

**UNIVERSITE DE NANTES**

---

**FACULTE DE MEDECINE**

---

Année : 2017

N° 143

**THESE**

pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

DES de gynécologie médicale

par

Stéphanie MENDRET-PELLERIN

Née le 08/10/1988 à ROUEN

---

Présentée et soutenue publiquement le 19 octobre 2017

---

**Optimisation de la stimulation ovarienne des patientes  
mauvaises répondeuses en fécondation in vitro:  
une étude pilote rétrospective cas-témoins comparant les  
protocoles antagonistes « corifollitropine alpha + hp-hMG »  
versus « FSHr fortes doses ».**

---

Président du jury : Monsieur le Professeur Paul BARRIERE

Directrice de thèse : Madame le Docteur Florence LEPERLIER

# MEMBRES DU JURY

Président du jury : Monsieur le Professeur Paul BARRIÈRE

Directrice de thèse : Madame le Docteur Florence LEPELIER

Monsieur le Professeur Thomas FREOUR

Monsieur le Professeur Patrice LOPES

Madame le Docteur Tiphaine LEFEBVRE

# REMERCIEMENTS

***Au président du jury, Monsieur le Professeur Paul Barrière,*** pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Je vous suis très reconnaissante d'avoir soutenu mes projets au cours de mon internat de gynécologie médicale. Merci pour votre écoute et votre bienveillance à mon égard. Veuillez croire en l'expression de ma plus haute considération et de mon profond respect.

***A ma directrice de thèse, Madame le Docteur Florence Leperlier,*** pour m'avoir proposé ce travail et accordé ta confiance. Merci pour ta disponibilité, ton professionnalisme, ton efficacité et ta franchise. Merci également pour la formation que j'ai acquise à tes côtés lors de mes stages dans le service de médecine de la reproduction. Crois en l'expression de ma sincère gratitude.

***Au Professeur Thomas Freour,*** pour avoir accepté de juger ce travail. Je te remercie d'avoir contribué à la rédaction de notre article avec rigueur, expertise, et un anglais fluide. Merci de toujours critiquer mes travaux de façon pédagogique et encourageante. Trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

***Au Professeur Patrice Lopes,*** pour me faire l'honneur de juger ce travail. Merci pour votre pédagogie lors des soirées de bibliographie et pour l'intérêt sincère que vous portez à la gynécologie médicale. Merci également de m'avoir permis d'assister au congrès du GEMVI à Lyon et de la SFCPCV à Paris qui furent des expériences enrichissantes. Veuillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

***Au Docteur Tiphaine Lefebvre,*** pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci pour tous les précieux conseils que tu me donnes depuis le début de mon internat. Merci pour ta disponibilité, tes encouragements et ton sourire, c'est un plaisir de travailler à tes côtés. Ta motivation et ton parcours sont un exemple pour moi. Crois en l'expression de mon profond respect.

**Au Dr Arnaud REIGNER**, pour ton aide précieuse dans la réalisation des statistiques de ce travail et tes conseils en informatique. Merci pour ta disponibilité et ta bonne humeur.

**Aux médecins du service de biologie de la reproduction du CHU de Nantes** et en particulier au Dr Julien BANCQUART, au Dr Sophie MIRALLIE, au Docteur Agnès COLOMBEL et au Dr Carole SPLINGART, pour votre sympathie et votre encadrement. J'ai beaucoup appris à vos côtés et vous en suis très reconnaissante.

**A l'équipe du service de biologie de la reproduction du CHU de Nantes** : les sages-femmes, les secrétaires, les technicien(ne)s du laboratoire, Elisabeth, c'est un plaisir de travailler à vos côtés.

**Au Professeur Norbert WINER**, pour votre encadrement lors de mes stages en gynécologie obstétrique et votre pédagogie en particulier lors des staffs dans les services de grossesses à haut risque et de diagnostic anténatal.

**A tous les membres du service de gynécologie-obstétrique du CHU de Nantes** : les gynécologues, les anesthésistes, les sages-femmes, les infirmières, les aides-soignantes, pour votre encadrement et votre soutien pendant mes semestres à la maternité. Merci en particulier au Dr Anne-Sophie RITEAU et au Dr Laurent PETIT, les chefs de cliniques qui m'ont appris les bases lors de mes premiers semestres d'interne de gynécologie au CHU. Merci également au Dr Julie ESBELIN pour son encadrement rigoureux et très formateur en salle de naissance et au Dr Claudine LEVAILLANT pour son enseignement de l'échographie obstétricale.

**A l'équipe de l'UGOMPS du CHU de Nantes**, pour votre accueil et votre sympathie. J'ai beaucoup apprécié l'expérience partagée à vos côtés et la dimension très humaine de votre prise en charge des femmes.

**A l'ensemble de l'équipe de gynécologie-obstétrique du CHD de la Roche-sur-Yon**, merci pour votre encadrement et votre bienveillance lors de mon premier semestre d'interne.

**Au Dr Fabienne DELAY**, pour ton sens clinique et ta pédagogie qui sont un exemple pour moi. Merci pour tout ce que tu m'as transmis au cours de ma formation. Je te souhaite de t'épanouir dans tes nouveaux projets professionnels et familiaux.

**A toute l'équipe du centre Procréalix** : les gynécologues, les biologistes, les infirmières, les secrétaires, les techniciennes du laboratoire, ce fut un plaisir de découvrir la PMA dans votre équipe.

Merci en particulier au Dr Marine Dercourt, j'ai beaucoup aimé apprendre à tes côtés, toujours dans la bonne humeur.

**A tous les membres du service d'endocrinologie du CHU de Nantes**, pour m'avoir accueilli et enseigné votre discipline avec énergie. Merci en particulier aux Dr Delphine DRUI et Dr Lucie CHAILLOUS pour la qualité de votre encadrement. Merci également au Dr Maëlle LE BRAS, pour ta pédagogie et ta rigueur (et tes délicieux cheese-cakes...). J'espère mettre à profit ce que vous m'avez transmis cet hiver lors de mon inter-CHU à Paris dans le service du Pr Touraine.

**Au Docteur Isabelle HERON**, pour vos précieux conseils lors du choix de ma spécialité. Merci de m'avoir accueilli dans votre cabinet et transmis le goût pour la gynécologie médicale.

\*\*

**A mes cointernes de gynécologie médicale et obstétrique**, avec qui j'ai partagé de très bons moments pendant tout mon internat, merci pour votre soutien et votre bonne humeur. Merci en particulier :

**A Anne-Sophie**, ma binôme de GM, pour tous les moments passés ensemble, en stage, en cours à Paris, au DESC... Je te souhaite de t'épanouir dans toutes les nouveautés prévues dans ta vie professionnelle et familiale ;)

**A Mariette**, pour notre complicité et ton petit accent chantant qui met de la gaité partout où tu passes,

**A Marine**, pour toutes les étapes que nous avons surmontées ensemble depuis le début de notre internat, du premier semestre à la Roche-sur-Yon au DIU d'échographie dernièrement,

**A Pauline R.**, pour le semestre d'été passé avec toi en PMA, toujours avec le sourire,

**Et aux filles de la promo 2013** : Emilie, Marion et Mélissa.

**A mes cointernes de biologie**, Sophie, Jean-Max, et Jenna, je suis ravie de vous avoir rencontrés, c'est un plaisir de travailler à vos cotés !

**A Camille et Caroline**, mes copines GM de Lille, merci pour votre accueil chaleureux, fidèle à la réputation des gens du Nord.

**A toutes les membres du bureau de l'AIGM** (association nationale des internes de gynécologie médicale) : Nina, Lucie, Alice, Camille, Géraldine, ce fut une très bonne expérience partagée avec vous.

**A mes amis de toujours**, Laurène, Pauline, Antoine, Margaux, Mathieu et Georges, Mag et Alban, Margaux et Stan, Maguite et Eloi, Cécile et Louis, Anne-Laure et Adrien, Stani, maintenant éparpillés aux quatre coins de la France... Merci pour votre amitié fidèle, c'est toujours un plaisir de vous retrouver pour un week-end, des vacances ou une fiesta !

**A Diane**, la plus belle rencontre de mes études de médecine...

**A Alix**, mon Loulou, pour ton amitié hors pair. Merci pour ton affection si fidèle, je sais que nous serons toujours là l'une pour l'autre.

\*\*

**A ma famille**,

**A mes parents**, pour tout l'amour et l'attention que vous me portez depuis toujours. Merci de me soutenir dans tous mes projets aussi bien professionnels que personnels. Vous êtes un modèle pour moi, je suis fière d'être votre fille et j'espère vous le rendre au travers du parcours que j'accomplis.

**Maman**, merci pour ton écoute et ta tendresse, tu trouves toujours les mots justes pour m'encourager et me booster dans les moments difficiles ou un petit remède/massage aux huiles essentielles pour me relaxer quand ma vie est trop remplie. J'aime les heures que l'on peut passer à papoter au téléphone, autour d'un thé, ou dans les magasins... Les gens disent souvent que l'on se ressemble, j'en suis très fière.

**Papa**, ta force tranquille et ta rigueur sont des exemples pour moi. Merci de m'avoir soutenue depuis le début : c'est toi qui m'emmenait réserver les places dans l'amphi à 5h30 du matin en P1, puis en prépa le samedi en D4, puis c'est un peu grâce à toi que j'ai choisi de venir vivre à Nantes... J'espère que tu viendras toujours partager nos petits dîners nantais ! Entre nous la ressemblance est plus cachée, mais elle est bien là, nous le savons tous les deux.

**Inès, ma petite sœur**, ma jumelle (?), ma meilleure amie, pour notre complicité indéfectible, nos heures de discussions de filles, nos fous rires, nos chansons, nos chorées, nos footing... Nous avons choisi des parcours très différents mais bien souvent aussi exigeants. J'ai beaucoup de chance de t'avoir et j'admire le petit brin de femme que tu es en train de devenir. Je te souhaite de t'épanouir dans ta « nouvelle vie » et de réaliser tous tes rêves...

**A mes grands-parents, Mamie Françoise, Papy Georges, Mamie Jeanine et Arsène**, pour votre amour et tous les bons moments passés à vos côtés. Je pense fort à vous et vous dédie cette thèse.

**A ma tante Françoise**, avec qui nous partageons la même vocation pour la médecine.

**A Thierry et Kipo ; Pierre, Gege et Leela ; Floflo, Antoine et Louis ; Caro, Max et Faustine**, pour tous les bons moments passés en famille. Merci en particulier à Caro, ma couz', pour notre complicité depuis toujours...

**A Anick**, Clown, Arthur, ma marraine, pour l'affection et la tendresse que tu me portes. Merci pour tous tes conseils et les valeurs que tu me transmets, toujours avec humour. Je t'admire beaucoup.

**A Mimi, Mano, Marie, Hubert, Olivier et toute ma grande belle famille**, pour m'avoir accueilli si chaleureusement, parfois à l'autre bout du monde. Merci pour votre simplicité, je me sens bien parmi vous.

**A Alix**, ma filleule, trop jeune pour lire ces lignes aujourd'hui mais qui j'espère sera fière de sa marraine !

**A Arnaud**, mon amour de mari...Merci pour ta tendresse, ta douceur, ton soutien dans les moments difficiles et ton calme lorsque mon humeur est un peu vive... Grace à toi notre couple est « en équilibre ». Je suis fière d'être ta femme.

# TABLE DES MATIERES

<u>MEMBRES DU JURY</u> .....	2
<u>REMERCIEMENTS</u> .....	3
<u>TABLE DES MATIERES</u> .....	8
<u>LISTE DES ABREVIATIONS</u> .....	10
<u>FIGURES</u> .....	11
<u>TABLEAUX</u> .....	12
<u>PREMIERE PARTIE : INTRODUCTION</u> .....	13
<b>I. Physiologie ovarienne</b> .....	<b>14</b>
A. Axe hypothalamo-hypophyso-ovarien .....	14
B. Le cycle menstruel.....	17
1. Folliculogenèse .....	17
2. Ovulation .....	22
3. Phase lutéale.....	22
4. Cinétique endométriale .....	23
<b>II. La stimulation ovarienne en fécondation in vitro</b> .....	<b>24</b>
A. Principe général .....	24
B. Historique des molécules utilisées pour les stimulations ovariennes.....	25
1. Les gonadotrophines .....	25
2. Les analogues de la GnRH .....	28
<b>III. Notion de « réserve ovarienne »</b> .....	<b>30</b>
A. Définition.....	30
B. Le compte des follicules antraux (CFA) .....	30
C. L'hormone anti-müllérienne (AMH).....	31
D. Le couple FSH/Estradiol .....	31
<b>IV. Les patientes « mauvaises répondeuses »</b> .....	<b>32</b>
A. Définition.....	32
B. Problématique de la stimulation ovarienne chez ces patientes « mauvaises répondeuses » .....	33
1. Quel protocole choisir ?.....	33
2. Quelle molécule choisir ?.....	33

3.	Revue de la littérature .....	34
4.	Quelle place pour les traitements adjuvants ? .....	38
<b>V.</b>	<b>Une nouvelle approche thérapeutique : la corifollitropine alpha associée à l'hp-hMG.....</b>	<b>40</b>
A.	La corifollitropine alpha .....	40
B.	Intérêt de l'association corifollitropine alpha et hp-hmg pour la stimulation des patientes « mauvaises répondeuses » .....	41
C.	Revue de la littérature .....	42
<b>VI.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>44</b>
	<b><u>DEUXIEME PARTIE : ARTICLE</u> .....</b>	<b>45</b>
	<b><u>CONCLUSION</u> .....</b>	<b>57</b>
	<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u> .....</b>	<b>58</b>
	<b><u>SERMENT D'HIPPOCRATE</u> .....</b>	<b>65</b>

# LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique

AMH : hormone anti-müllérienne

AMP : aide médicale à la procréation

ART: assisted reproductive technologies

CFA : compte des follicules antraux

CNGOF : collège national des gynécologues et obstétriciens français

DHEA : déhydroépiandrostènedione

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology

FIV : fécondation in vitro

FSH(r) : follicle stimulating hormone (recombinante)

GDF9 : growth differentiation factor 9

GH : growth hormone

GnRH : gonadotrophin releasing hormone

hCG : hormone chorionique gonadotrope

hp-hMG : highly-purified human menopausal gonadotrophin

ICSI : intra cytoplasmic sperm injection

LH(r) : luteinizing hormone (recombinante)

TSH : thyroid stimulating hormone

UI : unité internationale

# FIGURES

Première partie : introduction

Figure 1. Schéma de l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien (extrait d'un enseignement du Pr Sophie Christin-Maître lors du DESC de médecine de la reproduction en mai 2016)

Figure 2. Schéma simplifié de la théorie bicellulaire (extrait d'un enseignement du Pr JN Hugues lors du DESC de médecine de la reproduction en mai 2016)

Figure 3. Stéroïdogénèse ovarienne : théorie bicellulaire (extrait d'un enseignement du Pr JN Hugues lors du DESC de médecine de la reproduction en mai 2016)

Figure 4. Aspects morphologiques des follicules ovariens d'après les travaux d'A. Gougeon (unité INSERM U 1052, Lyon)

Figure 5. Recrutement folliculaire et processus de sélection dans l'ovaire (d'après Mc Gee et al., 2000)

Figure 6. Classification des follicules du stade pré-antral au stade pré-ovulatoire. (Figure issue des travaux d'A. Gougeon, unité INSERM U 1052, Lyon).

Figure 7. Concept de « seuil » et de la « fenêtre de FSH » (Figure issue d'un enseignement du Pr J.-N. Hugues lors du DESC de médecine de la reproduction, mai 2016).

Figure 8. Schéma général du cycle menstruel. Source : site internet du CNGOF (Collège national des gynécologues et obstétriciens français).

Figure 9. Variations cycliques endométriales et fenêtre d'implantation (Figure issue d'un enseignement du Dr G.Robin lors des cours du DESC de médecine de la reproduction, mai 2017).

Figure 10. Schéma en trois dimensions de la composition chimique des hormones FSH, LH et hCG (d'après Leão et al., 2014).

Figure 11. Présentation commerciale des principales FSH d'origine urinaire

Figure 12. Présentation commerciale de quelques FSH recombinantes

Figure 13. Présentation commerciale de la lutropine alpha et d'une association de molécules (FSHr+LHr).

Figure 14. Mécanisme d'action des analogues de la GnRH (Figures issues d'un enseignement du Dr Lefebvre T, CHU de Nantes).

Figure 15. Représentation schématique de la structure biologique des gonadotrophines. (d'après Fauser et al., 2009).

Figure 16. Schéma de la cinétique d'action de la corifollitropine alpha comparée à la FSHr (d'après Fauser et al., 2009) commercialisée sous le nom d'Elonva®.

## Deuxième partie : article

Figure 1. Graphical illustration of the two regimens of the study

# TABLEAUX

Première partie : introduction

Tableau 1. Revue de la littérature : protocoles de stimulation ovarienne chez les mauvaises répondeuses

Tableau 2. Revue de la littérature : traitements adjuvants utilisés pour la stimulation ovarienne des mauvaises répondeuses

Tableau 3. Revue de la littérature : utilisation de la corifollitropine alpha chez les mauvaises répondeuses

Deuxième partie : article

Table 1. Demographic and fertility characteristics of the 65 patients.

Table 2. Clinical and biological outcomes with the 2 stimulation protocols.

# PREMIERE PARTIE : INTRODUCTION

Afin d'introduire notre travail dédié à l'optimisation de la stimulation ovarienne des patientes « mauvaises répondeuses » en fécondation in vitro (FIV), nous exposerons en première partie quelques notions de physiologie ovarienne, les principes de la stimulation ovarienne en FIV ainsi que les définitions des concepts de « réserve ovarienne » et des patientes « faibles répondeuses ». A la suite de ce prérequis, nous décrirons la nouvelle association de molécules que nous avons choisi d'étudier : la corifollitropine alpha combinée à l'hp-hMG (highly purified - human menopausal gonadotrophin).

## I. PHYSIOLOGIE OVARIENNE

### A. AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-OVARIEN

Le cycle menstruel d'une femme normo-ovulante, dont la durée moyenne est de 28 jours (26 – 34 jours), comprend deux phases successives que sont **la phase folliculaire** (12 à 20 jours) et **la phase lutéale** (14 jours) séparées par l'événement capital qu'est l'ovulation. Les cycles se suivent et sont interdépendants les uns des autres. Les modifications hormonales nécessaires au déroulement des différentes phases impliquent une bonne coordination des éléments de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.

**À l'étage hypothalamique**, les neurones à GnRH (gonadotropin releasing hormone), après différenciation au sein de la placode olfactive, migrent dans le noyau arqué et les noyaux de l'hypothalamus antérieur. Ces neurones sont doués d'une propriété intrinsèque caractéristique : ils sécrètent de manière autonome de la GnRH. Cette sécrétion est dite « pulsatile » car discontinue et rythmique. La pulsatilité peut être modulée de manière directe ou indirecte par des facteurs endogènes ou exogènes. La GnRH libérée dans la circulation sanguine agit de manière quasi exclusive au niveau de l'hypophyse antérieure sur les cellules cibles gonadotropes.

**À l'étage hypophysaire**, la GnRH se fixe sur ses récepteurs spécifiques transmembranaires à la surface des cellules gonadotropes dans le lobe antérieur de l'hypophyse. Elle entraîne la biosynthèse et la libération par exocytose des deux gonadotrophines (*Figure 1*) : la FSH (follicle stimulating hormone) et la LH (luteinizing hormone). La pulsatilité de la sécrétion de GnRH est nécessaire pour le bon fonctionnement des activités de synthèse-sécrétion des cellules gonadotropes ; en effet une administration continue de GnRH bloque la sécrétion de FSH et LH par un mécanisme de désensibilisation appelé « down regulation ».

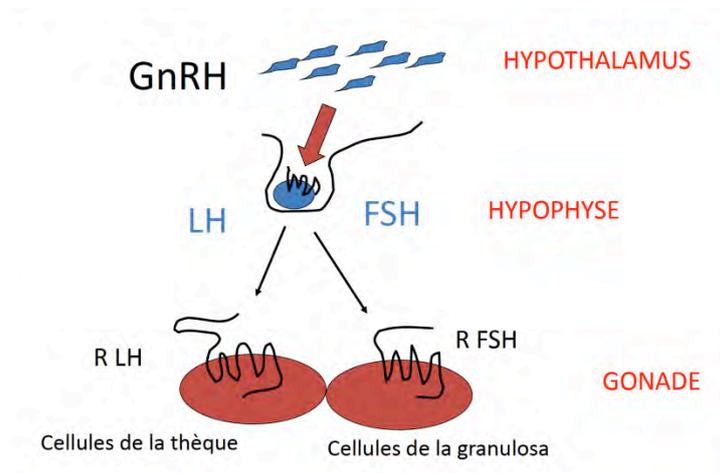


Figure 1. Schéma de l'axe hypothalamo-hypophysaire-ovarien (extrait d'un enseignement du Pr Sophie Christin-Maître lors du DESC de médecine de la reproduction en mai 2016)

La FSH et la LH sont des glycoprotéines hétérodimériques constituées de deux sous-unités : une alpha qui leur est commune et une beta spécifique. C'est donc la sous-unité beta qui apporte à ces hormones leurs spécificités biologiques et immunologiques. Leur demi-vie est de 60 minutes environ pour la FSH et 20 minutes pour la LH, ce qui permet de réaliser des dosages sanguins de ces hormones, contrairement à la GnRH (demi-vie 2-8 minutes).

**Enfin à l'étage ovarien**, les récepteurs de la FSH et de la LH sont situés sur les follicules ovariens qui se trouvent dans le cortex en périphérie de l'ovaire. Les follicules ovariens contiennent plusieurs unités fonctionnelles : l'ovocyte bloqué en prophase I de méiose au stade diplotène (ovocyte I) ainsi que la granulosa et la thèque qui contiennent des cellules stéroïdogènes dont l'activité est régulée par les gonadotrophines hypophysaires.

La « **théorie bicellulaire** » décrit leurs relations : la FSH agit sur la granulosa et la LH sur la thèque interne ainsi que sur la granulosa en fin de phase folliculaire (*Figures 2*). Lors de la première phase du cycle ovarien dite « folliculaire », les follicules ovariens synthétisent majoritairement des œstrogènes mais également des androgènes (androstènedione et testostérone). Pendant la seconde phase du cycle, la phase « lutéale », qui fait suite à l'ovulation, c'est le corps jaune issu du remaniement du follicule ovulatoire qui va sécréter de la progestérone, des œstrogènes et un peu d'androgènes.

La stéroïdogénèse a pour précurseur le cholestérol, qui est transformé en progestérone dans les cellules de la granulosa. La progestérone est ensuite transportée vers les cellules de la thèque interne où elle devient à son tour précurseur pour la synthèse des androgènes. Ceux-ci sont réacheminés vers les cellules de la granulosa où ils subissent le processus d'aromatisation aboutissant à la production des œstrogènes (*Figure 3*).

La coordination de ces sécrétions hormonales est sous-tendue par des mécanismes de rétrocontrôles positifs et négatifs ou « feed-back » aux étages hypothalamo-hypophysaires.

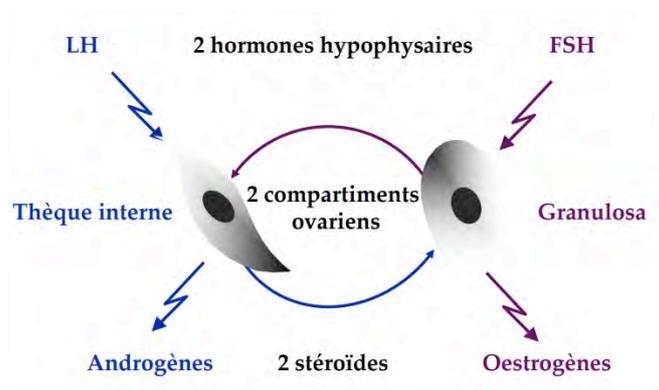


Figure 2. Schéma simplifié de la théorie bicellulaire (extrait d'un enseignement du Pr JN Hugues lors du DESC de médecine de la reproduction en mai 2016)

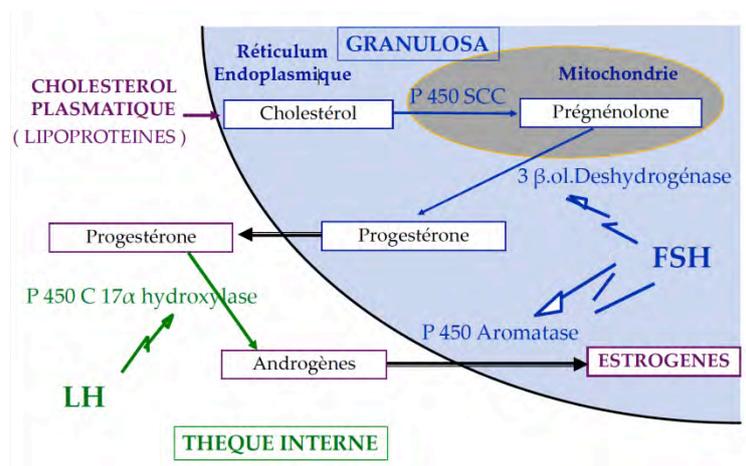


Figure 3. Stéroïdogénèse ovarienne : théorie bicellulaire (extrait d'un enseignement du Pr JN Hugues lors du DESC de médecine de la reproduction en mai 2016)

Le récepteur de la LH situé dans les follicules est également sensible à une autre gonadotrophine non hypophysaire : l'hCG (human chorionic gonadotropin), sécrétée par le trophoblaste. C'est aussi une hormone hétérodimérique dont la sous unité beta comporte 82% d'homologie avec celle de la LH.

Les follicules ovariens sécrètent aussi des glycoprotéines comme les inhibines qui jouent un rôle dans la folliculogénèse. Par exemple l'inhibine B, sécrétée en réponse à la FSH par les cellules de la granulosa des follicules préantraux et des petits follicules antraux en phase folliculaire, ou l'inhibine A sécrétée par le corps jaune en phase lutéale.

## B. LE CYCLE MENSTRUEL

### 1. FOLLICULOGENESE

La folliculogénèse humaine est un phénomène complexe, caractérisé par la sélection folliculaire. C'est un processus long, cyclique et très sélectif dont certains mécanismes sont encore incomplètement élucidés.

Les follicules ovariens commencent à se former in utero vers le 4<sup>e</sup> mois de grossesse lorsque les ovogonies entrent en mitose, puis vers le 6<sup>e</sup> mois ils entrent en première phase de méiose. Au 7<sup>e</sup> mois de grossesse, les ovocytes bloqués au stade de prophase I sont près de 7 millions dans les ovaires fœtaux. Puis des phénomènes d'apoptose débutent et on ne compte plus à la naissance que 400 000 à 500 000 follicules par ovaire. Le processus d'atrésie se poursuit tout au long de la vie génitale de la femme avec une grande variabilité interindividuelle. Au cours de cette période d'activité génitale, on assiste à environ 500 processus d'ovulation. La ménopause se manifeste en dessous d'un seuil de 1000 follicules au total.

Plusieurs types de follicules sont observables au sein de l'ovaire (*Figure 4*) :

- **Les follicules primordiaux** (diamètre 40µm) sont formés par un ovocyte I entouré de quelques cellules somatiques aplaties (précurseurs de la granulosa).
- **Les follicules primaires** (diamètre 50µm) dans lesquels l'ovocyte I est entouré d'une membrane hyaline (début de la zone pellucide) et d'une assise de cellules de la granulosa cubiques. La vésicule germinative entre en croissance (diamètre 20µm environ).
- **Les follicules secondaires préantraux** (60-180µm) dans lesquels plusieurs couches de cellules de la granulosa entourent l'ovocyte et sont en contact avec lui par des jonctions communicantes (gap junctions). Elles acquièrent leurs caractéristiques de cellules endocrines pour la stéroïdogénèse. Le stroma périphérique se différencie en thèque interne contenant des cellules de la stéroïdogénèse, et en thèque externe qui est un tissu conjonctif de protection du follicule. Lorsque qu'un follicule secondaire atteint 150µm de diamètre, il est appelé « préantral ». Les récepteurs de la FSH et de la LH commencent à apparaître.
- **Les follicules antraux** (1 à 20mm de diamètre) sont les follicules qui vont entrer en croissance au cours du cycle menstruel. Celle-ci est due à un accroissement de la taille ovocytaire d'une part, ainsi qu'à la multiplication des cellules de la granulosa d'autre part. Ces cellules produisent un fluide extracellulaire (le liquide folliculaire citrin) qui conflue pour former une cavité unique : l'antrum.

- Enfin le follicule mature, pré-ovulatoire ou de « de Graaf » (environ 20mm de diamètre). L'ovocyte y fait saillie dans la cavité antrale qui occupe la majorité du volume folliculaire. Il est au contact d'un amas de cellules de la granulosa appelé le « cumulus oophorus », et est entouré d'une couche de cellules formant la « corona radiata ».

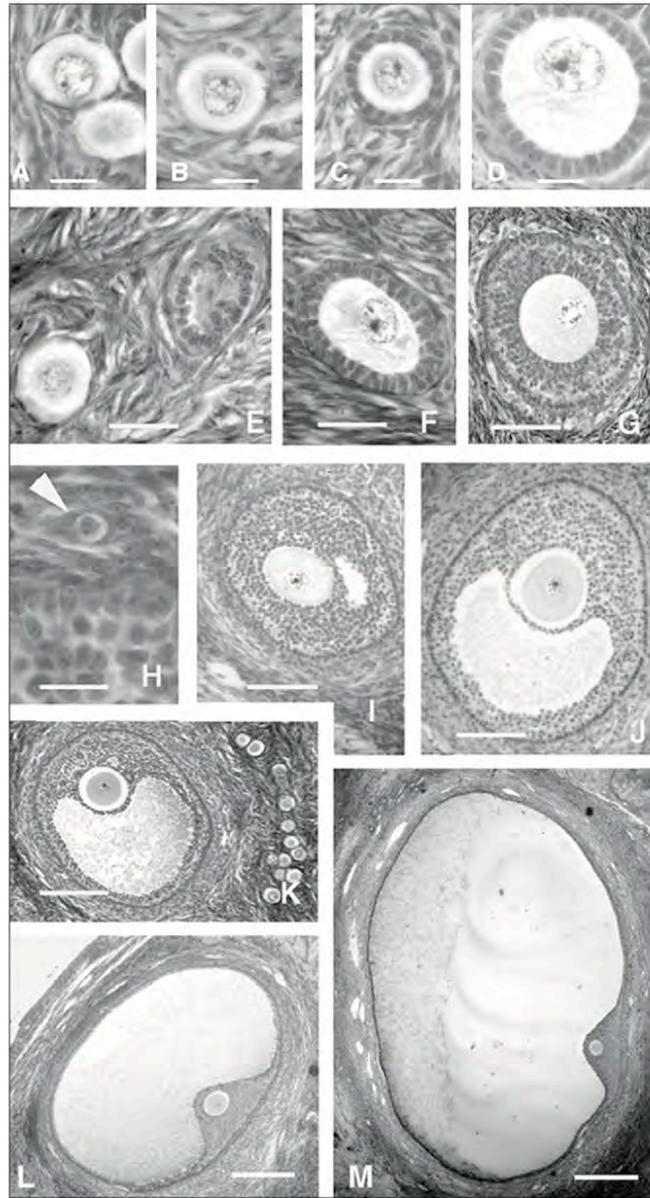


Figure 4. Aspects morphologiques des follicules ovariens d'après les travaux d'A. Gougeon (unité INSERM U 1052, Lyon) A, B : primordial et intermédiaire ; C, D : primaires petit et grand ; E : primaire atretique (sans ovocyte) ; F, G : secondaire entouré de deux couches de cellules (F) et secondaire pré-antral (G) ; H : cellule épithélioïde dans la thèque interne d'un follicule pré-antral ; I, J, K et L : follicules à antrum débutant puis en croissance, M : follicule mature.

Au sein des ovaires, des cohortes de follicules primordiaux entrent en croissance de manière régulière suite à un processus continu : « le recrutement initial », qui dure plus de 120 jours. Le follicule qui ovule au 14<sup>e</sup> jour d'un cycle menstruel, a en réalité initié sa croissance environ trois cycles auparavant.

La majorité des follicules primordiaux ayant entamé ce processus de recrutement initial entreront néanmoins en atrophie (*Figure 5*).

La croissance folliculaire « basale » jusqu'au stade antral est **indépendante des gonadotrophines** et régulée principalement par des facteurs à effet autocrine et paracrine sécrétés par l'ovocyte et la granulosa. Parmi les plus connus, ceux de la famille du TGF- $\beta$  : GDF-9, BMP-15, FOXL2 sécrétés par l'ovocyte et l'AMH (anti-mullerian hormone) sécrétée par la granulosa. Cette dernière hormone exerce de plus un effet indirect négatif sur la croissance des follicules pré-antraux en inhibant l'action de la FSH.

La suite de la croissance folliculaire est dite « régulée », **sous la dépendance des gonadotrophines hypophysaires FSH et LH** ; on parle de « **recrutement cyclique** ». Cependant des facteurs intra-ovariens paracrines et autocrines restent nécessaire à cette phase. Il faudra environ 70 jours pour que le follicule secondaire passe au stade antral. Une cohorte de follicules antraux est recrutée à chaque cycle, dont la plupart entreront en atrophie. Le follicule dominant est issu de cette cohorte (*Figure 6*).

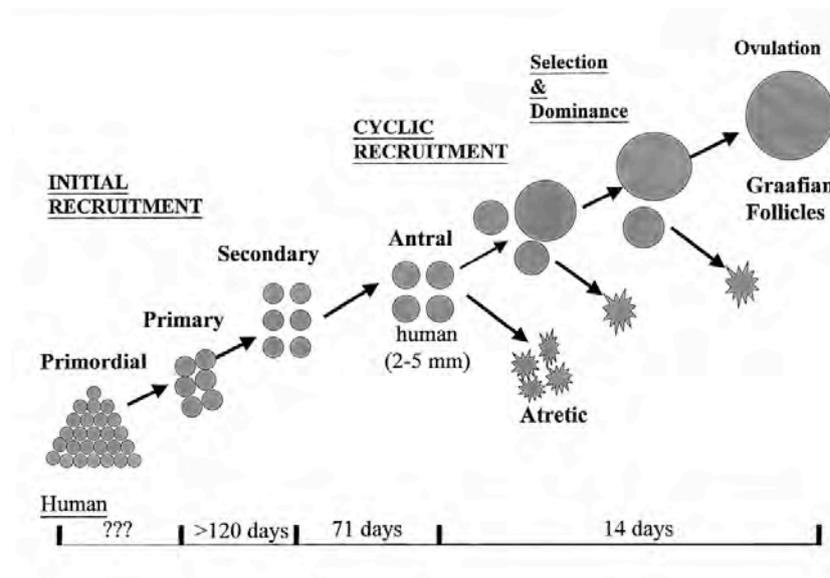


Figure 5. Recrutement folliculaire et processus de sélection dans l'ovaire (d'après McGee and Hsueh, 2000)

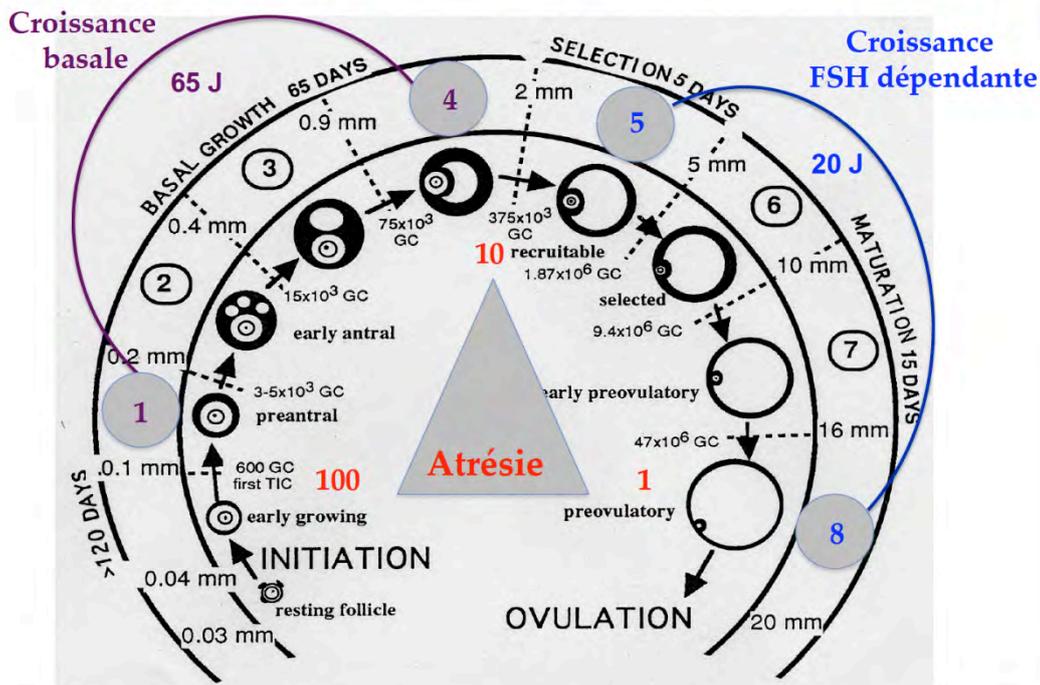


Figure 6. Classification des follicules du stade pré-antral au stade pré-ovulatoire. La durée de croissance basale est de 65 jours, celle régulée par les hormones gonadotropes de 20 jours. L'atrésie folliculaire est permanente : sur les 100 follicules de classe 1, seuls 10 atteindront la classe 5 et un seul la classe 8. (Figure issue des travaux d'A. Gougeon, unité INSERM U 1052, Lyon).

La croissance folliculaire régulée se décompose en trois phases dans les jours précédant l'ovulation.

- **Phase folliculaire précoce : recrutement folliculaire** (1<sup>e</sup> au 7 jour du cycle)

Chaque mois, une cohorte d'une dizaine de follicules antraux par ovaire arrive au terme de la phase « gonadotrophine indépendante ». Leur recrutement est initié en fin de phase lutéale du cycle précédent, du fait exclusif de la FSH. En effet, la concentration de cette hormone s'élève progressivement 10 jours après le pic plasmatique de LH du cycle précédent, soit environ 4 jours avant le début des menstruations. C'est la conséquence de l'apoptose du corps jaune en l'absence de grossesse. La chute de la sécrétion d'estradiol et d'inhibine A lève le rétrocontrôle négatif hypophysaire exercé sur la FSH et la chute de la progestérone permet une augmentation de la fréquence et de l'amplitude des pulses de GnRH. On parle « d'ouverture de la fenêtre de recrutement par la FSH ».

- **Sélection folliculaire** (8<sup>e</sup> jour environ)

La FSH se fixe sur les cellules de la granulosa et va stimuler la croissance folliculaire de manière asynchrone. En effet, l'une des particularités de la folliculogenèse dans l'espèce humaine est que chaque follicule possède une sensibilité différente à la FSH : c'est la notion de « seuil » de FSH. Le

premier follicule à émerger de la cohorte est le plus « sensible » à la FSH, soit celui dont le « seuil » est le plus bas. Ce follicule sélectionné mesure environ 10mm de diamètre au 8<sup>e</sup> jour du cycle. Les autres follicules moins sensibles continuent leur croissance tant que le taux de FSH s'élève.

- **Phase folliculaire tardive : dominance du follicule sélectionné** (8<sup>e</sup> au 14<sup>e</sup> jour)

Les cellules de la granulosa des follicules en croissance produisent de l'estradiol et de l'inhibine B qui vont induire une diminution de la FSH plasmatique par rétrocontrôle négatif hypophysaire. Cette diminution provoque la « **fermeture de la fenêtre de FSH** ». Alors, dès que le taux de FSH passe en dessous du seuil de sensibilité d'un follicule, celui-ci entre en atresie. Seul le follicule dominant sélectionné échappe au phénomène d'apoptose (*Figure 7*).

Le processus de maturation et de dominance dépendant de la FSH et de la LH se met alors en place pour que le follicule dominant atteigne le stade mature ou pré-ovulatoire.

La FSH continue de stimuler la croissance folliculaire en agissant sur les cellules de la granulosa. La LH agit quant à elle à la fois sur les cellules de la thèque interne et sur celles de la granulosa qui acquièrent des récepteurs spécifiques au fur et à mesure de la différenciation folliculaire. C'est la « **théorie bicellulaire** » qui témoigne de la **complémentarité** des deux compartiments folliculaires et de la **synergie** des deux gonadotrophines :

- La FSH contribue au recrutement folliculaire et aux phénomènes de sélection/dominance,
- La LH est nécessaire à une stéroïdogénèse complète et à l'ovulation du follicule sélectionné.

Des facteurs paracrines sont également nécessaires au bon déroulement de la phase folliculaire. Parmi eux l'on peut citer :

- le GDF9 produit par les ovocytes I, qui intervient dans la communication entre l'ovocyte et les cellules folliculaires (Elvin *et al.*, 1999) ;
- l'AMH (hormone anti-müllérienne) produite par le pool des follicules en croissance, qui semble exercer un effet inhibiteur sur le recrutement des follicules primordiaux et diminuer la sensibilité à la FSH des follicules en croissance (Themmen, 2005) ;
- l'inhibine B qui stimule la croissance et la maturation folliculaire ainsi que la synthèse des androgènes par la thèque interne.

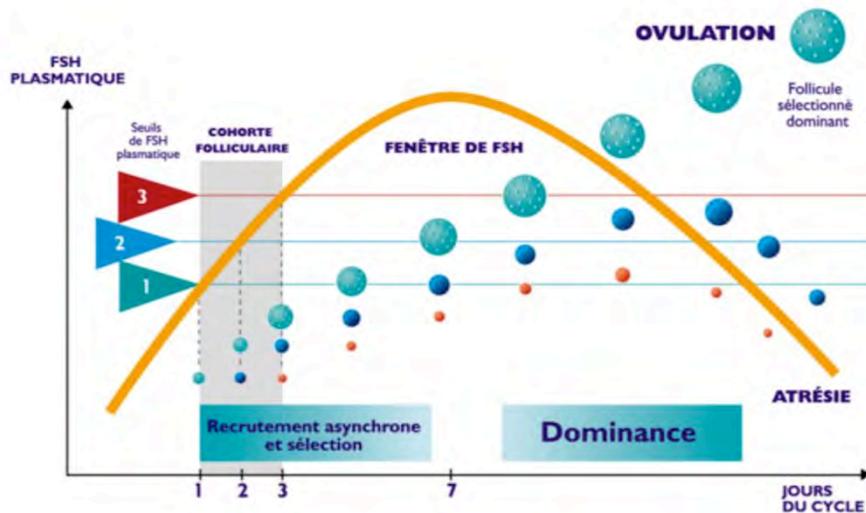


Figure 7. Concept de « seuil » et de la « fenêtre de FSH ». Le recrutement folliculaire est asynchrone : le follicule 1 qui a un seuil bas est recruté plus tôt que les follicules 2 et 3 qui sont moins sensibles. La décroissance progressive de la FSH plasmaticque ferme la fenêtre de recrutement. Cela affecte la croissance folliculaire d'autant plus tôt que le seuil de FSH est élevé. Seul le follicule le plus sensible poursuit sa croissance jusqu'à maturité. (Figure issue d'un enseignement du Pr J.-N. Hugues lors du DESC de médecine de la reproduction, mai 2016).

## 2. OVULATION

Au cours de la phase folliculaire, l'élévation progressive de l'estradiol plasmaticque provoque l'accélération de la pulsativité de la sécrétion de GnRH (environ toutes les 60 minutes au lieu de 90 minutes) et une augmentation de la sensibilité des cellules gonadotropes antéhypophysaires. Ceci provoque vers le 14<sup>e</sup> jour du cycle, **un pic plasmaticque de LH** (précédé d'un pic moins marqué de FSH).

Celui-ci permet la reprise de la méiose ovocytaire jusqu'en métaphase II, l'achèvement de la maturation de l'ovocyte qui devient prêt à une éventuelle fécondation et la dissociation des cellules du cumulus oophorus permettant à l'ovocyte de « flotter » dans le liquide folliculaire. Dans un second temps, environ 36 à 40 heures après le pic, on assiste à la rupture de la paroi folliculaire et de l'apex du cortex ovarien : le complexe cumulo-ovocytaire est expulsé vers la trompe et peut survivre 24 à 48h en attendant une éventuelle fécondation.

## 3. PHASE LUTEALE

Après ce phénomène d'ovulation, la pulsativité de la GnRH ralentit (toutes les 3-4 heures environ) ce qui permet de maintenir une sécrétion pulsatile de LH qui va entraîner la transformation du follicule rompu en **corps jaune**. La lutéinisation des cellules de la granulosa est indispensable à sa formation. Celui-ci sécrète de la progestérone, de l'estradiol, de l'inhibine A et des androgènes. Sa

durée de vie est de 14 jours maximum, délai au-delà duquel, en l'absence de grossesse, il entre en apoptose : c'est la **lutéolyse**. La baisse des taux d'estradiol et d'inhibine A permet alors l'ouverture de la fenêtre de FSH comme décrit précédemment ; alors que la diminution de la progestérone induit les menstruations (*Figure 8*).

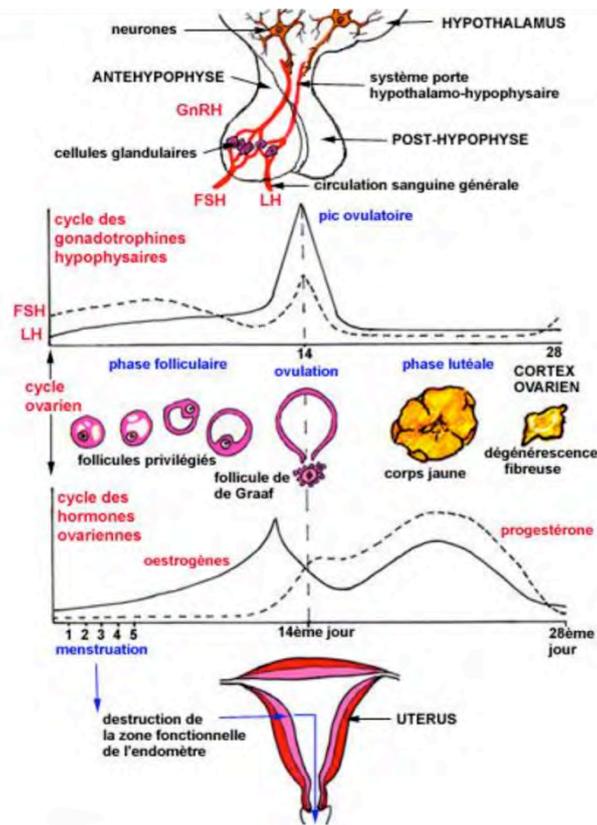


Figure 8. Schéma général du cycle menstruel. Source : site internet du CNGOF (Collège national des gynécologues et obstétriciens français).

#### 4. CINÉTIQUE ENDOMETRIALE

Au cours du cycle menstruel, l'endomètre subit des variations histologiques dues aux différents climats hormonaux. Lors de la phase folliculaire, sous l'effet de l'élévation du taux d'estradiol, l'endomètre est en phase de croissance : on parle d'endomètre de **type « prolifératif »**. Après l'ovulation, en phase lutéale, la progestérone produite par le corps jaune s'oppose à l'effet des estrogènes et freine la croissance endométriale. De plus, elle prépare l'endomètre à une éventuelle nidation par plusieurs modifications histologiques : les glandes endométriales deviennent contournées, la vascularisation s'enrichit (développement des artères utérines avec des petites

branches spiralées : les artères hélicines) et les fibroblastes du tissu conjonctif endométrial se différencient en cellules pré-déciduales. On parle alors d'endomètre de **type « sécrétoire »**.

Il existe une phase de quelques jours pendant laquelle l'endomètre réunit toutes les caractéristiques pour interagir avec un embryon et initier le processus de nidation : c'est la « **fenêtre d'implantation** » (Psychoyos, 1993; Aplin, 2000; Perrier D'Hauterive *et al.*, 2002). Chez une femme ayant un cycle menstruel de 28 jours cette fenêtre se situe entre le 20<sup>e</sup> et le 24<sup>e</sup> jour du cycle approximativement. En dehors de cette période, l'endomètre est réfractaire à toute implantation (Acosta *et al.*, 2000).

En l'absence de fécondation, la lutéolyse du corps jaune en fin de phase lutéale provoque une diminution brutale des taux de progestérone, ce qui déclenche les menstruations.

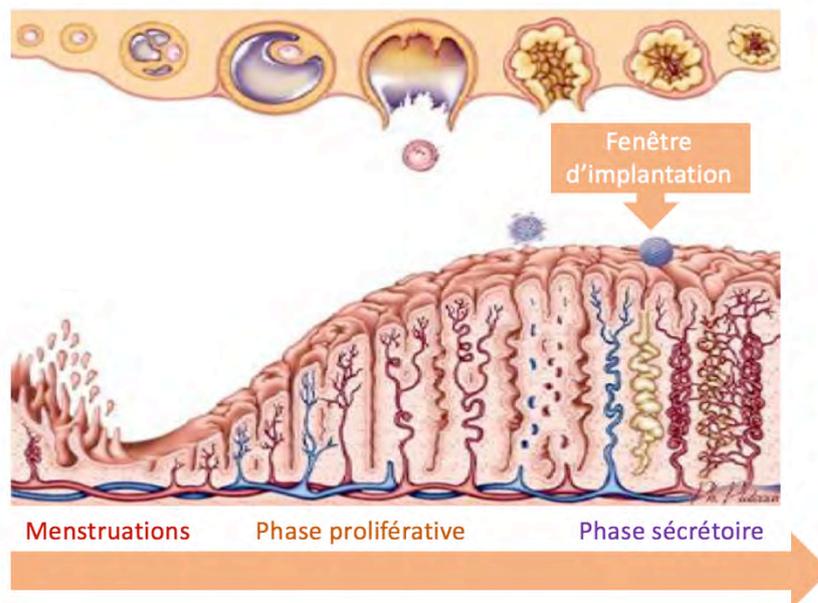


Figure 9. Variations cycliques endométriales et fenêtre d'implantation (Figure issue d'un enseignement du Dr G.Robin lors des cours du DESC de médecine de la reproduction, mai 2017).

## II. LA STIMULATION OVARIENNE EN FECONDATION IN VITRO

### A. PRINCIPE GENERAL

La stimulation ovarienne dans le cadre d'une fécondation in vitro a pour objectifs d'initier et de soutenir artificiellement la croissance de plusieurs follicules jusqu'à ce qu'ils soient matures pour une ovulation. Contrairement à l'ovulation naturelle ou aux stimulations simples de l'ovulation, le but est d'obtenir **une réponse multi-folliculaire** afin de disposer de plusieurs ovocytes à l'issue de la ponction pour réaliser la fécondation in vitro et pouvoir optimiser les chances de grossesse du couple. Comme décrit précédemment, la croissance folliculaire est sous la dépendance des gonadotrophines

hypophysaires en première partie du cycle ovulatoire. Ceci permet aux cliniciens de médecine de la reproduction, en manipulant l'administration de gonadotrophines, de recruter des follicules qui iraient sinon vers l'atrésie : c'est le principe des **hyperstimulations ovariennes contrôlées** utilisées en FIV.

La prise en charge des couples en fécondation in vitro comporte plusieurs étapes clés : la stimulation ovarienne qui dure 10 à 14 jours, puis le déclenchement de l'ovulation, le recueil ovocytaire par ponction sous échographie endovaginale (35 à 38 heures après le déclenchement) , s'en suit une phase de quelques jours au laboratoire pour la culture embryonnaire (2 à 5 jours) et enfin le transfert embryonnaire en cas de succès.

Le transfert embryonnaire doit être réalisé au plus tard six jours après le déclenchement de l'ovulation, au cours de la période décrite ci-dessus appelée « fenêtre d'implantation ». Cette notion est très importante en fécondation in vitro. En effet, un transfert d'embryon réalisé en dehors de cette période optimale risque de diminuer les chances de grossesse de la patiente. Ainsi, il faut être vigilant lors des cycles d'hyperstimulation ovarienne contrôlée et surveiller les taux plasmatiques de progestérone qui est actuellement le marqueur utilisé pour dépister les « désynchronisations » de l'endomètre. Il est décrit par la majorité des auteurs qu'un taux supérieur à 1,5ng/l avant le déclenchement de l'ovulation est péjoratif (Orvieto *et al.*, 2013).

Les techniques d'aide médicale à la procréation (AMP) se sont beaucoup développées depuis une trentaine d'années, et l'on dispose actuellement de plusieurs schémas thérapeutiques que l'on appelle « **protocoles** » de stimulation. Dans ces protocoles, différentes associations d'hormones peuvent être utilisées et nous présentons ici un court récapitulatif historique de leur apparition pour mieux introduire ensuite la nouvelle association de molécules faisant l'objet de notre étude.

## B. HISTORIQUE DES MOLECULES UTILISEES POUR LES STIMULATIONS OVARIENNES

### 1. LES GONADOTROPHINES

Bien que le premier bébé issu d'une fécondation in vitro (Louise Brown, 1978) soit née à la suite d'une FIV en cycle naturel, les chances de succès sont grandement améliorées depuis l'utilisation des stimulations multi-folliculaires. Les principales hormones utilisées en stimulation ovarienne sont les gonadotrophines hypophysaires FSH et LH. Ces hormones peptidiques (glycoprotéines) hétérodimériques appartiennent à la même famille que l'hCG et la TSH (thyroid stimulating hormone). La sous unité alpha est commune à cette famille d'hormones, alors que la sous unité beta est spécifique à chacune d'elles et leur confère leurs propriétés biochimiques (*Figure 10*).

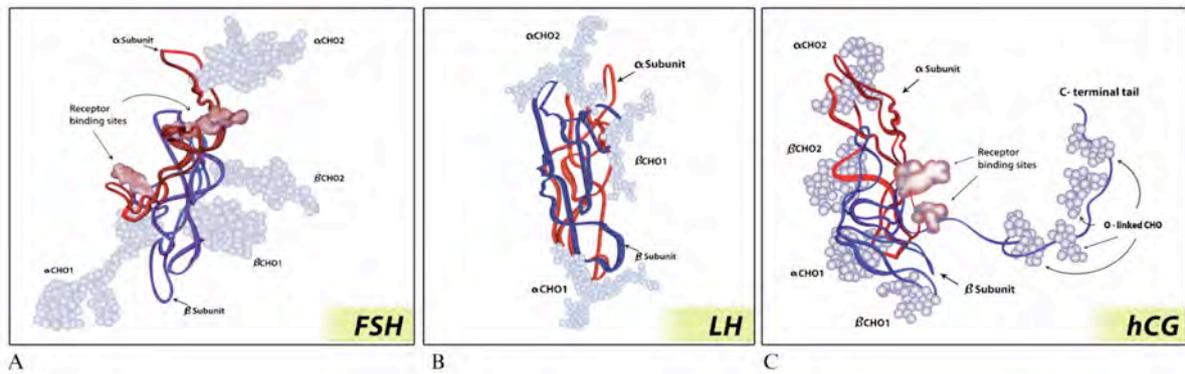


Figure 10. Schéma en trois dimensions de la composition chimique des hormones FSH, LH et hCG. Les sous-unités alpha sont représentées en rouge. Les sous-unités beta spécifiques sont représentées en bleu. La FSH (A) possède 4 sites de liaison carbohydrates (deux dans chaque sous-unité). La LH (B) ne comporte qu'un site carbohydrate sur sa sous-unité beta. L'hCG (C) a des similitudes structurales avec la LH et a la particularité de posséder un long segment carboxy-terminal O-glycosylé lui conférant une demi-vie prolongée (d'après Leão et al., 2014).

Au début du 20<sup>e</sup> siècle, des extraits hypophysaires de juments gravides étaient utilisés pour restaurer l'ovulation chez les patientes en insuffisance hypophysaire. Ce n'est plus le cas de nos jours.

La première induction d'ovulation à l'aide de FSH dérivée d'hypophyse humaine a été décrite par Gemzell *et al.*, (Gemzell *et al.*, 1958). Les gonadotrophines hypophysaires d'origine humaine ont ensuite été utilisées pendant des années bien que les quantités disponibles soient très limitées. Puis dans les années 1990, l'émergence du risque de la maladie à prions (ou maladie de Creutzfeldt-Jacob) a entraîné la suppression de l'utilisation de ces substances.

La première alternative aux gonadotrophines d'origine hypophysaire a été celle des **gonadotrophines d'origine urinaire** (issues d'urines de femmes ménopausées) (Lunenfeld, 2004) : c'est la découverte de l'**hMG** (human menopausal gonadotrophin). Dans un premier temps, les préparations ne contenaient qu'une faible proportion de FSH pure (<5%) et une activité LH importante, ainsi que des protéines urinaires potentiellement immunogènes. Des recherches ont donc été réalisées pour produire de l'hMG hautement purifiée : l'actuelle hp-hMG contient ainsi plus de 95% de FSH, tout en conservant une part d'activité LH. La quantité d'hormone purifiée à administrer est dans le même temps devenue inférieure, permettant la réalisation d'injections sous cutanées.

Actuellement, cette hormone d'origine urinaire purifiée est commercialisée en France sous les noms de ménotropine (Menopur® chez Ferring, Fertistart® chez Genevrier) et urofollitropine (Fostimon® chez Genevrier). (Figure 11).



Figure 11. Présentation commerciale des principales FSH d'origine urinaire

Les progrès réalisés en fécondation in vitro et l'augmentation croissante des couples pris en charge a accru la demande pour ce type de traitement, avec la problématique du recrutement des donneuses, ainsi que des exigences en termes de qualité et de sécurité des préparations.

On a donc vu émerger les techniques de production à partir d'ADN recombinant qui ont permis la synthèse de la **FSH recombinante (FSHr) pure** à partir de la séquence du gène humain de cette glycoprotéine. La première préparation de FSHr a été commercialisée en 1996 (Howles, 1996; de Leeuw *et al.*, 1996; Olijve *et al.*, 1996). Ces produits sont hautement purifiés, contenant plus de 99% de FSH. Plusieurs molécules sont actuellement disponibles (Figure 12) : la follitropine alpha (Gonal-F® chez Merck-Serono, et ses bio-similaires Bemfola® chez Gedeon-Richter et Ovaleap® chez Teva) ou bien la follitropine beta (Puregon® chez MSD).



Figure 12. Présentation commerciale de quelques FSH recombinantes

Il faut également mentionner l'utilisation complémentaire dans certains cas de **LH recombinante (LHr)**. La molécule commercialisée est la lutropine alpha (Luveris® chez Merck-Serono). Certains

laboratoires ont développé des associations de molécules (FSHr + LHr) visant à réduire le nombre d'injections pour les patientes (Pergoveris® chez Merck-Serono). (Figure 13).



Figure 13. Présentation commerciale de la lutropine alpha et d'une association de molécules (FSHr+LHr).

Toutes ces gonadotrophines, qu'elles soient urinaires ou recombinantes, sont administrées par voie sous-cutanée, et nécessitent des injections quotidiennes pendant toute la durée de la stimulation. L'administration régulière de FSH évite la « fermeture de la fenêtre de recrutement » décrite précédemment, permettant ainsi le développement de plusieurs follicules. Le pic plasmatique de FSH survient environ 10-12h après une injection sous cutanée puis décroît jusqu'à l'injection suivante. La demi-vie relativement courte des FSHr (30 heures environ) nécessite des injections quotidiennes pour éviter une décroissance du taux plasmatique de FSH. Le seuil plasmatique stable n'est atteint qu'après 3 à 5 jours d'injections ; c'est pourquoi il n'est pas utile de modifier les doses avant ce délai.

## 2. LES ANALOGUES DE LA GNRH

Un des risques de l'hyperstimulation ovarienne contrôlée par gonadotrophines est d'être confronté à une élévation des concentrations sanguines de LH endogène pouvant provoquer un arrêt de la croissance folliculaire, une lutéinisation précoce d'un ou plusieurs follicules voire une ovulation spontanée avant le stade de maturité folliculaire attendu pour le recueil ovocytaire.

Ce problème a pu être résolu grâce à l'utilisation d'analogues de la GnRH qui entraînent une « désensibilisation hypophysaire ».

Il en existe deux types : les agonistes et les antagonistes de la GnRH (Figure 14).

- **Les agonistes de la GnRH** se fixent de façon non compétitive sur les récepteurs de la GnRH jusqu'à les « saturer », ce qui entraîne une sécrétion endogène importante d'hormones dans un premier temps (effet « flare-up ») avant de produire l'effet souhaité de désensibilisation (par « down-regulation » du récepteur de la GnRH). Leur administration doit donc être réalisée avant

le début de la stimulation ovarienne qui est ensuite débutée après la période de désensibilisation. L'hypophyse étant mise « au repos », il n'y a pas de risque d'élévation de LH intempestive. En revanche, les doses de FSH nécessaires à la stimulation sont parfois supérieures avec ce type de protocole.

- **Les antagonistes de la GnRH** agissent quant à eux de façon compétitive avec la GnRH endogène sur les récepteurs. En empêchant la fixation de la GnRH endogène, ils permettent d'éviter l'effet « flare-up », et la désensibilisation hypophysaire a lieu plus rapidement qu'avec les agonistes (quelques heures suivant l'injection). Plusieurs avantages sont donc tirés de ce traitement adjuvant : il peut être administré de façon concomitante à la stimulation ovarienne, seulement lorsque les taux de LH risquent de s'élever (milieu ou fin de phase folliculaire) et n'engendrent pas d'augmentation des besoins en gonadotrophines.

Les agonistes peuvent être utilisés dans une autre indication : ils présentent un intérêt pour le déclenchement de l'ovulation en cas de risque d'hyperstimulation ovarienne, en remplacement de l'injection d'hCG (c'est alors l'effet « flare-up » qui est utilisé) au cours d'un protocole antagoniste.

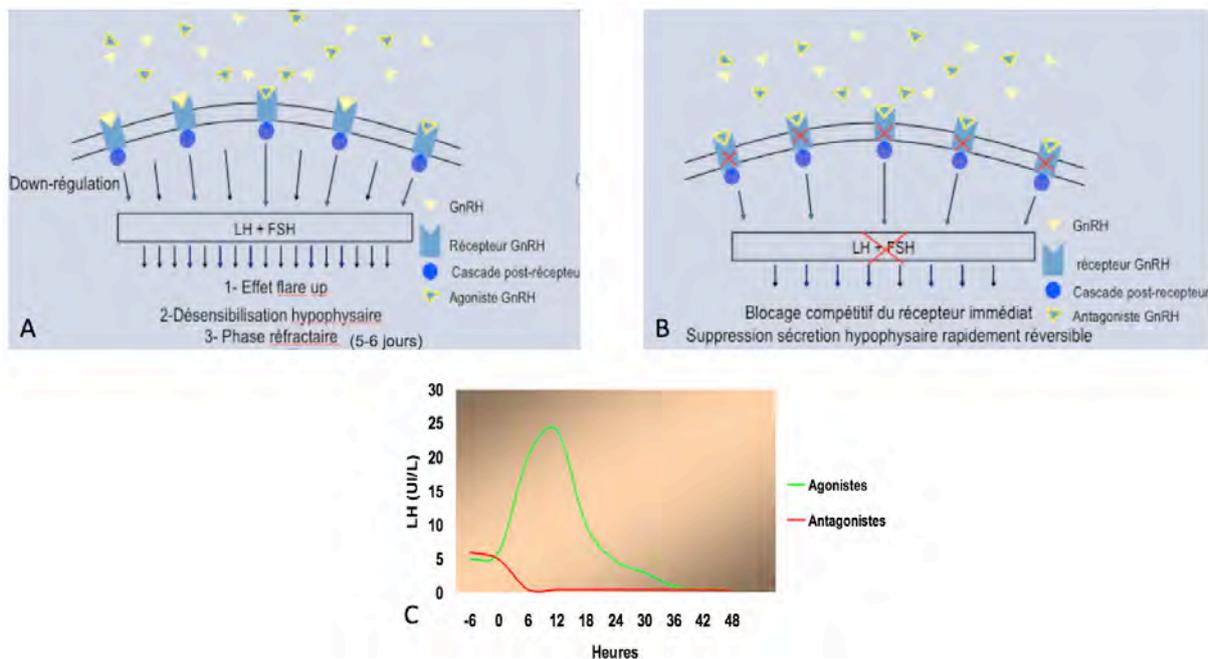


Figure 14. Mécanisme d'action des analogues de la GnRH : Agonistes (A), liaison non compétitive au récepteur, effet « flare-up ». Antagonistes (B), liaison compétitive au récepteur de la GnRH. (C) Courbe représentant les taux plasmatiques de LH après injections d'agoniste (en vert) ou d'antagoniste de la GnRH (en rouge). (Figures issues d'un enseignement du Dr Lefebvre T., CHU de Nantes).

### III. NOTION DE « RESERVE OVARIENNE »

#### A. DEFINITION

Contrairement aux hommes dont la spermatogenèse est un processus continu, les femmes naissent avec un « stock » de follicules dans chaque ovaire qui est sujet à une variabilité interindividuelle importante. Celui-ci se constitue dans les premières semaines de vie embryonnaire puis décroît dès la période fœtale in utéro et ce tout au long de la vie de la femme à une vitesse plus ou moins rapide, jusqu'à la ménopause. C'est ce « stock » de follicules ovariens que l'on appelle « réserve ovarienne ».

Les doses de gonadotrophines utilisées pour les stimulations ovariennes doivent être ajustés à la réserve ovarienne de chaque patiente.

La réserve ovarienne, telle qu'elle est évaluée dans le bilan décrit par la suite, n'est pas le reflet de la totalité des follicules ovariens disponibles, mais plutôt de ceux capables d'entrer en croissance lors d'une stimulation par gonadotrophines. En revanche, cette notion de réserve n'est pas le seul élément prédictif des chances de grossesse de la patiente qui dépendent également d'autres facteurs (âge, qualité ovocytaire, réceptivité endométriale).

La réserve ovarienne s'évalue par trois principaux marqueurs : le compte des follicules antraux (CFA), l'hormone anti-müllérienne (AMH) et le couple FSH/estradiol.

#### B. LE COMPTE DES FOLLICULES ANTRAUX (CFA)

Cette donnée est mesurée par échographie endovaginale, le plus souvent en début de cycle (J3-J5). La petite cavité antrale caractéristique des follicules à ce stade permet de les repérer sous forme d'images rondes anéchogènes de 2 à 9 mm réparties dans le parenchyme ovarien. Ainsi on peut obtenir un score : **le CFA** (considéré normal pour les valeurs de 5 à 12 follicules par ovaire). Celui-ci est considéré comme étant un reflet du nombre de follicules primordiaux présents à un moment donné dans les ovaires.

Il est habituel de procéder à l'évaluation du CFA en début de cycle, bien que celui-ci ne varie pas au cours du cycle menstruel. Cependant, il est techniquement plus aisé à réaliser dans la première semaine du cycle afin de ne pas être gêné par la présence d'un follicule dominant ou d'un corps jaune.

L'interprétation de ce score doit être prudente en raison de plusieurs facteurs d'erreur possibles : le manque de reproductibilité inter-opérateur, le degré de précision variable selon l'appareil utilisé et la

confusion possible entre les follicules antraux et les follicules atrétiques que l'on ne peut pas distinguer avec les échographes actuels. Des systèmes permettant un comptage automatique à partir d'une reconstruction tridimensionnelle de l'ovaire sont à l'étude.

### C. L'HORMONE ANTI-MÜLLERIENNE (AMH)

L'AMH est produite dans deux circonstances différentes : d'une part dans la gonade masculine primitive au cours de la vie fœtale (elle entraîne alors la régression du système müllérien chez l'homme) ; d'autre part elle est sécrétée par les petits follicules en croissance dans l'ovaire et peut être dosée dans le bilan de réserve ovarienne.

Les follicules concernés sont principalement les follicules antraux et pré-antraux (non visibles à l'échographie). Comme le CFA, le dosage plasmatique de l'AMH reflète la taille de la cohorte de follicules présents à un moment donné. Ces deux paramètres sont donc intimement liés.

L'AMH est actuellement considérée comme le marqueur le plus fiable et reproductible de la réserve ovarienne (Fanchin *et al.*, 2003; La Marca *et al.*, 2010). Sa sécrétion étant indépendante des gonadotrophines, elle peut être dosée à n'importe quel moment du cycle. Malheureusement, ce dosage ne fait actuellement pas partie de la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) et reste à la charge des patientes.

### D. LE COUPLE FSH/ESTRADIOL

**Le couple FSH/estradiol** peut également être considéré comme un marqueur de la réserve ovarienne. Il est le reflet du « dialogue fonctionnel » entre l'étage hypothalamo-hypophysaire et la réponse gonadique. Ce dosage doit être réalisé au 3<sup>e</sup> jour du cycle menstruel (J3) pour être interprétable correctement.

Ainsi, un dosage d'estradiol bas associé à une FSH élevée (>12mUI/mL) oriente vers une insuffisance ovarienne débutante. En effet, les follicules dotés de récepteurs à la FSH produisent de l'estradiol et de l'inhibine B qui exercent à leur tour un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse. Si le nombre de follicules en croissance diminue, le feed-back diminue également, ce qui se traduit par des taux de FSH plus élevés à J3.

Une valeur élevée d'estradiol (>50pg/ml) associée à une FSH apparemment normale peut avoir la même signification. Ceci s'explique par le recrutement folliculaire prématuré ayant lieu dans les

situations de vieillissement ovarien. L'augmentation trop précoce d'estradiol crée alors un rétrocontrôle négatif sur la FSH qui apparaît « faussement normale » en début de cycle.

Les valeurs de FSH pouvant fluctuer d'un mois à l'autre, il peut être nécessaire de renouveler ces dosages.

## IV. LES PATIENTES « MAUVAISES REPONDEUSES »

### A. DEFINITION

La notion de « mauvaise répondeuse » est utilisée pour décrire une réponse insuffisante à une hyperstimulation ovarienne contrôlée dont l'issue peut être une interruption du traitement sans aller jusqu'à la ponction ovocytaire dont la balance bénéfice-risque devient défavorable ou bien un nombre d'ovocytes recueillis décevant.

Cette notion de « faibles répondeuses » est restée de nombreuses années sans définition consensuelle et les études menées sur ce type de patientes étaient difficilement comparables du fait de l'hétérogénéité des populations étudiées (Polyzos and Devroey, 2011; Polyzos and Tournaye, 2014).

En 2011, le travail de Ferraretti et al., a permis d'encadrer cette définition de « mauvaise répondeuse » par un certain nombre de critères qui sont désormais utilisés par la plupart des auteurs (Ferraretti *et al.*, 2011). Ils sont appelés « **Critères de Bologne** ».

Pour considérer une patiente comme à risque de faible réponse, il faut dès lors qu'elle remplisse **au moins deux des critères suivants** :

- **Age maternel supérieur ou égal à 40 ans, ou tout autre facteur de risque de réponse faible ;**
- **Antécédent de faible réponse ( $\leq 3$  ovocytes obtenus en réponse à une stimulation ovarienne dite standard) ;**
- **Un résultat de réserve ovarienne anormalement bas : CFA  $< 5-7$  ou AMH  $< 0,5-1,1$  ng/ml.**

De plus, en l'absence d'âge maternel avancé ou de bilan de réserve ovarienne altéré, deux antécédents de faible réponse ovarienne à une stimulation dite maximale suffisent pour considérer la patiente comme faible répondeuse.

En anglais, le terme de « poor responder » reflète mieux les aspects qualitatif et quantitatif de la réponse ovarienne que les adjectifs français « mauvaise » ou « faible » répondeuse.

## B. PROBLEMATIQUE DE LA STIMULATION OVARIENNE CHEZ CES PATIENTES

### « MAUVAISES REPONDEUSES »

Malgré l'existence de cette définition, aucune conduite à tenir n'a pu être établie scientifiquement à l'heure actuelle pour optimiser la prise en charge de ces patientes.

#### 1. QUEL PROTOCOLE CHOISIR ?

En médecine de la reproduction on parle de « protocoles » de stimulation pour décrire les traitements utilisés afin d'obtenir une stimulation ovarienne satisfaisante.

Certains utilisent les agonistes de la GnRH dans des schémas courts ou longs, et d'autres utilisent les antagonistes de la GnRH pour contrôler le cycle ovarien et éviter une ovulation prématurée.

De nombreuses études ont comparé l'utilisation des différents protocoles chez les femmes mauvaises répondeuses (long agoniste, court agoniste, antagoniste, mild-stimulation, FIV en cycle naturel...) sans réussir à démontrer de supériorité nette pour l'un d'eux (Castelo-Branco *et al.*, 2004; Kolibianakis *et al.*, 2004; Schimberni *et al.*, 2009; Xiao *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2014; Revelli *et al.*, 2014). Malheureusement beaucoup de ces études ont été réalisées avant que les critères de Bologne ne soient établis. Par conséquent, les populations étudiées sont hétérogènes et les résultats peu discriminants.

La tentation a souvent été d'augmenter les doses de gonadotrophines dans le but de recruter un plus grand nombre de follicules, mais cette attitude reste discutable. En effet, une récente étude de Haas J *et al.*, en 2015 a comparé les doses de 450 UI et 600 UI et n'a pas retrouvé d'avantage en faveur des très fortes doses (Haas *et al.*, 2015). Certains auteurs avaient évoqué le risque d'augmenter les aneuploïdies ovocytaires avec des stimulations à doses trop élevées (Baart *et al.*, 2007), mais cette notion a récemment été remise en question (Sekhon *et al.*, 2017).

#### 2. QUELLE MOLECULE CHOISIR ?

Le type de gonadotrophine à utiliser est également discuté dans la population de patientes mauvaises répondeuses. Comme décrit précédemment plusieurs molécules sont à disposition et malgré des études comparatives, (Eskandar *et al.*, 2004; Giovanale *et al.*, 2015; Mignini Renzini *et al.*, 2017), aucune n'a fait la preuve de sa supériorité. Là aussi les populations étudiées de patientes dites « mauvaises répondeuses » sont hétérogènes entre les essais réalisés avant et après 2011.

Des associations de traitement ont été proposées pour tenter d'améliorer le pronostic de ces patientes. L'idée d'apporter une **activité LH** en complément de la FSHr est intéressante mais reste débattue.

Ce concept physiopathologique repose sur la théorie bicellulaire présentée préalablement. La LH est en effet nécessaire, en début de phase folliculaire, à la formation des androgènes eux-mêmes précurseurs des œstrogènes. Au cours de cette phase du cycle, les récepteurs à la LH apparaissent sur les cellules de la granulosa du(des) follicule(s) sélectionné(s). Puis les taux de LH augmentent en deuxième partie de phase folliculaire avec des effets anti-FSH sur la prolifération de la granulosa et FSH-like sur la stéroïdogénèse. Le rôle de la LH devient alors prédominant sur la maturation ovocytaire.

La suppression de l'activité LH par les analogues de la GnRH lors d'une stimulation avec de la FSHr uniquement pose la problématique des conséquences de l'absence de LH en fin de phase folliculaire.

L'indication princeps pour laquelle l'administration de LH concomitante à la FSH est indiquée concerne la stimulation des femmes avec un déficit sévère en LH et en FSH (insuffisance hypothalamo-hypophysaire congénitale ou acquise) chez lesquelles elle permettrait d'augmenter le taux d'estradiol, le nombre de follicules sélectionnés et la qualité de l'endomètre (Group, 1998).

Certains auteurs ont également décrit un intérêt de compléter en LH les patientes âgées de plus de 35 ans traitées par des protocoles utilisant les antagonistes de la GnRH (Humaidan *et al.*, 2004; Marrs *et al.*, 2004; Bosch *et al.*, 2011).

Sur le plan clinique, il existe plusieurs modalités d'administration d'une activité LH : soit par des injections de LH recombinante, soit par l'utilisation de l'hMG qui possède intrinsèquement une activité FSH/LH mixte.

### 3. REVUE DE LA LITTÉRATURE

Une revue de la littérature récente est présentée dans le *Tableau 1*, afin de faire le point sur les dernières conclusions en matière de stimulation ovarienne dans la catégorie des patientes mauvaises répondeuses.

Auteurs et année de publication	Nb de patientes	Type d'étude	Traitements étudiés	Conclusions des auteurs
<b>Aflatoonian <i>et al.</i>, 2017</b>	60	Essai clinique randomisé	Intérêt du protocole à « début différé » chez les mauvaises répondeuses : protocole antagoniste administré à J9 après pré-traitement par estrogènes en phase lutéale, puis 7 jours d'antagoniste de la GnRH en phase folliculaire versus (vs) antagoniste classique.	Aucune différence significative dans les paramètres de stimulation et les taux de grossesse.
<b>Bozdag <i>et al.</i>, 2017</b>	821	Etude rétrospective	Comparaison des taux de naissances vivantes dans différents sous-groupes de patientes classées « mauvaises répondeuses » selon les critères de Bologne.	Mauvais pronostic pour les 4 sous-groupes étudiés. Taux de grossesses hétérogènes. Meilleurs résultats chez les patientes <40 ans.
<b>Mochtar <i>et al.</i>, 2017</b>	8125	Méta-analyse	Mise à jour de la revue Cochrane de 2007 Intérêt de l'ajout de LH dans les protocoles de stimulation : FSHr seule vs FSHr + LHr 36 essais cliniques randomisés dont 11 portant sur des protocoles antagonistes	Données de la littérature insuffisantes pour conclure à un avantage ou non de l'ajout de LH
<b>Mutlu <i>et al.</i>, 2017</b>	265	Etude rétrospective	Protocole antagoniste classique vs protocole antagoniste avec pré-traitement par patchs d'estrogènes en phase lutéale	Pas d'amélioration des issues de stimulation par le prétraitement.
<b>Siristatidis <i>et al.</i>, 2017</b>	58	Etude cas-témoins, Prospective	Mild stimulation (clomifène + gonadotrophine FSHr 150 UI/j) vs protocoles « conventionnels » : long agoniste de la GnRH ou antagoniste (FSHr follitropine alpha/beta 300UI/j +/- adaptation)	Mild stimulation inférieure pour le nombres d'ovocytes matures, le taux de fécondation et le nombre d'embryons transférés. Résultats comparables pour les taux de grossesse, de naissances vivantes et de fausses couches.
<b>Bosch <i>et al.</i>, 2016</b>	-	Revue de la littérature	Impact du protocole de stimulation utilisé sur la qualité ovocytaire et embryonnaire	L'addition de LH semble induire des modifications dans la stéroïdogenèse folliculaire bénéfiques chez les patientes > 35 ans. Manque de critères disponibles pour juger quelles autres patientes pourraient en bénéficier.
<b>Dakhly <i>et al.</i>, 2016</b>	287	Essai randomisé prospectif	Comparaison de plusieurs protocoles avec administration concomitante de GH : long agoniste vs court agoniste vs « mini-flare » vs antagoniste	Court agoniste: moins d'ovocytes recueillis. Long agoniste: nombres d'ovocytes fécondés supérieur mais stimulation plus longue et dose cumulée plus élevée. Pas de différence pour les taux de grossesse.
<b>Dercourt <i>et al.</i>, 2016</b>	82	Etude cas-témoins rétrospective	Comparaison de protocoles antagonistes : 300 UI/j vs >450 UI/j (FSHr)	Pas de différence significative sur les issues de stimulation.

<b>Pilehvari <i>et al.</i>, 2016</b>	77	Essai randomisé contrôlé	Comparaison entre un protocoles antagoniste (300 UI/j de gonadotrophine) et une stimulation minimale (clomifène 100mg/j pendant 5 jours puis hMG 150UI/j dès J5)	Pas de différence pour le nombre d'ovocytes ponctionnés et les taux de grossesses.
<b>Schimberni <i>et al.</i>, 2016</b>	214	Essai randomisé contrôlé	Comparaison de trois protocoles : (A) citrate de clomifène + FSH forte dose + antagoniste, (B) FSH + antagoniste, (C) FSH + agoniste court	Meilleurs résultats obtenus avec le protocole court agoniste en termes de taux de grossesse, nombre d'ovocytes matures, taux d'estradiol et épaisseur de l'endomètre.
<b>Lainas <i>et al.</i>, 2015</b>	242	Etude cas-témoins, Rétrospective	Cycle naturel modifié (FSHr 150UI/j dès qu'un follicule dépasse 14mm) vs protocole antagoniste avec FSHr forte dose (débuté à 300UI/j et adapté si besoin)	Cycle naturel inférieur pour les nombre d'ovocytes ponctionnés et fécondés, le nombre d'embryons de bonne qualité et transférés MAIS supériorité pour le taux de naissances vivantes.
<b>Gizzo <i>et al.</i>, 2015</b>	40	Essai randomisé prospectif en cross-match	Détermination du timing et de la dose idéale pour la supplémentation en LHR en protocole antagoniste (75 UI vs 150 UI administrés dès le début de la stimulation ou en même temps que l'antagoniste)	Amélioration de la réponse ovarienne, de la qualité embryonnaire et des taux de grossesse avec 150UI de LHR débutée en même temps que l'antagoniste. Amélioration de l'épaisseur de l'endomètre quand LHR débutée dès le début de la stimulation.
<b>Merviel <i>et al.</i>, 2015</b>	440	Etude prospective randomisée	Pilule contraceptive + Flare-up agoniste (P2) vs antagoniste (P3) Toutes les patientes avaient eu précédemment un protocole long agoniste (P1) sans grossesse.	Nombre d'embryons transférés supérieur avec P2, mais taux d'implantation et de grossesse évolutives comparables avec P2 et P3.
<b>Oride <i>et al.</i>, 2015</b>	13, 66 cycles	Etude cas témoins, non randomisée	Stimulation par hMG versus citrate de clomifène + hMG	Suggère un bénéfice de l'association clomifène + hMG.
<b>Vuong <i>et al.</i>, 2015</b>	240	Essai clinique randomisé	Comparaison de protocoles antagonistes : FSHr + LHR vs FSHr seule	Pas de différence dans les issues de stimulation.
<b>Cakmak <i>et al.</i>, 2014</b>	30	Etude rétrospective	Protocole antagoniste à « début tardif ou différé » : pré-traitement par estrogènes – antagonistes de la GnRH 7 jours (J2-J9) – puis début du protocole antagoniste à J9 vs antagoniste classique	Stimulation plus courte, nombre de follicules dominants et d'ovocytes matures supérieur, taux de fécondation plus élevé en ICSI : Amélioration de la réponse ovarienne.
<b>Kdous <i>et al.</i>, 2014</b>	65	Etude rétrospective	Protocole long agoniste vs court agoniste	Protocole long : plus d'arrêt de cycles. Protocole court : plus d'ovocytes ponctionnés et d'embryons obtenus. Semble plus adapté au profil ovarien des mauvaises répondeuses. Pas de différence de taux de grossesse.
<b>Kuang <i>et al.</i>, 2014</b>	38	Etude pilote	Intérêt d'une double stimulation et double ponction : « mild stimulation » en phase folliculaire (1 <sup>ère</sup> ponction) puis hMG + Létrozole en phase lutéale (2 <sup>e</sup> ponction)	La double stimulation donne l'opportunité d'augmenter le nombre d'ovocytes obtenus sur un seul cycle de stimulation.

<b>König et al., 2013</b>	253	Essai multicentrique randomisé	Comparaison de protocoles antagonistes : FSHr seule vs FSHr + LHR (à J6), chez les patientes > 35ans	Pas d'amélioration des taux de grossesse avec l'ajout de LH
<b>Polyzos et al., 2012</b>	164	Etude de cohorte, Rétrospective	Intérêt ou non du cycle naturel chez les mauvaises répondeuses définies selon les critères de Bologne	Taux de naissances vivantes très inférieure chez les mauvaises répondeuses comparées au groupe de normo-répondeuses en cycle naturel : Intérêt limité pour cette catégorie de patientes.
<b>Bosch et al., 2011</b>	380	Essai randomisé	Comparaison de protocoles antagonistes : FSHr seule vs FSHr + LHR (dès 1 <sup>er</sup> jour de stimulation)	Augmentation significative du taux d'implantation chez les patientes de > 35ans avec l'ajout de LH. Pas de bénéfice chez les < 35ans.
<b>Pu et al., 2011</b>	566	Méta-analyse	Comparaison protocole agoniste vs antagoniste. Attention méta-analyse sur des études réalisées avant la définition des critères de Bologne...	Pas de différence en termes d'ovocytes matures, annulation de cycles, taux de grossesse. Mais stimulations plus courtes avec les antagonistes.
<b>Berkkanoglu and Ozgur, 2010</b>	119	Etude prospective, Randomisée	Comparaison des fortes de doses de FSHr (follitropine alpha ou beta) 300 UI vs 450 UI, vs 600 UI/j	Pas de différence dans les issues de stimulation. Pas d'intérêt des fortes doses (au-delà de 300UI/j).

Tableau 1. Revue de la littérature : protocoles de stimulation ovarienne chez les mauvaises répondeuses

#### 4. QUELLE PLACE POUR LES TRAITEMENTS ADJUVANTS ?

Plusieurs traitements adjuvants à la stimulation par gonadotrophines ont été étudiés dans le but d'améliorer la réponse ovarienne des patientes à risque de faible réponse ovarienne.

**Le pré-traitement par estrogènes** en fin de phase lutéale du cycle précédent a été proposé pour améliorer la synchronisation de la cohorte folliculaire en protocole antagoniste (Chang *et al.*, 2012) et cette attitude est d'ailleurs utilisée par de nombreux centres afin de programmer plus aisément les cycles de stimulation. Son utilisation ne permet pas, par contre, d'améliorer le nombre d'ovocytes recueillis ou les taux de grossesse (Cédrin-Durnerin *et al.*, 2012).

La prise quotidienne d'**aspirine** à faible doses n'a pas fait la preuve de son efficacité (Hurst *et al.*, 2005; Päckilä *et al.*, 2005).

L'utilisation préalable de **DHEA (déhydroépiandrostènedione)** pour agir plus en amont sur la taille de la cohorte folliculaire recrutée a été proposée, mais son intérêt reste à prouver (Gleicher and Barad, 2011; Yeung *et al.*, 2014). De même l'utilisation de testostérone en pré-traitement fait l'objet d'études (Kim *et al.*, 2011).

Enfin l'administration concomitante à la stimulation de **GH (growth hormone)** semblait prometteuse (Kolibianakis *et al.*, 2009) mais une récente méta-analyse n'a pas retrouvé de bénéfice significatif (Yu *et al.*, 2015).

Une fois encore, nombre de ces études ont été publiées avant 2011, année de création du consensus sur la population des mauvaises répondeuses, et sont donc hétérogènes.

Nous proposons dans le *Tableau 2*, les données les plus récentes de la littérature en matière de traitements adjuvants.

Auteurs et année de publication	Nb de patientes	Type d'étude	Traitements étudiés	Conclusions des auteurs
<b>Doan <i>et al.</i>, 2017</b>	110	Etude prospective	Intérêt d'un pré-traitement par gel de testostérone 1% avant FIV.	Augmentation du nombre d'ovocytes, du nombre d'embryons, des taux d'implantation et de grossesse.
<b>Ebrahimi <i>et al.</i>, 2017</b>	70	Essai randomisé	Intérêt du co-traitement par Létrozole dans les protocoles antagonistes chez les mauvaises répondeuses en FIV ICSI	Aucune différence significative retrouvée entre les deux groupes
<b>Mak <i>et al.</i>, 2017</b>	49	Essai prospectif, randomisé	Supplémentation en milieu de phase folliculaire au cours d'un protocole antagoniste : LHR vs hCG urinaire	Tous les paramètres de stimulation étaient comparables. Taux de naissances vivantes par cycles débutés significativement supérieur dans le groupe avec hCG urinaire.
<b>Bassiouny <i>et al.</i>, 2016</b>	141	Essai randomisé contrôlé	Intérêt d'une supplémentation par GH dans les protocoles antagonistes (avec hMG).	Diminution de la durée de stimulation et des doses. Pas de différence en termes de grossesses ou de naissances vivantes par cycle débuté.
<b>Caprio <i>et al.</i>, 2015</b>	72	Essai thérapeutique contrôlé	Pré-traitement avant la stimulation pour FIV : Myo-inositol 4g + acide folique 0,4mg (A) vs acide folique seul (B)	Groupe A : doses de gonadotrophines plus basses et nombre d'ovocytes matures plus élevé. Amélioration de la sensibilité ovarienne aux gonadotrophines avec le myo-inositol.
<b>Pabuccu <i>et al.</i>, 2015</b>	162 cycles	Etude cas témoins, Rétrospectif	Comparaison de protocoles antagonistes : pré-traitement par estrogènes en phase lutéale (I) versus co-traitement par anti-estrogènes : Létrozole (II)	Groupe I : Taux d'estradiol plus élevés, cycles plus longs, nombre d'ovocytes fécondés plus important et qualité embryonnaire meilleure. Pas de différence significative pour les taux de grossesse qui restent bas.
<b>Vlahos <i>et al.</i>, 2015</b>	48	Etude de cohorte prospective	Intérêt de l'administration de DHEA avant une FIV : 12 semaines de traitement avant la FIV.	Augmentation du taux d'AMH et diminution du taux de FSH. Aucun effet sur les paramètres de stimulation ni sur les taux de grossesse.
<b>Lattes <i>et al.</i>, 2015</b>	64	Etude de cohorte prospective	Impact d'une supplémentation en GH « low dose »	Nombre d'embryon « top qualité », et embryons congelés supérieurs dans le groupe GH
<b>Eftekhar <i>et al.</i>, 2013</b>	82	Essai randomisé, Prospectif	Protocole antagoniste (HMG) avec ou sans ajout de GH	Pas d'augmentation des taux d'implantation, ni de grossesse.

Tableau 2. Revue de la littérature : traitements adjuvants utilisés pour la stimulation ovarienne des mauvaises répondeuses

Au total, malgré une bibliographie riche, aucune stratégie ne semble idéale et les taux de grossesse restent faibles dans la population de patientes mauvaises répondeuses. D'autres études sont donc nécessaires pour tenter d'améliorer ces résultats.

## V. UNE NOUVELLE APPROCHE THERAPEUTIQUE : LA CORIFOLLITROPINE ALPHA ASSOCIEE A L'HP-HMG

### A. LA CORIFOLLITROPINE ALPHA

De nombreux travaux ont été menés pour tenter d'allonger la  $\frac{1}{2}$  vie de la FSH administrée dans les stimulations ovariennes afin de maintenir des taux sanguins plus stables et de réduire le nombre d'injections nécessaires.

L'équipe de Boime a créé un gène chimérique contenant la séquence humaine de la sous-unité beta de la FSH et la séquence correspondant à la partie C -terminale de la sous-unité beta de l'hCG (Fares *et al.*, 1992). La molécule recombinante ainsi obtenue (*Figure 15*) possède les mêmes récepteurs et la même action sur la stéroïdogénèse que la FSH naturelle in vitro mais présente in vivo une meilleure « bio-efficacité » et une demi-vie plus longue (LaPolt *et al.*, 1992).

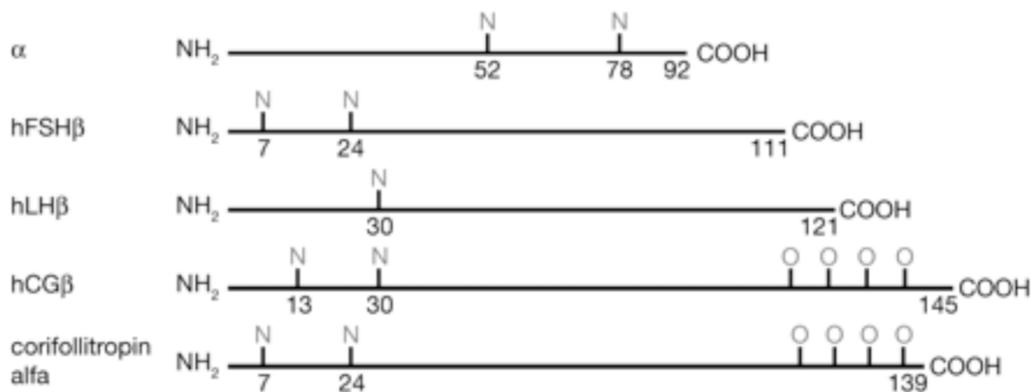


Figure 15. Représentation schématique de la structure biologique des gonadotrophines. La sous-unité alpha est commune à toutes. Les sous-unités beta sont spécifiques à chacune. La corifollitropine alpha possède une extrémité N commune avec la FSH et une extrémité C commune avec l'hCG (Figure issue du travail de Fauser *et al.*, 2009).

**Cette corifollitropine alpha** constitue un nouvel **analogue de la FSH**, agissant sur les mêmes récepteurs mais **de durée d'action prolongée**. Elle ne possède en revanche pas d'activité LH. Une injection unique permet d'atteindre plus rapidement le seuil plasmatique nécessaire à la stimulation ovarienne avec

une activité FSH plus importante dans les deux premiers jours de traitement, et de maintenir des taux circulants d'activité FSH supérieurs au seuil nécessaire pour une stimulation multi folliculaire pendant 7 jours. Au-delà, la stimulation ovarienne doit être poursuivie si nécessaire par des injections quotidiennes de FSHr (Figure 16).

Elle a reçu l'autorisation de mise sur le marché en France en 2010 et est actuellement commercialisée sous le nom d'Elonva® (MSD).

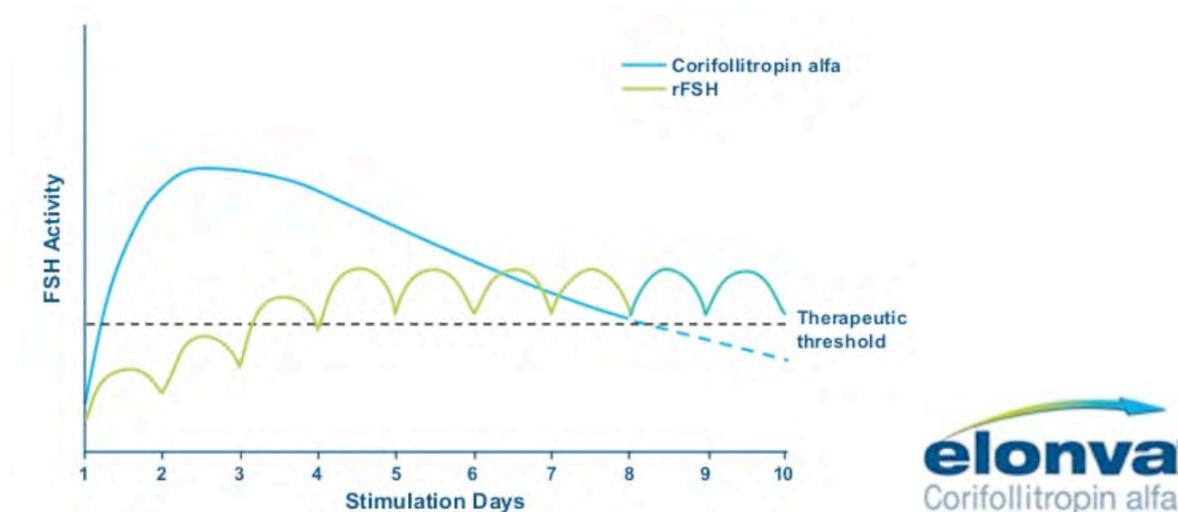


Figure 16. Schéma de la cinétique d'action de la corifollitropine alpha comparée à la FSHr (d'après Fauser *et al.*, 2009). « Therapeutic threshold » correspond au seuil plasmatique de FSH à partir duquel le développement folliculaire est stimulé.

## B. INTERET DE L'ASSOCIATION CORIFOLLITROPINE ALPHA ET HP-HMG POUR LA STIMULATION DES PATIENTES « MAUVAISES REPONDEUSES »

Depuis sa création, cette nouvelle molécule a été étudiée par plusieurs essais cliniques comparatifs et notamment chez les mauvaises répondeuses. Le fait que le seuil plasmatique de FSH soit atteint plus rapidement qu'avec des injections quotidiennes de FSHr, pourrait permettre un meilleur recrutement folliculaire précoce pour ces patientes et une homogénéisation de la cohorte (Kolibianakis *et al.*, 2015).

Compte tenu de l'absence d'activité LH de la corifollitropine alpha, liée à sa configuration biochimique, il a été proposé de lui associer non pas de la FSHr en relais au 8<sup>e</sup> jour, mais de l'hp-HMG (Polyzos *et al.*, 2013a, 2013b, 2013c).

L'intérêt d'une supplémentation en LH a été étudié chez les patientes de plus de 35 ans (Bosch *et al.*, 2011). Une partie seulement des mauvaises répondeuses appartient à cette classe d'âge selon les critères de Bologne. Néanmoins, les patientes plus jeunes remplissant les critères de Bologne ont, par

définition, une réserve ovarienne altérée. C'est pourquoi, on peut supposer que le profil ovarien des patientes présentant une insuffisance ovarienne prématurée est susceptible de s'approcher de celui des femmes de plus de 35 ans dont la réserve ovarienne commence à décliner.

Le bénéfice d'une substitution en LH peut s'expliquer par deux mécanismes chez ces patientes :

D'une part, on constate chez elles une élévation de la FSH en début de phase folliculaire alors que la LH reste basale et que le taux d'androgènes diminue peu à peu (Klein *et al.*, 1996). La stéroïdogénèse folliculaire (sécrétion d'androstènedione notamment) en réponse à une stimulation par FSHr est altérée, alors que la sécrétion d'estradiol est compensée par une augmentation de l'activité aromatasase, ce qui lui permet de rester dans les normes (Welt *et al.*, 2006).

L'effet de l'addition d'une activité LH au niveau folliculaire pourrait permettre de maintenir la sécrétion androgénique et donc la synthèse d'estrogènes sans que l'activité aromatasase ne s'élève. Ainsi la restauration de l'équilibre du follicule ovarien pourrait permettre de retrouver une meilleure qualité ovocytaire et même embryonnaire ainsi que des taux d'implantation supérieurs.

D'autre part, plusieurs travaux ont montré que l'utilisation de fortes doses de FSHr seules pouvaient augmenter le taux plasmatique de progestérone, reflet d'une désynchronisation endométriale qui diminue considérablement les chances d'implantation (Filicori *et al.*, 2002; Bosch *et al.*, 2003, 2010). En effet, comme décrit précédemment, la FSH agit sur les cellules de la granulosa et initie la stéroïdogénèse en favorisant la conversion du cholestérol en progestérone. Celle-ci est ensuite transportée vers les cellules de la thèque où elle est convertie en androgènes sous l'influence de la LH (*Figure 3*). Ceci pourrait expliquer qu'avec une stimulation par FSHr seule en protocole antagoniste, la progestérone reste plus élevée par déficit de LH, entraînant une baisse de la réceptivité endométriale (Adonakis *et al.*, 1998).

L'ajout d'une activité LH au cours d'un protocole antagoniste avec désensibilisation hypophysaire importante chez les mauvaises répondeuses, a donc pour objectifs d'améliorer la qualité de maturation folliculaire, ovocytaire ainsi que la réceptivité endométriale.

### C. REVUE DE LA LITTÉRATURE

Les publications les plus récentes sur la corifollitropine alpha et son utilisation chez les mauvaises répondeuses sont présentées dans le *Tableau 3*.

Auteurs et année de publication	Nb de patientes	Type d'étude	Traitements étudiés	Conclusions des auteurs
<b>Drakopoulos et al., 2017</b>	152	Essai randomisé multicentrique	Résultats de COMPORT. Mauvaises répondeuses <40ans. Protocoles antagonistes : corifollitropine alfa + relais hp-HMG 300UI/j à J8 vs FSHr 300 UI/j	Nombre d'ovocytes et taux de grossesses comparables. Plus d'embryons congelés avec la corifollitropine alpha.
<b>Salgueiro et al., 2016</b>	27	Etude prospective	Protocole long agoniste : FSHr vs Corifollitropine alpha	Amélioration de tous les paramètres avec la corifollitropine alpha : nombre d'ovocytes obtenu, pourcentage d'ovocytes matures, nombre d'embryons transférés et taux de grossesse.
<b>Selman and Rinaldi, 2016</b>	85	Etude prospective randomisée	Comparaison de protocoles antagonistes : clomifène + corifollitropine alpha puis FSHr à J8 (A) vs clomifène + FSHr quotidienne	Nombre d'ovocytes recueillis, d'embryon clivés, taux de grossesse et fausse couche comparables. Corifollitropine alpha aussi efficace que FSHr.
<b>Fensore et al., 2015</b>	3926	Méta-analyse	7 Essais randomisés comparant corifollitropine alpha vs FSHr	Nombre plus élevé d'ovocytes matures et d'embryons dans les groupes traités par corifollitropine alpha.
<b>Kolibianakis et al., 2015</b>	79	Essai de non infériorité, randomisé	Protocoles antagonistes : Corifollitropine alpha 150µg (+/- relais à J8 par FSHr 450 UI/j) vs FSHr 450 UI/j (follitropine beta)	Pas de différence en nombre d'ovocytes ponctionnés et en naissances vivantes. La corifollitropine alpha simplifie les traitements et donne les mêmes résultats.
<b>Polyzos et al., 2015</b>	92	Essai prospectif de faisabilité	Evaluation de l'intérêt de l'administration d'hp-HMG (300 UI/j) en relais de la corifollitropine alpha (150µg) à J8 dans un protocole court agoniste ou long agoniste	Taux de grossesses comparables. Taux de grossesses et de naissances vivantes meilleurs chez les patientes de moins de 40 ans dans les 2 protocoles.
<b>Pouwer et al., 2016</b>	3753	Méta-analyse	Comparaison FSHr vs FSH longue durée d'action (corifollitropine alpha) en protocole agoniste ou antagoniste	La corifollitropine alpha à la dose de 150µg est aussi efficace et sûre que la FSHr.
<b>Rombauts and Talmor, 2012</b>	176	Etude multicentrique rétrospective	Détermination des facteurs prédictifs de variabilité de la réponse ovarienne lors de cycles répétés de stimulation par corifollitropine alpha	FSH de base et CFA ne permettent pas de prédire la variabilité de la réponse ovarienne
<b>Polyzos et al., 2013a</b>	150	Essai randomisé multicentrique	Présentation de l'essai « COMPORT » : Protocole antagoniste : Corifollitropine alpha suivi d'hp-HMG 300 UI/j (A) vs FSHr 300 UI/j (B) chez des patientes <40ans	Taux de grossesses comparables. Nombre d'embryons congelés supérieurs dans le groupe A.
<b>Polyzos et al., 2013b</b>	47	Etude pilote rétrospective	Addition d'hp-HMG en relais de la corifollitropine alpha en protocole antagoniste	Effet potentiellement bénéfique de la corifollitropine alpha chez les mauvaises répondeuses <40ans.
<b>Polyzos et al., 2013c</b>	43	Etude pilote rétrospective	Corifollitropine alpha 150µg suivie de FSHr 300 UI/j à J8 en protocole antagoniste vs court agoniste HMG	Taux de grossesse restent faibles comparés à ceux obtenus avec un protocole court agoniste-HMG.
<b>Kim et al., 2013</b>	90	Etude prospective randomisée	Protocole antagoniste : corifollitropine alpha vs FSHr	Tous les paramètres d'issues de stimulations comparables sauf le nombre d'ovocytes matures : supérieurs dans le groupe corifollitropine alpha.

Tableau 3. Revue de la littérature : utilisation de la corifollitropine alpha chez les mauvaises répondeuses

## VI. CONCLUSION

En conclusion , compte tenu de l'absence de consensus sur le protocole et les molécules à utiliser chez les mauvaises répondeuses, et des études encourageantes proposant l'association de la corifollitropine alpha à l'hp-hMG, nous avons proposé un tout nouveau protocole dans cette population. Celui-ci associe la corifollitropine alpha à l'administration d'hp-HMG, non pas seulement en relais au 8<sup>e</sup> jour, mais dès le début de la stimulation, à faible dose.

Ainsi, en combinant des taux plasmatiques importants de FSH et une activité LH en soutien dès le début de la stimulation, nous espérons améliorer le recrutement folliculaire et la synchronisation de la cohorte et peut être également la qualité ovocytaire, embryonnaire et endométriale. Ce travail est présenté dans une deuxième partie, au travers d'un article qui sera soumis à une revue scientifique pour publication.

## DEUXIEME PARTIE : ARTICLE

## Title

Comparison of corifollitropin alfa associated with hp-HMG with high dose rFSH antagonist protocols for ovarian stimulation in poor responders.

## Authors

S. Mendret-Pellerin<sup>1,§</sup>, F. Leperlier<sup>1</sup>, A. Reigner<sup>1,2,3</sup>, T. Lefebvre<sup>1,2</sup>, P. Barrière<sup>1,2,3</sup>, T. Fréour<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Service de biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes, Nantes, France

<sup>2</sup> Faculté de médecine, Université de Nantes, France

<sup>3</sup> Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie UMR 1064, INSERM, Université de Nantes, Nantes, France

<sup>§</sup> Corresponding author : S. Mendret-Pellerin, Service de biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes, 38 boulevard Jean Monnet, 44093 Nantes, France. Tel: +33 240083234 – fax: +33 240083228 – email: [stephanie.mendret@gmail.com](mailto:stephanie.mendret@gmail.com)

## **ABSTRACT**

### **Study question:**

Does corifollitropin alfa associated with hp-HMG protocol from the beginning of ovarian stimulation perform better than high dose rFSH alone for ovarian stimulation with GnRH antagonist in poor responders?

### **Summary answer:**

The combination of corifollitropin alfa and hp-HMG from the beginning of ovarian stimulation is not superior to high dose rFSH in terms of number of mature oocytes in antagonist protocol. However, cycle cancellation rate before ovum pickup or before embryo transfer was significantly lower with corifollitropin alfa and hp-HMG than with high dose rFSH alone.

### **What is known already:**

The optimal strategy for the management of poor ovarian responders in IVF still remains to be identified. While it should allow low cancellation rate and high embryo transfer rate per cycle in order to offer the best pregnancy rate possible, several combinations of gonadotrophins with various dosage have been evaluated in the literature, with conflicting results. Recent studies suggested that the use of corifollitropin alfa followed by hp-HMG in poor responders could be promising. However, the interest of associating corifollitropin alfa with hp-HMG from the beginning of the stimulation has not been tested yet in poor responders.

### **Study design, size, duration:**

This retrospective, monocentric, case-control pilot study was conducted in 65 poor responders (Bologna criteria) undergoing 2 consecutive IVF cycle between August 2015 and November 2016.

### **Participants/materials, setting, methods:**

All patients underwent a first ovarian stimulation cycle with high dose rFSH ( $\geq 300$  IU/day) alone in antagonist protocol, unfortunately leading to poor ovarian response and failure to achieve pregnancy. The following cycle was performed with 150  $\mu$ g of corifollitropin alfa associated with daily injections of hp-HMG from the beginning of the cycle. The primary outcome was the number of mature oocytes retrieved. The secondary outcomes were ovarian stimulation cancellation rate and embryo transfer rate per initiated cycle.

**Main results and the role of chance:**

The number of mature oocytes was not significantly different between the 2 groups. However, cycle cancellation rate was significantly lower and the proportion of cycles with embryo transfer was significantly higher with corifollitropin + hp-HMG than with rFSH protocol, leading to an encouraging clinical pregnancy rate of 24,1% per oocyte retrieval.

**Limitations, reasons for caution:**

The relatively limited population included could prevent from identifying small but significant differences between the 2 protocols in terms of number of oocytes retrieved. Despite its strict case-control design, this study suffers from inherent bias related to its retrospective design.

**Wider implications of the findings:**

This pilot study based on corifollitropin alfa associated with hp-HMG from the onset of stimulation appears to be promising for ovarian stimulation in poor responders. However, larger prospective randomized trials are necessary to confirm these results, as well as cost-effectiveness study and patients' comfort evaluation.

**Study funding/Competing interest(s):** No conflicts of interest to declare. No specific funding was received for this study.

**Key words:** Corifollitropine alpha, hp-hMG, poor responders, ovarian stimulation, antagonist protocol, in vitro fertilization

## INTRODUCTION

While infertility is generally considered to concern 10 to 15% of couples trying to conceive, the proportion of women with advanced reproductive age and/or premature ovarian failure tends to rise (Devine *et al.*, 2015; Papathanasiou *et al.*, 2016). These patients often have to face with poor ovarian response to controlled ovarian stimulation (COS), with low number of oocytes retrieved, higher risk of cycle cancellation, and finally suffer from relatively poor prognosis in IVF cycles (Busnelli *et al.*, 2015; Bozdag *et al.*, 2017; Busnelli and Somigliana, 2017). Ovarian stimulation in poor responders remains one of the main challenges in ART (assisted reproductive technologies). In 2011, the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) proposed new criteria (« Bologna Criteria ») in order to better define the status of « poor responders » (Ferraretti *et al.*, 2011). They incorporated age, ovarian reserve tests (anti-Müllerian hormone (AMH) level or antral follicle count (AFC)) and ovarian response in previous IVF/ICSI cycles. However, these criteria still remain questioned and have not been systematically used in all the studies available in the literature (Papathanasiou *et al.*, 2016). Several attitudes have been proposed for ovarian stimulation in these patients, such as increasing rFSH (recombinant follicle stimulating hormone) daily doses (Dercourt *et al.*, 2016), or conversely mild stimulation protocols (Siristatidis *et al.*, 2017) or even natural cycle IVF (Lainas *et al.*, 2015). Some authors also recommended adjuvant therapies, such as pre-treatment with androgens to enhance follicular recruitment (Nagels *et al.*, 2015; Doan *et al.*, 2017). However, no evidence can be drawn from the huge amount of literature on which regimen may constitute the best approach to improve ovarian stimulation and pregnancy rate in this group of patients.

A few years ago, corifollitropin alfa became available for ovarian stimulation. This recombinant hormone consists in FSH alfa subunit, associated with FSH beta subunit fused with the C-terminal peptide of human chorionic gonadotropin (hCG) beta subunit. Corifollitropin alfa acts like a long-acting FSH, with a single dose keeping circulating FSH level above the threshold necessary to support multi-follicular growth for 7 days, thus replacing the first seven daily injections of rFSH. The single-dose pharmacokinetic profile of corifollitropin alfa is characterized by a slow absorption resulting in peak concentrations two days after injection, and stable serum FSH levels.

According to clinical studies and marketing authorisation, corifollitropin should preferentially be used for ovarian stimulation in normoresponders (Griesinger *et al.*, 2016a; Pouver *et al.*, 2016; Lerman *et al.*, 2017). While corifollitropin should be avoided in high responders according to the high risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) (Griesinger *et al.*, 2016b), some trials were conducted in poor responders in order to evaluate if the early rise of FSH and the stable serum FSH levels induced

by corifollitropin lead to sustained follicular development and improved ovarian response to stimulation (Polyzos *et al.*, 2013a, 2013b, 2013c). These studies did not provide evidence of improved clinical outcome for poor responders. As some studies reported that the addition of LH activity to FSH via the use of highly purified human menopausal gonadotropin (hp-HMG) may improve embryo quality and pregnancy rates (Bosch *et al.*, 2011; Dahan *et al.*, 2014), some trials, such as COMPORT trial, were designed to evaluate the interest of an antagonist protocol with corifollitropin alfa followed by hp-HMG for ovarian stimulation in poor responders (Polyzos *et al.*, 2013a, 2013b). Promising results were recently reported (Drakopoulos *et al.*, 2017, “Abstracts of the 33rd Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology” p i6-i7). However, the potential interest of adding LH activity via the use of hp-HMG to long-acting FSH stimulation for follicular development might advocate for initiating this association from the beginning of ovarian stimulation cycle.

The aim of our study was to evaluate the interest of associating corifollitropin alfa and hp-hMG from the beginning of ovarian stimulation in antagonist protocol in poor responders and to compare it with high dose daily rFSH antagonist protocol.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Study population**

This retrospective monocentric case-control pilot study was conducted in a University based IVF centre between August 2015 and November 2016. Patients were included after poor ovarian response, defined as less than 3 mature follicles ( $\geq 17$ mm) or cycle failure (i.e. cycle cancellation, embryo transfer cancellation or implantation failure) after antagonist protocol and high-dose daily rFSH injections ( $\geq 300$  IU/d). Patients were considered poor responders if they fulfilled the Bologna criteria (Ferraretti *et al.*, 2011). No other inclusion criteria were used. All patients gave their consent for the anonymous retrospective use of their clinical data.

### **Stimulation regimen and ART procedures**

The control protocol was a standard antagonist regimen (named A) with daily injections of  $\geq 300$  IU of FSH (follitropin alfa or beta) (Figure 1A). Following poor ovarian response and cycle failure with this high dose rFSH antagonist cycle, all patients underwent another stimulation cycle within 6 months. Ovarian stimulation protocol (named B) consisted in a single subcutaneous injection of 150  $\mu$ g corifollitropin alfa (Elonva® MSD) on the first stimulation day associated with daily injections of hp-HMG (Menopur® Ferring), 75 IU/d during the first seven days of stimulation followed by 300 IU/d if needed on day 8 and later on until final follicular maturation (Figure 1B).

Oestrogen pre-treatment was used in both regimens. Daily administration of GnRH antagonist from cycle day 6 was used to prevent premature LH surge. Ovulation triggering was performed with the administration of 250µg of rhCG (Ovitrelle® Merck-Serono) as soon as at least 3 follicles of ≥17mm diameter were observed by transvaginal ultrasound. Oocyte retrieval was performed 36h later. Cycle was cancelled when only 1 or 2 follicles were observed. Rescue intra-uterine insemination (IUI) was proposed if tubal patency and sperm parameters were compatible. Embryo quality was evaluated daily according to guidelines (“The Istanbul consensus workshop on embryo assessment,” 2011). Embryo transfer was always performed on day 5 or 6, with one or two blastocysts transferred. Luteal support was given using vaginal progesterone tablets (Utrogestan® Besins International) 200mg x 2 daily for two weeks from the day of oocytes retrieval. A pregnancy test was performed 11 days after the embryo transfer. Clinical pregnancy was defined as the presence of an intrauterine gestational sac with fetal heart activity at 6-8 weeks of gestation, confirmed by ultrasound examination.

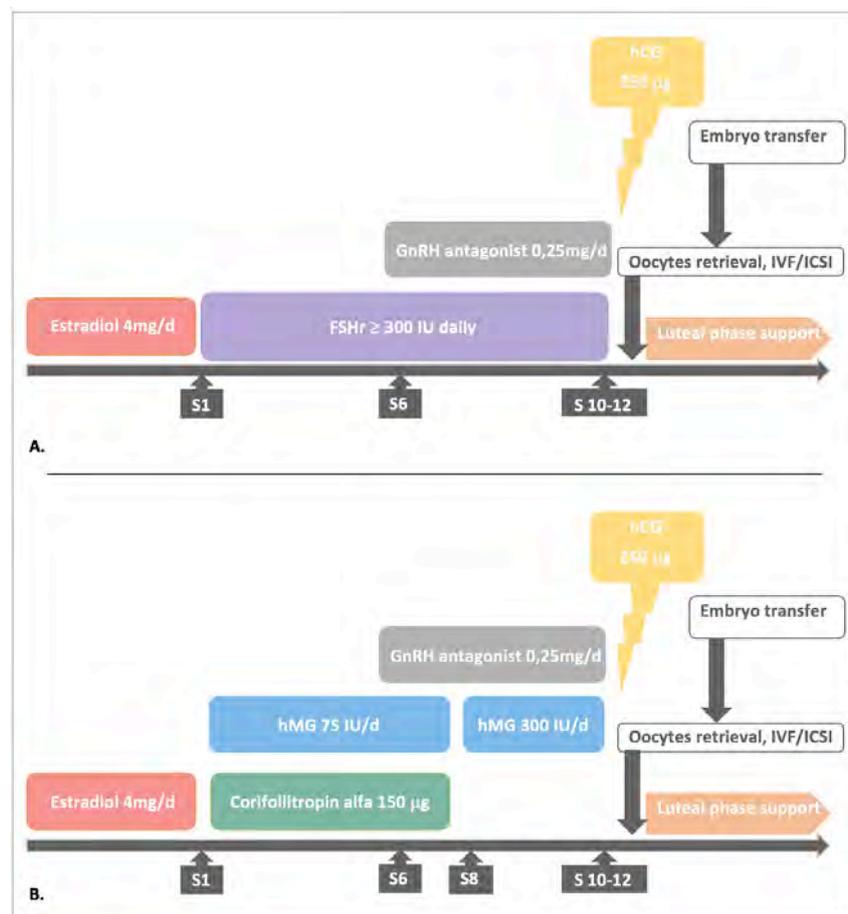


Figure 1. Graphical illustration of the two regimens of the study. 1A: standard antagonist regimen with daily injections of ≥300 IU of FSH (follitropin alfa or beta), 1B: novel regimen studied consisting in a single subcutaneous injection of 150 µg corifollitropin alfa (Elonva®, MSD) on the first stimulation day associated with daily injections of hp-HMG (Menopur®, Ferring), 75 IU/d during the first seven days of stimulation followed by 300 IU/d if needed on day 8 and later on until final follicular maturation.

## Main outcomes

The primary endpoint was the number of mature oocytes retrieved. The secondary outcomes were stimulation cancellation rate and embryo transfer rate per initiated cycle. The total number of oocytes retrieved (i.e. mature + immature), blastocysts obtained and cryopreserved were also compared between both cycles for each patient. Clinical pregnancy rate was calculated after corifollitropin hp-HMG stimulation cycle, but could obviously not be compared with previous high dose rFSH cycle as all patients were included after failing to get pregnant.

## Statistical analysis

Statistical analysis was performed with Graph Pad Prism software. Continuous variables were compared with Student's paired T-test and Chi<sup>2</sup> Mac-Nemar's test when appropriate. Statistical significance was set at P < 0,05.

## RESULTS

A total of 65 poor ovarian responders successively undergoing high-dose rFSH (protocol A) and Corifollitropin alfa + hMG (protocol B) protocols were included in the analysis. Patients' main demographic characteristics are presented in Table 1.

Age (years)	34,26 (4,4)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,8 (4,4)
Previous COS cycles	2,06 (1,3)
AFC	10,6 (4,4)
AMH level (ng/ml)	1,5 (0,9)
Infertility characteristics (%)	
- Primary	74
- Secondary	26
Smoking (%)	
- Current	13,8
- Past	33,8
- Non-smoker	52,4
ICSI use (%)	66

Table 1. Demographic and fertility characteristics of the 65 patients. Results are presented as proportion or mean (standard deviation). BMI: body mass index; COS: controlled ovarian stimulation; AFC: antral follicle count; AMH: anti-Mullerian hormone; IVF : in vitro fertilization; ICSI : intra-cytoplasmic sperm injection; SD : standard deviation.

As each patient was her own control within a 6-month time period, demographic characteristics were strictly comparable between the two groups A and B. The mean time interval between the 2 cycles was  $4,8 \pm 3.7$  months. ICSI was performed in 66% of the cycles.

Clinical and biological outcomes are presented in *Table 2*. The number of mature oocytes was not statistically different between the 2 groups. Cycle cancellation rate for insufficient ovarian response to COS was significantly lower in group B than in group A. No cancellation for excessive ovarian response occurred and no case of OHSS was observed with both groups. Only one out of 65 patients in group B had premature progesterone elevation ( $>1,5$  ng/ml) on hCG day, leading to a “freeze all” cycle, versus 3 in group A. Fertilization rate was significantly higher in ICSI in group B than in group A, whereas the difference did not reach statistical significance in standard IVF. Although the number of cleaved embryos was significantly higher in the group B than in the group A, the total number of blastocysts obtained was not significantly different between both groups. However, embryo transfer rate per started cycle was significantly higher in group B (69%) than in group A (38.5%).

	<b>Protocol A: FSH &gt; 300 IU/d (n=65 cycles)</b>	<b>Protocol B: Corifollitropin alfa + hMG (n=65 cycles)</b>	<b>p value</b>
Cycle cancellation rate n, (%)	26 (40)	7 (11)	<0,001
Stimulation duration (days)	8,89 (1,9)	9,7 (1,62)	0,05
E2 day of hCG (pg/ml)	1546 (739,9)	1360 (644,5)	0,19
Cycles with oocytes retrieval n, (%)	39 (60)	58 (89)	0,0003
Total number of oocytes	8 (3,22)	8,96 (4,49)	0,21
Metaphase II oocytes	6,39 (3,27)	7,09 (3,67)	0,35
Fertilization rate in ICSI (%)	39 (21)	57 (27)	0,008
Fertilization rate in IVF (%)	48 (27)	65 (28)	0,09
Number of cleaved embryos on day 3	3,1 (2,3)	4,16 (2,5)	0,04
Blastocysts obtained	1,1 (1,53)	1,5 (1,86)	0,27
Cycles with embryo transfer n, (%)	15 (38)	40 (69)	0,0037
Number of embryos per transfer	1,2 (0,41)	1,38 (0,48)	0,23
Cycles with frozen embryos n, (%)	10 (26)	14 (24)	1
Single blastocyst transfer (%)	80	62,5	

*Table 2. Clinical and biological outcomes with the 2 stimulation protocols. Results are presented as proportion or mean (standard deviation). (n: number, SD: standard deviation, E2: estradiol, hCG: human chorionic gonadotrophin.*

Concerning reproductive outcomes, the pregnancy rate (confirmed by positive hCG test) was 27,7% per started cycle, 31% per oocyte retrieval and 45% per embryo transfer in group B. The clinical pregnancy rate was 21,5% per started cycle, 24,1% per oocyte retrieval and 35% per embryo transfer. Among the 14 clinical pregnancies, 7 live births occurred at the time of the study, and 6 pregnancies were still ongoing. One miscarriage was also reported.

## DISCUSSION

To our knowledge, the present study is the first to compare the efficiency of corifollitropin alfa in association with hp-HMG from the beginning of the stimulation, to a classic daily administration of high dose rFSH in antagonist protocols in poor ovarian responders. We found that there was no statistically significant difference between the two regimens in terms of mature oocytes retrieved. This is in agreement with previously reported studies comparing corifollitropin alfa and rFSH in various types of COS protocols (Kolibianakis *et al.*, 2015; Polyzos *et al.*, 2015; Salgueiro *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2017). This is also in agreement with the very recently reported results of the COMPORT trial, presented during last ESHRE meeting in Geneva in July 2017, which showed that the addition of hp-HMG to corifollitropin alfa from the outset of the ovarian stimulation did not significantly impact the number of mature oocytes retrieved (Drakopoulos *et al.*, 2017). However, we report here that the association of corifollitropin alfa with hp-HMG from the beginning of the stimulation significantly improves ovarian response to COS, as the proportion of cancelled cycle is significantly lower than with rFSH protocol. Although study design did not allow comparing clinical outcome between both regimens, clinical pregnancy rate was promising after corifollitropin alfa + hp-HMG protocol. Very few studies are available in the literature on the interest of corifollitropin alfa in poor responders. While Polyzos *et al.* (Polyzos *et al.*, 2013b) reported a 41% positive hCG test per embryo transfer in the pilot study of their COMPORT trial and a 14,3% ongoing pregnancy rate at the end of the trial (Drakopoulos *et al.*, 2017), Kolibianakis *et al.* (Kolibianakis *et al.*, 2015) reported a 15,8% positive hCG test with a 7,9% clinical pregnancy rate per patient reaching oocyte retrieval and a 20,7% positive hCG test with a 10,4% clinical pregnancy rate per embryo transfer. The heterogeneity between these studies and ours prevents from drawing firm conclusions, but our preliminary results appear to be promising in poor responders. However, and contrarily to Drakopoulos *et al.* results' in the COMPORT trial (Drakopoulos *et al.*, 2017), we did not find an increased number of frozen embryos with corifollitropin alfa + hp-HMG. Our study population might not be large enough to highlight significant differences.

The specific pharmacokinetic characteristics of the corifollitropin alfa might participate in its apparent clinical interest in poor responders. Indeed, this molecule reaches maximum serum concentration between 25 and 45 hours after injection (Devroey *et al.*, 2009; Fauser *et al.*, 2009). This period is

significantly shorter than with daily rFSH injections, and leads to a faster and higher exposure of small antral follicles to high and stable FSH serum levels during early follicular phase. A more homogeneous follicular recruitment and a continued growth resulting in a better oocyte yield in women with poor ovarian response could thus be expected (Polyzos *et al.*, 2013b) than with daily injections of high dose FSH, this strategy being reported to be ineffective (Haas *et al.*, 2015; Dercourt *et al.*, 2016) or even suspected to be deleterious for oocytes quality (Baart *et al.*, 2007; Sekhon *et al.*, 2017).

The mechanisms underlying poor ovarian response to COS still remain poorly understood. A lack of androgens and/or LH activity has been particularly evocated as one of the main factors affecting granulosa cells' physiology and folliculogenesis, as described in the classic "two cell-two gonadotropins" theory. The hypothesis that action of LH at the follicular level, increasing androgen production for its later aromatization to oestrogens in a dose-dependent manner, to restore the follicular fluid and thereby improves oocyte quality, was proposed by the group of Bosch *et al.*, 2011 (Bosch *et al.*, 2011). Based on this physiopathological concept, several studies have evocated the interest of supplementation in LH activity during antagonist protocol, particularly for women older than 35 years old or women with poor ovarian response, who might lack androgen secretion (Bosch *et al.*, 2016). However, some authors highlighted the need for an optimal level of LH action on the follicle through which the oocyte achieves adequate maturation and maximal competences (Bosch *et al.*, 2016). Consequently, we chose a relatively low dose of hp-hMG (75UI/d) in order to enhance follicular maturation and to avoid any deleterious effects on oocyte quality.

Even if the concept is scientifically seducing, some well conducted randomized trials did not find any benefit of adding LH activity in women >35 years old undergoing antagonist protocol (Vuong *et al.*, 2015). As well, a recent Cochrane review including 36 randomized controlled trials, among which 11 compared GnRH antagonist regimens, concluded that the evidence is insufficient to encourage or discourage stimulation regimens combining rLH and rFSH (Mochtar *et al.*, 2017). However, LH substitution was initiated in the mid-follicular phase at the same time as the GnRH antagonist in most studies (Drakopoulos *et al.*, 2017; König *et al.*, 2013; Younis *et al.*, 2014). This is the reason why we proposed to evaluate the benefit of such a substitution from the beginning of the stimulation.

According to our results, the addition of hp-HMG to FSH activity for ovarian stimulation does not seem to be at risk of side effects in poor responders. Indeed, only one out of 65 patients treated with corifollitropin + hp-HMG had premature progesterone elevation (>1,5 ng/ml) on hCG day, leading to a "freeze all" cycle, versus 3 with the high dose rFSH protocol. Moreover, no case of OHSS was observed with both groups, as expected in a population of poor responders.

We acknowledge that adding daily hp-HMG injections from the beginning of the stimulation to corifollitropin injection could be considered as a step back in terms of patients' comfort, as it eliminates the main advantages of corifollitropin of lowering the number of injections during

stimulation. Although patients have not been specifically questioned about this, we can speculate that adding some daily injections during the first week of stimulation could be acceptable if a significant improvement of the clinical outcome was confirmed. Although one strength of the current study is its case-control design, in which each patient is its own control, our study suffers from the inherent bias of retrospective studies, and these promising results should obviously be confirmed in larger population and in randomised studies.

## **CONCLUSION**

Corifollitropin alfa remains an interesting and safe therapeutic alternative for ovarian stimulation in poor responders. The addition of hp-HMG to corifollitropin alfa during the whole stimulation seems to improve ovarian response. However, larger randomized trials are necessary to assess the real benefit of this protocol on reproductive outcomes.

# CONCLUSION

La stimulation ovarienne des patientes « mauvaises répondeuses » est l'un des défis à relever pour les médecins d'AMP, surtout dans notre société où l'âge du désir d'enfant a tendance à reculer. Cette étude permet de proposer l'association « corifollitropine alpha + hp-hMG » en protocole antagoniste comme une alternative thérapeutique sécuritaire pour cette catégorie de patientes. En effet, l'addition d'une activité LH à la FSHr de longue durée d'action pendant toute la stimulation ovarienne semblent améliorer la qualité de la réponse ovarienne sans pour autant provoquer d'effets indésirables (syndrome d'hyperstimulation ovarienne, élévation du taux de progestérone, etc.). Des essais randomisés sur des effectifs plus larges seraient nécessaires pour confirmer les résultats encourageant de cette étude pilote rétrospective. De même, il serait intéressant d'évaluer le ressenti et la tolérance des patientes vis-à-vis de ce traitement.

Malgré une amélioration certaine des possibilités d'interprétation et de comparaison des résultats des études depuis la création des critères de Bologne, la population des patientes « mauvaises répondeuses » conserve une certaine part d'hétérogénéité. En plus d'une variabilité interindividuelle, nous sommes fréquemment confrontés à une variabilité inter-cycle chez une même patiente. Ces difficultés ont actuellement tendance à orienter vers une prise en charge de plus en plus personnalisée pour la stimulation ovarienne des patientes.

# BIBLIOGRAPHIE

- Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, Kliman H, Lema B, Lustig L, Papier S. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril* 2000;**73**:788–798.
- Adonakis G, Deshpande N, Yates RW, Fleming R. Luteinizing hormone increases estradiol secretion but has no effect on progesterone concentrations in the late follicular phase of in vitro fertilization cycles in women treated with gonadotropin-releasing hormone agonist and follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 1998;**69**:450–453.
- Aflatoonian A, Hosseinisadat A, Baradaran R, Farid Mojtahedi M. Pregnancy outcome of “delayed start” GnRH antagonist protocol versus GnRH antagonist protocol in poor responders: A clinical trial study. *Int J Reprod Biomed Yazd Iran* 2017;**15**:231–238.
- Aplin JD. The cell biological basis of human implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;**14**:757–764.
- Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, Van Opstal D, Beckers NGM, Verhoeff A, Macklon NS, Fauser BCJM. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum Reprod Oxf Engl* 2007;**22**:980–988.
- Bassiouny YA, Dakhly DMR, Bayoumi YA, Hashish NM. Does the addition of growth hormone to the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection antagonist protocol improve outcomes in poor responders? A randomized, controlled trial. *Fertil Steril* 2016;**105**:697–702.
- Berkkanoglu M, Ozgur K. What is the optimum maximal gonadotropin dosage used in microdose flare-up cycles in poor responders? *Fertil Steril* 2010;**94**:662–665.
- Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, Pellicer A. 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* 2010;**25**:2092–2100.
- Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Impact of luteinizing hormone administration on gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: an age-adjusted analysis. *Fertil Steril* 2011;**95**:1031–1036.
- Bosch E, Labarta E, Kolibianakis E, Rosen M, Meldrum D. Regimen of ovarian stimulation affects oocyte and therefore embryo quality. *Fertil Steril* 2016;**105**:560–570.
- Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2003;**80**:1444–1449.
- Bozdag G, Polat M, Yarali I, Yarali H. Live birth rates in various subgroups of poor ovarian responders fulfilling the Bologna criteria. *Reprod Biomed Online* 2017;**34**:639–644.
- Busnelli A, Papaleo E, Del Prato D, La Vecchia I, Iachini E, Paffoni A, Candiani M, Somigliana E. A retrospective evaluation of prognosis and cost-effectiveness of IVF in poor responders according to the Bologna criteria. *Hum Reprod Oxf Engl* 2015;**30**:315–322.
- Busnelli A, Somigliana E. Prognosis and cost-effectiveness of IVF in poor responders according to the Bologna criteria. *Minerva Ginecol* 2017;
- Cakmak H, Tran ND, Zamah AM, Cedars MI, Rosen MP. A novel “delayed start” protocol with gonadotropin-releasing hormone antagonist improves outcomes in poor responders. *Fertil Steril* 2014;**101**:1308–1314.

- Caprio F, D'Eufemia MD, Trotta C, Campitiello MR, Ianniello R, Mele D, Colacurci N. Myo-inositol therapy for poor-responders during IVF: a prospective controlled observational trial. *J Ovarian Res* 2015;**8**:37.
- Castelo-Branco A, Frydman N, Kadoch J, Le Du A, Fernandez H, Fanchin R, Frydman R. [The role of the semi natural cycle as option of treatment of patients with a poor prognosis for successful in vitro fertilization]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2004;**33**:518–524.
- Cédrin-Durnerin I, Guivarc'h-Levêque A, Hugues J-N, Groupe d'Etude en Médecine et Endocrinologie de la Reproduction. Pretreatment with estrogen does not affect IVF-ICSI cycle outcome compared with no pretreatment in GnRH antagonist protocol: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 2012;**97**:1359–1364.e1.
- Chang EM, Han JE, Won HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS. Effect of estrogen priming through luteal phase and stimulation phase in poor responders in in-vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2012;**29**:225–230.
- Dahan MH, Agdi M, Shehata F, Son W, Tan SL. A comparison of outcomes from in vitro fertilization cycles stimulated with either recombinant luteinizing hormone (LH) or human chorionic gonadotropin acting as an LH analogue delivered as human menopausal gonadotropins, in subjects with good or poor ovarian reserve: a retrospective analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;**172**:70–73.
- Dakhly DMR, Bayoumi YA, Gad Allah SH. Which is the best IVF/ICSI protocol to be used in poor responders receiving growth hormone as an adjuvant treatment? A prospective randomized trial. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2016;**32**:116–119.
- Dercourt M, Barriere P, Freour T. [High doses of gonadotropins for controlled ovarian hyperstimulation: A case-control study]. *Gynecol Obstet Fertil* 2016;**44**:29–34.
- Devine K, Mumford SL, Wu M, DeCherney AH, Hill MJ, Propst A. Diminished ovarian reserve in the United States assisted reproductive technology population: diagnostic trends among 181,536 cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertil Steril* 2015;**104**:612–619.e3.
- Devroey P, Boostanfar R, Koper NP, Mannaerts BMJL, IJzerman-Boon PC, Fauser BCJM. A double-blind, non-inferiority RCT comparing corifollitropin alfa and recombinant FSH during the first seven days of ovarian stimulation using a GnRH antagonist protocol. *Hum Reprod* 2009;**24**:3063–3072.
- Doan HT, Quan LH, Nguyen TT. The effectiveness of transdermal testosterone gel 1% (androgel) for poor responders undergoing in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2017;**1**–3.
- Drakopoulos P, Vuong N, Vaiarelli A, Ho M, Blockeel C, Camus M, Lam A, van der Vijver A, Humaidan P, Tournaye H, Polyzos N. Abstracts of the 33rd Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology *Hum Reprod* 2017;**32**:i6-i7.
- Ebrahimi M, Akbari-Asbagh F, Ghalandar-Attar M. Letrozole+ GnRH antagonist stimulation protocol in poor ovarian responders undergoing intracytoplasmic sperm injection cycles: An RCT. *Int J Reprod Biomed Yazd Iran* 2017;**15**:101–108.
- Eftekhar M, Aflatoonian A, Mohammadian F, Eftekhar T. Adjuvant growth hormone therapy in antagonist protocol in poor responders undergoing assisted reproductive technology. *Arch Gynecol Obstet* 2013;**287**:1017–1021.
- Elvin JA, Clark AT, Wang P, Wolfman NM, Matzuk MM. Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary. *Mol Endocrinol Baltim Md* 1999;**13**:1035–1048.
- Eskandar M, Jaroudi K, Jambi A, Archibong EI, Coskun S, Sobande AA. Is recombinant follicle-stimulating hormone more effective in IVF poor responders than human menopausal gonadotrophins? *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res* 2004;**10**:P16-9.
- Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod Oxf Engl* 2003;**18**:323–327.

- Fares FA, Suganuma N, Nishimori K, LaPolt PS, Hsueh AJ, Boime I. Design of a long-acting follitropin agonist by fusing the C-terminal sequence of the chorionic gonadotropin beta subunit to the follitropin beta subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;**89**:4304–4308.
- Fauser BCJM, Mannaerts BMJL, Devroey P, Leader A, Boime I, Baird DT. Advances in recombinant DNA technology: corifollitropin alfa, a hybrid molecule with sustained follicle-stimulating activity and reduced injection frequency. *Hum Reprod Update* 2009;**15**:309–321.
- Fensore S, Di Marzio M, Tiboni GM. Corifollitropin alfa compared to daily FSH in controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization: a meta-analysis. *J Ovarian Res* 2015;**8**:33.
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of “poor response” to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod Oxf Engl* 2011;**26**:1616–1624.
- Filicori M, Cognigni GE, Pocognoli P, Tabarelli C, Spettoli D, Taraborrelli S, Ciampaglia W. Modulation of folliculogenesis and steroidogenesis in women by graded menotrophin administration. *Hum Reprod Oxf Engl* 2002;**17**:2009–2015.
- Gemzell CA, Diczfalusy E, Tillinger G. CLINICAL EFFECT OF HUMAN PITUITARY FOLLICLE-STIMULATING HORMONE (FSH). *J Clin Endocrinol Metab* 1958;**18**:1333–1348.
- Giovanale V, Pulcinelli FM, Ralli E, Primiero FM, Caserta D. Poor responders in IVF: an update in therapy. *Gynecol Endocrinol* 2015;**31**:253–257.
- Gizzo S, Andrisani A, Noventa M, Manfè S, Oliva A, Gangemi M, Nardelli GB, Ambrosini G. Recombinant LH supplementation during IVF cycles with a GnRH-antagonist in estimated poor responders: A cross-matched pilot investigation of the optimal daily dose and timing. *Mol Med Rep* 2015;**12**:4219–4229.
- Gleicher N, Barad DH. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in diminished ovarian reserve (DOR). *Reprod Biol Endocrinol RBE* 2011;**9**:67.
- Griesinger G, Boostanfar R, Gordon K, Gates D, McCrary Sisk C, Stegmann BJ. Corifollitropin alfa versus recombinant follicle-stimulating hormone: an individual patient data meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2016a;**33**:56–60.
- Griesinger G, Verweij PJM, Gates D, Devroey P, Gordon K, Stegmann BJ, Tarlatzis BC. Prediction of Ovarian Hyperstimulation Syndrome in Patients Treated with Corifollitropin alfa or rFSH in a GnRH Antagonist Protocol. *PLoS One* 2016b;**11**:e0149615.
- Group TERHLS. Recombinant Human Luteinizing Hormone (LH) to Support Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone (FSH)-Induced Follicular Development in LH- and FSH-Deficient Anovulatory Women: A Dose-Finding Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;**83**:1507–1514.
- Haas J, Zilberberg E, Kedem A, Dar S, Orvieto R. [Do poor-responder patients benefit from increasing the daily gonadotropin dose from 300 to 450 IU during controlled ovarian hyperstimulation for IVF?]. *Harefuah* 2015;**154**:114–117, 135.
- Howles CM. Genetic engineering of human FSH (Gonal-F). *Hum Reprod Update* 1996;**2**:172–191.
- Hu L, Bu Z, Guo Y, Su Y, Zhai J, Sun Y. Comparison of different ovarian hyperstimulation protocols efficacy in poor ovarian responders according to the Bologna criteria. *Int J Clin Exp Med* 2014;**7**:1128–1134.
- Humaidan P, Bungum M, Bungum L, Yding Andersen C. Effects of recombinant LH supplementation in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and stimulation with recombinant FSH: an opening study. *Reprod Biomed Online* 2004;**8**:635–643.
- Hurst BS, Bhojwani JT, Marshburn PB, Papadakis MA, Loeb TA, Matthews ML. Low-dose aspirin does not improve ovarian stimulation, endometrial response, or pregnancy rates for in vitro fertilization. *J Exp Clin Assist Reprod* 2005;**2**:8.
- Kdous M, Elabed M, Zhioua F, Zhioua A. [Short vs long agonist protocols in poor responders undergoing IVF]. *Tunis Med* 2014;**92**:604–609.
- Kim C-H, Howles CM, Lee H-A. The effect of transdermal testosterone gel pretreatment on controlled ovarian stimulation and IVF outcome in low responders. *Fertil Steril* 2011;**95**:679–683.

- Kim C-H, Lee K-H, Park E, Min J-Y, Ahn J-W, Kang B-M. Corifollitropin alfa versus daily recombinant FSH treatment for controlled ovarian stimulation in poor responders. *Fertil Steril* 2013;**100**:S265.
- Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR. Reproductive aging: accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;**81**:1038–1045.
- Kolibianakis E, Zikopoulos K, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Modified natural cycle for IVF does not offer a realistic chance of parenthood in poor responders with high day 3 FSH levels, as a last resort prior to oocyte donation. *Hum Reprod Oxf Engl* 2004;**19**:2545–2549.
- Kolibianakis EM, Venetis CA, Bosdou JK, Zepiridis L, Chatzimeletiou K, Makedos A, Masouridou S, Triantafyllidis S, Mitsoli A, Tarlatzis BC. Corifollitropin alfa compared with follitropin beta in poor responders undergoing ICSI: a randomized controlled trial. *Hum Reprod Oxf Engl* 2015;**30**:432–440.
- Kolibianakis EM, Venetis CA, Diedrich K, Tarlatzis BC, Griesinger G. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009;**15**:613–622.
- König TE, Houwen LEE van der, Overbeek A, Hendriks ML, Beutler-Beemsterboer SN, Kuchenbecker WKH, Renckens CNM, Bernardus RE, Schats R, Homburg R, *et al.* Recombinant LH supplementation to a standard GnRH antagonist protocol in women of 35 years or older undergoing IVF/ICSI: a randomized controlled multicentre study. *Hum Reprod Oxf Engl* 2013;**28**:2804–2812.
- Kuang Y, Chen Q, Hong Q, Lyu Q, Ai A, Fu Y, Shoham Z. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online* 2014;**29**:684–691.
- La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arsenio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010;**16**:113–130.
- Lainas TG, Sfontouris IA, Venetis CA, Lainas GT, Zorzovilis IZ, Tarlatzis BC, Kolibianakis EM. Live birth rates after modified natural cycle compared with high-dose FSH stimulation using GnRH antagonists in poor responders. *Hum Reprod* 2015;**30**:2321–2330.
- LaPolt PS, Nishimori K, Fares FA, Perlas E, Boime I, Hsueh AJ. Enhanced stimulation of follicle maturation and ovulatory potential by long acting follicle-stimulating hormone agonists with extended carboxyl-terminal peptides. *Endocrinology* 1992;**131**:2514–2520.
- Lattes K, Brassesco M, Gomez M, Checa MA. Low-dose growth hormone supplementation increases clinical pregnancy rate in poor responders undergoing in vitro fertilisation. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2015;**31**:565–568.
- Leão RBF, Esteves SC, Leão RBF, Esteves SC. Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech. *Clinics* 2014;**69**:279–293.
- Leeuw R de, Mulders J, Voortman G, Rombout F, Damm J, Kloosterboer L. Recombinant hormones: Structure-function relationship of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon®). *MHR Basic Sci Reprod Med* 1996;**2**:361–369.
- Lerman T, Depenbusch M, Schultze-Mosgau A, Otte S von, Scheinhardt M, Koenig I, Kamischke A, Macek M, Schwennicke A, Segerer S, *et al.* Ovarian response to 150µg corifollitropin alfa in a GnRH-antagonist multiple-dose protocol: a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online* 2017;**34**:534–540.
- Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update* 2004;**10**:453–467.
- Mak SMJ, Wong WY, Chung HS, Chung PW, Kong GWS, Li TC, Cheung LP. Effect of mid-follicular phase recombinant LH versus urinary HCG supplementation in poor ovarian responders undergoing IVF - a prospective double-blinded randomized study. *Reprod Biomed Online* 2017;**34**:258–266.

- Marrs R, Meldrum D, Muasher S, Schoolcraft W, Werlin L, Kelly E. Randomized trial to compare the effect of recombinant human FSH (follitropin alfa) with or without recombinant human LH in women undergoing assisted reproduction treatment. *Reprod Biomed Online* 2004;**8**:175–182.
- McGee EA, Hsueh AJW. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles. *Endocr Rev* 2000;**21**:200–214.
- Merviel P, Cabry-Goubet R, Lourdel E, Devaux A, Belhadri-Mansouri N, Copin H, Benkhalifa M. Comparative prospective study of 2 ovarian stimulation protocols in poor responders: effect on implantation rate and ongoing pregnancy. *Reprod Health* 2015;**12**:52.
- Mignini Renzini M, Brigante C, Coticchio G, Dal Canto M, Caliarì I, Comi R, De Ponti E, Fadini R. Retrospective analysis of treatments with recombinant FSH and recombinant LH versus human menopausal gonadotropin in women with reduced ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet* 2017;
- Mochtar MH, Danhof NA, Ayeleke RO, Van der Veen F, Wely M van. Recombinant luteinizing hormone (rLH) and recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) for ovarian stimulation in IVF/ICSI cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;**5**:CD005070.
- Mutlu MF, Mutlu İ, Erdem M, Güler İ, Erdem A. Comparison of the standard GnRH antagonist protocol and the luteal phase estradiol/GnRH antagonist priming protocol in poor ovarian responders. *Turk J Med Sci* 2017;**47**:470–475.
- Nagels HE, Rishworth JR, Siristatidis CS, Kroon B. Androgens (dehydroepiandrosterone or testosterone) for women undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;CD009749.
- Olijve W, Boer W de, Mulders JW, Wezenbeek PM van. Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Mol Hum Reprod* 1996;**2**:371–382.
- Oride A, Kanasaki H, Miyazaki K. Comparison of human menopausal gonadotropin stimulation with and without clomiphene for in-vitro fertilisation in poor-responders. *J Obstet Gynaecol* 2015;**35**:163–167.
- Orvieto R, Nahum R, Meltzer S, Liberty G, Anteby EY, Zohav E. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the role of elevated peak serum progesterone levels. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2013;**29**:843–845.
- Pabuccu EG, Caglar GS, Pabuccu R. Estrogen or anti-estrogen for Bologna poor responders? *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2015;**31**:955–958.
- Päkkilä M, Räsänen J, Heinonen S, Tinkanen H, Tuomivaara L, Mäkilä K, Hippeläinen M, Tapanainen JS, Martikainen H. Low-dose aspirin does not improve ovarian responsiveness or pregnancy rate in IVF and ICSI patients: a randomized, placebo-controlled double-blind study. *Hum Reprod Oxf Engl* 2005;**20**:2211–2214.
- Papathanasiou A, Searle BJ, King NMA, Bhattacharya S. Trends in “poor responder” research: lessons learned from RCTs in assisted conception. *Hum Reprod Update* 2016;**22**:306–319.
- Perrier D’hauterive S, Charlet-Renard C, Goffin F, Foidart M, Geenen V. [The implantation window]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2002;**31**:440–455.
- Pilehvari S, ShahrokhTehraninejad E, Hosseinrashidi B, Keikhah F, Haghollahi F, Azimineko E. Comparison Pregnancy Outcomes Between Minimal Stimulation Protocol and Conventional GnRH Antagonist Protocols in Poor Ovarian Responders. *J Fam Reprod Health* 2016;**10**:35–42.
- Polyzos NP, Blockeel C, Verpoest W, De Vos M, Stoop D, Vloeberghs V, Camus M, Devroey P, Tournaye H. Live birth rates following natural cycle IVF in women with poor ovarian response according to the Bologna criteria. *Hum Reprod* 2012;**27**:3481–3486.
- Polyzos NP, Camus M, Llacer J, Pantos K, Tournaye H. Corifollitropin  $\alpha$  followed by menotropin for poor ovarian responders’ trial (COMPORT): a protocol of a multicentre randomised trial. *BMJ Open* 2013a;**3**:e002938.
- Polyzos NP, Corona R, Van De Vijver A, Blockeel C, Drakopoulos P, Vloeberghs V, De Vos M, Camus M, Humaidan P, Tournaye H. Corifollitropin alfa followed by hpHMG in GnRH agonist protocols. Two prospective feasibility studies in poor ovarian responders. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol* 2015;**31**:885–890.

- Polyzos NP, De Vos M, Corona R, Vloeberghs V, Ortega-Hrepich C, Stoop D, Tournaye H. Addition of highly purified HMG after corifollitropin alfa in antagonist-treated poor ovarian responders: a pilot study. *Hum Reprod Oxf Engl* 2013b;**28**:1254–1260.
- Polyzos NP, Devos M, Humaidan P, Stoop D, Ortega-Hrepich C, Devroey P, Tournaye H. Corifollitropin alfa followed by rFSH in a GnRH antagonist protocol for poor ovarian responder patients: an observational pilot study. *Fertil Steril* 2013c;**99**:422–426.
- Polyzos NP, Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? *Fertil Steril* 2011;**96**:1058–1061.e7.
- Polyzos NP, Tournaye H. Poor ovarian responders: to meta-analyse or not, that is the question. *Hum Reprod Oxf Engl* 2014;**29**:634–635.
- Pouwer AW, Farquhar C, Kremer JAM, Marjoribanks J. Long-acting follicle-stimulating hormone versus daily follicle-stimulating hormone for women undergoing assisted reproduction. *Fertil Steril* 2016;**105**:1454–1456.
- Psychoyos A. [From Lataste to the “window of implantation”: 100 years of fascinating discoveries]. *Contracept Fertil Sex* 1992 1993;**21**:333–338.
- Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod Oxf Engl* 2011;**26**:2742–2749.
- Revelli A, Chiadò A, Dalmasso P, Stabile V, Evangelista F, Basso G, Benedetto C. “Mild” vs. “long” protocol for controlled ovarian hyperstimulation in patients with expected poor ovarian responsiveness undergoing in vitro fertilization (IVF): a large prospective randomized trial. *J Assist Reprod Genet* 2014;**31**:809–815.
- Rombauts L, Talmor A. Corifollitropin alfa for female infertility. *Expert Opin Biol Ther* 2012;**12**:107–112.
- Salgueiro LL, Rolim JR, Moura BRL, Machado SPP, Haddad C. Evaluation of results obtained with corifollitropin alfa after poor ovarian response in previous cycle using recombinant follicular stimulating hormone in the long-term protocol. *JBRA Assist Reprod* 2016;**20**:123–126.
- Schimberni M, Ciardo F, Schimberni M, Giallonardo A, De Pratti V, Sbracia M. Short gonadotropin-releasing hormone agonist versus flexible antagonist versus clomiphene citrate regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016;**20**:4354–4361.
- Schimberni M, Morgia F, Colabianchi J, Giallonardo A, Piscitelli C, Giannini P, Montigiani M, Sbracia M. Natural-cycle in vitro fertilization in poor responder patients: a survey of 500 consecutive cycles. *Fertil Steril* 2009;**92**:1297–1301.
- Sekhon L, Shaia K, Santistevan A, Cohn KH, Lee JA, Beim PY, Copperman AB. The cumulative dose of gonadotropins used for controlled ovarian stimulation does not influence the odds of embryonic aneuploidy in patients with normal ovarian response. *J Assist Reprod Genet* 2017;**34**:749–758.
- Selman H, Rinaldi L. Effectiveness of corifollitropin alfa used for ovarian stimulation of poor responder patients. *Int J Womens Health* 2016;**8**:609–615.
- Siristatidis C, Salamalekis G, Dafopoulos K, Basios G, Vogiatzi P, Papantoniou N. Mild Versus Conventional Ovarian Stimulation for Poor Responders Undergoing IVF/ICSI. *In Vivo* 2017;**31**:231–237.
- Souza PMG, Carvalho BR de, Nakagawa HM, Rassi TRE, Barbosa ACP, Silva AA. Corifollitropin alfa compared to daily rFSH or HP-HMG in GnRH antagonist controlled ovarian stimulation protocol for patients undergoing assisted reproduction. *JBRA Assist Reprod* 2017;**21**:67–69.
- The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting *Hum Reprod* 2011;**26**:1270–1283.
- Themmen APN. Anti-Müllerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;**18**–21.
- Vlahos N, Papalouka M, Triantafyllidou O, Vlachos A, Vakas P, Grimbizis G, Creatsas G, Zikopoulos K. Dehydroepiandrosterone administration before IVF in poor responders: a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online* 2015;**30**:191–196.

- Vuong TNL, Phung HT, Ho MT. Recombinant follicle-stimulating hormone and recombinant luteinizing hormone versus recombinant follicle-stimulating hormone alone during GnRH antagonist ovarian stimulation in patients aged  $\geq 35$  years: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2015;**30**:1188–1195.
- Welt CK, Jimenez Y, Sluss PM, Smith PC, Hall JE. Control of estradiol secretion in reproductive ageing. *Hum Reprod Oxf Engl* 2006;**21**:2189–2193.
- Xiao J, Chang S, Chen S. The effectiveness of gonadotropin-releasing hormone antagonist in poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2013;**100**:1594-1601-9.
- Yeung TWY, Chai J, Li RHW, Lee VCY, Ho PC, Ng EHY. A randomized, controlled, pilot trial on the effect of dehydroepiandrosterone on ovarian response markers, ovarian response, and in vitro fertilization outcomes in poor responders. *Fertil Steril* 2014;**102**:108–115.e1.
- Younis JS, Izhaki I, Ben-Ami M. The effect of LH supplementation following GnRH antagonist administration in advanced reproductive ageing women undergoing IVT-ET: a prospective randomized controlled study. *Fertil Steril* 2014;**102**:e23.
- Yu X, Ruan J, He L-P, Hu W, Xu Q, Tang J, Jiang J, Han J, Peng Y-F. Efficacy of growth hormone supplementation with gonadotrophins in vitro fertilization for poor ovarian responders: an updated meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015;**8**:4954–4967.

# SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

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

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

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

Vu, le Président du Jury,

(tampon et signature)

Professeur Paul BARRIÈRE

Vu, le Directeur de Thèse,

(tampon et signature)

Docteur Florence LEPELIER

Vu, le Doyen de la Faculté,

Professeur Pascale JOLLIET

**Optimisation de la stimulation ovarienne des patientes mauvaises répondeuses en fécondation in vitro: une étude pilote rétrospective cas témoins pour les protocoles « corifollitropine alpha + hp-hMG » versus « FSHr fortes doses ».**

---

## RÉSUMÉ

**Introduction:** Il n'existe à l'heure actuelle aucun consensus sur la stratégie à adopter pour la stimulation ovarienne des patientes « mauvaises répondeuses » en fécondation in vitro. Malgré la comparaison de différentes associations de gonadotrophines dans la littérature, ayant pour objectif de trouver le protocole qui permettrait de diminuer le nombre d'annulations de cycles et d'augmenter le nombre d'embryons transférés donnant ainsi de meilleures chances de grossesse aux couples, les résultats restent discordants. Toutefois, l'association de la corifollitropine alpha à l'hp-hMG dès le début de la stimulation ovarienne n'a pas encore été évaluée dans cette population.

**Matériel et méthodes:** Cette étude pilote cas-témoins prospective mono centrée a été réalisée chez 65 patientes mauvaises répondeuses entre août 2015 et novembre 2016. Toutes les patientes avaient suivi un premier protocole antagoniste avec une forte dose de FSHr quotidienne, aboutissant à une réponse ovarienne faible ne permettant malheureusement pas d'obtenir de grossesse. Elles ont ensuite bénéficié d'un second cycle de stimulation avec un nouveau protocole associant une injection de corifollitropine alpha et des injections quotidiennes d'hp-hMG dès le début du cycle. Le critère de jugement principal était le nombre d'ovocytes matures obtenus à l'issue de la ponction. Les critères secondaires étaient le taux d'annulation de cycles d'une part et le taux de transferts d'embryons par cycle débuté d'autre part.

**Résultats:** Le nombre d'ovocytes matures n'était pas significativement différent entre les deux protocoles. Cependant, l'association « corifollitropine alpha + hp-hMG » a permis d'obtenir un nombre d'annulations de cycles significativement inférieur et une proportion de cycles avec transfert d'embryon supérieure. Le taux de grossesse clinique de 24,1% par ponction d'ovocytes est quant à lui encourageant.

**Conclusion :** Ce travail suggère des résultats prometteurs pour la stimulation ovarienne des mauvaises répondeuses avec un protocole antagoniste associant « corifollitropine alpha + hp-hMG ». Des essais randomisés sur de plus grands échantillons seraient nécessaires pour confirmer ces premiers résultats ainsi que des études coût-efficacité et une évaluation du confort des patientes.

---

## MOTS-CLES

**Corifollitropine alpha, hp-hMG, mauvaises répondeuses, stimulation ovarienne, protocole antagoniste, fécondation in vitro.**