

**UNIVERSITÉ DE NANTES**

---

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

---

N° 2021-98

**THESE**

Pour le DES de Gynécologie Médicale

par

**Gauthier DUVAL**

né le 15/08/1992 à Fort-de-France

---

Présentée et soutenue le 30 juin 2021

---

**Impact de l'élévation de la progestéronémie lors des cycles de FIV-ICSI sur le développement embryonnaire.**

Directeurs de thèse :

Dr Tiphaine LEFEBVRE

Dr Arnaud REIGNIER

Président du jury :

Pr Paul BARRIERE

## Remerciements

Au Dr Tiphaine LEFEBVRE, pour tes éclairages indispensables à ce travail et ton accompagnement dans nos études de gynécologie médicale. Tu encadres avec bienveillance les internes de Nantes et nous en sommes reconnaissants. Merci d'avoir accepté d'être ma directrice de thèse, pour ta patience et tes encouragements. Ton dévouement mérite notre respect.

Au Pr Paul BARRIERE, pour avoir accepté de présider ce jury. Précurseur dans le domaine de l'assistance médicale à la procréation, vous êtes un modèle de tolérance et d'ouverture d'esprit. Merci pour votre enseignement, vos anecdotes et votre bonne humeur en toute occasion. Vous êtes toujours présent en cas de soucis lors de différentes réunions d'organisation des stages, ou pour nos questionnements autour du fonctionnement de l'hôpital ou de la Faculté.

Au Pr Thomas FREOUR, merci pour votre accueil au sein de votre service de médecine et de biologie de la reproduction. Vous nous avez souligné lors de notre premier jour que votre service est un service où l'ambiance est agréable et la communication possible et nous avons eu le bonheur de le vérifier. Merci pour votre enseignement, je garderai en mémoire vos cours de biologie, mais aussi votre cours plus philosophique, et historique sur l'assistance médicale à la procréation.

Au Dr Arnaud REIGNIER, merci pour tes conseils, nous savons que l'on peut toujours compter sur toi pour répondre à nos questionnements sur le côté biologie. Merci pour ta pédagogie et ton accessibilité. Tes petites blagues nous font rire. Tes relectures furent d'une grande aide pour ce travail et je t'en remercie de nouveau. Je tâcherai de garder en mémoire tes conseils pour une rédaction plus rigoureuse.

Au Dr Florence LEPELIER, merci également pour votre accueil. Vous nous apprenez à aller à l'essentiel, ce qui parfois me fait défaut. L'apprentissage à vos côtés des différents gestes indispensables à notre exercice futur est exigeant et formateur. Votre force de caractère s'accompagne d'une grande disponibilité et d'une réelle volonté de transmettre. Merci également pour le sushi de garde qui fait toujours plaisir !

À tous les médecins, sage-femmes, biologistes et techniciens de laboratoire du service de médecine et de biologie de la reproduction du CHU de Nantes, merci pour cette année passée ensemble. Elle fût riche d'enseignement. Je vous remercie de m'avoir confirmé mon attirance vers la médecine de la reproduction, et de m'avoir soutenu en toute circonstances. Travailler auprès de vous est un grand plaisir.

Au Pr Damien MASSON pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, merci pour votre disponibilité et votre écoute.

Au Dr Guillaume DUCARME, pour vos conseils d'un grand pragmatisme en salle de naissance ou au bloc opératoire. Merci pour l'humour, les repas du midi qu'il ne fallait rater sous aucun prétexte. Après un premier semestre sportif en salle de naissance au CHU, mon passage dans votre service m'a permis d'aborder sereinement la suite de mon internat et je vous en suis reconnaissant. Bonjour à toute l'équipe du CHD !

À tous les médecins, sage femmes et infirmiers du CH de Cholet, merci pour votre chaleureux accueil pendant ces 6 mois passés parmi vous, j'ai beaucoup apprécié apprendre à vos côtés.

À toute l'équipe de Procréalis : médecins, infirmières, biologistes et techniciens de laboratoire, un grand merci pour ces quelques mois, j'ai énormément appris à vos côtés et je garde d'excellents souvenirs de mon passage parmi vous.

À tous les médecins gynécologues du CHU, merci pour vos cours et vos conseils lors des stages et des gardes. Votre engagement universitaire, en plus de votre activité clinique est un effort supplémentaire qui nous bénéficie directement.

Merci également aux sages-femmes, infirmières, et aides-soignants du CHU, vos conseils et remarques sont indispensables à notre parcours et votre bonne humeur contagieuse.

À l'ensemble de mes co-internes de gynécologie médicale et d'obstétrique, merci d'avoir partagé vos histoires et d'avoir été mes confidents. L'internat sans vous ne serait pas pareil. Les plateaux charcuteries et fromages sont toujours l'occasion de partager un bon moment et d'échanger.

Il y a une super ambiance entre internes et je suis sûr que cela continuera. Mention spéciale à Carl, avec qui je partage une amitié sincère.

À Philippe, mon ami d'enfance sur qui je peux toujours compter et qui me manque souvent. Tu es le genre d'ami avec qui on peut toujours discuter comme si l'on s'était vu la veille. Merci pour tout et on se voit en juillet !

À Gabriel, mon ami avec qui j'ai traversé l'externat, ton côté bourru cache une grande sensibilité ainsi qu'une fidélité sans faille. Je souhaite pouvoir te voir à chaque passage du côté de Paris.

À ma mère, pour son amour depuis toujours, tu as toujours été là pour nous, merci pour ton accompagnement et d'avoir toujours cru en moi. Tu es un exemple pour nous. Discrète et efficace, tu es un modèle de travail. Nous avons hâte de te revoir après le covid. Tes conseils sont réfléchis et précieux.

À mon père, également pour son amour depuis toujours, très présent et disponible. Un grand râleur, avec un franc parler assumé. Merci pour le savoir que tu as pu me transmettre et tes conseils de bon sens. Tes valeurs fortes ont constitué pour moi des repères en toutes circonstances.

À ma sœur, pour l'affection particulière que l'on partage. Merci de m'avoir montré le chemin. Tu fais mon admiration car tu cherches toujours ce qui est juste. Brillante, efficace, douce et souvent de bonne humeur, je sais que je peux toujours compter sur toi. Tu te construis une merveilleuse petite famille auprès de Thomas, d'Emmanuelle et autres à venir et j'en suis très heureux.

À Domitille, ma femme, et future mère de notre enfant prévu pour octobre. Depuis notre rencontre, tout a été simple et dans le plus grand bonheur. Je t'aime et je me réjouis de construire ma vie avec toi. Merci pour ton soutien indéfectible et nos moments de rire. Ce n'est que le début de notre belle aventure.

Au reste de mes amis et membres de ma famille trop nombreux pour être tous nommés ici, je vous remercie pour m'avoir soutenu et avoir partagé mes joies et mes peines. J'espère tous vous revoir bientôt et je vous souhaite le meilleur.

## Table des matières

Table des matières .....	4
Liste des abréviations : .....	5
I) Introduction .....	6
I-A) Fécondation In Vitro (FIV) +/- Injection Intracytoplasmique de Spermatozoïdes (ICSI).....	6
I-B) Progestérone élevée et taux de grossesses .....	7
I-C) Progestéronémie élevée et qualité embryonnaire .....	9
I-D) Objectif .....	9
II) Matériels et Méthodes .....	10
II-A) Population et type d'étude.....	10
II-B) Stimulation ovarienne.....	10
II-C) Culture embryonnaire.....	11
II-D) Transferts embryonnaires et soutien de phase lutéale .....	12
II-E) Modalités d'évaluation des résultats d'assistance médicale à la procréation .....	13
II-F) Dosage de la progestéronémie. ....	14
II-G) Statistiques .....	14
III) Résultats .....	15
III-A) Caractéristiques de la population d'étude .....	15
III-B) Caractéristiques de la stimulation hormonale. ....	16
III-C) Ponction ovocytaire et qualité embryonnaire.....	17
III-D) Transferts embryonnaires et issues des cycles d'assistance médicale à la procréation .....	19
III-E) Association entre progestéronémie et résultats d'assistance médicale à la procréation.....	20
IV) Discussion .....	22
IV-A) Résultats principaux de l'étude et concordance avec la littérature .....	22
IV-B) Applicabilité et résultats secondaires de l'étude .....	23
IV-C) Forces et limites de l'étude .....	24
IV-D) Hypothèses physiopathologiques.....	25
V) Conclusion.....	28
Annexes .....	29
Bibliographie .....	33
Résumé .....	39

## Liste des abréviations :

3- $\beta$ -HSD : 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déhydrogénase  
 $\beta$ -HCG : Sous unité  $\beta$  de la gonadotrophine chorionique humaine  
AMH : Hormone anti-müllérienne  
ATP : Adénosine triphosphate  
CFA : Compte des follicules antraux  
CHU : Centre hospitalier et universitaire  
CNIL : Commission nationale de l'informatique et des libertés  
DPI : Diagnostic pré-implantatoire  
FIV : Fécondation In Vitro  
FSH : Hormone folliculo-stimulante  
HCG : Gonadotrophine chorionique humaine  
HMG : Gonadotrophine ménopausique humaine  
IC : Intervalle de confiance  
GnRH : Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires  
ICSI : Micro-injection intracytoplasmique  
IMC : Indice de masse corporelle  
LH : Hormone lutéinisante  
OR : Odds-Ratio ( Rapport de cote )  
SA : Semaines d'aménorrhée  
UI : Unités internationales

## **I) Introduction**

### **I-A) Fécondation In Vitro (FIV) +/- Injection Intracytoplasmique de Spermatozoïdes (ICSI)**

En 2018, l'ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) a estimé que 8 millions d'enfants à travers le monde sont nés suite à une FIV classique (Fécondation In Vitro), ou bien suite à une FIV associée à une ICSI (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection) (1,2). Ces 8 millions de naissances, obtenues depuis les débuts de l'utilisation de ces techniques d'AMP (Assistance Médicale à la Procréation), correspondent à l'effectif de la population suisse en 2018 (3).

En France, la première naissance issue d'une FIV était Amandine en 1982(4). Entre 1982 et 2019, 400 000 français ont vu le jour grâce à une FIV, associée ou non à une ICSI (5,6). En 2018, une naissance française sur trente était obtenue dans les suites d'une FIV, avec ou sans ICSI associée (7).

L'augmentation du recours aux techniques d'AMP est en partie liée au recul de l'âge féminin lors du désir de première grossesse (8,9) et aux effets négatifs du vieillissement sur la fertilité féminine (10).

Les techniques de FIV(+/-ICSI) nécessitent une stimulation hormonale afin d'obtenir un recrutement multi-folliculaire à l'aide d'injections de gonadotrophines à fortes doses. Les principales gonadotrophines utilisées sont la FSH (Hormone Folliculo-Stimulante) recombinante, l'HMG urinaire (Gonadotrophine Ménopausique Humaine) ou la corifollitropin alpha. La croissance folliculaire est surveillée à l'aide d'échographies et de bilans hormonaux sanguins réguliers (oestradiolémie, hormone lutéinisante et progestéronémie) jusqu'à l'obtention d'un nombre suffisant de follicules matures.

L'induction multifolliculaire est responsable d'une hyperoestradiolémie supraphysiologique. Afin d'éviter un pic spontané de LH (Hormone Lutéinisante) et donc une ovulation prématurée secondaire à cette hyperoestradiolémie, 2 types de traitements sont utilisés : des agonistes de la GnRH (Hormone de libération des Gonadotrophines Hypophysaires) ou des antagonistes de la GnRH. Le choix entre les 2 protocoles dépend majoritairement des pratiques des centres. Lorsqu'au moins 3 follicules de plus de 17 mm sont obtenus, l'ovulation est déclenchée par une injection d'hCG (Gonadotrophine Chorionique Humaine). Les ovocytes présents dans le liquide folliculaire sont ensuite récupérés lors de la ponction ovocytaire, réalisée au bloc opératoire sous contrôle échographique par voie endovaginale.

Les spermatozoïdes capotés sont ensuite mis au contact avec les complexes cumulo-ovocytaires recueillis au laboratoire (FIV) ou directement injectés dans l'ovocyte mature après décoronisation (ICSI). Les embryons obtenus sont alors mis en culture pendant 2 à 5 jours, selon les pratiques des centres. Un ou deux embryons de développement satisfaisants sont ensuite transférés dans la cavité utérine, à l'aide d'un cathéter souple et fin, sous échoguidage par un opérateur expérimenté. Les embryons surnuméraires sont vitrifiés pour un transfert ultérieur. Un dosage de  $\beta$ -hCG est réalisé 11 jours après le transfert en cas de transfert au stade blastocyste.

## I-B) Progesterone élevée et taux de grossesses

Au cours d'un cycle menstruel physiologique, la progestéronémie initialement basse en phase folliculaire augmente rapidement après l'ovulation, déclenchée par un pic de LH. Cette élévation de la progestéronémie est expliquée par sa synthèse au niveau du corps jaune issu du follicule dominant post-ovulatoire. En l'absence de grossesse, le corps jaune régresse en fin de phase lutéale et la progestéronémie chute (11). La persistance des faibles niveaux de progestéronémie détectés en phase folliculaire, malgré l'absence de corps jaune, s'explique par une sécrétion plus faible surrénalienne (12).

Au cours d'une hyperstimulation ovarienne contrôlée pour FIV+/-ICSI, on observe fréquemment une élévation non physiologique de la progestéronémie en fin de phase folliculaire. Ainsi, dans leur méta-analyse incluant 68 articles et 60 000 cycles, Venetis et al observent une élévation prématurée de la progestéronémie en cours de stimulation entre 12,3 % et 46,7% des cycles (13).

La physiopathologie de cette élévation prématurée de la progestéronémie en cours de stimulation est aujourd'hui mieux comprise. Initialement elle fût envisagée comme conséquence d'un pic de LH précoce (14). Cependant ce mécanisme expliquait mal le contraste entre la proportion importante de progestéronémie élevée préalable au déclenchement de l'ovulation, et la faible fréquence du pic prématuré de LH, du fait de l'utilisation des agonistes ou antagonistes de la GnRH (15).

L'augmentation de la progestéronémie s'expliquerait par une stimulation directe, par les fortes doses de FSH, de l'expression de la 3 $\beta$ -Hydroxystéroïde déhydrogénase (3  $\beta$ -HSD) qui est responsable de la synthèse de la progestérone à partir de la pregnenolone au sein des cellules de la granulosa, avec une relation dose dépendante (16,17).

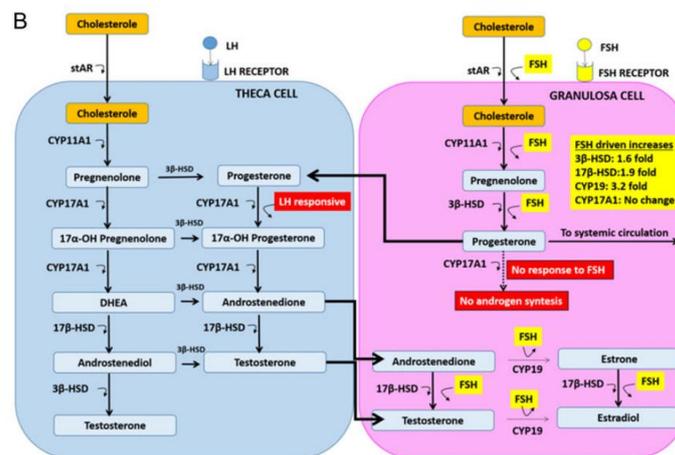


Figure 1 : Mécanisme de synthèse de la progestérone par les cellules de la granulosa après stimulation ovarienne par FSH (d'après Oktem et al. 2017)

*Proposed mechanism of how FSH stimulation promotes progesterone output from human mitotic granula cells (Figure B). Oktem O, Akin N, Bildik G, Yakin K, Alper E, Balaban B, et al. FSH Stimulation promotes progesterone synthesis and output from human granulosa cells without luteinization. Hum Reprod Oxf Engl. 01 2017;32(3):643- 52.*

Selon la théorie bi-cellulaire de la synthèse des hormones stéroïdiennes (18), la progestérone produite dans les cellules de la granulosa devrait être convertie en œstrogènes dans les cellules de la thèque par la 17 OH hydroxylase. Or l'activité de cette enzyme, régulée par la LH, n'est pas augmentée puisque la LH ne suit pas les variations de FSH induite par les protocoles d'hyperstimulation ovarienne contrôlée.

Cette augmentation prématurée de la progestéronémie ne suit pas la physiologie du cycle ovarien féminin, et il semblait logique de s'interroger sur sa possible implication dans les résultats de prise en charge par Fécondation in Vitro (FIV). Deux revues de la littérature de 2018 (19,20) font la synthèse de l'impact négatif de l'augmentation prématurée de la progestéronémie sur les résultats des cycles de FIV. Jusqu'aux années 2000, la plupart des études ne montraient pas d'association négative entre l'augmentation prématurée de la progestéronémie et les issues des cycles de FIV (21,22). Il faudra attendre les années 2010 pour que cette association soit retrouvée de façon récurrente, avec un impact négatif sur les chances de grossesse (13,23,24). Pour expliquer cet impact clinique de l'augmentation prématurée de la progestéronémie sur les issues de FIV, une moindre réceptivité endométriale est envisagée (25,26). Elle est appuyée par l'apport de biopsies d'endomètre le jour de la ponction ovocytaire retrouvant une avance de maturation endométriale chez les patientes avec une augmentation prématurée de la progestéronémie (27). Il en résulte un asynchronisme entre la maturation de l'endomètre et le développement embryonnaire (28), dont l'effet délétère augmente en cas de développement embryonnaire plus lent confronté lui à un endomètre en avance (29). Papanikolaou et al (30) ont supposé initialement un impact endométrial restreint aux embryons transférés aux stade de clivage (J3). Les blastocystes, transférés à J5 ne souffriraient pas de l'asynchronisme entre l'endomètre et le stade embryonnaire. En réponse, Hill et al (31) ont montré en 2015 que la culture embryonnaire prolongée n'était pas suffisante pour s'affranchir des effets d'une augmentation prématurée de la progestéronémie en cours de FIV.

Devant la diminution des taux de naissances vivantes en transfert frais en cas de progestéronémie élevée (25,32,33), le consensus actuel repose sur la congélation systématique des embryons (13,34). Cependant, il n'y pas de consensus sur la valeur seuil de progestéronémie anormalement haute (35). Le dosage de la progestéronémie est complexe et il faut s'interroger en pratique clinique sur la technique utilisée pour le dosage car toutes les méthodes ne sont pas reproductibles entre elles (36). De plus, il faut doser la progestéronémie dans une plage horaire restreinte car il existe une forte variabilité des valeurs au cours de la journée, avec un taux mesuré pouvant chuter jusqu'à 44% entre des dosages répétés entre huit heures et dix-huit heures (37). Chaque centre doit ainsi définir sa valeur seuil de progestéronémie élevée en fonction de la technique de dosage utilisée et de l'heure.

Avec une stratégie de congélation embryonnaire totale en cas de progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation, couplée à une vitrification embryonnaire efficace (38), on pourrait s'attendre à des taux cumulatifs de grossesse inchangés en cas de problématique isolée de réceptivité endométriale.

Cependant, Racca et al (39) retrouvent des taux cumulatifs de grossesse diminués en cas de progestéronémie supérieure à 1,5 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation, lorsqu'ils comparent ces taux à ceux obtenus avec une progestéronémie le jour du déclenchement entre 0,51 et 1,49 ng/ml.

### **I-C) Progéstéronémie élevée et qualité embryonnaire**

Racca et al (39), en plus du taux cumulatif de grossesse diminué déjà évoqué, constatent en 2018, une proportion plus faible d'embryons utilisables dans le groupe avec progéstéronémie  $\geq 1,5$  ng/ml. D'autres études retrouvent une diminution du taux obtenu d'embryons de meilleure qualité rapporté aux nombres d'ovocytes matures (40,41). Or, le taux d'embryons de meilleure qualité est un bon indicateur des chances de grossesse (42) et un outil intéressant pour l'appréciation de la qualité embryonnaire. Outre l'étude de Racca et al de 2018, Drakopoulos synthétise en 2019 dans une revue de la littérature, sept études supplémentaires rapportant une association entre une moindre qualité embryonnaire et une progéstéronémie élevée (43). On peut donc s'interroger alors sur la qualité embryonnaire des embryons issus des cycles de stimulation en vue d'une FIV avec progéstéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation.

Au contraire, d'autres études ne constatent pas de différence de qualité embryonnaire en fonction de la progéstéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation. Ainsi, la même équipe de Racca et al, en 2020, dans le cadre du don d'ovocytes (44), n'a pas observé de différence de qualité embryonnaire selon la progéstéronémie. En 2017, Vanni et al (45) ne mettent pas non plus en évidence de différence de qualité embryonnaire en cas de progéstéronémie élevée. Dans leur étude, les deux groupes de patientes ont eu une congélation totale de leurs embryons, et aucune différence sur les taux cumulatifs de grossesse n'a été observée. D'ailleurs, Ubaldi et al. rapportent en 2016, une absence de différence du taux de blastocystes obtenu par rapport au nombre d'ovocytes fécondés en cas d'hyperstimulations ovariennes contrôlées réalisées en phase lutéale, en comparaison à celles en phase folliculaire(46).

D'autres études distinguent un effet néfaste en termes de qualité embryonnaire et de taux de grossesse cumulés en cas de progéstéronémie élevée dosée le jour du déclenchement de l'ovulation, mais restreint à une sous population. Par exemple, Griesinger et al (47) observent que les bonnes répondeuses à l'hyperstimulation ovarienne ne semblent pas impactées par la progéstéronémie élevée, à la différence des autres femmes.

### **I-D) Objectif**

L'association entre progéstéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation lors de l'hyperstimulation ovarienne contrôlée préalable à une prise en charge en fécondation in vitro et une moindre qualité embryonnaire fait toujours débat dans la littérature.

L'objectif de notre étude était donc d'évaluer l'impact de l'élévation de la progéstéronémie lors des cycles de fécondation in vitro au cours d'une prise en charge en assistance médicale à la procréation sur le développement embryonnaire.

## **II) Matériels et Méthodes**

### **II-A) Population et type d'étude.**

Cette étude était observationnelle, rétrospective, non-interventionnelle, sur deux centres : le centre d'assistance médicale à la procréation du CHU de Nantes et le centre d'assistance médicale à la procréation du centre Procréalys à la Roche sur Yon. L'ensemble des données cliniques et biologiques nécessaires ont été recueillies dans le logiciel Médifirst® et dans la base de données Embryoscope® et anonymisées. La base de données issue de Médifirst® est déclarée aux autorités française et approuvée par la CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

Les patientes qui ont été incluses étaient âgées de 18 à 43 ans, prises en charge en FIV ou en ICSI, entre le 30 août 2016 et le 31 décembre 2018 dans ces 2 centres.

L'absence de dosage de la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation représentait un critère d'exclusion. Les patientes en don d'ovocytes, en préservation ovocytaire, ainsi que celles qui suivaient un parcours de diagnostic pré-implantatoire ont également été exclues.

Deux groupes ont été constitués : un groupe avec une progestéronémie strictement inférieure à 1,3 ng/mL le jour du déclenchement de l'ovulation, et un groupe avec une progestéronémie supérieure ou égale à 1,3 ng/ml. La valeur seuil de progestéronémie élevée choisie correspond à notre pratique clinique, au-delà de laquelle nous optons pour une congélation embryonnaire totale.

Les deux centres d'assistance médicale à la procréation participant à cette étude ont des pratiques de stimulation ovarienne et de culture embryonnaire similaires, ainsi qu'une méthode commune du dosage de la progestéronémie.

### **II-B) Stimulation ovarienne**

Chaque patiente a bénéficié d'une stimulation ovarienne à l'aide de gonadotrophines avec un protocole antagoniste dans la grande majorité des cas, ou avec un protocole agoniste. Les stimulations ovariennes ont été initiées en phase folliculaire classique. Avant le début de la stimulation, les patientes ont reçu des oestrogènes per os (PROVAMES®), débutés environ 6 jours avant la fin du cycle ovarien. Ces oestrogènes ont été maintenus sur le cycle suivant, jusqu'au début de la stimulation hormonale par gonodotrophines.

Les gonodotrophines utilisées étaient l'HMG : Menopur®, Ferring Pharmaceuticals, Saint-Prex, Switzerland, ou de la FSH recombinante (Gonal® F, MerkSerono; Puregon®, MSD, New Jersey, USA). Leurs dosages dépendaient de l'âge, du poids, des réponses antérieures et de la réserve ovarienne.

Les patientes ont bénéficié, au cours de leur suivi pour la réalisation d'une FIV, d'échographies endovaginales répétées (Voluson GE®, ou Canon®).

Les dosages hormonaux nécessaires au suivi de l'hyperstimulation ovarienne contrôlée préalable à la FIV incluaient la progestéronémie. Ce dosage a été réalisé par la technique d'électrochimiluminescence automatisée développée par Roche® (Elecsys assay, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland).

Ces dosages hormonaux couplés aux échographies ont eu lieu systématiquement au 5-6e jour de stimulation hormonale, notamment pour savoir quand débiter l'antagoniste (Fyremadel®, 1 injection par jour en sous cutané), puis ces contrôles sont répétés jusqu'au déclenchement, tous les 2 ou 3 jours selon les besoins.

Lorsque la réponse ovarienne était considérée comme optimale (au moins 3 follicules supérieurs ou égaux à 17mm le jour de l'échographie), le déclenchement de l'ovulation a été réalisé soit par l'injection sous cutanée d'HCG recombinante (250 UI d'Ovitrelle®, Merck Serono, Geneva, Switzerland), soit par une injection d'agoniste de la GnRH (0.2 mg de Decapeptyl®, Ipsen Pharmaceuticals, Paris, France).

## **II-C) Culture embryonnaire**

La ponction ovocytaire était réalisée 36h après le déclenchement de l'ovulation ; en fonction de la qualité spermatique du conjoint, les ovocytes étaient soit mis en fécondation au contact des spermatozoïdes (FIV classique), soit seuls les ovocytes matures (1 globule polaire) étaient directement micro-injectés, après décoronisation, par un spermatozoïde en ICSI.

Le lendemain de la ponction, les signes de fécondation normale étaient annotés (présence de 2 globules polaires et de deux pronuclei). De J2 à J4, les embryons étaient morphologiquement évalués selon les recommandations de l'ESHRE (Société Européenne de Reproduction Humaine et d'Embryologie) : nombre de blastomères, leur taille, le taux de fragmentation, présence de blastomères multinuclées (56).

Puis, le 5e jour (en pratique du 4e au 6e jour si besoin), le développement et la morphologie des blastocystes obtenus ont été évalués : observation de la cavitation et de son expansion, du bouton embryonnaire et du trophoctoderme. Ces éléments morphologiques du blastocyste étaient ainsi gradés selon la classification de Gardner (57). Cette classification morphologique permet d'établir des groupes de qualités embryonnaires différents, offrant plus ou moins de chance de grossesse en cas de transfert embryonnaire (58).

Ainsi la classification de Gardner permet de grader :

- L'expansion du blastocyste de B1 (peu expansé) à B6 (éclos après expansion complète).
- La compaction de la masse cellulaire interne de A (compacte nombreuse cellules) à C (très peu de cellules, peu de compaction). On ne l'évalue que si on a un blastocyste  $\geq$ B3.
- La cohésion du trophoctoderme de A (nombreuses cellules épithélium cohésif) à C (très peu de cellules, peu cohésif). On ne l'évalue que si on a un blastocyste  $\geq$ B3.

Les embryons issus des ovocytes fécondés ont été cultivés au laboratoire jusqu'au stade de blastocyste, soit pendant environ 5 jours en milieux de culture séquentiels avec changement à J3 (G1-G2 media®, Vitrolife) sous atmosphère contrôlée (6% de dioxyde de carbone, 5% de dioxygène).

La majorité de nos embryons ont été cultivés dans un incubateur Time-Lapse (Embryoscope®, Vitrolife). Le Time-Lapse correspond au matériel et à la technologie supplémentaire apportée aux incubateurs traditionnels. Il permet de capturer une image individuelle de chaque embryon toutes les 10 minutes, sans perturbation des conditions de culture. La morphocinétique est alors mieux appréciée. Cela permet de savoir et d'annoter à quels moments sont réalisées les étapes clés du développement embryonnaire selon les recommandations de Ciray (PMID 25344070). Un exemple en illustration est proposé en annexe n°1. C'est un outil complémentaire dans l'analyse de la qualité embryonnaire (48,49).

Nos centres d'AMP ont eu pour politique de faire de la culture prolongée de façon quasi systématique. Ce choix était en accord avec la tendance actuelle des centres d'AMP et des possibilités techniques offertes sur place. Cette décision s'explique, en grande partie, par un taux supérieur de naissances vivantes par transfert au stade blastocyste, avec une non infériorité, en terme de taux de grossesse cumulés, par rapport aux stratégies de transferts à des stades plus précoces (50).

Après culture embryonnaire, tous les embryons n'étaient pas utilisables pour un transfert ou pour une congélation embryonnaire. La politique du centre d'assistance médicale à la procréation était de ne pas transférer un embryon n'offrant pas de réelles chances de grossesse évolutive. L'arbre décisionnel permettant de faire le tri entre les embryons utiles (transférables ou congelables) et les embryons non retenus est illustré en annexe n°2.

## **II-D) Transferts embryonnaires et soutien de phase lutéale**

Les transferts ont eu lieu au stade de blastocystes (J5 ou J6). Le nombre d'embryons à transférer a été décidé au cours d'un staff clinico-biologique à partir des antécédents du couple et de leurs souhaits. Les transferts étaient réalisés sous contrôle échographique à l'aide d'un cathéter souple (Guardia Acces, Cook®) ou d'un cathéter rigide en deux temps (TDT, Laboratoire CCD) au besoin.

Lors des transferts frais, les patientes ont reçu un soutien de phase lutéale qui débutait le jour de la ponction ovocytaire. Lorsque les patientes avaient eu un déclenchement de l'ovulation à l'aide d'HCG (Ovitrelle®), nous avons initié un traitement par de la progestérone par voie vaginale (Utrogestan® 200 mg, 1 capsule matin et soir pendant 20 jours).

Lorsque les patientes avaient eu un déclenchement de l'ovulation à l'aide d'agonistes de la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone, hormone libérant les gonadotrophines), ici le Décapeptyl®, nous réalisons une congélation embryonnaire.

En cas de transfert d'embryons congelés, les patientes recevaient préalablement un traitement hormonal pour préparer l'endomètre. Les patientes recevaient dès le début d'un nouveau cycle des œstrogènes par voie orale (Provames® 1 comprimé de 2 mg matin, midi et soir).

Ensuite, après contrôle échographique de l'endomètre en milieu de cycle, de la progestérone par voie vaginale était ajoutée (Utrogestan® 200mg, 2 capsules matin et soir). Le transfert d'embryon congelé était réalisé environ 7 jours après, au stade de blastocyste. Après le transfert embryonnaire, le traitement hormonal devait être poursuivi jusqu'à 12 semaines d'aménorrhées (Provames® 2 comprimés de 2 mg matin et soir et Utrogestan® 200mg, 2 capsules matin et soir).

## **II-E) Modalités d'évaluation des résultats d'assistance médicale à la procréation**

Nous avons premièrement voulu évaluer l'impact d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement sur la qualité embryonnaire. Pour cela, nous avons constitué 3 groupes de qualité embryonnaire qui rassemblent l'ensemble des embryons jugés utiles (transférables ou congelables) :

-Le groupe « Meilleure qualité » dont le code court correspondait à un embryon classé B (de 3 à 6) AA.

-Le groupe « Bonne qualité » contenait les embryons dont le code court correspondait à B(3 à 6)AB, B(3 à 6)BA ou B2.

-Le groupe « Qualité intermédiaire » contenait les embryons dont le code court correspondait à B(3 à 6)BB, B(3 à 6)AC, B(3 à 6)CA, B1, B(3 à 6)CB ou B(3 à 6)BC.

Les paramètres morphocinétiques des embryons cultivés dans l'Embryoscope® étaient récupérés.

Un des objectifs secondaires était d'étudier l'impact de la progestéronémie élevée sur les issues des cycles d'AMP. Un dosage de bHCG plasmatique a été réalisé environ 11 jours après le transfert embryonnaire. Un test inférieur à 5 UI/l de bHCG était négatif. Au-delà, le test était répété toutes les 48h. Un test de grossesse était considéré comme positif pour les valeurs de bHCG supérieures à 100 UI/l. Tout test n'atteignant pas, au cours de son suivi 100 UI/l de bHCG fût considéré comme négatif. Lorsque le test était supérieur à 1000 UI/l de bHCG, un rendez-vous pour une échographie précoce a été proposé aux patientes.

La grossesse fût ensuite confirmée au cours d'une échographie précoce par la visualisation d'un sac gestationnel entre 6 et 7 semaines d'aménorrhée

Nous avons également observé le nombre d'enfants nés vivants, ainsi que le nombre de fausses couches spontanées précoces. Les fausses couches définies comme précoces étaient celles survenant avant 12 semaines d'aménorrhées.

Le taux cumulé d'enfants nés vivants fût employé dans cette étude. Il correspond au cumul de toutes les issues de grossesses qui permettent l'obtention d'au moins une naissance vivante suite à l'ensemble des transferts d'embryons (frais ou congelés) d'une même ponction ovocytaire. Si au moins une naissance vivante était obtenue, on considérait le cycle ponction et ses transferts associés comme positif avec la même valeur quelque soit le nombre d'enfants nés vivants obtenu. Si aucune naissance vivante n'était objectivée, on considérait le cycle ponction et ses transferts associés comme négatif.

## **II-F) Dosage de la progestéronémie.**

Le dosage de la progestéronémie a été effectué régulièrement au cours de la stimulation et principalement le jour du déclenchement de l'ovulation. Ses résultats sont exprimés en ng/ml.

La prise de sang a été réalisée le matin, en même temps que les échographies de monitoring de la stimulation, entre 7h30 et 10h. Les techniques de mesure étaient les mêmes sur les deux centres et reposent sur les techniques d'électrochimiluminescence automatisées (Elecsys assay, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland).

Les données issues de nos deux centres représentaient l'essentiel des données de progestéronémie au jour du déclenchement de notre étude. Cependant, quelques patientes ont eu ce dosage réalisé dans des laboratoires extérieurs du fait d'une impossibilité pour elles de se rendre au CHU ou à Procréalis le jour du déclenchement.

## **II-G) Statistiques**

L'essentiel des résultats présentés dans cette étude a été réalisé en analyses univariées, avec l'emploi du logiciel Excel pour la réalisation des test statistiques standards (Chi-2 ou test exact de Fisher pour les données non quantitatives et test t de Student pour les données quantitatives). Une valeur de  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative. Les données multivariées et leurs illustrations graphiques ont été générées à l'aide du logiciel R®.

### III) Résultats

#### III-A) Caractéristiques de la population d'étude.

Un total de 1550 patientes ont pu être incluses. Elles ont été réparties en deux groupes selon le seuil de progestéronémie à 1.3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation. Les caractéristiques de la population sont présentées dans le tableau n°1.

**Tableau n°1 : Caractéristiques de la population**

	Population générale (n=1550)	Population Pg < 1,3 ng/ml (n=1335)	Population Pg ≥ 1,3 ng/ml (n=215)	p
<b>Caractéristiques physiques</b>				
<i>Age</i>	33,64 ± 0,24	33,72 ± 0,26	33,12 ± 0,68	NS
<i>Indice de masse corporel</i>	24,7 ± 0,76	24,92 ± 0,83	23,37 ± 1,75	≤ 0,01
<b>Tabagisme féminin</b>				
<i>Actif (%)</i>	258 (16,65)	211 (15,8)	47 (21,86)	0,03
<i>Ex-fumeuse (%)</i>	328 (21,1)	287 (21,5)	40 (18,6)	NS
<i>Tabagisme actif (cigarettes/jour)</i>	7,07 ± 0,52	7,02 ± 0,27	7,31 ± 1,25	NS
<b>Tabagisme masculin</b>				
<i>Actif (%)</i>	427 (27,5)	368 (27,57)	59 (27,44)	NS
<i>Ex-fumeur (%)</i>	19 (1,23)	18 (1,35)	1 (0,47)	
<i>Tabagisme actif (cigarettes/jour)</i>	10,7 ± 0,68	10,79 ± 0,39	10,49 ± 1,65	
<b>Evaluation réserve ovarienne</b>				
<i>CFA</i>	19,94 ± 0,73	20,09 ± 0,79	18,97 ± 1,96	NS
<i>AMH (ng/ml)</i>	3,12 ± 0,16	3,18 ± 0,17	2,79 ± 0,44	
<b>Type infertilité féminine</b>				
<i>Primaire (%)</i>	788 (50,87)	666 (49,93)	122 (56,74)	NS
<i>Secondaire (%)</i>	220 (34,93)	185 (36,21)	35 (26,98)	0,01
<i>Primo-secondaire (%)</i>	541 (41,2)	483 (38,87)	58 (28,28)	NS
<b>Mécanisme sous jacent évoqué</b>				
<i>Dysovulatoire idiopathique(%)</i>	207 (13,35)	170 (12,7)	37 (17,05)	NS
<i>Hypothalamique et/ou hypophysaire(%)</i>	7 (0,45)	7 (0,52)	0 (0)	0,03
<i>Insuffisance ovarienne(%)</i>	246 (15,87)	212 (15,91)	34 (16,13)	NS
<i>Micropolykystique symptomatique(%)</i>	372 (24)	335 (25,09)	37 (17,05)	0,01
<i>Aucun de ces mécanismes(%)</i>	718 (46,32)	611 (45,78)	107 (49,76)	NS

Tableau 1: Caractéristiques de la population totale et celles des groupes avec progestéronémie < 1,3ng/ml et progestéronémie ≥1,3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation.

Les données sont présentées sous forme de moyennes ± écarts types ou de nombres (pourcentages). Pg : Progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation, NS : Non significatif

Les patientes avec une progestéronémie supérieure ou égale à 1.3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation ont présenté un IMC (indice de masse corporel) plus faible ( $p \leq 0,01$ ), avec une proportion de tabagisme actif plus importante ( $p = 0,03$ ). Une infertilité en rapport avec des ovaires micropolykystiques était plus souvent retrouvé dans le groupe avec un progestéronémie strictement inférieure à 1,3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation. En dehors de ces résultats, nous n'avons pas observé d'autres différences significatives pertinentes quant aux caractéristiques de base de nos patientes.

### III-B) Caractéristiques de la stimulation hormonale.

Les caractéristiques de la stimulation hormonale sont présentées dans le tableau n°2.

Tableau n°2 : Caractéristiques de la stimulation hormonale				
	Population générale (n=1550)	Population Pg < 1,3 ng/ml (n=1335)	Population Pg ≥ 1,3 ng/ml (n=215)	p
<b>Bilan hormonal basal</b>				
<i>FSH ( mUI/ml)</i>	6,96 ± 0,14	6,95 ± 0,14	6,97 ± 0,29	NS
<i>Prolactinémie (ng/ml)</i>	14,76 ± 0,47	14,71 ± 0,48	15,06 ± 1,36	NS
<i>Testostéronémie (nmol/ml)</i>	0,39 ± 0,06	0,39 ± 0,04	0,69 ± 0,04	≤ 0,01
<b>Type AMP(%)</b>				
<i>ICSI</i>	712 (45,94)	621 (46,52)	91 (42,33)	NS
<i>FIV</i>	838 (54,06)	714 (53,48)	124 (57,67)	
<b>Stimulation par gonadotrophines</b>				
<i>Dose initiale ( UI )</i>	261,57 ± 3,84	259,63 ± 4,22	273,6 ± 9,16	0,01
<i>Dose totale ( UI )</i>	2495,02 ± 47,8	2472,96 ± 51,97	2631,98 ± 124,52	0,02
<i>Durée ( jours )</i>	10,55 ± 0,07	10,53 ± 0,07	10,67 ± 0,2	NS
<b>Bilan hormonal pré-stimulation hormonale</b>				
<i>LH sanguin (mUI/ml)</i>	7,28 ± 0,36	6,31 ± 0,24	9,86 ± 1,4	NS
<i>Œstradiolémie (pg/ml)</i>	145,36 ± 5,86	143,67 ± 5,36	157 ± 17,55	NS
<i>Progestéronémie (ng/ml)</i>	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,01
<b>Bilan hormonal du jour du déclenchement</b>				
<i>LH sanguin (mUI/ml)</i>	1,66 ± 0,10	1,6 ± 0,09	1,98 ± 0,43	0,01
<i>Œstradiolémie (pg/ml)</i>	2461,73 ± 64,86	2385,12 ± 67,65	2942,35 ± 198,77	≤ 0,01
<i>Progestéronémie (ng/ml)</i>	0,83 ± 0,03	0,68 ± 0,02	1,75 ± 0,10	≤ 0,01
<b>Variation progestéronémie en cours de stimulation<sup>1</sup></b>				
<i>Variation progestéronémie (ng/ml)</i>	0,58 ± 0,03	0,45 ± 0,02	1,51 ± 0,13	≤ 0,01
<b>Echographie du jour du déclenchement</b>				
<i>Nombre de follicules ≥ 11mm</i>	14,56 ± 0,41	14,26 ± 0,37	16,44 ± 1,29	≤ 0,01
<i>Nombre de follicules ≥ 14mm</i>	10,17 ± 0,26	9,98 ± 0,24	11,34 ± 0,82	≤ 0,01
<i>Nombre de follicules ≥ 17mm</i>	4,96 ± 0,14	4,93 ± 0,13	5,23 ± 0,39	NS
<i>Patientes à risque d'hyperstimulation<sup>2</sup> (%)</i>	343 (22,13)	281 (21,05)	62 (28,84)	0,05*

Tableau 2: Caractéristiques de la stimulation hormonale de la population totale et celles des groupes avec progestéronémie < 1,3ng/ml et progestéronémie ≥1,3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation.

Les données sont présentées sous forme de moyennes ± écarts types ou de nombres (pourcentages). NS : Non significatif.

<sup>1</sup> Différence entre la progestéronémie du jour du déclenchement de l'ovulation et la progestéronémie du jour du bilan de base : valeur de la hausse de progestéronémie en cours de stimulation,

<sup>2</sup> Risque échographique d'hyperstimulation ovarienne : plus de 18 follicules ≥ 11mm sur l'échographie du jour du déclenchement de l'ovulation, \* p=0,046, CFA : Compte des follicules antraux.

FIV : fécondation in vitro, AMH : hormone anti-müllérienne, ICSI : micro-injection spermatique intracytoplasmique, LH: hormone lutéinisante, Pg : Progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation.

La testostéronémie dosée lors du bilan basal des patientes, en dehors de toute stimulation hormonale, fût plus élevée dans le groupe qui présente une progestéronémie supérieure ou égale à 1.3 ng/ml le jour du déclenchement ( $p \leq 0.01$ ).

L'administration des gonadotrophines nécessaire à l'hyperstimulation ovarienne contrôlée a été plus importante dans le groupe qui présente une progestéronémie supérieure à 1.3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation. Cela se traduit par des doses de gonadotrophines initiales et totales plus élevées ( $p=0,01$  et  $p=0.02$  respectivement).

La variation de la progestéronémie pendant la durée de l'hyperstimulation ovarienne contrôlée était significativement plus importante dans le groupe avec progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation ( $p \leq 0.01$ ).

Les patientes avec une progestéronémie supérieure ou égale à 1,3 ng/ml le jour du déclenchement ont présenté plus de follicules en échographie le jour du déclenchement de l'ovulation (+2,18 follicules  $\geq$  11mm en moyenne,  $p \leq 0,01$ ). Ce nombre de follicules plus important était accompagné d'un dosage œstrogénique plus élevé le jour du déclenchement de l'ovulation ( $p \leq 0,01$ ).

### III-C) Ponction ovocytaire et qualité embryonnaire

Les éléments quantitatifs et qualitatifs des cycles de FIV ou ICSI selon la progestéronémie du jour du déclenchement de l'ovulation ( $<1,3$  ng/ml ou  $\geq 1,3$  ng/ml) sont présentés dans le tableau n°3.

**Tableau n°3 : Ponction ovocytaire et qualité embryonnaire**

	Population générale (n=1550)	Population Pg < 1,3 ng/ml (n=1335)	Population Pg $\geq$ 1,3 ng/ml (n=215)	p
<b>Ovocytes</b>				
<i>Nombre d'ovocytes recueillis</i>	12,79 $\pm$ (0,37)	12,42 $\pm$ (0,38)	15,14 $\pm$ (1,12)	$\leq 0,01$
<i>Nombre d'ovocytes matures</i>	10,46 $\pm$ (0,35)	10,35 $\pm$ (0,38)	11,15 $\pm$ (0,89)	NS
<i>Nombre d'ovocytes fécondés</i> <sup>1</sup>	6,18 $\pm$ (0,23)	5,99 $\pm$ (0,25)	7,38 $\pm$ (0,72)	$\leq 0,01$
<i>Taux de fécondation ovocytaire (%)</i>	56,66 $\pm$ (1,28)	56,71 $\pm$ (1,39)	57,14 $\pm$ (3,39)	NS
<b>Embryons</b>				
<i>Nombre d'embryons en culture prolongée</i> <sup>2</sup>	5,22 $\pm$ (0,21)	5,11 $\pm$ (0,23)	5,89 $\pm$ (0,65)	0,01
<i>Nombre de blastocystes obtenus</i>	3,29 $\pm$ (0,16)	3,18 $\pm$ (0,17)	3,98 $\pm$ (0,53)	$\leq 0,01$
<i>Nombre de blastocystes utiles</i> <sup>3</sup>	2,29 $\pm$ (0,12)	2,24 $\pm$ (0,12)	2,60 $\pm$ (0,36)	0,04
<b>Qualité des embryons utiles au stade blastocyste</b> <sup>4</sup>				NS
<i>Meilleure qualité (%)</i>	821 (30,01)	671 (29,33)	150 (33,56)	
<i>Bonne qualité (%)</i>	1151 (42,08)	963 (42,09)	188 (42,06)	
<i>Qualité intermédiaire (%)</i>	763 (27,90)	654 (28,58)	109 (24,38)	
<b>Culture des ovocytes matures jusqu'au stade blastocyste</b>				NS
<i>Proportion de blastocystes "Meilleure qualité" par ovocyte mature</i> <sup>5</sup>	0,06 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02	
<i>Proportion de blastocystes utiles par ovocyte mature</i> <sup>6</sup>	0,24 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,03	

Tableau 3 : Ponction ovocytaire et qualité embryonnaire après fécondation puis culture au laboratoire selon la présence ou l'absence d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation. Les données sont présentées sous forme de moyennes  $\pm$  écarts types ou de nombres (pourcentages), NS : Non significatif.

Pg : Progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation, <sup>1</sup> Ovocytes fécondés : Ovocytes avec 2 pronuclei à J1. <sup>2</sup> Culture embryonnaire prolongée : au-delà de J3, <sup>3</sup> Embryons utiles : embryons transférés ou congelés, <sup>4</sup> Qualité embryonnaire évaluée morphologiquement avec la classification de Gardner puis répartie en 3 groupes : Meilleure qualité ( $\geq$  B3AA), Bonne qualité (B3-6AB, B3-6BA, B2) et Qualité intermédiaire (B3-6BB, B3-6AC, B3-6CA, B1, B3-6CB, B3-6BC). <sup>5</sup> Nombre de blastocystes "Meilleure qualité" divisé par le nombre d'ovocytes matures. <sup>6</sup> Nombre de blastocystes utiles divisé par le nombre d'ovocytes matures. Les critères d'évaluation morphologique de la qualité embryonnaire qui autorisent ou non la congélation et/ou le transfert embryonnaire sont disponibles dans le tableau de l'annexe n°1.

Après la ponction ovocytaire, le groupe associé à une progestéronémie  $\geq 1,3$  ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation présentait plus d'ovocytes ponctionnés ( $p \leq 0,01$ ), ainsi qu'un nombre d'ovocytes fécondés plus important ( $p \leq 0,01$ ).

Les patientes avec progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation ont obtenu un nombre plus important d'embryons mis en culture prolongée, un nombre supérieur de blastocystes et d'avantage de blastocystes utiles par rapport à celles du second groupe de progestéronémie ( $p \leq 0,01$ ,  $p = 0,01$  et  $p = 0,04$  respectivement). Nous n'avons pas observé de différence significative sur les critères d'évaluation morphologique de qualité embryonnaire de blastocystes entre les deux groupes. De même, aucune différence significative concernant les proportions de blastocystes utiles, ou de blastocystes jugés de meilleure qualité, rapportées au nombre d'ovocytes matures n'a pu être observée.

Les résultats présentés dans le tableau n°4 correspondent aux données issues de l'annotation manuelle de la morphocinétique embryonnaire des embryons cultivés dans l'Embryoscope®.

<b>Tableau n°4 : Morphocinétique du développement embryonnaire (Time-lapse)</b>				
	<b>Population générale (n=524)</b>	<b>Progestéronémie &lt; 1,3 ng/ml (n=422)</b>	<b>Progestéronémie ≥ 1,3 ng/ml (n=102)</b>	<b>p</b>
<b>Temps au stade uni-cellulaire =(h)</b>				
<i>tPB2 (Temps d'apparition du 2<sup>e</sup> globule polaire)</i>	3,49 ± 0,22	3,49 ± 0,32	3,48 ± 0,23	NS
<i>tPNa (Temps d'apparition des pro nuclei)</i>	7,12 ± 0,18	7,12 ± 0,24	6,96 ± 0,46	
<i>tPNf (Temps d'effacement des pro nuclei)</i>	24,86 ± 0,32	24,83 ± 0,39	25,07 ± 0,82	
<b>Temps de clivage (h)</b>				
<i>T2 (Temps de clivage pour obtention de 2 cellules)</i>	26,80 ± 0,265	26,83 ± 0,3	26,58 ± 0,68	NS
<i>T3 (Temps de clivage pour obtention de 3 cellules)</i>	37,88 ± 0,37	37,96 ± 0,39	37,72 ± 0,89	
<i>T4 (Temps de clivage pour obtention de 4 cellules)</i>	39,17 ± 0,38	39,29 ± 0,41	39,06 ± 1,04	
<i>T5 (Temps de clivage pour obtention de 5 cellules)</i>	50,41 ± 0,56	50,61 ± 0,6	50,11 ± 1,35	
<i>T6 (Temps de clivage pour obtention de 6 cellules)</i>	53,55 ± 0,61	53,48 ± 0,71	53,45 ± 1,7	
<i>T7 (Temps de clivage pour obtention de 7 cellules)</i>	56,54 ± 0,82	56,04 ± 0,94	56,53 ± 2,29	
<i>T8 (Temps de clivage pour obtention de 8 cellules)</i>	59,96 ± 1,04	59,56 ± 1,33	59,60 ± 2,72	
<i>T9 (Temps de clivage pour obtention de 9 cellules)</i>	70,82 ± 1,38	70,82 ± 1,74	68,83 ± 3,88	
<b>Temps de compaction (h)</b>				
<i>tSC (Temps pour obtention d'un début de compaction)</i>	85,51 ± 2,36	86,44 ± 2,87	78,45 ± 4,96	0,02
<i>tM (Temps pour obtention d'une morula compacte)</i>	94,56 ± 0,91	95,07 ± 1,07	93,93 ± 2,89	NS
<b>Temps blastocytaires (h)</b>				
<i>tSB (Temps pour obtention du début de la blastulation)</i>	101,64 ± 0,93	102,14 ± 1,14	100,56 ± 2,67	NS
<i>tB (Temps pour obtention d'une blastulation complète)</i>	109,67 ± 0,93	110,36 ± 1,08	107,90 ± 2,08	0,04
<i>tEB (Temps pour obtention d'une expansion complète)</i>	112,99 ± 2,89	113,81 ± 4,78	113,91 ± 3,99	NS

Tableau 5 : Morphocinétique du développement embryonnaire (Time-lapse).

*Il présente les données du monitoring morphologique et cinétique du développement embryonnaire. Ces étapes sont individualisées de la fécondation jusqu'au blastocyte complètement expansé. Le tableau permet de comparer la morphocinétique embryonnaire selon la présence ou non d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation. Les données sont présentées sous forme de moyennes ± écarts-types.*

*Les durées sont exprimées en heures(h), Time lapse : technologie qui retrace le développement embryonnaire par la succession de photographies prises à intervalles réguliers de façon automatique, il est réalisé à l'aide de l'Embryoscope® qui est un incubateur doté de cette technologie.*

*Pg : Progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation. NS : Non significatif.*

Nous n'avons pas trouvé de différence significative dans les durées d'obtention des différentes étapes de développement depuis le stade uni-cellulaire jusqu'aux stades de clivage.

Nous avons constaté un début de compaction légèrement plus rapide dans le groupe progestéronémie ≥ 1,3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation (78,45h versus 86,44 h, p=0,02). Aucune différence significative dans le délai nécessaire à l'obtention d'une morula compacte n'a été constatée entre les deux groupes. La durée nécessaire pour obtenir une blastulation complète était plus courte dans le groupe avec une progestéronémie ≥ 1,3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation (p=0,04), par rapport au groupe de patientes avec une progestéronémie plus basse. Les durées nécessaires pour l'expansion complète des blastocytes n'étaient pas significativement différentes.

### III-D) Transferts embryonnaires et issues des cycles d'assistance médicale à la procréation

Les informations concernant l'utilisation ou non des embryons après leur culture en laboratoire, ainsi que les issues de grossesse après transfert embryonnaire sont proposées dans le tableau n°5. Les patientes étaient séparées en deux groupes selon la progestéronémie du jour du déclenchement de l'ovulation (<1,3 ng/ml ou ≥1,3 ng/ml).

Tableau n°5 : Transferts embryonnaires et issues des cycles d'assistance médicale à la procréation.				
	Population générale (n=1550)	Population Pg < 1,3 ng/ml (n=1335)	Population Pg ≥ 1,3 ng/ml (n=215)	p
<b>Stratégie après culture embryonnaire</b>				
Absence d'embryon utile <sup>1</sup> (%)	342 (22,06)	294 (22,02)	48 (22,33)	NS
Congélation embryonnaire et/ou transfert d'embryons frais (%)	1208 (77,94)	1041 (77,98)	167 (77,67)	NS
Transfert d'embryons frais uniquement (%)	408 (26,32)	398 (29,81)	10 (4,65)	≤ 0,01
Congélation embryonnaire totale (%)	330 (21,29)	191 (14,31)	139 (64,65)	≤ 0,01
<b>Stades embryonnaires en transfert d'embryons frais</b>				
Transfert d'embryons frais à J3 (%)	50 (4,55)	46 (4,32)	4 (10,81)	NS
Transfert d'embryons frais à J4 (%)	25 (2,27)	25 (2,35)	0 (0)	
Transfert d'embryons frais à J5 (%)	949 (86,27)	918 (86,28)	31 (83,78)	
Transfert d'embryons frais à J6 (%)	76 (6,91)	74 (6,95)	2 (5,41)	
<b>Stades embryonnaires en transfert d'embryons congelés</b>				
Congélation embryonnaire à J3 (%)	11 (0,45)	10 (0,52)	1 (0,2)	NS
Congélation embryonnaire à J4 (%)	37 (1,51)	34 (1,75)	3 (0,59)	
Congélation embryonnaire à J5 (%)	1864 (76,08)	1470 (75,77)	394 (77,25)	
Congélation embryonnaire à J6 (%)	538 (21,96)	426 (21,96)	112 (21,96)	
<b>Issues de cycle stimulation-ponction-transferts</b>				
Taux cumulés d'enfants nés vivants <sup>2</sup> (%)	345 (27,73)	302 (28,7)	43 (23,1)	NS
Taux de grossesse après un transfert d'embryon frais <sup>3</sup> (%)	292 (33,26)	286 (33,65)	6 (21,43)	
Taux d'enfants nés vivants après un transfert d'embryons frais (%)	231 (26,31)	227 (26,71)	4 (14,29)	
Taux de fausse couche spontanée après un transfert d'embryons frais (%)	55 (6,27)	53 (6,24)	2 (7,14)	
Tableau 4 : Transferts embryonnaires et issues des cycles d'AMP selon la présence ou l'absence d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation.				
Les données sont présentées sous forme de moyennes ± écarts types ou de nombres (pourcentages). <sup>1</sup> Embryons utiles : embryons transférés ou congelés, <sup>2</sup> Proportion de cycle ponction + transferts frais et/ou congelés consécutifs à la même ponction ovocytaire ayant donné au moins une naissance vivante au moment du recueil des données, <sup>3</sup> Une grossesse est définie par l'obtention d'un taux de bHCG supérieur à 100 UI/L après un transfert embryonnaire. AMP : Assistance médicale à la procréation, Pg : Progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation, NS : Non significatif.				
Un cycle d'AMP correspond à la ponction ovocytaire et à l'ensemble des transferts embryonnaires qui lui sont associés (frais et congelés). Les critères d'évaluation morphologique de la qualité embryonnaire qui autorisent ou non la congélation et/ou le transfert embryonnaire sont disponibles dans le tableau de l'annexe n°1.				

Entre ces deux groupes, aucune différence significative n'a été observée dans les proportions de patientes n'ayant pas obtenu d'embryons utiles, ou au contraire dans les proportions de patientes ayant au moins eu un embryon congelé ou transféré.

Nous avons noté une proportion plus importante de patientes ayant uniquement bénéficié de transferts frais dans le groupe avec progestéronémie <1,3 ng/ml ( $p \leq 0,01$ ), et une proportion plus importante de congélation embryonnaire totale dans le groupe avec progestéronémie  $\geq 1,3$  ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation ( $p \leq 0,01$ ).

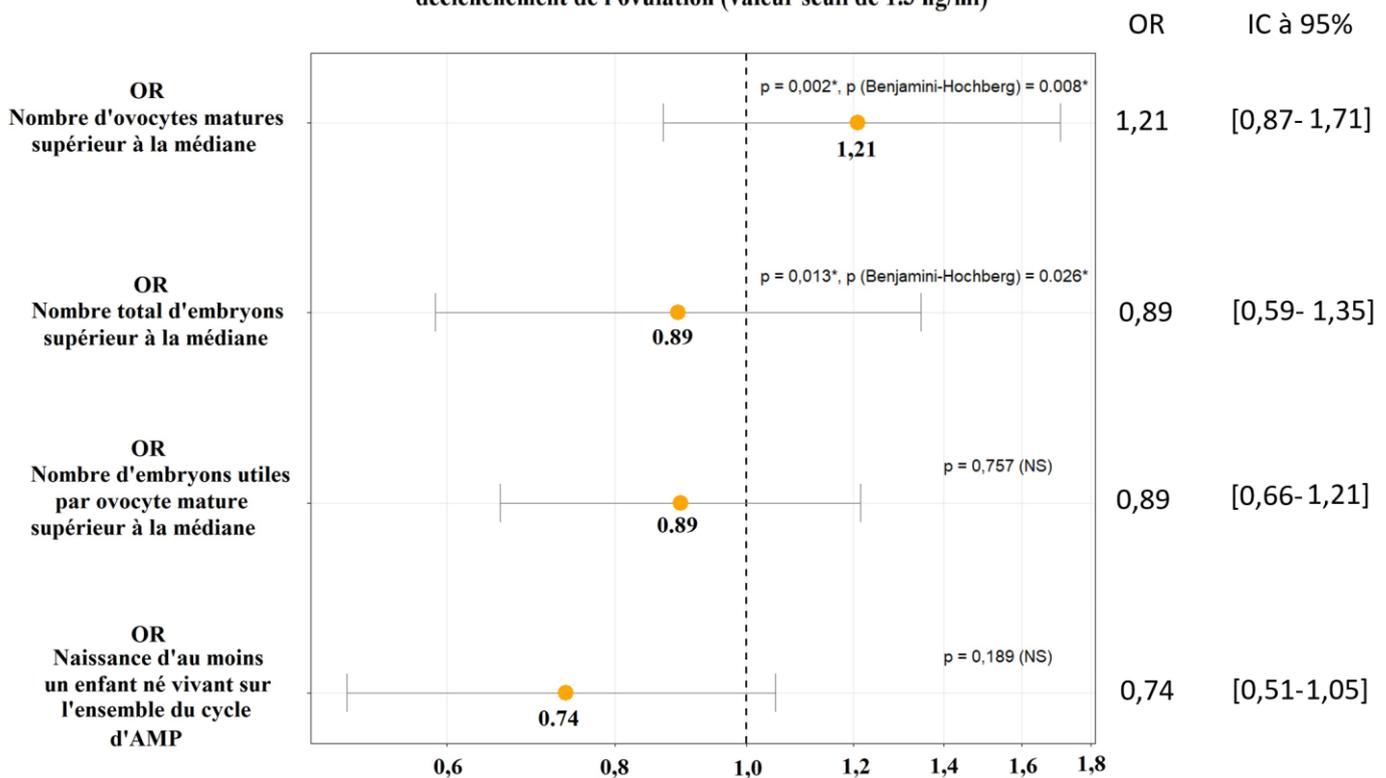
En transfert embryonnaire frais, aucune différence significative n'a été mise en évidence sur les taux de grossesse ou fausse-couche. Enfin, le taux cumulé d'enfants nés vivants après le cycle d'AMP n'a pas été significativement différent entre les deux groupes de progestéronémie.

### III-E) Association entre progestéronémie et résultats d'assistance médicale à la procréation

Les résultats du modèle non ajusté illustrant l'association entre l'élévation prématurée de la progestéronémie et les résultats d'assistance médicale à la procréation (Odd-ratios non ajustés) sont présentés dans la figure n°1.

Figure n°1

Odd-ratios non ajustés des résultats d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) en fonction de la progestéronémie au déclenchement de l'ovulation (valeur seuil de 1.3 ng/ml)



p (Benjamini-Hochberg) : degré de signification ajusté pour les comparaisons multiples. Il est calculé si p est significatif avant ajustement. Les Odd-ratios sont présentés sous la forme d'un graphique en forêt (« Forest plot »). IC : intervalle de confiance. OR : Odd-ratio, NS : non-significatif, AMP : Assistance Médicale à la procréation, p : degré de signification non ajusté pour les comparaisons multiples. Les valeurs de non ajustées sont au seuil de 0,05. L'ajustement par Benjamini-Hochberg correspond au niveau de risque, mais ajusté du fait des comparaisons multiples. Les OR et IC sont représentés sur une échelle logarithmique.

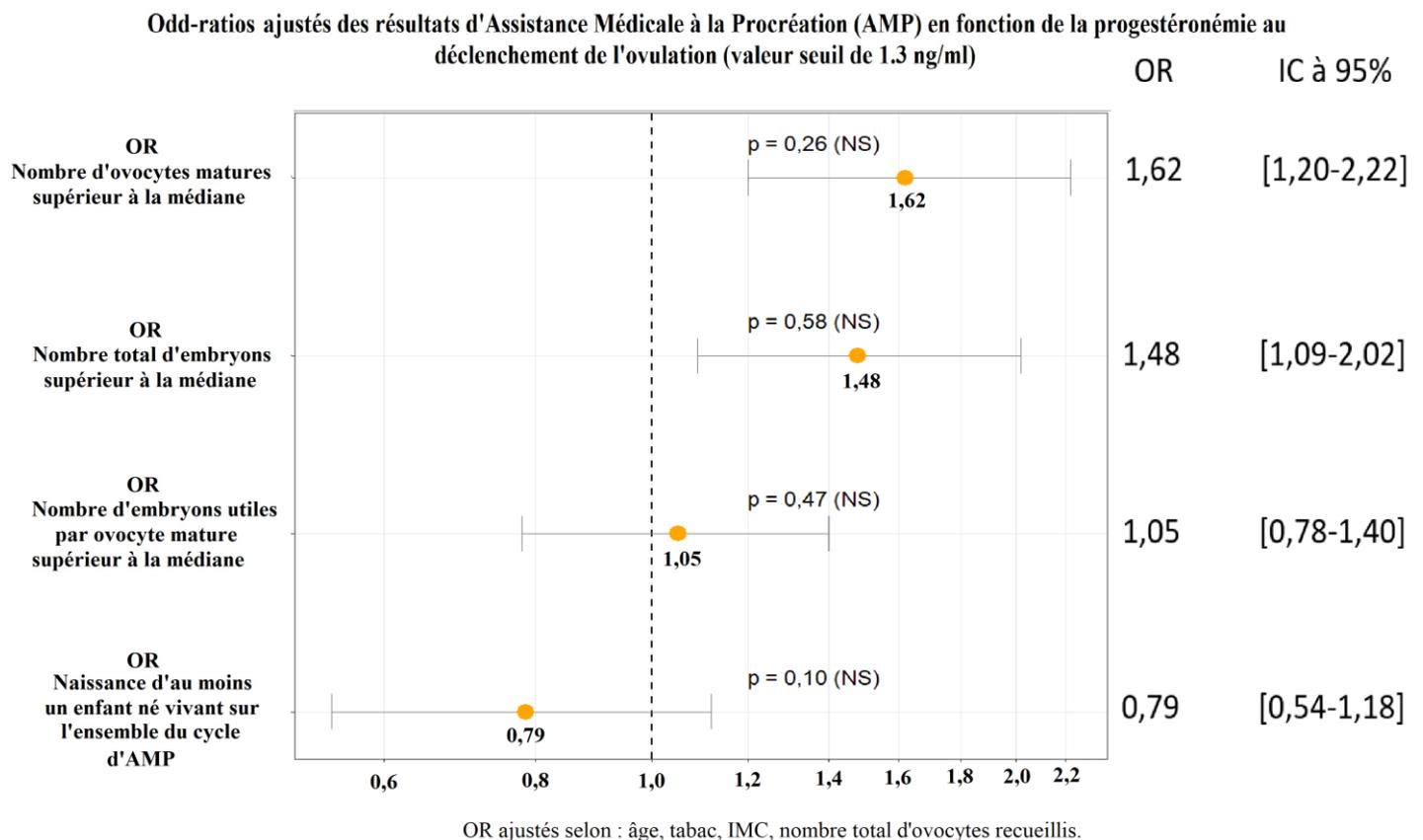
Les OR (Odd-ratios) non ajustés n'ont pas rapporté d'associations significatives entre un nombre d'ovocytes matures supérieur à la médiane, ou un nombre total d'embryons obtenus supérieur à la médiane, avec la présence d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation. En effet, bien que les OR étaient statistiquement significatifs avec une valeur de p ajustée pour les comparaisons multiples inférieure à 0,05, les IC (Intervalles de confiance) comprenaient la valeur de 1. Leurs valeurs respectives étaient de 1,21 [0,87-1,71] et de 0,89 [0,59-1,35].

Les OR non ajustés qui ont étudié l'association entre une progestéronémie élevée et un ratio du nombre d'embryons utiles obtenus par ovocyte mature supérieur à la médiane, ou une

association entre une progestéronémie élevée et les taux cumulatifs d'enfants nés vivants n'ont pas rapporté de résultats statistiquement significatifs et leurs IC comprenaient la valeur de 1. Leurs valeurs respectives étaient de 0,89 [0,66-1,21] et de 0,74 [0,51-1,05].

Les résultats du modèle ajusté illustrant l'association entre l'élévation prématurée de la progestéronémie et les résultats d'assistance médicale à la procréation (Odd-ratios non ajustés) sont présentés dans la figure n°2.

**Figure n°2**



OR : Odd-ratio, NS : non-significatif, AMP : Assistance Médicale à la procréation, IC : intervalle de confiance à 95%, p : degré de signification. Les valeurs de p utilisées ici au seuil de 0,05 pour juger la significativité des résultats n'ont pas été ajustées car non significatives avant ajustement. Les Odd-ratios sont présentés sous la forme d'un graphique en forêt (« Forest plot »). Les OR et IC sont représentés sur une échelle logarithmique.

L'âge, l'indice de masse corporelle, la présence d'un tabagisme actif féminin ainsi que le nombre total d'ovocytes recueillis ont constitué les variables d'ajustement. Les OR ajustés qui ont étudié l'association entre une progestéronémie élevée et un ratio du nombre d'embryons utiles obtenus par ovocyte mature supérieur à la médiane ou ceux étudiant l'association entre une progestéronémie élevée et un taux cumulatif d'enfants nés vivants n'ont pas rapporté de résultats statistiquement significatifs et leurs IC comprenaient la valeur de 1. Leurs valeurs respectives étaient de 1,05 [0,78-1,40] et de 0,79 [0,54-1,18].

Les OR (Odd-ratios) ajustés qui ont étudié les associations entre un nombre d'ovocytes matures supérieur à la médiane, ou un nombre total d'embryons obtenus supérieur à la médiane, avec la présence d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation ont été supérieurs à 1 (OR à 1,62 [1,20-2,22] et 1,48 [1,09-2,02]). Néanmoins, ces résultats n'ont pas été statistiquement significatifs ( $p=0,26$  et  $p=0,58$ ).

## **IV) Discussion**

### **IV-A) Résultats principaux de l'étude et concordance avec la littérature**

Cette étude n'a pas montré d'impact d'une progestéronémie supérieure à 1,3 ng/ml sur la qualité embryonnaire. En effet, l'étude du rendement embryonnaire au stade blastocyte (le taux de blastocystes utiles obtenus en fonction du nombre d'ovocytes matures), l'appréciation de leur morphologie avec l'emploi de la classification de Gardner, de leur mophocinétique en time-lapse n'ont rapporté aucune différence significative entre les 2 groupes. Il en de même pour le potentiel de grossesse issu de ces embryons. Les taux de grossesses (au seuil de bHCG  $\geq 100$  UI/l) et les taux d'enfants nés vivants cumulés ne semblent pas indiquer d'impact de la progestéronémie élevée le jour du déclenchement sur la qualité embryonnaire. Même si les données de la littérature restent discordantes (51), notre étude est en accord avec la récente étude de Racca et al (44) qui en 2020 ne retrouvait pas de différence de taux cumulés de naissances vivantes en cas de progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation, dans le cadre de don d'ovocytes.

Nous avons retrouvé dans cette étude une plus grande proportion de tabagisme actif féminin dans le groupe avec progestéronémie élevée. La toxicité du tabagisme sur la fertilité et le développement embryonnaire (52,53) est décrite dans la littérature. Cependant, en données uni-variées, nous n'avons pas pu conclure dans notre étude sur l'incidence de ce tabagisme sur la qualité embryonnaire. Le tabagisme pourrait également introduire un biais en élevant les niveaux de progestéronémie des patientes. Sur ce point, la littérature est discordante(54).

Nous avons pu ensuite établir un modèle multivarié de régression logistique. Ce modèle incluait l'âge et le tabac (dont les valeurs étaient légèrement différentes entre les deux groupes) ainsi que l'indice de masse corporelle et le nombre total d'ovocytes recueillis. Les Odds-ratios ajustés n'ont pas retrouvé d'association préférentielle significative d'un point de vue statistique, entre une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation et les principaux résultats d'assistance médicale à la procréation.

Baldini et al en 2018, en proposant uniquement des transferts d'embryons congelés sur des cycles ultérieurs à celui de la ponction ovocytaire, ces derniers n'ont pas retrouvé d'impact de la progestéronémie élevée le jour du déclenchement sur les résultats d'AMP ou sur la qualité embryonnaire(55). La littérature suggère qu'il ne semble pas y avoir plus de fausses couches spontanées (56) ou d'aneuploïdies (57) en cas de progestéronémie élevée le jour du déclenchement.

Les résultats discordants dans la littérature pourraient être expliqués par des seuils étudiés différents et/ou par un impact différentiel des mêmes valeurs sériques de progestéronémie

sériques au jour du déclenchement de l'ovulation en fonction du type de réponse ovocytaire (58). Ces derniers proposent d'autres modalités d'appréciation de la progestéronémie en fin de stimulation ovarienne préalable à la ponction ovocytaire avec l'emploi d'index (59).

La progestéronémie est alors appréciée avec d'autres variables : concentrations d'œstradiol, réponse folliculaire, comparaison avec la progestéronémie en début de stimulation etc. A titre exploratoire, nous avons noté les résultats obtenus avec ces nouveaux outils d'appréciation de la progestéronémie sur notre population. Ces résultats sont proposés en annexe n°3, ils sont cependant peu interprétables, du fait de leur génération à posteriori par rapport au design de l'étude.

#### **IV-B) Applicabilité et résultats secondaires de l'étude**

Notre étude a partagé les difficultés inhérentes aux travaux relatifs à la progestéronémie en cours de stimulation hormonale en vue d'une FIV. Par exemple, la valeur seuil de progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation, choisie ici à 1,3 ng/ml, n'est pas adoptée par tous. Il est possible que ce seuil ait été trop bas et qu'il ne permettait pas de mettre en évidence de différence de qualité embryonnaire.

Cette valeur seuil de progestéronémie de 1.3 ng/ml pour l'étude de la compétence embryonnaire correspondait à notre limite de dosage progestéronémie au-delà de laquelle nous adoptions une stratégie de congélation embryonnaire totale. Notre dosage matinal de la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation était imparfait. En effet, la progestéronémie diminue entre le matin et le soir. Cependant, nos dosages étaient effectués sur une plage horaire restreinte en pratique, entre 7h30 et 10h. Même si, idéalement, toutes les patientes devraient bénéficier du dosage à la même heure, notre pratique quotidienne était celle de la grande majorité des centres d'AMP.

Enfin, les résultats que nous avons proposé en plus d'être cohérents, étaient rassurants concernant notre politique actuelle de congélation totale dans notre centre d'assistance médicale à la procréation. En effet, nous avons estimé qu'avec notre seuil à 1,3 ng/ml, nos choix n'étaient pas préjudiciables sur la réceptivité endométriale en appliquant notre politique de congélation totale en cas de progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation. Les embryons congelés furent alors transférés sur un cycle ultérieur. Nos résultats ne semblaient pas suggérer la présence d'un impact négatif sur la qualité embryonnaire de la progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation. Cela s'est traduit par des taux cumulés d'enfants nés vivants qui n'étaient pas significativement différents dans les deux groupes de progestéronémie.

#### IV-C) Forces et limites de l'étude

Le caractère rétrospectif de cette étude observationnelle représentait une des limites de l'étude. Le recrutement des patientes a été effectué sur deux centres d'assistance médicale à la procréation (CHU de Nantes et Centre Procréalis en Vendée) de Loire Atlantique, notre recrutement était important, avec 1550 patientes incluses. Les deux centres partageaient la même technique de dosage de la progestéronémie et présentaient des pratiques similaires en termes de prise en charge clinique des patientes.

Les modalités de stimulation hormonale, de culture embryonnaire, et de transferts embryonnaires étaient également identiques. Le choix d'une valeur seuil de progestéronémie à 1.3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation était centre-dépendant et les résultats proposés peuvent ne pas être applicables dans des centres qui ont l'habitude de travailler avec d'autres valeurs seuils de progestéronémie. Le seuil de 1.5 ng/ml par exemple est beaucoup utilisé(43).

La différence de stratégie de transfert dans les deux groupes n'entraîne pas en compte dans l'analyse de notre critère de jugement principal. Le rendement blastocytaire de la prise en charge fût apprécié avant les transferts embryonnaires. Pour rappel, une stratégie de congélation totale était le plus souvent proposée dans le groupe avec progestéronémie  $\geq 1.3$  ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation, tandis que dans le groupe avec une progestéronémie jugée normale, le transfert frais d'embryons était autorisé. Cette différence de stratégie pouvait compliquer l'analyse des issues de cycles, c'est pourquoi nous avons proposé d'observer les taux cumulatifs d'enfants nés vivants. Une des forces de notre étude a été justement de proposer ces taux cumulatifs d'enfants nés vivants. Il s'agissait de regarder le nombre de cycles composé d'une ponction ovocytaire et tous les transferts embryonnaires qui y étaient rattachés, afin de rechercher si au moins une naissance vivante avait pu être obtenue. Ces informations ont été récupérées manuellement, ponction par ponction en août 2020. Ce taux présentait deux limites : une ou plusieurs naissances vivantes étaient comptabilisées de la même façon, et certains embryons congelés n'avaient pas encore été pu être transférés en août 2020.

Le taux cumulé d'enfants nés vivants présentait l'avantage de pouvoir comparer les potentiels de naissance des embryons issus de la ponction, et ce quel que soit la stratégie de transfert embryonnaire (frais ou congelé). Nos deux groupes étaient très différents sur ce point, et c'était un vrai avantage pour l'interprétation des résultats que d'avoir cette donnée. La seconde force de ce critère était sa pertinence clinique : combien de couples ont obtenu un enfant né vivant, au décours d'un cycle associant la ponction ovocytaire et ses transferts d'embryons.

Nous avons beaucoup plus de transferts frais à analyser dans le groupe avec progestéronémie  $< 1.3$  ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation. De façon attendue, probablement en raison de la maturation prématurée de l'endomètre, dans le groupe avec progestéronémie  $\geq 1.3$  ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation, les transferts frais semblaient offrir moins de chance de grossesse que les transferts congelés (33.7% vs 21.4%). La différence n'a pas été significative ( $p=0.18$ ), probablement du fait du faible effectif.

Néanmoins, le rôle de l'endomètre pouvait être un facteur de confusion dans l'appréciation de la compétence embryonnaire à obtenir une grossesse dans les rares transferts frais effectués malgré une progestéronémie  $\geq 1.3$  ng/ml.

Tous les embryons n'ont pas pu être observés en Time-lapse, faute de place dans l'incubateur Embryoscope®, cependant, cette non-inclusion dans l'analyse de la morphocinétique ne devrait pas logiquement se faire préférentiellement dans un groupe donné, par rapport à l'autre. Les embryons étaient alors observés en culture classique. Les données proposées dans cette étude issues de l'embryoscope constituaient également un atout supplémentaire dans l'appréciation de la qualité embryonnaire.

Nous n'avons pas étudié le devenir des blastocystes issus des dons d'ovocytes en fonction de la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation. Pourtant, nous comprenons bien l'intérêt de ce modèle, où l'on ne devrait pas retrouver de maturations prématurées de l'endomètre. L'endomètre candidat à l'implantation embryonnaire est celui de la patiente qui reçoit l'embryon issu du don d'ovocytes.

On peut alors rechercher un éventuel impact de la progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation dans le cadre du transfert frais chez la receveuse, ce qui n'est pas réalisable dans notre étude. Le don d'ovocytes était un critère d'exclusion des patientes.

Du fait de la congélation embryonnaire importante dans le groupe avec progestéronémie  $\geq 1.3$  ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation, nous avons peu d'informations sur la proportion de fausses couche précoces dans ce groupe (seulement 13% de transfert frais dans ce groupe, contre 63.7% dans le groupe avec progestéronémie normale le jour du déclenchement de l'ovulation). En effet, nous n'avons pas recherché spécifiquement, à distance du moment de l'inclusion des patientes, le nombre de fausses couches spontanées précoces issues des embryons congelés d'une même ponction ovocytaire.

#### **IV-D) Hypothèses physiopathologiques**

L'action d'une hausse prématurée avant l'ovulation de la progestéronémie sur l'endomètre est bien documentée, avec une avance de maturation endométriale (27). Cette dernière est à l'origine d'une baisse des taux d'implantation embryonnaire (60). L'hypothèse la plus souvent évoquée est l'asynchronisme entre l'embryon et l'endomètre (29). La réponse la plus souvent proposée à cette problématique est une congélation totale embryonnaire, suivie ultérieurement de transfert d'embryons congelés (20). Pour d'autres auteurs, la congélation totale embryonnaire devrait être proposée d'emblée, la fenêtre implantatoire endométriale étant perturbée par la stimulation multi-folliculaire (61).

En revanche, les mécanismes évoqués pour expliquer une potentielle toxicité de la progestéronémie sur le développement embryonnaire sont plus rares. Une explication possible du manque de données physiopathologique sur ces mécanismes est qu'un effet négatif d'une hausse de la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation sur le développement embryonnaire est encore sujet à débat.

Huang et al en 2016 (40) suspectent une moindre formation de blastocystes « top quality » en cas de progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation. Racca et al. en 2018(39) , eux, trouvent au-delà de 1.5 ng/ml de progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation, un taux cumulé d'enfants nés vivant plus faible, de même pour la proportion des embryons utiles (transférés ou congelés) qui est diminuée. À l'inverse Boynukaline et al.(62) ne retrouvent pas, en transferts d'embryons congelés, d'impact de la progestéronémie sur la qualité embryonnaire ou sur les taux de grossesses. De plus, contrairement à leur propre étude de 2018 (39), les mêmes auteurs Racca et al. (44), en 2020, à l'aide du modèle du don d'ovocytes ne retrouvent pas d'association significative entre une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation et la qualité embryonnaire ou les taux cumulés d'enfants nés vivants.

Zhengao Sun et Al. (63) ont observé en 2018 une moindre qualité ovocytaire en cas de progestéronémie supérieure à 1.5 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation. Ils ont par la suite cherché de potentiels acteurs moléculaires impliqués dans cette moindre qualité ovocytaire, via une approche métabolomique basée sur des dosages effectués au sein du liquide folliculaire.

Ces derniers ont remarqué dans le groupe avec progestéronémie élevée des taux folliculaires plus faibles d'ATP, suggérant des possibles anomalies mitochondriales, comme celles que l'on peut retrouver dans le cytoplasme des ovocytes chez des patientes atteintes d'endométriose (64), une cause majeure d'infertilité féminine (65). Des taux plus faibles de L-carnitine, un anti-oxydant sont aussi retrouvées dans le liquide folliculaire en cas de progestéronémie supérieure à 1.5ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation. Or, en 2019, Wen-Jie Jiang et al.(66) observent à l'aide de modèles bovins que la L-carnitine favorise un bon développement embryonnaire. Zhengao Sun et Al. (63) retrouvent également au-delà de 1,5 ng/ml de progestéronémie des taux folliculaires plus élevés de 8-Hydroxyguanosine (8-OHdG) and 4-hydroxynonenal(4HNE) qui sont des marqueurs de stress oxydatifs (67,68). Ces résultats sont retrouvés sur des ovocytes d'animaux, dont l'étude est plus facile d'accès que le travail sur embryons humains, du fait des raisons éthiques notamment. D'une manière générale, la qualité ovocytaire semble affecter la qualité des futurs embryons (69,70). Ainsi, ces pistes restent intéressantes pour évoquer les possibles mécanismes physiopathologiques d'une éventuelle atteinte de la qualité embryonnaire en cas de progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation.

Hernandez et al.(71), dans leur étude publiée récemment en 2020, n'ont pas retrouvé plus d'aneuploïdies dans les embryons issus d'une stimulation hormonale en vue d'une FIV en cas de progestéronémie supérieure à 2.0 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation, comparé au groupe avec une progestéronémie inférieure à 2.0 ng/ml. Cette étude rétrospective incluait environ 5000 patientes, mais le seuil de progestéronémie à 2.0 ng/ml peut être critiqué car des seuils plus faibles sont souvent préférés (43,51). Une autre étude, de plus faible effectif sur 500 patientes, n'a pas montré pas d'avantage d'aneuploïdies au seuil de 1.5 ng/ml(57).

Il est intéressant de noter que des valeurs trop basses de progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation peuvent également affecter le taux de naissances vivantes après un transfert frais, malgré une supplémentation de progestérone par voie vaginale initiée après l'ovulation(72,73). Ceci est illustré en annexe n°4.

Il existe des stratégies pour diminuer le risque d'obtenir une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation, comme le fait d'éviter les fortes doses de FSH, d'éviter l'ajout de LH exogène, de privilégier les protocoles antagonistes (35,74,75) etc. Cependant, ces stratégies ne sont pas toujours applicables ou efficaces.

En termes de réponse ovocytaire à la stimulation hormonale, une progestéronémie élevée est plus fréquente chez les patientes avec une bonne réponse ovarienne (pour qui on retrouvera plus d'ovocytes après la ponction ovocytaire), tandis que la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation semble plus basse chez les réponses ovariennes plus faibles (76).

On peut s'interroger sur la pertinence clinique d'une unique valeur seuil de progestéronémie. Le risque est alors de sur-évaluer la progestéronémie chez les bonnes répondeuses à la stimulation hormonale et de la sous-évaluer chez les moins bonnes répondeuses à la stimulation hormonale. Les indications de congélation totale et/ou des stratégies de prévention d'une hausse prématurée de la progestéronémie en cours de stimulation pourraient alors être mal évaluées. Il convient de nuancer en rappelant que, si la progestéronémie augmente à des concentrations retrouvées en phase lutéale, son action sur l'endomètre reste tout de même préoccupante, et une congélation totale reste recommandable.

Pour répondre à cette interrogation, il est possible d'apprécier la progestéronémie à l'aide d'un index. Par exemple : l'index correspondant à la progestéronémie (dosée au déclenchement de l'ovulation) rapportée au nombre de follicules  $\geq 14$  mm le jour du déclenchement de l'ovulation (59). La prise en charge des patientes dans les parcours d'assistance médicale à la procréation est déjà en pratique en partie personnalisée. L'adaptation des doses de FSH nécessaires à la stimulation ovarienne selon les caractéristiques des patientes en est un bon exemple. La valeur seuil de progestéronémie au-delà de laquelle une congélation embryonnaire totale est recommandée peut représenter une variable supplémentaire à la personnalisation de la prise en charge.

Enfin, rappelons que la progestérone peut être sécrétée par le corps jaune, mais aussi par les glandes surrénaliennes. Sa sécrétion surrénalienne peut être augmentée dans les blocs enzymatiques (21a, 11b et 17a hydroxylase par exemple) (77). Il faut penser à les dépister en cas de suspicion clinique ou biologique, notamment en cas d'hyperandrogénie.

D'une manière plus générale, on peut également s'interroger sur l'avenir du dosage de la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation. En effet, si l'on se dirige vers une politique de congélation totale systématique, comme peut le laisser présumer certaines publications, et que l'influence de la progestéronémie sur la qualité embryonnaire n'est pas confirmée, on peut s'interroger sur l'intérêt de ce dosage. Cependant, l'absence d'effet de la progestéronémie sur la qualité embryonnaire reste une notion incertaine et la politique de la congélation totale systématique n'est pas consensuelle.

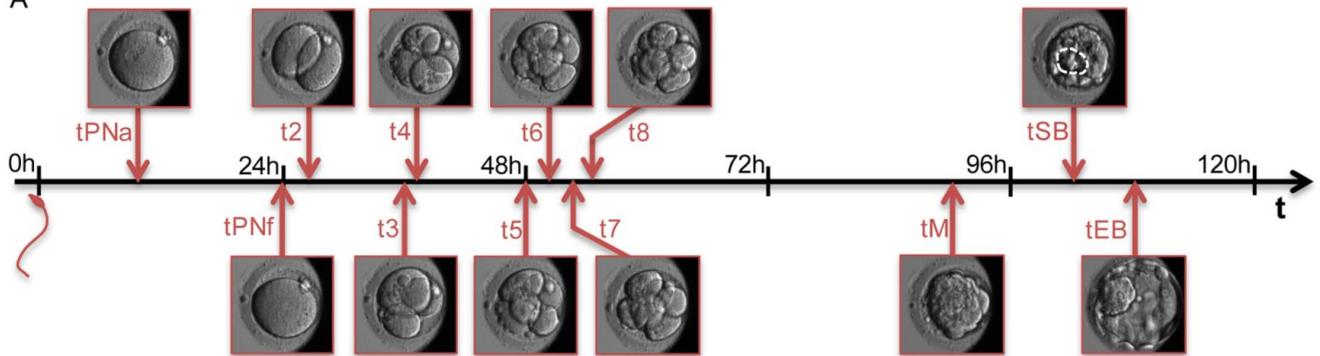
## V) Conclusion

Cette étude n'a pas montré d'impact de la progestéronémie élevée au-delà de 1.3 ng/ml le jour du déclenchement de l'ovulation sur le développement embryonnaire. Le critère de jugement principal était le nombre de blastocystes utiles (transférable ou congelable) obtenus en culture embryonnaire prolongée, rapporté au nombre d'ovocytes matures recueillis après une ponction ovocytaire. Ce travail n'a pas rapporté de différences significatives de qualité morphologique embryonnaire, ou de taux cumulés d'enfants nés vivants entre les deux groupes de progestéronémie. Les données de morphocinétique embryonnaire ne semblaient pas non plus impactées de façon significative par la progestéronémie dosée le jour du déclenchement de l'ovulation.

## Annexes

### Annexe n°1 : Principaux temps observés en morphocinétique embryonnaire (Time-lapse ®)

Figure 1  
A



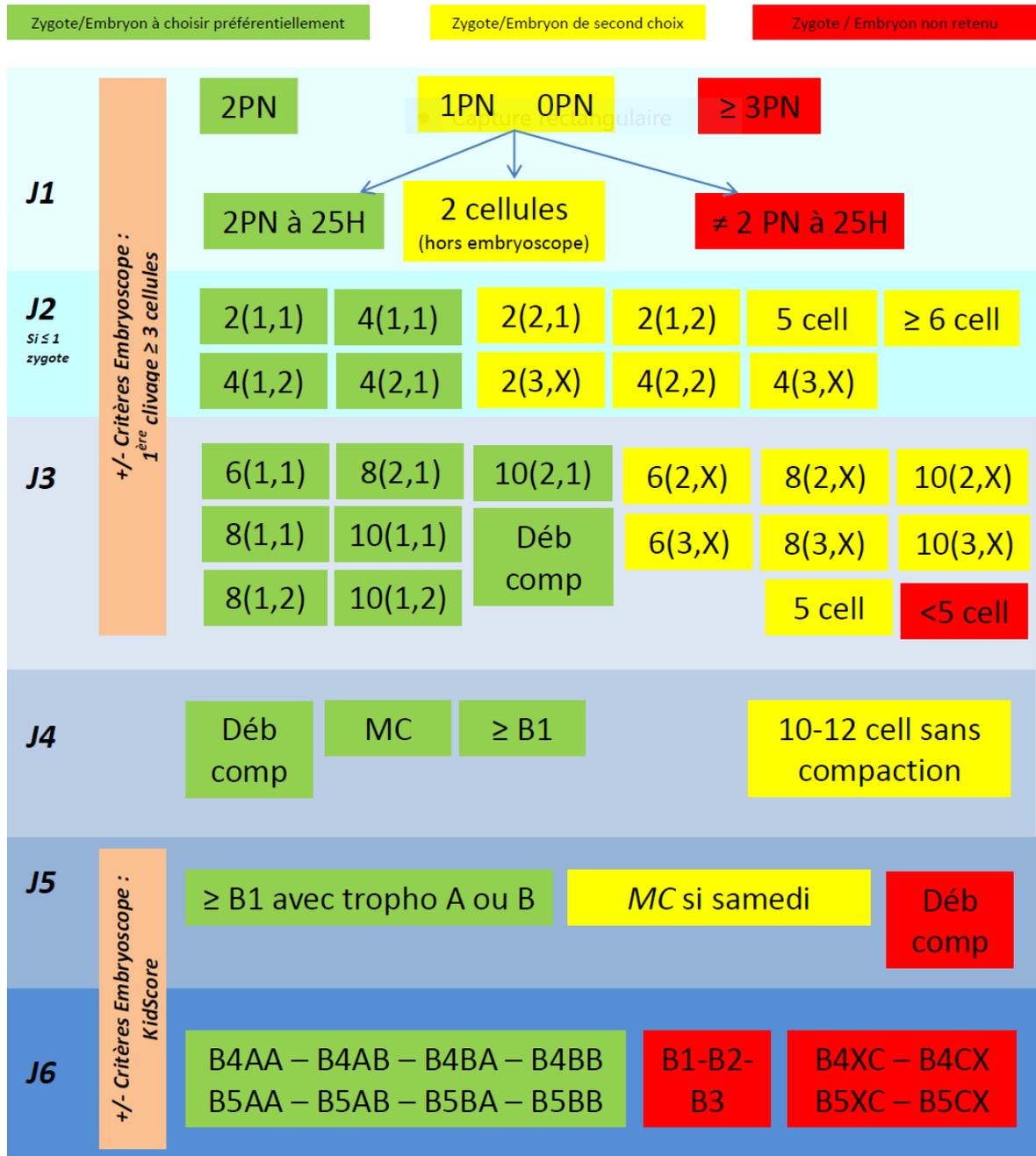
*tPNa* : apparition des pro-nuclei, *tPNf* : effacement des pro-nuclei, *tM* : stade morula, *tSB* : début blastulation, *tEB* : blastocyte expansé.

Extrait de Milewski R, Ajduk A. Time-lapse imaging of cleavage divisions in embryo quality assessment. *Reproduction*. 1 août 2017;154(2):R37- 53, Figure 1.

Annexe n°2 : Critères de choix pour la sélection des embryons avant leur transfert ou leur congélation



**Critères de choix des embryons pour le transfert ou la congélation**



Critères de choix des embryons pour le transfert ou la congélation, Fiche ENNOV du service d'assistance médicale à la procréation du CHU de Nantes, 9060-DI-215 - V. 04 du 04/03/2020.

## Annexe n°3 : Etude d'autres seuils possibles pour le dosage de la progestéronémie en cours de stimulation ovarienne préalable à la réalisation d'une Fécondation In Vitro +/- ICSI.

### Etude d'autres seuils possibles pour le dosage de la progestéronémie en cours de stimulation ovarienne préalable à la réalisation d'une Fécondation In Vitro +/- ICSI

	(P4) Progestéronémie au déclenchement de l'ovulation	Δ(P4) Variation de la progestéronémie en cours de stimulation	(P4 / n follicules ≥ 14mm)*100 au déclenchement de l'ovulation	( P4/E2 ) * 10000 au déclenchement de l'ovulation	Δ(P4) / n follicules ≥ 14mm au déclenchement de l'ovulation	Δ(P4)/E2 (* 10000) au déclenchement de l'ovulation	(Δ(P4)/ΔE2) *10000 en cours de stimulation
<b>Seuil</b>	< 1,3 vs ≥ 1,3	≤ 1 vs > 1	< 15,3 vs ≥ 15,3	< 6,45 vs ≥ 6,45	< 0,124 vs ≥ 0,124	< 4,63 vs ≥ 4,63	< 5,1 vs ≥ 5,1
Nombre de données disponibles pour le seuil	1545	1117	1183	1532	853	1117	1117
Proportion P4 ≥ 1,3 ng/ml (%)	13,87	12,53	13,69	13,64	12,54	12,53	12,53
Nombre d'observations < seuil	1330	970	1017	1318	734	959	960
Nombre d'observations ≥ seuil	215	147	166	214	119	158	157
Répartition ( < vs ≥ seuil )	86% / 14%	86,83%/13,17%	86%/14%	86%/14%	86%/14%	86%/14%	86%/14%
<b>P4 au déclenchement de l'ovulation ( ng/ml)</b>							
Population totale	0,83	0,81	0,83	0,82	0,82	0,81	0,81
Population < seuil	0,68	0,68	0,73	0,74	0,72	0,71	0,72
Population ≥ seuil	1,75	1,68	1,42	1,34	1,42	1,39	1,38
<b>Nombre d'ovocytes matures retrouvés</b>							
Population totale	10,46	10,96	11,06	10,92	11,00	10,96	10,96
Population < seuil	10,35	10,85	11,29	11,15	11,21	11,12	11,11
Population ≥ seuil	11,15	11,67	9,66	9,50	9,73	9,97	10,04
<b>Résultats au stade de blastocyste (population totale)</b>							
Nombre de blastocystes utiles	2,53	2,70	2,67	2,65	2,65	2,70	2,70
Nombre de blastocyste utiles/ nombre d'ovocytes matures (%)	24,20%	24,60%	24,10%	24,30%	24,10%	24,60%	24,60%
<b>Résultats au de stade blastocyste (comparaison)</b>							
Nombre de blastocyste utiles/ nombre d'ovocytes matures (%) (< vs ≥ seuil)	23,5% / 22,6 % NS	24,78% / 23,80% NS	25,00 / 18,47 % *	25,01% / 20,06% *	25,14% / 17,52 % *	25,31% / 20,61% *	25,55% / 19,12 % *

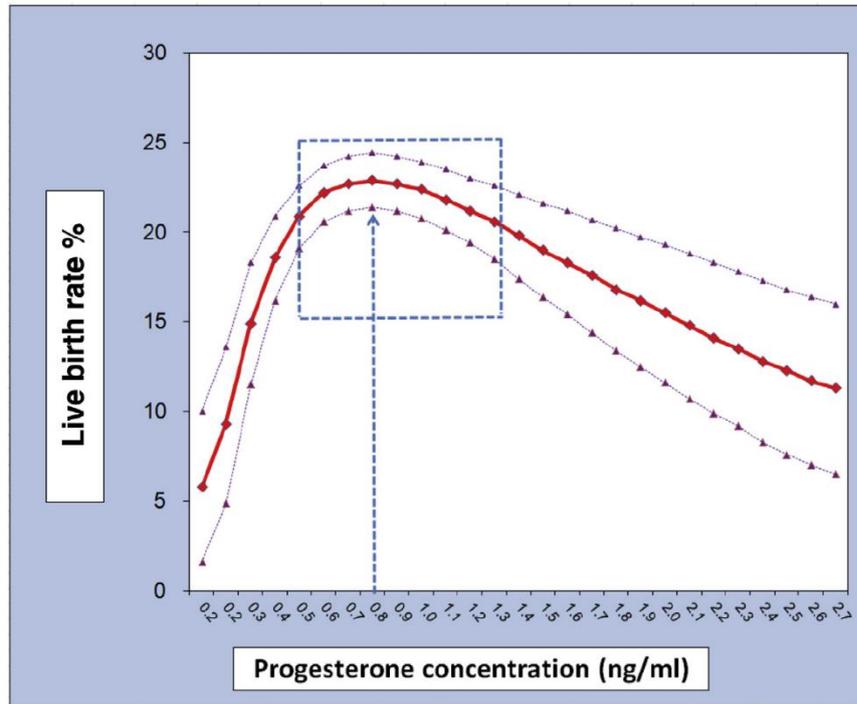
\* p strictement inférieur à 0,05. NS Non significatif

P4 : Progestéronémie (ng/ml), E2 : Œstradiolémie (pg/ml), ΔP4 : Variation de progestéronémie entre le début de la stimulation hormonale et le jour du déclenchement de l'ovulation

ΔE2 : Variation de l'œstradiolémie entre le début de la stimulation hormonale et le jour du déclenchement de l'ovulation, ICSI : Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Ces résultats ne sont qu'exploratoires, et ont été générés à posteriori. Des seuils alternatifs de progestéronémie à l'aide d'index proposés dans la littérature ont été appliqués à la population initiale de l'étude. Ils ne peuvent être interprétables en l'état et nécessitent des études dédiées.

Annexe n°4 : Modèle prédictif des taux de naissances vivantes selon la progestéronémie au déclenchement de l'ovulation.



**FIGURE 1** Predicted live birth rate (LBR) for varying progesterone concentrations on the day of HCG administration (PHCG) and 95% confidence curves. The simultaneous effect of significant linear and quadratic effects results in a parabolic reverse-U curve; from low LBR values associated with low (PHCG), this curve increases and reaches a maximum, and LBR sharply decreases at extreme values of both sides of the optimum  $P \equiv 0.78$  ng/ml (arrow) within a 95% CI of 0.49 to 1.23 (rectangle in the figure).

*Extrait de : Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Haentjens P, Smits J, Camus M, Tournaye H, et al. Live birth rates after IVF are reduced by both low and high progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration. Hum Reprod. 1 août 2014;29(8):1698- 705, Figure n°1.*

## Bibliographie

1. More than 8 million babies born from IVF since the world's first in 1978: European IVF pregnancy rates now steady at around 36 percent, according to ESHRE monitoring [Internet]. ScienceDaily.
2. Fauser BC. Towards the global coverage of a unified registry of IVF outcomes. *Reprod Biomed Online*. 1 févr 2019;38(2):133-7.
3. Effectif et évolution de la population en Suisse : résultats définitifs 2018, Office fédéral de la statistique, rapport du 27/08/2019.
4. Frydman R, Testart J, Lassalle B, Belaisch-Allart JC, Papiernik E. [Technics and results of external fertilization and embryo transfer]. *Bull Acad Natl Med*. 5 oct 1982;166(7):965-70.
5. Agence de la Biomédecine, Rapport d'activité 2019, Evaluation des résultats des centres d'assistance médicale à la procréation pratiquant la Fécondation In Vitro et l'insémination artificielle en France.
6. INSEE Institut national de la statistique et des études économiques, Bilan démographique 2018.
7. De La Rochebrochard E. 1 enfant sur 30 conçu par assistance médicale à la procréation en France [Internet]. Ined - Institut national d'études démographiques.
8. Matthews TJ, Hamilton BE. Delayed childbearing: more women are having their first child later in life. *NCHS Data Brief*. août 2009;(21):1-8.
9. Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK, Driscoll AK, Mathews TJ. Births: Final Data for 2015. *Natl Vital Stat Rep Cent Dis Control Prev Natl Cent Health Stat Natl Vital Stat Syst*. janv 2017;66(1):1.
10. García D, Brazal S, Rodríguez A, Prat A, Vassena R. Knowledge of age-related fertility decline in women: A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. nov 2018;230:109-18.
11. Reed BG, Carr BR. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dungan K, et al., éditeurs. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [cité 29 nov 2020]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/>
12. Cable JK, Grider MH. Physiology, Progesterone. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cité 1 déc 2020]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558960/>
13. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update*. oct 2013;19(5):433-57.
14. Mihm M, Gangooly S, Muttukrishna S. The normal menstrual cycle in women. *Anim Reprod Sci*. 1 avr 2011;124(3):229-36.
15. A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group. *Hum Reprod Oxf Engl*. nov 1998;13(11):3023-31.

16. Oktem O, Akin N, Bildik G, Yakin K, Alper E, Balaban B, et al. FSH Stimulation promotes progesterone synthesis and output from human granulosa cells without luteinization. *Hum Reprod Oxf Engl.* 01 2017;32(3):643-52.
17. Kyrou D, Al-Azemi M, Papanikolaou EG, Donoso P, Tziomalos K, Devroey P, et al. The relationship of premature progesterone rise with serum estradiol levels and number of follicles in GnRH antagonist/recombinant FSH-stimulated cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* juin 2012;162(2):165-8.
18. Hillier SG, Whitelaw PF, Smyth CD. Follicular oestrogen synthesis: the « two-cell, two-gonadotrophin » model revisited. *Mol Cell Endocrinol.* avr 1994;100(1-2):51-4.
19. Lawrenz B, Melado L, Fatemi H. Premature progesterone rise in ART-cycles. *Reprod Biol.* 1 mars 2018;18(1):1-4.
20. Evans MB, Healy MW, DeCherney AH, Hill MJ. Adverse effect of prematurely elevated progesterone in in vitro fertilization cycles: a literature review. *Biol Reprod.* juill 2018;99(1):45-51.
21. Martínez F, Coroleu B, Clua E, Tur R, Buxaderas R, Parera N, et al. Serum progesterone concentrations on the day of HCG administration cannot predict pregnancy in assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online.* févr 2004;8(2):183-90.
22. Venetis CA, Kolibianakis EM, Papanikolaou E, Bontis J, Devroey P, Tarlatzis BC. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* août 2007;13(4):343-55.
23. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* août 2010;25(8):2092-100.
24. Xu B, Li Z, Zhang H, Jin L, Li Y, Ai J, et al. Serum progesterone level effects on the outcome of in vitro fertilization in patients with different ovarian response: an analysis of more than 10,000 cycles. *Fertil Steril.* juin 2012;97(6):1321-1327.e1-4.
25. Xiong Y, Wang J, Liu L, Chen X, Xu H, Li TC, et al. Effects of high progesterone level on the day of human chorionic gonadotrophin administration in in vitro fertilization cycles on epigenetic modification of endometrium in the peri-implantation period. *Fertil Steril.* 2017;108(2):269-276.e1.
26. Van Vaerenbergh I, Fatemi HM, Blockeel C, Van Lommel L, In't Veld P, Schuit F, et al. Progesterone rise on HCG day in GnRH antagonist/rFSH stimulated cycles affects endometrial gene expression. *Reprod Biomed Online.* mars 2011;22(3):263-71.
27. Ubaldi F, Bourgain C, Tournaye H, Smits J, Van Steirteghem A, Devroey P. Endometrial evaluation by aspiration biopsy on the day of oocyte retrieval in the embryo transfer cycles in patients with serum progesterone rise during the follicular phase. *Fertil Steril.* mars 1997;67(3):521-6.
28. Bourgain C, Ubaldi F, Tavaniotou A, Smits J, Van Steirteghem AC, Devroey P. Endometrial hormone receptors and proliferation index in the periovulatory phase of stimulated embryo transfer cycles in comparison with natural cycles and relation to clinical pregnancy outcome. *Fertil Steril.* août 2002;78(2):237-44.

29. Healy MW, Yamasaki M, Patounakis G, Richter KS, Devine K, DeCherney AH, et al. The slow growing embryo and premature progesterone elevation: compounding factors for embryo-endometrial asynchrony. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2017;32(2):362-7.
30. Papanikolaou EG, Kolibianakis EM, Pozzobon C, Tank P, Tournaye H, Bourgain C, et al. Progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration impairs pregnancy outcome in day 3 single-embryo transfer, while has no effect on day 5 single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* mars 2009;91(3):949-52.
31. Hill MJ, Royster GD, Healy MW, Richter KS, Levy G, DeCherney AH, et al. Are good patient and embryo characteristics protective against the negative effect of elevated progesterone level on the day of oocyte maturation? *Fertil Steril.* 1 juin 2015;103(6):1477-1484.e5.
32. Kofinas JD, Blakemore J, McCulloh DH, Grifo J. Serum progesterone levels greater than 20 ng/dl on day of embryo transfer are associated with lower live birth and higher pregnancy loss rates. *J Assist Reprod Genet.* sept 2015;32(9):1395-9.
33. Wang A, Santistevan A, Hunter Cohn K, Copperman A, Nulsen J, Miller BT, et al. Freeze-only versus fresh embryo transfer in a multicenter matched cohort study: contribution of progesterone and maternal age to success rates. *Fertil Steril.* 2017;108(2):254-261.e4.
34. Healy MW, Patounakis G, Connell MT, Devine K, DeCherney AH, Levy MJ, et al. Does a frozen embryo transfer ameliorate the effect of elevated progesterone seen in fresh transfer cycles? *Fertil Steril.* janv 2016;105(1):93-99.e1.
35. Kaponis A, Chronopoulou E, Decavalas G. The curious case of premature luteinization. *J Assist Reprod Genet.* oct 2018;35(10):1723-40.
36. Fleming R. Progesterone elevation on the day of hCG: methodological issues. *Hum Reprod Update.* août 2008;14(4):391-2.
37. González-Foruria I, Rodríguez I, Martínez F, Rodríguez-Purata J, Montoya P, Rodríguez D, et al. Clinically significant intra-day variability of serum progesterone levels during the final day of oocyte maturation: a prospective study with repeated measurements. *Hum Reprod.* 1 août 2019;34(8):1551-8.
38. Boynukalin FK, Turgut NE, Gultomruk M, Ecemis S, Yarkiner Z, Findikli N, et al. Impact of elective frozen vs. fresh embryo transfer strategies on cumulative live birth: Do deleterious effects still exist in normal & hyper responders? *PloS One.* 2020;15(6):e0234481.
39. Racca A, Santos-Ribeiro S, De Munck N, Mackens S, Drakopoulos P, Camus M, et al. Impact of late-follicular phase elevated serum progesterone on cumulative live birth rates: is there a deleterious effect on embryo quality? *Hum Reprod.* 1 mai 2018;33(5):860-8.
40. Huang B, Ren X, Wu L, Zhu L, Xu B, Li Y, et al. Elevated Progesterone Levels on the Day of Oocyte Maturation May Affect Top Quality Embryo IVF Cycles. *PLOS ONE.* 8 janv 2016;11(1):e0145895.
41. Vanni VS, Somigliana E, Reschini M, Pagliardini L, Marotta E, Faulisi S, et al. Top quality blastocyst formation rates in relation to progesterone levels on the day of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles. *PloS One.* 2017;12(5):e0176482.
42. De Neubourg D, Gerris J, Mangelschots K, Van Royen E, Vercruyssen M, Elseviers M. Single top quality embryo transfer as a model for prediction of early pregnancy outcome. *Hum Reprod Oxf Engl.* juin 2004;19(6):1476-9.

43. Drakopoulos P, Racca A, Errázuriz J, De Vos M, Tournaye H, Blockeel C, et al. The role of progesterone elevation in IVF. *Reprod Biol.* 1 mars 2019;19(1):1-5.
44. Racca A, De Munck N, Santos-Ribeiro S, Drakopoulos P, Errazuriz J, Galvao A, et al. Do we need to measure progesterone in oocyte donation cycles? A retrospective analysis evaluating cumulative live birth rates and embryo quality. *Hum Reprod.* 1 janv 2020;35(1):167-74.
45. Vanni VS, Viganò P, Quaranta L, Pagliardini L, Giardina P, Molgora M, et al. Are extremely high progesterone levels still an issue in IVF? *J Endocrinol Invest.* janv 2017;40(1):69-75.
46. Ubaldi FM, Capalbo A, Vaiarelli A, Cimadomo D, Colamaria S, Alviggi C, et al. Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril.* 1 juin 2016;105(6):1488-1495.e1.
47. Griesinger G, Mannaerts B, Andersen CY, Witjes H, Kolibianakis EM, Gordon K. Progesterone elevation does not compromise pregnancy rates in high responders: a pooled analysis of in vitro fertilization patients treated with recombinant follicle-stimulating hormone/gonadotropin-releasing hormone antagonist in six trials. *Fertil Steril.* déc 2013;100(6):1622-1628.e1-3.
48. Gallego RD, Remohí J, Meseguer M. Time-lapse imaging: the state of the art. *Biol Reprod.* 24 déc 2019;101(6):1146-54.
49. Coticchio G, Mignini Renzini M, Novara PV, Lain M, De Ponti E, Turchi D, et al. Focused time-lapse analysis reveals novel aspects of human fertilization and suggests new parameters of embryo viability. *Hum Reprod Oxf Engl.* 01 2018;33(1):23-31.
50. Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 30 juin 2016;(6):CD002118.
51. Hill MJ, Healy MW, Richter KS, Parikh T, Devine K, DeCherney AH, et al. Defining thresholds for abnormal premature progesterone levels during ovarian stimulation for assisted reproduction technologies. *Fertil Steril.* 1 sept 2018;110(4):671-679.e2.
52. Gruber I, Just A, Birner M, Lösch A. Effect of a woman's smoking status on oocyte, zygote, and day 3 pre-embryo quality in in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertil Steril.* oct 2008;90(4):1249-52.
53. Dechanet C, Brunet C, Anahory T, Hamamah S, Hedon B, Dechaud H. Effets du tabagisme sur la reproduction : de l'ovocyte à l'embryon (Partie I). *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 1 oct 2011;39(10):559-66.
54. Marom-Haham L, Shulman A. Cigarette smoking and hormones. *Curr Opin Obstet Gynecol.* août 2016;28(4):230-5.
55. Baldini D, Savoia MV, Sciancalepore AG, Malvasi A, Vizziello D, Beck R, et al. High progesterone levels on the day of HCG administration do not affect the embryo quality and the reproductive outcomes of frozen embryo transfers. *Clin Ter.* juin 2018;169(3):e91-5.
56. Healy M, Patounakis G, Zanelotti A, Devine K, DeCherney A, Levy M, et al. Does premature elevated progesterone on the day of trigger increase spontaneous abortion rates in fresh and subsequent frozen embryo transfers? *Gynecol Endocrinol.* 3 juin 2017;33(6):472-5.
57. Kofinas JD, Mehr H, Ganguly N, Biley Y, Bochkovsky S, McCulloh D, et al. Is it the egg or the endometrium? Elevated progesterone on day of trigger is not associated with embryo ploidy nor

- decreased success rates in subsequent embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet.* 1 sept 2016;33(9):1169-74.
58. Bu Z, Zhao F, Wang K, Guo Y, Su Y, Zhai J, et al. Serum Progesterone Elevation Adversely Affects Cumulative Live Birth Rate in Different Ovarian Responders during In Vitro Fertilization and Embryo Transfer: A Large Retrospective Study. *PLoS ONE* [Internet]. 13 juin 2014 [cité 1 déc 2019];9(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057273/>
  59. Shufaro Y, Sapir O, Oron G, Ben Haroush A, Garor R, Pinkas H, et al. Progesterone-to-follicle index is better correlated with in vitro fertilization cycle outcome than blood progesterone level. *Fertil Steril.* mars 2015;103(3):669-674.e3.
  60. Liang Y-X, Liu L, Jin Z-Y, Liang X-H, Fu Y-S, Gu X-W, et al. The high concentration of progesterone is harmful for endometrial receptivity and decidualization. *Sci Rep* [Internet]. 15 janv 2018 [cité 1 août 2020];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5768702/>
  61. Montoya-Botero P, Polyzos NP. The endometrium during and after ovarian hyperstimulation and the role of segmentation of infertility treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* févr 2019;33(1):61-75.
  62. Boynukalin FK, Yarkiner Z, Gultomruk M, Turgut NE, Ecemis S, Findikli N, et al. Elevation of progesterone on the trigger day exerts no carryover effect on live birth in freeze-all cycles. *Gynecol Endocrinol.* 2 juill 2020;0(0):1-5.
  63. Sun Z, Song J, Zhang X, Wang A, Guo Y, Yang Y, et al. SWATHHM-Based Metabolomics of Follicular Fluid in Patients Shows That Progesterone Adversely Affects Oocyte Quality. *BioMed Res Int.* 2018;2018:1780391.
  64. Xu B, Guo N, Zhang X-M, Shi W, Tong X-H, Iqbal F, et al. Oocyte quality is decreased in women with minimal or mild endometriosis. *Sci Rep.* 29 mai 2015;5:10779.
  65. Tanbo T, Fedorcsak P. Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. *Acta Obstet Gynecol Scand.* juin 2017;96(6):659-67.
  66. Jiang W-J, Yao X-R, Zhao Y-H, Gao Q-S, Jin Q-G, Li Y-H, et al. L-carnitine prevents bovine oocyte aging and promotes subsequent embryonic development. *J Reprod Dev.* 18 déc 2019;65(6):499-506.
  67. Foucaud L, Goulaouic S, Bennisroune A, Laval-Gilly P, Brown D, Stone V, et al. Oxidative stress induction by nanoparticles in THP-1 cells with 4-HNE production: stress biomarker or oxidative stress signalling molecule? *Toxicol In Vitro.* sept 2010;24(6):1512-20.
  68. Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* janv 2004;339(1-2):1-9.
  69. Balaban B, Urman B. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reprod Biomed Online.* 1 janv 2006;12(5):608-15.
  70. Weghofer A, Kushnir VA, Darmon SK, Jafri H, Lazzaroni-Tealdi E, Zhang L, et al. Oocyte size and morphology predict embryo quality. *Fertil Steril.* 1 sept 2018;110(4):e309-10.
  71. Hernandez-Nieto C, Lee JA, Alkon-Meadows T, Luna-Rojas M, Mukherjee T, Copperman AB, et al. Late follicular phase progesterone elevation during ovarian stimulation is not associated with

decreased implantation of chromosomally screened embryos in thaw cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* 10 juill 2020;

72. Arvis P, Lehert P, Guivarc'h-Levêque A. Both high and low HCG day progesterone concentrations negatively affect live birth rates in IVF/ICSI cycles. *Reprod Biomed Online.* 1 nov 2019;39(5):852-9.
73. Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Haentjens P, Smits J, Camus M, Tournaye H, et al. Live birth rates after IVF are reduced by both low and high progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration. *Hum Reprod.* 1 août 2014;29(8):1698-705.
74. Lawrenz B, Beligotti F, Engelmann N, Gates D, Fatemi HM. Impact of gonadotropin type on progesterone elevation during ovarian stimulation in GnRH antagonist cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2016;31(11):2554-60.
75. Castillo J, Bousamra M, Fuente L, Ruiz-Balda J, Palomo M. The Impact of Serum Progesterone Levels on the Results of In Vitro Fertilization Treatments: A Literature Review. *JBRA Assist Reprod.* 1 juill 2015;19:141-7.
76. Oktem O, Yakin K, Oguz SY, Isiklar A, Balaban B, Urman B. High responders are not exempt from detrimental effects of prematurely rising progesterone levels in fresh embryo transfer cycles. *Reprod Biomed Online.* 1 févr 2019;38(2):206-15.
77. Reichman DE, White PC, New MI, Rosenwaks Z. Fertility in patients with congenital adrenal hyperplasia. *Fertil Steril.* févr 2014;101(2):301-9.
78. Evans MB, Healy MW, DeCherney AH, Hill MJ. Adverse effect of prematurely elevated progesterone in in vitro fertilization cycles: a literature review. *Biol Reprod.* 1 juill 2018;99(1):45-51.

## Résumé

### Introduction

L'élévation prématurée de la progestéronémie le jour du déclenchement de l'ovulation en cours d'hyperstimulation ovarienne contrôlée préalable à la réalisation d'une Fécondation In Vitro avec ou sans Injection Intracytoplasmique de Spermatozoïdes (FIV±ICSI) est fréquente. Elle entraîne une diminution de la réceptivité endométriale. Une stratégie de congélation embryonnaire totale est recommandée dans ce contexte. Cependant, la littérature est discordante concernant les issues en FIV±ICSI, dont les taux cumulés de naissances vivantes en cas de progestéronémie élevée. L'objectif était d'évaluer l'impact d'une progestéronémie élevée le jour du déclenchement de l'ovulation sur la qualité des blastocystes.

### Matériels et méthode

Une étude de cohorte bi-centrique rétrospective, incluant 1150 cycles de FIV±ICSI a été réalisée entre 2016 et 2018. Parmi ces cycles, 524 ont été réalisés avec l'utilisation d'un système de time-lapse (Embryoscope®). La concentration sérique de progestérone a été mesurée le jour du déclenchement de l'ovulation. Une valeur strictement supérieure à 1,3 ng/ml a été utilisée pour identifier une élévation prématurée de la progestérone. Les caractéristiques des patientes, de la stimulation ovarienne, ainsi que les paramètres embryologiques et les issues ont été enregistrés de manière anonyme et comparés entre les 2 groupes. Notre critère de jugement principal était le rapport entre le nombre de blastocystes utiles (transférés ou congelés) et le nombre d'ovocytes matures recueillis lors de la ponction ovocytaire.

### Résultats

Les cycles ont été divisés en 2 groupes selon le taux sérique de progestérone : 1335 cycles ont été répartis dans le groupe progestéronémie normale ( $P \leq 1,3$  ng/ml) et 215 dans le groupe élévation prématurée de la progestéronémie ( $P > 1,3$  ng/ml). L'âge de la femme, l'AMH (hormone anti-müllérienne) et le CFA (compte des follicules antraux) étaient comparables entre les 2 groupes. L'IMC des femmes était significativement plus élevé dans le groupe  $P \leq 1,3$  ng/ml (24,9 contre 23,4 kg/m<sup>2</sup> respectivement,  $p \leq 0,01$ ).

Une proportion plus importante de tabagisme actif était retrouvée chez les patientes dans le groupe  $P > 1,3$  ng/ml (21.86% contre 15.8%,  $p = 0,03$ ). La dose totale de FSH, le niveau d'œstradiol, le nombre de follicules  $\geq 11$ mm et le nombre d'ovocytes recueillis étaient significativement plus élevés dans le groupe  $P > 1,3$  ng/ml que dans le groupe  $P \leq 1,3$  ng/ml. Aucune différence n'a été observée entre les 2 groupes en termes de taux de blastocystes utiles par ovocyte mature. Les Odd-Ratios ajustés sur l'âge, l'IMC, la présence d'un tabagisme actif féminin, et le nombre total d'ovocytes recueillis n'ont pas mis en évidence de différences significatives entre les deux groupes de progestéronémie.

Lorsque l'analyse morphocinétique était disponible, le temps de blastulation était le seul paramètre significativement différent entre les 2 groupes (110,4 heures dans le groupe  $P < 1,3$  ng/ml contre 107,9 heures dans le groupe  $P > 1,3$  ng/ml,  $p = 0,04$ ). Le taux cumulé de naissances vivantes par cycle était comparable entre les deux groupes (28,7 % pour  $P \leq 1,3$  ng/ml contre 23,1 % pour  $P > 1,3$  ng/ml,  $p > 0,05$  non significatif).

### Conclusion

La compétence embryonnaire et le taux cumulé de naissances vivantes n'étaient pas significativement impactés par l'élévation prématurée de la concentration sérique de progestérone le jour du déclenchement de l'ovulation. Cette étude confirme la pertinence de la stratégie de congélation totale dans cette situation.

**Mots-clés :** Progestéronémie, FIV (Fécondation In Vitro), développement embryonnaire, blastocystes, AMP (Assistance Médicale à la Procréation).