

ANNÉE 2020

N°

THÈSE
POUR LE
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

INQUEL Anaïs

Présentée et soutenue publiquement le 16 Octobre 2020

Evaluation de l'intérêt de l'inhibine A dans le monitoring hormonal des stimulations ovariennes en vue d'une Fécondation In Vitro

Président : Pr IMBERT Berthe-Marie
Directeur de thèse : Pr FREOUR Thomas
Membres du jury : Pr BARRIERE Paul
Pr MASSON Damien
Dr REIGNIER Arnaud

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier grandement mon directeur de thèse, Pr FREOUR Thomas, professeur au laboratoire de PMA du CHU de Nantes pour toute son aide.

Je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie car outre son appui scientifique, je tiens à le remercier pour son écoute ainsi que sa grande disponibilité au cours de l'élaboration de cette thèse.

J'exprime ma gratitude au Pr MASSON Damien, professeur au laboratoire de Biochimie du CHU de Nantes, pour l'organisation de l'envoi des prélèvements et surtout sa bonne humeur.

Je tiens à remercier Pr Barrière, Pr Imbert et Dr Reignier de me faire l'honneur d'être présent au sein de mon jury.

Je remercie également toute ma famille et particulièrement mes parents qui m'ont toujours soutenu depuis le début de cette aventure. Sans eux, tout ce parcours n'aurait pas été possible.

Merci à ma grand-mère qui, malgré son incompréhension face à ce langage scientifique, a toujours essayé de s'intéresser à mon quotidien en tant que biologiste médicale.

Un grand merci à Gwen pour sa présence et son soutien au quotidien.

Merci à mes co-internes Nantais (notamment Alix, Sophie, Adeline, Camille et Chloë) et Tourangeaux pour la magnifique ambiance durant mon internat.

Enfin merci au laboratoire Orgentec d'avoir réalisé les dosages permettant l'élaboration de cette thèse.

Table des matières :

Remerciements	2
Table des matières :	3
Lexique :	6
Introduction :	7
Généralités :	9
Stimulation ovarienne en vue d'une FIV	9
Folliculogénèse	13
Régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire	18
Système inhibine et implication potentielle dans le monitoring hormonal des stimulations ovariennes en vue d'une FIV	22
Objectifs	24
Matériels et Méthodes	25
Population de l'étude :	25
Paramètres de stimulation :	26
Critères d'inclusion :	27
Critère d'exclusion :	27
Echantillons :	27
Méthodes de dosage :	28
Méthode de dosage de l'E2 :	28
Méthode de dosage de l'inhibine A :	28
Analyses statistiques :	29
Résultats :	30
Discussion:	56
Conclusion	66
Bibliographie :	67

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Caractéristiques des patientes.	30
Tableau 2 : Coefficients de corrélation entre l'inhibine A, l'estradiol et les différents paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans la population générale (A), dans les sous-groupes par âge (B) et dans le sous-groupe selon la réponse à la stimulation ovarienne (C)	48
Tableau 3 : Corrélation entre l'inhibine A et l'estradiol.	53
Tableau 4 : Corrélation entre le nombre de follicules ovariens (classés par diamètre) et la concentration sérique de marqueurs hormonaux selon le jour de stimulation.	60
Tableau 5 : Corrélation entre le nombre de follicules et la concentration entre différents marqueurs hormonaux le jour du déclenchement de l'ovulation.	60
Tableau 6 : Corrélation entre le nombre d'ovocytes recueillis et la concentration sérique de marqueurs hormonaux ou des follicules de différents diamètres à plusieurs périodes de la stimulation ovarienne.	62
Tableau 7 : Etude des corrélations entre les dosages plasmatiques et le nombre d'ovocytes recueillis en fonction du jour de la ponction ovocytaire.	63
Tableau 8 : Corrélation entre les différents marqueurs hormonaux selon le jour de traitement lors de la stimulation ovarienne.	64

Liste des figures :

Figure 1 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les paramètres de réponse ovarienne à la stimulation.	32
Figure 2 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les différents paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans le sous-groupe de patientes ayant moins de 35 ans (n=42).	35
Figure 3 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les différents paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans le sous-groupe de patientes ayant plus de 35 ans (n=42).	38
Figure 4 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A et les différents paramètres dans le groupe de patientes considérées comme mauvaises répondeuses (A), normo-répondeuses (B) et hyper-répondeuses (C).	41
Fig 5 : Corrélation entre la concentration sérique en estradiol et les différents paramètres dans le groupe de patientes considérées comme mauvaise répondeuse (A), normo-répondeuse (B) et hyper-répondeuse (C).	45
Fig 6 : Corrélation entre les concentrations sériques d'inhibine A et l'estradiol dans la population générale (A), dans le sous-groupe de patientes par âge (B), dans le sous-groupe de patientes selon la réponse ovarienne(C).	51
Figure 7 : Corrélation entre la concentration folliculaire en inhibine A et le diamètre folliculaire.	59

Lexique :

AMH : Hormone anti-müllérienne
AMP : Assistance Médicale à la Procréation
BT : Biopsie testiculaire
CFA : Compte de Follicules Antraux
DPI : Diagnostic Pré-Implantatoire
E2 : Estradiol
[E2] : Concentration en estradiol
FIV : Fécondation In Vitro
Freeze all : congélation des embryons
FSH : Hormone Folliculo-Stimulante
GCs : culture de cellule de la granulosa
GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone
GT : Gonadotrophines
HCG : Hormone Chorionique Gonadotrope
ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection
LH : Hormone Lutéinisante
RLUs : Relative Light Units
SHO : Syndrome d'Hyperstimulation Ovarienne

Introduction :

Dans ce travail, nous allons aborder dans un premier temps les principes et objectifs d'une stimulation ovarienne en Fécondation In Vitro (FIV), puis les dosages hormonaux permettant un suivi optimal des patientes et enfin, le protocole antagoniste mis en place dans notre centre pour une stimulation multifolliculaire.

Dans un second temps, nous verrons des rappels sur la folliculogénèse et la régulation par l'axe hypothalamo-hypophysaire, les différents rôles de la LH et de la FSH ainsi que la notion de fenêtre de FSH (principe fondamental d'une stimulation multifolliculaire).

Pour conclure, nous terminerons par un rappel sur la physiologie du système inhibine et son éventuelle place dans le monitoring hormonal des stimulations ovariennes en vue de FIV.

Au cours des stimulations hormonales en vue de FIV, une surveillance régulière est indispensable pour suivre la réponse ovarienne à la stimulation et adapter la dose de gonadotrophines exogènes à administrer à la patiente. Un bilan complet sera réalisé chez la patiente afin de déterminer la meilleure dose de départ à administrer en fonction de l'âge, de la réserve ovarienne, du poids et de sa réponse à d'éventuelles stimulations précédentes.

De plus, la stimulation ovarienne permet la croissance ainsi que la maturation folliculaire et ovocytaire tout en évitant les risques d'hyperstimulation ovarienne, en contrôlant régulièrement les dosages hormonaux (notamment l'estradiol). Des échographies de contrôle sont également effectuées tous les deux à trois jours afin de visualiser le nombre de follicules qui se développent et déterminer le jour optimal pour le déclenchement de l'ovulation.

Le but de la stimulation ovarienne par FIV ou ICSI est de recruter le maximum d'ovocytes matures tout en évitant les complications. Le nombre d'ovocytes matures recueillis est un facteur clé de réussite des techniques d'assistance médicale à la procréation. Cela va permettre théoriquement d'obtenir plusieurs embryons et donc d'optimiser les chances de grossesses.

Tandis que dans un cycle spontané, la concentration d'E2 peut donner une indication de la taille du follicule unique en croissance, la concentration sérique d'E2 dans les cycles de

stimulation multifolliculaire est supraphysiologique et varie beaucoup en fonction de la croissance des nombreux follicules de différentes tailles.

Dans un cycle naturel, l'activité aromatasase commence à partir du 5-8ème jour pour des follicules de plus de 8 mm (1,2).

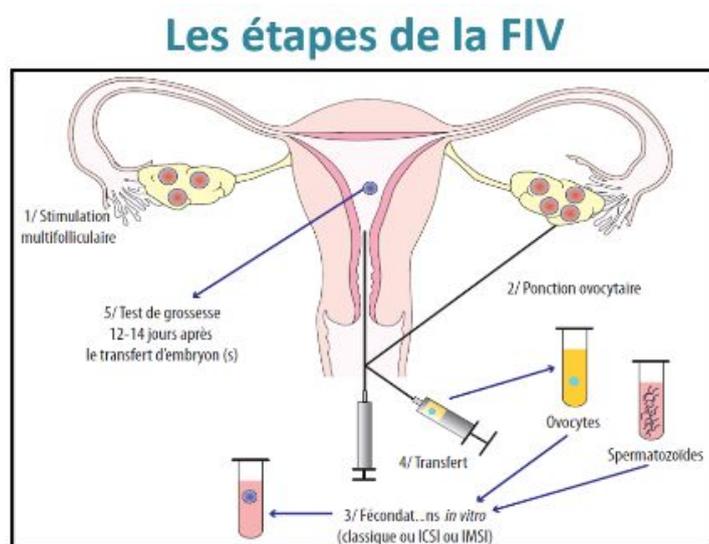
Au contraire de l'E2, les concentrations d'inhibine A sérique augmentent à partir d'une taille de follicule de 12-15mm (3). De ce fait, la combinaison de l'inhibine A et de l'échographie transvaginale pourrait être un meilleur moyen de déterminer le jour optimal d'administration de l'HCG afin de permettre la maturation finale des ovocytes en comparaison à l'association des échographies transvaginales et de l'estradiol.

Généralités :

Stimulation ovarienne en vue d'une FIV

La FIV se déroule en plusieurs étapes qui sont les suivantes :

- 1) Stimulation multifolliculaire par protocole antagoniste puis déclenchement de l'ovulation par injection d'Ovitrelle® ou de Décapeptyl®. Les critères de déclenchement sont les suivants : au moins trois follicules de plus de 17mm et un endomètre en triple feuillet d'une épaisseur supérieure à 7 mm.
- 2) Ponction ovocytaire avec le recueil du liquide folliculaire et recherche des cumulus cumulo-ovocytaires au laboratoire.
- 3) Mise en fécondation en FIV ou en ICSI.
- 4) Transfert embryonnaire frais après l'obtention d'un blastocyste ou congélation de la cohorte embryonnaire si le transfert frais n'est pas réalisable (en cas d'hyperstimulation ovarienne par exemple).
- 5) Test de grossesse 11 jours après le transfert.



Robin et Catteau-Jonard. Med Clin Endoc Metabol 2013

Dr Geoffroy Robin et Dr Sophie Catteau-Jonard. L'Assistance Médicale à la Procréation « pour les nuls » en 13 questions-réponses. Janvier 2013 VOL 62 MCED

Le monitoring en FIV est donc très important pour obtenir des ovocytes de bonne qualité et fécondables à la suite de la stimulation.

Le monitoring en FIV associe deux éléments. Premièrement, l'imagerie avec l'échographie permettant un suivi du développement folliculaire réalisé par voie endovaginale et qui consiste à mesurer le nombre et le diamètre des follicules antraux en cours de développement sur chaque ovaire.

Deuxièmement, le suivi hormonal basé sur la mesure toutes les 48 à 72h des concentrations sériques de trois hormones :

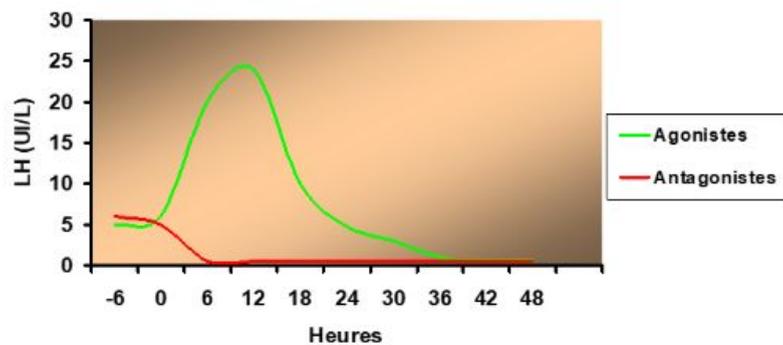
- **Estradiol** : secrété par les follicules, il reflète la croissance et la maturité folliculaire, marqueur indirect du risque d'hyperstimulation ovarienne. Cette hormone permet pendant le traitement de FIV la surveillance de la réponse ovarienne à la stimulation. Lorsque le taux est manifestement trop bas, la stimulation peut être stoppée. Lorsqu'il est trop élevé (3000 à 4500 pg/ml), la tentative peut être abandonnée car le risque d'hyperstimulation est trop élevé. Du fait de la croissance de nombreux follicules de différentes tailles, les concentrations d'E2 sont souvent de concentrations variables rendant le dosage de l'estradiol pendant la stimulation ovarienne difficilement corrélable à la maturité ovocytaire (contrairement à un cycle spontané).
- **LH** : permet le contrôle de l'efficacité des analogues sur l'axe gonadotrope. Cette hormone permet de repérer un déclenchement prématuré de l'ovulation (l'apparition d'un pic de LH précédant l'ovulation de 24 heures).
- **Progestérone** : reflet la maturité endométriale. Si elle est trop élevée, la congélation de la cohorte ovocytaire sera nécessaire car les chances d'implantation de l'embryon sont très faibles (absence de transfert frais).

Les paramètres hormonaux et échographiques s'interprètent de façon globale.

Nous réalisons un protocole antagoniste de la GnRH pour la plupart des patientes en vue d'une stimulation ovarienne dans notre centre (le cas de toutes les patientes incluses dans notre étude).

L'objectif est la mise au repos de l'hypophyse afin de bloquer les ovaires et empêcher le risque d'ovulation spontanée.

Cela permet une désensibilisation très rapide de l'axe (contrairement aux agonistes), il s'agit de produits à demi-vie courtes avec des injections sous cutanée quotidiennes (Orgalutran© et Cetrotide©).



Dr Geoffroy ROBIN. Stimulation ovarienne. 2020.

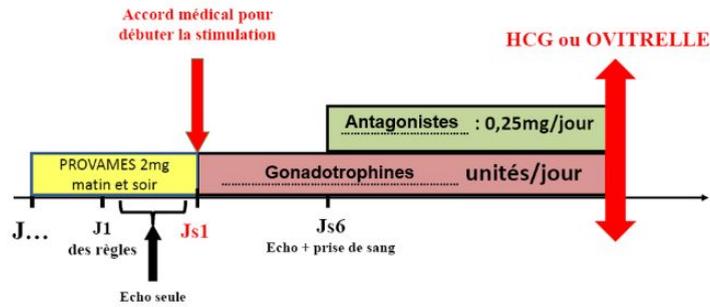
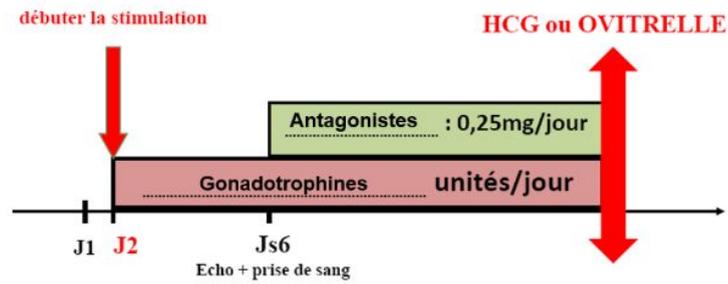
disponible sur : <https://docplayer.fr/79660400-Stimulation-ovarienne.html>

Dès les premiers jours de traitement, une prise de sang quotidienne est demandée pour doser l'œstradiol et éventuellement adapter la quantité de gonadotrophine injectée, mais également la LH pour surveiller et prévenir toute augmentation de cette hormone qui serait le signe d'une ovulation spontanée. Une échographie par voie endo-vaginale est faite en parallèle.

Lorsque le diamètre des follicules atteint un certain seuil, l'injection quotidienne de l'antagoniste du GnRH (Orgalutran©) est mise en place.

Puis lorsque la taille des follicules et le taux d'œstradiol le permettent, l'injection d'HCG (Ovitrelle© ou Décapeptyl©) est décidée. La ponction ovocytaire intervient 36 heures plus tard. La durée de ce protocole est d'environ 12 jours.

Il existe des protocoles antagonistes "programmés" par les oestrogènes permettant une plus grande souplesse au niveau de l'organisation du laboratoire.



D'après Guivarch'Leveque et al. *Gynecol Obstet Fertil* 2010

Dr Geoffroy ROBIN. Stimulation ovarienne. 2020.

disponible sur : <https://docplayer.fr/79660400-Stimulation-ovarienne.html>

Ce protocole antagoniste est moins long et plus confortable que le protocole agoniste. De plus, il diminue le risque d'hyperstimulation ovarienne et présente une efficacité comparable en taux de naissances vivantes. Néanmoins, ce protocole permet moins de souplesse pour le déclenchement et pour l'adaptation de doses.

Folliculogénèse

La folliculogénèse se définit par l'ensemble des processus par lesquels un follicule primordial se développe pour atteindre l'ovulation (<0.1%) ou régresse par apoptose (99.9%). Elle a lieu dans le cortex ovarien. Ce phénomène se produit à partir d'un stock de follicules mis en place au stade embryonnaire (pool de réserve) et pendant la vie foetale. Celle-ci n'aboutit à une ovulation que pendant la vie cyclique de la femme entre la puberté et la ménopause ce qui correspond à environ 400 ovulations au cours de la vie.

Chaque mois il y a production d'un ovocyte unique. L'évolution la plus commune étant l'atrésie.

En effet, on observe une décroissance du nombre de follicules au cours de la vie d'une femme : 7 millions de cellules souches in utero, 1 million de follicules à la naissance puis 300 000 follicules subsistent à la puberté pour aboutir à la ménopause à 1000 follicules.

Il résulte donc un épuisement constant et régulier de la réserve folliculaire avec une diminution progressive de l'entrée en croissance de ces follicules.

Un cycle ovulatoire dure 28 jours en moyenne avec différents stades (J1 correspondant au premier jour des règles)

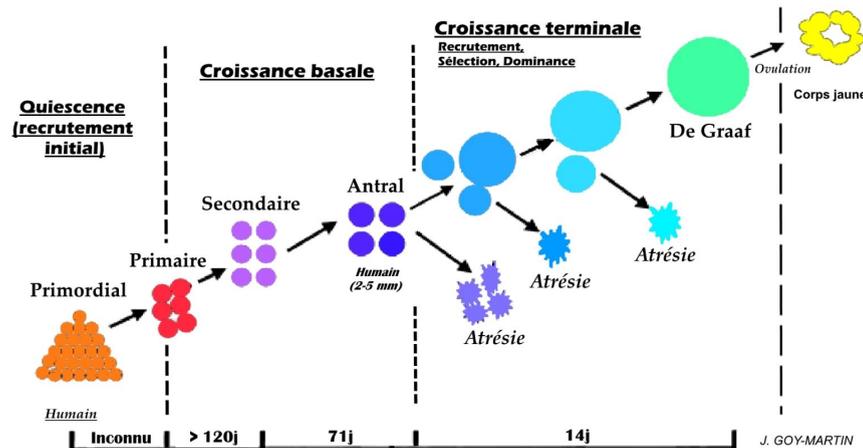
- La phase folliculaire qui conduit à l'ovulation de J0 à J14.
- L'ovulation à J14 du cycle avec libération d'un ovocyte fécondable.
- La phase lutéale de J15 à J28 qui prépare à la nidation.

Les différents aspects morphologiques des follicules sont les suivants :

- Follicule primordial : constitué de l'ovocyte dont le noyau est formé par la vésicule germinative (prophase de première division méiotique) entouré de cellules de la granulosa (50 μ m).
- Follicule primaire : la granulosa devient plus importante et comporte une couche de cellules (60 à 80 μ m).
- Follicule secondaire pré-antral : la granulosa est composée de plusieurs couches de cellules cubiques avec l'apparition de la zone pellucide autour de l'ovocyte.

Constitution de la thèque interne qui aura des compétences sur la synthèse des stéroïdes (200 à 400 μm).

- Follicule antral : formation d'une cavité unique qui contient le liquide folliculaire et formation de la thèque externe autour de la thèque interne (2mm).
- Follicule mature pré-ovulatoire/ De Graaf : 20 à 22mm de diamètre



Folliculogénèse. Disponible sur : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Folliculogénèse>

Le temps écoulé entre l'activation du follicule primordial et son éventuelle ovulation est largement supérieur à un cycle, il est estimé entre 4 et 5 mois.

Les récepteurs hormonaux apparaissent tardivement dans les follicules pré-antraux et antraux. Les cellules de la granulosa acquièrent des récepteurs à la FSH tandis que les cellules de la thèque interne acquièrent des récepteurs à la LH.

La première étape de la folliculogénèse est peu dépendante des gonadotrophines. Elle correspond à la croissance des follicules pré-antraux et des petits follicules de moins de 2 mm de diamètre. A ce stade, des concentrations très faibles de gonadotrophines suffisent à maintenir la croissance folliculaire.

- **Quiescence** : initiation de la croissance folliculaire, le follicule passe du stade primordial à primaire, environ 20 par jour pour une femme de 20 ans.
- **Croissance folliculaire de base** : le stade terminal de cette croissance dépend de l'espèce, pour la femme il s'agit de l'antrum avec un diamètre de 2 mm.

Les 3 phases suivantes sont dépendantes des gonadotrophines, avec l'évolution d'un follicule de 2 mm jusqu'à l'ovulation (environ 2 semaines).

- **Recrutement** : les follicules gonado-dépendants présents dans les ovaires entrent en croissance terminale, cette étape coïncide avec l'apparition d'une activité aromatasase de la granulosa. La FSH est la seule gonadotrophine impliquée dans le recrutement.
- **Sélection** : cette phase coïncide avec l'apparition des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa.
- **Dominance** : le follicule dominant est celui qui a le seuil de réponse à la FSH le plus bas. Pendant la dominance, il y a croissance et maturation du follicule pré-ovulatoire et régression par atresie des autres follicules de la cohorte ainsi que le blocage du recrutement de nouveaux follicules.

Lors de la première étape, la FSH agit seule, elle permet d'une part la croissance folliculaire grâce à son effet mitogène important sur les cellules de la granulosa, et d'autre part la maturation folliculaire en induisant la différenciation de ces cellules, l'acquisition de l'activité aromatasase et l'expression des récepteurs à la LH.

En deuxième partie, la LH intervient pour l'initiation de la stéroïdogénèse thécale, la dominance d'un follicule unique et l'ovulation.

Définition de la fenêtre de FSH :

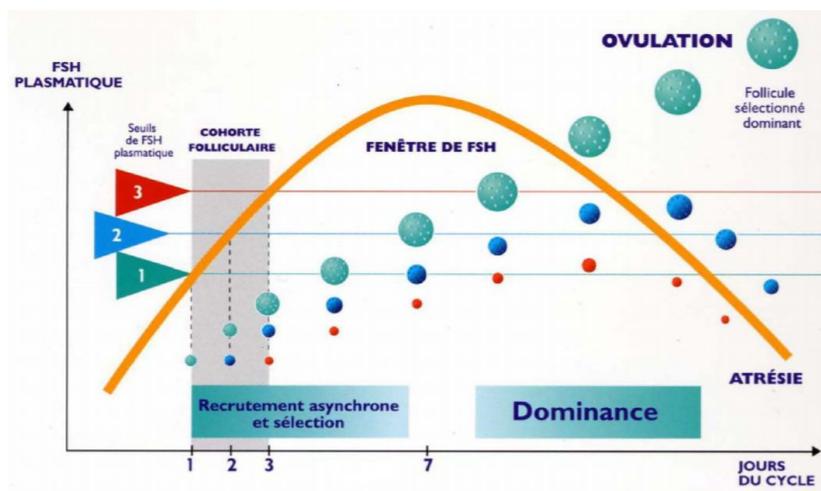
Il s'agit de la période durant laquelle la sécrétion de FSH demeure au dessus du seuil de développement folliculaire. La diminution physiologique de la FSH en milieu de phase folliculaire ferme la fenêtre, et conduit à l'atresie des follicules les moins sensibles.

Lors des protocoles de Fécondation In Vitro où une multi folliculogénèse est recherchée, des concentrations élevées de FSH sont maintenues par des apports de FSH injectable afin de recruter l'ensemble des follicules antraux qui ne sont pas en voie d'atresie.

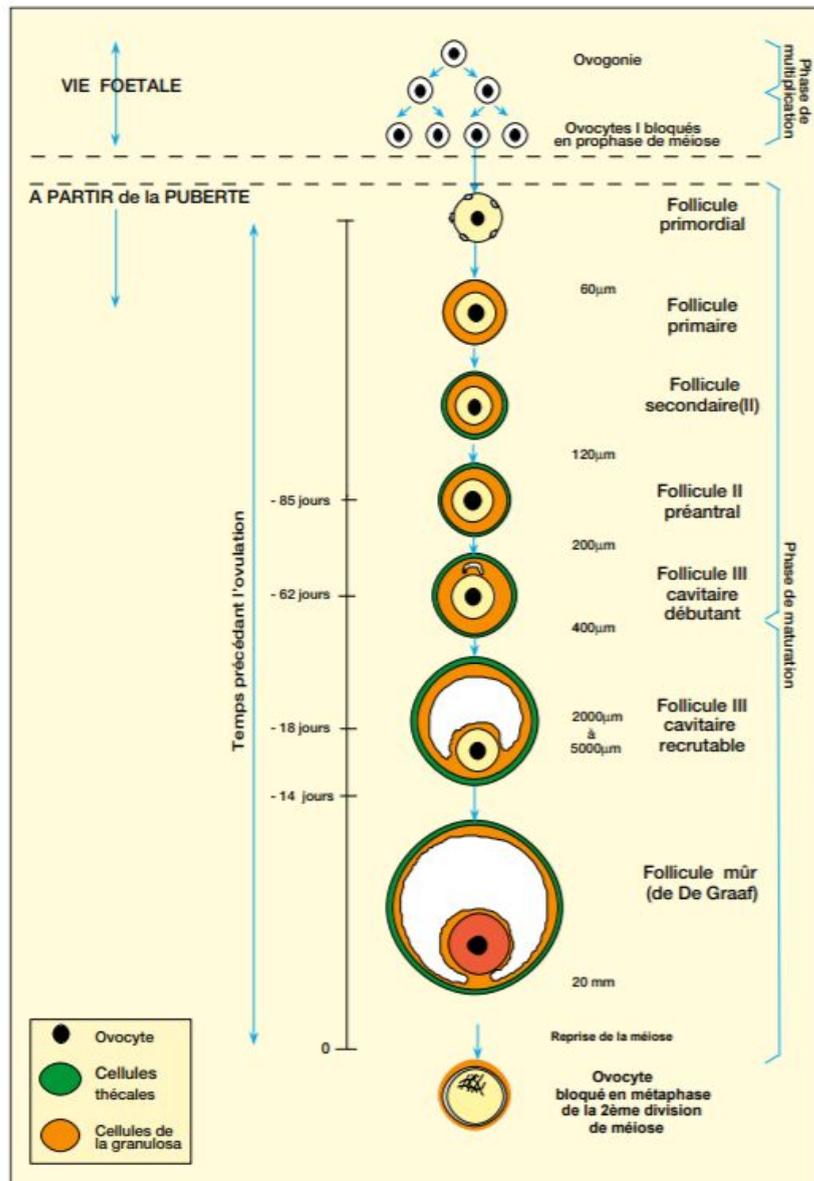
Plus la fenêtre est large, plus le nombre de follicules recrutés est grand.

La réponse folliculaire dépend du seuil de sensibilité à la FSH qui varie avec la taille du follicule, les plus gros follicules étant les plus sensibles. Le développement de la cohorte de follicules recrutés s'accompagne d'une élévation de l'estradiol et de l'inhibine A qui rétrocontrôlent négativement la production de FSH. Les taux de FSH baissant, les follicules

les moins sensibles arrêtent leur développement et débutent leur atrophie alors que le follicule dominant se maintient.



*Dr Clemence ROCHE. Iiu en 2015 : quelle place dans la prise en charge des couples infertiles . 2015.
Disponible sur https://www.hopital-dcss.org/images/pdfcreator/Fertidiac/TOPICS_FIVDIAC/iuu_1.pdf*



Cahier de formation biologie médicale. 2004. Disponible sur :

<https://sjbm.fr/images/cahiers/2004-Bioforma-30-Exploration%20de%20la%20reproduction%20versant%20%C3%A9minin.pdf>

Régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire

Les fonctions endocrines de l'ovaire et l'ovulation sont la résultante du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.

L'hypothalamus sécrète la GnRH, lié par la tige pituitaire à l'hypophyse qui sécrète les gonadotrophines (FSH et LH) qui vont passer dans la circulation générale pour arriver vers la cible principale qui est l'ovaire.

Les gonadotrophines agissent sur les cellules folliculaires en se liant à des récepteurs de surface.

Lors de la première moitié du cycle qui correspond à la phase folliculaire, la FSH stimule la maturation des follicules ovariens et leur sécrétion d'hormones, les oestrogènes. En milieu de cycle, l'ovulation est liée à une forte sécrétion de LH qui stimule le follicule mûr et déclenche la libération d'un ovocyte prêt à être fécondé. Enfin, les 14 jours suivants, la LH induit la transformation du follicule post-ovulatoire en corps jaune et stimule les sécrétions de progestérone et d'oestrogènes permettant l'entrée dans la phase lutéale.

Les récepteurs à la FSH sont situés sur les cellules de la granulosa dès le stade de follicule primaire. Leur nombre varie peu au cours du développement folliculaire mais la sensibilité des follicules à la FSH augmente au cours de leur développement.

Les récepteurs pour la LH sont situés sur les cellules de la thèque interne à partir du stade préantral. Leur nombre augmente avec la taille du follicule. Sous l'effet des gonadotrophines, le follicule produit des hormones stéroïdes : sous le contrôle de la FSH, les cellules de la granulosa aromatisent en estrogènes les androgènes produits par la thèque interne sous l'effet de la LH.

La LH est une hormone permettant l'ovulation du follicule : les concentrations croissantes d'estradiol déclenchent le pic ovulatoire de LH.

Elle a une action sur les cellules de la granulosa pour entraîner leur dissociation et la rupture des liens entre corona radiata et ovocyte. Elle induit la reprise de la méiose ovocytaire avec expulsion du premier globule polaire et l'ovulation.

Enfin, elle stoppe de la division des cellules de la granulosa et entraîne la formation du corps jaune.

Le follicule pré-ovulatoire fait saillie au niveau de la surface de la corticale ovarienne. La sécrétion du liquide folliculaire y maintient une tension. Le pic de LH provoque une augmentation de la sécrétion de prostaglandines qui entraînent une diminution de la perfusion de l'apex folliculaire et une sécrétion locale d'enzymes protéolytiques. L'ensemble de ces phénomènes aboutit à la rupture folliculaire et à l'éjection du cumulus oophorus contenant l'ovocyte dans la cavité péritonéale ou il sera capté par la trompe.

La FSH, quant à elle, permet la multiplication des cellules de la granulosa, l'aromatation des androgènes en estradiol et l'induction des récepteurs de la FSH et de la LH.

Rôle de l'estradiol :

Au sein la thèque interne, le cholestérol est transformé en androgènes (delta 4 androstenedione essentiellement). Ces androgènes diffusent vers les cellules de la granulosa où ils sont aromatisés en estrogènes (principalement de l'estradiol). Cet E2 s'accumule dans le liquide folliculaire et diffuse en partie vers le compartiment plasmatique. La synthèse thécale des androgènes est sous le contrôle de la LH, tandis que l'activité aromatase des cellules de la granulosa est stimulée par la FSH.

L'E2 assure en retour un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des gonadotrophines hypophysaires.

La capacité du follicule à synthétiser des stéroïdes augmente avec sa taille. En effet, un follicule de moins de 2 mm a une activité de stéroïdogénèse faible.

Entre 2 et 5 mm, son activité aromatase est indétectable, la delta 4 androstenedione est le stéroïde dominant tandis que la concentration d'E2 évolue peu et reste inférieure à 100 pg/ml jusqu'au 5ème jour du cycle environ.

Pendant la période de sélection entre J5 et J10 lorsque les follicules atteignent une taille de 10-12mm, l'activité aromatase devient détectable. La concentration d'E2 s'accroît alors d'environ 30 % par jour.

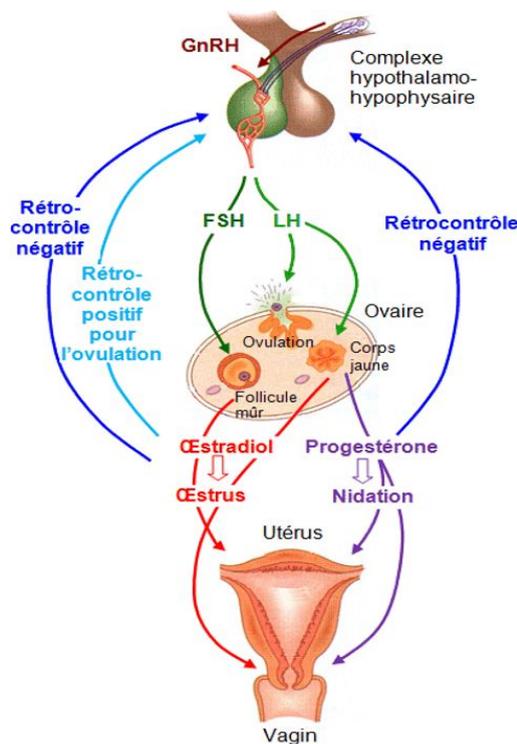
Au cours de la phase folliculaire tardive de J10 à J14, le développement du follicule dominant supérieur à 15 mm se traduit par une augmentation exponentielle de la concentration d'E2.

En fin de phase folliculaire, les cellules de la granulosa acquièrent progressivement des récepteurs à la LH. Le rétrocontrôle négatif de l'estradiol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire va s'inverser lorsque le taux d'estradiol circulant atteindra un certain niveau pendant une certaine durée consécutive.

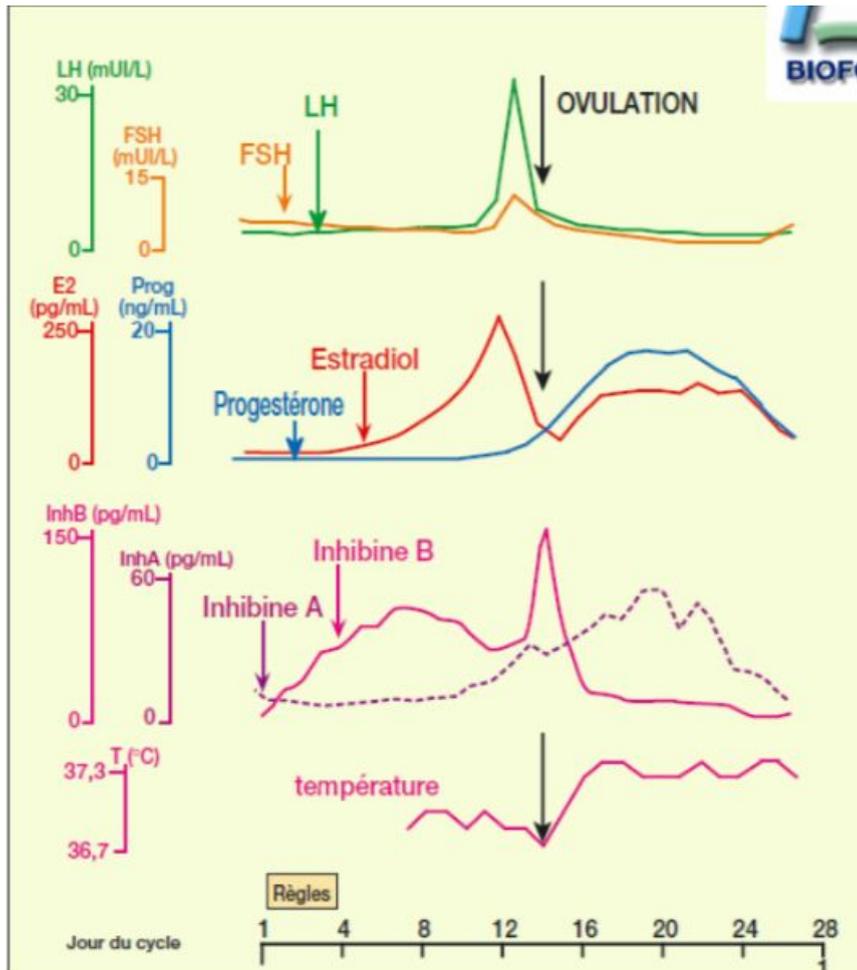
Le rétrocontrôle positif de l'estradiol va entraîner le pic de LH survenant le lendemain du pic d'estradiol. L'ovulation aura lieu 36h après le début du pic de LH circulant.

La finalité de l'ovogenèse est d'obtenir un gamète féminin de qualité au stade d'ovocyte II pour être un ovocyte mature fécondable.

En phase lutéale, les cellules de la granulosa ne synthétisent plus d'estrogènes. La LH provoque la synthèse de progestérone par les cellules du corps jaune qui produisent aussi de faibles quantités d'estrogènes. La progestérone inhibe par rétrocontrôle la synthèse de LH et stimule la production de FSH provoquant le démarrage d'un nouveau cycle.



Pr Sophie Christin-Maitre. L'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien pour comprendre la reproduction.2020.



Cahier de formation biologie médicale. 2004. Disponible sur :

<https://sjbm.fr/images/cahiers/2004-Bioforma-30-Exploration%20de%20la%20reproduction%20versant%20%C3%A9minin.pdf>

Système inhibine et implication potentielle dans le monitoring hormonal des stimulations ovariennes en vue d'une FIV

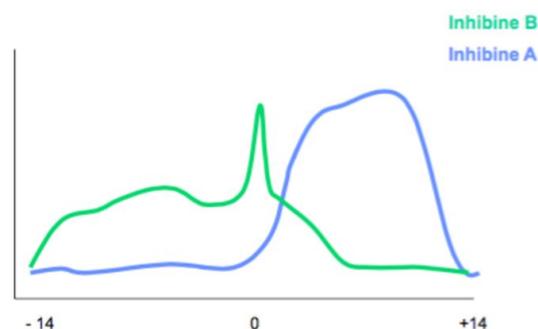
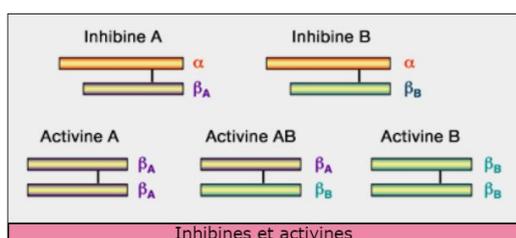
La folliculogénèse chez la femme est régulée par différents systèmes dont le système inhibine. Très peu d'études ont évalué la valeur prédictive des concentrations sérique d'inhibine A sur le nombre de follicules et d'ovocytes obtenus chez des patientes suivies en Assistance Médicale à la Procréation.

L'inhibine, l'activine et la follistatine sont des peptides intervenant dans la régulation paracrine des fonctions ovariennes.

Les inhibines sont des glycoprotéines synthétisées par les gonades qui freinent la production hypophysaire de FSH. Elles sont constituées de deux chaînes : la chaîne α , commune aux deux inhibines et la chaîne β , spécifique de chaque inhibine : β_A pour l'inhibine A, β_B pour l'inhibine B.

L'activine A est formée de 2 sous unité β_A . La follistatine est monomérique, elle est capable de lier une molécule d'inhibine et 2 molécules d'activine.

Du fait d'une homologie de structure, l'inhibine, l'activine, le $TGF\beta$ et l'hormone anti-müllérienne font partie de la même famille.



<https://boowiki.info/art/hormones-peptidiques/inhibine.html>

Synthétisée par les petits follicules à antrum, l'inhibine B sérique augmente en période de transition lutéo-folliculaire et en phase folliculaire précoce. Elle est FSH dépendante.

Il a été démontré une différence sur les concentrations circulantes des inhibines durant le cycle menstruel. La phase folliculaire précoce est marquée par une réduction initiale de l'inhibine A qui est suivie par un taux faible mais stable. Puis, la concentration d'inhibine A augmente en même temps que celle de l'E2. En parallèle, la concentration d'inhibine B,

continue à augmenter durant la phase folliculaire précoce et atteint son niveau maximal au milieu de la phase folliculaire. Un pic très court est observé 48 heures après l'ovulation. A partir de ce moment, la concentration d'inhibine B va continuer à décroître jusqu'à la fin du cycle. L'inhibine B est en pratique clinique, un marqueur de la fonction des cellules de la granulosa.

Contrairement à l'inhibine B, la concentration sérique d'inhibine A augmente progressivement durant la phase folliculaire tardive et présente de hautes concentrations lors de la phase lutéale. Elle est essentiellement produite par le follicule dominant, le corps jaune et le syncytiotrophoblaste. Sa sécrétion est LH dépendante.

Les inhibines possèdent un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH.

Ces hormones vont permettre le bon déroulement de la folliculogénèse afin d'obtenir un ovocyte mature et fécondable par un spermatozoïde.

Une étude a déterminé les concentrations d'inhibine A à travers une population de 403 jeunes filles en pleine santé de 6 à 20 ans par rapport au stade de Tanner et chez 181 patientes non enceintes âgées de 20 à 32 ans en relation avec la période du cycle. Il en résulte que les concentrations d'inhibine A étaient indétectables ou très basses lors du début de la puberté, et augmentent progressivement au cours de la puberté pour atteindre des valeurs maximales chez la femme adulte (4).

De plus, les concentrations sériques d'E2 et d'inhibine A augmentent de manière significative lors d'une stimulation par FSH recombinante, après une down régulation par un analogue de la GNRH (5-7).

Les données de ces études démontrent qu'une administration de manière exogène de FSH pendant la phase folliculaire du cycle menstruel a entraîné des augmentations dose-dépendantes des concentrations circulantes de l'inhibine A et B. La FSH est donc une hormone régulatrice physiologique de l'inhibine A et de l'inhibine B pendant la phase folliculaire du cycle, même si les origines de ces inhibines dans l'ovaire peuvent être différentes.

Objectifs

L'objectif de cette thèse est de déterminer si le dosage sérique de l'inhibine A est un bon marqueur hormonal pour le monitoring de la réponse ovarienne à l'hyperstimulation en vue de FIV et de comparer sa performance à celle de l'estradiol utilisé en routine.

Les points de mesures principaux étudiés seront :

- Corrélation inhibine A/follicules comptabilisés à l'échographie.
- Corrélation inhibine A/ovocytes recueillis lors de la ponction.
- Corrélation inhibine A/ovocytes matures lors de la ponction.

Les points de mesures secondaires étudiés seront :

- Corrélation entre l'estradiol et la réponse ovarienne à la stimulation (nombre de follicules ainsi que nombre d'ovocytes recueillis) en protocole antagoniste.
- Corrélation inhibine A/estradiol.
- Analyse en sous groupe de patientes selon l'âge..
- Analyse en sous groupe de patientes selon la réponse ovarienne à la stimulation.

Matériels et Méthodes

Population de l'étude :

L'étude a été effectuée rétrospectivement sur des prélèvements sériques congelés de 84 patientes âgées de 23 à 43 ans suivies dans l'unité d'Assistance Médicale à la Procréation du CHU de Nantes pour Fécondation In Vitro.

Les données suivantes ont été recueillies pour chaque patiente :

→ *Données démographiques* : âge, Indice de Masse Corporelle, statut tabagique, type et indication d'infertilité

→ *Bilan de réserve ovarienne* : AMH, CFA

→ *Paramètres de stimulation* : dose totale de FSH reçue, nombre de jours de stimulation, nombre de follicules et diamètre au déclenchement, stimulation par FSH recombinante ou urinaire, décision de freeze all pour la cohorte embryonnaire.

→ *Paramètres du laboratoire* : techniques utilisées (FIV, ICSI, DPI, BT), ovocytes recueillis totaux, ovocytes matures inséminés en FIV ou injectés en ICSI, taux de fécondation en FIV /ICSI, nombre d'embryons obtenus.

Paramètres de stimulation :

Tous les cycles ont été réalisés suivant un protocole de stimulation antagoniste, précédé ou non de la prise d'œstradiol (Provames®). La dose initiale de gonadotrophines (FSH recombinante ou urinaire) est déterminée en fonction de l'âge de la patiente, de la fonction ovarienne, de son IMC et de la réponse à de précédents cycles de stimulation hormonale. Au cours du traitement, les doses de gonadotrophines sont ajustées si besoin en fonction de la croissance folliculaire, contrôlée par des échographies transvaginales et des dosages hormonaux (LH, E2 et progestérone).

L'antagoniste de la GnRH (Orgalutran® ou Cetrotide®) est ajouté aux alentours du 6ème jour. Lorsque l'échographie montre au moins 3 follicules de plus de 17mm de diamètre, le déclenchement de l'ovulation est réalisé par l'injection d'hCG recombinante (Ovitrelle® ou Décapeptyl®) 36h avant la ponction ovarienne au bloc opératoire sous contrôle échographique par un gynécologue.

Les complexes cumulo-ovocytaires ainsi collectés sont mis en contact avec les spermatozoïdes en cas de FIV (environ 100 000 spermatozoïdes par ovocyte), ou injectés en cas d'ICSI. L'évaluation du pourcentage de fécondation est faite le lendemain matin.

Pour les ICSI, les ovocytes collectés sont rincés puis décoronisés à l'aide d'une enzyme : la hyaluronidase. La maturité ovocytaire est évaluée (Métaphase 1, Métaphase 2, Vésicule Germinale) après décoronisation par la présence ou non de globule polaire. Ce globule polaire est le seul témoin morphologique de la reprise de la méiose par l'ovocyte après injection d'HCG. Seuls les ovocytes présentant un globule polaire seront retenus pour la microinjection. Une fois celle-ci réalisée, les embryons sont placés dans l'Embryoscope™ ou dans l'étuve trigaz et cultivés jusqu'au stade blastocyste dans le même milieu de culture GTL™ (Vitrolife) sous huile en atmosphère contrôlée (37°C, 6% de CO2 et 5%O2).

Les ovocytes sont ensuite observés quotidiennement jusqu'au stade blastocyste et les embryons sont classés selon la classification de Gardner. Un maximum de deux embryons sont transférés à chaque tentative.

La préparation de l'endomètre consiste à prendre de la progestérone (par voie orale ou vaginale) à continuer jusqu'au test de grossesse et trois mois après le transfert.

Critères d'inclusion :

L'ensemble des cycles de Fécondation In Vitro (FIV) et d'ICSI réalisés dans le centre d'AMP du CHU de Nantes et pour lesquels un échantillon de sérum était disponible le jour du déclenchement de l'ovulation ont été inclus.

Critère d'exclusion :

Toutes les femmes n'ayant pas eu de dosages hormonaux au CHU de Nantes le jour du déclenchement de l'ovulation.

Suivi des patientes par échographie intra-vaginale :

Le diamètre des follicules a été mesuré par la même sonde durant toute l'étude. Le diamètre folliculaire est calculé selon la moyenne entre le plus long axe du follicule et l'axe perpendiculaire.

L'épaisseur de l'endomètre a également été suivi.

Echantillons :

Les prélèvements sanguins effectués par ponction veineuse sur tube sans anticoagulant le jour du déclenchement par HCG sont nécessaires à la surveillance hormonale classique. Ils ont été traités le jour même pour les dosages d'estradiol, de progestérone et de LH.

Une sérothèque est réalisée par congélation à -20°C .

Ces sérums ont été récupérés au fur et à mesure afin de doser la concentration sérique d'inhibine A le jour du déclenchement pour chaque patiente.

Méthodes de dosage :

Méthode de dosage de l'E2 :

Il s'agit d'une méthode d'immunoanalyse par compétition. La durée totale du cycle analytique est de 18 minutes sur Cobas Roche.

Lors de la première incubation, 25 µL d'échantillon sont incubés avec deux anticorps anti-estradiol biotinylés. Il se forme des complexes immuns en relation avec la concentration en estradiol contenue dans l'échantillon.

Puis lors de la deuxième incubation, un dérivé d'estradiol ruthénylé est ajouté dans la cuvette réactionnelle avec des microparticules tapissées de streptavidine et vient se fixer sur les sites encore disponibles des anticorps biotinylés avec formation d'un complexe anticorps-haptène. Le complexe est fixé à la phase solide par une liaison biotine-streptavidine.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure et les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant.

L'élimination de la fraction libre s'effectue par un lavage puis une différence de potentiel est appliquée à l'électrode déclenchant la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

Enfin, les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration.

Méthode de dosage de l'inhibine A :

Réalisation par CLIA/Chimiluminescence sur l'iFlash 1800 par le laboratoire ORGENTEC.

Il s'agit d'une méthode d'immunoanalyse de type sandwich :

- *Première incubation* : ajout de l'échantillon et d'un anticorps anti-inhibine A couplé à des particules magnétiques, qui vont réagir pour former un complexe anticorps-antigène.
- *Lavage*

- *Deuxième incubation* : ajout de l'acridinium-ester-labeled inhibin A antibody qui va réagir avec le complexe formé lors de la première incubation. Cela va former un complexe sandwich (anticorps-antigène-anticorps).
- *Lavage*
- *Détection du signal* : la solution déclenchante est ajoutée. il en résulte une chimiluminescence qui est mesuré en RLUs.
- Une relation directe existe entre les concentrations d'inhibine A dans l'échantillon et la RLU détecté par le système optique de l'Iflash.
- Les résultats sont déterminés par une courbe de calibration.

Analyses statistiques :

L'analyse statistique a été réalisée avec les logiciels PRISM5®, Biostatgsv et Excel.

Une p-value < 0,05 est considérée comme statistiquement significative.

Nous avons effectué une analyse statistique de la population générale, puis nous avons défini différents sous groupes pour l'analyse des résultats :

- Un sous-groupe par âge comprenant les patientes âgées de moins de 35 ans et celles âgées de plus de 35 ans.
- Un sous- groupe selon la réponse ovarienne à la stimulation en vue d'une Fécondation In Vitro selon le nombre d'ovocytes recueillis lors de la ponction ovarienne :
 - Mauvaises répondeuses : inférieur ou égal à 5 ovocytes ponctionnés
 - Normo-répondeuses : 6 à 18 ovocytes ponctionnés
 - Hyper-répondeuses : supérieur à 18 ovocytes ponctionnés

Résultats :

Au total, 84 patientes ont été incluses dans l'étude entre Décembre 2019 et Mars 2020.

Les caractéristiques des patientes et des cycles inclus dans l'étude sont présentées dans le tableau 1 :

	n	%
âge (ans)		
<30	13	15.5
30-34	29	34.5
35-39	29	34.5
40 et plus	13	15.5

Tabac		
Jamais	54	64.3
Arrêt	13	15.5
En cours	14	16.7
Non Renseigné	3	3.6

Statut ovulatoire femme		
Normale	45	53.6
Dysovulatoire	30	35.7
OPK	7	8.3
Non renseigné	2	2.4

Technique AMP		
FIV conjoint	41	48.8
FIV donneur	3	3.6
ICSI conjoint	26	31
ICSI donneur	3	3.6
ICSI (BT)	2	2.4
DPI	9	10.7

	n	%
IMC (Kg/m²)	25+/-6	
AMH (ng/ml)	2.61+/-1.9	
CFA	20,3+/-12,5	

Durée de la stimulation (jours)	10,3+/-1,58	
Dose totale de FSH reçue (UI)	2307+/- 890	
Ovocytes recueillis totaux	12.6 +/-7.9	
0-5	12	14,3
6-18	51	60,7
>18	21	25
Follicules 10-13 mm	5,4+/-3.9	
Follicules 14-15 mm	3,6+/-2,4	
Follicules > 16mm	6,9+/-3,1	
Nb ovocytes inséminés FIV (%)	13+/-9	
Nb ovocytes injectés ICSI (%)	10+/-5	
Taux de fécondation en FIV		79.8+/- 20
Taux de fécondation en ICSI		67.3 +/-22
Nombre d'embryons obtenus	7.1+/- 5	
Cycle avec freeze all	37	43,9
Cycles avec FSH recombinante	40	47,6
Cycles avec FSH urinaire	44	52,4

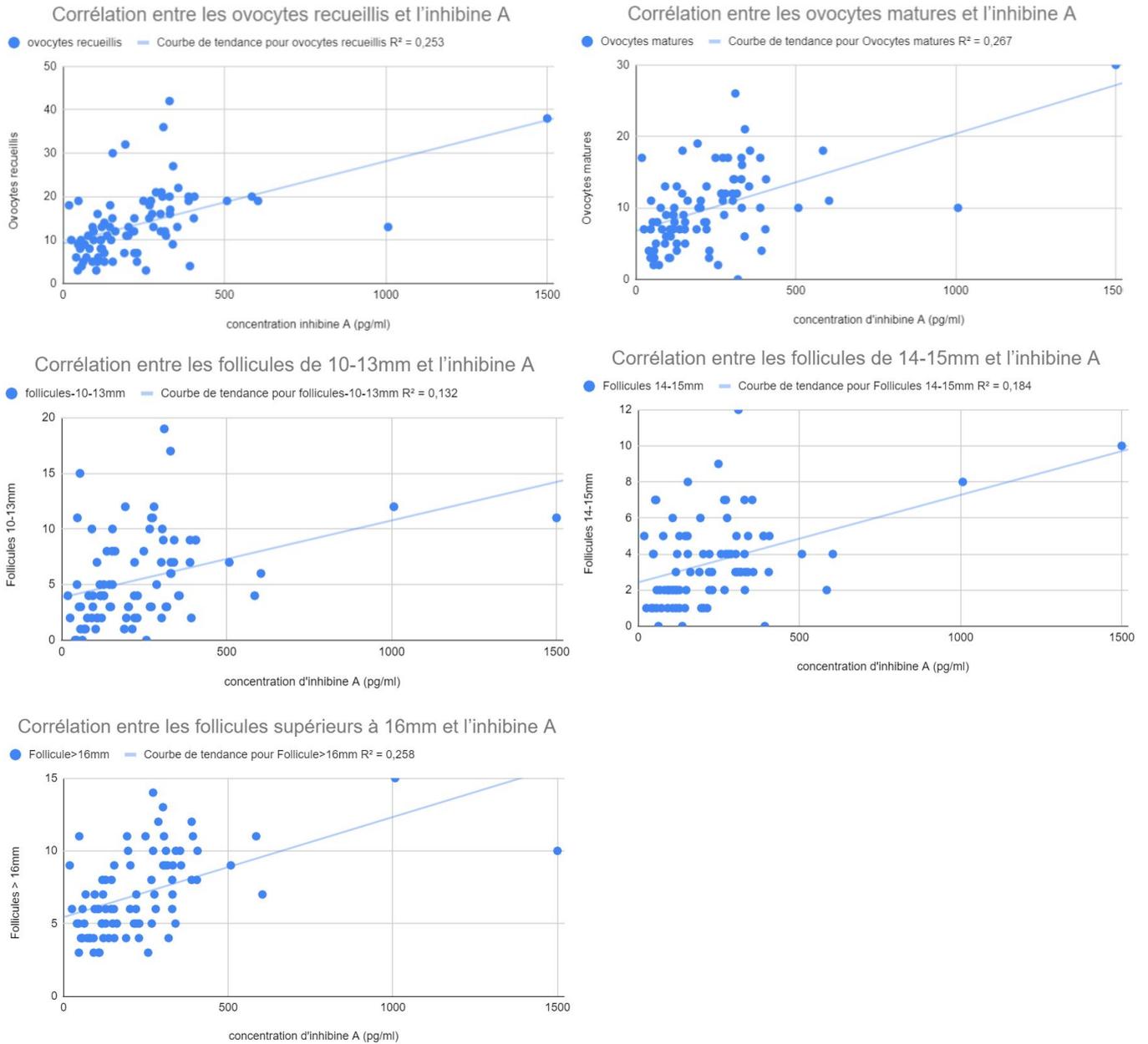
Tableau 1 : caractéristiques des patientes

Les résultats de l'étude de corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les paramètres de réponse ovarienne à la stimulation (nombre total d'ovocytes recueillis, nombre d'ovocytes matures recueillis, nombre de follicules 10-13 mm, 14-15 mm, supérieur à 16 mm au déclenchement de l'ovulation) sont présentés dans la figure 1 ci-dessous.

Les coefficients de corrélation obtenus sont synthétisés dans le tableau 2A.

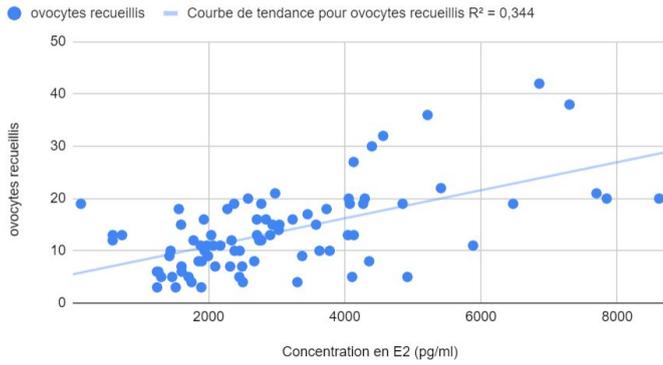
Figure 1 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les paramètres de réponse ovarienne à la stimulation.

(A)

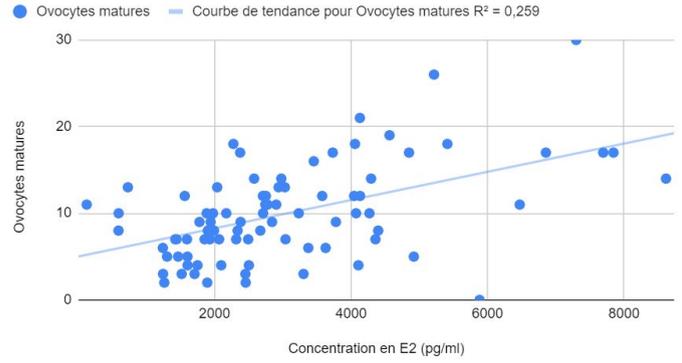


(B)

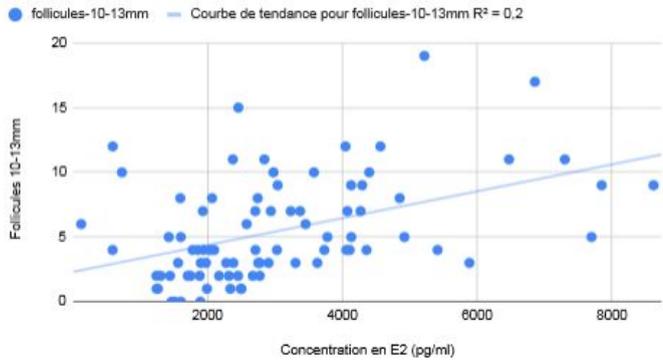
Corrélation entre les ovocytes recueillis et l'estradiol



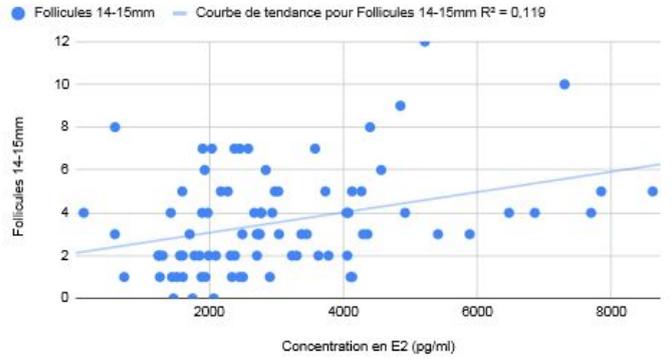
Corrélation entre les ovocytes matures et l'estradiol



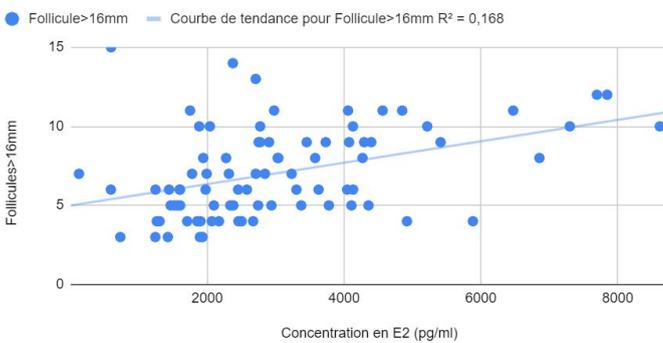
Corrélation entre les follicules de 10-13mm et l'estradiol



Corrélation entre les follicules de 14-15mm et l'estradiol



Corrélation entre le nombre de follicules supérieur à 16mm et l'estradiol

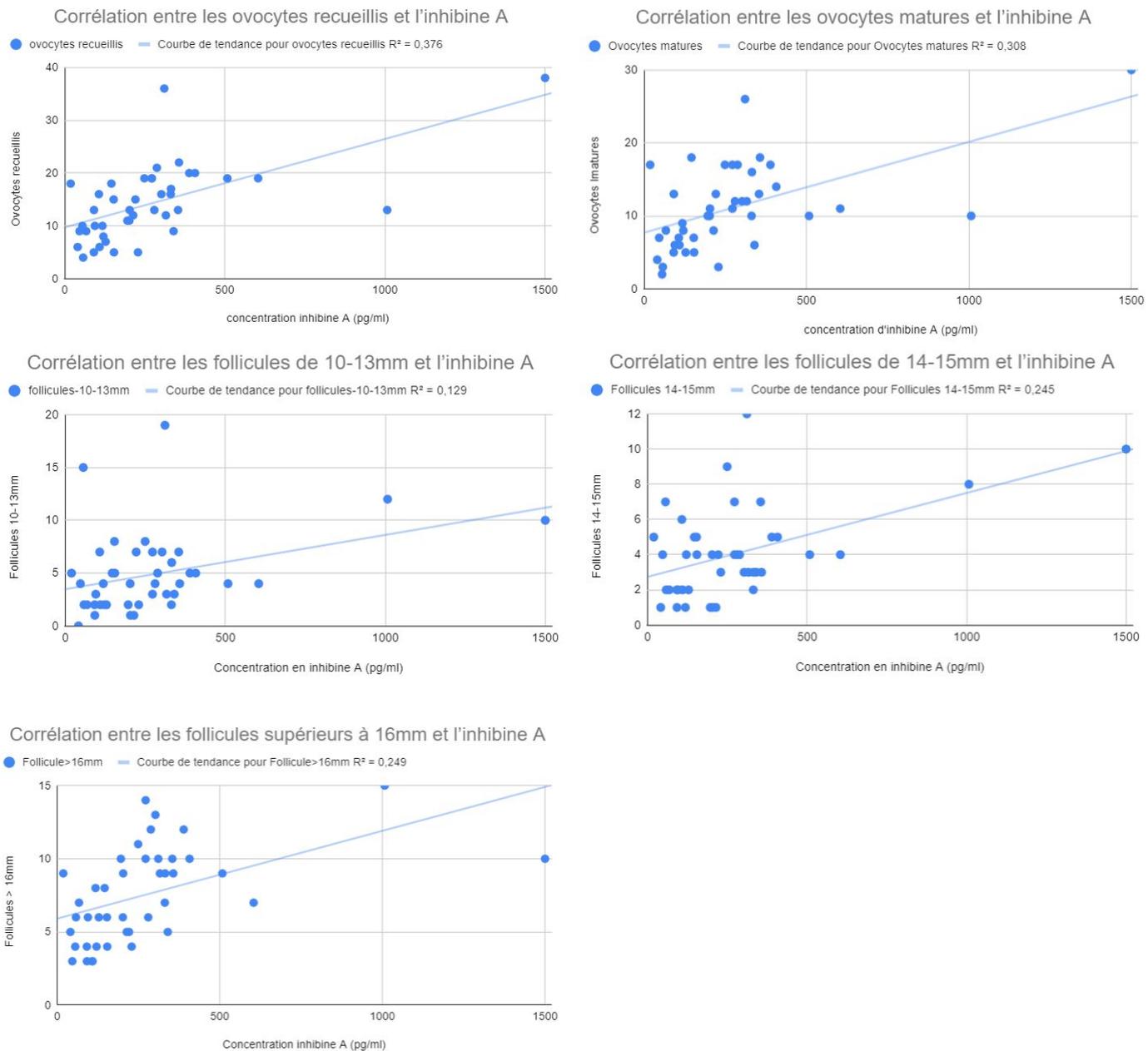


Les résultats de l'étude de corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans le sous-groupe des femmes âgées de moins de 35 ans sont présentés dans la figure 2 ci-dessous.

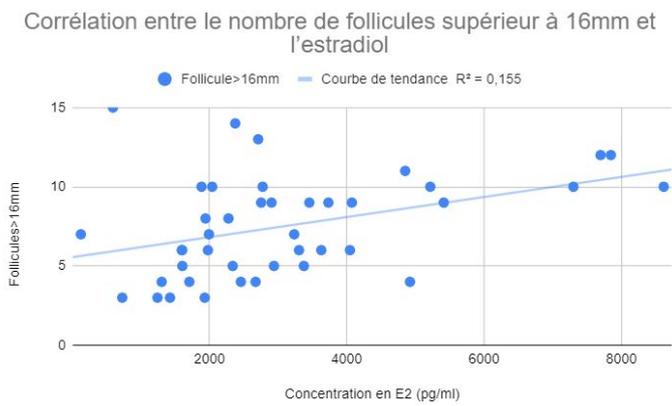
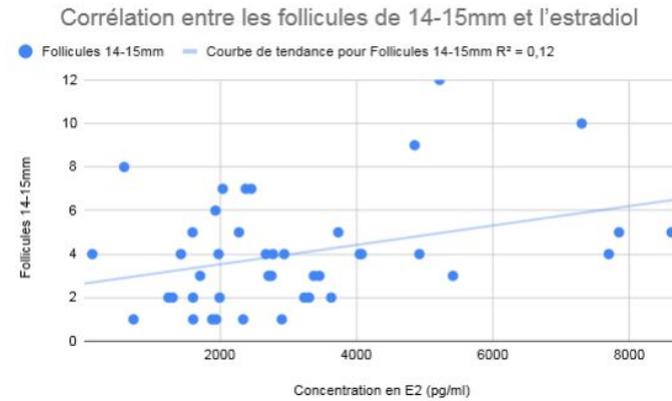
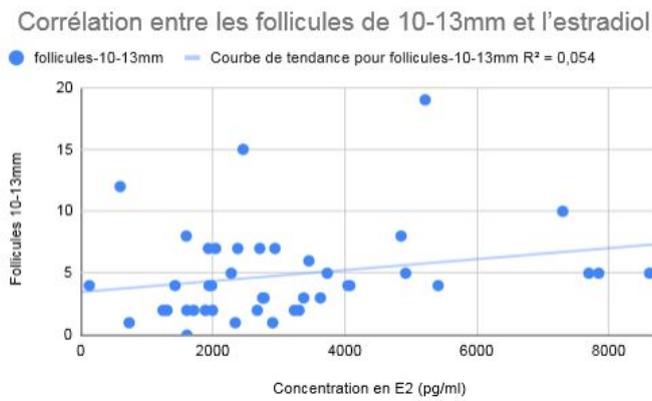
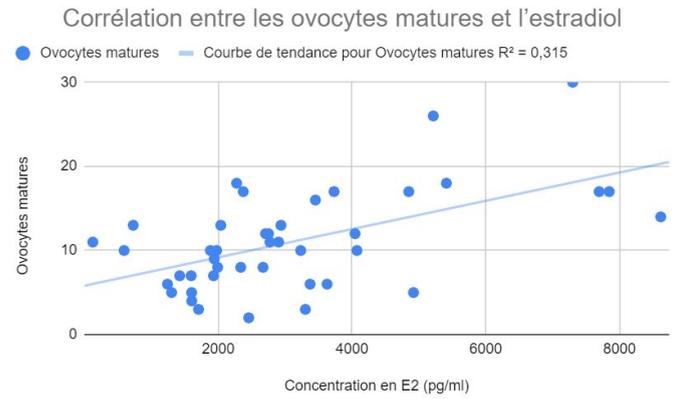
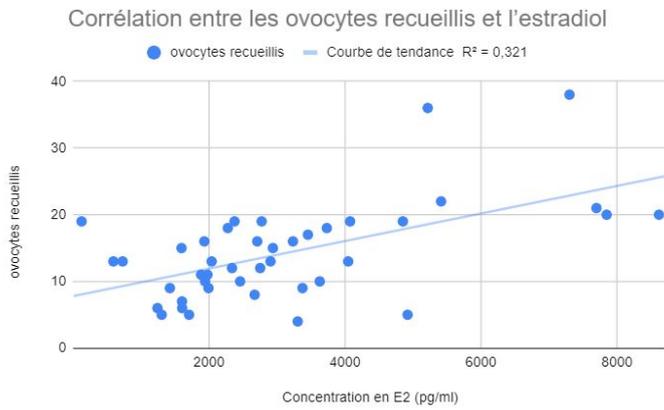
Les coefficients de corrélation obtenus sont synthétisés dans le tableau 2B.

Figure 2 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les différents paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans le sous-groupe de patientes ayant moins de 35 ans (n=42)

(A)



(B)

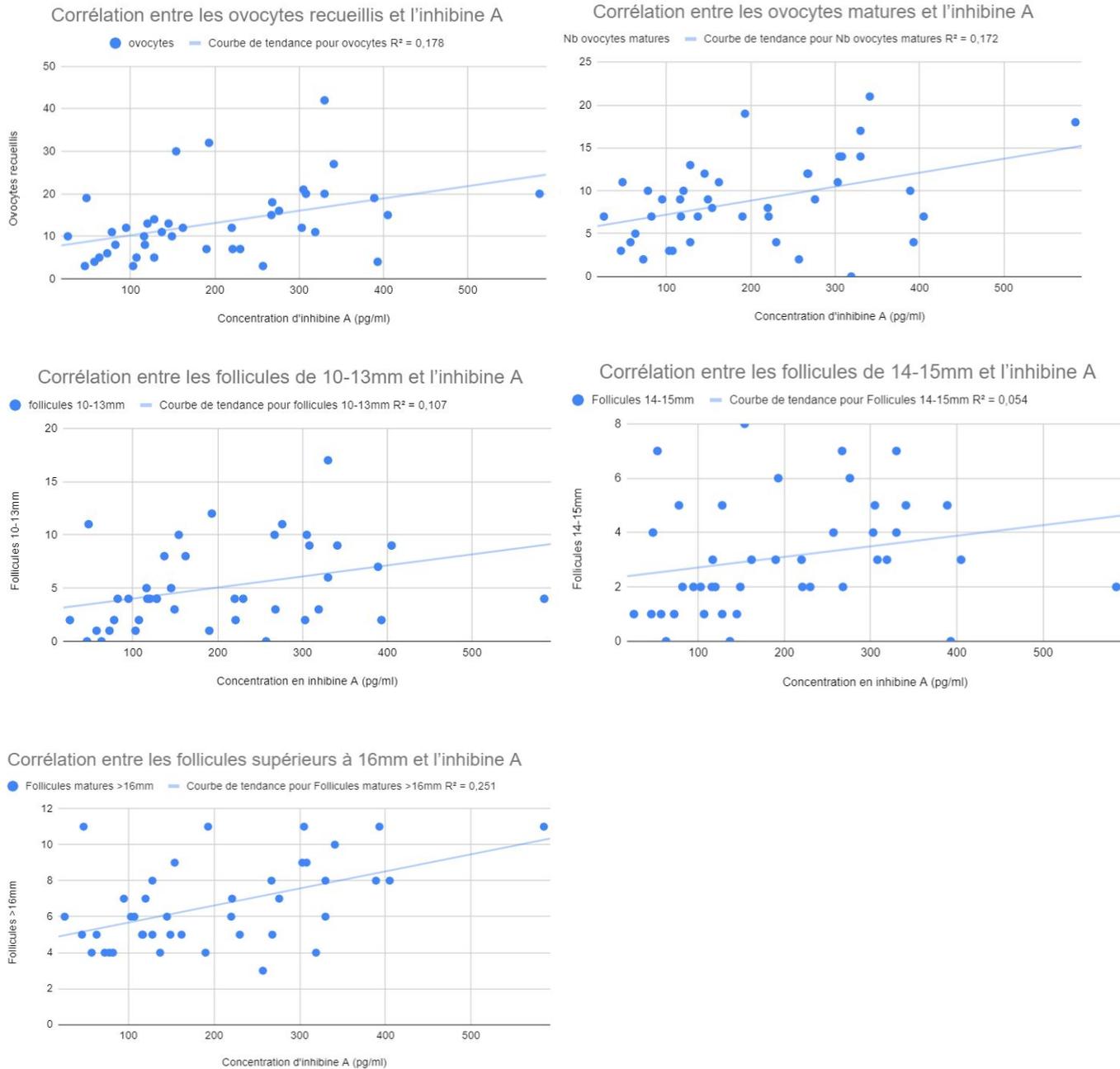


Les résultats de l'étude de corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans le sous-groupe des femmes âgées de plus de 35 ans sont présentés dans la figure 3 ci-dessous.

Les coefficients de corrélation obtenus sont synthétisés dans le tableau 2B.

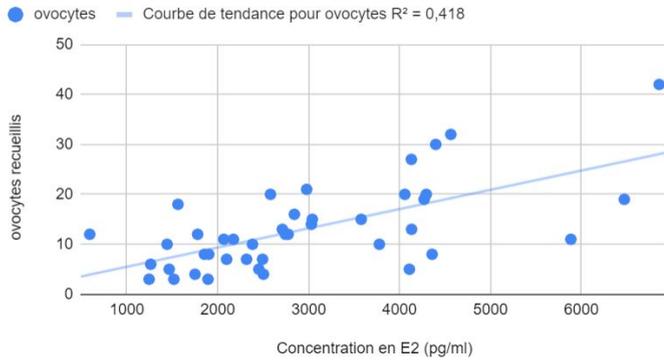
Figure 3 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A (A) ou en estradiol (B) et les différents paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans le sous-groupe de patientes ayant plus de 35 ans (n=42)

(A)

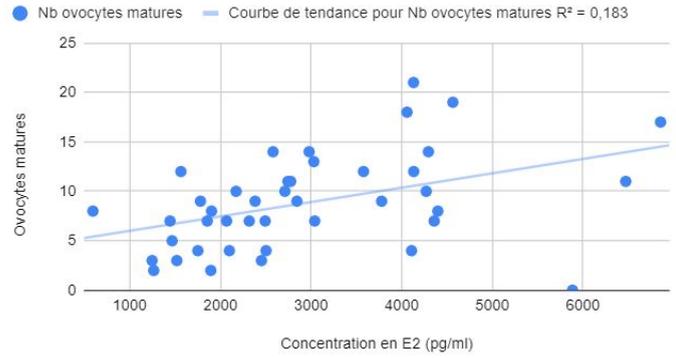


(B)

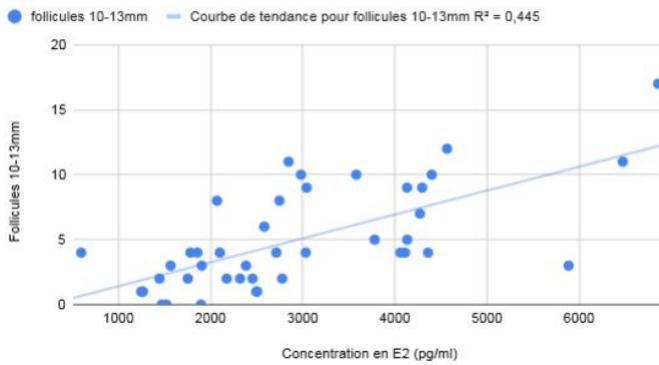
Corrélation entre les ovocytes recueillis et l'estradiol



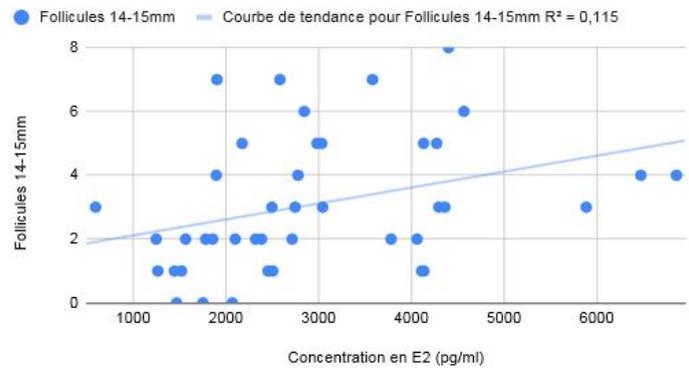
Corrélation entre les ovocytes matures et l'estradiol



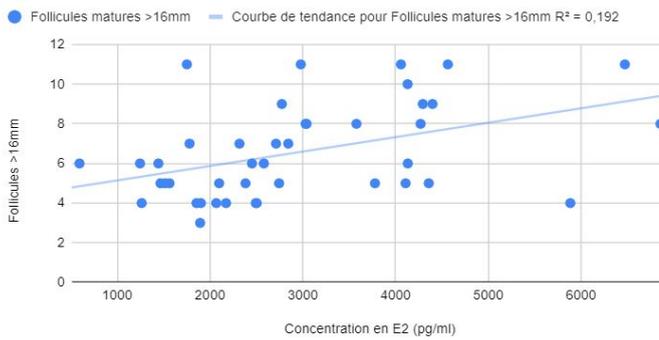
Corrélation entre les follicules de 10-13mm et l'estradiol



Corrélation entre les follicules de 14-15mm et l'estradiol



Corrélation entre le nombre de follicules supérieur à 16mm et l'estradiol

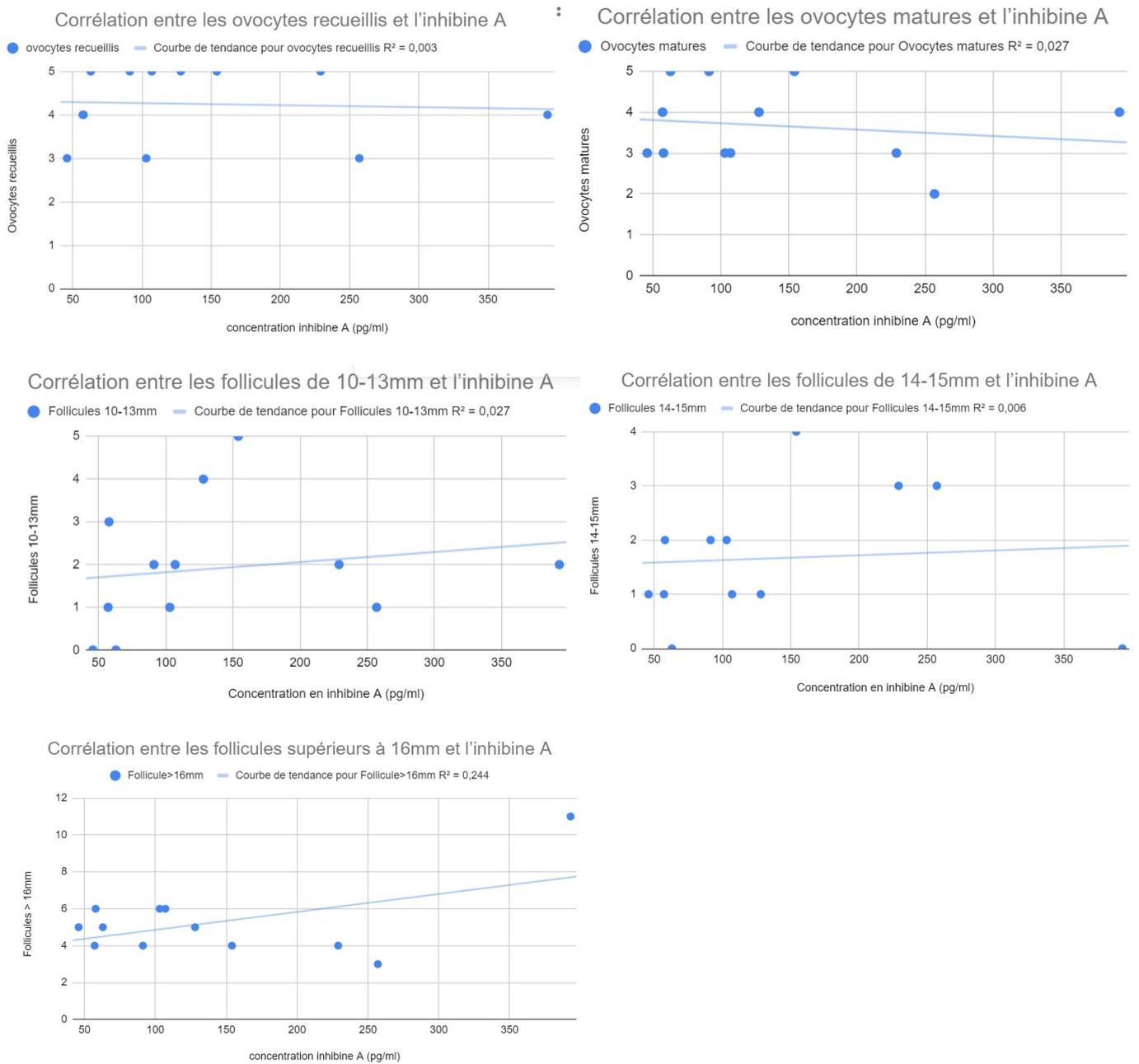


Les résultats de l'étude de corrélation entre la concentration sérique en inhibine A et les paramètres de réponse ovarienne en fonction du type de réponse ovarienne (mauvaise (A), normo (B) ou hyper réponse (C)) sont présentés dans la figure 4 ci-dessous.

Les coefficients de corrélation obtenus sont synthétisés dans le tableau 2C.

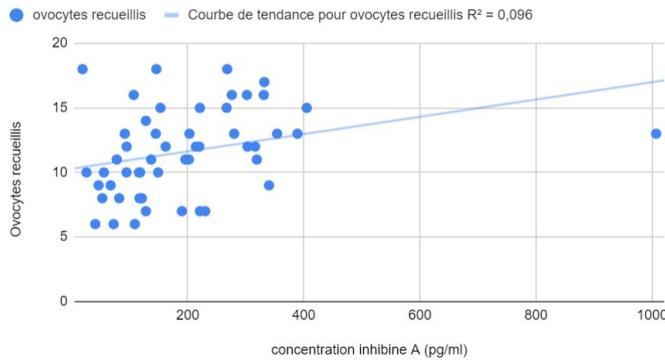
Figure 4 : Corrélation entre la concentration sérique en inhibine A et les différents paramètres dans le groupe de patientes considérées comme mauvaises répondeuses (A), normo-répondeuses (B) et hyper-répondeuses (C)

(A)

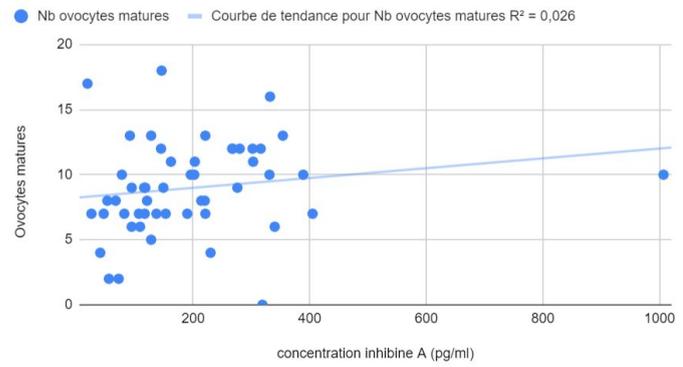


(B)

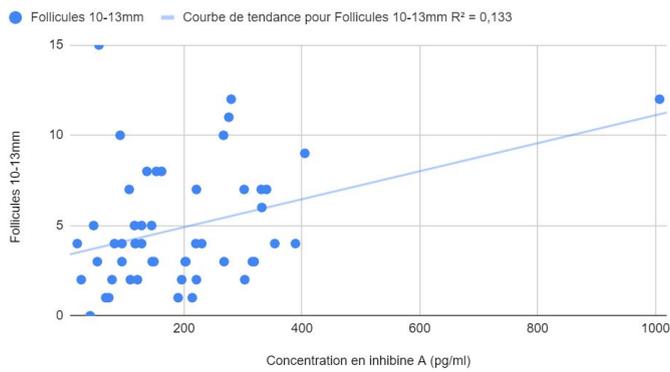
Corrélation entre les ovocytes recueillis et l'inhibine A



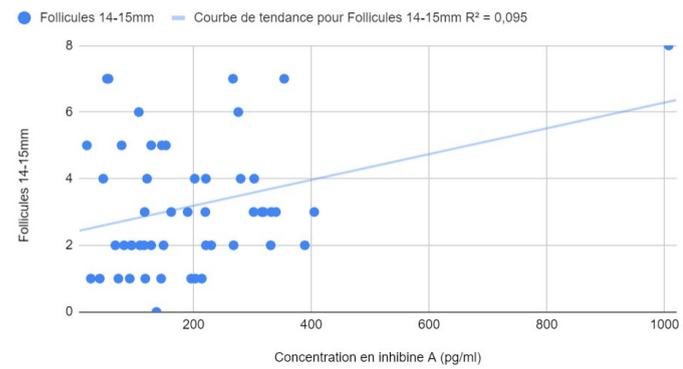
Corrélation entre les ovocytes matures et l'inhibine A



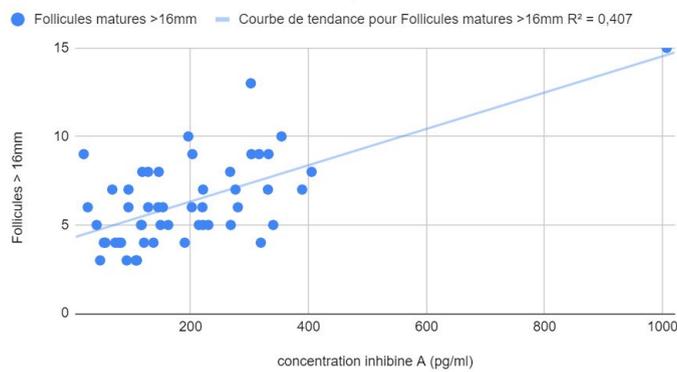
Corrélation entre les follicules de 10-13 mm et l'inhibine A



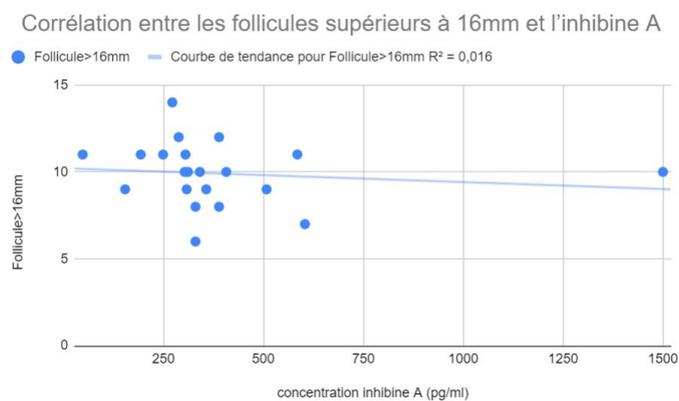
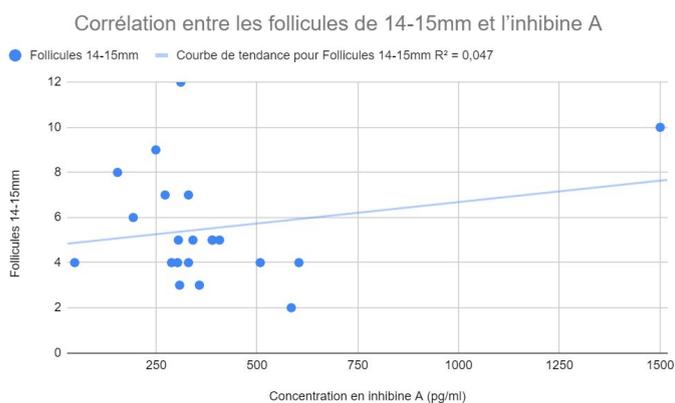
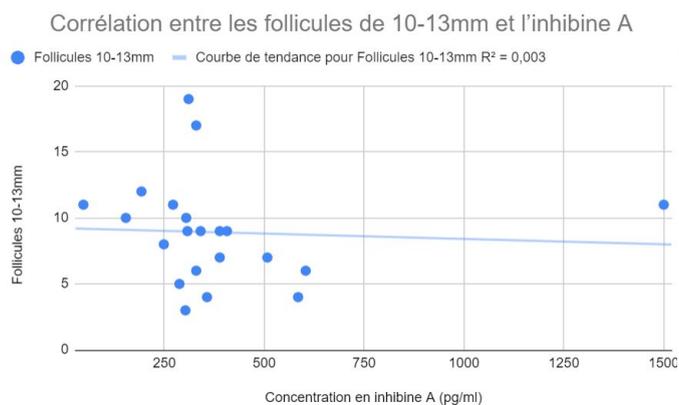
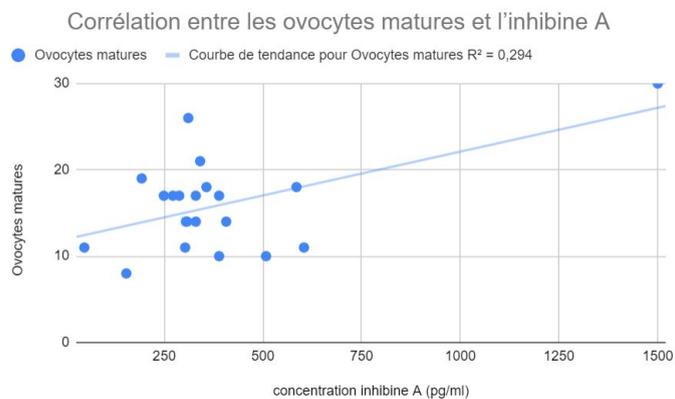
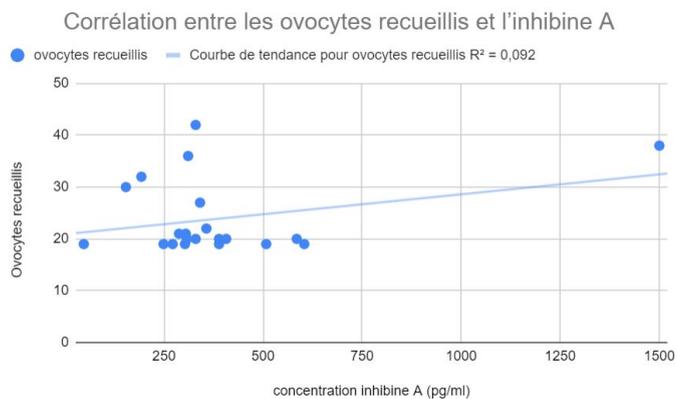
Corrélation entre les follicules de 14-15mm et l'inhibine A



Corrélation entre les follicules supérieurs à 16mm et l'inhibine A



(C)

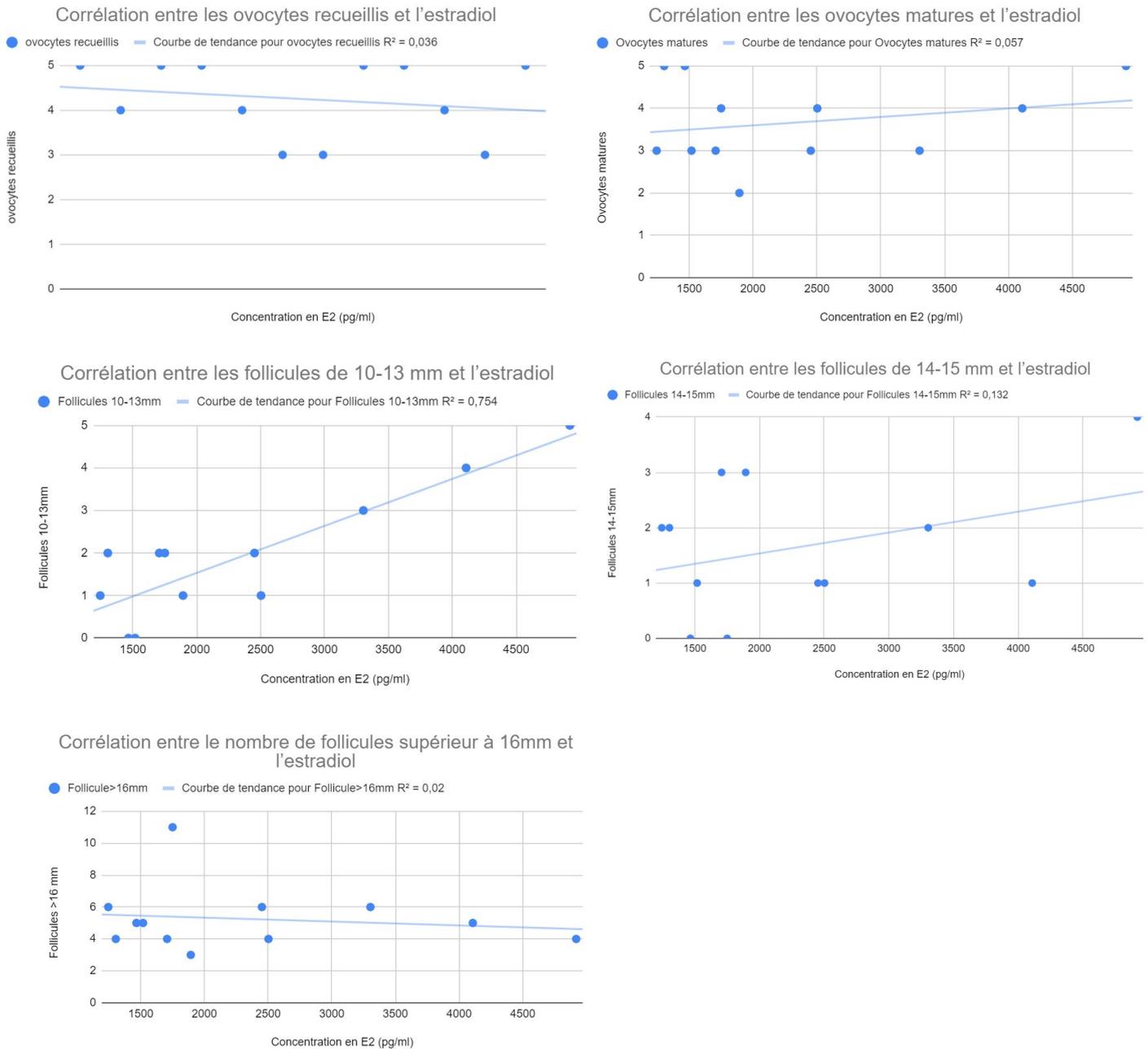


Les résultats de l'étude de corrélation entre la concentration sérique en estradiol et les paramètres de réponse ovarienne en fonction du type de réponse ovarienne (mauvaise (A), normo (B) ou hyper réponse (C)) sont présentés dans la figure 5 ci-dessous.

Les coefficients de corrélation obtenus sont synthétisés dans le tableau 2C.

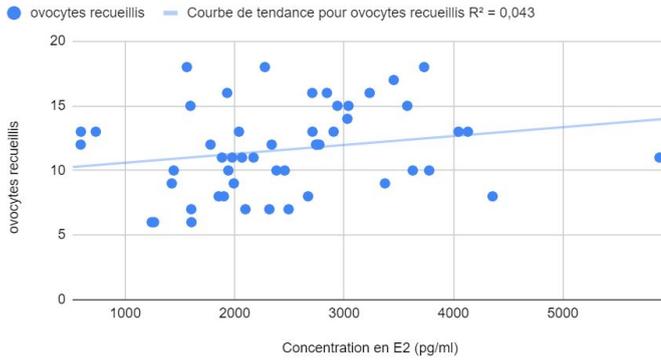
Fig 5 : Corrélation entre la concentration sérique en estradiol et les différents paramètres dans le groupe de patientes considérées comme mauvaise répondeuse (A), normo-répondeuse (B) et hyper-répondeuse (C)

(A)

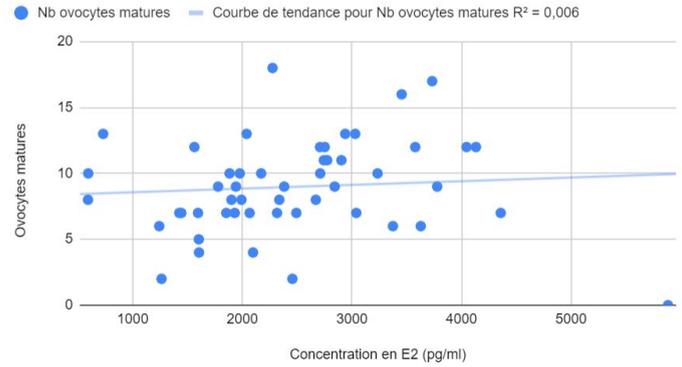


(B)

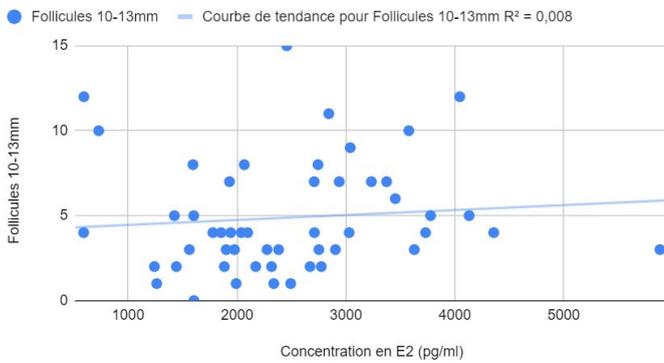
Corrélation entre les ovocytes recueillis et l'estradiol



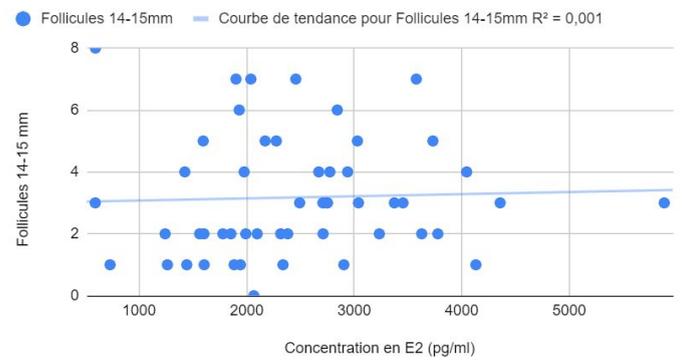
Corrélation entre les ovocytes matures et l'estradiol



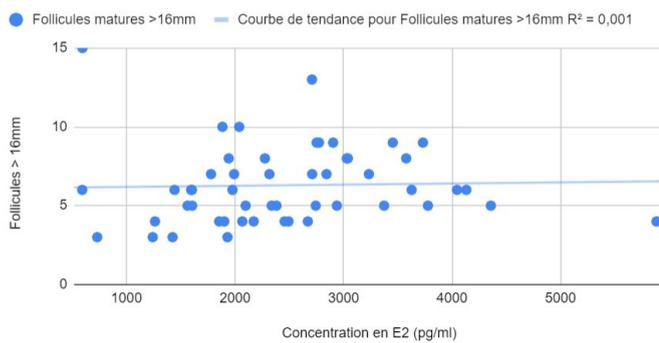
Corrélation entre les follicules de 10-13 mm et l'estradiol



Corrélation entre les follicules de 14-15 mm et l'estradiol

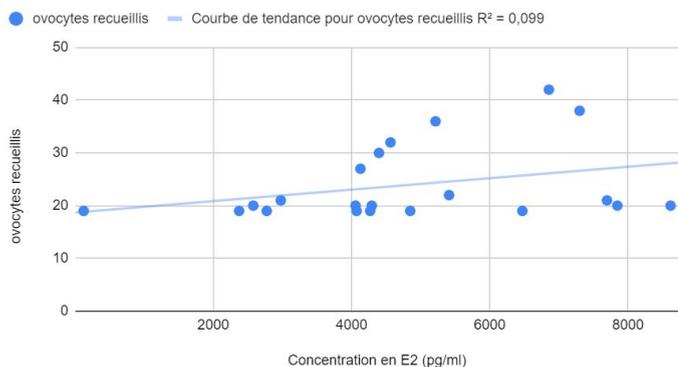


Corrélation entre le nombre de follicules supérieur à 16mm et l'estradiol

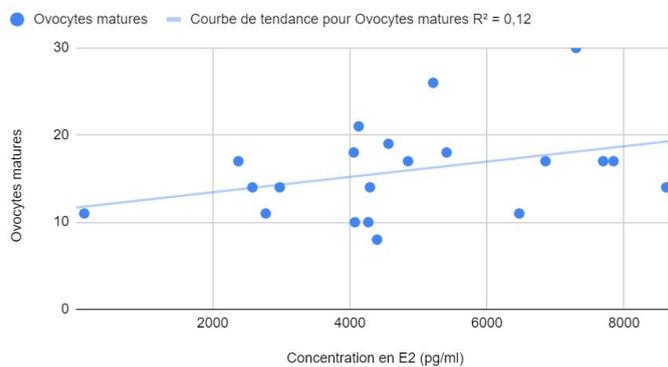


(C)

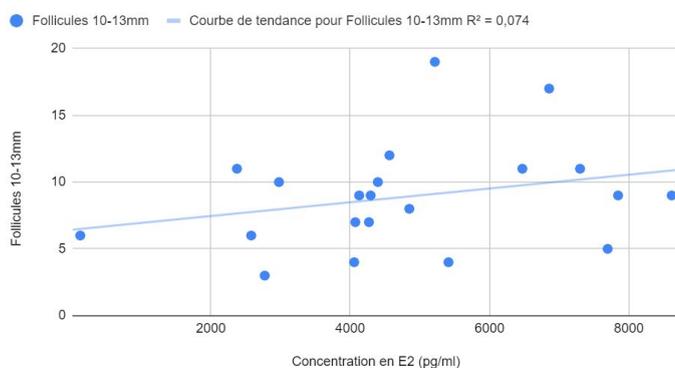
Corrélation entre les ovocytes recueillis et l'estradiol



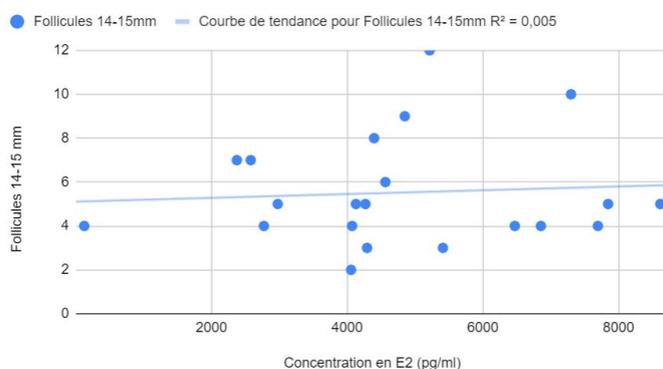
Corrélation entre les ovocytes matures et l'estradiol



Corrélation entre les follicules de 10-13 mm et l'estradiol



Corrélation entre les follicules de 14-15 mm et l'estradiol



Corrélation entre le nombre de follicules supérieur à 16mm et l'estradiol

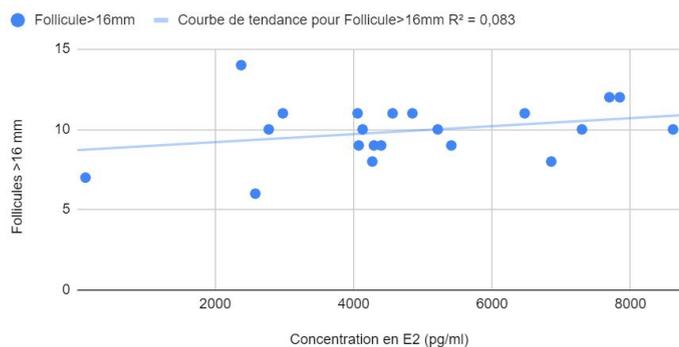


Tableau 2 : Coefficients de corrélation entre l'inhibine A, l'estradiol et les différents paramètres de réponse ovarienne à la stimulation dans la population générale (A), dans les sous-groupes par âge (B) et dans le sous-groupe selon la réponse à la stimulation ovarienne (C)

(A)

	Population générale (n=84)	
	Concentration E2 (pg/ml)	Concentration Inhibine A (pg/ml)
Nombre total d'ovocytes recueillis	R ² =0,344 r=0,5863***	R ² =0,253 r=0,503***
Nombre d'ovocytes matures	R ² =0,259 r=0,509***	R ² =0,267 r=0,5172***
Follicules 10-13mm	R ² =0,200 r=0,447***	R ² =0,132 r=0,363***
Follicules 14-15mm	R ² =0,119 r=0,344**	R ² =0,184 r=0,4286***
Follicules >16mm	R ² =0,168 r=0,4104***	R ² =0,258 r=0,508***

Seuils de significativité
 * p<0,05
 ** p<0,01
 *** p<0,001

(B)

	Groupe âge<35 ans (n=42)		Groupe âge>35 ans (n=42)	
	Concentration E2 (pg/ml)	Concentration Inhibine A (pg/ml)	Concentration E2 (pg/ml)	Concentration Inhibine A (pg/ml)
Nombres total d'ovocytes recueillis	R ² =0,321 r=0,5662***	R ² =0,376 r=0,6129***	R ² =0,418 r=0,6462***	R ² =0,178 r=0,4301**
Nombre d'ovocytes matures	R ² =0,315 r=0,5615***	R ² =0,308 r=0,5549***	R ² =0,183 r=0,4274**	R ² =0,172 r=0,4127**
Follicules 10-13mm	R ² =0,054 r=0,24 ns	R ² =0,129 r=0,359*	R ² =0,445 r=0,667***	R ² =0,107 r=0,33*
Follicules 14-15mm	R ² =0,12 r=0,35*	R ² =0,245 r=0,495***	R ² =0,115 r=0,339*	R ² =0,054 r=0,233 ns
Follicules >16mm	R ² =0,155 r=0,394**	R ² =0,249 r=0,4986***	R ² =0,192 r=0,4382**	R ² =0,251 r=0,5168***

Seuils de significativité

* p<0,05

** p<0,01

*** p<0,001

(C)

		Mauvaises répondeuses (n=12)	Normo-répondeuses (n=51)	Hyper-répondeuses (n=21)
Inhibine A	Ovocytes recueillis	R ² =0,003 r=-0,055 ns	R ² =0,096 r=0,309 *	R ² =0,092 r=0,3029 ns
	Ovocytes matures	R ² =0,027 r=-0,165 ns	R ² =0,026 r=0,16 ns	R ² =0,294 r=0,542 *
	Follicules 10-13mm	R ² =0,027 r=0,163 ns	R ² =0,133 r=0,36**	R ² =0,003 r=-0,058 ns
	Follicules 14-15mm	R ² =0,006 r=0,0754 ns	R ² =0,095 r=0,3082*	R ² =0,047 r=0,216 ns
	Follicules > 16mm	R ² =0,244 r=0,493 ns	R ² =0,407 r=0,638***	R ² =0,016 r=-0,125 ns

		Mauvaises répondeuses (n=12)	Normo-répondeuses (n=51)	Hyper-répondeuses (n=21)
Estradiol	Ovocytes recueillis	R ² =0,036 r=0,190 ns	R ² =0,043 r=0,208 ns	R ² =0,099 r=0,31 ns
	Ovocytes matures	R ² =0,057 r=0,239 ns	R ² =0,006 r=0,08 ns	R ² =0,12 r=0,346 ns
	Follicules 10-13mm	R ² =0,754 r=0,868***	R ² =0,008 r=0,09 ns	R ² =0,074 r=0,272 ns
	Follicules 14-15mm	R ² =0,132 r=0,363 ns	R ² =0,001 r=0,03 ns	R ² =0,005 r=0,07 ns
	Follicules > 16mm	R ² =0,020 r=-0,14 ns	R ² =0,001 r=0,03 ns	R ² =0,083 r=0,288 ns

Seuils de significativité

* p<0,05

** p<0,01

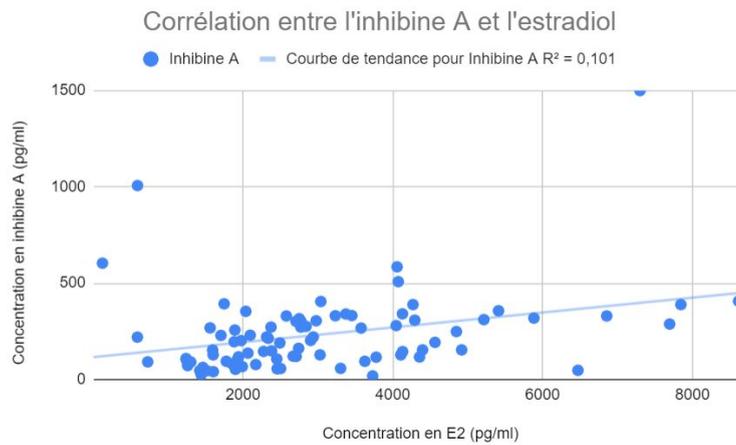
*** p<0,001

Les résultats de l'étude de corrélation entre la concentration sérique en inhibine A et la concentration sérique en estradiol dans la population générale (A), dans les sous-groupes des femmes âgées de moins ou plus de 35 ans (B), et dans les sous-groupes de femmes selon le type de réponse ovarienne à la stimulation (mauvaise, normo ou hyper réponse) (C) sont présentés dans la figure 6 ci-dessous.

Les coefficients de corrélation obtenus sont synthétisés dans le tableau 3.

Fig 6 : Corrélation entre les concentrations sériques d'inhibine A et l'estradiol dans la population générale (A), dans le sous-groupe de patientes par âge (B), dans le sous-groupe de patientes selon la réponse ovarienne(C)

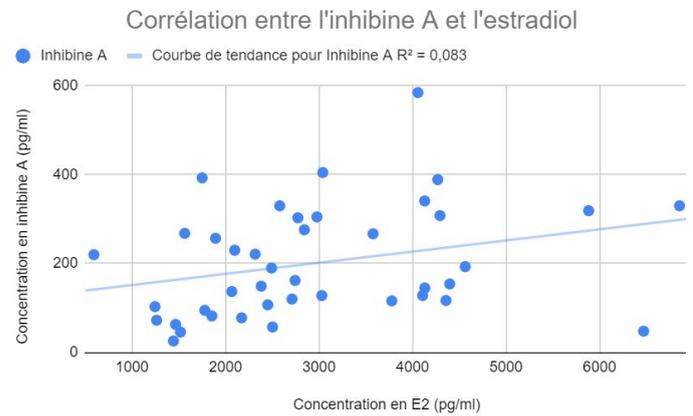
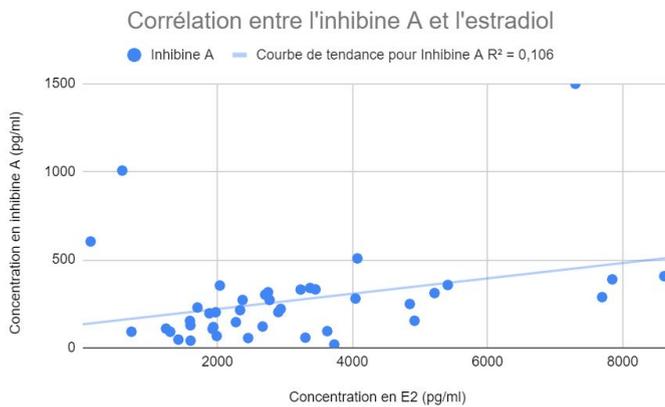
(A)



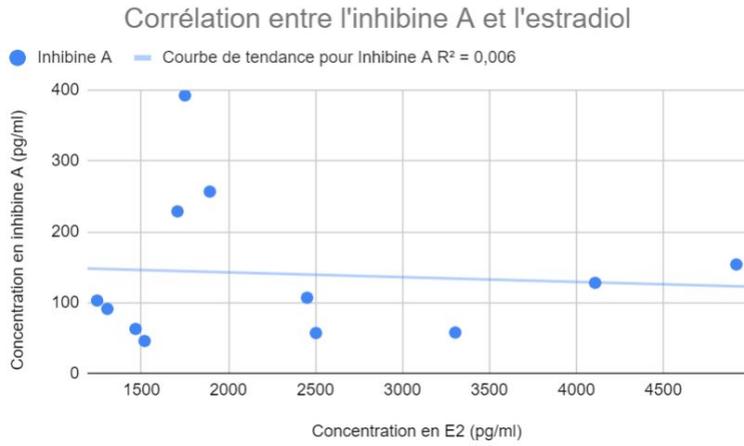
(B)

<35 ans

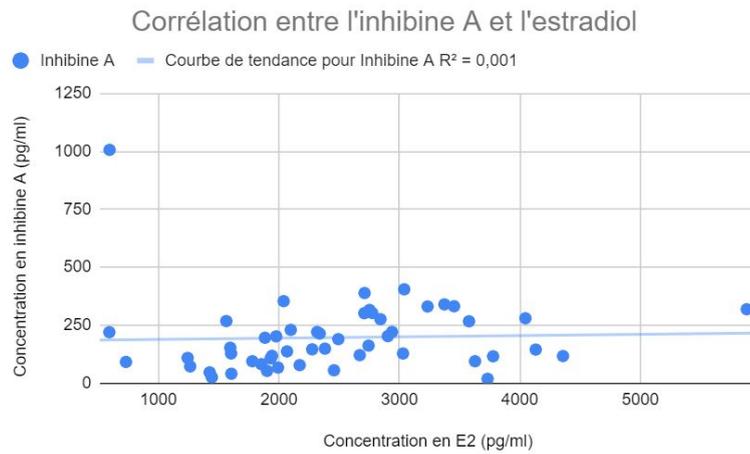
>35 ans



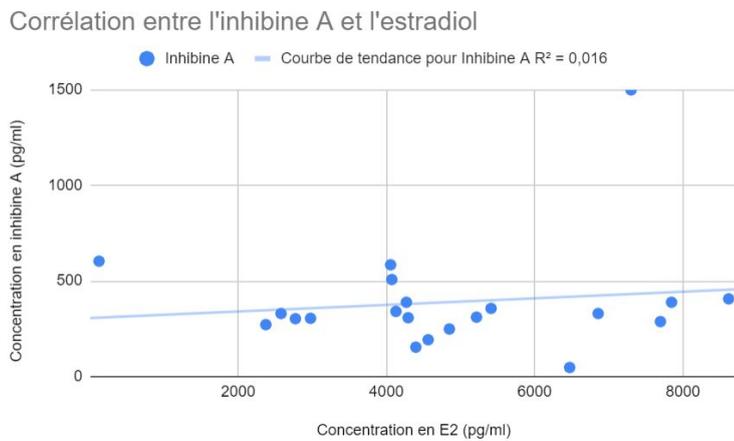
(C)



Mauvaises répondeuses



Normo-répondeuses



Hyper-répondeuses

Tableau 3 : Corrélation entre l'inhibine A et l'estradiol

	Groupe total	groupe < 35 ans	groupe > 35 ans
Corrélation Inhibine A/E2	R ² =0,101 r=0,318*	R ² =0,106 r=0,3257*	R ² =0,083 r=0,288 ns

	Mauvaises répondeuses (n=12)	Normo-répondeuses (n=51)	Hyper-répondeuses (n=21)
Corrélation Inhibine A/E2	R ² =0,006 r=0,077 ns	R ² =0,001 r=0,032 ns	R ² =0,016 r=0,126 ns

Corrélation entre les follicules et les ovocytes comptabilisés à l'échographie

Le nombre total d'ovocytes recueillis ainsi que le nombre d'ovocytes matures sont significativement corrélés à la concentration sérique en inhibine A pour la population générale.

Les follicules de 10-13 mm sont corrélés significativement à l'inhibine A ainsi que les follicules de 14-15 mm et ceux de plus de 16mm.

On observe une augmentation de la corrélation entre la concentration sérique en inhibine A et le nombre de follicules vus à l'échographie au fur et à mesure de la croissance du follicule en taille.

Nous obtenons le même type de corrélation concernant l'estradiol pour les différentes catégories de follicules. On ne retrouve cependant pas la tendance à l'augmentation de la corrélation avec l'augmentation du diamètre folliculaire observée avec l'inhibine A.

Ensuite si nous analysons les résultats en sous groupes, le nombre total d'ovocytes recueillis ainsi que le nombre d'ovocytes matures sont significativement corrélés à la concentration sérique en inhibine A et en estradiol pour le groupe de patiente âgées de moins de 35 ans.

Nous retrouvons des corrélations moins élevées entre la concentration sérique en inhibine A et le nombre d'ovocytes recueillis dans le groupe de patientes de plus de 35 ans.

La corrélation entre concentration sérique en estradiol et nombre total d'ovocytes recueillis est légèrement plus élevée chez les femmes de plus de 35 ans que chez les femmes de moins de 35 ans, à l'inverse de la corrélation entre concentration sérique en estradiol et nombre d'ovocytes matures recueillis qui est légèrement plus faible chez les femmes de plus de 35 ans que chez les femmes de moins de 35 ans.

Les follicules de 10-13 mm de diamètre sont non corrélés significativement à l'estradiol dans le groupe de patientes âgées de moins de 35 ans, tandis que la corrélation est significative chez les patientes de plus de 35 ans.

La corrélation entre follicules de 10-13 mm de diamètre et inhibine A est significative mais reste modeste dans les deux sous-groupe d'âge.

En ce qui concerne les follicules de 14-15 mm et supérieurs à 16 mm, on observe une augmentation de la corrélation ce qui peut suggérer une augmentation de la sécrétion d'E2 lors de la croissance folliculaire.

Concernant l'inhibine A, la corrélation est faible avec une p-value $<0,05$ pour les petits follicules de 10-13mm.

En revanche lorsque les follicules augmentent en taille, on observe une augmentation de la corrélation avec l'inhibine A qui devient très significative pour les follicules de 14-15 mm dans le groupe âgées de moins de 35 ans mais qui est non significatif dans le second groupe.

Dans les deux groupes, on observe bien une corrélation significative pour les follicules supérieurs à 16 mm.

Enfin pour le second sous-groupe selon le type de réponse ovarienne à la stimulation (mauvaises répondeuses, normo-répondeuses et hyper-répondeuses), nous ne retrouvons aucune corrélation significative dans le sous-groupe de mauvaises répondeuses entre inhibine A ou estradiol et réponse ovarienne à la stimulation, quelque soient les paramètres de la stimulation pris en compte.

Il est à noter que les sous-groupes de mauvaises et hyper-répondeuses ne sont constitués que de 12 et 21 patientes respectivement.

En ce qui concerne le sous-groupe de normo-répondeuses, les ovocytes recueillis sont significativement corrélés. De plus, tous les diamètres de follicules sont également corrélés significativement à la concentration sérique en inhibine A. Nous obtenons une corrélation supérieure pour les follicules d'un diamètre plus important.

Enfin dans le dernier sous-groupe d'hyper-répondeuses, nous avons une corrélation significative uniquement pour le nombre d'ovocytes matures. Aucune corrélation significative n'a été mise en évidence concernant les différents diamètres de follicules ovariens.

Pour terminer, nous n'avons aucune corrélation significative entre l'estradiol et les différents sous-groupes selon la réponse ovarienne mis à part pour les follicules d'un diamètre de 10-13mm pour les mauvaises répondeuses.

Corrélation inhibine A/E2 :

Nous observons une corrélation significative entre l'inhibine A et l'estradiol uniquement dans la population générale et dans le groupe de patiente âgées de moins de 35 ans tandis qu'aucune corrélation significative n'a été mise en évidence dans le sous groupe des femmes âgées de plus de 35 ans et dans les sous-groupes de réponse ovarienne.

Discussion:

La surveillance échographique et la mesure de la concentration sérique en estradiol sérique sont actuellement les principaux critères utilisés pour adapter les stimulations en vue d'une AMP. Cependant, la valeur prédictive de ces marqueurs sur le nombre d'ovocytes obtenus en FIV reste perfectible.

Depuis les années 1990, de plus en plus d'études ont recherché le bénéfice de mesurer l'estradiol lors de la stimulation ovarienne. L'estradiol n'apporte pas une grande plus-value par rapport à l'échographie seule, en ne permettant pas d'obtenir d'ovocytes matures supplémentaires lors de la ponction ovarienne (8,9).

De plus, si l'on compare le monitoring avec ou sans le dosage de l'estradiol, cela n'a pas permis de mettre en évidence de meilleurs résultats en intégrant l'E2 au monitoring (10).

En revanche, les concentrations sériques d'E2 ont souvent été citées comme un marqueur important dans la prédiction du syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Le SHO est une complication sévère de la stimulation ovarienne en FIV. Il survient exclusivement en présence d'HCG, qu'elle soit exogène lors de l'administration pour le déclenchement de la stimulation, ou endogène suite à un début de grossesse. C'est pour cela qu'en cas de suspicion de SHO avec une concentration d'estradiol trop élevée et un nombre important de follicules, un freeze all sera alors décidé pour limiter les complications liées à une grossesse débutante.

La recherche d'autres paramètres afin d'améliorer l'évaluation de la croissance folliculaire et la maturité ovocytaire est donc un objectif utile sur le plan clinique.

Très peu d'études se sont intéressées au bénéfice du dosage de l'inhibine A dans le monitoring des stimulations ovariennes en vue de FIV. Il existe notamment peu de littérature reprenant une comparaison entre l'inhibine A et l'E2, certaines datant de plusieurs années n'étant plus disponibles, et avec des méthodes de dosages ne différenciant pas les deux types d'inhibines.

Un article datant de 1986 (11) ne distinguait pas encore le dosage des deux types d'inhibines, mais évoquait déjà l'éventualité du dosage de l'inhibine plasmatique humaine comme

marqueur protéique circulant de la fonction des cellules de la granulosa. Cette étude suggérait que cela pourrait avoir des implications thérapeutiques dans les programmes d'induction de l'ovulation humaine. Ils démontraient également la corrélation étroite qu'il peut exister entre les concentrations plasmatiques d'inhibine et d'œstradiol, soutenant le concept général selon lequel ces deux marqueurs hormonaux sont tous les deux des moniteurs de la croissance folliculaire.

Puis au cours des années est apparue une méthode de dosage spécifique de chacune des inhibines qui a permis de préciser le rôle de chaque molécule et de déterminer l'implication dans le monitoring hormonal des FIV.

La connaissance sur les inhibines s'est également approfondie grâce à la culture de cellules de la granulosa (GCs) qui permis de déterminer les relations de ces hormones au cours du cycle menstruel féminin.

Il y a une dépendance directe entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa. Celles-ci sont fondamentales pour apporter à l'ovocyte les nutriments et les facteurs de croissance nécessaires. In vitro, il a été démontré que l'ovocyte ne pouvait se développer correctement en étant isolé des cellules de la granulosa.. De plus, de nombreuses études ont étudié la fonction des GCs en détectant les différentes hormones et cytokines durant chaque stade de développement des follicules (12).

Avec une meilleure compréhension du contrôle de la synthèse et de la sécrétion des inhibines et de leur rôle endocrinien potentiel dans la régulation de la FSH chez l'homme, il a été évoqué que cette famille de peptides puisse être un indicateur plus direct de la réserve ovarienne et de meilleurs prédicteurs des résultats de la FIV.

Des publications précédentes ont étudié les concentrations d'inhibine A pendant le cycle tandis que d'autres ont corrélé ces concentrations aux résultats de FIV avec par exemple, les issues de grossesses. A notre connaissance, très peu de publications mis à part ces deux articles (13,14) ont essayé de s'intéresser à la pertinence du dosage de l'inhibine A à la fois sur le timing optimal du déclenchement de l'ovulation (afin d'obtenir le maximum d'ovocytes matures), mais aussi sur sa corrélation avec le nombres de follicules visualisés à l'échographie ainsi qu'avec le nombre d'ovocytes recueillis à la ponction.

Nous nous sommes intéressés à l'étude des follicules déterminés à l'échographie, aux ovocytes recueillis et matures afin de déterminer si le dosage de l'inhibine A serait intéressant sur notre pratique quotidienne de suivi des patientes ayant une stimulation multifolliculaire.

La force de notre étude est de s'intéresser à un sujet très peu décrit dans la littérature, avec des patientes tout venantes non sélectionnées, ce qui reflète le recrutement habituel d'un centre de FIV. Cependant, nous avons inclus exclusivement des stimulations en protocole antagoniste et non en protocole agoniste. Or il est démontré qu'il y a une corrélation supérieure entre les concentrations sériques d'estradiol et le nombre de follicules ou d'ovocytes en protocole agoniste mais le risque d'hyperstimulation est augmenté. Nos résultats sont donc valables lors d'une stimulation ovarienne en protocole antagoniste, mais si l'étude était réalisée avec un protocole agoniste, nous aurions probablement des résultats légèrement différents. Enfin, il s'agit d'une étude rétrospective, l'idéal étant de réaliser une étude prospective sur un plus large échantillon de patientes.

Cette étude va nous permettre de compléter la bibliographie afin d'apporter de nouveaux éléments vis à vis du dosage de l'inhibine A et d'évaluer sa plus-value au cours d'une stimulation.

Certaines études s'intéressent également au dosage de l'inhibine B en tant que marqueur prédictif sur le suivi hormonal des patientes mais cela n'a pas été abordé dans notre étude.

Corrélation de l'inhibine A avec le nombre de follicules déterminé par échographie :

Cette corrélation a été étudiée chez la femme dans le sérum et dans le liquide folliculaire et est considérée comme le reflet de l'évolution folliculaire au cours du cycle spontané.

In vitro et in vivo, l'inhibine A, produite en fin de maturation par le ou les follicules dominants, serait un témoin de la maturité folliculaire voir de la qualité ovocytaire.

Selon les articles, les follicules ovariens étudiés sont classés en différentes catégories selon leur diamètre. On considère généralement que le follicule est mature à partir de 17 mm de diamètre (un des critères de déclenchement lors d'une ponction ovarienne est l'obtention de 3

follicules de plus de 17 mm de diamètre). Il y a un profond changement de l'environnement hormonal des follicules à partir d'un diamètre entre 8 et 11 mm. On observe une augmentation de la concentration folliculaire en inhibine A autour de 9-10 mm de diamètre, qui va augmenter en parallèle du diamètre folliculaire, ce qui justifie d'intégrer les follicules ayant un diamètre d'au moins 10 mm dans la corrélation avec l'inhibine A (1). En revanche, dans cette étude, il s'agit du dosage de la concentration en inhibine A dans le liquide folliculaire et non pas dans le sérum.

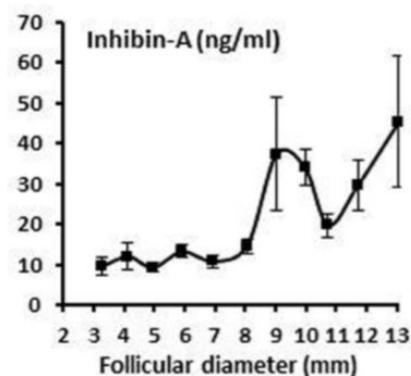


Figure 7 : Corrélation entre la concentration folliculaire en inhibine A et le diamètre folliculaire

Un autre étude considère que l'inhibine A est sécrétée principalement à partir des follicules de 15 mm (15).

Les auteurs de cette étude (6) se sont intéressés dans le tableau 4 (cf ci dessous) au dosage à J11-J12 (correspondant aux jours précédents le déclenchement) de l'inhibine A, de l'estradiol et de l'inhibine B.

TABLE 3. Correlation between the number of ovarian follicles of different sizes and serum endocrine markers during FSH treatment

Follicles	Days	FSH	E ₂	Inhibin A	Inhibin B
<11 mm	4-6	-0.42 (18)	-0.20 (18)	0.01 (15)	0.37 (15)
	7-8	-0.32 (23)	0.22 (23)	0.22 (23)	0.56 (23) ^a
	9-10	-0.45 (30) ^b	0.14 (30)	-0.13 (27)	-0.13 (26)
	11-12	-0.25 (17)	-0.32 (17)	-0.14 (17)	-0.14 (17)
11-14 mm	4-6	-0.15 (15)	0.46 (15)	0.14 (12)	0.19 (12)
	7-8	0.34 (24)	0.62 (24) ^a	0.65 (24) ^c	0.69 (24) ^c
	9-10	0.16 (31)	0.47 (31) ^a	0.35 (28)	0.70 (27) ^c
	11-12	-0.14 (17)	0.55 (17) ^b	0.28 (17)	0.52 (17) ^b
≥15 mm	4-6	0.30 (6)	0.49 (6)	-0.03 (5)	-0.34 (5)
	7-8	-0.12 (13)	0.42 (13)	0.11 (13)	-0.04 (13)
	9-10	0.44 (31) ^b	0.80 (31) ^c	0.76 (28) ^c	0.52 (25) ^a
	11-12	0.34 (18)	0.67 (18) ^a	0.47 (18) ^b	0.46 (18)

The number of subjects is presented in parentheses.

^a P < 0.01.

^b P < 0.05.

^c P < 0.001.

Tableau 4 : Corrélation entre le nombre de follicules ovariens (classés par diamètre) et la concentration sérique de marqueurs hormonaux selon le jour de stimulation.

On observe qu'il n'y a aucune corrélation entre l'inhibine A et les follicules de moins de 11mm ainsi que ceux de 11 à 14mm de diamètre à J11-J12.

En revanche, en prenant en compte uniquement les follicules supérieurs ou égal à 15 mm, ils observent une corrélation significative ($r=0,47^{**}$) ce qui démontre la sécrétion majoritaire de l'inhibine A pour les plus gros follicules.

Les corrélations les plus fortes ont été observées entre les follicules de plus de 15 mm et les concentrations en E2 et en inhibine A a J9-J10 (un à deux jour avant le déclenchement par HCG).

Enfin une dernière étude démontre la même corrélation entre les follicules et la concentration en inhibine A et l'estradiol (14).

TABLE 3 | Correlations on the day of final oocyte maturation between total numbers of follicles/numbers of follicles <15 mm/numbers of follicles ≥15 mm and Inhibin A, estradiol, and Inhibin B.

Follicle number on the day of final oocyte maturation	Inhibin A	E2	Inhibin B
Total number of follicles	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Pearson coefficient	0.78	0.71	0.73
	CI95% [0.70; 0.84]	CI95% [0.63; 0.79]	CI95% [0.64; 0.80]
Number of follicles <15 mm	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Pearson coefficient	0.43186	0.40936	0.52855
	CI95% [0.28; 0.55]	CI95% [0.25; 0.54]	CI95% [0.39; 0.63]
Number of follicles ≥15 mm	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Pearson coefficient	0.72	0.64	0.55138
	CI95% [0.62; 0.79]	CI95% [0.53; 0.73]	CI95% [0.42; 0.65]

E2, estradiol; CI95%, confidence interval.

Tableau 5 : Corrélation entre le nombre de follicules et la concentration entre différents marqueurs hormonaux le jour du déclenchement de l'ovulation

On peut voir que le coefficient de pearson est supérieur concernant les follicules de plus de 15 mm comparé à ceux de moins de 15mm à la fois pour l'estradiol et pour l'inhibine A.

Selon nos résultats, concernant l'estradiol, on observe dans le groupe de patientes âgées de moins de 35 ans, une augmentation des coefficients de pearson lors de l'augmentation de la taille des follicules tandis que nous retrouvons pas cette augmentation dans le groupe âgées de plus de 35 ans. L'estradiol ne serai donc pas un marqueur fiable pour prédire le nombre de follicules visualisés à l'échographie chez les patientes au delà d'un certain âge. L'estradiol est sécrété de manière précoce lors de la folliculogénèse, il est donc moins spécifique des follicules de grands diamètre.

En revanche, concernant l'inhibine A, dans les deux sous groupes par âge et dans la population générale, nous avons une augmentation significative de la corrélation à partir des follicules de plus de 16mm. Nos résultats ainsi que ceux des deux articles précédents vont dans le sens d'une sécrétion majoritaire de l'inhibine A par les plus gros follicules.

Si l'on compare les follicules supérieur ou égal à 16 mm vis à vis de la sécrétion de l'estradiol et de l'inhibine A dans notre étude, on constate une corrélation plus importante pour l'inhibine A que pour l'estradiol. Cela supposerait une plus grande spécificité de sécrétion de l'inhibine A pour les plus grands follicules que l'estradiol.

Ce qui pose la question du dosage de l'inhibine A comme nouveau marqueur de suivi (16,17).

Enfin, nous observons d'après nos résultats que les coefficients de corrélation pour les concentrations sériques en inhibine A pour le groupe de patientes âgées de moins de 35 ans sont supérieures pour tous les paramètres comparé au groupe de patientes plus âgées. Cela évoquerai potentiellement une perte de sécrétion et donc de prédiction avec l'âge féminin.

Corrélation de l'inhibine A et de l'estradiol avec le nombre d'ovocytes obtenus :

Une équipe a démontré que les concentrations d'inhibine A stimulées par gonadotrophine sont en corrélation avec le nombre d'ovocytes récupérés ($r= 0,54^{***}$) et l'œstradiol ($r=0,58^{***}$)(17).

De plus d'autres études ont essayé de déterminer un lien entre ces hormones et les ovocytes ponctionnés :

D'après le tableau 6 ci dessous, la corrélation est très significative le dernier jour avant l'injection d'HCG entre les concentrations sériques en inhibine A et le nombre d'ovocytes recueillis avec $r=0,50^{**}$ (dans notre étude $r=0,503^{***}$ dans la population générale). Nos résultats sont concordants à ce qui a été trouvé dans cette équipe. Ce que l'on peut noter est que cette corrélation est moins significative le jour du déclenchement que pour les jours précédents entre J4-J6, J7-J8 et J10 de la stimulation. Ce qui soulève la question de la pertinence du jour de dosage de l'inhibine A pour un meilleur reflet de la ponction ovocytaire.

L'inhibine A est corrélé significativement avec le nombre d'ovocytes retrouvés même si il est dosé de façon précoce vers J4-J6. (6)

TABLE 2. Correlations expressed as Pearson's correlation coefficients between the number of oocytes retrieved and serum hormones levels and follicle numbers determined on days 4–6, 7–8, and 9–10 of FSH treatment and 12–36 h before hCG administration (last day)

No. of oocytes retrieved vs.	Days 4–6	Days 7–8	Days 9–10	Last day
FSH	-0.08 (17)	0.45 (25) ^a	0.44 (30) ^a	0.50 (35) ^b
E ₂	0.23 (17)	0.57 (25) ^b	0.78 (30) ^c	0.73 (35) ^c
Inhibin A	0.61 (14) ^a	0.70 (25) ^c	0.68 (28) ^c	0.50 (32) ^b
Inhibin B	0.89 (14) ^c	0.79 (25) ^c	0.79 (28) ^c	0.72 (32) ^c
No. of <11-mm follicles	0.33 (17)	0.49 (24) ^a	0.14 (28)	0.25 (34)
No. of 11- to 14-mm follicles	0.33 (14)	0.75 (24) ^c	0.73 (29) ^c	0.69 (33) ^c
No. of >15-mm follicles	-0.28 (6)	-0.001 (14)	0.69 (27) ^c	0.63 (35) ^c

The number of subjects is presented in *parentheses*. The difference in subject numbers between days of treatment relates to which days the subjects gave blood.

^a $P < 0.05$.

^b $P < 0.01$.

^c $P < 0.001$.

Tableau 6 : Corrélation entre le nombre d'ovocytes recueillis et la concentration sérique de marqueurs hormonaux ou des follicules de différents diamètres à plusieurs périodes de la stimulation ovarienne.

De plus si on s'intéresse à la corrélation avec l'E₂, $r=0,73^{***}$ le jour du déclenchement vs $r=0,5863^{***}$ dans la population générale de notre étude. La corrélation est identique lors de J9-J10 et moins significative à J7-J8. Cela est à nouveau concordant avec nos résultats.

En revanche, contrairement à l'inhibine A, il n'y a aucune corrélation statistiquement significative entre les ovocytes recueillis à J4-J6 et les concentrations en E₂.

Enfin, ce dernier article (13) va dans le même sens que le précédent en comparant les concentrations des différentes hormones selon les jours de stimulation : on observe aucune corrélation significative entre l'estradiol et les ovocytes recueillis les premiers jours de la

stimulation alors que le jour du déclenchement, on obtient une différence avec une p -value < 0,05 (cf tableau 7 ci dessous).

En ce qui concerne l'inhibine A, une différence significative est présente le jour du déclenchement avec les ovocytes recueillis mais nous ne retrouvons pas de différence significative au départ de la stimulation contrairement à l'article précédent.

Tableau II. Étude des corrélations entre les dosages plasmatiques et le nombre d'ovocytes recueillis Analyse en fonction du jour de la ponction folliculaire (P0 = jour de la ponction).

	<i>Estradiol</i>	<i>Inhibine A</i>	<i>Inhibine B</i>
P-8 ($n = 11$)	NS	NS	0,792**
P-4 ($n = 23$)	NS	0,548*	NS
P-2 ($n = 30$)	0,562*	0,507*	NS

* $p < 0,05$
 ** $p < 0,005$

Tableau 7 : Etude des corrélations entre les dosages plasmatiques et le nombre d'ovocytes recueillis en fonction du jour de la ponction ovocytaire

Tous ces résultats sont en accord avec notre étude, nous retrouvons bien cette cohérence avec le jour du déclenchement à la fois pour l'inhibine A et l'E2. On obtient des résultats identiques entre la corrélation pour les ovocytes recueillis lors de la ponction ovocytaire et les ovocytes matures donc on peut en conclure que l'inhibine A ne serait pas un marqueur de maturité ovocytaire.

Un autre article a démontré une corrélation plus forte en début de cycle et qui décroît au fur et à mesure que l'on s'approche de l'ovulation (6) (cf tableau 8 ci dessous). Nos données corrobore cette hypothèse.

On observe d'après cette étude, que la corrélation entre l'inhibine A et l'estradiol est plus forte a J4-J6, J7-J8 et J9-J10 (respectivement $r=0,76/r=0,58/r=0,57$ avec une p value < 0,01 ou 0,001) tandis qu'au dernier jour la corrélation est moins forte ($r=0,39$ avec $p < 0,05$)

TABLE 4. Correlation coefficients between inhibin A, inhibin B, FSH, and E₂ on different days of treatment

	Day 0 (n = 35)	Days 4–6 (n = 17–19)	Days 7–8 (n = 30)	Days 9–10 (n = 31–34)	Last day (n = 35–38)
Inhibin A vs. inhibin B	0.44 ^a	0.81 ^b	0.66 ^b	0.45 ^c	0.31
Inhibin A vs. E ₂	0.05	0.76 ^b	0.58 ^a	0.57 ^b	0.39 ^c
Inhibin A vs. FSH	0.02	0.25	0.27	0.47 ^a	0.16
Inhibin B vs. E ₂	0.16	0.51 ^c	0.56 ^a	0.70 ^b	0.63 ^b
Inhibin B vs. FSH	0.08	-0.19	0.21	0.21	0.19
E ₂ vs. FSH	0.01	0.14	0.38 ^c	0.18	0.21

n, Number of subjects.

^a P < 0.01.

^b P < 0.001.

^c P < 0.05.

Tableau 8 : Corrélation entre les différents marqueurs hormonaux selon le jour de traitement lors de la stimulation ovarienne

Dans notre étude, l'estradiol et l'inhibine A ont été dosé le jour du déclenchement. On retrouve une corrélation significative dans la population générale et dans le groupe de patientes âgées de moins de 35 ans. En revanche, aucune corrélation n'a été mise en évidence pour tous les autres sous-groupes de patientes. Un dosage plus précoce nous aurait peut être permis de retrouver une corrélation plus importante entre ces deux paramètres.

Une autre étude a également étudié la corrélation entre ces deux paramètres le jour du déclenchement (5). Les auteurs ont trouvé une corrélation significative entre l'estradiol et l'inhibine A le jour du déclenchement ce qui n'est pas le cas pour notre étude.

Enfin, concernant le sous-groupe de patientes selon la réponse à la stimulation ovarienne, nous avons pu établir des corrélations significatives avec la concentration sérique en inhibine A principalement dans le sous groupe des normo-répondeuses pour quatre des paramètres de stimulation. Nous n'avons pas retrouvé de corrélation dans le groupe de mauvaises répondeuses et d'hyper-répondeuses.

En revanche, nous ne retrouvons pas cette corrélation significative pour le groupe de normo-répondeuses concernant la concentration sérique en estradiol.

Cela évoquerai une sécrétion plus aléatoire de la sécrétion de l'inhibine A chez les patientes ne répondant pas normalement à la stimulation ovarienne. La prédiction du nombre d'ovocytes ainsi que du nombre de follicules compatibilisés à l'échographie serait meilleur dans un groupe de patientes répondant correctement à une stimulation ovarienne.

Conclusion

Nous pouvons conclure que la concentration sérique en inhibine A pourrait être un nouveau marqueur prédictif par rapport au nombre de follicules supérieur à 16 mm déterminés à l'échographie ainsi que du nombre d'ovocytes ponctionnés.

En revanche, ce marqueur hormonal n'est pas un marqueur effectif de la maturité ovocytaire puisque nous ne retrouvons pas de corrélation supérieure par rapport au nombre d'ovocyte recueillis.

Des études complémentaires seront nécessaires, notamment prospective, pour confirmer les résultats obtenus et cela, avant de l'intégrer dans un monitoring de FIV en pratique clinique.

De plus, il serait pertinent de s'intéresser lors de prochaines études au lien entre les concentrations sériques en inhibine A et le risque d'hyperstimulation comme peut l'être l'estradiol.

En conclusion, l'inhibine A pourrait être un nouveau marqueur effectif du développement folliculaire et pourrait remplacer ou compléter l'estradiol dans le suivi hormonal des FIV (6,11,16–19).

Bibliographie :

1. Kristensen SG, Mamsen LS, Jeppesen JV, Bøtkjær JA, Pors SE, Borgbo T, et al. Hallmarks of Human Small Antral Follicle Development: Implications for Regulation of Ovarian Steroidogenesis and Selection of the Dominant Follicle. *Front Endocrinol.* 12 janv 2018;8:376.
2. Wallach EE, Shoham Z, Schachter M. Estrogen biosynthesis—regulation, action, remote effects, and value of monitoring in ovarian stimulation cycles. *Fertil Steril.* avr 1996;65(4):687-701.
3. Laven JSE, Fauser BCJM. Inhibins and adult ovarian function. *Mol Cell Endocrinol.* oct 2004;225(1-2):37-44.
4. Sehested A, Juul A, Andersson AM, Petersen JH, Jensen TK, Ller JM, et al. Serum Inhibin A and Inhibin B in Healthy Prepubertal, Pubertal, and Adolescent Girls and Adult Women: Relation to Age, Stage of Puberty, Menstrual Cycle, Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, and Estradiol Levels. *2000;85(4):7.*
5. Burger HG, Groome NP, Robertson DM. Both Inhibin A and B Respond to Exogenous Follicle-Stimulating Hormone in the Follicular Phase of the Human Menstrual Cycle. :3.
6. Eldar-Geva T, Robertson DM, Cahir N, Groome N, Gabbe MP, Maclachlan V, et al. Relationship between Serum Inhibin A and B and Ovarian Follicle Development after a Daily Fixed Dose Administration of Recombinant Follicle-Stimulating Hormone. *2000;85(2):7.*
7. Welt CK, Schneyer AL. Differential Regulation of Inhibin B and Inhibin A by Follicle-Stimulating Hormone and Local Growth Factors in Human Granulosa Cells from Small Antral Follicles. *2001;86(1):7.*
8. Vandekerckhove F, Gerris J, Vansteelandt S, De Sutter P. Adding serum estradiol measurements to ultrasound monitoring does not change the yield of mature oocytes in IVF/ICSI. *Gynecol Endocrinol.* sept 2014;30(9):649-52.
9. Lass A. Monitoring of in vitro fertilization—embryo transfer cycles by ultrasound versus by ultrasound and hormonal levels: a prospective, multicenter, randomized study. *Fertil Steril.* juill 2003;80(1):80-5.
10. Kwan I, Bhattacharya S, McNeil A. Monitoring of stimulated cycles in assisted reproduction (IVF and ICSI). In: *The Cochrane Collaboration, éditeur. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2008 [cité 9 juill 2020]. p. CD005289.pub2. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD005289.pub2>*
11. Mclachlan RobertI, Healy DavidL, Robertson DavidM, De Kretser DavidM, Burger HenryG. PLASMA INHIBIN LEVELS DURING GONADOTROPIN-INDUCED OVARIAN HYPERSTIMULATION FOR IVF: A NEW INDEX OF FOLLICULAR FUNCTION? *The Lancet.* mai 1986;327(8492):1233-4.
12. Wen X, Tozer AJ, Li D, Docherty SM, Al-Shawaf T, Iles RK. Human granulosa-lutein cell in vitro production of progesterone, inhibin A, inhibin B, and activin A are dependent on follicular size and not the presence of the oocyte. *Fertil Steril.* mai 2008;89(5):1406-13.
13. Millot F, Antoine JM, Merviel P, Mathieu E, Carpeau J, Uzan S. Comparaison des valeurs prédictives des inhibines A et B, et de l'estradiol plasmatiques chez des patientes traitées en vue de FIV par agoniste du GnRH et FSH recombinante. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* janv 2002;30(1):36-41.
14. Lawrenz B, Depret Bixio L, Coughlan C, Andersen CY, Melado L, Kalra B, et al. Inhibin A—A Promising Predictive Parameter for Determination of Final Oocyte Maturation in Ovarian Stimulation for IVF/ICSI. *Front Endocrinol.* 15 mai 2020;11:307.
15. Hohmann FP, Laven JSE, de Jong FH, Fauser BCJM. Relationship between inhibin A and B, estradiol and follicle growth dynamics during ovarian stimulation in normo-ovulatory women. *Eur J Endocrinol.* mars 2005;152(3):395-401.
16. Mikkelsen AL. Impact of oestradiol and inhibin A concentrations on pregnancy rate in in-vitro oocyte maturation. *Hum Reprod.* 1 août 2000;15(8):1685-90.
17. Hall JE, Weltand CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod.* 1 févr 1999;14(2):409-15.
18. Casper FW, Seufert RJ, Schaffrath M, Pollow K. Concentrations of inhibins and activin in women undergoing stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone for in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril.* janv 2001;75(1):32-7.
19. Lindheim SR, Chang PL, Vidali A, Ferin M, Sauer MV. The Utility of Serum Progesterone and Inhibin A for Monitoring Natural-Cycle IVF-ET. :4.

Vu, le Président du jury,

Vu, le Directeur de thèse,

Vu, le Directeur de l'UFR,

Nom - Prénom : INQUEL Anaïs

Titre de la thèse :

Evaluation de l'intérêt de l'inhibine A dans le monitoring hormonal des stimulations ovariennes en vue d'une Fécondation In Vitro

Résumé de la thèse :

De nos jours, le suivi des patientes suivies en FIV est effectué par le dosage de la concentration sérique en estradiol et par le compte de follicules par échographie transvaginale. Nous avons évalué si l'inhibine A pouvait être un nouveau marqueur et permettre un meilleur suivi des patientes.

Nous retrouvons que les concentrations sériques d'inhibine A sont fortement corrélées aux différents paramètres de stimulation ovarienne, à savoir le nombre total d'ovocytes recueillis, le nombre d'ovocytes matures obtenus à la ponction, le nombre de follicules de 10-13mm, de 14-15mm et de plus de 16 mm dans la population générale. Une analyse en sous groupe par âge et selon la réponse ovarienne a également été effectuée.

On peut donc en conclure que l'inhibine A pourrait être un nouveau marqueur dans le monitoring hormonal des stimulations ovarienne en vue d'une FIV en remplacement du dosage de la concentration sérique en estradiol.

MOTS CLÉS : *INHIBINE A –FOLLICULES- ESTRADIOL- OVOCYTES*

JURY :

PRÉSIDENT :

Pr IMBERT Berthe-Marie, PU-PH de virologie (UFR Pharmacie)

ASSESEURS :

Pr FREOUR Thomas, PU-PH biologie du développement et de la reproduction (UFR Médecine)

Pr BARRIERE Paul, PU-PH biologie du développement et de la reproduction

Pr MASSON Damien, PU-PH de biochimie biologie moléculaire (UFR Médecine)

Dr REIGNIER Arnaud, AHU biologie du développement et de la reproduction

Adresse de l'auteur : 3 mail Pablo Picasso 44000 NANTES