

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année : 2019

N° 2019-233

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

DES de gynécologie médicale

par

Audrey PERENNEC

Née le 27 août 1991 à QUIMPER

Présentée et soutenue publiquement le 5 novembre 2019

**Corrélation entre la morphologie du blastocyste et les marqueurs
sériques du premier trimestre après un transfert unique en frais.**

Président : Monsieur le Professeur Paul BARRIERE

Directrice de thèse : Madame le Docteur Tiphaine LEFEBVRE

Membres du jury : Monsieur le Professeur Thomas FREOUR

Monsieur le Professeur Damien MASSON

Madame le Docteur Anne-Sophie RITEAU

REMERCIEMENTS

Au président du jury, Monsieur le Professeur Paul Barrière, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Je vous remercie pour votre écoute et votre accompagnement tout au long de mon internat. Merci également pour votre investissement et votre bienveillance à l'égard de ma spécialité qu'est la gynécologie médicale. Veuillez croire en l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A ma directrice de thèse, Madame le Docteur Tiphaine Lefebvre, pour m'avoir proposé ce travail et encadrée tout au long de cette rédaction. Je te remercie sincèrement pour ta grande disponibilité, ta rigueur et tes critiques toujours très constructives, ta gentillesse et ton écoute. Merci pour la formation que tu nous apportes dans le service de médecine de la reproduction, c'est un plaisir d'apprendre et de travailler à tes côtés. Crois en l'expression de mon profond respect.

Au Professeur Thomas Fréour, pour m'avoir proposé ce travail et accordé ta confiance. Je te remercie de me faire l'honneur de juger ce travail. Merci pour ta disponibilité, tes conseils et tes remarques pertinentes. Trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

Au Professeur Damien Masson. Je vous prie de recevoir mes sincères remerciements pour avoir accepté de juger mon travail. Veuillez croire en l'expression de ma respectueuse considération.

Au Docteur Anne-Sophie Riteau, pour me faire l'honneur de juger ce travail. Je te remercie sincèrement pour ta pédagogie, ta patience et ta disponibilité. Cela aura été pour moi un plaisir d'apprendre et de me former à l'obstétrique à tes côtés. Crois en l'expression de mon profond respect.

Au Docteur Florence Leperlier, pour la formation que j'ai acquise à tes côtés et la confiance que tu m'as accordée. Je te remercie énormément pour ta pédagogie, ton encadrement, ta franchise et ton soutien. Je suis ravie d'avoir eu la chance de travailler à tes côtés. Crois en l'expression de ma sincère gratitude.

A toute l'équipe du service de médecine de la reproduction du CHU de Nantes.

Un très grand merci aux Dr Colombel, Dr Mirallie, et Dr Splingart pour votre sympathie et votre encadrement. J'ai beaucoup appris à vos côtés et vous en suis très reconnaissante.

Merci à Jenna, pour ton travail et ton investissement dans le service, cachée dans ce petit bureau ! Je te remercie vraiment pour ton accueil, ta bonne humeur et tous les bons moments passés dans le service et en dehors.

Merci à Aurélie et Sonia pour leur incroyable disponibilité, efficacité et gentillesse. Merci aux sages-femmes, aux secrétaires, aux technicien(ne)s du laboratoire et à Elisabeth.

A Madame Laurence Budes, pour votre aide précieuse pour la réalisation de cette étude et pour l'ensemble de vos explications toujours claires et précises. Je vous remercie sincèrement pour votre disponibilité et votre investissement tout au long de ce travail.

A Madame Aurore Catteau et Monsieur Thomas Goronflot, pour votre accompagnement et votre aide à la réalisation de mon recueil de données et de mes analyses statistiques. Je vous remercie pour votre disponibilité lors de cette rédaction.

A toute l'équipe du laboratoire de biologie de la reproduction de Jules Verne, et particulièrement au Docteur Marie-Laure Langlois et à Virginie, ainsi qu'à Madame Chevillon. Je vous remercie sincèrement pour votre accueil exceptionnel, votre participation à cette étude et votre incroyable disponibilité.

A toute l'équipe du service de gynécologie-obstétrique du CHU de Nantes.

Au Professeur Norbert Winer, pour votre investissement dans la formation de tous nos stages de gynécologie obstétrique et pour votre bienveillance envers ma spécialité de gynécologie médicale. Veuillez croire en l'expression de mon profond respect.

Au Docteur Claudine Le Vaillant, pour votre encadrement dans notre formation obstétricale. Cela a été un honneur et une chance pour moi d'apprendre l'échographie à vos côtés. Je vous remercie de nous transmettre votre savoir et de nous encadrer avec une telle rigueur. Veuillez croire en l'expression de ma sincère considération.

Au Docteur Yolande Caroît, pour votre investissement dans le service de GHR et pour l'excellente formation que vous nous apportez. J'ai appris tellement à vos côtés et je vous en remercie.

Au Pr Ploteau, aux Dr Arthuis, Dr Dochez, Dr Esbelin, Dr Misbert, Dr Thubert et Dr Vaucel pour l'encadrement durant mes stages. Je remercie également tous les assistants et chefs de clinique qui nous forment et nous aident quotidiennement durant notre internat.

A toute l'équipe de sages-femmes et tout particulièrement aux sages-femmes du SIG pour leur bienveillance et leur soutien.

A toute l'équipe d'anesthésie, aux infirmières du service de gynécologie et aux aides-soignantes.

A toute l'équipe du CH de Saint-Nazaire.

Au Docteur Julien Bancquart. Julien, je te remercie pour tout ce que tu m'as appris en AMP et en gynécologie médicale, mais aussi pour ton énergie incroyable et ton accueil. C'est un réel plaisir de travailler avec toi et je suis admirative de ton parcours et de ton travail.

Aux Dr Sébastien Evrard, Dr Mélanie Randet, Dr Mathilde Renou et Dr Mathilde Simorre pour votre encadrement et votre accueil durant mes deux stages passés à vos côtés. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et pour votre bonne humeur. L'obstétrique va me manquer (et même les gardes !) et c'est en grande partie grâce à vous...

Aux Dr Allio, Dr Darcel, Dr Drevet, Dr Godin, Dr Mazerat, Dr Safwan, et Dr Troche.

A Karine et Nadine pour votre bonne humeur et votre gentillesse, et surtout votre travail.

A toutes les sages-femmes et tous les sages-hommes ! Vous êtes tous incroyables et c'est un bonheur de travailler avec vous.

A toute l'équipe du secrétariat qui a su m'épauler pour mon premier stage de consultation !

A l'ensemble de l'équipe de Procréalis à la Roche sur Yon.

Au Docteur Marine Dercourt. Marine, je te remercie énormément pour ton encadrement, ta rigueur et ta bonne humeur. Je te remercie également pour la confiance que tu m'as accordée en me proposant de te remplacer. Je suis ravie d'avoir eu la chance de te rencontrer et de travailler à tes côtés.

Aux Dr Buge, Dr Delay, et Dr Gorisse pour m'avoir fait découvrir cette belle spécialité qu'est la médecine de la reproduction. Merci pour tout.

Aux Dr Nicolas Lefleuter et Dr Jean-Maxime Girard pour votre accueil, votre disponibilité et votre aide au quotidien dans le service. Je vous remercie pour vos conseils et vos remarques pertinentes qui m'ont profondément aidée pour la rédaction de ce travail.

A Estelle, Laure, Ludivine, Manuella et Sarah, pour votre travail, votre joie de vivre et tous ces bons moments passés au centre !

A Claudie, Julie, Liliane et Sarah, pour votre travail et votre accueil. C'est un vrai plaisir de travailler avec vous.

A toute l'équipe du CH de Cholet.

Aux Dr Michel Pasco et Dr Emilie Awazu, pour m'avoir formée en échographie. Mr Pasco, je vous remercie pour votre bienveillance et votre gentillesse. Merci de m'avoir transmis votre savoir et merci d'être toujours disponible pour nous. Veuillez croire en mon profond respect et sachez que je suis honorée d'avoir pu travailler avec vous.

Emilie, je te remercie pour ta patience en échographie, je te remercie de m'avoir encadrée et formée. Je suis admirative de tout ton travail, ta rigueur et de ta passion pour l'échographie. Merci pour tous ces bons moments passés et notamment en garde (nous retiendrons surtout le « bouton » sur le clitoris ☺ et la garde avec conjonctivite !).

Aux Dr Florence Menthonnex et Dr Anne-Charlotte Tostivint, pour tout ce que vous m'avez appris en chirurgie et en obstétrique. Merci pour votre confiance, votre pédagogie et votre bonne humeur. Tous les jours c'était un bonheur de venir travailler avec vous.

Au Docteur Chantraine, pour m'avoir initiée à la chirurgie et m'avoir laissée opérer. Je vous remercie pour ces moments passés au bloc opératoire, pour votre humour et votre franc-parler. Pomponette vous remercie !

Au Docteur Lemine pour votre accueil dans votre service et pour votre encadrement.

Aux Dr Coutin, Dr Jego et Dr Pierre. Ce fut un réel plaisir de travailler à vos côtés.

A l'ensemble de l'équipe de gynécologie-obstétrique du CHD de la Roche sur Yon. Je vous remercie pour votre encadrement et votre bienveillance lors de mon premier semestre d'internat.

A toutes mes anciennes co-internes devenues mes jeunes cheffes !

A Camille Frick, pour tout ce que tu m'as appris, ta disponibilité et ton incroyable bonne humeur ! Quel plaisir de travailler avec toi ! Je te souhaite le meilleur pour la nouvelle vie qui t'attend bientôt...

A Juliette Joly, pour tous ces bons moments passés ensemble. Merci pour toutes ces gardes à papoter à l'internat (au soleil ou devant un petit goûter), sans pour autant oublier de travailler ! Je te remercie sincèrement et je te souhaite le meilleur.

A Anne-Sophie, à Céline, à Stéphanie, pour votre aide, votre disponibilité et tout ce que vous m'avez transmis.

A tous les internes de gynécologie obstétrique et médicale.

A toutes les filles de ma promo : Amélie, Armelle, Pauline R., Victoria et Racky.

A Emelyne et Charlyne pour ce semestre passé en GHR-SIG-DAN. Merci pour votre soutien et votre bonne humeur tout au long du semestre !

A Juliette L G. et Bénédicte pour tous ces moments passés aux journées de DES et de DESC.

Et à tous les internes pour les nombreuses gardes, staffs, cours et formations passés ensemble. Je vous remercie sincèrement.

**

A Estelle, pour tout. Je suis tellement heureuse de t'avoir rencontrée et d'avoir fait tout ce bout de chemin ensemble... 10 ans bientôt et tellement de choses partagées. Je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien sans faille, pour toutes ces fois où tu as su me remonter le moral, m'écouter et me remettre dans le droit chemin ! Je te remercie pour les barres de rire, les soirées et les voyages... Tellement de souvenirs. Je t'aime mon chaton.

A toutes mes petites chattes nantaises et tous les petits chatons rapportés !

A Julie, pour m'avoir donné la chance de te rencontrer et de vivre cet internat de dingue. Je te remercie d'être toujours là (même quand tu en as marre de moi !), je te remercie pour ton soutien permanent, tes conseils qui me guident, je te remercie de vivre avec moi tous ces moments importants dans ma vie. Je te remercie pour ton sourire, tes câlins (+/- consentis), ta folie, ta gentillesse et ta détermination. Merci pour toutes nos soirées, nos restos, nos vacances, notre colocation... Je ne sais pas ce que l'avenir nous réserve mais j'espère qu'on le passera ensemble. Je t'aime énormément mon bébé chat.

A Polo, pour avoir croisé ma route et me rendre heureuse. Comme pour ma grand-mère, le plus grand regret de ma vie c'est que tu refuses de m'épouser. Cependant, je te remercie d'être toi et d'être là pour moi. Je te remercie pour ta joie de vivre, pour tes éclats de rire, pour ton amour, ton soutien, ton écoute et tes doudouces. Tu m'apaises et m'aides à avancer. Je te remercie pour tous ces moments uniques vécus ensemble. Je t'aime et je serai à jamais ton poussin.

A Claire, pour tout ce que je te dois. Merci de m'avoir accueillie avec autant de bienveillance, merci pour tes conseils, ton soutien, ton écoute, ta force de caractère et ta bonne humeur. Tu le sais je suis admirative de toi. Je te remercie d'être à mes côtés depuis bientôt 4 ans et de partager tous ces moments ensemble. Une amie, une vraie. Je t'aime.

A Sara, pour cette amitié en or. Je te remercie pour tous nos moments passés ensemble : nos soirées, nos vacances, nos week-ends, nos discussions... Je te remercie d'être là pour moi, pour ton soutien et ton écoute, pour ton côté déjanté et ta bonne humeur. Je t'aime.

A Camille et Marco, pour votre amitié à laquelle je tiens tant. Je vous remercie pour ces vacances passées ensembles, ces soirées et ces fous rires... Je vous remercie pour votre soutien durant cet internat. Je vous embrasse fort.

A mon Pacito, pour ton soutien et ton aide, ta bonne humeur et ton sourire... Je te remercie pour tous ces moments partagés. Ton amitié m'est précieuse sache le. Je t'embrasse.

A Francis, pour toutes ces années passées entre Brest et Nantes. Merci d'être prêt à porter mon sac de 13 kg pour parcourir 10 km en course, c'est à ça qu'on reconnaît les amis ! Elle a bien choisi la coquine ! Des bisous.

A Gogo, pour ton amitié et tous ces bons moments partagés. Je te remercie pour ces belles années et celles à venir ! Gros bisous.

A Mariette, pour ton soutien et ta bonne humeur inégalable. Je te remercie pour tout ce que tu m'apportes, pour tes appels et ton écoute qui me font tant de bien. Tu es un petit rayon de soleil. Ta « petite Audrey » qui t'aime fort.

A Eva, pour cette rencontre en AMP et cette amitié née. Je te remercie pour tous ces fous rires, pour ta joie de vivre, pour ton soutien et tous ces avis endocrino☺. Un énorme merci, je t'embrasse fort.

A Marion, pour notre amitié née à Brest mais décuplée à Nantes ! Une chance qu'on se soit retrouvé à la Roche et je te remercie pour tous ces moments partagés depuis. Je t'embrasse.

A Mélodie et Charlotte, pour votre soutien incroyable pendant notre premier semestre et pour votre bonne humeur. C'était plus qu'un plaisir de travailler avec vous et je suis tellement heureuse de vous avoir aujourd'hui comme amies. Je vous embrasse.

Au grand Dr Arnaud Reignier. Arnaud je te remercie énormément pour ton accueil dans le service et l'ambiance que tu y apportes. Je pensais rencontrer un simple collègue, j'ai rencontré un véritable ami. Je te remercie pour tous les bons moments passés avec toi (et Raph !) et je te remercie encore une fois pour ton aide à la rédaction de cette thèse. Merci, vraiment. Je t'embrasse.

A ma petite Fantou d'amour, pour m'avoir appris le verlan (blague). Je suis profondément heureuse de t'avoir rencontrée et d'avoir vécu ce coup de foudre amical. Déjà tellement de moments de dingue ensemble et en si peu de temps. J'ai hâte de voir ce que nous réserve la suite ! Je t'embrasse sur tes petites fesses de bonnasse.

A ma Nolwen, pour tout. Il est impensable et impossible de tout résumer en deux phrases. Tu me soutiens depuis toujours, ta joie, ta force et ton amour me portent depuis 17 ans... Tu es bien plus que les petites roues de mon vélo, tu es l'un des piliers de ma vie. Je ne pourrai jamais te remercier suffisamment, mais je veux au moins que tu saches à quel point je t'aime. Et je t'aime à un point...

A ma Pauline, à ma Paulette, pour faire partie de ma vie avant même que je puisse m'en souvenir. Je me suis construite avec toi et si j'en suis là aujourd'hui c'est grâce à toi. Je te remercie pour tout et je ne sais pas comment décrire l'amour que j'ai pour toi. Mais sache que je ne peux pas vivre sans toi, je t'aime.

A toutes mes choupinettes quimpéroises. A Anne-Charlotte, à Gégé, à Margot, pour notre amitié inexplicable. Vous m'êtes indispensables et je vous remercie tellement mais tellement pour votre amour et votre soutien pendant toutes ces années. Merci d'être là dans les bons mais aussi dans les moments difficiles... Je n'en serais pas là sans vous. Je vous aime <3.

A Jérôme, Yannick et Benoit, pour tous ces moments de fous partagés ! Un bonheur de pouvoir compter sur de vrais amis. Je vous embrasse très fort.

A ma Marion R., pour être là depuis le lycée... Notre amitié m'est extrêmement chère. Je te remercie de m'avoir écoutée et soutenue comme personne. Ta spontanéité, ta joie de vivre, ton optimisme sont un bonheur au quotidien. Je t'aime et je mesure la chance de t'avoir à mes côtés.

A Marion G, pour m'avoir soutenu et remise sur les rails quand ça n'allait pas. Je ne serais probablement pas là sans toi. Je te remercie pour cette relation si particulière. Je t'embrasse.

A tous les pléneuviens, pour ces étés de folies, ces bouffées d'oxygène pendant l'externat. Je vous remercie pour tout. Merci à Delphine et Damien, Ravard, Tanguy, Thibault (Roucmout <3), Sarah, Alexis et Alexis, Dodo, Poulish, Youn, Pierrolalune.

A Manu, pour tes encouragements et ton soutien de toujours. Ami ou famille, on ne sait plus vraiment ! Te connaissant je suis sûre que tu seras un des seuls à lire cette thèse ☺ ! Je te remercie pour tout, et aussi d'être présent à la soutenance. Ca me touche. Je t'embrasse.

**

A toute ma famille si incroyable « La Bande à Mimie », pour tout votre amour et tout votre soutien durant ces très longues études. Et merci aussi d'avoir soutenu mes parents !! Je vous aime très très fort. Merci aux tontons et tatas : Michèle et Alain, Danielle et Guy, Martine et Thierry, Jean-Phi. Merci à tous mes cousins et cousines : Laura, Cyril, ma petite Zazaille, mon Marco (quelle belle équipe on fait !), mon Lulu d'amour (et spéciale dédicasse pour le dézipage de fichier), Floriane et Florette.

Un énorme merci à toi Jonas, pour ton soutien, ton calme, tu as su me supporter et me temporiser pendant ces années de colocation. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu m'as apporté. Je t'aime.

Un grand merci à toi Sophie, ma belle cousine. Une sacrée pépite qu'il nous a trouvé le petit chercheur d'or ! Je te remercie pour tout, merci d'être là dans les bons et les moins bons moments... C'est ça une famille ! Je t'embrasse fort.

A Jordan. Nous nous sommes vus grandir et évoluer, mais moi je t'ai vu partir. J'ai perdu un cousin, un frère et une partie de moi. Pas un jour ne passe sans que je pense à toi. Je continuerai d'avancer en pensant à toi et en prenant exemple sur toi. Ta force, ta combativité, ton élégance, ton intelligence, ta gentillesse, ton humour faisaient de toi une personne extraordinaire. Tu es toujours avec moi et je t'aime.

A Solenn et Annaëlle mes deux sisters, pour avoir toujours été là pour moi. Je vous remercie de me soutenir et de me redonner confiance en moi quand ça ne va pas. Je vous remercie de toujours décrocher pour me reconforter dans les moments difficiles. Nous sommes bien différentes et pourtant si proches. Je vous aime plus que tout.

A Olivier et Nekoma mes deux BF, pour garder les petits le 5 novembre !! Ahah je déconne. Merci à vous deux d'être comme des frères. Vous comptez énormément pour moi et je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements sans faille ! Je vous aime.

A mes petits neveux, Eloan, Milo, Mayeul, Jorian et Lieven, pour m'avoir donné du fil à retordre pendant mes week-ends de révision ☺ mais surtout pour remplir ma vie de bonheur. Vous êtes les petits rayons de soleil de ma vie et je vous aime très fort.

A Mamie Coray. Merci à toi d'être toujours à mes côtés ! Merci pour toutes ces crêpes qui me remontaient le moral pendant les révisions ! Je t'embrasse fort, je t'aime.

A Mamie, pour m'avoir fait grandir et faire de moi ce que je suis aujourd'hui. Je te dois tout, et si je deviens médecin Mamie, tu peux être certaine que c'est bien grâce à toi. Tu m'as appris les tables de multiplications, tu m'as fait réciter mes leçons, tu m'as hébergée et soutenue comme personne en première année de médecine et pour l'ECN. Tu m'as aidée à continuer et à me battre quand j'avais envie d'arrêter. Tu m'as donné envie de te rendre fière de moi et j'espère que tu l'es. Tu es ma force et je t'aime tellement.

Et enfin, à Papa et Maman, d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir poussée à me dépasser et de m'avoir soutenue à chaque seconde. Je sais que je ne vous ai pas facilité la tâche et que ces études ont été aussi dures pour vous que pour moi. J'ai une bonne nouvelle, à priori on voit le bout ! Rien de ce que j'accomplis aujourd'hui n'aurait été possible sans vous, je vous dois tout. Je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous faites pour moi, pour toute la force que vous me donnez et pour tout l'amour que vous me portez. Je suis tellement fière d'être votre fille. Je vous aime si fort.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES ABREVIATIONS	10
FIGURES	12
TABLEAUX	13
INTRODUCTION.....	14
I. La fécondation in vitro avec ou sans injection de spermatozoïdes	15
A. Principes généraux	15
B. Les principaux protocoles de FIV	16
II. Le développement embryonnaire et le blastocyste	16
A. Le développement embryonnaire	16
B. Classification du blastocyste	17
C. L'implantation embryonnaire	19
III. Dépistage et diagnostic prénatal de la trisomie 21 en France aujourd'hui	21
A. Recommandations HAS de 2007	22
B. Recommandations HAS de mai 2017	23
IV. Les marqueurs sériques du 1 ^{er} trimestre	24
A. La fraction libre de la chaîne bêta de l'hormone chorionique gonadotrope	24
B. La pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)	25
C. La conversion en MoM (Multiple of Median)	27
V. Principaux articles de la littérature	28
VI. Objectifs de l'étude.....	33
MATERIEL ET METHODES	35
I. Population : critères d'inclusion et d'exclusion	35
II. Recueil des données.....	35

III. Déroulement de l'étude	36
IV. Analyses statistiques.....	38
RESULTATS	40
I. Caractéristiques de la population et comparaison des groupes de blastocystes selon leur qualité globale	40
II. Comparaison des valeurs de PAPP-A et b-hCG selon les paramètres morphologiques des blastocystes	44
III. Analyse multivariée	44
DISCUSSION	47
I. Résultats principaux	47
II. Validité externe de l'étude.....	47
III. Autres résultats	49
IV. Forces et faiblesses de l'étude	50
V. Explications physiopathologiques	52
CONCLUSION	55
BIBLIOGRAPHIE	56
SERMENT D'HIPPOCRATE	64

LISTE DES ABREVIATIONS

ADNlcT21 : ADN libre circulant dans le dépistage de la trisomie 21

AG : âge gestationnel

AMH : hormone antimüllérienne

AMP : assistance médicale à la procréation

AP : accouchement prématuré

CFA : comptage des follicules antraux

CN : clarté nucale

CT : cytotrophoblaste

CTEV : cytotrophoblaste extravilleux

CTV : cytotrophoblaste villeux

DG : diabète gestationnel

DPN : diagnostic prénatal

FC : fausse couche

FCT : fausse couche tardive

FIV +/- ICSI : fécondation in vitro +/- injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes

HAS : haute autorité de santé

HTAG : hypertension artérielle gravidique

HSO : hyperstimulation ovarienne

IMC : indice de masse corporelle

IMG : interruption médicale de grossesse

IIU : insémination intra-utérine

LCC : longueur crânio-caudale

MCI : masse cellulaire interne

MFIU : mort fœtale in utero

MoM : multiple de la médiane

MSM : marqueurs sériques maternels

PPAG : petit poids pour l'âge gestationnel

PE : pré-éclampsie

RCIU : retard de croissance intra utérin

RPM : rupture prématurée des membranes

SA : semaines d'aménorrhée

ST : syncytiotrophoblaste

T21 : trisomie 21

TE : trophodermes

TEC : transfert d'embryon congelé

FIGURES

Figure 1 : Photographies de deux stades embryonnaires, issues de la banque d'images du service de médecine de la reproduction du CHU de Nantes.	17
Figure 2 : Classification des blastocystes selon Gardner et Schoolcraft 1999(4).	18
Figure 3 : Photographies de blastocystes, issues de la banque d'images du service de médecine de la reproduction du CHU de Nantes.....	19
Figure 4 : Schéma représentant l'implantation physiologique.	20
Figure 5 : Facteurs correcteurs du logiciel SSDW6 pour la conversion en multiple de la médiane des marqueurs sériques.	37
Figure 6 : Diagramme de flux.	40
Figure 7 : Comparaison des médianes des concentrations sériques de PAPPA (7a) et b-hCG (7b) en MoM au sein des trois groupes de qualité embryonnaire.	43

TABLEAUX

Tableau 1: Principaux articles de la littérature : influence de la FIV et/ou ICSI sur la PAPP-A et la b-hCG. Dans ces articles toutes les valeurs ont été présentées en MoM.....	32
Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques de la population en fonction des trois groupes de qualité des blastocystes.....	42
Tableau 3 : Comparaison des caractéristiques de la stimulation en fonction des trois groupes de qualité des blastocystes.....	42
Tableau 4 : Comparaison des caractéristiques du déroulement de la grossesse en fonction des trois groupes de blastocystes.	43
Tableau 5 : Comparaison des concentrations en MoM de PAPP-A et b-hCG en fonction des paramètres morphologiques des blastocystes.....	44
Tableau 6 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de PAPP-A en mUI/L.	45
Tableau 7 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de b-hCG en mUI/mL.	45
Tableau 8 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de PAPP-A en MoM.	46
Tableau 9 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de b-hCG en MoM.	46

INTRODUCTION

Dans la plupart des laboratoires de biologie de la reproduction, le choix de l'embryon à transférer repose sur des critères essentiellement morphologiques. Dans le cas de la stratégie de transfert après culture prolongée, les paramètres morphologiques du blastocyste concerné sont le degré d'expansion et l'état d'éclosion, la masse cellulaire interne (MCI) et les caractéristiques du trophoctoderme (TE). Chacun de ces paramètres a été décrit comme étant des marqueurs prédictifs de grossesse et de naissance vivante après le transfert de blastocyste frais.

Concernant le dépistage de la trisomie 21 (T21) en France il est proposé de manière systématique à toute patiente ayant débuté une grossesse, que ce soit spontanément ou dans les suites d'un cycle de fécondation in vitro avec ou sans injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (FIV±ICSI). Il se fait entre 11 semaines d'aménorrhée (SA) et 13SA+6jours via les marqueurs sériques du premier trimestre (b-hCG et PAPP-A) et la mesure de la clarté nucale (CN) en échographie.

Un certain nombre d'études ont analysé les marqueurs sériques du premier trimestre dans les grossesses issues de FIV±ICSI mais aucune ne s'est intéressée à la corrélation entre la morphologie des blastocystes et ces marqueurs sériques.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la relation entre la morphologie des blastocystes transférés au décours d'une FIV±ICSI et les marqueurs sériques du premier trimestre de grossesse.

Après un rappel sur les principes généraux de la FIV, le développement embryonnaire, la classification des blastocystes et l'implantation embryonnaire, nous aborderons les techniques de dépistage de la trisomie 21 et les notions clés sur les marqueurs sériques du premier trimestre. Puis, nous présenterons les principales études concernant les marqueurs sériques du premier trimestre pour les grossesses issues de FIV±ICSI.

Nous présenterons ensuite les objectifs, les patientes, les méthodes de recueil et d'analyse des données, ainsi que les résultats de cette étude. Enfin, nous analyserons l'éventuel impact de ces résultats dans la prise en charge des patientes en Médecine de la Reproduction.

I. La fécondation in vitro avec ou sans injection de spermatozoïdes

A. Principes généraux

La FIV est une technique d'assistance médicale à la procréation qui permet la rencontre des gamètes mâle et femelle en dehors de l'appareil génital féminin. On réalise aujourd'hui en France environ 60 000 tentatives de FIV±ICSI par an (d'après le dernier rapport de 2015 de l'agence de la biomédecine (1)).

La prise en charge des couples en FIV comporte plusieurs étapes clés. La première étape est l'hyperstimulation ovarienne contrôlée par injection quotidienne de gonadotrophines afin d'obtenir plusieurs ovocytes matures, avec monitoring de l'ovulation par surveillance échographique et dosages plasmatiques. Cette étape dure 10 à 14 jours et diffère selon les protocoles utilisés. Elle est suivie du déclenchement de l'ovulation par Ovitrelle (hCG). Trente-six heures après le déclenchement, a lieu le recueil ovocytaire par ponction au bloc opératoire sous échographie endovaginale. Les tubes contenant le liquide folliculaire et les ovocytes sont conservés à 37°.

Parallèlement le sperme est recueilli après 3 à 5 jours d'abstinence par masturbation (ou après biopsie testiculaire ou ponction épидидymaire en cas d'azoospermie). Le sperme est préparé : les spermatozoïdes sont sélectionnés par une technique de migration sur gradient avec centrifugation.

Dans le cadre de la FIV classique, les ovocytes sont placés en présence de 40 à 80 000 spermatozoïdes mobiles/ovocyte, sans que le statut de maturité ovocytaire ne soit connu. Dans le cadre de la FIV-ICSI, les ovocytes sont décoronés. Un spermatozoïde sélectionné sera microinjecté dans chaque ovocyte mature (ayant expulsé le premier globule polaire).

Débute alors la phase de culture embryonnaire au laboratoire pendant 5 à 6 jours aboutissant à la formation d'un ou de plusieurs blastocystes. Le transfert embryonnaire peut être réalisé précocement à J2-J3 ou au stade blastocyste. Un ou deux embryons sont transférés à l'aide d'un cathéter, sous contrôle échographique. Les embryons surnuméraires sont vitrifiés. La phase lutéale au décours d'une FIV est soutenue par l'introduction de progestérone micronisée ou de dydrogestérone le soir de la ponction (Utrogestan® ou Duphaston®) et ce jusqu'au test de grossesse 11 jours après le transfert.

B. Les principaux protocoles de FIV

L'hyperstimulation ovarienne contrôlée consiste en une stimulation multifolliculaire par injections quotidiennes de gonadotrophines urinaires ou recombinantes à fortes doses. Cette stimulation est responsable d'une hyperoestradiolémie supraphysiologique avec risque d'ovulation prématurée par déclenchement du pic de LH. Il est donc indispensable de bloquer l'axe hypothalamo-hypophysaire grâce à l'utilisation d'analogues de la GnRH. Deux grands types de protocoles sont utilisés : le protocole antagoniste, le plus fréquemment utilisé et le protocole agoniste.

Concernant les antagonistes (Orgalutran® ; Fyremadel ® ; Cetrotide®), ils se fixent directement sur les récepteurs hypophysaires de la GnRH et entraînent ainsi un blocage immédiat de l'action de la GnRH hypothalamique sur l'hypophyse. Le protocole antagoniste se résume donc en une stimulation ovarienne par injection quotidienne de gonadotrophines dès le début du cycle, auxquelles sont rajoutées les injections quotidiennes d'antagonistes de la GnRH vers le 5 ou 6^{ème} jour de la stimulation en fonction du monitoring (biologique et échographique) ou de façon fixe.

Concernant les agonistes, il s'agit de molécules se fixant sur les récepteurs hypophysaires de la GnRH et entraînant dans un premier temps un effet « flare-up » pendant 48 heures avec relargage massif des réserves de FSH et de LH par stimulation initiale de l'hypophyse. Dans un deuxième temps, se produit une désensibilisation hypophysaire avec une inhibition de la sécrétion de FSH et de LH qui persiste tant que dure l'administration continue de ces analogues. L'injection quotidienne de l'agoniste de la GnRH se fait soit en début de phase folliculaire (1^{er} ou 2^{ème} jour du cycle) pour les patientes dysovulantes, soit en fin de phase lutéale du cycle précédent (à partir du 20-22^{ème} jour du cycle) pour les patientes normo-ovulantes. Les injections quotidiennes de gonadotrophines exogènes débutent après contrôle du freinage par échographie et prise de sang dans les protocoles agonistes longs ou en même temps dans les protocoles agonistes courts.

II. Le développement embryonnaire et le blastocyste

A. Le développement embryonnaire

Le développement embryonnaire est étudié au microscope par le biologiste à des temps précis. Cette observation peut être optimisée par l'utilisation du time-lapse (exemple : Embryoscope®) qui enregistre le développement embryonnaire en continu, garantit des

conditions de culture optimales par rapport aux méthodes conventionnelles, ce qui augmenterait ainsi les chances de grossesse (2).

Le stade de zygote est observé 16 à 18h après la mise en contact des gamètes. Une fécondation diploïde est dite normale si l'on observe 2 pronuclei et l'émission du 2^{ème} globule polaire.



Figure 1 : Photographies de deux stades embryonnaires, issues de la banque d'images du service de médecine de la reproduction du CHU de Nantes.

Légende : Stade zygote (1a). Embryon au stade J2 (1b).

Au cours du 2^{ème} et 3^{ème} jour de développement, l'évaluation se fait sur le nombre de cellules, sur leur symétrie et sur le pourcentage de fragmentation. Puis viennent les stades de précompaction et de compaction aboutissant à l'aspect compact caractéristique de la morula, observée à J4. Enfin une cavité se crée dans la morula (cavitation), qui prend alors le nom de blastocyste.

Au stade de blastocyste, à J5-J6, l'embryon a plus de 32 cellules. C'est une sphère creuse avec une cavité centrale remplie de liquide : le blastocœle. On distingue deux types de cellules différenciées : les cellules du trophoctoderme formant un feston qui borde la cavité blastocoelique et les cellules de la MCI, excentrée, au contact du TE. Le blastocyste va ensuite croître sous l'augmentation du fluide du blastocoele et la zone pellucide s'amincit. A J6 le blastocyste présente 100 à 200 cellules, dont un tiers constitue la MCI.

On observe ensuite l'érosion puis l'éclosion du blastocyste qui sort de la zone pellucide entre J6 et J7. A J7 l'embryon est donc hors de la zone pellucide et prêt à s'implanter.

B. Classification du blastocyste

Dans le but de sélectionner le blastocyste avec les meilleures chances de grossesse pour le transfert, trois paramètres morphologiques sont utilisés en routine pour classer les

blastocystes : le degré d'expansion du blastocèle, l'apparence de la masse cellulaire interne et l'apparence du trophoctoderme. Au niveau international, la classification de Gardner et Schoolcraft est utilisée pour l'évaluation de la qualité embryonnaire (3). Elle est basée sur un score alphanumérique déterminé au 5^{ème} jour de culture (*Figure 2*).

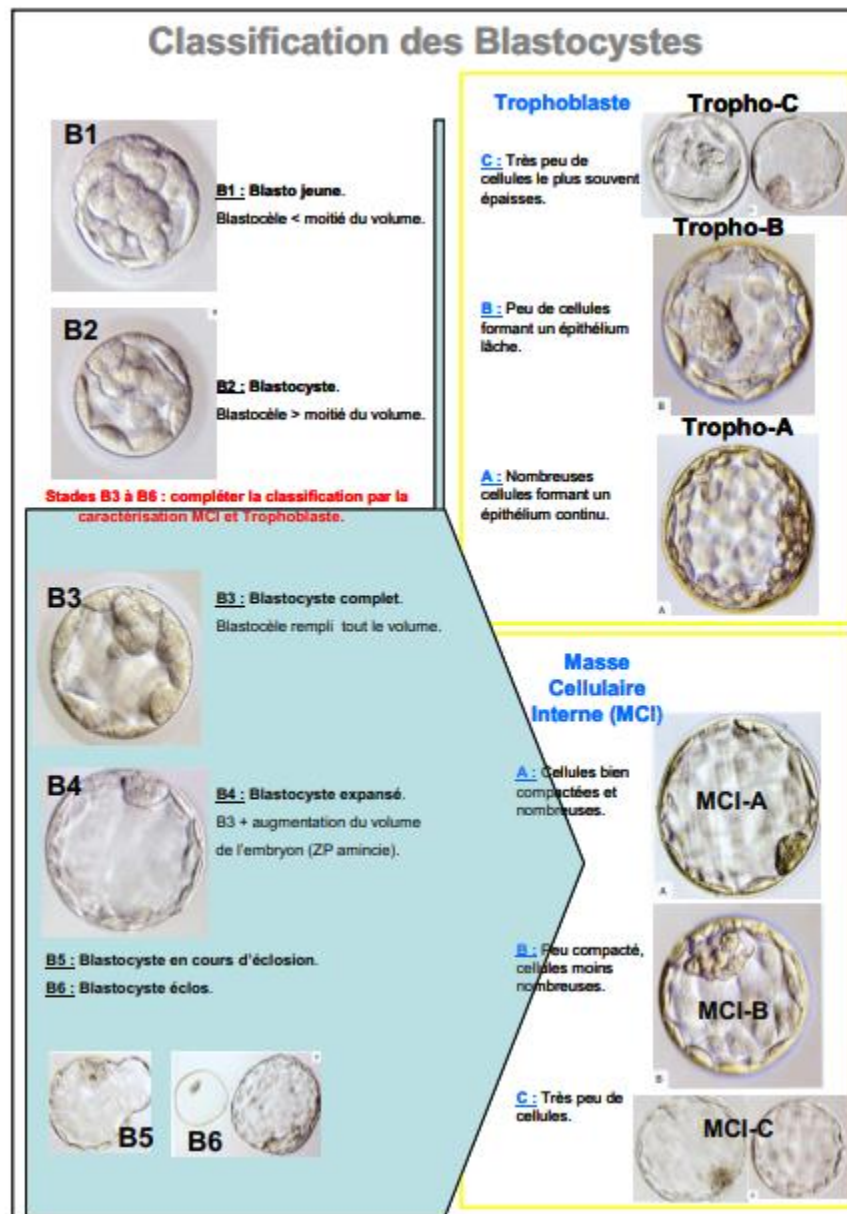


Figure 2 : Classification des blastocystes selon Gardner et Schoolcraft 1999(4).

Le blastocyste est noté par un chiffre de 1 à 6, selon le volume de son blastocèle et son stade de développement :

- B1 : la cavité liquidienne (blastocèle) représente moins de 50% de la surface de l'embryon
- B2 : le blastocèle représente plus de 50% de la surface de l'embryon
- B3 : blastocyste complet

- B4 : blastocyste expansé = B3 + augmentation du volume de l'embryon, la zone pellucide s'amincit
- B5 : blastocyste en éclosion, le trophoctoderme commence à sortir de la zone pellucide
- B6 : blastocyste éclos, il est complètement en dehors de la zone pellucide

Pour les blastocystes avec un stade $\geq$ B3, la MCI et le TE sont évalués.

La MCI est caractérisée par une lettre : A, B ou C selon le nombre et l'aspect de ses cellules :

- A : aspect compact, composée de nombreuses cellules et bien individualisée.
- B : aspect moins organisé, avec moins de cellules.
- C : aspect peu visible, formée de peu de cellules.

Le TE est lui aussi caractérisé par une lettre : A, B ou C selon le nombre et l'aspect de ses cellules.

- A : cellules nombreuses et formant un épithélium festonné continu
- B : cellules peu nombreuses, formant un épithélium lâche
- C : cellules très peu nombreuses, le plus souvent épaisses.



Figure 3 : Photographies de blastocystes, issues de la banque d'images du service de médecine de la reproduction du CHU de Nantes.

Légende : Stade B1 (3a). Stade B4AA (3b).

C. L'implantation embryonnaire

L'implantation embryonnaire débute dès que le blastocyste entre en contact avec la muqueuse utérine. La qualité de cette interaction constitue un élément clef de la bonne implantation puis d'un développement fœto-placentaire harmonieux. La décidualisation de l'endomètre débute immédiatement après l'ovulation. S'il y a fécondation de l'ovocyte, la décidualisation va se poursuivre lors de l'enfouissement du blastocyste dans la paroi utérine.

Elle va concerner la zone dite de jonction blastocyste/utérus qui comprend l'endomètre et le premier tiers du myomètre. Le blastocyste se divise et se différencie schématiquement en deux pôles : un pôle embryonnaire et un pôle trophoblastique qui mènera au futur placenta. S'en suivent la différenciation trophoblastique et la placentation (*Figure 4*).

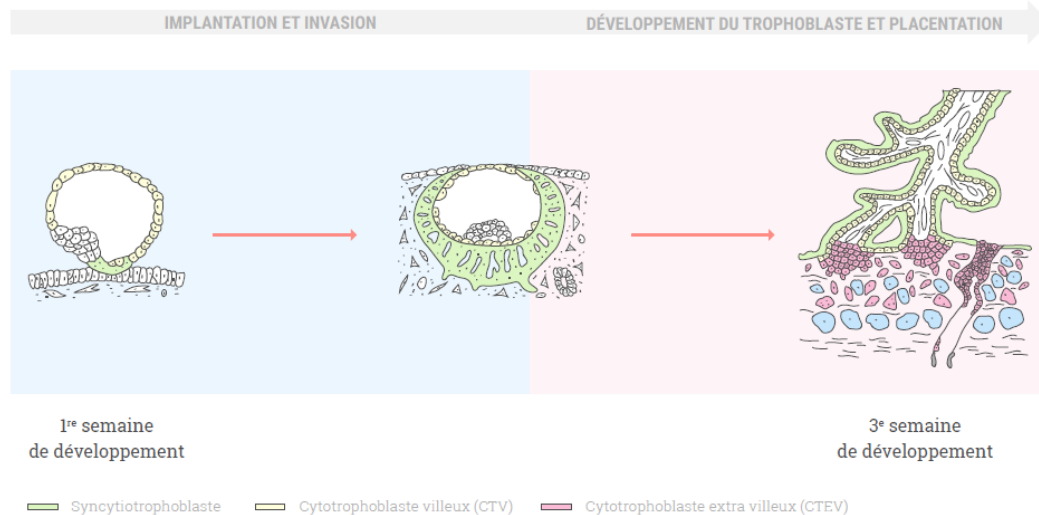


Figure 4 : Schéma représentant l'implantation physiologique.

Extrait du cours de J.Guibourdenche sur " les biomarqueurs placentaires de la pré-éclampsie".

Au niveau du pôle trophoblastique se différencient une couche cellulaire interne de cytotrophoblaste (CT) et une couche externe le syncytiotrophoblaste (ST) invasif. Le ST pénètre l'endomètre vers le 14^{ème} jour après l'ovulation.

Les villosités placentaires vont se constituer pendant le premier mois de grossesse en passant par trois stades : villosités primaires (travées de CT bordées par du ST) ; villosités secondaires (envahissement de l'axe de ces travées par du mésenchyme extra-embryonnaire) ; villosités tertiaires (développement dans l'axe mésenchymateux de capillaires fœtaux qui vont se connecter au réseau vasculaire fœtal de l'allantoïde). A la base des villosités tertiaires, le tissu trophoblastique se différencie en : cytotrophoblaste extravilleux (CTEV) prolifératif et invasif, d'une part, et cytotrophoblaste villositaire (CTV) qui fusionne au ST, d'autre part.

A partir de la fin du 2^{ème} mois, les villosités disparaissent de la plus grande partie de la surface du sac gestationnel pour ne persister qu'au pôle du sac situé en regard du myomètre. Le placenta va acquérir sa structure définitive à la fin du 4^{ème} mois. On distinguera alors deux types de villosités : les villosités crampons et les villosités flottantes ou libres. La villosité crampon est ancrée dans l'endomètre maternel et à sa base se trouve le CTEV. Ce dernier prolifère, migre dans l'endomètre, puis envahit une partie du myomètre (CTEV interstitiel) et va remodeler les artères utérines (CTEV vasculaire) ou va se différencier en cellules géantes.

Le CTEV va donc coloniser les artères spiralées maternelles qui commencent à se modifier, puis il envahit la paroi artérielle et constitue des bouchons trophoblastiques obstruant la lumière des vaisseaux pendant tout le premier trimestre. Il détruit progressivement le tissu musculaire, élastique, et nerveux de la paroi artérielle pour le remplacer par une matrice fibreuse atone incluant des cellules trophoblastiques du CTEV ayant acquis un phénotype endothélial. Il en résulte une augmentation du diamètre des vaisseaux, une diminution des résistances et une disparition du contrôle vasomoteur maternel, permettant l'arrivée du sang maternel dans la chambre intervillieuse vers 12 semaines d'aménorrhée (SA) lorsque les bouchons trophoblastiques se désagrègent. En envahissant l'endomètre puis le myomètre et les artères spiralées maternelles, ces cellules placentaires sont parmi les premières à entrer en contact avec la circulation maternelle. Il constitue de ce fait la source principale des marqueurs sériques maternels placentaires dosables au premier trimestre de la grossesse (5).

La villosité flottante est bordée par le ST qui repose sur une couche de CTV et fusionnent pour donner cette masse multinucléée appelée syncytiotrophoblaste. Le syncytiotrophoblaste est le siège d'une activité métabolique, d'une activité d'échange et d'une activité endocrine intenses permettant la bonne croissance fœto-placentaire et l'adaptation métabolique maternelle à la grossesse. Ce ST subit un processus d'apoptose régulière et de renouvellement-réparation (6).

Cette invasion trophoblastique est un processus physiologiquement régulé, qui a donc lieu en début de grossesse seulement. Du côté maternel la réponse immuno-inflammatoire est globalement réprimée, et du côté du trophoblaste l'invasion est favorisée (par l'absence d'expression ou par l'expression de certains antigènes du complexe HLA I et II, et par l'expression de la protéine placentaire 13), constituant ainsi un équilibre.

Il faut noter qu'une prolifération excessive du cytotrophoblaste peut conduire à la formation de tumeurs, notamment du choriocarcinome (avec augmentation importante du taux d'hCG ou bêta-hCG). Mais si ce phénomène ne se produit pas, ceci peut entraîner une placentation anormale conduisant à la pré-éclampsie et/ ou au retard de croissance intra-utérin (7).

III. Dépistage et diagnostic prénatal de la trisomie 21 en France aujourd'hui

La trisomie 21 ou « syndrome de Down » est la plus fréquente des anomalies chromosomiques touchant 1 grossesse sur 400 (8). Sa fréquence augmente avec l'âge

maternel. Cette aneuploïdie autosomique est due à la présence, en partie ou en totalité, d'un chromosome 21 surnuméraire. Elle se traduit par un syndrome polymalformatif avec une déficience intellectuelle variable.

Pour identifier les fœtus atteints de trisomie 21, le diagnostic prénatal (DPN), fondé sur l'établissement du caryotype fœtal à partir du prélèvement de cellules fœtales, s'est développé à partir des années 1970. Cependant en raison des risques associés aux techniques de prélèvement de cellules fœtales (perte fœtale), du nombre limité de laboratoires de cytogénétique et du coût des examens, le DPN de la trisomie 21 n'a jamais été proposé de façon systématique à toutes les femmes enceintes. Celui-ci était initialement proposé aux femmes les plus à risque à savoir les plus âgées (seuil fixé à 40 ans puis abaissé à 38 ans). Cependant 2/3 des enfants porteurs de trisomie 21 naissent de femmes de moins de 35 ans. Par la suite, la découverte de différents marqueurs sériques maternels et l'identification de signes échographiques en faveur d'une trisomie 21 ont permis le développement du dépistage prénatal pour les grossesses mono-fœtales. Initialement seuls des marqueurs du deuxième trimestre étaient dosés, puis les recherches ont permis de découvrir deux nouveaux marqueurs sériques dosables au premier trimestre : la PAPP-A et la fraction libre de la b-hCG. Ainsi en 2007 la Haute Autorité de Santé (HAS) publie de nouvelles recommandations qui se sont avérées être un changement majeur dans le dépistage de la trisomie 21 en France. S'en suivront les toutes dernières recommandations de 2017 sur la place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 (ADNlcT21).

A. Recommandations HAS de 2007

En juin 2007 la HAS publie de nouvelles recommandations qui seront officialisées par l'arrêté du 23 juin 2009 (8,9). Trois méthodes de dépistage sont recommandées selon le terme de la grossesse et la possibilité ou non d'une mesure satisfaisante de la clarté nucale :

- Le dépistage combiné du 1er trimestre réalisé entre 11SA et 13SA+6 jours et qui associe la mesure de la clarté nucale (CN) en fonction de la longueur crânio-caudale (LCC) puis le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre (PAPP-A et fraction libre de la b-hCG). Le test combiné a une sensibilité attendue de 90% avec un taux de faux positif de 5% (9,10).
- Le dépistage séquentiel intégré en deux temps utilisant la mesure de la CN entre 11SA et 13SA+6 jours et les marqueurs du deuxième trimestre entre 14SA et 17SA+6 jours (double ou triple test), lorsque le dosage des marqueurs sériques du 1er trimestre n'a pu

être réalisé. La sensibilité du dépistage séquentiel intégré est de 80% pour un taux de faux positif de 5% (9).

- Le dépistage par les marqueurs sériques seuls du 2^{ème} trimestre : double test (hCGB ou hCG et AFP) ou triple test (hCGB ou hCG, AFP et uE3). La sensibilité de ce test est d'environ 60%.

Ces trois méthodes permettent de calculer (avec intégration de l'âge maternel) un risque estimé de trisomie 21 dont le seuil à partir duquel un diagnostic prénatal est recommandé est de 1/250 (11).

B. Recommandations HAS de mai 2017

L'année 2017 marque un tournant dans le dépistage de la trisomie 21 avec l'introduction du test ADNlcT21 (encore appelé DPNI pour Dépistage Prénatal Non Invasif). Ce test est fondé sur la recherche d'une surreprésentation du nombre de copies du chromosome 21 dans l'ADN circulant dans le sang maternel, qui est un mélange entre l'ADN fœtal et l'ADN maternel. Il contribue à améliorer les performances du dépistage de la T21 fœtale, notamment en augmentant le taux de détection et en permettant de poser un diagnostic plus précocement, et il permet de diminuer le nombre de faux positif des procédures actuelles de dépistage et donc le nombre d'indications d'examen invasif à visée diagnostique, que sont l'amniocentèse et la biopsie de trophoblaste.

La HAS préconise que le test ADNlcT21 soit proposé à toutes les femmes enceintes dont le niveau de risque de trisomie 21 fœtale estimé est compris entre 1/1000 et 1/51 après un dépistage combiné du 1er trimestre ou à défaut un dépistage par les marqueurs sériques seuls du 2^{ème} trimestre (mais le dépistage séquentiel intégré n'est plus recommandé). En 2015, la HAS a conclu à une performance élevée de ce test (taux de détection de trisomie 21 supérieur à 99% et taux de faux positif inférieur à 1%).

Si ce test s'avère positif, une confirmation par un examen moléculaire appliqué à la cytogénétique et un caryotype fœtal sont obligatoires (de préférence par amniocentèse car l'ADN analysé avec l'examen ADNlcT21 est essentiellement d'origine trophoblastique).

La HAS recommande aussi qu'un DPN invasif soit proposé d'emblée à toutes les femmes enceintes dont le niveau de risque de trisomie 21 fœtale estimé est $\geq 1/50$.

Les nouvelles modalités de dépistage définies dans l'arrêté du 14 décembre 2018 sont en accord avec ces recommandations (12,13).

IV. Les marqueurs sériques du 1^{er} trimestre

Les marqueurs sériques maternels (MSM) du 1^{er} trimestre sont indispensables dans le calcul du risque de trisomie 21, mais ils apportent également des informations supplémentaires sur d'autres risques en cas d'écart significatif par rapport aux médianes dans les grossesses sans anomalies du caryotype ou du placenta (à type de môle par exemple).

Comme nous l'avons vu précédemment, le trophoblaste, à l'origine du futur placenta, est une glande endocrine polyvalente qui produit des hormones peptidiques et stéroïdiennes nécessaires à la grossesse et des protéines placentaires dont le rôle n'est pas toujours bien connu. Les deux marqueurs sériques du 1^{er} trimestre sont issus de cette activité endocrinienne.

A. La fraction libre de la chaîne bêta de l'hormone chorionique gonadotrope

1. Origine biologique

L'hCG totale, utilisée comme MSM du 2^{ème} trimestre, est indiquée « hCG ou hCG totale ». Cette molécule est une hormone glycoprotéique constituée de deux sous-unités liées entre elles et donc dosées ensemble.

La sous-unité alpha est composée de 99 acides aminés. Cette séquence est identique à la sous-unité α des autres gonadotrophines (LH, FSH et TSH). Elle prédomine en fin de grossesse.

La sous-unité bêta (ou hCG libre) est composée de 145 acides aminés et diffère de celle des autres gonadotrophines. Elle prédomine en début de grossesse. Elle est dosée en début de grossesse pour établir le diagnostic positif de la grossesse et utilisée comme marqueur sérique du 1^{er} trimestre (14). Elle confère à l'hCG sa spécificité et est considérée comme un marqueur de l'activité trophoblastique.

Cette hormone hCG est sécrétée dès le stade de 8 cellules (15,16) puis elle est sécrétée par le ST et détectable dans la circulation maternelle dès le 7^{ème} jour post-fécondation au moment de l'implantation (15,17), puis elle est sécrétée en grande partie par le CTEV. Les concentrations d'hCG maternelle augmentent progressivement et très rapidement jusqu'à 8-10 semaines de gestation, avec un temps de doublement d'environ 31 heures, suivi d'un pic maximal vers la 10^{ème} semaine, pour ensuite diminuer très nettement au 3^{ème} mois et rester pratiquement stable jusqu'à l'accouchement.

L'hCG totale et la bêta-hCG sont à l'origine de l'implantation embryonnaire puis de la placentation. Son premier rôle décrit est celui qu'elle joue sur le corps jaune, évitant la

lutéolyse et favorisant ainsi la production de progestérone indispensable à l'implantation. En 2010, Tsampalas et al. mettaient l'accent sur le rôle que jouait l'hCG dans la tolérance immunitaire et l'angiogenèse au cours de l'implantation embryonnaire (18). Récemment, les dernières études ont montré que c'était la forme hyperglycosylée de l'hCG (hCG-H) qui jouait un rôle primordial dans l'implantation, l'invasion trophoblastique et l'angiogénèse, et agissait comme un facteur de croissance. C'est elle qui prédomine dans les six premières semaines de gestation (15) et décroît dans le sang maternel durant le premier trimestre.

2. Interprétation des valeurs anormales de l'hCG β

En ce qui concerne les anomalies chromosomiques et placentaires, des valeurs augmentées de l'hCG β supérieures à 2,5 MoM doivent faire évoquer une trisomie 21. Si ces valeurs sont supérieures à 10 MoM il faut également évoquer une triploïdie, une môle, une trisomie 16 confinée au placenta, et un choriocarcinome ovarien ou placentaire. Lorsque l'hCG β est inférieure à 0,25 MoM, il faut évoquer une trisomie 18, une triploïdie, ou une mort fœtale in utero (MFIU) récente (14,19,20).

En dehors des anomalies chromosomiques ou placentaires, des valeurs augmentées ou abaissées de l'hCG β peuvent orienter vers des complications obstétricales. Ainsi au second trimestre une augmentation inexplicée de bHCG ou d'hCG totale (> 3 MoM) oriente vers un risque majoré de complications obstétricales à type de retard de croissance intra-utérin (RCIU), pré-éclampsie (PE), accouchement prématuré (AP), mort-né. Par contre une diminution des valeurs de b-hCG au second trimestre n'est pas associée à une augmentation des complications obstétricales (21). A l'inverse au premier trimestre une élévation de b-hCG n'est pas associée à une augmentation des complications de grossesse et par contre une diminution inexplicée de b-hCG ($< 0,5$ MoM) est associée à une augmentation du risque de complications obstétricales à type de fausses couches (FC) précoces ou tardives, petit poids pour l'âge gestationnel (PPAG) ou RCIU, PE (21–24).

B. La pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)

1. Origine biologique

La PAPP-A est présente à de faibles concentrations dans le sang des hommes et des femmes non enceintes, mais est détectée à des concentrations élevées dans le sang des femmes enceintes (25). La PAPP-A est une glycoprotéine issue du ST, du CTEV (le plus gros producteur) et des cellules déciduales. Elle reflète donc directement les anomalies de la placentation. C'est une protéase d'IGFBP-4 (insuline-like growth factor binding protein-4)

qui est le ligand d'IGF-I et IGF-II. Ainsi le clivage d'IGFBP-4 à ses ligands par la PAPP-A permet d'augmenter la biodisponibilité de l'hormone peptidique IGF, qui joue un rôle fondamental dans la croissance placentaire et fœtale en permettant une médiation de l'invasion trophoblastique (en favorisant la prolifération des cellules trophoblastiques, la migration extravillieuse et la dégradation de la matrice extracellulaire utérine) et une modulation du transport du glucose et des acides aminés vers le placenta (14,21,26).

Les concentrations sanguines augmentent peu après l'implantation et augmentent avec la gestation, culminant au troisième trimestre (27). Ainsi, on comprend logiquement qu'un dosage de PAPP-A bas entraîne une diminution de la concentration sérique d'IGF libre et donc aurait une répercussion sur la croissance fœtale et entraînerait également des complications dues à une mauvaise invasion trophoblastique. Mais on ne sait pas dans quelle mesure la PAPP-A affecterait la disponibilité de l'IGF étant donné qu'elle ne protéolyse pas l'IGFBP-1, qui est l'IGFBP le plus abondant dans les cellules déciduales. La régulation et l'expression de la PAPP-A dans le placenta apparaissent complexes (28).

2. Interprétation des valeurs anormales de PAPP-A (14,19,20)

Concernant les anomalies chromosomiques ou placentaires, il faut savoir évoquer devant une diminution de la valeur de PAPP-A : une trisomie 21 (avec une médiane à 0,45 MoM (14)), une trisomie 13 ou 18, et une triploïdie (19,20).

Par ailleurs dans sa revue de la littérature en 2008, Gagnon et al. retenaient la valeur seuil de 0,4 MoM en dessous de laquelle une augmentation du risque de complications obstétricales pouvait être observée (21). En effet, plusieurs études retrouvent associée à une diminution des taux de PAPP-A, une augmentation significative du risque d'AP, de diabète gestationnel (DG), de fausses couches et de MFIU, de PPAG ou de RCIU, d'hypertension artérielle gestationnelle (HTAG) ou de PE (23,24,26,27,29–32).

En cas d'élévation de la PAPP-A il n'existe pas de corrélation décrite dans la littérature avec quelque complication obstétricale ou anomalie fœto-placentaire (14,21). Il faut surtout s'assurer qu'il ne s'agit pas d'une grossesse gémellaire ou d'une réduction embryonnaire ou d'un jumeau évanescent. Dans ces différents cas le calcul de risque au 1^{er} trimestre ne peut être utilisé (sauf s'il s'agit d'un œuf clair). La PAPP-A se normalise après 4 à 6 semaines. Muller et al retiennent la valeur $\geq 2,50$ MoM pour parler de PAPP-A élevée (19).

C. La conversion en MoM (Multiple of Median)

1. Méthode

Pour transformer les valeurs brutes de chaque marqueur en MoM, il faut en premier lieu définir parfaitement la valeur médiane (ou 50^{ème} percentile) du marqueur pour chaque semaine d'âge gestationnel. Ce marqueur est dosé dans une population de patientes-témoins à un âge gestationnel donné, car tous les marqueurs utilisés varient avec l'âge gestationnel. Plus le nombre de patientes-témoins est important, mieux sera définie la médiane. Pour les marqueurs sériques maternels de la T21, l'effectif minimum requis est de 300 patientes par semaine d'aménorrhée. Une fois la valeur médiane bien établie, la transformation des valeurs brutes en MoM s'effectue en divisant la valeur brute mesurée dans le sérum de la patiente à tester par la valeur médiane de référence observée au même âge gestationnel. Une valeur normale est proche de 1 MoM, une valeur est considérée comme anormalement basse lorsqu'elle est inférieure à 0,5 MoM, et anormalement élevée si elle est supérieure à 2,5 MoM. Une fois exprimée en MoM, la valeur ne dépend plus de l'âge gestationnel.

Les valeurs en MoM sont donc des valeurs normalisées, auxquelles ont été attribués des facteurs correcteurs (sur l'âge gestationnel mais aussi sur le statut tabagique, le poids maternel, l'origine géographique, le diabète maternel, le mode de conception) qui ne sont pas les mêmes selon les logiciels utilisés. C'est l'unité de mesure qui permet de comparer des valeurs entre elles.

2. Éléments influençant les valeurs des marqueurs sériques

Plusieurs facteurs, qu'ils soient cliniques ou échographiques, sont impliqués dans le calcul de risque de trisomie 21.

Concernant les données cliniques :

- L'âge maternel et l'âge gestationnel sont directement pris en compte dans le calcul de risque.
- Le poids maternel, le tabagisme, l'origine géographique et l'antécédent de trisomie 21 sont pris en compte sous forme de facteurs correcteurs. Le poids maternel peut modifier la valeur des marqueurs jusqu'à 30% en plus ou en moins (33). Le tabagisme maternel entraîne une diminution de 16% à 17% de la concentration de PAPP-A et de 4% de celle de b-hCG (34,35) et selon l'origine géographique la valeur de la PAPP-A peut-être augmentée de 2 à près de 60% et celle de la b-hCG peut varier. (34,36).

- Les grossesses issues de FIV+/-ICSI et le diabète sont pris en compte, ou non, sous forme de facteurs correcteurs. En effet il n'existe aucun consensus et l'application ou non d'un facteur correcteur reste à l'appréciation du laboratoire. Cependant il est important de noter s'il s'agit d'un transfert d'embryon congelé (avec la date de la congélation) ou d'un don d'ovocyte/embryon (avec l'âge de la donneuse) car l'âge maternel est alors différent de l'âge de la patiente enceinte.
- La présence d'un jumeau évanescent, avec LCC mesurable, ou une réduction embryonnaire rend impossible le calcul de risque (37).

Concernant les données échographiques, quatre données sont indispensables au calcul de risque : la date de la réalisation de l'échographie, les mesures de la CN et de la LCC exprimées en mm et en dixième de mm et le numéro d'identifiant de l'échographiste (19).

V. Principaux articles de la littérature

Depuis longtemps l'utilisation des techniques de FIV±ICSI a été montrée comme associée à des modifications concernant les concentrations des marqueurs sériques du premier trimestre mais les résultats sont très controversés. Une revue de la littérature récente, réalisée en 2016 par Lanes et al, met en garde les cliniciens qui doivent faire preuve de prudence lors de l'interprétation des résultats des marqueurs sériques du premier trimestre pour les grossesses issues de FIV/ICSI. En effet ils ont sélectionné 40 articles, dont 28 ont traité des valeurs de PAPP-A dans les grossesses issues de l'AMP, mais seuls 14 auteurs ont présenté leurs résultats en MoM et la majorité a souligné des concentrations plus faibles en FIV et/ou en ICSI. Les données concernant la β -hCG libre ne sont toujours pas concluantes : les résultats varient entre des concentrations retrouvées plus basses, similaires, ou plus élevées parmi les études incluses (38). Les principales études sont présentées dans le Tableau 1, afin de faire le point sur les différentes conclusions concernant les marqueurs du premier trimestre de la grossesse après FIV±ICSI.

Auteurs et année de publication	Nombre de patientes	Type d'étude	Résultats	Autres informations pertinentes et conclusion
LIAO A.W et al, 2001	1233 GS, 220 FIV, 30 ICSI, 161 IS. Singletons.	Etude rétrospective cas-témoins	- b-hCG significativement augmentée en FIV, pas de différence significative en ICSI - PAPP-A significativement diminuée en FIV et en ICSI - Pas de différence significative en IS pour PAPP-A et b-hCG	- En FIV : risque plus important de FP pour le calcul du RC du 1er trimestre
WOJDEMANN K.R et al, 2001	3026 GS, 63 IS et 47 FIV. Singletons.	Etude prospective	- Pas de différence significative pour PAPP-A ou b-hCG en FIV ou IS par rapport aux grossesses spontanées	- Le taux de FP est indépendant du caractère spontané ou induit (post FIV) de la grossesse
ORLANDI et al, 2002	370 GS et 32 FIV et 42 ICSI. Singletons.	Etude prospective	- Pas de différence significative pour b-hCG en ICSI ou en FIV - Réduction significative de PAPP-A en FIV mais NS en ICSI	
GHISONI L et al, 2003	426 GS, 50 FIV et 92 ICSI (=142 AMP). Singletons.	Etude prospective	- b-hCG significativement augmentée en AMP - Réduction de PAPP-A NS en AMP - Pas de différence significative concernant les MS entre FIV et ICSI	- Le taux de FP dans le calcul du RC était légèrement supérieur dans le groupe AMP, mais ne nécessitant pas l'application d'un facteur correcteur.
BELLVER J et al, 2005	498 GS, 97 IS, 47 FIV, 222 ICSI, 71 DO-FIV et 119 DO-ICSI. Singletons	Etude rétrospective cas-témoins	- Pas de différence significative pour b-hCG et PAPP-A toutes techniques d'AMP confondues comparativement aux grossesses spontanées	
HUI P.W et al, 2005	149 grossesses après TEF (92 FIV et 57 ICSI) et 85 après TEC (54 FIV et 31 ICSI) et 401 GS. Singletons.	Etude rétrospective cas-témoins	- PAPP-A significativement diminuée après TEF (FIV ou ICSI) et après TEC (ICSI) -b-hCG significativement diminuée après TEF (FIV), mais pas dans les autres groupes.	- PAPP-A basse = défaut de maturation placentaire en ICSI et en FIV (NS pour TEC en FIV) - Plus vrai en ICSI car traumatisme de la ZP - La réduction concordante de b-hCG et de PAPP-A va dans le sens d'un défaut de développement placentaire

TUL N et NOVAK-ANTOLIC Z, 2006	184 grossesses AMP (FIV-ICSI), 19 IS et 5 TEC stimulé et 914 GS. Grossesses singleton.	Etude rétrospective cas-témoins	- PAPP-A significativement diminuée et inhibine A significativement augmentée en FIV/ICSI - Pas de différence de PAPP-A entre le groupe TEC (rappel : effectif 5) et contrôle. - Pas de différence de b-hCG entre les différents groupes. - Taux de FP : pas de différence significative entre FIV et contrôle ; tendance à l'augmentation en ICSI (mais très faible effectif)	- Réduction significative de PAPP-A et augmentation NS de l'inhibine A avec augmentation du nombre d'ovocytes récupérés. -Explication : multiples corps jaunes sécrétant l'inhibine A, qui inhiberait la sécrétion de PAPP-A. - Le point négatif de cette étude c'est le transfert de plusieurs embryons par transfert. Et il semblerait que la valeur de PAPP-A diminue avec le nombre d'embryon transféré.
ANCKAERT et al, 2008	4088 GS, 59 FIV et 163 ICSI et 31 TEC	Etude rétrospective	- Pas de différence significative pour b-hCG dans les trois groupes - Réduction significative de PAPP-A en FIV et ICSI mais pas de différence significative en TEC. Pas de différence significative entre FIV et ICSI. - Augmentation du taux de FP en FIV et en ICSI	- Pas de corrélation entre la stimulation et les marqueurs sériques : durée de la stimulation, FSH recombinante vs HMG, dose totale de gonadotrophines administrée, le nombre d'ovocytes recueillis.
KAGAN K.O et al, 2008	96803 GS et 2115 FIV	Etude prospective.	- Augmentation significative de b-hCG et diminution significative de PAPP-A en FIV	
GJERRIS A.C et al, 2009	992 grossesses AMP (512 FIV, 396 ICSI et 84 TEC) et 2532 GS. Grossesses singleton.	Etude prospective de cohorte.	- Réduction significative de PAPP-A en FIV et ICSI - Augmentation significative de FP en FIV et ICSI (même après ajustement sur l'âge maternel) - Pas de différence significative de PAPP-A et de FP en TEC - Pas de différence significative de b-hCG pour aucun des groupes - Réduction NS de PAPP-A et b-hCG pour les SOPK et HSO durant la grossesse (critères diagnostiques non définis).	- Nécessité d'ajuster le calcul du RC en FIV/ICSI pour diminuer le taux de FP - Pas de lien entre la gestité ou la parité et les MS - Pas de différence significative entre les protocoles longs et courts - Le point négatif de cette étude c'est le transfert de plusieurs embryons par transfert.

ARMOR et al, 2009	50253 GS, et 1739 grossesses AMP (dont 654 FIV et 1052 ICSI). Singletons.	Etude rétrospective cas-témoins	- Pas de différence significative de b-hCG en FIV et ICSI (que ce soit en TEF ou TEC) - Diminution significative de PAPP-A en FIV et en ICSI (TEF ou TEC). Reste vrai après exclusion des grossesses compliquées - PAPP-A plus basse pour les TEF que pour les TEC. - Pas de différence significative de PAPP-A pour les transferts sans traitement hormonal. - Augmentation des FP en FIV/ICSI (mais en TEC seulement dans le sous-groupe cycles artificiels)	- Plus de complications de grossesse (RCIU, prématurité, mort in utéro, pré-éclampsie, diabète) dans les grossesses AMP. - Pas de différence significative concernant les étiologies d'infertilité (femme, homme, mixte) sur la réduction des valeurs de PAPP-A.
ENGELS M.A.J et al 2010	1164 GS, 203 FIV et 192 ICSI. Singletons.	Etude rétrospective cas-témoins	- Réduction significative de b-hCG en FIV mais pas en ICSI - Réduction significative de PAPP-A en FIV et en ICSI	- FP augmenté en FIV/ICSI nécessitant un ajustement dans le calcul du RC.
BENDER F. et al, 2010	1431 GS, 110 FIV et 331 ICSI. Singletons.	Etude rétrospective cas-témoins	- b-hCG significativement augmentée en FIV et en ICSI - PAPP-A significativement diminuée en FIV et en ICSI - Augmentation significative de PPAG en FIV/ICSI mais la réduction de PAPP-A reste significative après exclusion des PPAG.	- Nécessité d'un facteur correcteur dans le calcul du RC pour les grossesses issues de FIV/ICSI. - Pas plus de prématurité avant 37SA en FIV/ICSI. - Pas de relation entre les MS et le transfert de 1, 2, 3 embryon(s). - Pas d'impact de la parité, gestité, prématurité sur les MS
BELLVER J. et al, 2013	2042 grossesses AMP (350 IIU, 1692 FIV et/ou ICSI dont 606 DO, répartis en 1432 TEF et 260 TEC) et	Etude rétrospective cas-témoins	- FIV/ICSI hors DO : réduction de PAPP-A et augmentation de FP (significatif que pour ICSI) - TEC avec traitement hormonal : réduction significative de PAPP-A (non vrai pour TEC sur cycle naturel), sans modification de FP	- Nécessité d'un facteur correcteur de PAPP-A en FIV/ICSI hors DO, pour TEF et TEC après traitement hormonal. - Le protocole de stimulation en FIV ou ICSI n'influence pas les MS

	2011 GS. Singletons.		- Augmentation non significative de b-hCG en FIV/ICSI hors DO - Pas de différence significative concernant les IIU	- Cycles avec FSH seule : réduction significative de PAPP-A en MoM (en comparaison avec HMG) - Dose totale de gonadotrophines : pas de corrélation avec PAPP-A et marginalement avec bhCG - L'étiologie de l'infertilité n'a pas d'impact sur MS
GIORGETTI C. et al, 2013	1474 GS, 374 grossesses AMP (dont 89 FIV, 204 ICSI et 81 IIU). Singletons.	Etude rétrospective	- Réduction significative de PAPP-A en FIV et en ICSI (TEF) - Pas de différence significative de PAPP-A entre IIU et GS - Pas de différence significative de b-hCG entre AMP et GS - Augmentation de FP en FIV ou ICSI	- PAPP-A en FIV et ICSI étaient fortement corrélés au taux d'E2 au déclenchement (seuil $E2 \geq 1300$ pg/mL à partir duquel PAPP-A significativement plus basse) - Expliquant l'absence de différence significative en IIU (faible stimulation) - L'âge maternel n'influence pas les valeurs de PAPP-A pour les grossesses issues de FIV/ICSI. - Pas de corrélation PAPP-A et étiologie de l'infertilité.
HUNT L.P et al, 2017	1543 grossesses AMP (1089 FIV, 110 ICSI réparties en 883 TEF et 316 TEC, puis 224 IIU, 120 IS) et 14820 GS	Etude rétrospective	- Réduction significative de PAPP-A en FIV et ICSI, TEC ou TEF, (en ICSI seulement vrai avec la plateforme Brahms Kryptor et non avec Immulite 2000) - Augmentation significative de FP seulement en ICSI - Réduction significative de b-hCG en FIV (seulement avec la platerforme Brahms Kryptor) - Aucune différence significative de b-hCG pour IIU, ICSI et IS	
SZYMUSIK I. et al, 2018	368 GS et 183 FIV/ICSI confondues	Etude prospective	- Pas de différence significative de PAPP-A et de b-hCG en FIV/ICSI - Pas de différence significative de PAPP-A et de b-hCG entre les grossesses compliquées et les grossesses dites physiologiques - FIV/ICSI avec complications en lien avec un trouble de la placentation (HTAG, PE, RCIU) : tendance à la réduction NS de PAPP-A (comparativement aux FIV/ICSI sans complications).	

Tableau 1: Principaux articles de la littérature : influence de la FIV et/ou ICSI sur la PAPP-A et la b-hCG. Dans ces articles toutes les valeurs ont été présentées en MoM.

Abréviations : GS = grossesse spontanée, FIV = fécondation in vitro, ICSI = injection intracytoplasmique de spermatozoïdes, DO = don d'ovocytes, IIU = insémination intra-utérine, IS = stimulation simple de l'ovulation, TEC = transfert d'embryon congelé, TEF = transfert d'embryon frais, AMP = assistance médicale à la procréation, ZP = zone pellucide, E2 = estradiol, SOPK = syndrome des ovaires polykystiques, HSO = hyperstimulation ovarienne, HTAG = hypertension artérielle gravidique, PE = pré-éclampsie, RCIU = retard de croissance intra-utérin, PPAG = petit poids pour l'âge gestationnel, MS = marqueurs sériques, FP = faux positif, RC = risque combiné, NS = non significatif, SA = semaine(s) d'aménorrhée.

Les conclusions diffèrent d'une étude à l'autre même si la majorité semble aller dans le sens d'une réduction des valeurs de PAPP-A dans les grossesses issues de FIV ou ICSI et une augmentation ou aucune différence concernant les valeurs de b-hCG. Par conséquent on observe un taux de faux positif (FP) dans le calcul du risque combiné au premier trimestre pour les grossesses issues de FIV/ICSI augmenté de 5 à 15% même après ajustement sur l'âge maternel (39–41). En l'absence de consensus national, la décision d'appliquer ou non un facteur correcteur est laissée à chaque laboratoire. L'objectif étant de réduire le nombre de FP et donc d'examen complémentaire (DPNI) ou de gestes invasifs.

Par ailleurs l'étiologie de ces modifications des concentrations de PAPP-A n'est à l'heure actuelle toujours pas connue mais plusieurs hypothèses sont avancées telles que l'idée que l'infertilité elle-même soit à l'origine de ces modifications. En effet en 2010 Ranta et al. ont trouvé que les grossesses spontanées avec un délai de conception supérieur à 2 ans avaient un taux de PAPP-A similaire aux grossesses issues de FIV (42). D'autres évoquent le fait qu'il existe une relation avec un traumatisme de l'embryon in vitro (manipulation, ICSI et lésion de la zone pellucide) (36). Dernière hypothèse, qui semble la plus défendue à l'heure actuelle, il y aurait une relation directe avec le traitement hormonal appliqué en protocole de FIV/ICSI. En effet une relation avec une forte stimulation ovarienne entraînant une hyperestradiolémie pourrait entraîner une diminution des concentrations sériques de PAPP-A du fait d'une interface trophoblaste-endomètre sous optimale (43,44). Concernant l'augmentation des valeurs sériques de b-hCG dans les grossesses issues de l'AMP certains évoquent une disponibilité réduite des récepteurs à LH et hCG (27), et d'autres suggèrent un retard dans l'implantation embryonnaire entraînant un retard physiologique du pic d'hCG (pouvant donc expliquer les valeurs accrues de b-hCG entre 11 et 14SA) (45).

VI. Objectifs de l'étude

A notre connaissance, aucune étude ne traite spécifiquement de la relation entre la morphologie des blastocystes et les marqueurs sériques du premier trimestre. En effet, des études ont analysé la morphologie des blastocystes avec la concentration sérique de b-hCG précoce, le taux de grossesses cliniques ou de naissances vivantes, et les complications obstétricales. D'autres études réalisées sur les grossesses issues de l'AMP et les marqueurs sériques du premier trimestre ne traitent pas de la morphologie des blastocystes.

Or, d'un point de vue physiopathologique, nous savons aujourd'hui que la PAPP-A et la b-hCG sont des marqueurs précoces de troubles de la placentation. Il est donc intéressant de

rechercher une corrélation entre la morphologie du blastocyste et les marqueurs sériques du premier trimestre.

L'objectif principal de cette étude était donc d'évaluer l'impact de la morphologie du blastocyste sur les marqueurs sériques (b-hCG et PAPP-A) au premier trimestre de grossesse, lors d'un transfert unique en frais. L'objectif secondaire était d'évaluer l'impact de chaque caractéristique du blastocyste (blastocoele, MCI et TE) sur les marqueurs sériques au premier trimestre.

MATERIEL ET METHODES

Cette étude rétrospective bicentrique a été menée au Centre Hospitalier Universitaire de Nantes et au sein de la Clinique Jules Verne de Nantes dans les services de médecine de la reproduction de Janvier 2012 à Août 2018.

I. Population : critères d'inclusion et d'exclusion

Ont été incluses dans l'étude les grossesses des femmes de 18 à 43 ans, obtenues après prise en charge en FIV ou en ICSI avec transfert en frais d'un blastocyste unique (J5 ou J6) et ayant participé au dépistage de trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse par calcul du risque combiné, dont le prélèvement sanguin a eu lieu entre Janvier 2012 et Août 2018 au CHU ou à la Clinique Jules Vernes à Nantes.

Les cycles de transfert des embryons congelés (TEC) et les transferts de deux blastocystes ont été exclus de l'analyse. Dans nos centres, le transfert de blastocyste unique est conseillé à tous les couples sans critère de sélection biologique ou clinique, ce qui entraîne une stratégie de transfert de blastocyste à 90%. Le double transfert de blastocyste est exceptionnellement effectué après plusieurs échecs d'implantation (<5% des cas). Ont également été exclus de l'analyse les transferts précoces à J3 ou ceux à J4 et tous les embryons issus d'un don d'ovocytes ou de spermatozoïdes. Ont également été exclus les couples qui ont bénéficié du dépistage par les marqueurs sériques du deuxième trimestre (α -foetoprotéine et hCG totale). Enfin étant donné l'association démontrée entre marqueurs sériques anormaux et aneuploïdies, tous les fœtus aneuploïdes ont été exclus afin de minimiser les biais.

II. Recueil des données

Nous avons sélectionné des patientes entre le CHU de Nantes (données recueillies entre Janvier 2012 et Avril 2018 via les logiciels DXLAB et Médifirst) et la clinique Jules Verne à Nantes (données recueillies entre Janvier 2015 et Septembre 2018 via les logiciels SSD6 et Médifirst).

Les données démographiques, cliniques, de la stimulation et les données obstétricales des patientes ont été recueillies par le biais de deux logiciels :

- Médifirst, déclaré à la Commission Nationale de l'Information et des Libertés (CNIL), où les données sont recensées par le gynécologue en charge de la stimulation.
- SSD6, où les données sont recueillies par l'échographiste et le biologiste. Les laboratoires du CHU de Nantes et de Jules Vernes travaillent avec la même version de SSD6 de Roche permettant une uniformisation des conversions en MoM (application des mêmes facteurs correcteurs) et du calcul du risque combiné.

Pour la réalisation de notre étude rétrospective nous avons également eu l'accord du Groupe Nantais d'Ethique dans le Domaine de la Santé (GNEDS).

III. Déroulement de l'étude

Les patientes ont bénéficié d'une hyperstimulation ovarienne contrôlée selon un protocole soit antagoniste standard, soit agoniste long ou soit agoniste court. Différents types de molécules ont été utilisés pour la stimulation : FSH recombinante, hMG ou encore corifollitropine alpha (Elonva®). L'ovulation a été déclenchée avec une injection unique de rHCG (Ovitrelle®, Merck Serono) lorsque les critères de déclenchement étaient atteints (au moins 3 follicules > 17 mm). La ponction des ovocytes était effectuée 36 heures plus tard. Les ovocytes ont été inséminés de 3 à 6 h après le prélèvement d'ovocytes avec ICSI ou en FIV classique. L'utilisation de l'ICSI ou de la FIV a été faite en fonction de la qualité du sperme et des tentatives précédentes. Au CHU les embryons ont été cultivés à l'étape de blastocyste dans des milieux de culture séquentiels (G1-G2 media®, Vitrolife) jusqu'à Juillet 2017 puis en milieu global (G-TL, Vitrolife) à partir d'Août 2017 sous atmosphère faible en oxygène (6% de CO₂, 5% d'O₂). A la clinique Jules Verne les embryons ont été cultivés exclusivement dans des milieux de culture séquentiels (G1-G2 media®, Vitrolife).

Le matin du jour 5 (115 ± 1h après ICSI) et le jour 6 (139 ± 1h après ICSI), chaque blastocyste a été évalué selon la classification de Gardner et Schoolcraft (3,4). Pour l'étude, les blastocystes ont été divisés en 3 groupes basés sur leurs paramètres morphologiques : excellent (≥ 3AA), bon (3-6AB, 3-6BA, B2), moyen à mauvais (3-6BB, 3-6AC, 3-6CA, B1, 3-6CB, 3-6BC).

Le jour 5, tous les blastocystes (cavitation précoce B1 à l'éclosion B6) pouvaient être transférés. Le transfert de blastocyste avec un trophoctoderme de degré C restait exceptionnel. Au 6^{ème} jour les blastocystes précoces (B1, B2) et B3 et/ou les blastocystes avec MCI de degré C et/ou trophoctoderme de degré C ont été exclus. Seuls les blastocystes ≥B4BB ont été transférés au jour 6. Les blastocystes surnuméraires de bonne qualité ont été vitrifiés selon les

mêmes critères morphologiques. Le transfert a été réalisé sous guidage échographique par voie abdominale.

Le test de grossesse était effectué 11 jours après le transfert embryonnaire. En cas de positivité et de cinétique correcte de la concentration d'hCG, une échographie précoce était réalisée. Après confirmation d'une grossesse intra-utérine mono-fœtale évolutive, un suivi de grossesse classique était proposé. Les données ont été recueillies jusqu'à l'accouchement.

L'échographie du premier trimestre a été réalisée par voie abdominale et/ou endovaginale entre 11 SA et 13SA+6 jours correspondant à une mesure de LCC comprise entre 45 et 84mm. Le début de la grossesse a été daté en tenant compte de la mesure de la LCC et non en tenant compte de la date de ponction ovocytaire. Les échographistes étaient tous titulaires d'un diplôme en échographie obstétricale et affiliés au réseau de sécurité naissance afin de maintenir une évaluation de leurs compétences. Les images d'échographie n'ont pas été vérifiées et le score de Herman a été calculé par l'échographiste lui-même. Les appareils d'échographie étaient différents d'une structure à l'autre : Voluson, Samsung et Philips.

Les marqueurs sériques du premier trimestre ont été dosés dans le sang maternel le jour de l'échographie ou dans les jours qui ont suivi l'échographie, avec les mêmes réactifs que ce soit au CHU ou à la clinique Jules Verne (test Elecsys free beta hCG pour le dosage de la sous-unité bêta-hCG et test Elecsys PAPP-A pour le dosage de PAPP-A).

Toutes les conversions en multiple de la médiane (MoM) des marqueurs sériques et le calcul du risque combiné ont été recalculés par un ingénieur en appliquant les facteurs de correction de la dernière version du logiciel ssd6.

<i>SSDW6</i>	<i>Diabète</i>	<i>Fumeuse</i>	<i>PMA</i>	<i>Ethnie</i>
<i>b-hCG</i>	0,92	0,9608	0,97	Afrique subsaharienne/Antilles : 1,0437 Asie : 1,07
<i>PAPP-A</i>	1	0,8352	0,80	Afrique subsaharienne/Antilles : 1,3382 Asie : 1,09

Figure 5 : Facteurs correcteurs du logiciel SSDW6 pour la conversion en multiple de la médiane des marqueurs sériques.

Ont donc été pris en compte pour la conversion en MoM, tous les différents paramètres qui ont un impact sur les valeurs de PAPP-A et de bhCG, c'est-à-dire : le poids maternel, le tabagisme, l'origine géographique, le diabète et la conception par AMP. Le calcul du risque a

bien évidemment pris en compte l'âge maternel et l'âge gestationnel. Le laboratoire a fourni les dosages en valeurs brutes et en MoM.

IV. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été conduites par les logiciels GMRC et R (version 3.5.5). Le logiciel GMRC a été utilisé pour les analyses descriptives et univariées. Chaque variable quantitative a été présentée comme une moyenne et son écart type. Pour tester l'existence d'une différence significative d'au moins une moyenne par rapport aux deux autres, nous avons effectué une analyse de variance utilisant le test de Student (ou Anova). Les données qualitatives ont été résumées en effectif et en pourcentage. Pour tester l'association entre chaque variable qualitative et la qualité embryonnaire, nous avons utilisé le test de Chi2. Il est communément admis par les statisticiens qu'à partir d'une certaine taille d'échantillon (souvent $n \geq 30$), la distribution de la moyenne de n observations indépendantes et identiquement distribuées converge vers une loi normale. Notre effectif pour la modalité « qualité moyenne à mauvaise » étant légèrement inférieur à cette limite arbitraire (permettant la réalisation de tests paramétriques), des tests non paramétriques (test de Kruskal-Wallis et test exact de Fisher) avaient également été réalisés à titre comparatif. Aucun résultat contradictoire n'a été obtenu entre les tests paramétriques et les tests non-paramétriques. Dans l'analyse des sous-groupes (Blastocèle, MCI et TE), les effectifs étant trop réduits nous avons utilisé des tests non paramétriques (test de Kruskal & Wallis et test de Mann & Whitney).

Concernant l'analyse multivariée, nous avons utilisé le logiciel R (version 3.5.5). Nous avons réalisé des régressions linéaires multiples afin de rechercher une association entre la morphologie embryonnaire globale et les concentrations sériques en PAPP-A et b-hCG au premier trimestre, le tout en ajustant les modèles sur les facteurs de confusion connus ou supposés. Pour les facteurs de confusion supposés, le choix de leur inclusion dans les modèles a été pris en couplant les résultats de méthodes de sélection backward, forward et stepwise. Les modèles finaux ont été retenus en privilégiant la valeur du coefficient de détermination ajusté. Les analyses ont été faites avec les valeurs de PAPP-A et b-hCG exprimées en mUI/L et mUI/mL avec un ajustement sur l'âge maternel, l'IMC, le statut tabagique, le type de gonadotrophines, la parité, le nombre d'ovocytes récupérés (≥ 18 ou < 18), la survenue ou non d'une HSO et évidemment l'âge gestationnel. Enfin les analyses ont été faites avec les valeurs de PAPP-A et b-hCG exprimées en MoM avec un ajustement sur l'âge maternel, le type de

gonadotrophines, la parité, le nombre d'ovocytes récupérés et la survenue ou non d'une HSO. Les différences ont été considérées comme significatives pour un $p < 0,05$.

RESULTATS

I. Caractéristiques de la population et comparaison des groupes de blastocystes selon leur qualité globale

Au cours de la période d'étude, 122 patientes ont été sélectionnées.

Nous n'avons pas eu de cas de grossesse gémellaire ou de jumeau évanescent après le transfert d'un embryon unique et aucune des patientes n'avait d'antécédents de fœtus ou d'enfant atteint de trisomie 21.

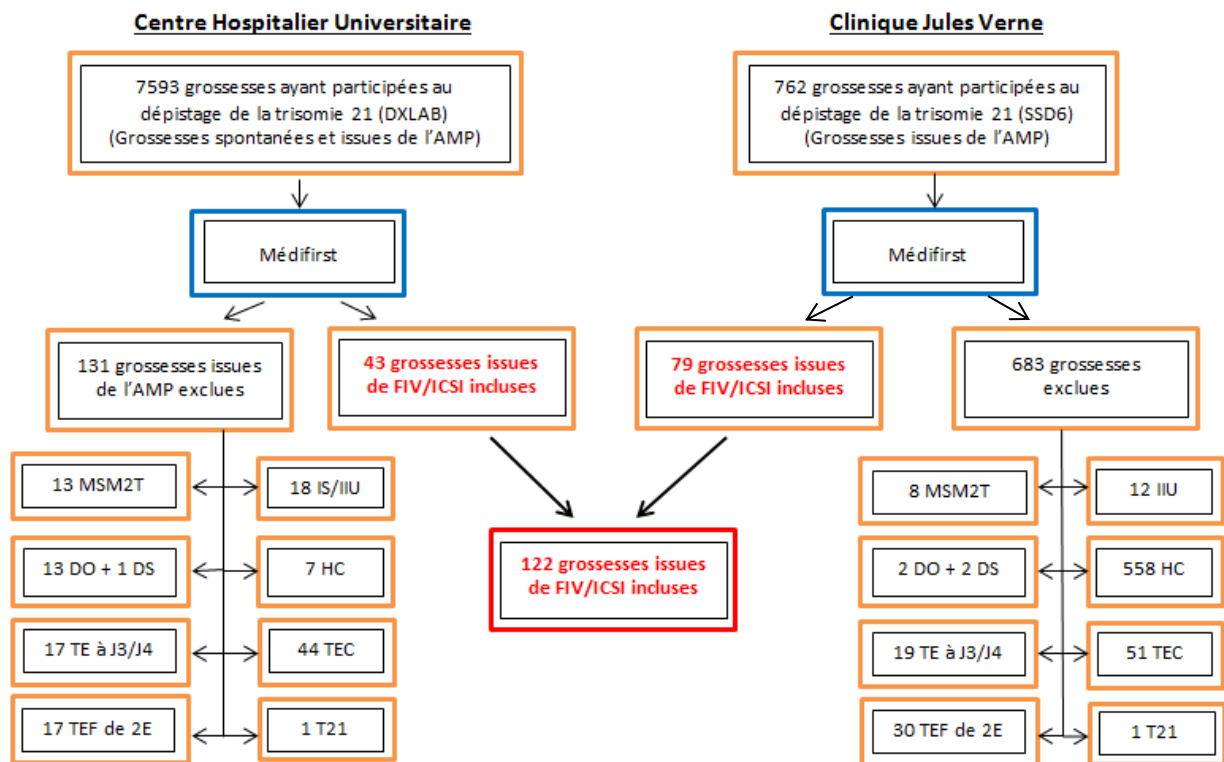


Figure 6 : Diagramme de flux.

Légende : AMP = assistance médicale à la procréation ; FIV = fécondation in vitro ; ICSI = injection intracytoplasmique de spermatozoïdes ; DO = don d'ovocytes ; DS = don de sperme ; IIU = insémination intra-utérine ; IS = stimulation simple de l'ovulation ; TEC = transfert d'embryon congelé, TE = transfert d'embryon ; TEF = transfert d'embryon frais ; 2E = deux embryons ; MSM2T = marqueurs sériques maternels du 2ème trimestre ; HC = hors centre ; T21 = fœtus porteur d'une trisomie 21.

Les principales caractéristiques démographiques de la population sont représentées dans les *Tableaux 2 à 4*. Nous n'avons dans notre étude aucune patiente diabétique et seulement 4 patientes présentaient un antécédent de complication vasculaire sur une précédente grossesse. Pour 119 d'entre elles nous avons utilisé un protocole antagoniste, 1 a bénéficié d'un protocole agoniste court et 2 ont bénéficié d'un protocole agoniste long. Parmi les embryons transférés 116 étaient des J5 et 6 seulement étaient des J6.

Concernant le détail des complications de grossesse : nous avons observé 15 grossesses marquées par un diabète gestationnel (dont une associée à une RPM), 4 grossesses ont été marquées par une PE tardive avec un accouchement à terme après 37SA, 1 grossesse s'est compliquée d'une pré-éclampsie avec HELLP syndrome mais avec une naissance à terme après 37SA et 2 grossesses se sont compliquées d'un RCIU avec un accouchement après 37SA. On a observé 8 RPM dont 1 FCT à 18SA dans un contexte de chorio-amnionite, 1 IMG à 21SA pour RPM et RCIU sévère, 1 naissance prématurée à 30SA et 5 naissances entre 35 et 36SA.

Concernant les caractéristiques globales, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les trois groupes hormis sur l'âge maternel ($p = 0,0049$), avec un âge maternel légèrement plus bas dans le groupe « moyen à mauvais » (*Tableau 2*). A noter cependant une inversion du rapport FIV/ICSI dans le groupe « moyen à mauvais » avec 59,3% d'ICSI dans ce groupe, sans qu'il y ait de différence significative ($p = 0,08$).

Concernant les caractéristiques de la stimulation et du déroulement de la grossesse, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les trois groupes (*Tableaux 3 et 4*).

Il n'existait aucune différence significative des marqueurs sériques du premier trimestre (PAPP-A et b-hCG) entre les trois groupes (*Figure 7*).

	<i>DM</i>	<i>Population globale</i>	<i>Excellent</i>	<i>Bon</i>	<i>Moyen à mauvais</i>	<i>p</i>
Age maternel (ans)	0	31,7 +/- 4,0	32,7 +/- 4,1	31,3 +/- 3,4	29,8 +/- 3,7	p = 0,0049
IMC (kg/m2)	2	22,8 +/- 3,9	23,1 +/- 4,1	22,1 +/- 3,7	22,9 +/- 3,5	p = 0,508
Tabagisme actif	0	14 (11,5)	5 (7,9)	4 (12,5)	5 (18,5)	p = 0,35
Origine géographique -Europe et Afrique du Nord -Afrique subsaharienne et Antilles -Asie -Métisse	0	114 (93,5) 7 (5,7) 1 (0,8) 0	58 (92,1) 5 (7,9) 0 0	29 (90,6) 2 (6,3) 1 (3,1) 0	27 (100,0) 0 0 0	p = 0,28
Infertilité : -primaire -primo-secondaire -secondaire	0	52 (42,6) 27 (22,1) 43 (35,3)	29 (46,0) 12 (19,0) 22 (34,9)	10 (31,3) 10 (31,3) 12 (37,5)	13 (48,2) 5 (18,5) 9 (33,3)	p = 0,55
AMH (ng/mL)	1	4,1 +/- 3,9	4,1 +/- 3,1	4,7 +/- 6,1	3,6 +/- 1,8	p = 0,57
CFA	14	22,2 +/- 11,4	21,6 +/- 12,5	23,3 +/- 11,7	22,2 +/- 8,3	p = 0,83
FIV/ICSI -FIV -ICSI	0	71 (58,2) 51 (41,8)	38 (60,3) 25 (39,7)	22 (68,8) 10 (31,2)	11 (40,7) 16 (59,3)	p = 0,08

Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques de la population en fonction des trois groupes de qualité des blastocystes.

Légende : Les valeurs sont exprimées en moyennes (+/- écart types) ou en effectifs (pourcentages). DM = données manquantes ; IMC = indice de masse corporelle ; CFA = compte des follicules antraux ; AMH = hormone anti-mullérienne ; FIV = fécondation in vitro ; ICSI = injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

	<i>DM</i>	<i>Population globale</i>	<i>Excellent</i>	<i>Bon</i>	<i>Moyen à mauvais</i>	<i>p</i>
Gonadotrophines -FSHr -HMG -HMG + FSHr	0	85 (69,7) 28 (22,9) 9 (7,4)	41 (65,1) 17 (27,0) 5 (7,9)	22 (68,8) 6 (18,7) 4 (12,5)	22 (81,5) 5 (18,5) 0 (0)	p = 0,31
Nombre d'ovocytes	0	12,8 +/- 5,9	13,2 +/- 6,6	12,4 +/- 4,8	12,6 +/- 5,3	p = 0,82
Nombre d'ovocytes ≥ 18 < 18	0	20 (16,4) 102 (83,6)	12 (19,1) 51 (80,9)	5 (15,6) 27 (84,4)	3 (11,1) 24 (88,9)	p = 0,64
HSO	0	10 (8,2)	8 (12,7)	0	2 (7,4)	p = 0,10

Tableau 3 : Comparaison des caractéristiques de la stimulation en fonction des trois groupes de qualité des blastocystes.

Légende : Les valeurs sont exprimées en moyennes (+/- écart types) ou en effectifs (pourcentages). FSHr = FSH recombinante ; HSO = hyperstimulation ovarienne.

	<i>DM</i>	<i>Population globale</i>	<i>Excellent</i>	<i>Bon</i>	<i>Moyen à mauvais</i>	<i>p</i>
Complications obstétricales	2					<i>p</i> = 0,37
-Non		91 (75,8)	47 (75,8)	22 (68,8)	22 (84,6)	
-Oui		29 (24,2)	15 (24,2)	10 (31,2)	4 (15,4)	
Complications vasculaires	2					<i>p</i> = 0,39
-Non		112 (93,3)	56 (90,3)	31 (96,9)	25 (96,2)	
-Oui		8 (6,7)	6 (9,7)	1 (3,1)	1 (3,8)	
PAPP-A mUI/L	0	4428,2 +/- 2613,1	4304,7 +/- 2485,6	5026,8 +/- 3202	4007,0 +/- 2039,6	<i>p</i> = 0,29
PAPP-A MoM	0	1,29 +/- 0,62	1,23 +/- 0,59	1,45 +/- 0,71	1,22 +/- 0,52	<i>p</i> = 0,20
b-hCG mUI/mL	0	46,2 +/- 36,9	47,8 +/- 39,0	38,3 +/- 32,3	52 +/- 36,9	<i>p</i> = 0,33
b-hCG MoM	0	1,57 +/- 1,25	1,66 +/- 1,38	1,19 +/- 0,76	1,81 +/- 1,34	<i>p</i> = 0,12
Sexe de l'enfant	2					<i>p</i> = 0,29
-Garçon		71 (59,2)	38 (61,3)	21 (65,6)	12 (46,2)	
-Fille		49 (40,8)	24 (38,7)	11 (34,4)	14 (53,8)	
Poids de l'enfant (g)	3	3239,9 +/- 541,5	3197,0 +/- 594,8	3304,4 +/- 461,3	3261,0 +/- 510,6	<i>p</i> = 0,65

Tableau 4 : Comparaison des caractéristiques du déroulement de la grossesse en fonction des trois groupes de blastocystes.

Légende : MoM = multiple de la médiane. Les valeurs sont exprimées en moyennes (+/- écart types) ou en effectifs (pourcentages).

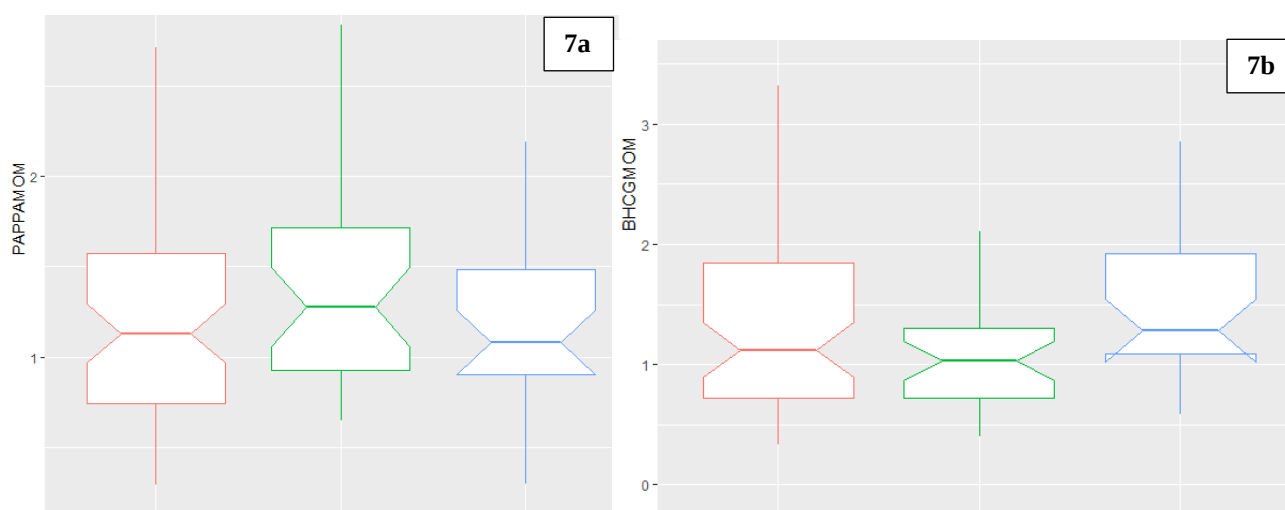


Figure 7 : Comparaison des médianes des concentrations sériques de PAPP-A (7a) et b-hCG (7b) en MoM au sein des trois groupes de qualité embryonnaire.

Légende : Rouge = excellent ; Vert = bon ; Bleu = moyen à mauvais. *p* = NS

II. Comparaison des valeurs de PAPP-A et b-hCG selon les paramètres morphologiques des blastocystes

L'objectif secondaire de notre étude était d'évaluer l'impact de chaque caractéristique du blastocyste (blastocèle, MCI et TE) sur les marqueurs sériques au premier trimestre. Nous avons donc réalisé une analyse descriptive croisée ne retrouvant aucune différence significative sur les valeurs de PAPP-A et b-hCG (MoM) en fonction de la MCI (PAPP-A : $p = 0,67$; b-hCG : $p = 0,60$), du TE (PAPP-A : $p = 0,66$; b-HCG : $p = 0,25$), ou encore du blastocèle (PAPP-A : $p = 0,22$; b-hCG : $p = 0,48$) (Tableau 5).

<u>Paramètre morphologique</u>	<u>Grade</u>	<u>Nombre</u>	<u>PAPP-A (MoM)</u>	<u>p</u>	<u>b-hCG (MoM)</u>	<u>p</u>
Blastocyste <i>N = 122</i>	Excellent	63	1,23 +/- 0,59	0,20	1,66 +/- 1,38	0,12
	Bon	32	1,45 +/- 0,71		1,19 +/- 0,76	
	Moyen à mauvais	27	1,22 +/- 0,52		1,81 +/- 1,34	
MCI	A	71	1,23 +/- 0,58	0,67	1,66 +/- 1,36	0,60
	B	21	1,26 +/- 0,60		1,52 +/- 1,10	
	C	4	1,64 +/- 0,87		1,57 +/- 0,39	
TE	A	69	1,25 +/- 0,63	0,66	1,60 +/- 1,34	0,25
	B	26	1,26 +/- 0,51		1,69 +/- 1,14	
	C	1	NC		NC	
Expansion blastocèle	B1	8	1,08 +/- 0,51	0,22	2,01 +/- 1,88	0,48
	B2	18	1,57 +/- 0,70		1,07 +/- 0,49	
	B3	27	1,26 +/- 0,61		1,43 +/- 0,87	
	B4	59	1,28 +/- 0,62		1,68 +/- 1,28	
	B5	10	1,04 +/- 0,38		1,82 +/- 2,03	

Tableau 5 : Comparaison des concentrations en MoM de PAPP-A et b-hCG en fonction des paramètres morphologiques des blastocystes.

Légende : MCI = masse cellulaire interne ; TE = trophoctoderme ; NC = non comparable au vu du faible effectif. Les données sont exprimées en moyennes (+/- écart-type).

III. Analyse multivariée

Nous avons réalisé dans un premier temps une analyse multivariée sur les valeurs normales de PAPP-A (mUI/L) et de b-hCG (mUI/mL) afin de chercher une corrélation entre la morphologie du blastocyste et ces valeurs sériques. Nous avons ajusté les résultats avec les facteurs de confusion potentiels, à savoir l'âge maternel, l'IMC, le statut tabagique, le type de gonadotrophines, la parité, le nombre d'ovocytes récupérés et la survenue d'une HSO.

Concernant la PAPP-A, il n'existe pas de relation significative avec la morphologie du blastocyste.

L'IMC et l'âge gestationnel influencent de manière significative les valeurs de PAPP-A (IMC : $p = 0,007$; AG : $p < 0,0001$). Dans notre étude la consommation de tabac n'influence pas de manière significative les valeurs de PAPP-A mais tend tout de même vers une diminution de la PAPP-A. L'infertilité secondaire réduit significativement les valeurs sériques de PAPP-A. Le type de gonadotrophine, le nombre d'ovocytes récupérés et la survenue d'une HSO n'influencent pas les valeurs de PAPP-A (Tableau 6).

PAPPA (mUI/L)		
	Coefficient de régression	Valeur de p
Qualité embryonnaire : Bon	+ 896,46	0,07
Qualité embryonnaire : Moyen à mauvais	- 139,79	0,79
Age maternel	+ 57,84	0,29
IMC	- 142,71	0,007
Tabagisme actif	- 1170,20	0,06
Type de gonadotrophines : hMG	- 655,87	0,19
Type de gonadotrophines : hMG + FSHr	- 158,88	0,84
Infertilité primo-secondaire	- 895,21	0,09
Infertilité secondaire	- 1382,94	0,004
Nombre d'ovocytes récupérés (≥ 18 ou < 18)	+ 236,76	0,67
Survenue d'une HSO	- 1093,00	0,17
Age gestationnel	+ 2342,36	< 0,0001

Tableau 6 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de PAPP-A en mUI/L.

Légende : FSHr = FSH recombinante ; HSO = hyperstimulation ovarienne.

Concernant la b-hCG, il n'existe pas de relation significative avec la morphologie du blastocyste. L'IMC et l'AG diminuent les valeurs sériques de b-hCG de manière non significative, alors que le statut tabagique n'influence pas les valeurs de b-hCG. Les autres variables n'influencent pas non plus les valeurs de b-hCG (Tableau 7).

b-hCG (mUI/mL)		
	Coefficient de régression	Valeur de p
Qualité embryonnaire : Bon	- 10,26	0,21
Qualité embryonnaire : Moyen à mauvais	+ 5,34	0,54
Age maternel	- 0,19	0,83
IMC	- 1,32	0,12
Tabagisme actif	- 2,35	0,82
Type de gonadotrophines : hMG	+ 4,61	0,57
Type de gonadotrophines : hMG + FSHr	- 1,08	0,93
Infertilité primo-secondaire	- 5,22	0,54
Infertilité secondaire	+ 1,02	0,89
Nombre d'ovocytes récupérés (≥ 18 ou < 18)	- 0,46	0,96
Survenue d'une HSO	- 14,06	0,27
Age gestationnel	- 9,24	0,13

Tableau 7 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de b-hCG en mUI/mL.

Légende : FSHr = FSH recombinante ; HSO = hyperstimulation ovarienne.

Nous avons complété nos résultats par une analyse multivariée sur les valeurs de PAPP-A et de b-hCG en MoM. Nous avons ajusté les résultats avec les facteurs de confusion potentiels, à savoir l'âge maternel, le type de gonadotrophines, la parité, le nombre d'ovocytes récupérés et la survenue d'une HSO.

Concernant la PAPP-A en MoM, les résultats sont comparables à ceux trouvés précédemment en mUI/L. Il n'existe pas de relation significative avec la morphologie du blastocyste. L'infertilité secondaire et l'utilisation d'hMG réduisent significativement les valeurs sériques de PAPP-A (*Tableau 8*).

PAPPA (MoM)		
	Coefficient de régression	Valeur de p
Qualité embryonnaire : Bon	+ 0,23	0,09
Qualité embryonnaire : Moyen à mauvais	- 0,007	0,96
Age maternel	+ 0,02	0,29
Type de gonadotrophines : hMG	- 0,31	0,02
Type de gonadotrophines : hMG + FSHr	+ 0,07	0,73
Infertilité primo-secondaire	- 0,32	0,03
Infertilité secondaire	- 0,40	0,002
Nombre d'ovocytes récupérés (≥ 18 ou < 18)	+ 0,05	0,76
Survenue d'une HSO	- 0,27	0,18

Tableau 8 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de PAPP-A en MoM.

Légende : FSHr = FSH recombinante ; HSO = hyperstimulation ovarienne.

Concernant la b-hCG, les résultats sont comparables à ceux trouvés précédemment en mUI/mL. Il n'existe pas de relation significative avec la morphologie du blastocyste. Les autres variables n'influencent pas les valeurs de b-hCG (*Tableau 9*).

b-hCG (MoM)		
	Coefficient de régression	Valeur de p
Qualité embryonnaire : Bon	- 0,41	0,16
Qualité embryonnaire : Moyen à mauvais	+ 0,13	0,69
Age maternel	- 0,009	0,78
Type de gonadotrophines : hMG	+ 0,16	0,58
Type de gonadotrophines : hMG + FSHr	+ 0,005	0,99
Infertilité primo-secondaire	- 0,27	0,38
Infertilité secondaire	- 0,11	0,68
Nombre d'ovocytes récupérés (≥ 18 ou < 18)	- 0,25	0,45
Survenue d'une HSO	+ 0,27	0,54

Tableau 9 : Résultats de l'analyse multivariée sur les valeurs de b-hCG en MoM.

Légende : FSHr = FSH recombinante ; HSO = hyperstimulation ovarienne.

DISCUSSION

I. Résultats principaux

De nombreuses études ont analysé l'impact de la conception assistée (FIV/ICSI) sur les marqueurs sériques du premier trimestre. Si cet impact sur les valeurs de b-hCG reste controversé, il semble que les valeurs de concentrations sériques de PAPP-A soient réellement abaissées pour les grossesses issues de FIV/ICSI (34,36,39–41,43,44,46–51). Plusieurs hypothèses physiopathologiques ont été avancées mais aucune étude n'a cherché une relation entre la morphologie des blastocystes et les marqueurs sériques du premier trimestre. Or, d'un point de vue physiopathologique, nous savons aujourd'hui que la PAPP-A et la b-hCG sont des marqueurs précoces de troubles de la placentation. L'objectif principal de cette étude était donc d'évaluer l'impact de la morphologie du blastocyste sur les marqueurs sériques (b-hCG et PAPP-A) au premier trimestre de grossesse. L'objectif secondaire était d'évaluer l'impact de chaque caractéristique du blastocyste (blastocèle, MCI et TE) sur les marqueurs sériques au premier trimestre.

Notre étude ne rapporte aucune association significative entre la qualité des blastocystes lors d'un TEF unique et les marqueurs sériques du premier trimestre.

En effet l'analyse univariée sur la morphologie globale ne retrouve pas de différence significative entre les trois groupes concernant les marqueurs sériques du premier trimestre (PAPP-A et b-hCG). Ces résultats sont confirmés par l'analyse multivariée que ce soit pour les valeurs sériques de PAPP-A en mUI/L et en MoM ou pour les valeurs de b-hCG en mUI/mL et en MoM.

Nous n'avons pas non plus retrouvé de différence significative sur les valeurs de PAPP-A et b-hCG (MoM) en fonction de la MCI, du TE ou encore du blastocèle. Seule une analyse univariée a été réalisée, le nombre de TE et de MCI classés « C » étant trop réduit pour pouvoir réaliser des analyses complémentaires.

II. Validité externe de l'étude

A notre connaissance aucune étude ne traite spécifiquement de l'impact de la morphologie embryonnaire sur les marqueurs sériques du premier trimestre.

Cependant en 2017, Bouillon et al. ont publié une étude observationnelle qui cherchait à objectiver une relation entre la morphologie du blastocyste transféré en frais à J5 et les complications obstétricales et périnatales des grossesses singletons. Ils ont inclus 1766 cycles de transfert frais d'un blastocyste unique (52). Il faut noter que leur classification en terme de qualité embryonnaire était différente de la nôtre (bon : 3-6AA, AB et BA ; moyen : 3-6BB ; pauvre : 3-6AC, CA, BC ou CB ; précoce : B1 et B2). Ils n'ont pas observé d'augmentation du taux de complications de grossesse (et notamment de complications vasculaires) ou périnatales après transfert d'un blastocyste classé « pauvre ». En effet en analyse univariée ils n'ont pas trouvé de différence significative entre les groupes de qualité embryonnaire sur la survenue d'HTAG, de PE, de RCIU, de RPM ou de petit poids de naissance. Ces résultats restaient vrais même après ajustement sur les potentiels facteurs confondants. Nous confirmons ces résultats puisque dans notre étude nous ne retrouvons pas de différence significative en termes de complications obstétricales entre nos trois groupes.

Par ailleurs leurs résultats annexes ont montré que les taux de grossesse clinique et de naissance vivante étaient significativement plus élevés dans le groupe « bon » et que les deux taux diminuaient avec la qualité embryonnaire diminuant. Ces conclusions étaient en accord avec les études de Goto et al, de Van Den Abbeel et al. et de Oron et al (53–55). Deux autres études rétrospectives publiées en 2017 par Irani et al. et en 2018 par Zhao et al. confirmaient également que les embryons de meilleure qualité étaient associés de manière significative à un plus haut taux d'implantation, de grossesse clinique et de naissance vivante (56,57). Irani et al. et Zhao et al. ont utilisé une classification de qualité embryonnaire comparable à la nôtre. Enfin Bouillon et al. ont également pu observer une simple tendance vers un taux plus élevé de fausses couches à la fois dans le groupe « pauvre » et « précoce » sans que cela ne soit significatif. Ces derniers résultats étaient en accord avec l'étude d'Oron (55).

Au vu de ces conclusions un blastocyste de morphologie « pauvre » serait donc associé à une réduction du potentiel d'implantation, mais une fois l'implantation effective elle est la même que pour un blastocyste de morphologie classée comme supérieure et le déroulement de la grossesse n'est pas marqué par plus de complications obstétricales et notamment vasculaires. De même notre étude ne montre pas de modification des concentrations de PAPP-A et de b-HCG au premier trimestre en fonction de la qualité embryonnaire. Ces conclusions sont donc rassurantes pour les couples.

III. Autres résultats

L'analyse multivariée de notre étude a montré que l'infertilité secondaire réduit significativement les valeurs sériques de PAPP-A (en mUI/L et en MoM). Gjerris et al. en 2009 ne retrouvaient pas d'association significative entre la gestité, la parité et les marqueurs sériques du premier trimestre. Il s'agissait d'une étude prospective avec une taille d'échantillon importante (992 grossesses issues de l'AMP et 2532 grossesses spontanées). Cependant en 2008, Kagan et al. ont publié une étude prospective avec plus de 90 000 patientes incluses et ont constaté une augmentation de 2% des valeurs de PAPP-A chez les nullipares, ce qui conforte nos résultats sans que nous puissions avancer d'hypothèse physiopathologique.

Nous constatons également que le type de gonadotrophine influence les valeurs de PAPP-A, avec une réduction des concentrations de PAPP-A lors de l'utilisation d'hMG. Ceci n'est vrai que sur les valeurs de PAPP-A en MoM. Ces résultats viennent contredire ceux d'Anckaert et al. en 2008, qui ont réalisé une étude rétrospective incluant 4088 grossesses spontanées, 59 FIV, 163 ICSI et 31 TEC. En effet ils ne retrouvaient pas de corrélation entre la stimulation ovarienne (durée de stimulation, type de gonadotrophines, dose totale de gonadotrophines) et les marqueurs sériques du premier trimestre (48), mais ces résultats n'étaient pas présentés dans leur publication. Enfin Bellver et al. en 2013 ont trouvé une réduction significative de la concentration de PAPP-A en MoM pour les cycles de stimulation par FSH recombinante seule, mais leur population n'était pas comparable à la nôtre puisqu'elle incluait 606 grossesses issues du don d'ovocytes.

Dans notre étude l'HSO ou le nombre d'ovocytes récupérés (≥ 18 ou < 18) ne semblait pas influencer les valeurs de PAPP-A et de b-hCG que ce soit pour les valeurs normales ou les valeurs en MoM. Ce résultat est en accord avec l'étude d'Anckaert et al. qui ne retrouvait pas de corrélation entre les marqueurs sériques et le nombre d'ovocytes recueillis (48). Pourtant plusieurs études ont suggéré que le traitement hormonal exogène était la principale cause de la baisse de PAPP-A chez les femmes enceintes ayant subi une FIV/ICSI (41,43,44,50). Ainsi Tul et Novak-Antolic en 2006 (44) ont constaté une réduction significative des concentrations de PAPP-A et une augmentation significative de l'inhibine A en FIV et en ICSI. Cette réduction de PAPP-A était également corrélée de façon significative avec le nombre d'ovocytes récupérés. Ils évoquaient donc l'hypothèse selon laquelle en FIV/ICSI, les multiples corps jaunes sécrétaient de l'inhibine A qui inhibait la sécrétion de PAPP-A. Georgetti et al. en 2013 ont observé une réduction significative de PAPP-A en FIV/ICSI après

TEF, mais aucune différence en insémination intra-utérine (IIU). Après une analyse multivariée ils ont émis l'hypothèse qu'une oestradiolémie le jour du déclenchement supérieure ou égale à 1300 pg/mL serait corrélée à une réduction significative de PAPP-A. Cette théorie expliquerait donc l'absence de différence significative sur les concentrations de PAPP-A entre les grossesses spontanées et les IIU ou les TEC, retrouvée dans plusieurs études (40,43,44,48). Cependant il faut noter que l'étude d'Anckaert n'inclut que 31 cas de TEC, celle de Tul et Novak seulement 5 cas de TEC, celle de Gjerris 84 cas de TEC et celle de Giorgetti seulement 81 cas d'IIU. A l'inverse Bellver et al. en 2013 ont inclus 260 TEC dans leur étude et ont montré une baisse significative de PAPP-A en TEC hormonal (faible stimulation hormonale), mais pas de différence en TEC sur cycle naturel. De même Hunt et al. en 2017 ont constaté une réduction significative de PAPP-A en FIV et en ICSI, à la fois en TEF et en TEC (étude incluant 316 TEC), tout comme Armor et al en 2009 (41). Nous manquons donc d'études pour pouvoir admettre que l'hyperoestradiolémie (accompagnant un nombre important d'ovocytes récupérés) soit la cause de la baisse de PAPP-A dans les grossesses issues de FIV/ICSI.

Enfin on note logiquement que l'IMC et l'âge gestationnel influencent de manière significative les valeurs de PAPP-A en mUI/L puisque plus le poids augmente plus l'espace de dilution est important, et plus l'âge gestationnel est avancé, plus la sécrétion de PAPP-A est importante. Dans notre étude la consommation de tabac n'influence pas de manière significative les valeurs de PAPP-A mais tend tout de même vers une diminution de la PAPP-A. Ces résultats vont dans le sens de ce que nous connaissons déjà et du facteur correcteur que nous appliquons dans la conversion des valeurs sériques de PAPP-A en MoM (34,35).

L'IMC et l'AG diminuent les valeurs sériques de b-hCG de manière non significative alors que le statut tabagique n'influence pas les valeurs de b-hCG. Ces résultats sont probablement dus à un manque de puissance de notre étude puisque nous savons que plus le poids augmente plus l'espace de dilution est important et qu'à partir de 11SA la sécrétion de b-hCG diminue. Enfin il faut savoir que le facteur correcteur « tabac » appliqué dans la conversion en MoM des valeurs sériques de b-hCG est très proche de 1 (0,9608).

IV. Forces et faiblesses de l'étude

Les résultats obtenus dans notre série sont limités car devant un effectif trop faible de « mauvais » blastocystes ($\geq B3CB$ et $\geq B3CB$), nous les avons regroupés avec les blastocystes que nous avons initialement classés en « moyen » ($\geq B3BB$, $\geq B3AC$, $\geq B3CA$ et B1) pour

obtenir un groupe que nous avons donc nommé « moyen à mauvais » et dont l'effectif restait très modeste avec 27 blastocystes inclus. En effet dans notre étude aucun blastocyste classé B3-6AC ou B3-6CA n'a été transféré, seulement 1 blastocyste classé B3-6BC a été transféré, et 4 blastocystes classés B3-6CB. De même les analyses descriptives croisées en sous-groupes (blastocèle, MCI, TE) manquent de puissance en raison du trop faible effectif de blastocystes avec une MCI et/ou un TE classé grade C. Cependant la composition de notre effectif est logique puisque la littérature a bien montré que les embryons de meilleure qualité étaient associés de manière significative à un plus haut taux d'implantation, de grossesse clinique et de naissance vivante (52–57). Il est donc extrêmement rare que nous soyons confrontés au transfert d'un blastocyste de MCI ou de TE classé en grade C. Il serait intéressant de réaliser des études multicentriques pour augmenter considérablement les effectifs et obtenir ainsi un effectif proportionnellement plus important de blastocystes avec une MCI et/ou un TE classé C. Cette classification reste évidemment arbitraire et discutable, mais nous nous étions appuyés sur deux études récentes qui utilisaient une classification semblable, Irani et al. en 2017 (56) et Zhao et al. en 2018 (57).

La variabilité inter et intra-observateur dans l'analyse de ces critères morphologiques peut être considérée comme un point faible, d'autant que notre étude est bicentrique. Cependant la classification de Gardner et Schoolcraft est aujourd'hui une référence et les compétences des opérateurs sont contrôlées dans nos deux laboratoires par des contrôles de qualité internes et externes fréquents. L'utilisation du time-lapse nous a également aidé à réduire cette variabilité et cette technique améliore sensiblement les conditions de culture par rapport aux méthodes conventionnelles, ce qui d'après certaines études augmenterait les chances de grossesse. En effet la méta-analyse de C.Pribenszky, publiée en 2017, a montré que l'observation de la culture prolongée à l'aide du time-lapse entraînait une augmentation du taux de grossesse et de naissance vivante et une réduction du taux de fausse couche précoce par rapport aux méthodes d'observation conventionnelles (2).

Par ailleurs notre étude est rétrospective avec quelques informations, sur les caractéristiques maternelles notamment (poids, taille), qui ont été recueillies de manière déclarative.

Le fait que nous ayons daté la grossesse d'après la LCC et non d'après la date de ponction ovocytaire pourrait également être un point critiquable. Cependant une étude de Gjerris et al. publiée en 2008 avait évalué les deux méthodes de datation dans le calcul de l'âge gestationnel pour le dépistage combiné du premier trimestre. Ils avaient conclu que les

deux méthodes de datation étaient équivalentes dans ce cas précis. Mais le calcul de l'AG à partir de la date de ponction reste la méthode de référence pour les autres buts à savoir connaître le terme prévu de l'accouchement ou encore le début du congé maternité (58).

Nous n'avons pas détaillé les étiologies de l'infertilité. Cependant, plusieurs études ne retrouvaient pas de différence significative concernant les étiologies d'infertilité sur la réduction des valeurs de PAPP-A et plus généralement sur les marqueurs sériques du premier trimestre (41,43,50).

Le point fort de notre étude est la rigueur dans le recueil de données. A savoir que toutes les conversions en MoM ont été recalculées par notre ingénieure avec la dernière version du logiciel SSDW6, évitant ainsi un biais important dans le recueil des valeurs de PAPP-A et de b-hCG. Toutes les données sont donc parfaitement comparables. Nous avons également limité les biais en excluant les transferts d'embryons multiples et les embryons issus du don de gamètes. Nous avons exclu les transferts d'embryons congelés afin de comparer uniquement les transferts après forte stimulation hormonale par gonadotrophines.

L'autre point fort est d'avoir suivi le déroulement des grossesses jusqu'à la naissance. Ainsi cela nous a permis d'exclure toutes les grossesses aneuploïdes et de connaître toutes les complications et les issues de grossesse.

V. Explications physiopathologiques

Concernant l'impact de la FIV/ICSI sur les marqueurs sériques du premier trimestre, nous avons vu précédemment que de nombreuses études s'y sont intéressées. Une revue de la littérature et une méta-analyse récentes ont amené à la conclusion qu'effectivement les concentrations sériques de PAPP-A étaient diminuées de manière significative pour les grossesses issues de FIV/ICSI en TEF (38,59). Les données concernant la β -hCG libre étaient contradictoires (38).

Or, nous savons qu'une anomalie des MSM (PAPP-A diminuée et b-hCG diminuée) peut refléter un trouble de la placentation et donc nous orienter vers un risque majoré de complications obstétricales d'origine vasculaire (22,28).

Enfin, les études ont rapporté une augmentation des complications obstétricales et périnatales (telles que les pathologies d'origine vasculaire) dans les grossesses singletons issues de l'AMP par rapport aux grossesses spontanées. Une méta-analyse publiée en 2016 par Qin et al. incluait 50 études de cohortes et concluait que les grossesses singletons issues de FIV/ICSI comportaient un risque significativement accru d'HTAG, de DG, de placenta

prævia, de décollement placentaire, d'hémorragie antépartum, de naissance prématurée, de faible poids de naissance, de PPAG, de mortalité périnatale et de malformations congénitales (60).

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer à la fois le sur-risque de complications obstétricales et périnatales, et la réduction significative des concentrations sériques de PAPP-A dans les grossesses issues de FIV/ICSI. L'hypothèse la plus plausible d'un point de vue physiopathologique serait l'impact de l'hyperoestradiolémie sur le développement placentaire. En effet comme nous l'avons vu précédemment, Tul et Novak en 2006 et Giorgetti en 2013 évoquaient respectivement un lien entre le nombre d'ovocytes récupérés et la baisse de PAPP-A et entre une oestradiolémie le jour du déclenchement supérieure ou égale à 1300pg/mL et la baisse de PAPP-A (43,44). Giorgetti et al. ont donc expliqué que l'augmentation de l'estradiol, puissant vasodilatateur des artères utérines, favorisait la croissance de l'endomètre et entraînait une interface entre le futur placenta et l'endomètre sous-optimale mais fonctionnelle, résultant en une production inférieure de PAPP-A. De plus en 2016 Royster et al. ont montré une forte association entre l'estradiolémie et l'ICSI (mais non en FIV) avec les complications de grossesse par trouble de la placentation. Ils ont fixé le seuil de 3000 pg/mL au-dessus duquel on observait une augmentation des complications obstétricales. Leur théorie était donc que l'élévation de la concentration d'estradiol au moment de l'implantation affectait l'invasion du trophoblaste dans l'endomètre (61). Or nous savons que l'estradiol est un acteur crucial dans le développement des villosités trophoblastiques et du flux utéro-placentaire (62). De plus Bonagura et al. ont démontré chez les babouins qu'avancer l'augmentation de la concentration en estrogène dans le sang maternel au premier trimestre de la grossesse supprimait l'invasion des artères spiralées par le CTEV, en diminuant l'expression de VEGF (promoteur de l'invasion du CTEV) (63).

Mais plusieurs études ont retrouvé une baisse de PAPP-A même lors de TEC (à faible ou sans stimulation hormonale) (41,50,51), et une méta-analyse récente de 2018 publiée par Sha et al. a montré que les grossesses issues de TEC étaient associées à un risque accru d'HTAG par rapport aux grossesses issues de TEF. Ceci sous-entendait qu'il existait également des troubles de la placentation en dehors de toute hyperestradiolémie.

Nous savons qu'il existe beaucoup de paramètres pouvant jouer sur l'implantation et la placentation, mais nous manquons encore de connaissances sur ce qu'il se passe au niveau moléculaire dans le développement placentaire des grossesses issues de l'AMP. Concernant la morphologie des embryons, nous savons que la qualité embryonnaire est considérée comme

un facteur prédictif d'implantation et de grossesse (54–57,64,65), mais la qualité embryonnaire ne semble pas avoir de répercussion sur la placentation. En effet en 2014 Oron et al. n'ont pas montré plus de complications obstétricales ou périnatales après le transfert d'un embryon de moins bonne qualité (55), ce qu'a confirmé Bouillon et al en 2017 (52). Notre étude va dans ce sens puisque nous ne retrouvons pas de différence significative sur les concentrations sériques de PAPP-A et de b-hCG en fonction de la qualité embryonnaire.

CONCLUSION

Notre étude est la première à notre connaissance qui s'intéresse à la relation entre la morphologie du blastocyste et les marqueurs sériques du premier trimestre. La PAPP-A et la b-hCG participent au calcul du risque de trisomie 21 mais sont aussi des marqueurs de troubles de la placentation. On sait aujourd'hui que les grossesses issues de FIV/ICSI comportent un risque accru de complications obstétricales et notamment vasculaires. Cependant de façon indépendante, la qualité du blastocyste ne semble pas corrélée ni à la survenue de complications obstétricales, ni à des modifications des concentrations sériques des marqueurs du premier trimestre. En effet notre étude ne montrait pas de différence significative sur les valeurs de PAPP-A et de b-hCG (en mUI/L et mUI/mL et en MoM) entre les trois groupes de qualité embryonnaire « excellent », « bon » et « moyen à mauvais ». Il n'y avait pas non plus de différence significative en termes de complications de grossesse. Ainsi il n'y a pas lieu d'inquiéter les couples sur un éventuel sur-risque de complications, notamment vasculaires, si un embryon de moins bonne qualité était transféré.

L'avantage de notre série était de n'avoir étudié que les transferts uniques de blastocystes frais. L'autre point fort était le suivi du déroulement des grossesses jusqu'à la naissance, nous permettant d'exclure toutes les grossesses aneuploïdes et de connaître toutes les complications et les issues de grossesses. Cependant l'interprétation de nos résultats reste difficile à extrapoler du fait de la faible puissance d'une étude rétrospective avec des effectifs restreints.

Des études complémentaires prospectives multicentriques sont nécessaires pour confirmer que la qualité embryonnaire joue un rôle dans l'implantation mais pas dans la placentation. C'est-à-dire qu'une fois l'embryon implanté, il n'y a pas plus de marqueurs sériques pathologiques ni de complications obstétricales pour des embryons de moins bonne qualité.

BIBLIOGRAPHIE

1. Agence de la biomédecine. Rapport d'activité annuel d'AMP - 2015. 2015.
2. Pribenszky C, Nilselid A-M, Montag M. Time-lapse culture with morphokinetic embryo selection improves pregnancy and live birth chances and reduces early pregnancy loss: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. nov 2017;35(5):511-20.
3. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, Balaban B, Brison D, Calderon G, Catt J, Conaghan J, et al. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 1 juin 2011;26(6):1270-83.
4. Alter L, Boitrelle F, Sifer C. Comment sélectionner aujourd'hui le meilleur embryon à transférer ? *Gynécologie Obstétrique Fertil*. juill 2014;42(7-8):515-25.
5. Guibourdenche J, Handschuh K, Tsatsaris V, Gerbaud P, Leguy MC, Muller F, et al. Hyperglycosylated hCG Is a Marker of Early Human Trophoblast Invasion. *J Clin Endocrinol Metab*. oct 2010;95(10):E240-4.
6. Guibourdenche J, Leguy M-C, Tsatsaris V. Biology and markers of preeclampsia. *Ann Biol Clin (Paris)*. nov 2013;(S1):79–87.
7. UVMaF. Placenta : anatomie et physiologie. 2010.
8. Haute Autorité de Santé. Le dépistage de la trisomie 21, fiche d'information patiente. 2018.
9. Rozenberg P, Bussières L, Chevret S, Bernard J-P, Malagrida L, Cuckle H, et al. Dépistage de la trisomie 21 par le test combiné du premier trimestre suivi par l'échographie du second trimestre en population générale. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. avr 2007;35(4):303-11.
10. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. janv 2011;31(1):7-15.

11. HAS. HAS, Evaluation des stratégies de dépistage de la trisomie 21, Recommandation en santé publique, Juin 2017. 2007.
12. Haute Autorité de Santé - Trisomie 21 – Les tests ADN libre circulant intégrés dans le dépistage [Internet]. [cité 9 mars 2019]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2762345/fr/trisomie-21-les-tests-adn-libre-circulant-integres-dans-le-depistage
13. Ministère de la santé et des sports, Agence de la biomédecine, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21. Journal Officiel de la République Française; 2018.
14. Geyl C, Subtil D, Vaast P, Coulon C, Clouqueur E, Deruelle P, et al. Interprétation des valeurs atypiques des marqueurs sériques. J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod. janv 2014;43(1):5-11.
15. Evans J, Salamonsen LA, Menkhorst E, Dimitriadis E. Dynamic changes in hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin throughout the first trimester of pregnancy and its role in early placentation. Hum Reprod. 1 mai 2015;30(5):1029-38.
16. Bonduelle ML, Dodd R, Liebaers I, Van Steirteghem A, Williamson R, Akhurst R. Chorionic gonadotrophin-beta mRNA, a trophoblast marker, is expressed in human 8-cell embryos derived from triprounucleate zygotes. Hum Reprod Oxf Engl. oct 1988;3(7):909-14.
17. Ahmed AG, Klopper A. Diagnosis of early pregnancy by assay of placental proteins. Br J Obstet Gynaecol. juill 1983;90(7):604-11.
18. Tsampalas M, Griselet V, Berndt S, Foidart J-M, Geenen V, d'Hauterive SP. Human chorionic gonadotropin: A hormone with immunological and angiogenic properties. J Reprod Immunol. mai 2010;85(1):93-8.
19. Muller F, Dreux S, Czerkiewicz I, Bernard M, Guibourdenche J, Lacroix I, et al. Dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques maternels : justification des

commentaires appliqués par les biologistes. J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod. nov 2014;43(9):671-9.

20. Dr E.MUSEUX, Dr A.MECHOULAN, Dr M.PASCO. Profil atypique des marqueurs sériques avec un risque calculé inférieur au seuil de 1/250. Récapitulatif et mise à jour. 2016.
21. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock J-A, et al. Obstetrical Complications Associated With Abnormal Maternal Serum Markers Analytes. J Obstet Gynaecol Can. oct 2008;30(10):918-32.
22. J.Guibourdenche. Cours extrait du MOOC (massive open online course) PRE-ECLAMPSIE, CNGOF, 2018. 2018.
23. Canini S, Prefumo F, Pastorino D, Crocetti L, Afflitto CG, Venturini PL, et al. Association between birth weight and first-trimester free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. Fertil Steril. janv 2008;89(1):174-8.
24. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Decreased PAPP-A is associated with preeclampsia, premature delivery and small for gestational age infants but not with placental abruption. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. juill 2011;157(1):48-52.
25. Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. Am J Obstet Gynecol. 15 janv 1974;118(2):223-36.
26. Yliniemi A, Nurkkala M-M, Kopman S, Korpimäki T, Kouru H, Ryyänanen M, et al. First Trimester Placental Retinol-Binding Protein 4 (RBP4) and Pregnancy-Associated Placental Protein A (PAPP-A) in the Prediction of Early-Onset Severe Pre-Eclampsia. Metabolism. avr 2015;64(4):521-6.
27. Guibourdenche J, Frendo J-L, Pidoux G, Bertin G, Luton D, Muller F, et al. Expression of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) during human villous trophoblast differentiation in vitro. Placenta. mai 2003;24(5):532-9.

28. Christians JK, Beristain AG. ADAM12 and PAPP-A: Candidate regulators of trophoblast invasion and first trimester markers of healthy trophoblasts. *Cell Adhes Migr.* 3 mars 2016;10(1-2):147-53.
29. Bouzid A, Ayachi A, Dhaoudi H, Mourali M. Pertinence des marqueurs sériques du premier trimestre pour prédire les complications de la grossesse : étude prospective tunisienne. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* févr 2016;44(2):96-100.
30. Tan MY, Syngelaki A, Poon LC, Rolnik DL, O’Gorman N, Delgado JL, et al. Screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks’ gestation: First-trimester PE screening. *Ultrasound Obstet Gynecol.* août 2018;52(2):186-95.
31. O’Gorman N, Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Wright A, Poon LC, et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol.* janv 2016;214(1):103.e1-103.e12.
32. Smith GCS, Shah I, Crossley JA, Aitken DA, Pell JP, Nelson SM, et al. Pregnancy-Associated Plasma Protein A and Alpha-fetoprotein and Prediction of Adverse Perinatal Outcome: *Obstet Gynecol.* janv 2006;107(1):161-6.
33. Spencer K, Bindra R, Nicolaides KH. Maternal weight correction of maternal serum PAPP-A and free β -hCG MoM when screening for trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn.* oct 2003;23(10):851-5.
34. Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* mai 2008;31(5):493-502.
35. Wright D, Spencer K, Kagan K K, Tørring N, Petersen OB, Christou A, et al. First-trimester combined screening for trisomy 21 at 7-14 weeks’ gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2 sept 2010;36(4):404-11.
36. Hui PW, Lam YH, Tang MHY, Ng EHY, Yeung WSB, Ho PC. Maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and free β -human chorionic gonadotrophin in pregnancies conceived with fresh and frozen-thawed embryos from in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Prenat Diagn.* mai 2005;25(5):390-3.

37. Chasen ST, Perni SC, Predanic M, Kalish RB, Chervenak FA. Does a “vanishing twin” affect first-trimester biochemistry in Down syndrome risk assessment? *Am J Obstet Gynecol.* juill 2006;195(1):236-9.
38. Lanes A, Huang T, Sprague AE, Leader A, Potter B, Walker M. Maternal serum screening markers and nuchal translucency measurements in in vitro fertilization pregnancies: a systematic review. *Fertil Steril.* nov 2016;106(6):1463-1469.e2.
39. Engels MAJ, Kooij M, Schats R, Twisk JWR, Blankenstein MA, van Vugt JMG. First-trimester serum marker distribution in singleton pregnancies conceived with assisted reproduction. *Prenat Diagn.* 2010;n/a-n/a.
40. Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. First-trimester screening markers are altered in pregnancies conceived after IVF/ICSI. *Ultrasound Obstet Gynecol.* janv 2009;33(1):8-17.
41. Amor DJ, Xu JX, Halliday JL, Francis I, Healy DL, Breheny S, et al. Pregnancies conceived using assisted reproductive technologies (ART) have low levels of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) leading to a high rate of false-positive results in first trimester screening for Down syndrome. *Hum Reprod.* juin 2009;24(6):1330-8.
42. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Increased time-to-pregnancy and first trimester Down’s syndrome screening. *Hum Reprod.* 1 févr 2010;25(2):412-7.
43. Giorgetti C, Vanden Meerschaut F, De Roo C, Saunier O, Quarello E, Hairion D, et al. Multivariate analysis identifies the estradiol level at ovulation triggering as an independent predictor of the first trimester pregnancy-associated plasma protein-A level in IVF/ICSI pregnancies. *Hum Reprod.* 1 oct 2013;28(10):2636-42.
44. Tul N, Novak-Antolič Ž. Serum PAPP-A levels at 10–14 weeks of gestation are altered in women after assisted conception. *Prenat Diagn.* déc 2006;26(13):1206-11.
45. Englert Y, Roger M, Belaisch-Allart J, Jondet M, Frydman R, Testart J. Delayed appearance of plasmatic chorionic gonadotropin in pregnancies after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril.* déc 1984;42(6):835-8.

46. Liao AW, Heath V, Kametas N, Spencer K, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 in singleton pregnancies achieved by assisted reproduction. *Hum Reprod Oxf Engl.* juill 2001;16(7):1501-4.
47. Orlandi F, Rossi C, Allegra A, Krantz D, Hallahan T, Orlandi E, et al. First trimester screening with free β -hCG, PAPP-A and nuchal translucency in pregnancies conceived with assisted reproduction. *Prenat Diagn.* août 2002;22(8):718-21.
48. Anckaert E, Schiettecatte J, Sleurs E, Devroey P, Smits J. First trimester screening for Down's syndrome after assisted reproductive technology: non-male factor infertility is associated with elevated free beta-human chorionic gonadotropin levels at 10–14 weeks of gestation. *Fertil Steril.* oct 2008;90(4):1206-10.
49. Bender F, Hecken J, Reinsberg J, Berg C, van der Ven H, Gembruch U, et al. Altered first-trimester screening markers after IVF/ICSI: no relationship with small-for-gestational-age and number of embryos transferred. *Reprod Biomed Online.* avr 2010;20(4):516-22.
50. Bellver J, Casanova C, Garrido N, Lara C, Remohí J, Pellicer A, et al. Additive effect of factors related to assisted conception on the reduction of maternal serum pregnancy-associated plasma protein A concentrations and the increased false-positive rates in first-trimester Down syndrome screening. *Fertil Steril.* nov 2013;100(5):1314-1320.e3.
51. Hunt LP, McInerney-Leo AM, Sinnott S, Sutton B, Cincotta R, Duncombe G, et al. Low first-trimester PAPP-A in IVF (fresh and frozen-thawed) pregnancies, likely due to a biological cause. *J Assist Reprod Genet.* oct 2017;34(10):1367-75.
52. Bouillon C, Celton N, Kassem S, Frapsauce C, Guérif F. Obstetric and perinatal outcomes of singletons after single blastocyst transfer: is there any difference according to blastocyst morphology? *Reprod Biomed Online.* août 2017;35(2):197-207.
53. Goto S, Kadowaki T, Tanaka S, Hashimoto H, Kokeguchi S, Shiotani M. Prediction of pregnancy rate by blastocyst morphological score and age, based on 1,488 single frozen-thawed blastocyst transfer cycles. *Fertil Steril.* mars 2011;95(3):948-52.

54. Van den Abbeel E, Balaban B, Ziebe S, Lundin K, Cuesta MJG, Klein BM, et al. Association between blastocyst morphology and outcome of single-blastocyst transfer. *Reprod Biomed Online*. oct 2013;27(4):353-61.
55. Oron G, Son W-Y, Buckett W, Tulandi T, Holzer H. The association between embryo quality and perinatal outcome of singletons born after single embryo transfers: a pilot study. *Hum Reprod*. 1 juill 2014;29(7):1444-51.
56. Irani M, Reichman D, Robles A, Melnick A, Davis O, Zaninovic N, et al. Morphologic grading of euploid blastocysts influences implantation and ongoing pregnancy rates. *Fertil Steril*. mars 2017;107(3):664-70.
57. Zhao Y-Y, Yu Y, Zhang X-W. Overall Blastocyst Quality, Trophectoderm Grade, and Inner Cell Mass Grade Predict Pregnancy Outcome in Euploid Blastocyst Transfer Cycles: *Chin Med J (Engl)*. juin 2018;131(11):1261-7.
58. Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Tabor A, Christiansen M. First-trimester screening in pregnancies conceived by assisted reproductive technology: significance of gestational dating by oocyte retrieval or sonographic measurement of crown-rump length. *Ultrasound Obstet Gynecol*. oct 2008;32(5):612-7.
59. Cavoretto P, Giorgione V, Cipriani S, Viganò P, Candiani M, Inversetti A, et al. Nuchal translucency measurement, free β -hCG and PAPP-A concentrations in IVF/ICSI pregnancies: systematic review and meta-analysis: NT, free β -hCG and PAPP-A in IVF/ICSI pregnancies. *Prenat Diagn*. juin 2017;37(6):540-55.
60. Qin J, Liu X, Sheng X, Wang H, Gao S. Assisted reproductive technology and the risk of pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in singleton pregnancies: a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril*. janv 2016;105(1):73-85.e6.
61. Royster GD, Krishnamoorthy K, Csokmay JM, Yauger BJ, Chason RJ, DeCherney AH, et al. Are intracytoplasmic sperm injection and high serum estradiol compounding risk factors for adverse obstetric outcomes in assisted reproductive technology? *Fertil Steril*. août 2016;106(2):363-370.e3.
62. Imudia AN, Goldman RH, Awonuga AO, Wright DL, Styer AK, Toth TL. The impact of supraphysiologic serum estradiol levels on peri-implantation embryo development and

early pregnancy outcome following in vitro fertilization cycles. J Assist Reprod Genet. janv 2014;31(1):65-71.

63. Bonagura TW, Pepe GJ, Enders AC, Albrecht ED. Suppression of Extravillous Trophoblast Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Uterine Spiral Artery Invasion by Estrogen during Early Baboon Pregnancy. Endocrinology. oct 2008;149(10):5078-87.
64. Richter KS, Harris DC, Daneshmand ST, Shapiro BS. Quantitative grading of a human blastocyst: optimal inner cell mass size and shape. Fertil Steril. déc 2001;76(6):1157-67.
65. Ahlstrom A, Westin C, Reisner E, Wikland M, Hardarson T. Trophectoderm morphology: an important parameter for predicting live birth after single blastocyst transfer. Hum Reprod. 1 déc 2011;26(12):3289-96.

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.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue 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.

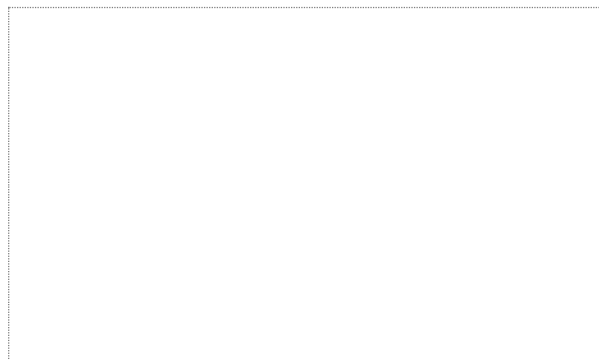
Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

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,

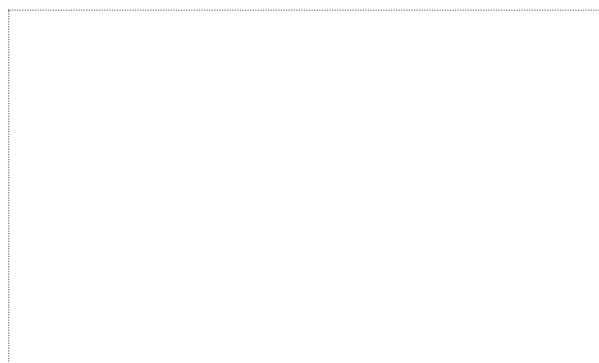
(tampon et signature)



Professeur Paul BARRIERE

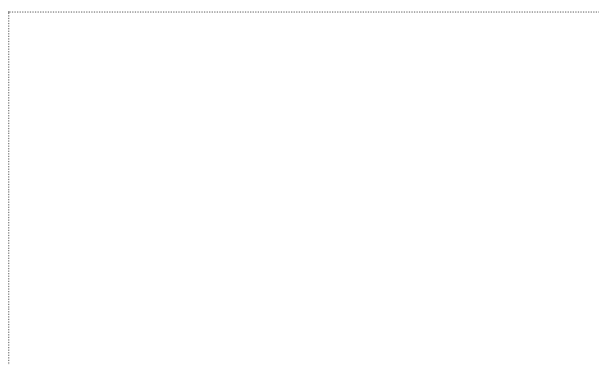
Vu, le Directeur de Thèse,

(tampon et signature)



Docteur Tiphaine LEFEBVRE

Vu, le Doyen de la Faculté,



Professeur Pascale JOLLIET

Corrélation entre la morphologie du blastocyste et les marqueurs sériques du premier trimestre après un transfert unique en frais.

RESUME

Les marqueurs sériques du premier trimestre sont utilisés principalement dans le dépistage de la trisomie 21. Cependant la PAPP-A et la b-hCG sont aussi des marqueurs précoces de troubles de la placentation. De nombreuses études ont analysé l'impact de la fécondation in vitro +/- injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (FIV+/-ICSI) sur les marqueurs sériques du premier trimestre, mais aucune n'a cherché une relation entre la morphologie des blastocystes et ces marqueurs. Nous avons donc réalisé une étude rétrospective, bicentrique, incluant 122 patientes. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'impact de la morphologie du blastocyste sur les marqueurs sériques (b-hCG et PAPP-A) au premier trimestre de grossesse. L'objectif secondaire était d'évaluer l'impact de chaque caractéristique du blastocyste (blastocèle, masse cellulaire interne et trophoctoderme) sur ces marqueurs. Notre étude n'a rapporté aucune association significative, en analyse univariée et multivariée, entre la qualité des blastocystes lors d'un transfert embryonnaire frais unique et les marqueurs sériques du premier trimestre. Il n'y avait pas non plus de différence significative en termes de complications de grossesse. Ainsi il n'y a pas lieu d'inquiéter les couples sur un éventuel sur-risque de complications ou de modifications des marqueurs sériques si un embryon de moins bonne qualité était transféré.

MOTS-CLES

MORPHOLOGIE

BLASTOCYSTE

MARQUEURS SERIQUES DU PREMIER TRIMESTRE

PAPP-A, b-hCG

TRISOMIE 21

FECONDEATION IN VITRO avec ou sans INJECTION INTRA-CYTOPLASMIQUE DE SPERMATOZOÏDES