

# Influence des gonadotrophines sur les résultats clinico-biologiques de la stimulation ovarienne en ICSI: étude rétrospective comparative rFSH vs HP-hMG.

## The influence of gonadotropins on clinico-biological ICSI outcome: a retrospective comparative study rFSH vs HP-hMG

Abdeljalil Khelifi<sup>1</sup>, Olfa Kacem<sup>2</sup>, Maher Maroueni<sup>1</sup>, Leila Elgoul<sup>1</sup>, Samir Hidar<sup>1</sup>, Meriem Fekih<sup>1</sup>, Sassi Boughizane<sup>1</sup>, Habib Essaidi<sup>1</sup>, Lassad Ben Regaya<sup>3</sup>, Mohamed Bibi<sup>1</sup>, Mounir Ajina<sup>4</sup>, Hedi Khairi<sup>1</sup>.

1-Service de gynécologie obstétrique, CHU Farhat Hached de Sousse / Faculté de médecine Ibn El Jazzar Sousse

2-Unité de médecine de la reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse / Faculté de médecine de Tunis

3-Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Menzel Temim / Faculté de médecine Ibn El Jazzar Sousse

4-Unité de médecine de la reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse / Faculté de médecine Ibn El Jazzar Sousse

### R É S U M É

**Objectif** : Comparer les résultats cliniques et biologiques des cycles ICSI chez des patientes normo répondeuses en tenant compte de la molécule de stimulation ovarienne contrôlée: HP-hMG ou rFSH.

**Méthodes** : Etude rétrospective comparative sur 62 mois incluant un total de 1005 couples infertiles répartis en deux groupes: HP-HMG (n=125) et rFSH (n=880).

**Résultats** : Les nombres moyens d'ovocytes recueillis et d'ovocytes matures étaient plus élevés dans le groupe rFSH ( $7,94 \pm 2,49$ , HP-HMG vs  $9,05 \pm 3,40$ , rFSH,  $p=0,0001$  et  $3 \pm 2,68$ , HP-HMG vs  $6,65 \pm 3,05$ , rFSH,  $p=0,02$  respectivement). Aucune différence significative n'a été retrouvée en ce qui concerne l'épaisseur de l'endomètre et le taux d'œstradiol le jour du déclenchement, la dose totale de gonadotrophines administrée et la durée de stimulation. Par ailleurs, nous n'avons trouvé aucune différence significative entre les deux groupes concernant les taux de fécondation, de maturation, de segmentation, d'embryons "top quality", d'implantation, de grossesse clinique, de grossesses multiples, de naissances vivantes et de fausses couches. Aucun cas de syndrome d'hyperstimulation ovarienne sévère n'a été noté.

**Conclusion** : Malgré un nombre d'ovocytes recueillis et d'ovocytes matures obtenu avec la rFSH, cette dernière n'a pas montré sa supériorité aux HP-hMG qui semblent être aussi efficaces et non nocives dans le cadre des cycles d'ICSI.

### M o t s - c l é s

Stimulation ovarienne contrôlée, FSH recombinante, HP-hMG, ICSI.

### S U M M A R Y

**Objective** : To investigate the difference in the outcome of ICSI-ET cycles among respondents patients, taking into account the molecule inducer of controlled ovarian stimulation: HP-hMG ou rFSH.

**Methods** : A comparative retrospective study over 62 months including a total of 1005 infertile couples, divided into two groups: HP-HMG (n=125) and rFSH (n=880).

**Results**: The average numbers of retrieved oocytes and matures oocytes were significantly higher in rFSH group rFSH ( $7,94 \pm 2,49$ , HP-HMG vs  $9,05 \pm 3,40$ , rFSH,  $p=0,0001$  and  $3 \pm 2,68$ , HP-HMG vs  $6,65 \pm 3,05$ , rFSH,  $p=0,02$  respectively). There was no statistically significant difference in the endometrial thickness and estradiol level on hCG injection day, the total amount of administrated gonadotropin and the duration of stimulation. In addition, we did not find a significant difference between the two groups regarding the fertilization, the maturation, the cleavage, top quality embryo, implantation, clinical pregnancy, multiple pregnancies, live birth and miscarriage rates. There was no case of severe ovarian hyperstimulation syndrome.

**Conclusion**: In spite of a higher number of retrieved and mature oocytes obtained with rFSH, the latter showed no superiority over HP-hMG which seem to be equally efficient and safe for ICSI treatment cycles.

### Key - words

Controlled ovarian stimulation, recombinant FSH, HP-hMG, ICSI

La stimulation ovarienne est utilisée dans la majorité des techniques de procréation médicalement assistée (PMA) dans le but d'augmenter les chances d'obtenir une grossesse. En effet, elle entraîne une hyperstimulation ovarienne, augmente le nombre d'ovocytes ponctionnés et donc le nombre d'embryons potentiellement transférés. Cette stimulation fait appel, en fécondation in vitro (FIV), à différentes molécules qui peuvent être classées en fonction de leur origine en deux groupes : les gonadotrophines urinaires extraites à partir des urines de femmes ménopausées et les gonadotrophines recombinantes. Les produits urinaires incluent, entre autre, l'hormone gonadotrophique hautement purifiée (ménotropine : HP-hMG), la FSH urinaire (urofollitropine : uFSH) et l'hormone chorionique gonadotrophique (hCG). Les molécules recombinantes incluent la FSH recombinante (follitropine  $\alpha$  et  $\beta$  : rFSH), la LH recombinante (rLH) et la hCG recombinante (rhCG). La HP-hMG et la rFSH sont les deux types de gonadotrophines habituellement utilisés pour stimuler l'ovulation dans les protocoles d'AMP. Elles diffèrent essentiellement par le fait que la première, contrairement à la seconde, combine à son activité folliculo-stimulante, une activité lutéinisante grâce à la LH issue de l'hCG contenue dans les urines, et capable d'entretenir l'activité LH sur une longue période [1]. La production de la rFSH repose sur l'utilisation de lignées de cellules d'ovaire de Hamster portant sur des plasmides les gènes qui codent les deux chaînes protéiques de la protéine de la FSH. Aucune autre protéine n'est présente dans ces préparations et aucune activité LH n'est présente. La FSH est l'hormone gonadotrope clé durant la phase folliculaire tandis que la LH intervient par un effet minute dans les différents stades de développement folliculaire en particulier pendant la phase folliculaire tardive. Un taux élevé de LH durant la phase folliculaire précoce a un effet néfaste sur la fécondation, l'endomètre, l'implantation et le développement précoce de l'embryon [2]. En se basant sur cette théorie, certains auteurs ont prouvé l'efficacité de la rFSH comparé à la HP-hMG [3]. D'autres auteurs ont trouvé des résultats contraires [4,5]. En effet, l'étude MERIT [6] qui est une large étude randomisée (n = 731) ayant comparé l'efficacité folliculo-stimulante d'une HP-hMG, la ménotropine (Menopur®, n = 363) et d'une rFSH (Gonal-F®, n = 368), chez des candidates à la FIV, ayant subi préalablement à la stimulation une désensibilisation par un agoniste Gn-RH en protocole long, rapporte des résultats qui sont en faveur de la ménotropine, avec, principalement, un taux d'obtention plus élevé d'embryons de « top » qualité (11,3 % vs 9 %, p = 0,044) et de grossesses évolutives par cycle (27 % vs 22 % ; OR, 95 % d'intervalle de confiance : 1,25 (0,89-1,75)). En revanche, d'autres auteurs n'ont pas trouvé de différence significative entre les deux produits [7,8]. Al-Inany et al. dans leur méta-analyse de 2005 [9] n'observaient pas de différence alors qu'ils rapportent une différence

significative en 2008 [10] en faveur des HMG (OR d'accouchement : 1,20 ; IC 95 % : 1,01–1,42) et que finalement en 2009 [11] cette différence n'existe qu'en FIV et pas en ICSI (injection intracytoplasmique par sperme du conjoint). Ces méta-analyses, en dépit d'un nombre relativement élevé de participantes ont démontré la non-infériorité des HP-hMG par rapport à rFSH. Cependant, à force de défendre l'efficacité des gonadotrophines recombinantes, son utilisation a été majorée malgré le coût relativement plus élevé comparé aux gonadotrophines urinaires humaines [12]. On se propose, à travers cette étude d'évaluer l'efficacité des HP-hMG comparés à la rFSH chez des couples atteints d'infertilité masculine ou inexpliqué nécessitant le recours à l'ICSI.

---

## METHODES

---

### Patients

Il s'agit d'une étude rétrospective comparative effectuée sur les dossiers médicaux des couples pris en charge pour infertilité à l'unité de médecine de la reproduction (UMR) du service de gynécologie obstétrique CHU Farhat Hached Sousse – Tunisie. Nous avons revu les dossiers médicaux de l'ensemble des couples pris en charge sur une période de 62 mois (Janvier 2007 à Février 2012), chaque couple ait mené au moins une tentative d'ICSI et répondant aux critères suivants :

#### *Critères d'inclusion:*

Infertilité d'origine masculine ou inexpliquée (L'infertilité était définie par l'absence de grossesse spontanée après au moins une année de cohabitation régulière du couple sans contraception), la composante féminine était une pathologie tubaire sans hydrosalpinx.

Technique de PMA : ICSI

Couples dont les femmes sont jugées normo répondeuses

#### *Critères d'exclusion :*

Dossiers médicaux non exploitables (données manquantes).

La femme présente au moins l'une des caractéristiques suivantes : Age  $\geq$  38 ans, malformation utérine, fibrome ou polype intra cavitaire, endométriose, syndrome des ovaires polykystiques, hyperprolactinémie, hydrosalpinx uni ou bilatéral.

En suivant ces critères, nous avons pu inclure 1005 couples. Une seule tentative d'ICSI (la dernière quand il s'agit de plusieurs) a été étudiée.

#### **Répartition des groupes :**

Les résultats de l'ICSI chez ces patients ont été étudiés en comparant deux groupes selon la molécule utilisée :

**Groupe 1 (n=125):** HP-hMG (Menopur ; Ferring Pharmaceuticals, Copenhague, Danemark).

**Groupe 2 (n=880):** rFSH (follitropin alpha ; Gonal-F ; Merk Serono, Geneva, Switzerland).

Tous les couples inclus dans notre étude ont bénéficié d'un bilan pré-ICSI comportant au moins : un bilan féminin minimum (bilan hormonal de base (FSH, LH, oestradiol), sérologies infectieuses, échographie pelvienne et une hystérosalpingographie) et un bilan masculin minimum (spermogramme avec test de migration et survie).

Le recueil des données a été fait par un enquêteur formé (résidente en gynécologie obstétrique en fin de son cursus de formation) durant une période de 5 mois (Septembre 2012 – Janvier 2013). Les données ont été recueillies à l'aide d'une fiche de collecte de données spécifique anonyme, élaborée en s'inspirant des données de la littérature et après retour aux dossiers médicaux des couples et précisant : les caractéristiques générales de la population étudiée, les résultats du spermogramme, les résultats du bilan hormonal, le protocole de stimulation utilisé et les résultats des cycles ICSI.

---

## METHODES

---

### Stimulation ovarienne:

*Protocoles de stimulation :* Nous avons utilisé trois protocoles de stimulation (agoniste 1long, agoniste court et antagoniste de la GnRH). Le choix du protocole et de la molécule de stimulation était basé sur l'expérience et l'habitude du praticien qui a pris en charge le couple infertile.

*Monitoring de l'ovulation :* Dans notre centre le monitoring de l'ovulation commence au 5<sup>ème</sup> jour de stimulation, par une échographie permettant de déterminer le nombre et la taille des follicules et par un dosage de l'œstradiol (E2) plasmatique. Ces paramètres permettent, au besoin, d'ajuster la dose de gonadotrophine. Le monitoring est poursuivi jusqu'au jour du déclenchement selon un rythme adapté à chaque patiente.

*Déclenchement de l'ovulation :* Il était effectué par la rhCG (hCG recombinante; ovitrelle®) à la dose de 250µg ou par la hCG urinaire à la dose de 10000UI quand on avait obtenu au moins trois follicules matures (diamètre moyen ≥ 17mm) et/ou un taux d'œstradiol minimum de 200pg/ml par follicule mature.

### Procédure de l'ICSI

*Recueil et préparation du sperme:* Un échantillon de sperme a été recueilli le jour de la ponction par masturbation après une abstinence recommandée de 2 à 5 jours. Après 30 minutes de liquéfaction à 37°C, les paramètres spermatisques étaient évalués selon les normes de l'OMS 2010 [13]: le volume, la mobilité totale et progressive, la concentration et la morphologie. En cas d'azoospermie ou d'échec de prélèvement, une biopsie testiculaire synchrone était pratiquée au bloc opératoire.

Les prélèvements de sperme éjaculé et testiculaire ont été traités par la technique de sélection sur gradient de densité à deux couches ou une couche respectivement.

*Recueil et préparation des ovocytes:* Le recueil ovocytaire était effectué sous anesthésie générale, 36h après le déclenchement, par ponction transvaginale écho-guidée à l'aide d'une aiguille 17G (laboratoire CCD). La décolorisation des ovocytes visant à isoler l'ovocyte des cellules folliculaires qui l'entourent a été réalisée par une double action : enzymatique à la hyaluronidase et mécanique par aspiration-refoulement des CCO dans une pipette pasteur.

Seuls les ovocytes ayant émis leur premier globule polaire (en métaphase II) étaient micro-injectés par un spermatozoïde sélectionné en fonction de sa mobilité et de sa morphologie à selon la procédure classique d'ICSI. La culture des ovocytes et des embryons résultants a été effectuée à 37°C sous air enrichi à 6% de CO<sub>2</sub>, dans des boîtes 4 puits contenant des milieux de culture appropriés recouverts d'huile minérale.

*Statut de fécondation et qualité embryonnaire:* A J1(18 heures après l'insémination), la fécondation normale était objectivée sur la présence de deux pronuclei. Le développement et la qualité embryonnaire étaient évalués à J2 et à J3 en prenant en compte les critères morphologiques suivants: le nombre et la régularité des blastomères, le degré de fragmentation. Dans notre laboratoire, les embryons «Top» étaient ceux possédant entre trois et cinq cellules à J2 ou entre six et neuf cellules à J3, des blastomères réguliers avec moins de 20 % de fragments cytoplasmiques.

*Transfert embryonnaire:* Le nombre d'embryons à transférer dépendait de leur qualité, de l'âge et des antécédents de la patiente. Le transfert embryonnaire était effectué le plus souvent sous contrôle échographique par voie abdominale, généralement à J2 ou occasionnellement à J3. Les embryons surnuméraires de bonne qualité étaient congelés au stade de blastocyste par la technique de vitrification, pour un éventuel transfert ultérieur. Après le transfert, la phase lutéale a été soutenue par l'administration par voie vaginale de 400 mg/j de progestérone micronisée (Utrogéstan200®) pendant une durée de 2 semaines. En cas de grossesse évolutive, ce traitement était poursuivi jusqu'à l'issue du 3ème mois de la grossesse.

*Evaluation de la grossesse :* Une grossesse biochimique était affirmée par un taux sérique de βHCG positif (>10 UI/ml) à 15 jours du transfert embryonnaire. Quant à la grossesse clinique, elle correspondait à un taux de βHCG supérieur ou égal à 1000 UI/ml et/ou par la présence à l'échographie d'au moins un sac gestationnel intra-utérin avec activité cardiaque, vers 6 à 7 semaines d'aménorrhée (SA). Dans ce cas, un suivi personnalisé de la grossesse a été conduit jusqu'à l'accouchement.

### Paramètres étudiés

Pour chacune des tentatives, les paramètres suivants ont été notés pour chacune des deux molécules de stimulation:

- Nombre de jour de stimulation
- Dose totale de gonadotrophine
- Epaisseur de l'endomètre le jour du déclenchement
- Taux d'œstradiol le jour du déclenchement
- Nombre d'ovocytes ponctionnés
- Nombre d'ovocytes matures
- Taux de fécondation
- Taux de segmentation
- Taux d'embryon type I
- Nombre d'embryons transférés
- Taux de grossesse clinique (sac gestationnel visible à l'échographie endovaginale).
- Taux d'avortement
- Taux de grossesse multiples
- Taux de naissance vivante
- Taux d'hyperstimulation.

### Analyse statistique :

Les données ont été analysées au moyen du logiciel SPSS version 18.0. La comparaison de deux moyennes sur séries indépendantes a été effectuée au moyen du test *t* de Student, et en cas de faibles effectifs par le test non paramétrique de Mann et Whitney. Quant à la comparaison des pourcentages sur séries indépendantes a été effectuée par le test de chi-deux de Pearson, et en cas de non validité de ce test, par le test exact bilatéral de Fisher. Dans tous les tests statistiques, le seuil de signification (*p*) a été fixé à 0,05.

## RESULTATS

### Caractéristiques générales de la population étudiée :

Les deux groupes étaient comparables en ce qui concerne l'âge des hommes (37,8 ± 5,3 ans (1) vs 37,3 ± 5,04 (2) ; *p* = 0,24), l'âge des femmes (30,5 ± 4 (1) vs 30,7 ± 3,8 (2) ; *p* = 0,61), le type et l'origine de l'infertilité (*p* ≥ 0,68).

Par ailleurs, la durée d'infertilité était globalement plus élevée dans le groupe (1) : 75,01 ± 43,05 (1) (18 mois à 18 ans) vs 65,02 ± 41,09 (2) (1 mois à 26 ans) ; *p* = 0,004. Cette différence concerne une durée de moins de 5 ans qui était plus fréquemment retrouvée dans le groupe (2) (*p* = 0,046) ; les deux groupes étant comparables pour une durée de plus de 5 ans. Le nombre moyen de tentatives était plus élevé dans le premier groupe : (2,5 ± 1,3 (1) vs 2,1 ± 1,3 (2), *p* = 0,005).

Les couples étudiés avaient bénéficié d'une seule tentative d'ICSI dans 35,2% des cas, de deux tentatives dans 34,6% des cas et de trois tentatives ou plus dans le reste des cas (30,1%).

La comparaison des deux groupes avait montré que les couples pris en charge pour une première tentative

étaient plus fréquemment stimulés par la rFSH (*p* = 0,004) ; en revanche les couples ayant bénéficié de trois tentatives ou plus étaient plus fréquemment stimulés par HP-HMG (*p* = 0,004). Le tableau 1 résume les caractéristiques générales de la population étudiée en tenant compte de la molécule de stimulation.

**Tableau 1 :** Caractéristiques générales de la population étudiée en tenant compte de la molécule de stimulation (n=1005)

	GRUPE (1) N= 125	GRUPE(2) N= 880	p
Age hommes	37,8 ±5,3	37,3 ±5	0,24
Age femmes	30,5 ±4	30,7 ±3,8	0,61
Durée d'infertilité	75,01 ±43,05	65,02 ±41,09	0,004
Type d'infertilité			0,86
Primaire	114 (91,2)	808(91,8)	
Secondaire	11 (8,8)	72 (8,2)	
Origine de l'infertilité			0,68
Masculine pure	90 (72)	652 (74,1)	
Mixte	28 (22,4)	193 (21,9)	
Inexpliquée	7 (5,6)	35 (4)	
Nombre de tentatives			0,004
1	29 (23,2)	325 (36,9)	
2	45 (36)	303 (34,4)	
≥3	51 (40,8)	252 (28,6)	

### Caractéristiques biologiques de la population étudiée :

Les deux groupes étaient globalement comparables en ce qui concerne les caractéristiques biologiques initiales. En effet, aucune différence n'a été notée en ce qui concerne le taux moyen de FSH (bilan féminin) : 7,75 ± 2,53 UI/L (1) vs 7,48 ± 5,11 UI/L (*p* = 0,57), le taux moyen d'œstradiol : 63,40 (1) vs 75,93 (2) (*p* = 0,081), le taux moyen de FSH (bilan masculin) : 8,89 UI/L (1) vs 10,54 UI/L (*p* = 0,77), le taux moyen de testostéronémie (bilan masculin) : 8,18 UI/L (1) vs 6,81 U/L (2) (*p* = 0,47) ainsi que les paramètres spermatiques. En effet, aucune différence n'a été observée en ce qui concerne l'origine du sperme (éjaculé ou testiculaire, *p* = 0,51), le volume moyen (population globale (*p* = 0,51) et divisée en deux groupes : < 1,5ml et ≥ 1,5ml (0,56)), la numération moyenne (population globale (*p* = 0,96) et divisée en deux groupes : < 15 millions/ml et ≥ 15 millions/ml, *p* = 86), la mobilité (a+b) moyenne (population globale et divisée en deux groupes : < 32% et ≥ 32%, *p* = 0,17) et le taux de formes normales (population globale et divisée en deux groupes : < 4% et ≥ 4%, *p* = 0,64). Seul le taux de LH du bilan biologique initial avait montré une différence significative entre les deux groupes, *p* = 0,013 (tableau 2).

### Caractéristiques des cycles ICSI en tenant compte de la molécule de stimulation :

Trois protocoles de stimulation ont été utilisés dans notre population. Le protocole agoniste long (56,8%) était plus

fréquemment adopté dans le groupe 2 : 41% (1) vs 59% (2) ( $p < 1^{0-3}$ ), le protocole agoniste court (31,5%) plus fréquemment adopté dans le groupe 1 : 58% (1) vs 27,7% (2) ( $p < 1^{0-3}$ ) et le protocole antagoniste (11,8%) plus fréquemment adopté dans le groupe 2 : 0,8% (1) vs 13,3% ( $p < 1^{0-3}$ ). Par ailleurs les deux groupes étaient comparables en ce qui concerne le nombre d'ampoules de gonadotrophines consommées ( $p = 0,78$ ), le nombre de jours de stimulation ( $p = 0,33$ ), l'épaisseur de l'endomètre le jour du déclenchement ( $p = 0,07$ ) et le taux d'œstradiol le jour du déclenchement ( $p = 0,99$ ). La comparaison des deux groupes en fonction du taux d'œstradiolémie subdivisée en 4 groupes n'avait également pas montré de différence significative. Le tableau 3 résume les caractéristiques des cycles d'ICSI en tenant compte de la molécule de stimulation.

**Tableau 2 :** Caractéristiques générales de la population étudiée en tenant compte de la molécule de stimulation (n=1005)

	GROUPE (1) Moyenne ± écart type (125)	GROUPE (2) Moyenne ± écart type (880)	P
FSH femmes (UI/ml)	7,75 ± 2,53	7,48 ± 5,11	0,57
LH femmes (mUI/ml)	4,35	4,7	0,013
Oestradiol initial (pg/ml)	60,4	75,9	0,081
FSH hommes (UI/ml)	8,89	10,54	0,77
Testostéronémie (UI/ml)	8,18	6,81	0,47
<b>Caractéristiques spermatiques</b>			
<b>Origine du sperme</b>			
Ejaculé	106 (84,8)	775 (88,1)	0,51
Testiculaire	19 (15,2)	105 (11,9)	
<b>Nombre (M/ml)</b>			
Global	32,46	32,26	>0,85
<15	50,4%	51,3%	
≥15	49,6%	48,7%	
<b>Volume (ml)</b>			
Global	2,89 ± 1,42	2,98 ± 1,51	>0,50
<1,5	8,8%	10,5%	
≥1,5	91,2%	89,5%	
<b>Mobilité (a+b)</b>			
Global	14,74	12,85	0,17
<32%	78	86	
≥32%	22	14	
<b>Formes normales</b>			
Global	80,67 ± 17,68	81,50 ± 17,03	0,64
<4%	2%	3%	
≥4%	98%	97%	

### Résultats des cycles d'ICSI en tenant compte de la molécule de stimulation :

Les taux moyen de grossesse clinique, de grossesse évolutive et de naissance vivante étaient de 20,6%, 15,7% et 9,7% ; respectivement. La comparaison des deux groupes n'avait pas montré de différence significative. En effet, le taux de grossesse clinique était de 19,2% (1) vs 20,7% (2),  $p=0,7$  ; le taux de grossesse évolutive était de 15,2% (1) vs 15,8% (2),  $p=0,86$  ; le taux d'accouchement était de 8,8% (1) vs 9,8% (2),  $p=0,73$  et celui de naissance vivante était de 8% (1) vs 9,9% (2),  $p=0,49$ . Le nombre moyen d'ovocyte recueilli était plus élevé dans le groupe 2 : 7,94±2,49 (5 à 19) (1) vs 9,05 ± 3,40 (3 à 28) (2),  $p=0,0001$ . Il en est de même pour le nombre d'ovocyte en métaphase II : 6,03±2,68 (1 à 19) (1) vs 6,65±3,05 (0 à 19) (2),  $p=0,02$ . Par ailleurs, aucune différence n'a été constatée en ce qui concerne le taux de maturation ( $p=0,34$ ), le taux de fécondation ( $p=0,057$ ), nombre de zygotes à deux pronuclei (3,88±2,38 (1) vs 3,95±2,62 (2) ( $p=0,86$ )), le taux de segmentation ( $p=0,48$ ), le nombre d'embryons obtenus (3,62± 2,25 (0 à 15) (1) vs 3,73± 2,59 (0 à 15) (2),  $p=0,79$ ), le nombre d'embryons type I (2,13±1,93 (1) vs 2,22±1,88 (2) ;  $p=0,55$ ), le taux d'embryons « TOP quality » ( $p=0,23$ ), ainsi que le nombre d'embryons transférés ( $p=0,72$ ) et le taux d'implantation ( $p=0,33$ ).

On n'avait noté aucun cas d'annulation pour hyperstimulation ovarienne. Le taux moyen de fausse couche spontanée était de 5,9%, il était de 6,4% dans le groupe (1) et de 5,8 % dans le groupe (2) avec une différence non significative ;  $p=0,78$ . Six cas de grossesses multiples ont été notés dans le groupe rFSH soit un taux de 0.7%. Aucun cas n'a été retrouvé dans le groupe HP-HMG. Le tableau 4 résume les résultats des cycles d'ICSI en tenant compte de la molécule de stimulation utilisée.

En analyse multivariée, seuls deux paramètres avaient influencé le nombre d'ovocytes ponctionnés : il s'agissait de la durée d'infertilité et de la molécule de stimulation utilisée. En effet, on avait plus de chance de recueillir des ovocytes lorsque la durée d'infertilité était courte et quand on avait stimulé moyennant la rFSH ( $p=0,009$ ). En revanche, il n'y avait aucune influence de la molécule de stimulation sur la maturation ovocytaire ( $p=0,742$ ) (tableau 5). Le seul paramètre influençant le nombre d'ovocyte mature était le nombre d'ovocytes recueillis. Plus ce dernier était important plus les chances d'avoir des ovocytes matures étaient élevées, ( $p < 0,001$ ) (tableau 6).

**Tableau 3** : Caractéristiques des cycles ICSI en tenant compte de la molécule de stimulation

	Groupe (1) (n=125) N(%)	Groupe (2) (n=880) N(%)	p
<b>Protocole de stimulation</b>			
Agoniste long	51 (41,1)	519 (59)	0,001
Agoniste court	72 (58,1)	244 (27,7)	0,001
Antagoniste	1 (0,8)	117 (13,3)	0,001
<b>Nombre d'ampoules</b>	21,19 ± 6,43	21,36±6,38	0,78
<b>Nombre de jour</b>	8,59 ± 1,51	8,74 ± 1,6	0,33
<b>Epaisseur de l'endomètre le jour du déclenchement</b>	9,7 ± 2,8	10,13 ± 2,4	0,07
<b>Moyenne</b>	2801,7 ± 1137,9	2803,2 ± 1387,3	
<b>Œstradiol le jour du déclenchement</b>			
<1500	7,25%	17,08%	0,99
1500-2000	17,74%	15,6%	
2000-2400	23,38%	11,69%	
>2400	51,6%	55,6%	

**Tableau 4** : Résultats des cycles d'ICSI en tenant compte de la molécule de stimulation.

	Groupe (1) (125)	Groupe(2) (880)	p
<b>Nombre d'ovocytes ponctionnés</b>	7,94 ± 2,49	9,05 ± 3,40	0,0001
<b>Nombre d'ovocytes en métaphase II</b>	6,03 ± 2,68	6,65 ± 3,05	0,02
<b>Taux de maturation</b>	0,76 ± 0,20	0,73 ± 0,21	0,34
<b>Taux de fécondation</b>	0,64 ± 0,26	0,59 ± 0,29	0,057
<b>Taux de segmentation</b>	0,95 ± 0,16	0,95 ± 0,17	0,48
<b>Taux d'embryon type I</b>	0,57 ± 0,33	0,62 ± 0,32	0,23
<b>Nombre d'embryons transférés</b>	3,62 ± 2,25	3,73 ± 2,5	0,79
<b>taux d'implantation</b>	0,03 ± 0,10	0,05 ± 0,16	0,33
<b>Taux de grossesse clinique</b>	24 (19,2%)	182 (20,7%)	0,70
<b>Naissance vivante</b>	10 (8)	87 (9,9)	0,49
<b>Taux de fausses couches</b>	6,4%	5,8%	0,78
<b>Grossesses multiples</b>	0	0,7%	-

**Tableau 5** : variables influençant le nombre d'ovocytes ponctionnés

variables	p
Durée d'infertilité	0,009
Nombre de tentatives	0,97
Protocole de stimulation	0,12
Molécule utilisée	0,009
Taux de LH initiale	0,46

**Tableau 6** : variables influençant le nombre d'ovocytes matures

variables	p
Durée d'infertilité	0,99
Nombre de tentatives	0,16
Protocole de stimulation	0,94
Molécule utilisée	0,74
Taux de LH initiale	0,35
Nombre d'ovocytes ponctionnés	0,001

## DISCUSSION

La très grande majorité des cycles de fécondation in vitro est associée à une stimulation de l'ovulation dont l'objectif est d'obtenir un nombre élevé d'ovocytes donc d'embryons et ainsi d'augmenter les chances de grossesse par rapport à un cycle spontané. La naissance vivante est le principal objectif des couples infertiles menant une FIV et le principal critère de succès de cette technique [14]. Les inducteurs de l'ovulation utilisés ont beaucoup évolué, passant du citrate de clomifène aux gonadotrophines, d'abord associées à celui-ci, puis utilisées seules. Différentes préparations de gonadotrophines sont utilisées. Celles-ci sont soit extraites de l'urine humaine (urines de femmes ménopausées) et hautement purifiées (HP-hMG), soit produites par génie génétique (FSH recombinante (rFSH)). Ces deux types de gonadotrophines diffèrent essentiellement par le fait que les premières, contrairement à la seconde, combinent à leur activité folliculo-stimulante, une activité lutéinisante grâce à la LH issue de l'hCG contenue dans les urines, et capable d'entretenir l'activité LH sur une longue période.

La comparaison de ces deux molécules (HP-hMG vs rFSH), en termes d'efficacité chez les femmes infertiles conduisant une stimulation ovarienne, a été rapportée dans plusieurs études [15]. Certaines ont mené une stimulation ovarienne sans blocage hypothalamo-hypophysaire [16], d'autres des cycles FIV/ICSI avec un blocage hypophysaire par agoniste court [7], agoniste long [6,17] et par antagonistes de la GnRH [10]. La majorité de ces études ont montré une supériorité ou, au moins, une non infériorité de l'HP-hMG par comparaison à la rFSH, en termes de grossesse clinique et de naissance vivante par cycle stimulé. Cependant, un bon nombre d'auteurs, ont eu ces conclusions en cycle FIV et non en ICSI [18,19]. Bosch et al en 2008 ont montré, à travers une étude prospective randomisée incluant des cycles FIV et ICSI, des résultats en faveur de l'HP-hMG par comparaison à la rFSH et ceci tous cycles confondus [15]. La comparaison en fonction du cycle FIV ou ICSI n'était pas faite de part le faible effectif des cycles FIV.

Nous avons mené une étude rétrospective comparative ayant inclus un échantillon exhaustif. A fin d'éviter le facteur confondant relatif à la technique de PMA utilisé, nous n'avons inclus que les couples ayant bénéficié d'une

ICSI. Une seule tentative a été incluse, pour les couples ayant bénéficié d'au moins deux tentatives nous n'avons considéré que la dernière tentative.

Mis à part une durée d'infertilité et un nombre de tentative d'ICSI plus élevés dans le groupe HP-HMG, les caractéristiques générales et biologiques des couples inclus dans les deux groupes étaient comparables, ce qui permet d'exclure un biais de sélection. D'un autre côté, à fin d'éviter des mauvaises réponses indépendantes de la molécule de stimulation et propres à la patientes, nous n'avons inclus dans notre étude que les femmes âgées de moins de 38 ans jugées normo-répondeuses.

Dans notre étude les taux de grossesses cliniques 19,2% (HP-HMG) vs 20,7% (rFSH),  $p=0,7$  ; de grossesse évolutive 15,2% (HP-HMG) vs 15,8% (rFSH),  $p=0,86$  et de naissance vivante 8% (HP-HMG) vs 9,9% (rFSH),  $p=0,49$  étaient comparables. Cette absence de différence relative à l'efficacité de ces deux molécules de stimulation nous met en accord avec plusieurs autres études. En effet, l'étude EISG avait randomisé 727 patientes ayant bénéficié de cycles FIV, avec ou sans ICSI. Elle a été réalisée chez 693 patientes, 357 avaient reçu de l'HP-HMG et 336 de la rFSH. Le taux de grossesses global (FIV et ICSI) par cycle, était de 25% dans le groupe HP-HMG et 22% dans le groupe rFSH (NS), le taux de grossesses évolutives était de 23,3% vs 20,6% (OR : 1,17 [0,82-1,66 ; IC 95%]) et le taux de naissance vivante était également comparable entre les deux groupes : 20,3% vs 17,4% (OR : 1,17 [0,87 – 1,56 ; 95% IC]) [20]. Hompes et al ont également randomisé 629 patientes infertiles et ayant mené des cycles FIV/ICSI, un seul cycle par patiente a été considéré. Toutes les patientes ont subi une désensibilisation par un agoniste de la GnRH en protocole long et la stimulation ovarienne était faite par HP-HMG (150 UI, dose fixe) dans 312 cas et par rFSH (150 UI, dose fixe) dans 317 cas. Aucune différence n'a été retrouvée concernant le taux de grossesses cliniques en cycle frais, tous cycles confondus (26,3% HP-HMG vs 25,2% rFSH, NS) et en considérant la technique de PMA utilisée (FIV ou ICSI) [8].

D'autres auteurs ont démontré que le taux de grossesses cliniques était significativement corrélé avec le taux d'activité LH mesurée à J6 en FIV, alors que cette corrélation n'était pas retrouvée en ICSI [20]. Pour enrichir ces données et comprendre l'influence de l'activité LH, l'étude MERIT (Menotropin versus Recombinant FSH in vitro fertilization Trial) a recruté 821 patientes âgées de 21 à 37 ans. Les patientes présentant un syndrome des ovaires poly kystiques, une endométriose de stade III ou IV, plus de 3 tentatives de FIV infructueuses ont été exclues. Après analyse des critères d'exclusion, 731 patientes étaient randomisées. Les deux groupes de patientes étaient homogènes, en particulier sur les critères d'âge, de durée et de cause d'infertilité ; 363 patientes ont reçu de la ménotropine alors que 368 patientes ont reçu de la rFSH. Le taux de

grossesse clinique par cycle était de 28% dans le groupe ménotropine et 24% dans le groupe rFSH soit 4% de grossesses supplémentaires dans le groupe HMG sans que la différence ne soit statistiquement significative. Il en est de même concernant les taux de grossesses évolutives (27% vs 22%) et de naissances vivantes (26% vs 22%) [6]. Cette absence de différence était également retrouvée dans l'étude prospective randomisée de Bosch et al ayant inclus 280 patientes bénéficiant de cycles FIV/ICSI en protocole antagoniste [15].

Des résultats en faveur de l'HP-HMG ont été retrouvés dans la méta-analyse de Al-Inany et al incluant 12 études prospectives randomisées et regroupant plus de trois milles participantes. Le taux de grossesses cliniques était plus élevé dans le groupe HP-HMG avec un Odds Ratio (OR) de 1,22 (1,03 – 1,43 ; IC 95%) [10]. Par ailleurs il a été considéré les résultats d'efficacité de l'ensemble des patientes FIV de l'étude EISG et de l'étude MERIT représentant au total 986 ponctions, 491 dans le groupe ménotropine et 495 dans le groupe rFSH. Cette analyse, prévue au moment où le protocole de l'étude MERIT a été établi, a porté sur des groupes homogènes de patientes, ayant satisfaits aux mêmes critères d'inclusion, et traitées selon le même protocole. Les taux de grossesses évolutives par cycle dans ces deux groupes étaient de 27% et de 21% respectivement ( $p<0,05$ ), donc en faveur de la stimulation par ménotropine en FIV [14]. De plus, Afnan et al, dans leur métaanalyse présentée au congrès ESHRE 2007, ont également conclu à une augmentation statistiquement significative de 18% (RR : 1,18. 95% IC : 1,02 à 1,38 ;  $p=0,03$ ) du taux de naissances vivantes et de 17% (RR 1,17; 95 % IC : 1,03- 1,34) ( $p = 0,02$ ) du taux de grossesses cliniques après stimulation ovarienne par HP-HMG en comparaison avec rFSH [21].

Les études comparant les HP-HMG et les rFSH se sont intéressées au nombre d'ovocytes et aux taux de grossesse mais peu à la qualité embryonnaire alors que celle-ci est connue pour être un bon élément prédictif du taux d'implantation et de grossesse. Une meilleure compréhension de l'influence des gonadotrophines utilisées sur la qualité des embryons est indispensable pour le choix des traitements.

Dans notre étude, malgré un nombre d'ovocytes ponctionnés et d'ovocytes matures plus élevés dans le groupe rFSH ( $p < 0,02$ ), aucune différence n'a été trouvée entre les deux groupes en ce qui concerne le taux de maturation ( $p=0,34$ ), le taux de fécondation ( $p=0,057$ ), le nombre d'embryons obtenus, le taux de segmentation ( $p=0,48$ ), le taux d'embryons type I ( $p=0,23$ ), le nombre d'embryons transférés ( $p=0,79$ ) et le taux d'implantation ( $p=0,33$ ).

Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, Hompes et al [8] dans leur étude publiée en 2008, n'ont trouvé aucune différence entre les paramètres susmentionnés et ce malgré un nombre d'ovocytes ponctionnés et d'ovocytes fécondés plus

élevés dans le groupe rFSH. Marco Melo et al en 2010 ont mené une étude prospective randomisée ayant inclus 1029 femmes donneuses d'ovocytes. Toutes les participantes ont remplis les critères d'inclusion suivants : âge de 18 à 34 ans, aucun antécédent pathologique personnel ou familial, cycles réguliers, BMI entre 18 et 29 et absence d'infections sexuellement transmises. La désensibilisation hypophysaire a été faite selon le protocole agoniste long J21 et trois groupes ont été évalués en fonction de la molécule de stimulation : rFSH, HP-HMG et rFSH + HP-HMG. Aucune différence n'a été obtenue en ce qui concerne le nombre d'ovocytes recueillis, le taux de fécondation, le taux de segmentation, le nombre total d'embryons obtenus, le taux d'embryons type I et le taux d'implantation [22].

L'hypothèse d'une influence de l'HCG sur le complexe cumulo-ovocytaire a été faite devant l'amélioration, après stimulation par ménotropine, des taux de grossesse en FIV non retrouvé en ICSI. L'étude de l'EISG a également montré que les taux de grossesse étaient statistiquement corrélés avec le taux plasmatique d'activité LH à j 6, ce qui suggère une influence favorable de l'activité LH sur l'environnement folliculaire [20]. L'étude MERIT a abouti aux mêmes conclusions et suggère que l'activité LH provenant de l'HCG favorise l'obtention d'embryon de qualité optimale, et les rend plus aptes à s'implanter [6]. Dans notre étude l'absence de monitoring biologique des cycles ICSI par le dosage de LH nous a empêché de mesurer objectivement l'apport de l'activité LH apportée par l'HP-HMG.

Des études scientifiques présentées à l'ESHRE 2007, ont cherché à analyser les mécanismes de l'activité LH induite par l'HCG dans les HP-HMG sur le développement de l'ovocyte et sur la qualité de l'embryon et leurs corrélations potentielles avec les résultats cliniques de la FIV [21].

La production de cytokines liée à l'activité LH semble un des éléments importants de la régulation locale de la fonction ovarienne, ainsi que des capacités d'implantation de l'embryon et de maintien de la grossesse.

Dans un modèle de folliculogénèse in vitro, une étude [23] a comparé les profils d'expression de cytokines par des follicules pré-antraux de souris en culture, traités par rFSH ou ménotropine (HP-HMG), avant et après administration d'une dose ovulatoire d'HCG. Ils ont relevé entre les deux traitements des expressions différentes de plusieurs cytokines et protéines apparentées. Les auteurs soulignent que les protéines identifiées ont toutes auparavant été impliquées dans des problèmes de fertilité et de grossesse : TIMP-1 et MCSF, notamment, diminués chez des femmes souffrant d'infertilité et d'avortement récurrents inexplicables [24] et GCSF et MPC-1 impliqués dans le développement et la maturation de l'ovocyte [25]. Une différence dans l'expression des gènes dans les cellules du cumulus des ovocytes recueillis après stimulation par HP-HMG a été

démontrée [26]. La cinétique du développement embryonnaire paraît également influencée par le type de gonadotrophines utilisées. En effet, une équipe danoise a comparé trois groupes de patientes : 103 patientes étaient traitées par rFSH, 96 patientes par HP-HMG et 111 patientes par l'association de rFSH et HP-HMG. Les auteurs ont conclu que malgré un taux d'embryons TOPS plus élevé dans le groupe de rFSH, la différence n'était pas statistiquement significative [27]. Ces résultats étaient similaires à ceux de Meseguer et al publié en 2011 [28]. L'analyse des taux d'oestrodol (E2) au cours de la stimulation par HP-HMG et leur comparaison à ceux d'une stimulation par rFSH permet de mieux comprendre l'influence de LH sur le développement folliculaire, l'environnement ovocytaire et par conséquent le développement embryonnaire.

L'étude MERIT a soumis les patientes à plusieurs dosages plasmatiques au cours de la stimulation. Elle a remarqué que malgré un nombre plus faible de follicule en croissance à J6 (avec un E2 plus faible à J6), et un nombre plus faible de follicules matures le jour de déclenchement dans le groupe HP-HMG, le taux d'E2 au moment du déclenchement et le jour de la ponction était plus élevé sous HP-HMG [6]. Ceci est cohérent avec un pool d'androgènes plus important dès la phase folliculaire précoce et qui constitue une charge androgénique. Celle-ci n'est pas métabolisée en E2, et génère une atresie folliculaire (sélection de follicules) par activation de l'expression des gènes sensibles aux récepteurs des androgènes. Cette charge androgénique plus élevée est ensuite capable d'être restituée sous forme d'E2 en phase folliculaire tardive sous l'action de l'aromatase qui est activée par le récepteur des androgènes par l'intermédiaire de l'IGF-1. La présence d'HCG en phase folliculaire tardive permettrait d'activer cette voie, préférentiellement à celle d'un tonus paracrine des cellules de la granulosa qui ferait produire de la progestérone par les cellules de la thèque.

L'influence du taux d'E2 sur la qualité embryonnaire a été établie par Munoz et al qui ont trouvé une association significative entre le taux d'E2 et la cinétique de développement embryonnaire qui touche tout les stades et surtout le stade blastocyste. En effet, on a observé que les embryons provenant des cycles où l'E2 est supérieur à 2000 pg/ml avaient la meilleure dynamique de développement ce qui laisse supposer que l'E2 influence les paramètres morphologiques de la cinétique embryonnaire de façon à augmenter les chances d'implantation utérine ultérieurement [27]. Les résultats de cette étude coïncident avec d'autres plus anciens [29,30]. Marco Melo et al n'ont pas trouvé de différence en ce qui concerne les taux d'E2 et de progestérone le jour du déclenchement que la femme ait été stimulée par rFSH, HP-HMG ou rFSH + HP-HMG [22]. Le taux d'E2 le jour du déclenchement était également comparable dans la méta-analyse d'Al-Inany et al publiée en 2008 [10].

Bosch et al ont trouvé plus d'E2 et moins de progestérone en faveur de l'HP-HMG [15]. Les mêmes résultats ont été retrouvés par Smitz et al [31]. Une élévation non significative du taux d'E2 en faveur de la rFSH était retrouvée dans l'étude de Requena et al [32]. Ces derniers n'ont pas montré de différence en ce qui concerne le profil endocrinien du liquide folliculaire, aussi bien à J6 de stimulation qu'au jour du déclenchement de l'ovulation, que les patientes soient stimulées par rFSH + rLH ou par rFSH + HP-HMG. En revanche, Sebag Pyrelevede et al, dans leur étude comparant l'HP-HMG à la rFSH + rLH (la rLH étant ajoutée au 6ème jour de stimulation), ont montré un taux d'E2 comparable le jour du déclenchement par l'hCG mais un plus faible taux de progestérone en faveur de la HP-HMG ce qui pourrait expliquer une meilleure qualité endométriale dans ce groupe [33].

Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différence significative en ce qui concerne l'oestradiolémie le jour du déclenchement entre les deux groupes. Par ailleurs, le pourcentage de femmes ayant une oestradiolémie supérieure à 2000 pg/ml est largement plus élevé dans le groupe HP-HMG. Dans notre unité de médecine de la reproduction, le dosage de la progestérone n'est pas encore inclus dans le protocole de monitoring des cycles ICSI. Ceci constitue l'une des insuffisances de notre étude du fait de son caractère rétrospectif. De plus, l'absence de dosage de LH et de la progestérone pourrait expliquer les résultats médiocres en termes de grossesses cliniques et de naissances vivantes. En effet il a été bien montré qu'un taux de progestérone supérieur à 1,5ng/ml le jour du déclenchement altère les résultats en FIV et impose de congeler les embryons obtenus et faire un transfert différé en cycle naturel [34-35].

L'influence de la molécule de stimulation sur l'épaisseur de l'endomètre (EE) et sa valeur prédictive sur les résultats de FIV/ICSI a fait l'objet de plusieurs études. Les premières études qui se sont intéressées à l'EE mesurée, soit le jour du déclenchement de l'ovulation, soit celui du transfert embryonnaire, se sont montrées très enthousiastes sur la valeur prédictive de ce critère ; la majorité des auteurs s'accordent sur le fait qu'une EE de moins de 7 mm s'accompagne de très faible chance de grossesse [36]. D'un autre côté, l'effet potentiellement délétère d'un endomètre trop épais >14 mm reste sujet à controverse et les études qui tentent de s'affranchir des facteurs confondants ne permettent pas de trancher [37,38]. Dans notre étude l'EE le jour du déclenchement était en moyenne de  $10,08 \pm 2,49$  mm. Elle était comparable dans les deux groupes :  $9,7 \pm 2,8$  mm (HP-HMG) et  $10,13 \pm 2,4$  (rFSH) avec une différence non significative, ( $p=0,07$ ). L'EE était de  $9,3 \pm 0,4$  mm (rFSH),  $8,1 \pm 1,9$  mm (HP-HMG) et  $8,5 \pm 1,1$  mm dans l'étude prospective randomisée de Marco Melo et al [22], la différence étant non significative. Elle était de  $9,6 \pm 2,1$  mm (HP-HMG) vs  $9,1 \pm 2,1$  mm (rFSH) dans l'étude prospective

de Peter Platteau et al [39]. Nous nous trouvons également en accord avec les résultats de l'étude MERIT. Cette dernière, en plus de l'EE, s'est intéressée à l'étude de son échogénicité, et a trouvé une élévation significative de taux d'endomètre hyper échogène dans le groupe de rFSH [6]. Cette hyper échogénicité, souvent due à une exposition de l'endomètre à la progestérone durant la phase folliculaire [40] est associée à de faibles résultats en FIV touchant essentiellement le taux de grossesse et d'implantation [41]. Nous n'avons pas étudié l'aspect de l'endomètre vu que ce critère n'était pas noté dans tous les dossiers exploités.

Nous n'avons pas marqué de différence significative entre les deux groupes concernant les effets secondaires de la molécule de stimulation. En effet, nous n'avons noté aucun cas de syndrome d'hyperstimulation ovarienne (OHSS) sévère. Le taux de fausses couches spontanées était de 6,4% (HP-HMG) vs 5,8% (rFSH), ( $p=0,7$ ) et le taux de grossesses multiples était de 0% (HP-HMG) vs 0,7% (rFSH). Nous nous trouvons en accord avec la majorité des données de la littérature. En effet, l'étude MERIT [6] a rapporté 23 cas d'OHSS: 13 patientes (4%) dans le groupe de HP-HMG et 10 (3%) dans le groupe de rFSH avec une différence non significative. Le taux de fausses couches précoces était également comparable (26% (HP-HMG) vs 32% (rFSH),  $p=0,29$ ), ce qui témoigne que ces incidents ne sont pas attribués à l'exposition exogène de LH. Ces résultats concordent avec des études plus anciennes telles que l'ESIG [20] et d'autres plus récentes telles que la méta-analyse de Al-Inany et al [10] et le travail prospectif randomisé de Marco Melo et al [22] qui n'a révélé aucun cas d'OHSS sévère. Les mêmes données étaient retrouvées par Bosch et al [15]. Le travail prospectif de Peter Platteau et al [14] regroupant l'étude EISG et l'étude MERIT n'a également révélé aucune différence statistique en ce qui concerne le taux d'OHSS, de fausses couches spontanées de grossesses multiples ou de grossesses extra-utérines. Il en est de même pour la revue publiée dans la Cochrane Database [42] qui n'a pas rapporté de différence statistiquement significative dans la survenue d'OHSS dans les 32 études incluses qui comparaient la FSH recombinante avec les gonadotrophines urinaires (32 études,  $N=7740$ ; OR :1,18, 95% CI 0,86–1,61). C'est-à-dire pour un risque de 2% dans le groupe gonadotrophines urinaires on aura un risque de survenue d'OHSS variant de 1,7% à 3,2% dans le groupe rFSH. Parmi ces 32 études 11 ont comparé la rFSH avec HMG ou HP-HMG et les résultats étaient similaires (11 études,  $N=1490$ , OR 1,79, 95% CI 0,7 à 1,75).

Les résultats étaient également comparables en ce qui concerne le taux de fausses couches spontanées (30 études,  $N=6663$  ; OR :1,16, 95% CI 0,95–1,74) et le taux de grossesses multiples (25 études,  $N=6329$ , OR : 0,91, 95% CI 0,76-1,09).

Dans notre étude nous ne sommes pas intéressés au coût

d'un cycle de stimulation. Cependant, nous n'avons pas noté de différence significative en ce qui concerne la dose totale de gonadotrophines par cycles (en ampoules) ( $21,19 \pm 6,43$  (HP-HMG) vs  $21,36 \pm 6,38$  (rFSH),  $p=0,78$ ) ni la durée de stimulation (en jours) ( $8,59 \pm 1,51$  (HP-HMG) vs  $8,74 \pm 1,6$  (rFSH),  $p=0,33$ ). Nos résultats sont comparables à ceux de Marco Melo et al [22]. Cependant la majorité des auteurs ont retrouvé des résultats contraires et ont montré un avantage économique en faveur de l'HP-HMG, de part une réduction significative de la dose et/ou de la durée totale de stimulation [5,7,10,43]. Cette économie a été estimée par Mark Connolly à 468 Euros par cycle et à 3013 Euros par naissance vivante en faveur de l'HP-HMG [44]. Mouzon et al en 2004 ont estimé que rapporté à une année budgétaire et selon les données de la fécondation in vitro en France, le surcoût potentiel pour le système de santé de la r-FSH par rapport à la FSH urinaire hautement purifiée serait d'environ 24 millions d'euros pour les seuls cycles ( $128,4$  vs  $104$  millions d'euros) [45]. Ces données témoignent que l'activité LH supplémentaire améliore celle de la FSH dans l'induction de l'ovulation [46], en agissant directement sur le développement et la

maturation des follicules et débutant au milieu de la phase folliculaire [47]. Cette activité est assurée dans 95% des cas par l'HCG provenant des HP-HMG [46].

L'HCG se caractérise par une meilleure stabilité au niveau des récepteurs de LH par comparaison à cette dernière en raison d'une demi-vie plasmatique plus prolongée. De plus, on a démontré que l'HCG est impliquée dans l'angiogenèse nécessaire à l'implantation embryonnaire [48].

## CONCLUSION

En comparant les résultats d'ICSI chez des femmes normo répondeuses ayant une infertilité d'origine masculine ou inexpliquée, on déduit que, certes, la stimulation ovarienne par la FSH recombinante permet d'avoir un nombre d'ovocytes recueilli et d'ovocytes matures plus élevé, mais, il n'y a pas de différences statistiquement significatives avec les gonadotrophines urinaires dans les autres paramètres embryonnaires, ainsi que le taux de grossesse clinique, évolutive et le taux de naissance vivantes.

## Références

- Rossin B, Pouly JL, Belaisch-Allart J, de Mouzon J. Ovarian stimulation for IVF in France: Choice and results according to protocols and gonadotrophin. *Gynecol Obstet Fertil*. 2009; 37:864-72.
- Kolibianakis EM, Albano C, Kahn J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC et al. Exposure to high levels of luteinizing hormone and estradiol in the early follicular phase of gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles is associated with a reduced chance of pregnancy. *Fertil Steril*. 2003;79:873-80.
- Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Hum Reprod*. 1999;14:2207-15.
- Agrawal R, Holmes J, Jacobs HS. Follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2000;73:338-43.
- Kilani Z, Dakkak A, Ghunaim S, Cognigni GE, Tabarelli C, Parmegiani L et al. A prospective randomized controlled trial comparing highly purified HMG with recombinant FSH in women undergoing ICSI: ovarian response and clinical outcome. *Hum Reprod*. 2003;18:1194-9.
- Andersen AN, Devroey P, Arce JC. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Hum Reprod* 2006;21:3217-27.
- Strehler E, Abt M, El-Danasouri I, De Santo M, Sterzik K. Impact of recombinant follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropins on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2001; 75:332-6.
- Hompes PG, Broekmans FJ, Hoozemans DA, Schats R, FIRM group. Effectiveness of highly purified human menopausal gonadotropin vs. recombinant follicle-stimulating hormone in first-cycle in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil Steril* 2008;89:1685-93.
- Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. HMG versus rFSH for ovulation induction in developing countries: a costeffectiveness analysis based on the results of a recent meta-analysis. *RBM Online* 2006;12:163-9.
- Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Efficacy and safety of human menopausal gonadotrophins versus recombinant FSH: a meta-analysis. *RBM Online* 2008;16:81-8.
- Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Highly purified hMG achieves better pregnancy rates in IVF cycles but not ICSI cycles compared with recombinant FSH: a meta-analysis. *Gynecol Endocrinol* 2009; 25:372-8.
- Sykes D, Out HJ, Palmer SJ, Vanloon J. the cost effectiveness of IVF in the UK: a comparison of three gonadotropin treatment. *Hum Reprod*. 2001; 16:2557-62.
- World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edn. Geneva: World Health Organization; 2010.
- Platteau P, Nyboe Andersen A, Loft A, Smitz J, Danglas P, Devroey P. Highly purified HMG versus recombinant FSH for ovarian stimulation in IVF cycles. *RBM Online* 2008;17:190-8.
- Bosch E, Vidal C, Labarta E, Remohi J, Pellicer A. Highly purified HMG versus recombinant FSH in ovarian hyperstimulation with GnRH antagonist - a randomized study. *Hum Reprod* 2008; 23:2346-51.
- Jansen CA, van Os HC, Out HJ, Coelingh Bennink HJ. A prospective randomized clinical trial comparing recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) and human menopausal gonadotrophins (Humegon) in nondown-regulated in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod* 1998; 13:2995-9.
- Ng EH, Lau EY, Yeung WS, Ho PC. HMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001; 16:319-25.
- Westergaard LG, Erb K, Laursen SB, Rex S, Rasmussen PE. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in normogonadotropic women down-regulated with a gonadotropin releasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 2001;76:543-9.
- Platteau P, Smitz J, Albano C, Sorenzen P, Arce JC, Devroey P. Exogenous luteinizing hormone activity may influence the treatment outcome in in vitro fertilization but not in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril*

- 2004 ; 81:1401-4.
- 20- European and Israeli Study Group on Highly Purified Menotropin versus Recombinant follicle stimulating Hormone. Efficacy and safety of highly purified menotropin versus recombinant follicle-stimulation/intracytoplasmic sperm injection cycles: a randomized, comparative trial. *Fertil Steril* 2002;78: 520- 8.
  - 21- Coomarasamy A, Afnan M, Cheema D, van der Veen F, Bossuyt PM, van Wely M, Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2008; 23:310-5.
  - 22- Melo M, Bellver J, Garrido N, Meseguer M, Pellicer A, Remohí J, A prospective, randomized, controlled trial comparing three different gonadotropin regimens in oocyte donors: ovarian response, in vitro fertilization outcome, and analysis of cost minimization. *Fertil Steril* 2010;94:958-64.
  - 23- Foster R, Sergers I, Smart D, Adriaenssens T, Smitz J, Arce JC, et al. A differential cytokine expression profile is induced by highly purified human menopausal gonadotropin and recombinant follicle-stimulating hormone in a pre- and postovulatory mouse follicle culture model. *Fertil Steril.* 2010;93:1464-76.
  - 24- Skrzypczak J, Wirstlein P, Mikolajczyk M. Could the defects in the endometrial extracellular matrix during the implantation be a cause of impaired fertility? *Am J Reprod Immunol* 2007;57:40-8.
  - 25- Salmassi AG, Schaefer S, Koch K, Hedderich J, Jonat W, et al. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome? *Hum Reprod* 2005;20:2434-40.
  - 26- T. Adriaenssens, R. White, P. Riviere, R. Cortvrindt, J. Arce, J. Smitz. Differential gene expression patterns in cumulus cells from in vitro grown follicles exposed to FSH alone or to FSH and LH-activity. *Fertil Steril* 2006 ;86 (10-11Suppl).
  - 27- Munoz M, Cruz M, Humaidan P, Garrido N, Perez-Cano I, Meseguer M. Dose of recombinant FSH and oestradiol concentration on day of HCG affect embryo development kinetics. *RBM Online*, 2012 ;25:382-9.
  - 28- Meseguer, M., Herrero, J., Tejera, A., Hilligsoe, K.M., Ramsing, N., Remohi, J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum. Reprod.* 2011;26:2658-71.
  - 29- Manno, M., Cervi, M., Zadro, D., Fuggetta, G., Adamo, V., Tomei, F. Different ART outcomes at increasing peak estradiol levels with long and antagonist protocols: retrospective insights from ten years experience. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2011; 28:693-8.
  - 30- Papageorgiou, T., Guibert, J., Goffinet, F., Patrat, C., Fulla, Y., Janssens, Y., Zorn, J.R. Percentile curves of serum estradiol levels during controlled ovarian stimulation in 905 cycles stimulated with recombinant FSH show that high estradiol is not detrimental to IVF outcome. *Hum. Reprod* 2002;17:2846-50.
  - 31- J.Smitz, A.N.Andersen, P.Devroey and J.-C.Arce for the MERIT Group. Endocrine profile in serum and follicular fluid differs after ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH in IVF patients. *Hum Reprod* 2007;22: 676-87.
  - 32- Requena A, Cruz M, Ruiz FJ, Garcia-Velasco JA. Endocrine profile following stimulation with recombinant follicle stimulating hormone and luteinizing hormone versus highly purified human menopausal gonadotropin. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;12:10.
  - 33- Sebag-Peyrelevalde S, El Hachem H, Gallot V, Genro VK, Fanchin R. The influence of exogenous LH/hCG activity on serum progesterone levels on the day of hCG administration in vitro fertilization. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2015; 44:524-31.
  - 34- Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simon C, Remohi J, Jenkins J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum Reprod* 2010; 25: 2092-100.
  - 35- Ochsenkühn R, Arzberger A, von Schönfeldt V, Gallwas J, Rogenhofer N, Crispin A et al. Subtle progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration is associated with lower live birth rates in women undergoing assisted reproductive technology: a retrospective study with 2,555 fresh embryo transfers. *Fertil Steril* 2012;98:347-54.
  - 36- Weissman A, Gotlieb L, Casper RF. The detrimental effect of increased endometrial thickness on implantation and pregnancy rates and outcome in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1999;71:147-9.
  - 37- Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril* 2007; 87:53-9.
  - 38- Sifer C, Cédric-Dumerin I, Hugues JN, Poncelet C. Views of each member of an Assisted Reproductive Technologies centre on the embryo transfer procedure. *Gynecol Obstet Fertil* 2009;37:645-52.
  - 39- Platteau P, Andersen AN, Balen A, Devroey P, Sørensen P, Helmsgaard L et al for the Menopur Ovulation Induction (MOI) Study Group. Similar ovulation rates, but different follicular development with highly purified menotropin compared with recombinant FSH in WHO Group II anovulatory infertility: a randomized controlled study. *Hum Reprod* 2006;21:1798-804.
  - 40- Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Taieb J, De Ziegler D and Frydman R. Computerized assessment of endometrial echogenicity: clues to the endometrial effects of premature progesterone elevation. *Fertil Steril* 1999;71:174-81.
  - 41- Fanchin R, Righini C, Ayoubi J-M, Olivennes F, de Ziegler D and Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization embryo transfer. *Fertil Steril* 2000;74:274-81.
  - 42- VanWely M, Kwan I, Burt AL, Thomas J, Vail A, Van der Veen F, Al-Inany HG. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database of Syst Rev* 2011, Issue 2. Art. No.: CD005354. DOI: 10.1002/14651858.CD005354.pub2
  - 43- Jaro Wex-Wechowski, Ahmed M Abou-Setta, Sandy Kildegaard Nielsen, Richard Kennedy. HP-hMG versus rFSH in treatments combining fresh and frozen IVF cycles: success rates and economic evaluation. *RBM Online* 2010; 21:166-78.
  - 44- Mark Connolly, Kathleen De Vrieze, Willem Ombelet, Dirk Schneider, Craig Currie. A cost per live birth comparison of HMG and rFSH randomized trials. *RBM Online* 2008;17:756-63.
  - 45- J. de Mouzon, E. Allavena, C. Schmitt, M. Frappé. In vitro fertilization in France: economic aspects and influence of the gonadotropin choice (urinary vs. recombinant) on cost. *Gynecol Obstet Fertil* 2004;32:508-18.
  - 46- Al Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI ; Ovulation Induction in the New Millennium: Recombinant FSH Vs hMG. *Gynecol Endocrinol.* 2005;20:161-9.
  - 47- Stokman PG, de Leeuw R, van den Wijngaard HA, Kloosterboer HJ, Vemer HM, Sanders AL. Human chorionic gonadotropin in commercial human menopausal gonadotropin preparations. *Fertil Steril* 1993;60:175-8.
  - 48- Van de Weijer BH, Mulders JW, Bos ES, Verhaert PD, van den Hooven HW. Compositional analyses of a human menopausal gonadotrophin preparation extracted from urine (menotropin). Identification of some of its major impurities. *RBM Online* 2003;7:547 - 57.