'adiponectine module la stéroïdogénèse et réduit notamment l'activité de l'aromatase dépendant du cytochrome p450 (CYP19) (Ledoux et al., 2006).

Combs *et al* ont suggéré un impact négatif de l'estradiol sur les concentrations sériques en adiponectine (Combs et al., 2003). De fait, bien que l'adiponectinémie soit stable au cours d'un cycle menstruel physiologique, de faibles variations de l'adiponectinémie ont été objectivées au cours d'un cycle de stimulation ovarienne en FIV, avec une décroissance pendant la phase d'administration de FSH recombinante suivie d'une augmentation à partir de la ponction ovocytaire (Liu et al., 2006). Ces observations sont étayées par de récentes données sur des modèles animaux qui permettent la mise en évidence de variations de l'expression d'adiponectine et de ses récepteurs AdipoR1 et AdipoR2 dans les cellules de la granulosa, du complexe cumulo-ovocytaire (COC) et du corps jaune au cours des différentes phases du cycle ovarien. Cependant, la compréhension des effets de l'adiponectine sur la physiologie ovarienne est rendue difficile par l'existence de probables différences entre les espèces, conduisant à des résultats parfois contradictoires selon les équipes (Tabandeh et al., 2010).

Chez les femmes atteintes de SOPK, l'adiponectine circulante est significativement réduite, indépendamment de l'obésité (Ledoux et al., 2006). Par ailleurs, la synthèse d'adiponectine est réduite par les androgènes : cependant, l'hyperandrogénie ne constitue pas

le premier facteur responsable de la diminution de l'adiponectinémie au cours du SOPK. Ces observations appuyées par les premiers résultats d'étude des polymorphismes du gène de l'adiponectine suggèrent que l'hypoadiponectinémie puisse constituer un des critères étiologiques du SOPK (Campos et al., 2008).

Ces constatations renforcent l'origine multifactorielle probable du SOPK reposant sur le rôle de facteurs génétiques d'une part, et de facteurs environnementaux d'autre part.

2.1.2.3.2. Embryogénèse, implantation et issue de grossesse

De récents résultats suggèrent une action possible de l'adiponectine au niveau de l'utérus et du placenta. Des récepteurs AdipoR1 et AdipoR2 ont été caractérisés dans l'endomètre, l'épithélium glandulaire, et dans le stroma fibroblastique ainsi que dans le placenta.

L'hypothèse d'une association entre l'adiponectine et des complications obstétricales telles que la pré-éclampsie a été évoquée par plusieurs auteurs, dans la mesure où l'obésité constitue un des facteurs de risque de ce type de pathologie obstétricale. Cependant, les données actuelles demeurent controversées (Campos et al., 2008).

Les connaissances tant génétiques que cliniques décrites jusqu'à présent impliquent fortement l'adiponectine dans la régulation des fonctions ovarienne, utérine, et placentaire mais ne fournissent pas la certitude définitive d'un rôle absolument essentiel de cette adipokine dans la fonction de reproduction.

Ses effets sur la physiologie ovarienne sont récapitulés dans la Figure 10.

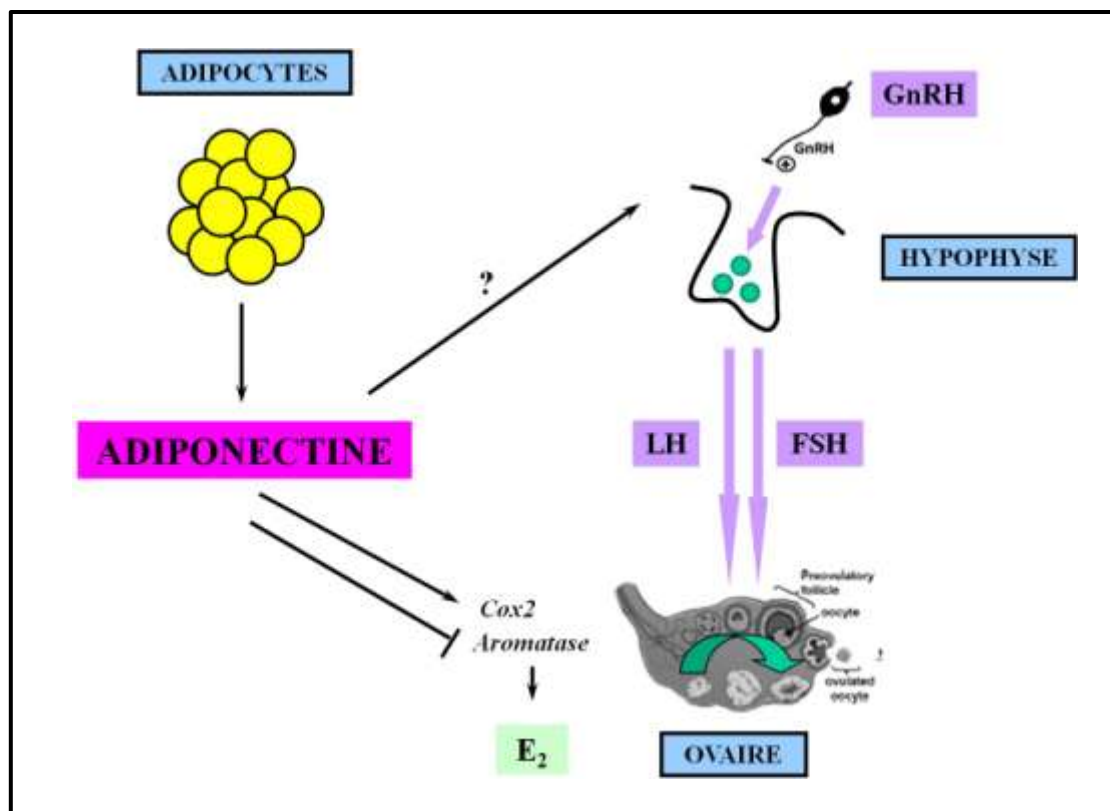


Figure 10 : Effets connus de l'adiponectine sur la physiologie ovarienne

2.1.3. La résistine

La résistine est un polypeptide de 94 acides aminés synthétisé par le tissu adipeux. Elle a été découverte en 2001 au cours d'un screening destiné à identifier les transcrits up-régulés au cours de l'adipogénèse mais diminués au cours d'un traitement agoniste des récepteurs PPAR γ (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ*) (Patel et al., 2003).

Son nom dérive de ses propriétés d'induction d'une insulino-résistance chez des souris. En effet, chez la souris, l'administration de résistine réduit le transport insulino-induit du glucose. Des souris knock-out pour la résistine présentent un poids normal mais montrent une meilleure tolérance au glucose après une prise alimentaire (Steppan et al., 2001). Chez l'homme, la résistine a également des effets sur la tolérance au glucose, l'insulinosensibilité et

sur la différenciation adipocytaire. Cependant, les concentrations sériques en résistine ne sont corrélées ni à l'obésité ni à l'insulinorésistance (Gosman et al., 2006).

Comme la leptine, la résistine pourrait avoir un rôle de médiateur endocrine entre l'homéostasie énergétique et la reproduction, qui reste actuellement peu étayé et controversé.

La résistine est en effet exprimée par les cellules du cumulus (Richards et al., 2008). De plus, l'équipe de Huang *et al* a démontré sur des modèles animaux un effet down-régulateur des œstrogènes sur l'expression de résistine (Huang et al., 2005). Cependant, Seow *et al* ont évalué les concentrations folliculaires et sériques en résistine de femmes atteintes de SOPK au cours d'un processus de FIV et n'ont pas retrouvé de corrélation entre ces concentrations d'une part et les marqueurs de l'insulinosensibilité, la réponse hormonale (estradiol et gonatrophines) et les taux de fécondation et de grossesse d'autre part (Seow et al., 2005). De fait, l'obésité est probablement un déterminant plus important que le SOPK dans la régulation de l'expression de la résistine.

La résistine est par ailleurs fortement exprimée par les macrophages (Hammarstedt et al., 2005). Elle pourrait ainsi constituer un marqueur de l'inflammation : une forte corrélation a été mise en évidence avec certaines cytokines pro-inflammatoires dont l'IL-6 (Ahima and Lazar, 2008).

Ainsi, la résistine est impliquée dans les dysrégulations associées à l'obésité (insulinorésistance, inflammation) ; cependant, aucune étude n'a, à ce jour, démontré son impact direct sur la fertilité.

2.1.4. Le PAI-1

Le *Plasminogen Activator Inhibitor-1* ou PAI-1 est l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (t-PA) 1. Il s'agit d'une glycoprotéine de 52 kDa, synthétisée par le tissu adipeux et présentant une activité prothrombotique. Son rôle est effectivement d'inhiber la formation de plasmine par activation du plasminogène pour la régulation de l'activité fibrinolytique.

Des souris knock-out pour le PAI-1 sont protégées contre le développement de l'obésité et de l'insulinorésistance au cours d'un régime riche en graisses. De plus, les concentrations plasmatiques en PAI-1 corrélaient fortement avec le BMI, le WHR, la glycémie, l'insulinémie

et la concentration en triglycérides plasmatiques (Gosman et al., 2006). L'équipe de Tarkun *et al* a de plus mis en évidence une augmentation des concentrations sériques en PAI-1 actif chez les femmes atteintes de SOPK y compris celles présentant un BMI normal, corrélant directement avec l'insulinorésistance (Tarkun et al., 2004).

Le rôle du PAI-1 sur la fertilité est peu connu. Des souris knock-out pour le PAI-1 présentent une fonction de reproduction normale (Gosman et al., 2006). Les conséquences vasculaires ou cellulaires des concentrations excessives de cette hormone pourraient cependant perturber l'implantation. En effet, Glueck *et al* rapportent une association entre des concentrations élevées en PAI-1 et une augmentation de la prévalence des avortements spontanés. Ils rappellent l'augmentation de la prévalence de l'insulinorésistance chez les femmes présentant des fausses-couches à répétition et font ainsi l'hypothèse d'une implication du PAI-1 dans l'association de l'insulinorésistance avec la survenue de fausses-couches à répétition, probablement par une diminution de l'activité fibrinolytique (Glueck et al., 2003).

2.1.5. *Les autres adipokines*

La visfatine est une protéine de 52 kDa sécrétée essentiellement par le tissu adipeux. Une expression ubiquitaire a également été retrouvée, en particulier dans le foie, la moelle osseuse, les muscles ainsi que dans le trophoblaste.

Ses effets miment ceux de l'insuline, grâce à son action sur le récepteur à l'insuline. L'implication de la visfatine dans la régulation ovarienne et/ou utérine, via la sensibilité à l'insuline ou par d'autres mécanismes, reste à démontrer.

Son expression est augmentée chez les sujets obèses, mais aussi chez les diabétiques de type II. Par ailleurs, l'augmentation des concentrations sériques en visfatine est associée au SOPK. Paradoxalement, il a été montré que les femmes atteintes de diabète gestationnel présentent des concentrations sériques en visfatine abaissées (Campos et al., 2008).

L'omentine ou intelectine est une protéine de 33 kDa, exprimée dans le tissu adipeux, mais aussi retrouvée dans les poumons, l'intestin et le cœur. Elle est par ailleurs fortement exprimée dans les ovaires et le placenta. L'omentine peut améliorer l'assimilation du glucose, induite par l'insuline, dans les adipocytes. Son expression est inversement corrélée avec le

degré d'adiposité mais aucune étude n'a à ce jour établi une relation entre cette adipokine et l'obésité, l'insulinorésistance ou la fertilité (Campos et al., 2008).

La vaspine est une protéine de 45 kDa. Le terme de vaspine trouve son origine dans l'expression anglaise *visceral adipose tissue-derived serpin*. La sécrétion de vaspine est restreinte aux adipocytes à la fois sous-cutanés et viscéraux. Son expression est corrélée avec l'abondance adipocytaire. Elle est considérée comme bénéfique car elle facilite elle-aussi l'assimilation insulino-induite du glucose. Aucune étude n'a, à ce jour, apporté d'information concernant son implication potentielle dans la modulation adipocytaire de la fonction de reproduction.

Ces trois adipokines semblent impliquées dans les mécanismes d'insulinorésistance en relation avec l'obésité. Cependant, les connaissances actuelles portant sur ces trois protéines ne permettent pas de suggérer une relation directe potentielle avec la fonction de reproduction.

2.2. Rôle des cytokines de l'inflammation

Le tissu adipeux sécrète un certain nombre d'adipokines comme évoqué précédemment, ainsi que des cytokines et des facteurs de croissance ayant un effet paracrine et endocrine.

L'obésité est à l'origine d'une inflammation chronique infra-clinique, se manifestant par une augmentation des concentrations circulantes de marqueurs tels que l'interleukine 6 (IL-6), le *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α) ou encore la protéine C réactive (CRP). En réponse à l'accroissement de l'expression d'adipokines pro-inflammatoires, davantage de macrophages infiltrent le tissu adipeux. Ce phénomène accentue la libération de médiateurs de l'inflammation et aggrave la cascade pro-inflammatoire.

Cet état d'inflammation chronique est fortement associé aux pathologies associées à l'obésité telles que le diabète de type II (Schmatz et al., 2009).

Par ailleurs, l'équipe de Richards *et al* a montré que l'ovulation constitue un processus semblable à la réponse inflammatoire. Les follicules produisent des prostaglandines (en particulier la PGE₂) ainsi que des cytokines telles que l'IL-6, et synthétisent une matrice extracellulaire riche en acide hyaluronique, similaire à celle constituée au niveau des sites tissulaires inflammatoires (Richards et al., 2008). La régulation de la production locale de cytokines apparaît essentielle dans le processus d'ovulation, mais aussi dans l'implantation et la grossesse. De plus, les cellules du cumulus auraient un système de réponse primitif qui les autoriserait à capter et à moduler les changements de leur environnement immédiat, comme la présence de produits métaboliques anormaux ou de cellules endommagées ou apoptotiques principalement dans la matrice extracellulaire. Robker *et al* démontrent ainsi que les multiples conséquences de l'obésité, à savoir l'hyperinsulinémie, les dyslipidémies et l'inflammation chronique, ont des effets directs sur le microenvironnement des follicules ovariens, en particulier sur la qualité ovocytaire et sur la stéroïdogénèse (Robker et al., 2009).

Les fonctions précises de cytokines spécifiques, comme l'IL-6 dans l'ovaire, et en particulier dans les cellules folliculaires ovariennes, restent cependant mal définies.

2.2.1. *L'interleukine 6*

L'interleukine 6 ou IL-6 est un médiateur-clé de l'inflammation. Jusqu'à 30% d'IL-6 circulante peut être d'origine adipocytaire.

L'IL-6 appartient à une famille qui comprend plusieurs membres parmi lesquels le LIF (*Leukemia Inhibitory Factor*) ou l'oncostatine M (Liu et al., 2009). Ces molécules partagent un récepteur commun, le transducteur de signal de l'IL-6 ou IL-6ST, encore appelé gp130. La concentration en IL-6 circulante est augmentée chez les sujets obèses et cette augmentation est associée à une réduction de la sensibilité à l'insuline.

Les fonctions biologiques de cette famille de cytokines se recoupent pour certaines d'entre elles. Le LIF est impliqué dans la formation précoce du follicule, la qualité ovocytaire et l'implantation (Liu et al., 2009), suggérant ainsi que cette famille de cytokines puisse être impliquée dans la fonction de reproduction.

Les effets de l'IL-6 au niveau hypothalamique ou hypophysaire sont controversés. Sur des modèles animaux, l'injection intra-cérébro-ventriculaire d'IL-6 inhibe la sécrétion de LH, effet qui n'est pas retrouvé par toutes les études faites sur ce sujet.

Concernant l'ovulation, l'IL-6 est capable, toujours sur des modèles animaux, d'inhiber l'ovulation LH-induite ainsi que la synthèse d'estradiol LH- et FSH-induite. Dans les cellules tumorales humaines de la granulosa, l'IL-6 supprime l'activité de l'aromatase et diminue la synthèse d'estrogènes (Gosman et al., 2006).

Des souris knock-out pour le récepteur gp130 des ovocytes présentent un clivage altéré de l'œuf au stade 2 cellules (Liu et al., 2009). De plus, des taux élevés d'ARNm d'IL-6 ont été retrouvés pendant l'expansion du complexe cumulo-ovocytaire (COC) à la fois *in vitro* et *in vivo*. L'IL-6 est exprimée, sécrétée et agit par des mécanismes de régulation autocrine sur les cellules du cumulus et de follicules en phase d'ovulation. L'induction de l'expression de l'IL-6 est initiée par le pic de LH. L'action de l'IL-6 sur son récepteur active de multiples voies de signalisation cellulaire et induit progressivement l'expression de gènes connus pour être impliqués dans l'expansion du COC.

De plus, le taux d'embryons transférés après une maturation *in vitro* des COC en présence d'IL-6 est significativement plus élevé qu'en l'absence d'IL-6 (Liu et al., 2009). Des études supplémentaires sont cependant nécessaires pour étayer la capacité de l'IL-6 à améliorer la qualité ovocytaire et la fertilité au cours des FIV (Liu et al., 2009).

Les femmes atteintes de SOPK qui ont recours à la FIV présentent, d'une part, des concentrations sériques en IL-6 plus élevées pendant la phase de désensibilisation ovarienne, et d'autre part, des concentrations sériques et folliculaires en IL-6 plus élevées au cours de la ponction d'ovocytes par rapport au groupe contrôle.

Cependant, la plupart des études ne montrent aucun changement des concentrations sériques en IL-6 au cours du cycle menstruel (Gosman et al., 2006).

Des concentrations intrafolliculaires trop élevées de façon prolongée ou à des moments inappropriés (infections chroniques, endométriose, obésité) seraient à l'origine d'effets négatifs prédominants.

Des concentrations élevées en IL-6 sérique ont été retrouvées chez des patientes atteintes d'endométriose et d'autres maladies chroniques liées à l'inflammation : ces concentrations élevées altéreraient l'expression de l'aromatase et d'autres gènes des cellules ovariennes participant à la physiopathologie de l'infertilité chez ces patientes.

L'infertilité, dans ces conditions, pourrait être liée aux effets directs de concentrations anormales ou inappropriées en IL-6 qui pourraient altérer la fonction des cellules folliculaires, la stéroïdogénèse et la qualité ovocytaire.

Les effets connus de l'IL-6 sur la physiologie de l'axe gonadotrope sont schématisés dans la Figure 11.

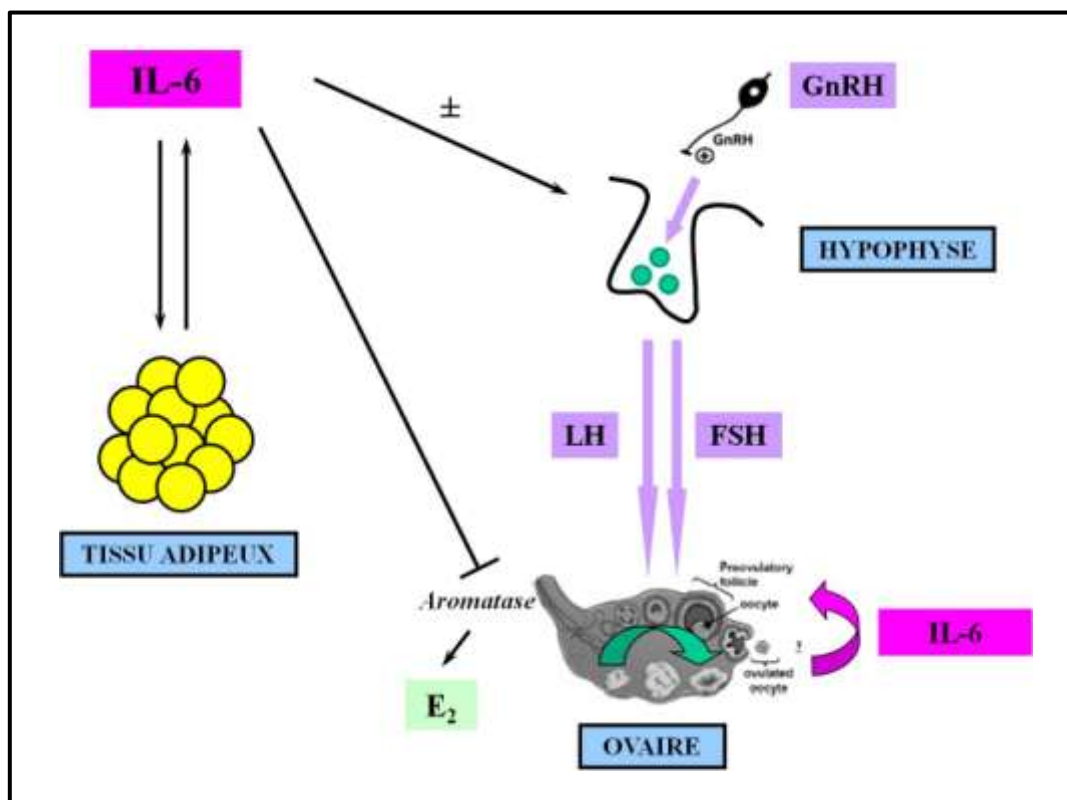


Figure 11 : Interactions connues de l'IL-6 avec l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.

2.2.2. Le *TNF- α*

Le *Tumor Necrosis Factor α* ou *TNF- α* représente la principale cytokine pro-inflammatoire. Il est produit par des cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (polynucléaires neutrophiles, macrophages) et par le tissu adipeux.

Sa concentration plasmatique est corrélée à la fois avec le BMI et avec l'hyperinsulinémie (Gosman et al., 2006). Par ailleurs, les femmes atteintes de SOPK présentent des concentrations en TNF- α très élevées (Gosman et al., 2006).

Le TNF- α adipocytaire exerce probablement des effets locaux principalement paracrines et contribue au pool de TNF- α circulant. *In vitro*, les études démontrent que le TNF- α perturbe, par inhibition de sa signalisation, l'action de l'insuline.

Le TNF- α stimule aussi la sécrétion de leptine par les adipocytes, augmente la sécrétion de PAI-1 et diminue celle d'adiponectine (Gosman et al., 2006).

Le TNF- α exerce un rôle important sur les multiples aspects de la fonction ovarienne, y compris sur l'ovulation, la stéroïdogénèse, la prolifération cellulaire, la différenciation et la régression du corps jaune : le TNF- α et ses récepteurs sont exprimés dans les corps jaunes de nombreuses espèces.

Cependant, l'excès de TNF- α semble avoir des effets pléiotropiques sur les différentes étapes de la reproduction. En effet, l'injection de TNF- α dans le système nerveux central de rats inhibe la sécrétion de LH. De plus, des souris présentant des perturbations du récepteur au TNF- α de type I (TNFR1) présentent un phénotype reproductif altéré. Elles répondent mieux aux gonadotrophines mais donnent des portées plus petites que des souris sauvages.

Enfin, concernant l'implantation, le TNF- α et son récepteur sont exprimés dans l'endomètre humain et le TNF- α a été impliqué comme un facteur potentiel de la perte de grossesse.

Du fait de l'expression pléiotropique de TNF- α et de son récepteur, il reste à préciser comment le TNF- α , circulant ou adipocytaire, influence les diverses étapes de la reproduction.

2.3. Rôle des entérokines

2.3.1. La ghréline

La ghréline est un peptide découvert en 1999, constitué de 28 acides aminés. L'origine de sa dénomination tient à sa capacité à se lier aux récepteurs hypothalamiques et hypophysaires induisant la sécrétion de GH (*Growth Hormon*).

La ghréline est synthétisée et sécrétée de façon pulsatile essentiellement au niveau des cellules neuroendocrines de la muqueuse gastrique ; son expression a également été détectée, mais de façon plus restreinte, au niveau des cellules hématopoïétiques, du foie, des poumons, du pancréas, des testicules ainsi que dans les ovaires, l'endomètre, le placenta, l'embryon, l'hypothalamus et l'hypophyse.

La ghréline se fixe sur des récepteurs à sept hélices transmembranaires couplés à une protéine G dénommés GHS-R (*Growth Hormon Secretagogue-Receptor*) (Budak et al., 2006). Elle exerce des effets sur l'hypothalamus et l'hypophyse en stimulant la sécrétion de GH, et sur l'hypophyse en favorisant la libération de prolactine (Miljic et al., 2006). Elle possède de plus un rôle majeur dans la régulation du comportement alimentaire et du métabolisme énergétique en agissant principalement sur le système nerveux central. Par ses effets orexigènes, elle stimule l'appétit et provoque la prise alimentaire en modulant les voies hypothalamiques de régulation de l'appétit via le neuropeptide Y (NPY) et/ou l'*Agouti Related Protein* (AgRP). Les concentrations en ghréline augmentent en cas de restriction alimentaire et sont négativement corrélées avec le BMI.

Un modèle animal d'invalidation du gène de la ghréline ne montre pas de modification de taille, de répartition corporelle, et de fertilité par rapport à des souris sauvages (Gosman et al., 2006).

Sur la fonction de reproduction, le rôle de la ghréline n'est pas encore parfaitement élucidé. Elle inhiberait le développement embryonnaire et l'implantation. Des concentrations élevées en ghréline pourraient limiter la fonction de reproduction en inhibant la sécrétion de LH (Gosman et al., 2006) par un mode indirect : elle serait en effet capable de réduire la sécrétion de GnRH en inhibant l'expression du gène *KISS1* par certains neurones hypothalamiques (Roa et al., 2009).

La ghréline pourrait également avoir des effets embryotoxiques comme le suggère Barreiro et Tena-Sempere : des rates gravides exposées à de fortes concentrations en ghréline au cours de la première partie de la gestation présentent des portées plus petites (Barreiro and Tena-Sempere, 2004). Kawamura *et al* en 2003 ont de plus montré que la ghréline inhibait le développement d'embryons de souris en culture (Kawamura et al., 2003).

2.3.2. *Le peptide YY3-36*

Le peptide YY est un membre de la famille du NeuroPeptide Y (NPY), identifié pour la première fois en 1980. Ce n'est que récemment que ses effets régulateurs de l'appétit ont été démontrés. En effet, il est sécrété par les cellules intestinales en réponse à la présence du bol alimentaire. Il est alors converti en peptide YY3-36 (PYY₃₋₃₆) par l'enzyme dipeptidyl peptidase IV. Le PYY₃₋₃₆ active alors le récepteur NPYY2, qui lui-même inhibe les neurones NPY et limite l'appétit et la prise alimentaire (Batterham et al., 2002). Le PYY₃₋₃₆ libre est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique pour stimuler les neurones à l'origine de la sensation de satiété et inhiber ceux qui favorisent la prise alimentaire (sécrétant le NPY et l'AgRP).

Les concentrations en peptide YY3-36 sont basses chez les sujets obèses, suggérant que le déficit en peptide YY3-36 pourrait contribuer la pathogénèse de l'obésité (Batterham et al., 2003). Cependant, la même équipe a montré que des sujets obèses présentent la même réponse que des sujets placebo en terme de prise alimentaire suite à une perfusion de PYY₃₋₃₆.

Le fait que le PYY₃₋₃₆ puisse inhiber les neurones NPY suggère un rôle potentiel sur la fonction de reproduction. Sur des modèles de rongeurs obèses, la sécrétion de NPY est excessive et a des effets supprimeurs sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Kalra and Kalra, 1996). Des rongeurs hyperexprimant le NPY présentent un hypogonadisme (Kalra et al., 1999). Le PYY₃₋₃₆ a des effets variables sur la reproduction sur les modèles animaux : il stimule la sécrétion de LH et de FSH mais l'injection de PYY₃₋₃₆ ne montre pas d'effet dose-réponse (Fernandez-Fernandez et al., 2005).

Des données supplémentaires sont nécessaires pour préciser son rôle potentiel sur la fonction de reproduction.

L'implication de ces deux entérokinines sur la fonction de reproduction a été démontrée, notamment sur l'axe gonadotrope par la régulation, au niveau central, de la sécrétion de LH et de FSH. Néanmoins, aucun résultat chez l'homme n'a permis, à notre connaissance, de démontrer leur rôle sur la physiologie ovarienne et sur la fertilité.

En définitive, l'analyse des données de la littérature permet la mise en évidence des interactions entre les perturbations du métabolisme adipocytaire associées à l'obésité et la fertilité. Parmi les adipokines, cytokines et entérokinines concernées, seule la leptine est clairement et précisément impliquée à l'interface entre l'homéostasie énergétique et la physiologie de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. Elle est associée à cette interface à d'autres hormones, dont les effets ne sont pas à ce jour totalement décryptés.

La Figure 12 résume les effets des principales adipokines, cytokines et entérokinines actuellement décrites et leurs rôles respectifs connus ou supposés sur la physiologie de la fonction de reproduction.

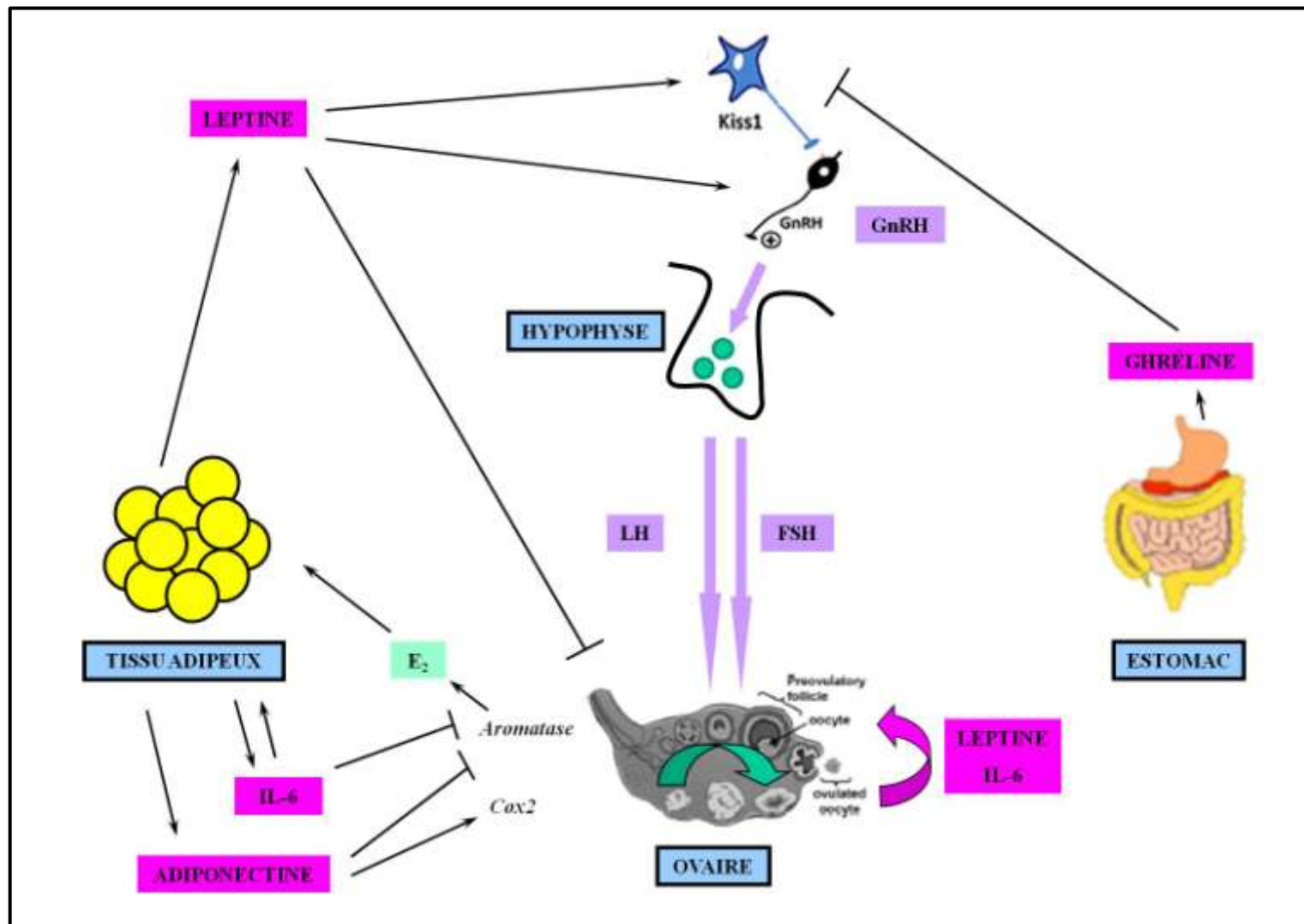


Figure 12 : Récapitulatif des interactions entre les principales adipokines, cytokines et entérokinés et l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien

OBJECTIFS

II. OBJECTIFS

Ce travail comporte 2 axes qui reposent sur une étude rétrospective d'une part, et sur une étude prospective d'autre part.

1. Etude rétrospective

Elle concerne une population de femmes ayant consulté dans le service de Médecine et Biologie de la Reproduction de l'Hôpital Mère-Enfant au CHU de Nantes entre 2006 et 2009, et ayant bénéficié d'un bilan hormonal complet à J3 du cycle. Les patientes concernées ont été colligées. L'exploitation de ces données a permis de déterminer le profil hormonal basal de ces femmes, et d'évaluer parmi celles en surpoids ou obèses, l'impact de l'obésité sur leur profil hormonal et sur leurs issues de stimulation.

2. Etude prospective

Le deuxième axe de travail constitue la phase préliminaire d'un projet de recherche dénommé Adipofert et financé par le FARO (Fond d'Aide à la Recherche Organon®) 2008. Il s'agit d'une étude prospective, observationnelle et non-interventionnelle concernant des femmes obèses.

L'objectif principal de cette étude porte sur la caractérisation de la dysrégulation des hormones et cytokines adipocytaires associée à l'obésité et aux troubles de la reproduction.

Dans cette perspective, ce projet doit permettre :

- de déterminer le profil adipocytaire et inflammatoire des femmes obèses recrutées,
- de le comparer à celui d'une population témoin sélectionnée,
- et enfin de le confronter aux issues de stimulation.

Cette étude a également pour but d'évaluer l'intérêt pronostique des dosages d'adipokines, de cytokines et d'entérokinines en médecine de la reproduction, tant sur la réponse ovarienne que sur l'issue du cycle de stimulation.

L'objectif ultime est de disposer de valeurs biologiques de référence concernant ces hormones, ayant une valeur prédictive pour le développement embryonnaire et la grossesse des femmes en surpoids ou obèses.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Étude rétrospective

Cette étude a porté sur les patientes ayant consulté entre 2006 et 2009 dans le service de Médecine et Biologie de la Reproduction du CHU de Nantes (Dr M.Jean, Pr P.Barrière). Ces femmes ont bénéficié d'un bilan hormonal basal complet à J3 du cycle avec notamment un dosage d'Hormone Anti-Müllerienne (AMH) permettant de mieux apprécier la réserve ovarienne. Nous avons donc travaillé sur cette population dont l'effectif s'élève à 582 femmes.

Les informations suivantes relatives aux patientes et aux issues des cycles de stimulation ont été relevées ou calculées :

➤ caractéristiques de la population étudiée :

- âge
- BMI
- durée d'infécondité

L'origine masculine, féminine ou mixte de l'infertilité n'a pas été prise en compte.

- CFA (Compte de Follicules Antraux)
- bilan hormonal à J3 : dosages des marqueurs hormonaux (FSH, estradiol, LH, AMH)

➤ caractéristiques du cycle de stimulation :

- rang de tentative
- dose de FSH injectée
- nombre d'unités de FSH nécessaires par ovocyte ponctionné
- nombre d'unités de FSH nécessaires par embryon obtenu
- type de protocole utilisé (agoniste ou antagoniste)
- FIV ou ICSI
- nombre d'ovocytes ponctionnés
- nombre d'ovocytes matures

- maturité ovocytaire : rapport entre le nombre d'ovocytes matures et le nombre d'ovocytes ponctionnés
- nombre d'embryons obtenus
- taux de fécondation : rapport entre le nombre d'embryons obtenus et le nombre d'ovocytes injectés
- qualité embryonnaire à J3 définie par le pourcentage de top embryons :
Les embryons scorés 8.1.1, 10.1.1, 6.1.1 sont considérés comme des embryons « top qualité ».
- nombre d'embryons transférés

➤ issues de cycle :

- obtention d'une grossesse
- issue de grossesse (accouchement à terme, fausse-couche spontanée)
- taux d'annulation de transfert : rapport entre le nombre de femmes n'ayant pu bénéficier d'un transfert d'embryons et le nombre de tentatives réalisées
- taux d'implantation : rapport entre le nombre d'embryons implantés et le nombre d'embryons transférés
- taux de fausses-couches spontanées : rapport entre le nombre de fausses-couches spontanées et le nombre de grossesses débutées
- taux d'accouchement : rapport entre le nombre d'accouchements et le nombre de tentatives réalisées.

Il est à noter que les paramètres relatifs au cycle de stimulation étudié concernent la stimulation suivant immédiatement le bilan hormonal effectué à J3.

Les paramètres cliniques et biologiques ont été relevés grâce aux logiciels Medifirst™ (Montigny Le Bretonneux, France) et Clinicom™ (Siemens Health Services, Bidart, France). La base de données Echo utilisée dans le service de Médecine et Biologie de la Reproduction a permis le recueil des données échographiques.

Les patientes ont été réparties en 4 groupes en fonction de leur BMI :

- Groupe 1 : patientes présentant un BMI strictement inférieur à 18 kg/m^2 (maigreur)
- Groupe 2 : patientes présentant un BMI compris entre 18 et 24.9 kg/m^2 (poids normal)
- Groupe 3 : patientes présentant un BMI compris entre 25 et 29.9 kg/m^2 (surpoids)
- Groupe 4 : patientes présentant un BMI supérieur ou égal à 30 kg/m^2 (obésité).

Les effectifs respectifs de chaque groupe sont résumés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Répartition des effectifs de la population d'étude en fonction de la classification OMS du sous-poids, du surpoids et de l'obésité (2000)

Groupe	1	2	3	4	Total
BMI (kg/m^2)	< 18	≥ 18 et ≤ 24.9	≥ 25 et ≤ 29.9	≥ 30	
Effectif	24 (4.13 %)	409 (70.27 %)	104 (17.87 %)	45 (7.73 %)	582
BMI moyen du groupe (kg/m^2)	17.21	21.16	26.68	33.62	22.95

Au sein du groupe 4, 5 patientes sont obèses morbides (BMI supérieur ou égal à 40 kg/m^2 avec un BMI moyen de 42.71 kg/m^2).

L'âge moyen des patientes prises en charge est de 33 ans.

Dans le cadre de cette étude portant sur les effets du surpoids et de l'obésité, seules les patientes appartenant aux groupes 2, 3 et 4 ont été retenues soit 558 femmes.

Les patientes ont alors été classées en 2 groupes d'étude : les femmes présentant un BMI normal (18 à 25 kg/m^2) d'une part, celles en surpoids ou obèses (BMI ≥ 25 kg/m^2) d'autre part.

2. Étude prospective

La phase préliminaire de l'étude Adipofert a permis le recrutement sur 12 mois de 20 patientes présentant un surpoids ou une obésité et consultant dans le service de Médecine et Biologie de la Reproduction du CHU de Nantes (Dr M.Jean, Pr P.Barrière).

2.1. Critères d'inclusion

L'inclusion des patientes dans le protocole Adipofert repose sur les critères suivants, à savoir :

- BMI strictement supérieur à 28 kg/m^2
- FIV et/ou ICSI prévue dans les 6 mois
- suivi de la stimulation ovarienne réalisée au CHU de Nantes
- âge strictement inférieur à 35 ans
- origine géographique caucasienne ou africaine
- consentement libre et éclairé signé

L'inclusion dans le protocole ne modifie en aucun cas la prise en charge habituelle des patientes ni leur traitement : cette étude est non interventionnelle.

La seule contrainte induite par l'inclusion repose sur le recueil de 10 mL supplémentaires de sang sur tube sec au cours du prélèvement habituellement effectué à J3 du cycle.

Les paramètres cliniques relevés lors de la consultation sont les suivants :

- âge
- présence d'un hirsutisme clinique
- poids
- taille
- détermination du tour de taille et du tour de hanche en vue du calcul du WHR.

Les paramètres échographiques, notamment le compte de follicules antraux (CFA) et la présence éventuelle d'ovaires micropolykystiques ont été relevés.

Le diagnostic de syndrome des ovaires polykystiques a été retenu selon les recommandations actuelles (Azziz et al., 2009) lorsque deux des trois critères suivants étaient réunis :

- hyperandrogénie clinique (hirsutisme) et/ou biologique (testostérone sérique totale $> 0.75 \text{ µg/L}$ et/ou $\Delta 4$ -androstènedione sérique $> 3.1 \text{ µg/L}$)
- présence à l'échographie de plus de 12 follicules mesurant chacun de 2 à 10 mm de diamètre.

Le diagnostic de SOPK a été porté pour 10 femmes sur les 20 incluses dans le protocole.

Les paramètres biologiques évalués à l'inclusion portent sur :

- ❖ un bilan à J3 du cycle permettant l'évaluation de :
 - l'axe gonadotrope : dosages de la FSH, de la LH, et de l'estradiol sériques
 - la réserve ovarienne : dosage de l'AMH sérique
 - l'hyperandrogénie biologique : dosages de la testostérone totale et de la $\Delta 4$ -androstènedione sériques
- ❖ un bilan à jeun au cours duquel sont appréciés :
 - l'insulinorésistance : détermination de l'insulinémie et de la glycémie qui ont permis le calcul du HOMA (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*) (insulinémie (mUI/L) x glycémie (mmol/L) / 22.5)
 - le profil adipocytaire et inflammatoire : dosages de la leptine, de l'adiponectine, de la ghréline, de la résistine, de l'IL-6, du TNF α , et du PAI-1 actif sériques. Nous avons choisi d'y associer le dosage sérique de la CRP ultrasensible ou CRP_{us}, marqueur de choix pour apprécier le statut inflammatoire de bas grade.

2.2. Constitution d'une population de femmes présentant un bilan hormonal favorable à J3

En parallèle, nous avons choisi de constituer une cohorte de femmes présentant un bilan hormonal favorable. Les patientes ont été sélectionnées parmi les femmes consultant dans le service de Médecine et Biologie de la Reproduction et bénéficiant d'un bilan hormonal à J3 du cycle. La sélection de cette population témoin a été effectuée sur la période de septembre 2009 à février 2010.

Nous avons donc retenu pour la constitution de cette population, les critères cliniques, biologiques et échographiques explicités dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Critères de sélection de la population témoin

Critères		Intervalles acceptés	Moyennes du groupe
Cliniques	Age (ans)	≤ 35	30.2
	BMI (kg/m^2)	> 18 et ≤ 25	22.21
	Endométriose	Profonde exclue	
Biologiques	FSH (UI/L)	≤ 10	7.43
	Estradiol (ng/L)	< 50	29.14
	AMH ($\mu\text{g/L}$)	≥ 1.9 et ≤ 6.9	3.29
	Testostérone ($\mu\text{g/L}$)	< 0.7	0.30
	Prolactine ($\mu\text{g/L}$)	< 17	9.19
Echographiques	CFA	≤ 25	18.88

Pour la constitution du groupe témoin, 35 patientes ont ainsi été retenues. Du fait de contraintes liées au recrutement de cette population témoin, certaines patientes sélectionnées présentent au maximum un paramètre ne se situant pas dans l'intervalle précisé. La décision de les inclure a été prise du fait de l'absence d'autre critère défavorable. Néanmoins, cette situation n'a concerné qu'une minorité de patientes : en effet, pour chaque critère, plus de 90% de la population se situe dans les intervalles cités.

Les moyennes obtenues pour chaque variable permettent de valider la sélection de cette population.

3. Protocole de stimulation

Les patientes étudiées ont été soumises à un protocole antagoniste standard de stimulation ovarienne avec monitoring échographique et hormonal (dosages d'estradiol, de LH, et de progestérone) de la réponse ovarienne.

Les injections quotidiennes de FSH recombinante ont été débutées en début de phase folliculaire. La dose de départ a été décidée selon les éventuels traitements antérieurs et selon le bilan de réserve ovarienne. La posologie a été ajustée en fonction de la surveillance

échographique et hormonale. L'antagoniste a été introduit de façon flexible en cours de stimulation, généralement à J6. L'ovulation a été déclenchée par administration d'hCG quand 3 follicules au moins ont atteint 17 mm de diamètre.

Lors de la ponction ovocytaire, les complexes cumulo-ovocytaires ont été séparés du liquide folliculaire pour mise en culture en FIV conventionnelle ou en FIV-ICSI. Après fécondation, les embryons obtenus ont été cultivés avant transfert intra-utérin. La stratégie de transfert embryonnaire (jour du transfert, nombre d'embryons transférés) a été déterminée conjointement avec le couple en fonction du développement embryonnaire, des éventuelles tentatives antérieures, des potentielles contre-indications médicales ... Les embryons présentant 6 à 10 blastomères réguliers sans fragmentation à J3 ont été considérés comme des embryons « top qualité ». L'implantation a été détectée par le dosage de l'hCG plasmatique 11 jours après le transfert, puis l'évolutivité de la grossesse a été vérifiée par échographie cinq à six semaines après le transfert.

4. Techniques de dosages

4.1. Bilan hormonal standard

Les paramètres suivants ont permis d'évaluer :

- la réserve ovarienne avec le dosage sérique de :
 - l'AMH par technique ELISA (*Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay*) – Immunotech Beckman Coulter™ (Marseille, France)
 - la FSH, la LH, et l'estradiol (E₂) par électrochimiluminescence sur Elecsys® – Roche Diagnostics™ (Meylan, France)

- l'hyperandrogénie biologique avec le dosage sérique de :
 - la testostérone totale par technique RIA (*Radio-Immuno-Assay*) – CIS bio™ (Gif sur Yvette, France)

- et la $\Delta 4$ -androstènedione par technique RIA – Immunotech Beckman Coulter™ (Marseille, France)

➤ l'insulinorésistance avec le dosage de :

- l'insulinémie par technique IRMA (*ImmunoRadioMetric Assay*) – CIS bio™ (Gif sur Yvette, France)
- la glycémie sur Modular® – Roche Diagnostics™ (Meylan, France)

4.2. Bilan adipocytaire et inflammatoire

Le profil adipocytaire et inflammatoire a été déterminé par le dosage sérique de :

- la CRPus par néphélométrie sur *Behring Nephelometer™ II* (BN™II) – Siemens Healthcare Diagnostics™ (Saint Denis, France)
- la leptine, de l'adiponectine, de la ghréline, de la résistine, de l'IL-6, du TNF α , et du PAI-1 actif par technologie Luminex™ (réactifs Millipore™, Saint Quentin en Yvelines, France) sur Fidis™ (Marne La Vallée, France).

La technologie Luminex™ repose sur un système équipé de 2 lasers permettant d'identifier simultanément jusqu'à 100 billes (constituées d'un mélange de 2 fluorochromes rouges) ce qui rend possible l'identification et la quantification simultanées de 100 analytes.

Des billes de polystyrène sont couplées à deux fluorochromes. Chaque bille est définie par un ratio précis de la quantité des deux fluorochromes incorporés permettant de distinguer les billes les unes des autres.

Ces billes sont également marquées par des anticorps de capture, spécifiquement dirigés contre l'antigène à doser.

Après ajout du sérum à tester, la détection est effectuée grâce à des anticorps couplés au système streptavidine-biotine et marqués par la phycoérythrine (PE). Le principe de ce dosage est récapitulé sur la Figure 13.

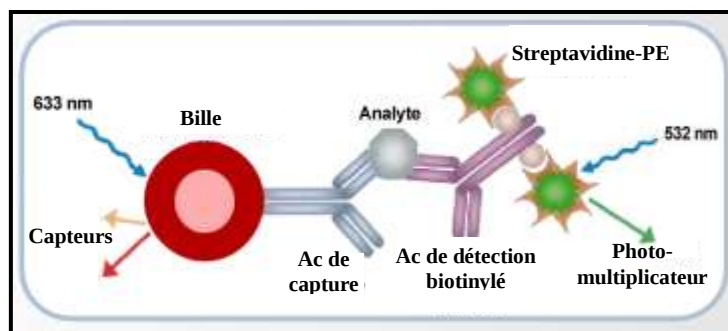


Figure 13 : Principe de dosage en technologie Luminex™ (d'après Luminex™)

Le dosage s'effectue en microplaques de 96 puits. Après des étapes d'incubation et de lavages préconisées par le fournisseur, la fin de l'analyse repose sur l'aspiration du contenu des puits dans un fluide de gaine et la lecture de la fluorescence, selon le principe de la cytométrie en flux. Les billes passent les unes après les autres devant chacun des deux lasers au sein de la chambre de mesure (Figure 14).



Figure 14 : Représentation des deux lasers et de leurs cibles respectives (d'après Luminex™)

Le laser rouge émet à 633 nm et permet l'excitation des deux fluorochromes incorporés à l'intérieur des billes, qui vont chacun réémettre une fluorescence rouge et infrarouge enregistrée par des capteurs à la sortie du flux. Les billes sont ainsi identifiées de façon spécifique au sein d'une région de billes, définie par l'intensité des fluorescences rouge

et infrarouge (Figure 15). L'utilisation au préalable de calibrateurs du cytomètre permet de garantir la bonne identification des billes.

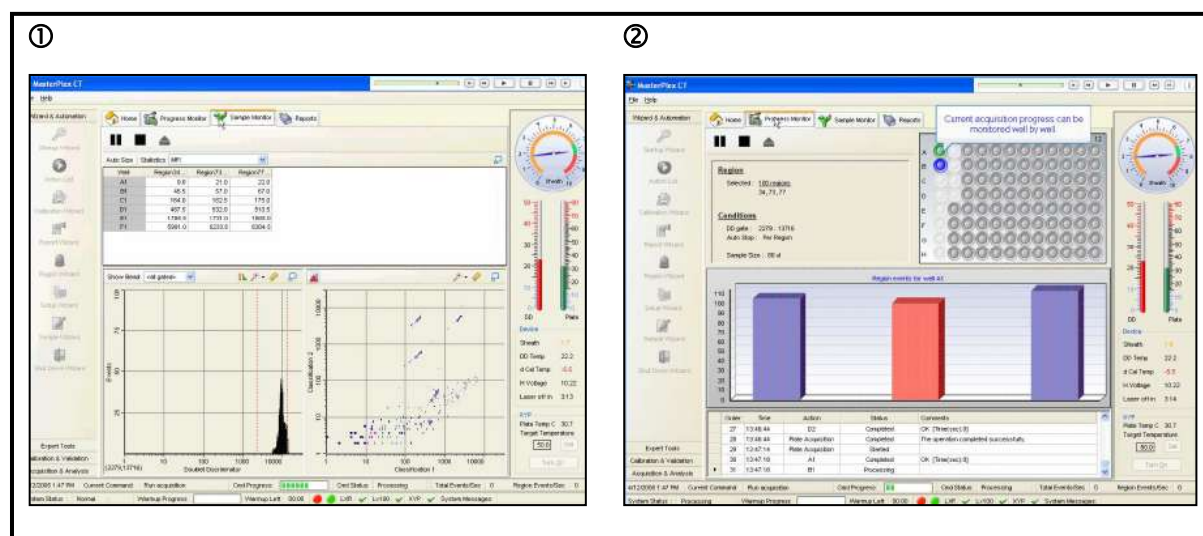


Figure 15 : Exemple de graphique affiché par le logiciel d'exploitation montrant l'identification des billes (①) et le suivi du nombre de billes (②) identifiées par le cytomètre au sein des différentes régions définies lors de la calibration

Le laser vert émettant à 532 nm excite le fluorochrome des anticorps de révélation (comme la phycoérythrine : PE) et permet ainsi la quantification de la réponse.

La durée maximale de l'acquisition et le nombre minimal de billes lues sont définis par le fournisseur : lorsque le nombre de billes requis n'est pas atteint, aucun résultat n'est rendu.

La Figure 16 montre le type de courbe de calibration obtenue sur Fidis™ Luminex™.

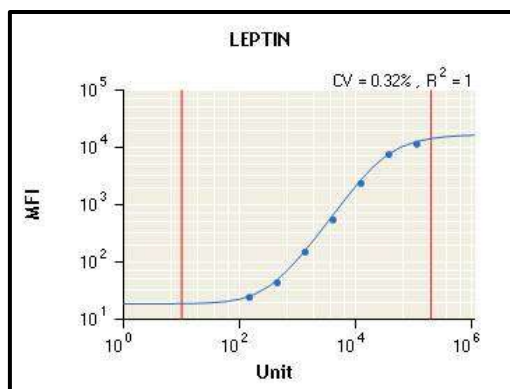


Figure 16 : Exemple de courbe de calibration obtenue sur Fidis™ Luminex™

Plusieurs panels sont actuellement commercialisés. Concernant les adipokines et entérokines, nous avons choisi de tester la leptine, l'adiponectine, la résistine, le PAI-1 et la ghréline. Pour ce qui est des marqueurs de l'inflammation, notre choix s'est porté sur le dosage de l'IL-6 et du TNF- α . Nous avons choisi d'y associer le dosage de la CRPus, par technique néphélométrique, de façon à compléter le bilan inflammatoire basal.

Deux panels ont été utilisés :

- l'un pour le dosage de la leptine, de la ghréline, du TNF α et de l'IL-6
- l'autre pour le dosage de l'adiponectine, de la résistine et du PAI-1, ces paramètres nécessitant une dilution préalable des échantillons au 1/400^{ème}.

Les dosages ont été réalisés selon les recommandations du fournisseur (Millipore™) sur l'appareil Fidis™ Luminex™.



Figure 17 : Représentation de l'appareil Fidis™ Luminex™ constitué de trois éléments : la pompe, le cytomètre, et le système d'exploitation permettant l'acquisition des données

Le Tableau 5 résume les différentes caractéristiques du dosage.

Tableau 5 : Caractéristiques techniques de l'analyse sur Luminex™, coffrets Millipore™
(selon les données du fournisseur)

Paramètre	Domaine de mesure (pg/mL)
Leptine	137.2 – 100 000
Adiponectine	16 – 250 000
Ghréline	13.7 – 10 000
Résistine	3.2 – 50 000
PAI-1 actif	3.2 – 50 000
IL-6	13.7 – 10 000
TNF- α	2.7 – 2 000

5. Exploitation statistique des résultats

Les données recueillies pour les deux études ont été analysées statistiquement. Plusieurs tests ont été utilisés, à savoir :

- comparaison de données quantitatives :
 - ❖ le test de Mann-Withney pour les comparaisons de deux groupes de patientes
 - ❖ le test de Kruskal-Wallis (avec test de Dunn) pour les comparaisons de plus de deux groupes
- comparaison de données qualitatives :
 - ❖ le test du Chi2 ($n > 5$)
 - ❖ ou la méthode exacte de Fisher ($n < 5$)
- étude de corrélation : test de Spearman.

Ces analyses ont été réalisées grâce à GraphPad Prism 5.00[®], logiciel Graphpad pour Windows, San Diego Californie USA. Pour toutes ces analyses, une signification statistique a été retenue pour une valeur de p inférieure à 0.05.

RÉSULTATS

IV. RESULTATS

1. Étude rétrospective

1.1. Caractéristiques de la population étudiée

Les différentes caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques de la population étudiée pour l'analyse rétrospective sont rassemblées dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques de la population d'étude

Paramètre		$18 \leq \text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ n=409	$\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ n=149	p
Critères cliniques	Age (ans)	32.44 ± 4.36	32.93 ± 4.68	NS
	Durée d'infécondité (ans)	3.26 ± 1.40	5.17 ± 3.01	NS
Critères biologiques	FSH J3 du cycle (UI/L)	7.30 ± 1.94	6.91 ± 1.93	0.041
	E ₂ J3 du cycle (ng/L)	38.83 ± 19.38	33.56 ± 13.40	0.020
	LH J3 du cycle (UI/L)	5.13 ± 2.39	4.63 ± 1.97	0.036
	AMH (µg/L)	4.03 ± 3.19	4.46 ± 3.60	NS
Critères échographiques	CFA (2-10 mm)	17.30 ± 9.65	18.45 ± 9.71	NS

L'analyse des caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques des deux groupes présentés permet de formuler les observations suivantes.

Tout d'abord, il n'apparaît pas de différence significative concernant l'âge des patientes entre les deux groupes. L'âge moyen des patientes prises en charge est de 33 ans (32.4 ans dans le groupe « BMI normal » et 32.9 ans dans le groupe « BMI ≥ 25 »).

Bien que les patientes atteintes de SOPK n'aient pas été exclues de ces deux groupes, l'examen des critères biologiques et échographiques ne montre aucune différence significative

pour le marqueur de la réserve ovarienne (AMH), ni pour le compte de follicules antraux (CFA). Les moyennes obtenues pour ces deux paramètres se situent dans les valeurs normales pour les deux groupes.

L'analyse du bilan hormonal à J3 montre que les patientes en surpoids ou obèses présentent une concentration basale de FSH, d'estradiol et de LH significativement plus basse que les patientes de poids normal. Les moyennes observées se situent néanmoins dans les valeurs de référence.

De plus, la durée d'infécondité n'est pas statistiquement différente entre les deux populations, mais la durée moyenne d'infécondité a tendance à être plus longue parmi les femmes obèses.

Ainsi, bien que certaines patientes présentent à l'échelle individuelle un ou plusieurs facteurs péjoratifs, les moyennes obtenues sur les différents paramètres relevés se situent dans les valeurs de référence pour les deux groupes.

1.2. Caractéristiques des cycles de stimulation

Le relevé des différents paramètres des cycles de stimulation ovarienne a permis d'obtenir les résultats présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Paramètres du cycle de stimulation pour les deux groupes étudiés

Paramètre	$18 \leq \text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ n=409	$\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ n=149	<i>p</i>
Rang de tentative	1.64 ± 1.01	1.59 ± 0.93	NS
Dose de FSH injectée (U)	2146.75 ± 659.83	2318.65 ± 703.57	0.018
Nombre d'unités de FSH nécessaires par ovocyte ponctionné	269.70	299.40	NS
Nombre d'unités de FSH nécessaires par embryon obtenu	625.17	773.60	0.009
Type de protocole (agoniste/antagoniste)	208/199	77/71	NS
FIV/ICSI	174/231	54/95	NS
Nombre d'ovocytes matures	10.04 ± 4.86	9.76 ± 5.29	NS
Nombre d'embryons obtenus	5.16 ± 3.44	4.62 ± 3.80	0.026
Taux de fécondation (%)	61.88 ± 37.44	57.33 ± 28.75	NS
Qualité embryonnaire à J3 (% de top embryons)	52.40 ± 32.00	55.72 ± 32.39	NS
Nombre d'embryons transférés	1.10 ± 0.76	1.06 ± 0.82	NS

L'observation la plus marquante concerne la nécessité de recourir à des doses significativement plus importantes de FSH pour les patientes en surpoids ou obèses ($2318.65 \text{ U} \pm 703.57$) par rapport aux femmes de BMI normal ($2146.75 \text{ U} \pm 659.83$).

Pour ce qui est de la réponse ovarienne, le nombre d'ovocytes matures obtenus n'est pas significativement différent entre les 2 groupes (9.76 en moyenne pour les patientes obèses, 10.04 pour les patientes de BMI normal). Ce résultat est cohérent avec le bilan (hormonal et échographique) d'évaluation de la réserve ovarienne. Le nombre d'embryons obtenus est plus faible chez les femmes en surpoids ou obèses (4.62 ± 3.80 vs 5.16 ± 3.44), mais la qualité embryonnaire à J3 est équivalente (respectivement $55.72 \pm 32.39 \%$ et $52.40 \pm 32.00 \%$). Ces résultats doivent également être interprétés en fonction de l'impact du facteur masculin.

1.3. Issues de stimulation

Les paramètres relatifs aux issues de stimulation ont permis de calculer les indicateurs suivants (Tableau 8) :

Tableau 8 : Issues de cycle de stimulation des deux groupes étudiés

	18 ≤ BMI < 25 kg/m² n=409	BMI ≥ 25 kg/m² n=149	<i>p</i>
Taux d'annulation de transfert (%)	22.25	29.53	NS
Taux d'implantation (%)	29.24	26.03	NS
Taux de fausses-couches spontanées (%)	22.43	30.56	NS
Taux d'accouchement par cycle (%)	16.63	10.07	NS

L'analyse des issues de stimulation montre que le surpoids et l'obésité n'affectent pas les résultats des stimulations ovariennes au seuil retenu comme statistiquement significatif.

Néanmoins, une tendance semble se dessiner entre les 2 groupes de patientes, en particulier pour le taux de fausses-couches spontanées et le taux d'annulation de transfert, plus élevés dans le groupe des femmes en surpoids ou obèses (taux de fausses-couches spontanées de 30.56 % pour les obèses vs 22.43 % et taux d'annulation de transfert de 29.53 % vs 22.25 %). Cette tendance serait probablement affirmée sur des effectifs plus importants.

Le bilan de cette analyse rétrospective met en évidence les principaux retentissements de l'obésité sur la fertilité, et sur la prise en charge en AMP. Les observations effectuées sont cohérentes avec les données existant dans la littérature.

La caractérisation des conséquences de l'obésité sur la fertilité pose ainsi tout l'intérêt de décrypter l'impact précis et les mécanismes par lesquels l'obésité peut affecter la physiologie ovarienne et les résultats obtenus au cours d'un processus de stimulation ovarienne.

Dans ce cadre, seule une étude prospective peut permettre d'approfondir et d'évaluer le lien mis en évidence entre l'obésité, le métabolisme adipocytaire et la fonction de reproduction.

2. Étude prospective

2.1. Caractéristiques des groupes étudiés

Les résultats présentés ci-dessous pour la population dite « Adipofert » concernent un effectif de 20 patientes constitué jusqu'au 22 février 2010.

L'effectif des femmes présentant un bilan hormonal favorable est de 35 patientes : cette cohorte sera dénommée « témoins » dans la suite de l'exposé.

Les caractéristiques de chacune des deux populations sont résumées dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques de la population Adipofert et de la population témoin

Paramètre		Cohorte		p
		Témoins (n=35)	Adipofert (n=20)	
Critères cliniques	Age (années)	30.2	33.2	0.0098
	BMI (kg/m ²)	22.21	36.19	<0.0001
	Durée d'infécondité (années)	3.56	4.17	<0.0001
	Pas d'hirsutisme (n)	-	11	-
	Hirsutisme modéré (n)	-	5	-
	Hirsutisme important (n)	-	4	-
Critères biologiques	FSH (UI/L)	7.43	6.37	0.0039
	E ₂ (ng/L)	29.14	56.25	0.0199
	LH (UI/L)	5.50	4.85	0.0804
	AMH (µg/L)	3.29	5.46	NS
	Testostérone (µg/L)	0.30	0.56	0.0002
	Δ4-androstènedione (µg/L)	-	1.81	-
Critères échographiques	CFA	18.88	22.10	NS

L'analyse des caractéristiques cliniques, biologiques et échographiques des deux groupes montre que ces deux populations sont différentes.

Les patientes constituant la cohorte Adipofert sont significativement plus âgées (33.2 ans en moyenne) que les témoins (30.2 ans en moyenne) et présentent, comme dans l'étude rétrospective, une durée d'infécondité plus longue (4.17 ans vs 3.56 ans) qui doit probablement être rattachée à leur différence d'âge.

Malgré ces différences, l'analyse du bilan hormonal à J3 retrouve les mêmes interprétations que dans l'étude rétrospective. En effet, les concentrations sériques en FSH et LH à J3 sont plus basses chez les femmes obèses (respectivement 6.37 UI/L vs 7.43 UI/L et 4.85 UI/L vs 5.50 UI/L) et ce malgré leur âge plus élevé.

Par ailleurs, les concentrations en estradiol et en testostérone à J3 du cycle sont elles significativement plus élevées au sein de la population Adipofert (56.25 ng/L et 0.56 µg/L) par rapport aux témoins (29.14 ng/L et 0.30 µg/L). De plus, le compte de follicules antraux et le dosage de l'AMH ont tendance à être plus élevés chez les femmes obèses (respectivement 22.10 vs 18.88 et 5.46 µg/L vs 3.29 µg/L). Ces observations biologiques et échographiques doivent être rattachées à la présence de patientes atteintes de SOPK dans la cohorte Adipofert, soit la moitié de l'effectif concerné.

2.2. Comparaison du profil hormonal adipocytaire des deux groupes

Les dosages effectués par technologie Luminex™ et par néphélémétrie sur BN™II permettent d'obtenir les résultats présentés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Résultats des dosages sériques d'adipokines, cytokines et entérokinines effectués par technique Luminex™ et par néphélémétrie

Paramètre	Moyenne pour la cohorte		<i>p</i>
	Témoins (n=35)	Adipofert (n=20)	
Leptine (ng/mL)	14.71	45.59	<0.0001
Adiponectine (µg/mL)	15.82	9.73	0.0072
Ghréline (pg/mL)	11.10	22.41	NS
Résistine (ng/mL)	25.96	22.80	NS
PAI-1 (ng/mL)	10.20	19.91	<0.0001
IL-6 (pg/mL)	34.21	19.81	NS
TNF-α (pg/mL)	3.77	5.53	0.0058
CRPus (mg/L)	3.32	6.79	0.0012

Les valeurs de référence par technologie Luminex™ ne sont pas précisées dans le Tableau 10 dans la mesure où elles n'ont pas été déterminées pour une population féminine du même âge d'effectif suffisant. De plus, dans le cadre de cette étude, seule la comparaison des deux groupes considérés était nécessaire pour atteindre les objectifs fixés.

La comparaison des résultats pour les deux populations étudiées démontre :

- un profil adipocytaire modifié chez les patientes obèses. En effet, une concentration sérique en leptine significativement plus élevée dans la population Adipofert (45.59 ng/mL) a été retrouvée par rapport à celle des témoins (14.71 ng/mL) ainsi qu'une adiponectinémie significativement plus basse dans le groupe Adipofert (9.73 vs 15.82 µg/mL). La concentration sérique moyenne en PAI-1 est de plus significativement plus élevée chez les obèses par rapport aux témoins (19.91 vs 10.20 ng/mL).

Pour la résistine et la ghréline, les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Cependant, la concentration sérique en résistine a tendance à être plus faible au sein de la cohorte Adipofert ; pour la ghréline, la comparaison des deux groupes semble montrer une concentration sérique plus élevée dans la population Adipofert.

- un statut inflammatoire de bas grade, caractérisé par une concentration sérique en TNF-α et en CRPus significativement plus élevée chez les obèses par rapport aux

témoins (respectivement 5.53 vs 3.77 pg/mL et 6.79 vs 3.32 mg/L). La concentration sérique en IL-6 a tendance à être plus faible au sein de la cohorte Adipofert.

Les tendances observées pourraient probablement être confirmées sur des effectifs plus importants.

Les variations observées correspondent à celles rapportées dans la littérature pour une population obèse comparée à une population témoin, en particulier pour la leptine, l'adiponectine et les marqueurs de l'inflammation.

2.3. Comparaison des issues de stimulation

Il faut noter qu'au sein du groupe témoin, certaines patientes (n=14) n'ont pas bénéficié d'une stimulation ovarienne à ce stade de l'étude. Pour d'autres patientes, la stimulation a dû être interrompue du fait d'un défaut de recrutement folliculaire (n=7 pour le groupe Adipofert, n=2 pour le groupe témoin).

Le nombre de patientes concernées au sein des deux groupes est présenté dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Etat des prises en charge des effectifs Adipofert et témoins lors des dosages des marqueurs adipocytaires et inflammatoires

	Cohorte	
	Témoins	Adipofert
Effectif total	35	20
Stimulation non encore effectuée	14	-
Stimulation réalisée	21	19
• FIV/ICSI	16	19
- Complète jusqu'à la ponction ovocytaire	14	11
- Conversion en IIU (Insémination Intra-Utérine)	-	1
- Echec par défaut de recrutement folliculaire	2	7
• IIU	2	-
• IS (Induction Simple)	3	-
Grossesse spontanée	0	1

Pour 6 des 14 témoins n'ayant pas encore bénéficié d'une stimulation ovarienne, le bilan initial d'infertilité a retrouvé une étiologie masculine orientant vers une prise en charge de type don de sperme.

Pour la suite de la présentation des résultats et compte tenu des critères d'inclusion du protocole Adipofert (FIV et/ou ICSI), seules les témoins prises en charge en FIV et/ou ICSI sont prises en compte soit 19 patientes pour le groupe Adipofert et 16 patientes pour le groupe témoin.

Les données relatives au cycle de stimulation de ces patientes ont été relevées et sont rapportées à titre indicatif dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Caractéristiques des cycles de stimulation des populations Adipofert et témoin ayant bénéficié d'un cycle de stimulation

	Cohorte	
	Témoins (n=16)	Adipofert (n=19)
Rang de tentative	2.87	2.10
Dose de FSH injectée (U)	1875.78	2250.66
Nombre d'unités de FSH nécessaires par jour de stimulation	202.63	255.07
Nombre d'unités de FSH nécessaires par ovocyte ponctionné	186.72	347.23
Nombre d'unités de FSH nécessaires par embryon obtenu	588.50	1104.75
Type de protocole (agoniste/antagoniste)	2/14	0/19
FIV/ICSI	5/11	11/8
Nombre d'ovocytes matures	10.14	7.36
Nombre d'embryons obtenus	4.57	3.09
Qualité embryonnaire à J3 (% de top embryons)	32.47	20.00
Nombre d'embryons transférés	1.79	1.54

L'analyse préliminaire des caractéristiques du cycle de stimulation pour ces sous-groupes de patientes ayant bénéficié d'une stimulation ovarienne permet de retrouver l'impact de l'obésité sur les doses de FSH recombinante administrées. La dose de FSH totale administrée, la dose de FSH injectée par jour ou par ovocyte ponctionné sont plus élevées chez les femmes de la cohorte Adipofert par rapport aux témoins.

Il est à noter que le nombre d'ovocytes matures, le nombre d'embryons obtenus et la qualité embryonnaire sont plus faibles dans cette cohorte de patientes en surpoids ou obèses par rapport aux témoins.

Enfin, concernant les issues de stimulation, sur les 4 patientes ayant débuté une grossesse dans le groupe Adipofert, 2 ont présenté une fausse-couche spontanée, les 2 autres grossesses ainsi que la grossesse spontanée observées étant toujours évolutives. Pour la population témoin, sur les 6 grossesses débutées, 3 sont toujours évolutives et 3 ont conduit à une fausse-couche spontanée.

C'est sur ces sous-groupes de patientes ayant bénéficié d'une stimulation ovarienne par FIV et/ou ICSI que l'impact du profil adipocytaire et inflammatoire sur la prise en charge a été évalué.

2.4. Évaluation de l'impact du profil adipocytaire et inflammatoire sur les issues de stimulation

Cinq paramètres, à savoir la leptine, l'adiponectine, le PAI-1, le TNF- α et la CRP se sont révélés statistiquement différents entre les deux populations. Nous avons donc choisi d'évaluer l'impact du profil adipocytaire et inflammatoire sur les différentes étapes de la stimulation ovarienne pour ces cinq marqueurs.

Les caractéristiques du cycle de stimulation qui ont été retenues pour évaluer cet impact sont les suivantes :

- la stimulation ovarienne appréciée par le nombre d'unités de FSH recombinante administrée par jour de stimulation et par ovocyte ponctionné, ainsi que par l'issue de la stimulation (ponction ovocytaire possible ou échec de stimulation).

- la réponse ovarienne : le recueil de plus de 5 ovocytes matures constitue une bonne réponse ovarienne. Au contraire, une ponction ovocytaire retrouvant 5 ovocytes matures ou moins traduit une faible réponse ovarienne.
- l'issue du cycle de stimulation évaluée sur le nombre de transferts embryonnaires réalisés et le nombre de grossesses obtenues.

Les résultats sont présentés sur les Figures 18 à 22 pour le profil adipocytaire et sur les Figures 23 et 24 pour le profil inflammatoire.

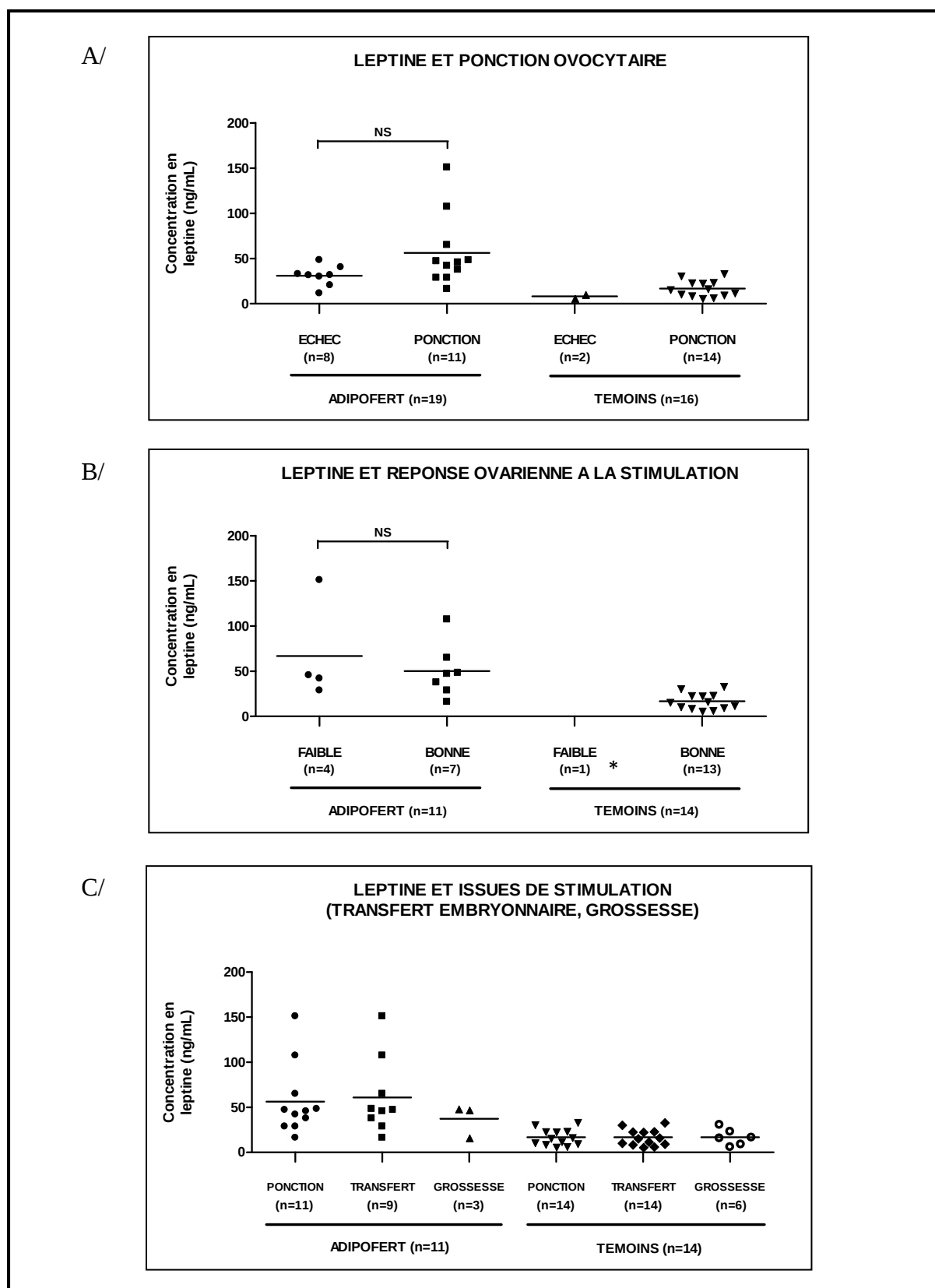


Figure 18 : Concentrations sériques en leptine en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne)

(* : Dosage impossible, nombre de billes lues insuffisant)

La Figure 18 met en évidence des concentrations sériques en leptine plus élevées parmi les patientes de la population Adipofert par rapport aux témoins.

Par ailleurs, la leptine n'apparaît pas comme un paramètre prédictif d'un échec de stimulation ovarienne (leptinémie moyenne du groupe Adipofert en cas d'échec de stimulation : 30.94 ng/mL vs 56.19 ng/mL pour les ponctions ovocytaires) ou de la qualité de la réponse ovarienne (leptinémie moyenne du groupe Adipofert en cas de faible réponse ovarienne : 66.86 ng/mL vs 50.09 ng/mL pour les bonnes réponses ovariennes) en cas d'obésité.

Malgré les faibles effectifs considérés, l'observation la plus marquante concerne l'échec d'implantation et de grossesse chez les patientes du groupe Adipofert dont la concentration sérique en leptine est très élevée. En effet, il faut noter que les patientes du groupe Adipofert et du groupe témoin ayant débuté une grossesse après le transfert embryonnaire présentent une leptinémie inférieure à 50 ng/mL, seuil biologique déjà évoqué dans la littérature.

La Figure 19 représente la corrélation entre le nombre d'unités de FSH administrées par jour (Figure 19 A) et par ovocyte ponctionné (Figure 19 B) et la leptinémie.

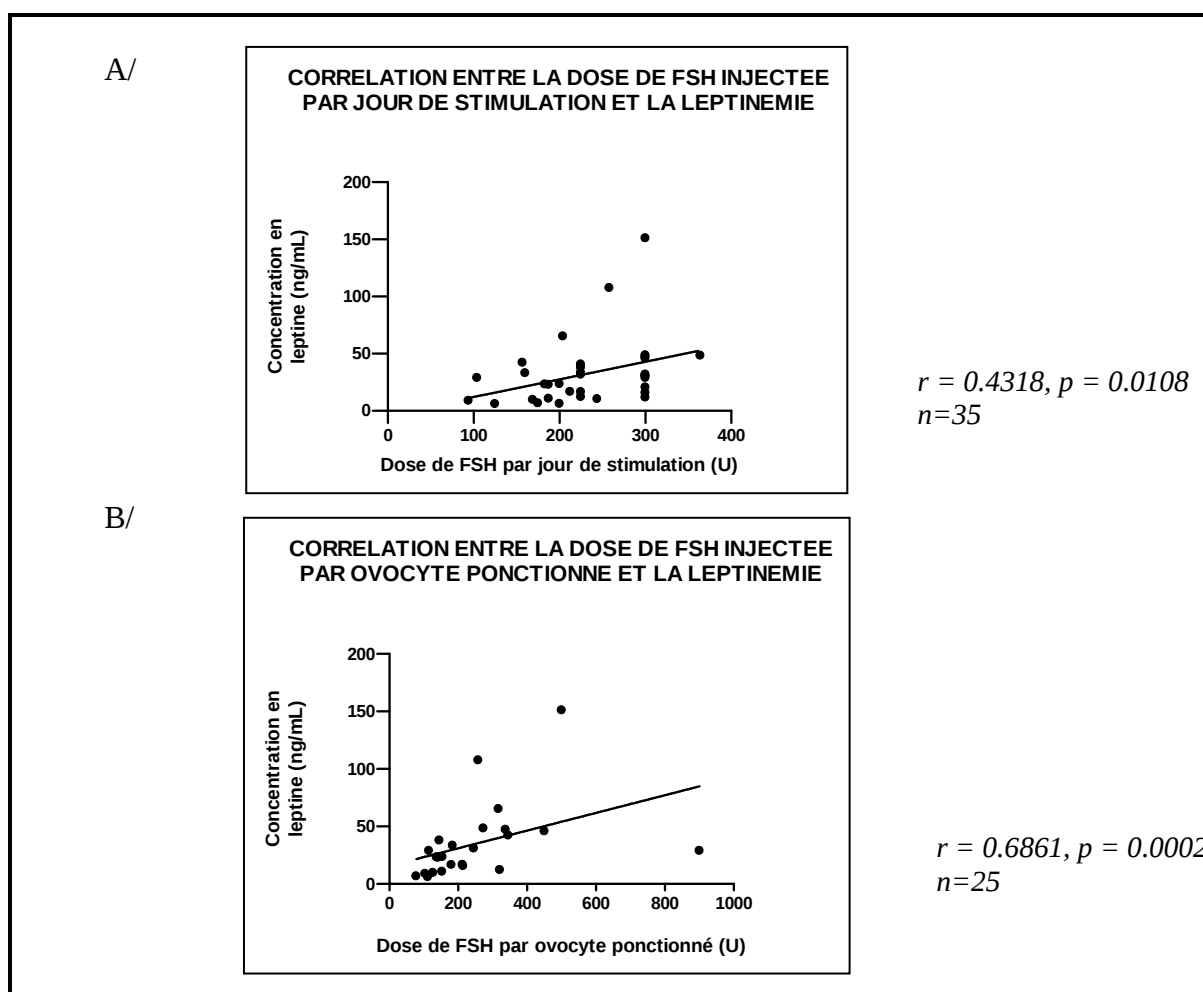


Figure 19 : Évaluation de la stimulation ovarienne : corrélation entre le nombre d'unités de FSH recombinante administrée par jour de stimulation (A), par ovocyte ponctionné (B) et la concentration sérique en leptine

La leptinémie est corrélée de façon significative sur cet effectif à la dose de FSH par jour et par ovocyte ponctionné. Néanmoins, toute interprétation satisfaisante nécessiterait d'être effectuée sur une population plus importante.

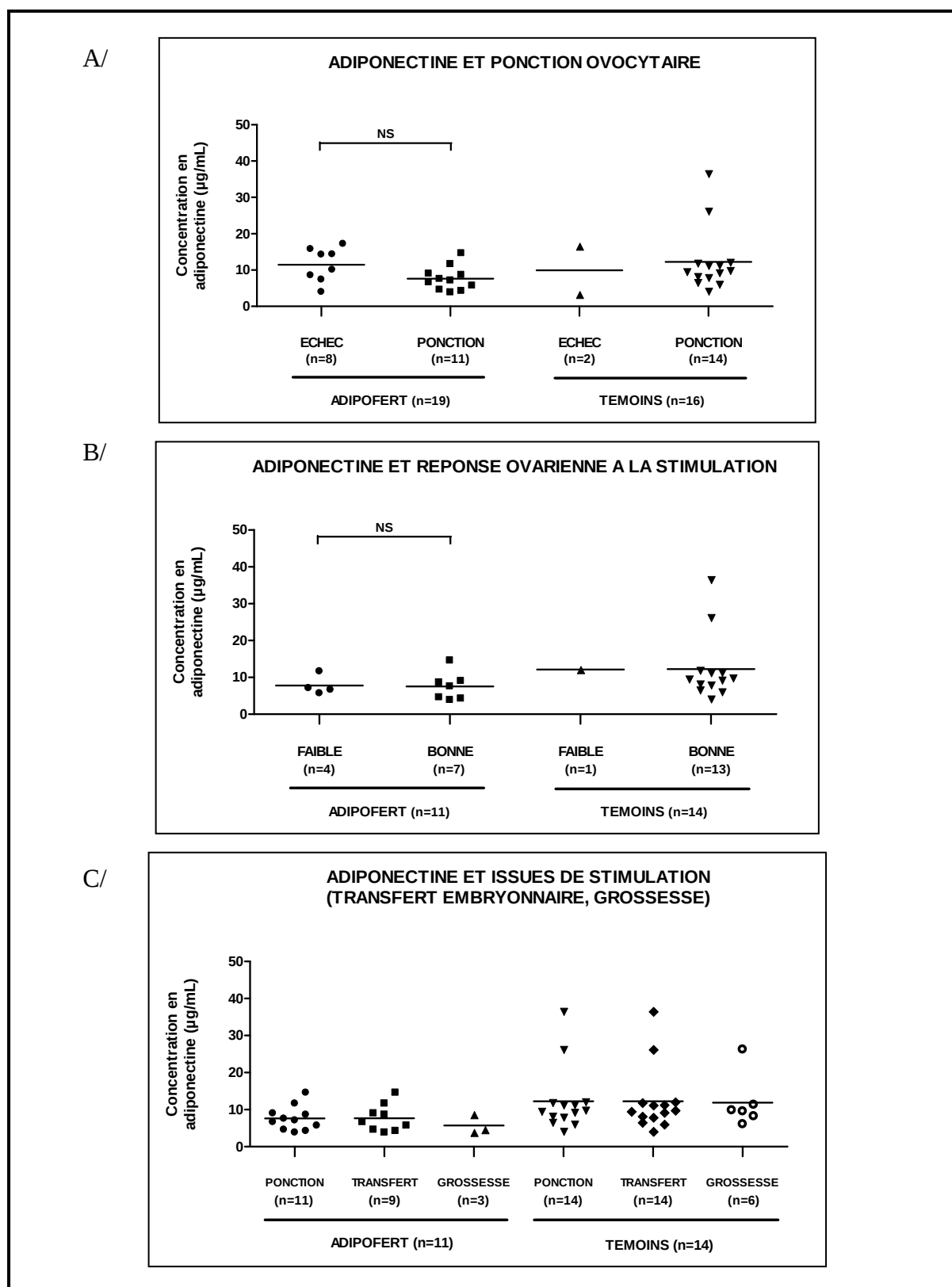


Figure 20 : Concentrations sériques en adiponectine en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne)

La Figure 20 illustre les concentrations sériques en adiponectine plus faibles observées chez les patientes obèses.

De plus, l'adiponectine ne semble pas constituer un facteur prédictif d'échec de stimulation (adiponectinémie moyenne du groupe Adipofert en cas d'échec de stimulation : 11.45 µg/mL vs 7.62 µg/mL pour les ponctions ovocytaires) ou de la qualité de la réponse ovarienne (adiponectinémie moyenne du groupe Adipofert en cas de faible réponse ovarienne : 7.79 µg/mL vs 7.52 µg/mL pour les bonnes réponses ovariennes).

La Figure 20 C met également en évidence des concentrations sériques en adiponectine équivalentes entre les patientes ayant bénéficié d'une ponction ovocytaire, celles ayant bénéficié d'un transfert embryonnaire et celles ayant débuté une grossesse, que ce soit dans le groupe Adipofert (respectivement 7.62 µg/mL, 7.68 µg/mL et 5.72 µg/mL) ou dans le groupe témoin (respectivement 12.22 µg/mL, 12.22 µg/mL et 11.89 µg/mL).

Ainsi, malgré les faibles effectifs observés, l'adiponectine n'apparaît pas, à ce stade de l'étude, comme un marqueur prédictif de l'issue de stimulation ovarienne.

Par ailleurs, la corrélation évoquée dans la littérature entre l'adiponectinémie et l'insulinorésistance est également mise en évidence dans la cohorte Adipofert (Figure 21).

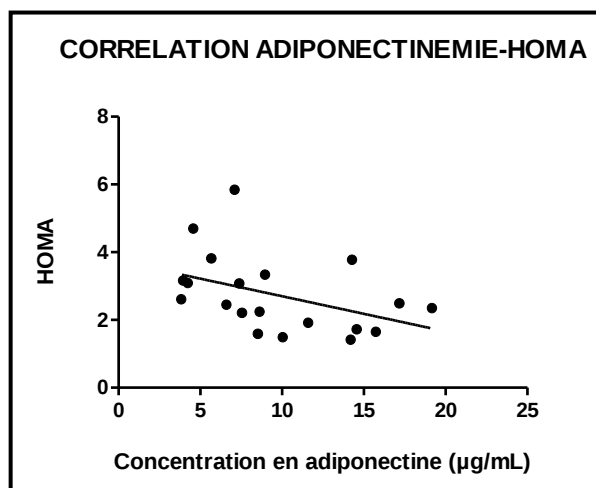


Figure 21 : Corrélation entre l'adiponectinémie et l'insulinorésistance appréciée par le HOMA au sein de la cohorte Adipofert ($p=0.0235$, $r=-0.5038$)

L'analyse de la Figure 21 montre une corrélation significative et négative entre l'adiponectinémie et l'insulinorésistance évaluée par le HOMA. Néanmoins, entre l'adiponectinémie et le WHR, la corrélation n'est pas significative à ce stade de l'étude.

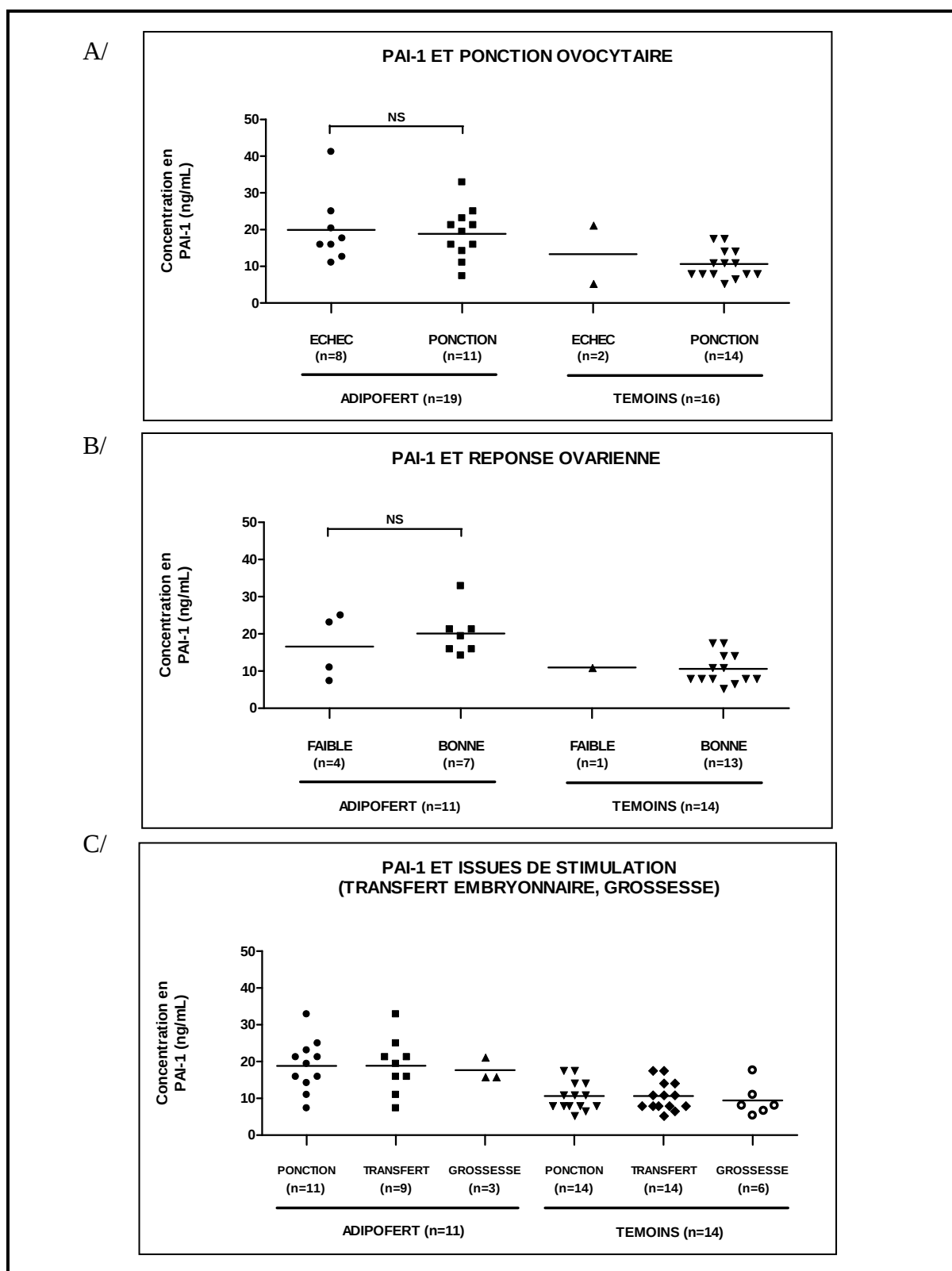


Figure 22 : Concentrations sériques en PAI-1 en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne)

L'analyse de la Figure 22 permet la mise en évidence de concentrations sériques en PAI-1 significativement plus élevées dans le groupe Adipofert par rapport aux témoins.

Cependant, la répartition des concentrations obtenues en fonction du résultat de la ponction ovocytaire (concentration moyenne en PAI-1 du groupe Adipofert de 18.81 ng/mL pour les ponctions ovocytaires vs 19.91 ng/mL pour les échecs de stimulation), de la qualité de la réponse ovarienne (16.58 ng/mL pour les femmes obèses ayant présenté une faible réponse ovarienne vs 20.09 ng/mL pour les bonnes réponses ovariennes) et des issues de stimulation ne permet pas dans l'immédiat d'envisager le PAI-1 comme une adipokine d'intérêt prédictif en FIV.

En effet, les concentrations sériques en PAI-1 du groupe Adipofert et du groupe témoin restent stables entre les patientes ayant bénéficié d'une ponction ovocytaire, puis d'un transfert embryonnaire et les patientes ayant débuté une grossesse à l'issue du cycle de stimulation.

Les résultats obtenus concernant l'impact du profil inflammatoire sur les différentes étapes de la stimulation ovarienne sont présentés dans les Figures 23 et 24.

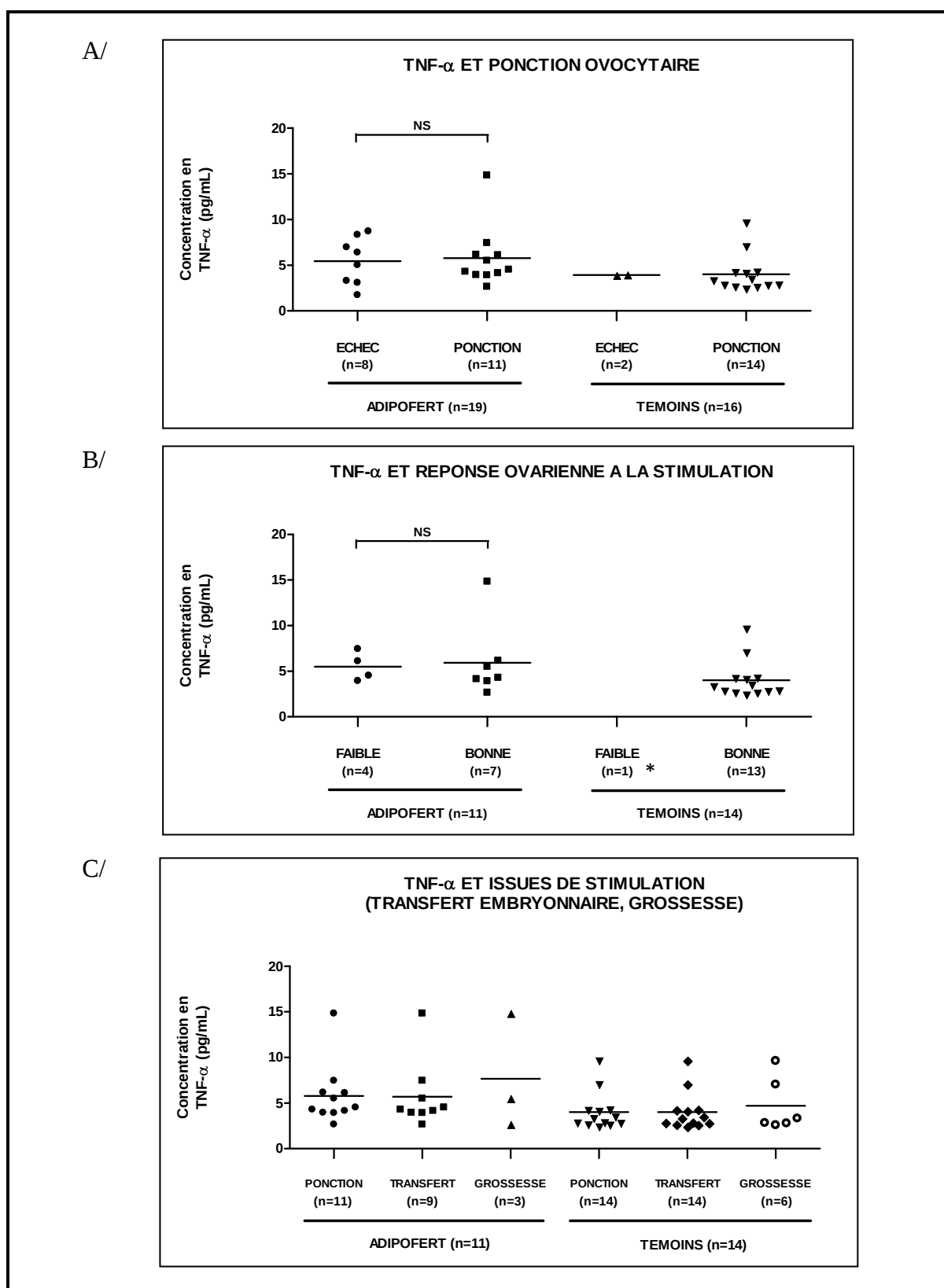


Figure 23 : Concentrations sériques en TNF- α en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne)

(* : Dosage impossible, nombre de billes lues insuffisant)

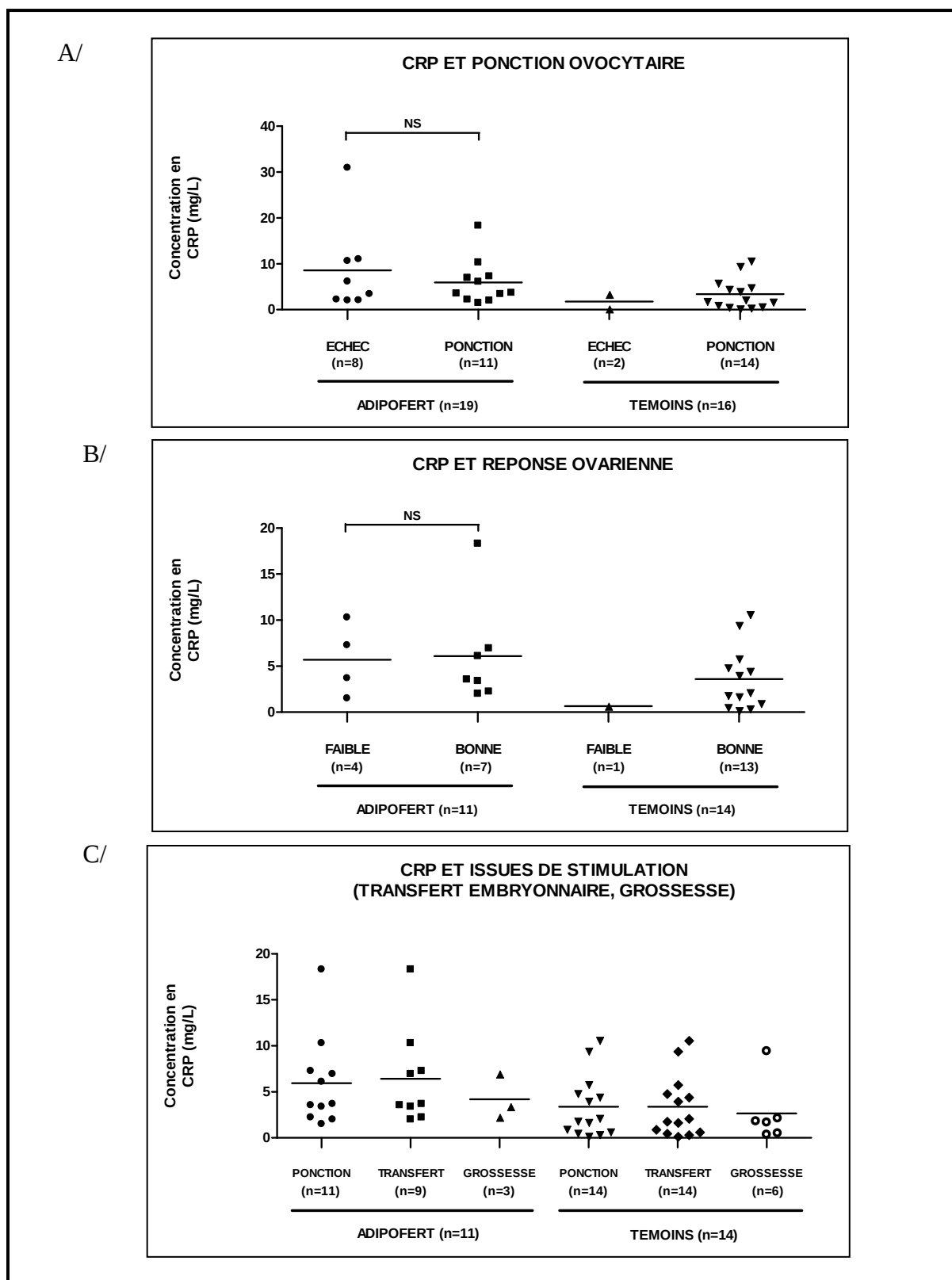


Figure 24 : Concentrations sériques en CRP en fonction des différents paramètres de la stimulation ovarienne (la barre horizontale indique la moyenne)

Le statut pro-inflammatoire lié à l'obésité est confirmé. Les Figure 23 et Figure 24 retrouvent des concentrations sériques en TNF- α et en CRP plus élevées pour les patientes Adipofert par rapport aux témoins. Ces observations sont cohérentes avec celles retrouvées par d'autres équipes, comme celle d'Olszanecka qui montrent des concentrations sériques en TNF- α de 6.9 pg/mL chez des patientes obèses par rapport à des témoins de BMI normal dont les concentrations en TNF- α sont retrouvées à 3.1 pg/mL (Olszanecka-Glinianowicz et al., 2010). Malgré cette différence, les concentrations sériques obtenues, en particulier pour le TNF- α (5.53 pg/mL en moyenne parmi les obèses), restent basses par rapport à celles de patientes présentant un statut inflammatoire plus marqué tel que celui associé à l'endométriose. L'inflammation associée à l'obésité constitue donc bien un processus de bas grade infraclinique.

Comme pour l'adiponectine et le PAI-1, les concentrations observées pour ces marqueurs de l'inflammation restent équivalentes entre les groupes de patientes ayant bénéficié d'une ponction ovocytaire, celles ayant pu bénéficier d'un transfert embryonnaire et celles ayant débuté une grossesse. Ces constatations ne permettent donc pas, à ce stade, de suggérer la valeur prédictive de l'un de ces marqueurs sur le succès de la stimulation ovarienne en FIV.

2.5. Cas des syndromes OPK

La catégorisation des patientes du groupe Adipofert en fonction de la présence ou de l'absence d'un SOPK ne montre pas de différence statistiquement significative des concentrations sériques en leptine (46.97 ng/mL vs 44.21 ng/mL) et en adiponectine (8.58 μ g/mL vs 10.89 μ g/mL) entre les patientes présentant un SOPK (n=10) et les autres patientes de la cohorte Adipofert (n=10).

Néanmoins, la concentration sérique en adiponectine a tendance à être plus faible dans le groupe SOPK que dans le groupe dit non SOPK.

Cette évaluation préliminaire ne permet pas de dégager de tendance forte au sein de la population obèse entre les patientes atteintes de SOPK et celles non atteintes. Elle ne permet pas davantage de suggérer un éventuel rôle de ces adipokines comme facteur discriminant du SOPK. Cette première projection étant réalisée sur 10 patientes pour le groupe SOPK et 10 patientes pour le groupe non SOPK au sein de la cohorte Adipofert, elle est bien sûr à confirmer au terme du recrutement de ce protocole.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

V. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Les deux études présentées avaient pour but de caractériser l'impact de l'obésité sur la fertilité.

L'étude rétrospective a permis d'évaluer le retentissement de l'obésité sur le profil hormonal basal et sur les issues de stimulation en FIV. Les principaux résultats obtenus concernent le bilan hormonal à J3, l'adaptation des doses de FSH recombinante administrée ainsi que les conséquences sur les issues de stimulation.

La phase préliminaire de l'étude prospective a permis de démontrer l'existence de dysrégulations adipocytaires associées à l'obésité et aux troubles de la fertilité. Le profil adipocytaire et inflammatoire des femmes obèses a pu être déterminé et des hypothèses peuvent être formulées quant à l'intérêt pronostique de certains paramètres. Parmi ces paramètres, seule la leptine apparaît, à ce stade, comme une adipokine d'intérêt, permettant potentiellement d'envisager la détermination d'un seuil biologique décisionnel.

1. Impact de l'obésité sur la prise en charge en FIV

Les résultats des deux études montrent une concentration basale en FSH et en LH à J3 plus basse chez les patientes en surpoids ou obèses par rapport aux patientes de poids normal. Cette observation est cohérente avec des études précédentes qui retrouvent également une altération de la sécrétion pulsatile de LH et de FSH chez les femmes obèses (De Pergola et al., 2006). En réalité, ces différences relativement minimes ne modifient pas la conduite pratique des équipes cliniques.

L'élément le plus important concerne l'adaptation de la prise en charge des patientes obèses au cours d'un cycle de stimulation.

En effet, les patientes en surpoids ou obèses nécessitent des doses significativement plus importantes de FSH recombinante par rapport aux femmes ayant un BMI normal ($2319 \text{ U} \pm 704$ vs $2147 \text{ U} \pm 660$, $p = 0.018$). Les résultats sont identiques pour l'étude prospective.

Cette observation montre qu'à bilan de réserve ovarienne équivalent (AMH, CFA), il est nécessaire d'utiliser des doses de FSH recombinante significativement plus élevées chez des

femmes obèses ou en surpoids par rapport à des femmes ayant un BMI normal pour obtenir une réponse ovarienne comparable.

Cet effet est retrouvé par la plupart des études (Tableau 2). L'adaptation nécessaire du protocole de stimulation suggère une résistance ovarienne à la stimulation exogène et/ou des modifications de la biodisponibilité des molécules utilisées en relation avec l'augmentation du BMI. Plusieurs hypothèses ont été formulées pour l'expliquer.

L'équipe de Jungheim évoque l'impact de l'obésité sur la résorption des gonadotrophines administrées et propose effectivement une majoration des doses administrées ou bien l'utilisation d'une autre voie d'administration (Jungheim et al., 2009). Deux publications font état de la supériorité de l'injection par voie intra-musculaire par rapport à l'administration sous-cutanée (Steinkampf et al., 2003) (Chan et al., 2003).

Une autre hypothèse repose sur le rôle de la leptine dans la réponse à la stimulation exogène de patientes obèses comme l'évoquent plusieurs auteurs.

Les résultats obtenus au cours de l'étude prospective retrouvent en effet une corrélation significative entre la dose de FSH administrée par jour de stimulation ou par ovocyte ponctionné et la leptinémie.

Bützow *et al* ont montré une augmentation de 60 % des concentrations sériques en leptine entre la phase de désensibilisation hypophysaire et la phase de stimulation ovarienne maximale, corrélant avec les concentrations de FSH. Cette augmentation de la leptinémie est associée à une faible réponse ovarienne. Cette synthèse majorée de leptine pourrait être effectuée par les cellules de la granulosa. Ainsi, sur la base de ces observations, la leptine pourrait exercer, à de fortes concentrations durant un cycle de FIV, une action inhibitrice sur la fonction ovarienne. Elle pourrait expliquer en partie que des femmes obèses requièrent des doses plus élevées de FSH pour obtenir une stimulation ovarienne efficace (Butzow et al., 1999).

Gurbuz *et al* évoquent une stimulation de la synthèse de leptine en réponse à l'estradiol. Cette production pourrait être favorisée jusqu'à une concentration déterminée, au-delà de laquelle la leptine limiterait le développement ovocytaire et la synthèse d'estradiol (Gurbuz et al., 2005). Sur ces hypothèses, il est alors légitime d'envisager une adaptation du monitoring biologique de la réponse ovarienne non plus seulement sur la détermination des concentrations sériques en estradiol mais aussi sur celles de leptine.

L'analyse des caractéristiques des cycles de stimulation démontre que l'obésité ne compromet pas la prise en charge en FIV (nombre d'ovocytes obtenus équivalent) dès lors qu'une adaptation des doses de FSH administrée est effectuée. Cependant, l'obésité pourrait influencer le nombre d'embryons obtenus, résultat retrouvé uniquement au cours de l'étude rétrospective.

Concernant les issues de stimulation, bien que des tendances semblent se dessiner, aucun retentissement de l'obésité notamment sur le taux d'implantation ou le taux d'accouchement par cycle n'est observé de façon significative. Pour le risque de fausses-couches spontanées, là encore, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les femmes en surpoids ou obèses et les femmes de BMI normal ; cependant, il existe une forte tendance pour une majoration de ce risque avec l'obésité (30.56 % pour les femmes en surpoids ou obèses vs 22.43 % dans le groupe « BMI normal »). Ce type d'observation a déjà été rapporté par plusieurs études : notamment, Wang *et al* ont démontré un taux de fausses-couches spontanées de 18 % pour les femmes ayant un BMI compris entre 18 et 24.9 kg/m², de 22 % pour celles présentant un BMI de 25 à 29.9 kg/m² et de 27 à 31 % au-delà de 30 kg/m² (Wang et al., 2002).

La confrontation de l'ensemble de ces résultats avec ceux de la littérature est délicate car tous les auteurs n'utilisent pas le même seuil de BMI pour définir l'obésité, ni les mêmes critères de sélection des cohortes étudiées ainsi que les mêmes outils d'appréciation des résultats. Au cours d'une revue systématique, Maheshwari *et al* montrent les difficultés d'interprétation des résultats des différentes études publiées jusqu'à présent du fait de l'hétérogénéité des populations et des paramètres retenus (Maheshwari et al., 2007). Néanmoins, les résultats présentés sont dans l'ensemble cohérents avec ceux de la littérature (Tableau 13) et constituent un message important pour les équipes médicales et les patientes concernées lors d'une consultation préconceptionnelle.

Le Tableau 13 reprend le Tableau 2 présenté dans la première partie et positionne les résultats de l'étude rétrospective par rapport aux différents travaux déjà effectués.

Tableau 13 : Comparaison des résultats de l'étude rétrospective avec ceux des principales études déjà publiées

Étude	Patientes (obèses)	BMI définissant l'obésité (kg/m ²)	Dose de gonadotrophines	Taux d'annulation	Pic d'E ₂	Nombre d'ovocytes	Maturité ovocytaire	Taux de fécondation	Nombre d'embryons	Qualité embryonnaire	Taux d'implantation	Taux de grossesse
Lewis 1990	368 (36)	27.6	↔		↔	↓		↔				
Crosignani 1994	111 (44)	22		↑		↓						
Lashen 1999	333 (76)	27.9	↔		↓	↔		↔			↔	↔
Wittermer 2000	398 (48)	28	↑		↔	↓	↓					↔
Wang 2000	3586 (421)	30										↓
Fedorcsak 2000	383 (79)	25	↔			↓		↔				↓
Carell 2001	247 (34)	30			↔	↔	↓			↓		↓
Loveland 2001	139 (69)	25	↑	↔	↔	↔					↓	↓
Salha 2001	100 (50)	26	↑		↓	↓		↓				↓
Nichols 2003	372	28	↔		↓	↔					↓	↓
Fedorcsak 2004	2660 (241)	30	↑	↑	↔	↓		↔			↔	↓
Spandorfer 2004	920 (148)	27	↔	↑	↓	↓						↔
Van Swieten 2005	162 (29)	30	↔	↑		↔		↓				↔
Dechaud 2005	573 (36)	30	↑	↔	↔	↔		↔			↔	↔
Ku 2005	164	24	↑		↔	↔					↓	↓
Dokras 2005	1293 (315)	30	↑	↑	↓	↔	↓	↔	↓			↔
Metwally 2007	426 (72)	30	↑	↑	↔	↔		↔	↓	↓		↔
Bellver 2008	6500 (419)	30	↑		↔	↔		↔			↓	↓
Sneed 2008	1273 (307)	30		↔		↔		↔			↔	↔
Robker 2009	96 (32)	30				↓		↔	↓			↔
Orvieto 2009	516 (78)	30	↑		↓	↔		↓				↓
Centre d'AMP Nantes	558 (149)	25	↑	↔	*	↔	↔	↔	↓	↔	↔	↔

* La concentration sérique en estradiol le jour de l'administration d'hCG n'a pu être déterminée.

2. Place des adipokines à l'interface entre le métabolisme adipocytaire et la fertilité

Les observations et interprétations précédentes mettent en évidence un impact certain de l'obésité sur la fertilité, bien que cet impact ne soit pas à ce jour encore parfaitement décrypté.

Il est donc intéressant de préciser le rôle des adipokines et entérokinines très probablement situées à l'interface entre le métabolisme adipocytaire et la fertilité, dont le dosage pourrait constituer un objectif biologique supplémentaire à celui de la perte de poids. Parmi ces hormones, seule la valeur prédictive de la leptine a été particulièrement étudiée.

Les dosages effectués au cours de l'étude prospective montrent une différence significative des concentrations sériques en leptine, en adiponectine, en TNF- α , en PAI-1 et en CRP entre les patientes obèses et les témoins.

Il est néanmoins difficile d'apprécier les retentissements de ces différences sur les étapes successives du processus de stimulation ovarienne compte tenu des effectifs relativement restreints étudiés. Sur des effectifs plus importants, une différenciation des patientes entre un groupe de femmes dites fécondes et un autre groupe constitué de patientes ne parvenant pas à débiter la grossesse désirée pourrait permettre de mettre en évidence le caractère prédictif ou non de ces marqueurs. Ce mode de présentation des résultats n'a pas été effectué à ce stade de l'étude compte tenu du très faible nombre de patientes ayant débuté une grossesse à l'issue du cycle de stimulation considéré.

Néanmoins, certaines données de la littérature suggèrent l'intérêt de quelques marqueurs.

La leptine est l'adipokine la plus étudiée jusqu'à présent. Ses fonctions sont de mieux en mieux connues, notamment grâce à la découverte des kisspeptines. En médecine de la reproduction, plusieurs observations évoquent son intérêt.

L'analyse des résultats montre une leptinémie plus élevée dans la population Adipofert (45.59 ng/mL en moyenne) par rapport aux témoins (14.71 ng/mL en moyenne). Cette observation est cohérente avec les données de la littérature et conduit à formuler plusieurs hypothèses quant à l'intérêt de cette adipokine.

Anifandis *et al* constatent que le pourcentage d'augmentation de la leptine au cours de la stimulation est négativement corrélé à la réponse à l'administration de FSH ainsi qu'à la réponse ovarienne et à la maturité ovocytaire.

De plus, des concentrations plus élevées en leptine sérique pourraient constituer un indicateur pronostique de faible qualité embryonnaire (59.48 ± 7.60 ng/mL pour une faible qualité embryonnaire vs 50.05 ± 5.60 ng/mL pour une bonne qualité embryonnaire) et d'échec de FIV (56.87 ± 5.52 ng/mL pour le groupe de femmes présentant un dosage d'hCG négatif 15 jours après le transfert embryonnaire vs 41.49 ± 5.80 ng/mL pour celles présentant un dosage d'hCG positif) (Anifandis et al., 2005b).

Au cours d'un autre travail, Anifandis *et al* suggèrent que la leptine et l'estradiol agissent de façon coordonnée et concentration-dépendante sur l'issue de la stimulation ; au-delà de certaines concentrations, ces hormones ont un impact négatif sur la qualité embryonnaire (leptinémie de l'ordre de 46.49 ± 8.40 ng/mL pour les succès d'implantation et de grossesse maximaux, et de 60.30 ± 5.80 ng/mL pour les taux d'implantation et de grossesse les plus faibles). Ces observations suggèrent que des concentrations élevées en leptine pourraient réduire la réceptivité de l'endomètre et la capacité d'implantation embryonnaire (Anifandis et al., 2005a).

Par ailleurs, Mantzoros *et al* ont mis en évidence des concentrations sériques et folliculaires en leptine plus faibles chez des femmes ayant suivi une stimulation ovarienne avec succès par rapport au groupe des échecs de stimulation. Cependant, après ajustement en fonction du BMI et de l'âge, ces différences sont restées significatives uniquement pour les dosages folliculaires (Mantzoros et al., 2000).

L'étude prospective retrouve, malgré le faible effectif concerné, ces constatations : aucune patiente ne présentant une leptinémie supérieure à 50 ng/mL n'a débuté de grossesse. Sur la base de cette observation corroborée par la littérature, un seuil biologique de leptinémie fixé à 50 ng/mL pourrait constituer un objectif thérapeutique préalable à toute prise en charge au cours d'un cycle de stimulation.

L'ensemble des observations rapportées concerne des données portant sur des cycles de FIV. Il serait intéressant également de déterminer, avant toute prise en charge, un seuil de leptinémie permettant de valider le recours à la stimulation ovarienne.

D'autres études portant sur des effectifs plus importants devraient permettre de conceptualiser la variation de la leptinémie au cours de l'administration de FSH. Cette notion conduirait alors à définir une zone de concentration en leptine basale maximale permettant de garantir une

augmentation au cours de la stimulation n'atteignant pas des valeurs péjoratives pour la synthèse d'estradiol et la réponse ovarienne.

Disposer de valeurs de décision thérapeutique permettrait d'orienter les femmes obèses soit vers un effort de perte de poids en cas de fortes leptinémies, soit vers un processus de stimulation dans le cas inverse.

Pour les autres adipokines et entérokinines, les observations sont plus restreintes que pour la leptine et restent controversées.

Les résultats de l'étude prospective retrouvent une concentration sérique moyenne en adiponectine plus faible chez les patientes obèses par rapport aux témoins (moyennes respectives de 9.73 µg/mL et de 15.82 µg/mL), ce qui était attendu au vu des données de la littérature (Gosman et al., 2006). Par ailleurs, la répartition des concentrations en fonction des différentes étapes de la stimulation ovarienne ne permet pas à ce stade de suggérer un quelconque intérêt de l'adiponectine en tant que marqueur prédictif de l'issue de FIV. Cependant, le lien entre adiponectine et insulino-résistance rapporté par de nombreuses équipes (Giannessi et al., 2007) est confirmé dès ce stade de l'étude. Les conséquences précises de ces variations de l'adiponectinémie sur la fonction gonadotrope ne sont pas parfaitement connues. Il n'est en particulier pas exclu que l'effet majeur de l'adiponectine sur la fonction ovarienne et sur la fertilité soit lié à son rôle dans l'augmentation de la sensibilité à l'insuline (Campos et al., 2008).

Les résultats obtenus confirment par ailleurs une augmentation des concentrations en PAI-1 chez les patientes obèses (concentration sérique de 19.91 ng/mL en moyenne chez les obèses, 10.20 ng/mL chez les témoins) mais ne permettent pas d'envisager à ce stade un impact de cette protéine sur la fertilité. Des observations effectuées au cours du SOPK retrouvent une augmentation des concentrations en PAI-1 par rapport à un groupe contrôle, ainsi qu'une corrélation avec le BMI et l'insulino-résistance (Tarkun et al., 2004). Les concentrations en PAI-1 chez les patientes de la cohorte Adipofert présentant un SOPK ont également tendance à être plus élevées (23.15 ng/mL) par rapport aux autres patientes de la même cohorte (16.56 ng/mL); cependant, aucune corrélation entre le PAI-1 et l'insulino-résistance n'a pu être mise en évidence à ce stade de notre étude. Les données actuelles restent controversées, essentiellement du fait des différences de méthodologies

utilisées. De plus, les données actuellement disponibles sur le PAI-1 ne sont pas suffisantes pour connaître sa fonction précise sur la fertilité et affirmer son rôle comme marqueur de l'issue de stimulation en FIV.

Le rôle de la résistine en tant que médiateur entre les fonctions adipocytaire et gonadotrope n'est pas, en l'état actuel des connaissances, encore totalement décrypté. Nos résultats (22.80 ng/mL dans la population Adipofert, 25.96 ng/mL chez les témoins en moyenne), comme d'autres déjà publiés, vont dans le même sens (Chen et al., 2007). De plus, aucune corrélation n'a, à ce jour, été mise en évidence entre la résistine sérique et les issues de stimulation (taux de fécondation et de grossesse) (Gosman et al., 2006) (Seow et al., 2005). Au contraire, l'étude de Chen a retrouvé une corrélation négative entre la résistine sérique et le nombre d'ovocytes ponctionnés, suggérant une possible valeur prédictive négative de la résistinémie sur la réponse ovarienne, et un rôle éventuel dans la régulation de la folliculogénèse (Chen et al., 2007). Il n'est cependant pas exclu qu'elle intervienne en tant que co-acteur de l'inflammation comme le suggèrent certains auteurs (Richards et al., 2008).

Pour ce qui est de l'IL-6 (concentrations sériques moyennes de 19.81 pg/mL chez les obèses, 34.21 pg/mL chez les témoins) et du TNF- α (concentrations sériques moyennes de 5.53 pg/mL chez les obèses, 3.77 pg/mL chez les témoins), la confrontation des résultats obtenus à ceux de la littérature est difficile compte tenu de l'hétérogénéité très importante des études publiées. L'étude de Demir *et al* démontre l'implication de l'IL-6 sur la fertilité en dehors de l'obésité : elle retrouve en effet des concentrations sériques en IL-6 à J3 du cycle plus élevées chez des patientes non fertiles non obèses par rapport à un groupe de femmes fertiles également non obèses (au moins une naissance vivante en 2 ans), alors qu'aucune différence significative n'a été mise en évidence pour le TNF- α (Demir et al., 2009).

Concernant la CRP, les résultats présentés (en moyenne 6.79 mg/L chez les obèses, 3.32 mg/L chez les témoins) sont cohérents avec l'étude de Robinson effectuée sur 220 patientes prises en charge en AMP : cette étude a montré une corrélation significative entre le BMI et la concentration en CRP. Cependant, aucune corrélation entre ce marqueur et les différents paramètres de la stimulation ovarienne n'a pu être mise en évidence. Cette étude a permis de conclure que la CRP ne permettait pas de prédire le succès des différentes étapes du traitement par FIV (Robinson et al., 2008). Sur un effectif plus restreint (28 patientes, pathologies inflammatoires et états d'hypercoagulabilité exclus), l'équipe de Levin a démontré que les patientes ayant débuté une grossesse après un cycle de stimulation

présentaient des concentrations sériques en CRP à J3 plus faibles (2.2 ± 0.7 mg/L) que les patientes dont la stimulation avait échoué (6.2 ± 1.1 mg/L) (Levin et al., 2007).

Ainsi, bien que l'obésité soit à l'origine d'une inflammation infraclinique de bas grade, les répercussions de cette inflammation sur les résultats en FIV demeurent controversées.

Enfin, aucune différence significative n'est retrouvée pour la seule entérokinase étudiée, à savoir la ghréline. Bien que les interactions de ce marqueur avec l'homéostasie énergétique et la fertilité soient de mieux en mieux comprises, son impact réel sur la prise en charge en AMP reste à déterminer, au-delà des résultats jusqu'à présent obtenus en cultures cellulaires.

Les données obtenues à partir de l'étude prospective Adipofert nous incitent à poursuivre et terminer ce projet : les résultats préliminaires présentés devront alors être confirmés lorsque le recrutement prévu dans le cadre du protocole sera atteint.

Il sera alors possible de démontrer ou d'infirmer le caractère prédictif des différentes adipokines et entérokines sur la prise en charge d'une infertilité en FIV. De plus, les données déjà établies pour la leptine sur cette première analyse nous incitent à approfondir son intérêt par une détermination de la leptinémie à J3 ainsi que le jour de l'injection d'hCG de façon à affiner la détermination de seuils biologiques décisionnels évoqués.

3. Prise en charge de l'obésité dans un contexte de FIV

L'ensemble des résultats présentés précédemment illustre les modifications du bilan hormonal, adipocytaire et inflammatoire associées à l'obésité.

Ainsi, même si toutes les interactions par lesquelles elle affecte la fertilité ne sont pas encore comprises, elle doit faire partie intégrante de la prise en charge des femmes infertiles.

En effet, la perte de poids, même modeste (dès 5 % du poids basal), peut conduire très rapidement à une modification du profil hormonal et permettre d'améliorer les résultats en AMP. En particulier, un impact bénéfique de la perte de poids sur la reprise de la fonction ovarienne et sur la régularité des cycles menstruels a été décrit. Cet effet est probablement lié pour partie à la réduction de l'insulinorésistance (Pasquali et al., 2003) (American Society for Reproductive Medicine, 2008).

De façon à renforcer la portée des conseils délivrés, le Collège Américain des Gynécologues-Obstétriciens (ACOG) recommande une éducation préconceptionnelle sur les risques spécifiques, maternels et fœtaux, liés à l'obésité pendant la grossesse (Dokras et al., 2006).

Plusieurs stratégies sont envisageables pour permettre une perte de poids : des changements de mode de vie, un régime diététique, le recours à certaines molécules ou encore la prise en charge chirurgicale (Metwally et al., 2008).

Un régime alimentaire équilibré ainsi que la pratique d'un exercice physique régulier constituent la première ligne dans la prise en charge de l'infertilité des femmes obèses. Ces interventions ont pour but d'augmenter la dépense énergétique et de réduire l'apport calorique.

L'exercice physique régulier est essentiel pour parvenir à une perte de poids et maintenir le poids obtenu. Il comprend, selon les recommandations, la pratique d'au minimum trente minutes d'activité physique modérée au moins trois fois par semaine.

L'objectif du régime diététique repose sur une restriction calorique plus que sur la composition du régime alimentaire en elle-même. Un apport calorique de 1000 à 1200 kilocalories par jour doit permettre d'obtenir une perte de poids d'en moyenne 10 % en six mois (American Society for Reproductive Medicine, 2008).

Après six mois d'approche diététique et physique, lorsque les résultats escomptés ne sont pas obtenus, l'adjonction d'une thérapeutique médicamenteuse peut être envisagée. Cette stratégie concerne en particulier les femmes présentant un BMI supérieur à 30 kg/m² ou à 27 kg/m² lorsque s'ajoutent des facteurs de risques liés à l'obésité.

L'utilisation d'un traitement médicamenteux ne dispense pas du maintien des mesures prises auparavant : en effet, les résultats de la prise en charge combinée médicament-régime alimentaire sont supérieurs à ceux du traitement médical seul (American Society for Reproductive Medicine, 2008).

Plusieurs classes thérapeutiques peuvent être utilisées, parmi lesquelles les agents insulino-sensibilisateurs représentés par la metformine et les glitazones, en période préconceptionnelle.

La metformine est un biguanide : elle agit par inhibition de la néoglucogénèse hépatique et augmente la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline. Elle permet d'obtenir une perte de poids modérée.

Dans le cas des femmes obèses atteintes de SOPK, elle a été utilisée avec succès pour rétablir la fonction ovulatoire. (American Society for Reproductive Medicine, 2008).

Certains auteurs recommandent de restreindre son utilisation aux SOPK présentant une intolérance au glucose et/ou une insulino-résistance, et de ne plus l'administrer de façon isolée en vue d'une induction de l'ovulation. En effet, malgré les nombreux travaux réalisés, ses effets demeurent incertains : des essais randomisés n'ont pas permis de démontrer une efficacité uniforme sur l'induction de l'ovulation et l'amélioration des taux de grossesse (Bouchard, 2010).

Néanmoins, des observations récentes sur des modèles animaux suggèrent que les effets anorexigènes d'un traitement par la metformine impliquent une modulation de l'expression hypothalamique du gène codant pour le récepteur de la leptine (Aubert et al., 2010).

Ces constatations sont retrouvées au cours d'études cliniques : en particulier, Pasquali *et al* ont pu mettre en évidence une diminution de la concentration sérique en leptine après six mois de traitement par la metformine chez des femmes obèses atteintes ou non de SOPK (Pasquali et al., 2000).

Les molécules de la famille des glitazones telles que la rosiglitazone ou la pioglitazone sont des agonistes des récepteurs PPAR- γ . En se liant et en activant ces récepteurs, elles déclenchent leur translocation nucléaire, l'activation et la transcription d'un certain nombre de gènes-cibles. Ainsi, elles améliorent la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline et provoquent un remodelage du tissu adipeux.

L'activation de PPAR- γ par les glitazones entraîne l'inhibition du promoteur du gène de la leptine, responsable d'une diminution de la leptinémie.

Les récepteurs PPAR- γ_2 sont également nécessaires à la transcription du gène de l'adiponectine. Le traitement par les glitazones, étudié à la fois sur des modèles animaux et chez l'homme, permet l'augmentation de la sécrétion d'adiponectine.

Comme les adipocytes, les macrophages expriment des récepteurs PPAR- γ , et la liaison des glitazones à ces récepteurs permet une réduction de l'activation macrophagique ainsi que l'inhibition de la production de cytokines. En effet, il a été montré que les sujets obèses traités par glitazones présentent une décroissance significative de leur concentration plasmatique en TNF- α (Hammarstedt et al., 2005).

Les glitazones n'auraient pas d'effet sur la perte de poids mais amélioreraient l'ovulation spontanée et la conception chez les patientes atteintes de SOPK (Pasquali et al., 2003). Cependant, leur utilisation est restreinte du fait de leur toxicité hépatique. D'autre part, ces

molécules, bien qu'agissant sur l'insulinosensibilité, ne doivent pas être administrées à des femmes désirant une grossesse du fait des effets sur les récepteurs PPAR- γ impliqués de façon cruciale dans le développement embryonnaire.

La prise en charge chirurgicale de l'obésité peut être proposée dans les cas d'obésité morbide ou pour les femmes présentant un BMI supérieur à 35 kg/m² et des comorbidités aggravées par l'obésité.

Différentes modalités sont envisageables. Le traitement chirurgical de l'obésité améliore la régularité des cycles menstruels, la fertilité et réduit les complications obstétricales. Cependant, la grossesse n'est pas recommandée au cours de la première année suivant l'intervention, période pendant laquelle l'essentiel de la perte de poids est réalisé (American Society for Reproductive Medicine, 2008).

Ainsi, la prise en charge de l'obésité fait partie intégrante des recommandations associées aux projets de grossesse : la Haute Autorité de Santé (HAS) a publié un document d'information destiné aux professionnels de santé dans ce sens (Haute Autorité de Santé, 2009).

Cependant, l'obésité ne doit pas être le seul critère à considérer dans la stratégie de traitement de l'infertilité des patientes concernées. En effet, Sneed *et al* ont montré l'existence d'un effet significatif âge-dépendant du BMI sur la fertilité. Avant 35 ans, le BMI a un effet dominant négatif sur la fertilité et une perte de poids, même modeste (5-10%) peut améliorer la prise en charge (Sneed *et al.*, 2008). Récemment, *The British Fertility Society* a émis des recommandations à ce sujet et conseille de différer le traitement chez les femmes obèses jusqu'à obtenir un BMI inférieur à 35 kg/m² (Balen and Anderson, 2007). En revanche, après 36 ans, le BMI a un impact minimal sur la fertilité par rapport à l'âge : une approche thérapeutique d'emblée plus agressive et immédiate peut ainsi être envisagée.

Enfin, au-delà des conséquences cliniques et biologiques évoquées, le traitement de l'infertilité des femmes en surpoids ou obèses présente également un impact médico-économique certain. Sur la base de données de la littérature, Koning *et al* ont évalué le retentissement de la baisse de l'efficacité du traitement de l'infertilité et de la majoration des complications maternelles associées au surpoids et à l'obésité, sur le coût de la prise en charge par naissance vivante. Celui-ci est estimé à environ 3 000 € pour les femmes de BMI normal,

4 650 € pour les femmes en surpoids et 6 050 € pour les femmes obèses, soit un surcoût lié au surpoids et à l'obésité de l'ordre de 44 à 100 % (Koning et al., 2010). Néanmoins, ces observations ne constituent pas un argument suffisant pour récuser les femmes obèses infertiles ayant un désir de grossesse. En effet, l'impact économique lié à la perte de poids en termes d'amélioration de l'efficacité des traitements de l'infertilité, de réduction des complications obstétricales et d'augmentation des résultats périnataux n'a pas été jusqu'à présent démontré sur des effectifs suffisants. Ainsi, il n'y a pas, en l'état actuel des connaissances, de preuves suffisantes de l'efficacité de la perte de poids permettant la détermination par les autorités de santé de seuils décisionnels de BMI qui pourraient autoriser ou retarder la prise en charge de l'infertilité. L'association d'un critère clinique tel que le BMI à un argument biologique comme la leptinémie basale pourrait être envisagée dans l'évaluation de la faisabilité d'un traitement en AMP dans le cadre du surpoids et de l'obésité.

CONCLUSION

En définitive, ce travail démontre l'impact de l'obésité sur la prise en charge de l'infertilité.

D'un point de vue fondamental, un certain nombre de données restent à élucider quant aux interfaces désormais certaines entre les voies du métabolisme adipocytaire et la physiologie ovarienne. La mise en évidence du système des kisspeptines a d'ores et déjà permis d'affiner le modèle d'interconnexions qui était fortement supposé jusqu'à présent.

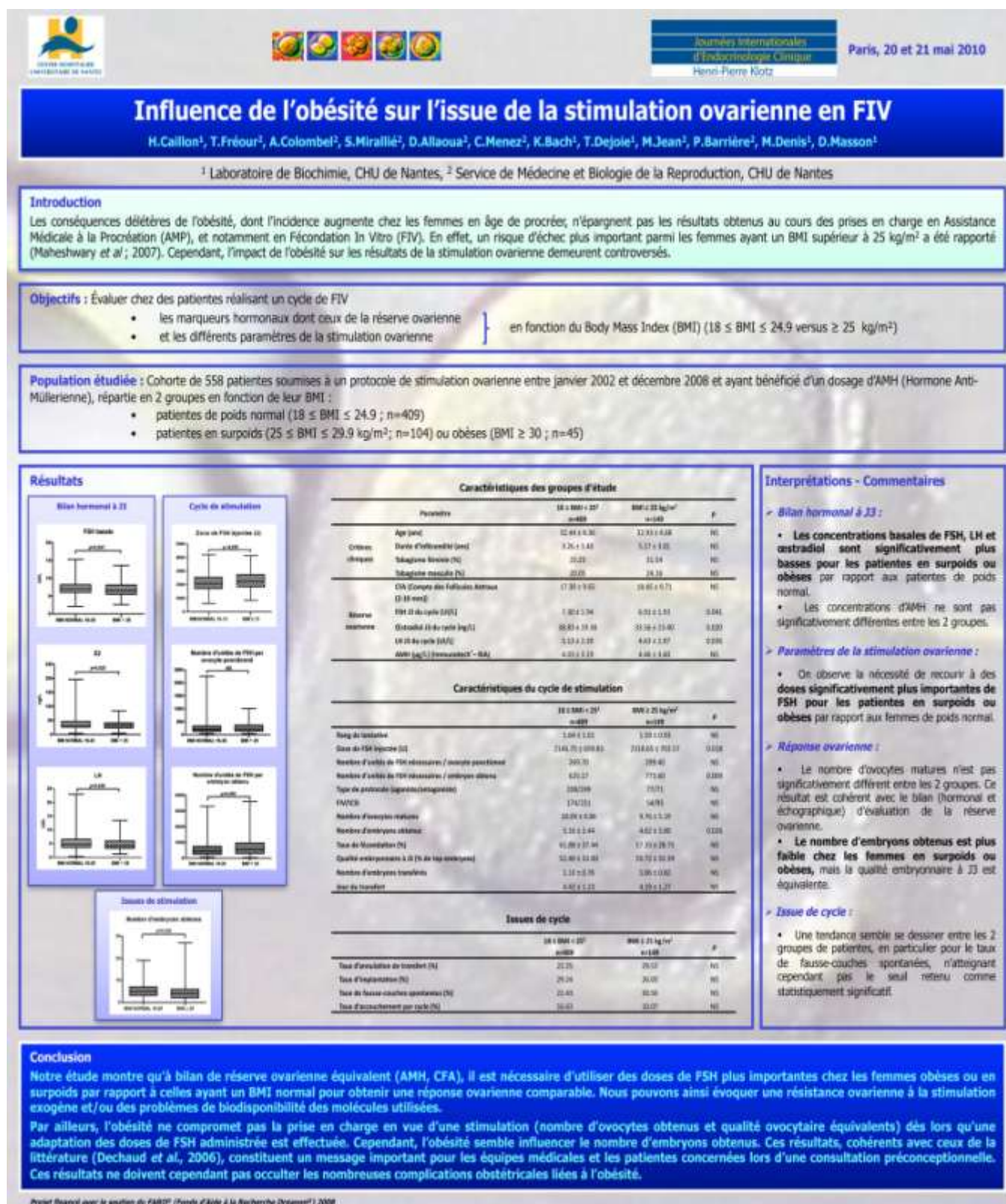
L'étude rétrospective a permis de caractériser les principaux retentissements de l'obésité sur la fertilité et sur la prise en charge en AMP. Néanmoins, les constatations effectuées doivent être nuancées au cours de la prise en charge thérapeutique. En effet, l'obésité ne doit pas être considérée à ce jour comme un critère rédhibitoire à la prise en charge d'une infécondité par FIV mais doit être évaluée notamment en fonction de l'âge des patientes.

Concernant l'étude prospective Adipofert, les premiers résultats sont concordants avec ceux de la littérature. Cependant le protocole doit être poursuivi de façon à améliorer la puissance des résultats obtenus et pouvoir, le cas échéant, envisager une adaptation de la prise en charge en fonction de seuils biologiques qui auront été déterminés, en particulier pour la leptine.

Ces résultats constituent donc un message important pour les équipes médicales et les couples concernés lors d'une consultation préconceptionnelle, et pourront conduire à plus ou moins court terme à l'actualisation des recommandations pour la prise en charge des couples infertiles. Cependant, les différentes opportunités thérapeutiques existantes ne doivent pas occulter les nombreuses complications obstétricales liées à l'obésité.

ANNEXE

Communication affichée lors des 53^{èmes} Journées Internationales d'Endocrinologie Clinique HP.Klotz, Paris, 20 et 21 mai 2010



BIBLIOGRAPHIE

- Ahima, R.S., and M.A. Lazar. 2008. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. *Mol Endocrinol*. 22:1023-31.
- American Society for Reproductive Medicine. 2008. Obesity and reproduction: an educational bulletin. *Fertil Steril*. 90:S21-9.
- Anifandis, G., E. Koutselini, K. Louridas, V. Liakopoulos, K. Leivaditis, T. Mantzavinos, D. Sioutopoulou, and N. Vamvakopoulos. 2005a. Estradiol and leptin as conditional prognostic IVF markers. *Reproduction*. 129:531-4.
- Anifandis, G., E. Koutselini, I. Stefanidis, V. Liakopoulos, C. Leivaditis, T. Mantzavinos, and N. Vamvakopoulos. 2005b. Serum and follicular fluid leptin levels are correlated with human embryo quality. *Reproduction*. 130:917-21.
- Aubert, G., V. Mansuy, M.J. Viole, L. Pellerin, and F.P. Pralong. 2010. The anorexigenic effects of metformin involve increases in hypothalamic leptin receptor expression. *Metabolism*.
- Azziz, R., E. Carmina, D. Dewailly, E. Diamanti-Kandarakis, H.F. Escobar-Morreale, W. Futterweit, O.E. Janssen, R.S. Legro, R.J. Norman, A.E. Taylor, and S.F. Witchel. 2009. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*. 91:456-88.
- Azziz, R., K.S. Woods, R. Reyna, T.J. Key, E.S. Knochenhauer, and B.O. Yildiz. 2004. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*. 89:2745-9.
- Balen, A.H., and R.A. Anderson. 2007. Impact of obesity on female reproductive health: British Fertility Society, Policy and Practice Guidelines. *Hum Fertil (Camb)*. 10:195-206.
- Barreiro, M.L., and M. Tena-Sempere. 2004. Ghrelin and reproduction: a novel signal linking energy status and fertility? *Mol Cell Endocrinol*. 226:1-9.
- Batterham, R.L., M.A. Cohen, S.M. Ellis, C.W. Le Roux, D.J. Withers, G.S. Frost, M.A. Ghatei, and S.R. Bloom. 2003. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med*. 349:941-8.
- Batterham, R.L., M.A. Cowley, C.J. Small, H. Herzog, M.A. Cohen, C.L. Dakin, A.M. Wren, A.E. Brynes, M.J. Low, M.A. Ghatei, R.D. Cone, and S.R. Bloom. 2002. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*. 418:650-4.
- Bellver, J., M.A. Melo, E. Bosch, V. Serra, J. Remohi, and A. Pellicer. 2007. Obesity and poor reproductive outcome: the potential role of the endometrium. *Fertil Steril*. 88:446-51.
- Bellver, J., L.P. Rossal, E. Bosch, A. Zuniga, J.T. Corona, F. Melendez, E. Gomez, C. Simon, J. Remohi, and A. Pellicer. 2003. Obesity and the risk of spontaneous abortion after oocyte donation. *Fertil Steril*. 79:1136-40.
- Bouchard, P. 2010. Treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Ann Endocrinol (Paris)*. 71:225-7.
- Budak, E., M. Fernandez Sanchez, J. Bellver, A. Cervero, C. Simon, and A. Pellicer. 2006. Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system. *Fertil Steril*. 85:1563-81.
- Butzow, T.L., J.M. Moilanen, M. Lehtovirta, T. Tuomi, O. Hovatta, R. Sieberg, C.G. Nilsson, and D. Apter. 1999. Serum and follicular fluid leptin during in vitro fertilization: relationship among leptin increase, body fat mass, and reduced ovarian response. *J Clin Endocrinol Metab*. 84:3135-9.

- Campos, D.B., M.F. Palin, V. Bordinon, and B.D. Murphy. 2008. The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility. *Int J Obes (Lond)*. 32:223-31.
- Carrell, D.T., K.P. Jones, C.M. Peterson, V. Aoki, B.R. Emery, and B.R. Campbell. 2001. Body mass index is inversely related to intrafollicular HCG concentrations, embryo quality and IVF outcome. *Reprod Biomed Online*. 3:109-111.
- Chabrolle, C., L. Tosca, and J. Dupont. 2007. Regulation of adiponectin and its receptors in rat ovary by human chorionic gonadotrophin treatment and potential involvement of adiponectin in granulosa cell steroidogenesis. *Reproduction*. 133:719-31.
- Chabrolle, C., L. Tosca, C. Rame, P. Lecomte, D. Royere, and J. Dupont. 2009. Adiponectin increases insulin-like growth factor I-induced progesterone and estradiol secretion in human granulosa cells. *Fertil Steril*. 92:1988-96.
- Chan, C.C., E.H. Ng, M.M. Chan, O.S. Tang, E.Y. Lau, W.S. Yeung, and P.C. Ho. 2003. Bioavailability of hCG after intramuscular or subcutaneous injection in obese and non-obese women. *Hum Reprod*. 18:2294-7.
- Chen, Y.C., E.M. Tsai, H.S. Chen, Y.H. Liu, C.H. Lee, F.H. Chou, I.J. Chen, S.Y. Chen, S.B. Jong, and T.F. Chan. 2007. Serum resistin level is a predictor of ovarian response in in vitro fertilisation cycle. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 86:963-7.
- Colledge, W.H., and X. d'Anglemont de Tassigny. 2010. The role of kisspeptin signalling in the regulation of the GnRH-gonadotrophin ovarian axis in mice. *Ann Endocrinol (Paris)*. 71:198-200.
- Combs, T.P., A.H. Berg, M.W. Rajala, S. Klebanov, P. Iyengar, J.C. Jimenez-Chillaron, M.E. Patti, S.L. Klein, R.S. Weinstein, and P.E. Scherer. 2003. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes*. 52:268-76.
- de Mouzon, J., V. Goossens, S. Bhattacharya, J.A. Castilla, A.P. Ferraretti, V. Korsak, M. Kupka, K.G. Nygren, and A. Nyboe Andersen. 2010. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*.
- de Mouzon, J., P. Lancaster, K.G. Nygren, E. Sullivan, F. Zegers-Hochschild, R. Mansour, O. Ishihara, and D. Adamson. 2009. World collaborative report on Assisted Reproductive Technology, 2002. *Hum Reprod*. 24:2310-20.
- De Pergola, G., S. Maldera, M. Tartagni, N. Pannaciuoli, G. Loverro, and R. Giorgino. 2006. Inhibitory effect of obesity on gonadotropin, estradiol, and inhibin B levels in fertile women. *Obesity (Silver Spring)*. 14:1954-60.
- Demir, B., S. Guven, E.S. Guven, Y. Atamer, and T. Gul. 2009. Serum IL-6 level may have role in the pathophysiology of unexplained infertility. *Am J Reprod Immunol*. 62:261-7.
- Dokras, A., L. Baredziak, J. Blaine, C. Syrop, B.J. VanVoorhis, and A. Sparks. 2006. Obstetric outcomes after in vitro fertilization in obese and morbidly obese women. *Obstet Gynecol*. 108:61-9.
- Fedorcsak, P., P.O. Dale, R. Storeng, G. Ertzeid, S. Bjercke, N. Oldereid, A.K. Omland, T. Abyholm, and T. Tanbo. 2004. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod*. 19:2523-8.
- Ferlitsch, K., M.O. Sator, D.M. Gruber, E. Rucklinger, C.J. Gruber, and J.C. Huber. 2004. Body mass index, follicle-stimulating hormone and their predictive value in in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet*. 21:431-6.
- Fernandez-Fernandez, R., E. Aguilar, M. Tena-Sempere, and L. Pinilla. 2005. Effects of polypeptide YY(3-36) upon luteinizing hormone-releasing hormone and gonadotropin secretion in prepubertal rats: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology*. 146:1403-10.

- Formiguera, X., and A. Canton. 2004. Obesity: epidemiology and clinical aspects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 18:1125-46.
- Frattarelli, J.L., and C.L. Kodama. 2004. Impact of body mass index on in vitro fertilization outcomes. *J Assist Reprod Genet.* 21:211-5.
- Giannessi, D., M. Maltinti, and S. Del Ry. 2007. Adiponectin circulating levels: a new emerging biomarker of cardiovascular risk. *Pharmacol Res.* 56:459-67.
- Glueck, C.J., P. Wang, S. Bornoali, N. Goldenberg, and L. Sieve. 2003. Polycystic ovary syndrome, the G1691A factor V Leiden mutation, and plasminogen activator inhibitor activity: associations with recurrent pregnancy loss. *Metabolism.* 52:1627-32.
- Goodarzi, M.O., and R. Azziz. 2006. Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 20:193-205.
- Gosman, G.G., H.I. Katcher, and R.S. Legro. 2006. Obesity and the role of gut and adipose hormones in female reproduction. *Hum Reprod Update.* 12:585-601.
- Gottsch, M.L., M.J. Cunningham, J.T. Smith, S.M. Popa, B.V. Acohido, W.F. Crowley, S. Seminara, D.K. Clifton, and R.A. Steiner. 2004. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology.* 145:4073-7.
- Gurbuz, B., S. Yalti, C. Ficicioglu, and S. Tasdemir. 2005. The relation of serum and follicular fluid leptin and ovarian steroid levels in response to induction of ovulation in in vitro fertilization cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 118:214-8.
- Hammarstedt, A., C.X. Andersson, V. Rotter Sopasakis, and U. Smith. 2005. The effect of PPARgamma ligands on the adipose tissue in insulin resistance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 73:65-75.
- Haute Autorité de Santé. 2009. Projet de grossesse : informations, messages de prévention, examens à proposer. HAS.
- Huang, S.W., K.M. Seow, L.T. Ho, Y. Chien, D.Y. Chung, C.L. Chang, Y.H. Lai, J.L. Hwang, and C.C. Juan. 2005. Resistin mRNA levels are downregulated by estrogen in vivo and in vitro. *FEBS Lett.* 579:449-54.
- INSERM / TNS Healthcare / Roche. 2009. Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité.
- Israel, D., and S. Chua, Jr. 2009. Leptin receptor modulation of adiposity and fertility. *Trends Endocrinol Metab.* 21:10-6.
- Jungheim, E.S., S.E. Lanzendorf, R.R. Odem, K.H. Moley, A.S. Chang, and V.S. Ratts. 2009. Morbid obesity is associated with lower clinical pregnancy rates after in vitro fertilization in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 92:256-61.
- Kalra, S.P., M.G. Dube, S. Pu, B. Xu, T.L. Horvath, and P.S. Kalra. 1999. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev.* 20:68-100.
- Kalra, S.P., and P.S. Kalra. 1996. Nutritional infertility: the role of the interconnected hypothalamic neuropeptide Y-galanin-opioid network. *Front Neuroendocrinol.* 17:371-401.
- Kamel, R.M. 2010. Management of the infertile couple: an evidence-based protocol. *Reprod Biol Endocrinol.* 8:21.
- Kawamura, K., N. Sato, J. Fukuda, H. Kodama, J. Kumagai, H. Tanikawa, A. Nakamura, Y. Honda, T. Sato, and T. Tanaka. 2003. Ghrelin inhibits the development of mouse preimplantation embryos in vitro. *Endocrinology.* 144:2623-33.
- Koning, A.M., W.K. Kuchenbecker, H. Groen, A. Hoek, J.A. Land, K.S. Khan, and B.W. Mol. 2010. Economic consequences of overweight and obesity in infertility: a framework for evaluating the costs and outcomes of fertility care. *Hum Reprod Update.* 16:246-54.

- Lammert, A., W. Kiess, A. Bottner, A. Glasow, and J. Kratzsch. 2001. Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. *Biochem Biophys Res Commun.* 283:982-8.
- Lashen, H., W. Ledger, A.L. Bernal, and D. Barlow. 1999. Extremes of body mass do not adversely affect the outcome of superovulation and in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 14:712-5.
- Ledoux, S., D.B. Campos, F.L. Lopes, M. Dobias-Goff, M.F. Palin, and B.D. Murphy. 2006. Adiponectin induces periovulatory changes in ovarian follicular cells. *Endocrinology.* 147:5178-86.
- Levin, I., R. Gamzu, R. Mashiach, J.B. Lessing, A. Amit, and B. Almog. 2007. Higher C-reactive protein levels during IVF stimulation are associated with ART failure. *J Reprod Immunol.* 75:141-4.
- Lintsen, A.M., P.C. Pasker-de Jong, E.J. de Boer, C.W. Burger, C.A. Jansen, D.D. Braat, and F.E. van Leeuwen. 2005. Effects of subfertility cause, smoking and body weight on the success rate of IVF. *Hum Reprod.* 20:1867-75.
- Liu, Y.H., E.M. Tsai, Y.L. Chen, H.S. Chen, Y.C. Chen, L.C. Wu, C.H. Lee, S.B. Jong, and T.F. Chan. 2006. Serum adiponectin levels increase after human chorionic gonadotropin treatment during in vitro fertilization. *Gynecol Obstet Invest.* 62:61-5.
- Liu, Z., D.G. de Matos, H.Y. Fan, M. Shimada, S. Palmer, and J.S. Richards. 2009. Interleukin-6: an autocrine regulator of the mouse cumulus cell-oocyte complex expansion process. *Endocrinology.* 150:3360-8.
- Loveland, J.B., H.D. McClamrock, A.M. Malinow, and F.I. Sharara. 2001. Increased body mass index has a deleterious effect on in vitro fertilization outcome. *J Assist Reprod Genet.* 18:382-6.
- Maheshwari, A., L. Stofberg, and S. Bhattacharya. 2007. Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology--a systematic review. *Hum Reprod Update.* 13:433-44.
- Mantzoros, C.S., D.W. Cramer, R.F. Liberman, and R.L. Barbieri. 2000. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 15:539-44.
- Matsuzawa, Y. 2006. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett.* 580:2917-21.
- Messinis, I.E., I. Kariotis, S. Milingos, G. Kollios, and K. Seferiadis. 2000. Treatment of normal women with oestradiol plus progesterone prevents the decrease of leptin concentrations induced by ovariectomy. *Hum Reprod.* 15:2383-7.
- Messinis, I.E., S. Milingos, K. Zikopoulos, G. Kollios, K. Seferiadis, and D. Lolis. 1998. Leptin concentrations in the follicular phase of spontaneous cycles and cycles superovulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod.* 13:1152-6.
- Metwally, M., R. Cutting, A. Tipton, J. Skull, W.L. Ledger, and T.C. Li. 2007. Effect of increased body mass index on oocyte and embryo quality in IVF patients. *Reprod Biomed Online.* 15:532-8.
- Metwally, M., W.L. Ledger, and T.C. Li. 2008. Reproductive endocrinology and clinical aspects of obesity in women. *Ann N Y Acad Sci.* 1127:140-6.
- Miljic, D., S. Pekic, M. Djurovic, M. Doknic, N. Milic, F.F. Casanueva, M. Ghatei, and V. Popovic. 2006. Ghrelin has partial or no effect on appetite, growth hormone, prolactin, and cortisol release in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 91:1491-5.
- Nichols, J.E., M.M. Crane, H.L. Higdon, P.B. Miller, and W.R. Boone. 2003. Extremes of body mass index reduce in vitro fertilization pregnancy rates. *Fertil Steril.* 79:645-7.

- Olszanecka-Glinianowicz, M., J. Chudek, P. Kocelak, A. Szromek, and B. Zahorska-Markiewicz. 2010. Body fat changes and activity of tumor necrosis factor alpha system-a 5-year follow-up study. *Metabolism*.
- Pan, S.Y., K.C. Johnson, A.M. Ugnat, S.W. Wen, and Y. Mao. 2004. Association of obesity and cancer risk in Canada. *Am J Epidemiol*. 159:259-68.
- Pasquali, R., A. Gambineri, D. Biscotti, V. Vicennati, L. Gagliardi, D. Colitta, S. Fiorini, G.E. Cognigni, M. Filicori, and A.M. Morselli-Labate. 2000. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 85:2767-74.
- Pasquali, R., C. Pelusi, S. Genghini, M. Cacciari, and A. Gambineri. 2003. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update*. 9:359-72.
- Patel, L., A.C. Buckels, I.J. Kinghorn, P.R. Murdock, J.D. Holbrook, C. Plumptre, C.H. Macphie, and S.A. Smith. 2003. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun*. 300:472-6.
- Popa, S.M., D.K. Clifton, and R.A. Steiner. 2008. The role of kisspeptins and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Annu Rev Physiol*. 70:213-38.
- Riad-Gabriel, M.G., S.D. Jinagouda, A. Sharma, R. Boyadjian, and M.F. Saad. 1998. Changes in plasma leptin during the menstrual cycle. *Eur J Endocrinol*. 139:528-31.
- Richards, J.S., Z. Liu, and M. Shimada. 2008. Immune-like mechanisms in ovulation. *Trends Endocrinol Metab*. 19:191-6.
- Roa, J., D. Garcia-Galiano, J.M. Castellano, F. Gaytan, L. Pinilla, and M. Tena-Sempere. 2009. Metabolic control of puberty onset: New players, new mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*.
- Robinson, S., P. Pemberton, I. Laing, and L.G. Nardo. 2008. Low grade inflammation, as evidenced by basal high sensitivity CRP, is not correlated to outcome measures in IVF. *J Assist Reprod Genet*. 25:383-8.
- Robker, R.L. 2008. Evidence that obesity alters the quality of oocytes and embryos. *Pathophysiology*. 15:115-21.
- Robker, R.L., L.K. Akison, B.D. Bennett, P.N. Thrupp, L.R. Chura, D.L. Russell, M. Lane, and R.J. Norman. 2009. Obese women exhibit differences in ovarian metabolites, hormones, and gene expression compared with moderate-weight women. *J Clin Endocrinol Metab*. 94:1533-40.
- Saleh, R.A., A. Agarwal, R.K. Sharma, D.R. Nelson, and A.J. Thomas, Jr. 2002. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*. 78:491-9.
- Salha, O., T. Dada, and V. Sharma. 2001. Influence of body mass index and self-administration of hCG on the outcome of IVF cycles: a prospective cohort study. *Hum Fertil (Camb)*. 4:37-42.
- Schmatz, M., J. Madan, T. Marino, and J. Davis. 2009. Maternal obesity: the interplay between inflammation, mother and fetus. *J Perinatol*.
- Seow, K.M., C.C. Juan, Y.P. Hsu, L.T. Ho, Y.Y. Wang, and J.L. Hwang. 2005. Serum and follicular resistin levels in women with polycystic ovarian syndrome during IVF-stimulated cycles. *Hum Reprod*. 20:117-21.
- Shapiro, L., and P.E. Scherer. 1998. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr Biol*. 8:335-8.
- Sneed, M.L., M.L. Uhler, H.E. Grotjan, J.J. Rapisarda, K.J. Lederer, and A.N. Beltsos. 2008. Body mass index: impact on IVF success appears age-related. *Hum Reprod*. 23:1835-9.

- Spandorfer, S.D., L. Kump, D. Goldschlag, T. Brodtkin, O.K. Davis, and Z. Rosenwaks. 2004. Obesity and in vitro fertilization: negative influences on outcome. *J Reprod Med.* 49:973-7.
- Steinkampf, M.P., K.R. Hammond, J.E. Nichols, and S.H. Slayden. 2003. Effect of obesity on recombinant follicle-stimulating hormone absorption: subcutaneous versus intramuscular administration. *Fertil Steril.* 80:99-102.
- Steppan, C.M., S.T. Bailey, S. Bhat, E.J. Brown, R.R. Banerjee, C.M. Wright, H.R. Patel, R.S. Ahima, and M.A. Lazar. 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 409:307-12.
- Strowitzki, T., M. Kellerer, E. Capp, and H.U. Haring. 1998. Increase in serum leptin concentrations in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction. *Gynecol Endocrinol.* 12:167-9.
- Styne-Gross, A., K. Elkind-Hirsch, and R.T. Scott, Jr. 2005. Obesity does not impact implantation rates or pregnancy outcome in women attempting conception through oocyte donation. *Fertil Steril.* 83:1629-34.
- Tabandeh, M.R., A. Hosseini, M. Saeb, M. Kafi, and S. Saeb. 2010. Changes in the gene expression of adiponectin and adiponectin receptors (AdipoR1 and AdipoR2) in ovarian follicular cells of dairy cow at different stages of development. *Theriogenology.* 73:659-69.
- Tarkun, I., Z. Canturk, B.C. Arslan, E. Turemen, and P. Tarkun. 2004. The plasminogen activator system in young and lean women with polycystic ovary syndrome. *Endocr J.* 51:467-72.
- Tena-Sempere, M. 2010. Kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and physiopathological implications. *Ann Endocrinol (Paris).* 71:201-2.
- Tolstrup, J.S., S.K. Kjaer, C. Holst, H. Sharif, C. Munk, M. Osler, L. Schmidt, A.M. Andersen, and M. Gronbaek. 2003. Alcohol use as predictor for infertility in a representative population of Danish women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 82:744-9.
- van Swieten, E.C., L. van der Leeuw-Harmsen, E.A. Badings, and P.J. van der Linden. 2005. Obesity and Clomiphene Challenge Test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Gynecol Obstet Invest.* 59:220-4.
- Waki, H., T. Yamauchi, J. Kamon, Y. Ito, S. Uchida, S. Kita, K. Hara, Y. Hada, F. Vasseur, P. Froguel, S. Kimura, R. Nagai, and T. Kadowaki. 2003. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem.* 278:40352-63.
- Wang, J.X., M. Davies, and R.J. Norman. 2000. Body mass and probability of pregnancy during assisted reproduction treatment: retrospective study. *Bmj.* 321:1320-1.
- Wang, J.X., M.J. Davies, and R.J. Norman. 2002. Obesity increases the risk of spontaneous abortion during infertility treatment. *Obes Res.* 10:551-4.
- Wass, P., U. Waldenstrom, S. Rossner, and D. Hellberg. 1997. An android body fat distribution in females impairs the pregnancy rate of in-vitro fertilization-embryo transfer. *Hum Reprod.* 12:2057-60.
- Wattanakumtornkul, S., M.A. Damario, S.A. Stevens Hall, A.R. Thornhill, and I.S. Tummon. 2003. Body mass index and uterine receptivity in the oocyte donation model. *Fertil Steril.* 80:336-40.
- Winter, Y., S. Rohrmann, J. Linseisen, O. Lanczik, P.A. Ringleb, J. Hebebrand, and T. Back. 2008. Contribution of obesity and abdominal fat mass to risk of stroke and transient ischemic attacks. *Stroke.* 39:3145-51.
- Wittemer, C., J. Ohl, M. Bailly, K. Bettahar-Lebugle, and I. Nisand. 2000. Does body mass index of infertile women have an impact on IVF procedure and outcome? *J Assist Reprod Genet.* 17:547-52.

- World Health Organization. 1999. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. WHO, Geneva.
- World Health Organization. 2000. Consultation on Obesity. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series 894, Geneva.
- Yamauchi, T., J. Kamon, H. Waki, Y. Terauchi, N. Kubota, K. Hara, Y. Mori, T. Ide, K. Murakami, N. Tsuboyama-Kasaoka, O. Ezaki, Y. Akanuma, O. Gavrilova, C. Vinson, M.L. Reitman, H. Kagechika, K. Shudo, M. Yoda, Y. Nakano, K. Tobe, R. Nagai, S. Kimura, M. Tomita, P. Froguel, and T. Kadowaki. 2001. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med.* 7:941-6.
- Yusuf, S., S. Hawken, S. Ounpuu, L. Bautista, M.G. Franzosi, P. Commerford, C.C. Lang, Z. Rumboldt, C.L. Onen, L. Lisheng, S. Tanomsup, P. Wangai, Jr., F. Razak, A.M. Sharma, and S.S. Anand. 2005. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet.* 366:1640-9.
- Zaadstra, B.M., J.C. Seidell, P.A. Van Noord, E.R. te Velde, J.D. Habbema, B. Vrieswijk, and J. Karbaat. 1993. Fat and female fecundity: prospective study of effect of body fat distribution on conception rates. *Bmj.* 306:484-7.
- Zhang, F., Y. Chen, M. Heiman, and R. Dimarchi. 2005. Leptin: structure, function and biology. *Vitam Horm.* 71:345-72.
- Zhao, Y., D.O. Kreger, and J.D. Brannian. 2000. Serum leptin concentrations in women during gonadotropin stimulation cycles. *J Reprod Med.* 45:121-5.

Nom – Prénoms : CAILLON Hélène, Marie, Léonie

Titre du mémoire-thèse :

**CARACTÉRISATION DE LA DYSRÉGULATION DES HORMONES ADIPOCYTAIRES
ASSOCIÉE A L'OBÉSITÉ ET AUX TROUBLES DE LA REPRODUCTION**

Résumé du mémoire-thèse :

Les conséquences délétères de l'obésité, dont la prévalence ne cesse d'augmenter ces dernières années, se manifestent également sur la fertilité et sur les résultats en Assistance Médicale à la Procréation (AMP).

L'objectif de ce travail est d'évaluer les répercussions de l'obésité sur le profil hormonal et sur la prise en charge en FIV. Celles-ci ont pu être mises en évidence grâce à une étude rétrospective qui a montré en particulier la nécessité de recourir à des doses de FSH recombinante plus élevées chez les femmes en surpoids ou obèses. Par ailleurs, bien que des tendances semblent se dessiner, aucun retentissement significatif sur les issues de stimulation n'a pu être constaté.

Ces conséquences de l'obésité sur la fertilité suggèrent l'intérêt de caractériser les dysrégulations adipocytaires associées et leur impact sur la physiologie ovarienne. A l'interface entre le métabolisme énergétique et la reproduction, la leptine et l'adiponectine apparaissent comme deux médiateurs hormonaux essentiels. Les résultats préliminaires de l'étude prospective menée dans le but de caractériser ces dysrégulations permettent de mettre en évidence des modifications du profil adipocytaire et inflammatoire chez des patientes obèses. Parmi les paramètres étudiés, la leptine semble constituer une adipokine d'intérêt tout particulier, à la fois comme cible thérapeutique et comme marqueur prédictif de l'issue de la stimulation ovarienne.

MOTS-CLÉS : OBÉSITÉ, FERTILITÉ, ADIPOKINES, LEPTINE, INFLAMMATION

JURY :

PRÉSIDENT : M. Jean-Marie BARD

Professeur de Biochimie, Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS : M. Damien MASSON

MCU-PH Biochimie, Faculté de Médecine de Nantes

M. Marc DENIS

Professeur de Biochimie, Faculté de Médecine de Nantes

M. Paul BARRIÈRE

Professeur de Médecine de la Reproduction, Faculté de Médecine de Nantes

M. Thomas FRÉOUR

AHU Médecine de la Reproduction, Faculté de Médecine de Nantes

Adresse de l'auteur : Laboratoire de Biochimie – CHU de Nantes – 9 quai Moncousu – 44093 Nantes Cedex 1