

Université de Montréal

**THÉRAPIE AVEC HORMONE DE CROISSANCE EN FÉCONDATION IN VITRO : UNE ÉTUDE
RANDOMISÉE CONTROLÉE**

Par
Alice Cathelain

Faculté de Médecine
Sciences biomédicales

Mémoire présenté à la faculté de médecine de l'Université de Montréal en vue de
l'obtention du grade de maîtrise en sciences biomédicales, option recherche clinique.

Octobre 2016

© Alice Cathelain 2016



Résumé

Les protocoles de FIV sont constamment révisés pour augmenter les chances de grossesse. Des recherches effectuées chez les mammifères ont montré que l'hormone de croissance (GH) était importante pour le développement folliculaire. L'ajout de GH pourrait donc augmenter les taux de grossesse en FIV.

L'étude clinique présentée dans ce mémoire est un essai randomisé contrôlé, incluant n= 528 participantes supposées normo-répondeuses recevant un protocole antagoniste de stimulation ovarienne à la **clinique ovo** de Montréal. Les patientes du groupe étude reçoivent 2.5mg/j de Saizen® dès le début de la stimulation et jusqu'au jour de la ponction ovarienne. L'objectif primaire est de déterminer si le taux de grossesses cliniques évolutives après transfert frais est plus élevé chez les femmes recevant la GH. Les objectifs secondaires sont les issues du cycle de stimulation et les issues de grossesse pour les transferts frais et congelés.

Une analyse a été réalisée pour déterminer l'intérêt de la poursuite de l'étude dans le contexte actuel de la loi 20 qui implique une chute du recrutement. De juin 2014 à septembre 2016, sur les 212 patientes recrutées (105 groupe étude et 107 groupe contrôle), 96 patientes ont eu une ponction dans le groupe étude et 98 dans le groupe contrôle. Aucune différence significative entre les deux groupes n'a été retrouvée pour les taux de grossesses cliniques évolutives (33.33% groupe étude VS 40.28% groupe contrôle p=0.405). Le nombre moyen d'ovocytes ponctionnés était supérieur dans le groupe étude (11.57 VS 9.65 p=0.064) mais non significatif. On observe un nombre supérieur et statistiquement significatif de freeze all dans le groupe étude (15.63% VS 5.10% p =0.016). Tous types de transferts confondus, 101 transferts ont eu lieu dans chaque groupe et 21 naissances vivantes ont été observées dans le groupe contrôle pour 17 dans le groupe étude (p=0.471). En conclusion, l'analyse réalisée ne peut nous permettre de préconiser de prescrire de la GH en supplément d'un protocole antagoniste aux femmes normo-répondeuses. La poursuite du recrutement est nécessaire pour augmenter la puissance des résultats avant de pouvoir conclure sur l'utilisation de la GH en routine clinique.

Mots-clés : Fécondation in Vitro (FIV), hormone de croissance (GH), stimulation ovarienne, protocole antagoniste, taux de grossesse.

Abstract

IVF protocols are constantly in revision to improve follicular development and increase the number of live births. Studies in mammals have shown that growth hormone (GH) was important for follicular development. The addition of GH could increase IVF pregnancy rates. This study is a randomized, controlled, open label trial including 528 participants into two groups receiving an ovarian stimulation antagonist protocol at the **clinique ovo** (Montréal). The women assigned to the treatment group will take 2.5mg/d of Saizen® subcutaneously following the patient's stimulation medication.

The primary objective is to determine if the clinical pregnancy rate after a fresh transfer in women receiving GH in addition to GnRH antagonist protocol is significantly higher than the control group. The secondary objectives are the outcomes of the stimulation cycle and pregnancy for fresh and frozen transfers.

An analysis was performed in September 2016 to determine the interest of pursuing the study due to "Bill 20" which entails a decrease in recruitment. From June 2014 to September 2016 (date of the interim analysis), 212 patients were enrolled (n= 105 study group, n=107 control group), 96 patients in the study got oocytes retrieval and 98 in the control group. No statistically significant difference was observed in clinical pregnancy rate (33.33% study group VS 40.28% control group, $p = 0.405$). No statistically significant difference was observed for the mean number of oocytes retrieved (11.57 study group VS 9.65 control group, $p = 0.064$). The number of freeze all was significantly higher in the study group (15.63% VS 5.10% $p = 0.016$). All types of transfers, 101 transfers occurred in each group. 21 live birth were observed in the control group and 17 in the study group ($p = 0.471$).

In conclusion, with the current data, the analysis performed cannot allow us to prescribe co-treatment with GH in antagonist protocol in normal-responders women. It is necessary to continue recruitment in order to increase the power of the results before confirming on using GH for these patients undergoing IVF treatments.

Keywords : In vitro fertilization (IVF), Growth Hormone (GH), ovarian stimulation, antagonist protocol, pregnancy rate

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures	ix
Liste des sigles et abréviations	x
Remerciements	xii
1) Introduction générale.....	2
1.1 Rappels de physiologie de l'appareil reproductif féminin.....	4
Anatomie de l'utérus et de l'ovaire.....	4
<i>Le cycle menstruel</i>	<i>6</i>
1.2 Le développement des gamètes	9
L'ovogénèse et le développement ovocytaire	9
<i>La folliculogénèse</i>	<i>10</i>
La spermatogénèse et la spermiogénèse.....	13
1.3 La fécondation.....	13
1.4 La migration de l'ovocyte fécondé	14
1.5 Le développement embryonnaire pré-implantatoire	15
1.6 L'implantation	15
1.7 La Procréation Médicalement Assistée	16
Généralités, étiologies de l'infertilité.....	16
<i>Bilan d'infertilité</i>	<i>19</i>
<i>Traitements</i>	<i>21</i>
<i>FIV/ICSI</i>	<i>26</i>
Croissance embryonnaire en milieu de culture.....	28
Transfert d'embryon frais et transfert d'embryon congelé	29
Suivi de grossesse jusqu'à l'accouchement.....	31

1.8	La législation au Québec.....	32
2)	Contexte de l'étude.....	33
3)	Le projet de recherche sur l'hormone de croissance	39
1.	Rationnel de l'étude	39
2.	Objectifs de l'étude	41
3.	Matériel et Méthodes	41
	<i>Sélection des participantes.....</i>	<i>41</i>
	<i>Déroulement de l'étude.....</i>	<i>42</i>
	<i>Groupe étude.....</i>	<i>47</i>
	<i>Critères d'évaluation</i>	<i>48</i>
	<i>Recueil des données</i>	<i>50</i>
	<i>Analyse des échantillons d' IGF-1</i>	<i>50</i>
	<i>Statistiques</i>	<i>51</i>
4.	Résultats.....	53
	<i>Nombre de patientes analysées</i>	<i>53</i>
	<i>Caractéristiques de la population.....</i>	<i>56</i>
	<i>Formules utilisées</i>	<i>58</i>
	<i>Résultats du cycle de stimulation</i>	<i>59</i>
	<i>Résultats d'embryologie</i>	<i>62</i>
	<i>Résultats des transferts frais</i>	<i>64</i>
	<i>Résultats des transferts d'embryons congelés</i>	<i>67</i>
	<i>Résultats globaux : tous transferts confondus</i>	<i>70</i>
	<i>Analyse multivariée, risques relatifs et corrélations.....</i>	<i>71</i>
5.	Discussion.....	77
6.	Conclusion	86
4.	Conclusion générale.....	87
	Bibliographie	i
	Annexe 1 : Synopsis de l'étude	i

Annexe 2 : Protocoles de stimulation	iii
Annexe 3 : Détails des visites.....	vi
Annexe 4 : Protocoles de transfert d'embryon congelé.....	vii
Annexe 5 : Dosage d'IGF-1, procédure de laboratoire	xi
Annexe 6 : Analyse statistique, tableaux additionnels	xiii
Annexe 7 : Revue de littérature	xvii
Annexe 8 : Recrutement mensuel et général	xviii

Liste des tableaux

Tableau I.	Caractéristiques initiales des patientes	57
Tableau II.	Formules utilisées	58
Tableau III.	Résultats du cycle de stimulation.....	61
Tableau IV.	Résultats d'embryologie.....	63
Tableau V.	Freeze all, échec de fécondation et embryons jetés.....	63
Tableau VI.	Caractéristiques des embryons issus de transferts frais	66
Tableau VII.	Transferts d'embryons congelés, résultats par transfert effectué.....	68
Tableau VIII.	Résultats tous transferts confondus, par nombre de transfert.....	73
Tableau IX.	Régression logistique	73
Tableau X.	Risques relatifs et ratio de taux.....	74
Tableau XI.	Corrélations taux IGF-1	76

Liste des figures

Figure 1.	L'appareil reproductif féminin.....	5
Figure 2.	Les phases du cycle menstruel	8
Figure 3.	Le développement folliculaire	12
Figure 4.	La récupération des ovocytes.....	27
Figure 5.	Les techniques de FIV et d'ICSI	27
Figure 6.	Évolution de la croissance embryonnaire <i>in vitro</i>	30
Figure 7.	Le transfert d'embryon.....	30

Liste des sigles et abréviations

: nombre

CFA : Compte des Follicules Antraux

E2 : Œstradiol

EC : Embryon Congelé

ET : Embryon Transféré

FIV : Fécondation *In Vitro*

FSH : Follicle-Stimulating Hormone

GH : Growth Hormone

GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone

hCG : human chorionic gonadotropin

IC95% : intervalle de confiance à 95%

ICSI : Injection IntraCytoplasmique de Spermatozoïde

IDRR : ratio de taux

IGF-1 : Insuline-like Growth Factor 1

IUI : Insémination Intra Utérine

IMC : Indice de Masse Corporelle

J2 : Jour 2

J5 : Jour 5

LH : Luteinizing Hormone

MII : Métaphase II

OHSS : Syndrome d'hyperstimulation ovarienne

OR : Odds Ratio

Pg : Progestérone

PMA : Procréation Médicalement Assistée

PO : Ovocytes Ponctionnés

RR : Risque Relatif

SMART : Stimulation with Minimal Adverse effects, Retrieval and Transfer

TEC : Transfert d'Embryon Congelé

TF : Transfert Frais

VS : versus

Remerciements

Je remercie le Dr Kadoch d'avoir accepté ma candidature de stage dans le département recherche et développement de la **clinique ovo** de Montréal, de m'avoir permis d'intégrer cet essai clinique très intéressant, et d'avoir, en tant que directeur de mon projet de recherche, supervisé mes travaux.

Merci à l'Université de Montréal pour mon admission dans le programme de maîtrise en sciences biomédicales et merci aux professeurs qui m'ont accompagnée pendant les sessions de cours.

Je remercie toute l'équipe du département **ovo r&d**, supervisée par Shirley Brugerie, et notamment mes collègues assistants ou infirmiers de recherche pour leur accueil et leur soutien durant cette année. Merci de m'avoir initiée à la recherche. Merci à Sandra pour la relecture de ce mémoire.

Merci à Amélie Bourdieu, directrice scientifique du département **ovo r&d**, pour son aide précieuse dans le cheminement de mon travail de mémoire. Merci également à Cécile Le Saint, directrice du département **ovo labo**, pour son implication dans cette étude et au personnel du laboratoire pour les analyses effectuées.

Merci aux médecins fertologues de la **clinique ovo** pour leur enseignement et notamment au Dr Kamga qui a aussi soutenu mon dossier auprès de l'organisme MITACS.

Je remercie les membres de l'organisme Mitacs pour leur aide dans l'élaboration du dossier de subvention qui m'a permis d'obtenir le soutien financier du programme Mitacs accélération.

Je remercie également Melissa Stutz de JSS Medical research de m'avoir aidée pour les analyses statistiques.

Merci aux médecins français qui m'ont encouragée dans ce projet d'année de recherche à l'étranger durant mon cursus d'interne en gynécologie-obstétrique.

Merci à Alix Sesques et au Dr Audibert, qui m'ont tous deux parlé du programme de maîtrise en sciences biomédicales de l'UdeM et qui m'ont introduite auprès du Dr Kadoch.

Merci à Louis de m'avoir donné envie de venir étudier à Montréal et de m'avoir soutenue dans toutes les démarches pour y parvenir.

1) Introduction générale

L'infertilité est définie par une incapacité de concevoir après 12 mois de relations sexuelles non protégées. Environ 48.5 millions de couples souffrent d'infertilité à travers le monde. [1] Elle touche de plus en plus de couples, et ceux-ci sont amenés à consulter dans des centres spécialisés de procréation assistée pour obtenir une prise en charge adaptée. Au Canada, la prévalence est de 14%, soit 445 500 couples [2]. La hausse de cette prévalence peut être expliquée par le fait qu'un nombre croissant de couples au Canada reporte le moment d'avoir des enfants, mais également par différents facteurs environnementaux, notamment l'obésité, le tabagisme, ou les infections sexuellement transmissibles.[3]

Face à la demande croissante de prise en charge des couples infertiles (environ un couple sur sept ayant tenté de concevoir un enfant a eu recours à de l'aide médicale à la conception) [2], les services de fertilité s'adaptent de façon permanente pour permettre aux patients d'obtenir des taux de grossesse optimaux.

Ainsi, les techniques de procréation médicalement assistée (PMA) ont considérablement évolué ces dernières années. Les protocoles de stimulation ovarienne ont été révisés pour adapter les types de médication selon les profils des patientes. De nouvelles techniques comme l'ICSI (injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde) et PISCI (ICSI avec une sélection minutieuse du spermatozoïde) ont été mises en place pour permettre d'améliorer le taux de fécondation des gamètes. Les techniques de culture des embryons ont elles aussi été améliorées, le tout pour permettre d'optimiser les chances de pouvoir transférer un embryon dans le but d'obtenir une grossesse clinique évolutive.

Beaucoup de composantes sont à considérer dans la prise en charge des couples infertiles. Initialement, il est nécessaire de connaître les bases anatomiques et physiologiques de gynécologie et d'andrologie. Le cycle menstruel, la croissance des gamètes mâles et femelles, mais aussi les étapes de la fécondation, du développement embryonnaire et de l'implantation seront détaillés par la suite.

Les causes de l'infertilité peuvent être variées : d'origine féminine, masculine, mixte ou idiopathique. En fonction de toutes ces composantes, différents types de traitements de PMA peuvent être proposés.

C'est grâce à de nombreuses études cliniques que la prise en charge des patients peut être adaptée et personnalisée, toujours dans le but d'optimiser les chances de grossesse et de naissance d'un ou plusieurs enfants vivants et en bonne santé.

1.1 Rappels de physiologie de l'appareil reproductif féminin

Anatomie de l'utérus et de l'ovaire

L'utérus est un organe interne, situé au niveau du pelvis de la femme, et composé de deux parties :

- le corps, avec des parois latérales et une partie supérieure (appelée fundus), délimitant la cavité corporeale;
- le col (au niveau inférieur), avec l'orifice cervical interne et l'orifice cervical externe qui délimitent le canal endo-cervical reliant la cavité utérine et la cavité vaginale.

La muqueuse utérine (au niveau de la face interne de la cavité utérine), appelée endomètre, est un épithélium riche en cellules sécrétrices dont les sécrétions sont importantes pour la nidation de l'embryon. Sous l'endomètre se trouve le muscle utérin, qui est appelé myomètre.

Au niveau supérieur du corps utérin s'abouchent les trompes : l'ostium tubaire correspond à l'abouchement de la trompe située au niveau des cornes du corps de l'utérus. Ensuite se trouve la partie interstitielle de la trompe, qui est suivie de l'isthme et de la portion distale de la trompe. Cette dernière donne enfin l'ampoule tubaire, terminée par la portion frangée : le pavillon, en regard de l'ovaire.

Les ovaires sont situés dans le pelvis, de part et d'autre de l'utérus, en regard des trompes. L'ovaire est composé au centre de la région dite médullaire, ou medulla, dans laquelle s'abouche le hile ovarien où passent les vaisseaux sanguins, lymphatiques et filets nerveux.

La région médullaire est entourée par la région corticale, ou cortex ovarien, où se trouvent les follicules ovariens, à différents stades de maturation. En périphérie se trouve l'albuginée.

Les ovaires ont deux fonctions : une fonction endocrine, qui est la sécrétion d'hormones stéroïdes : œstrogène, progestérone et certains androgènes, et une fonction exocrine qui est la production des gamètes femelles.

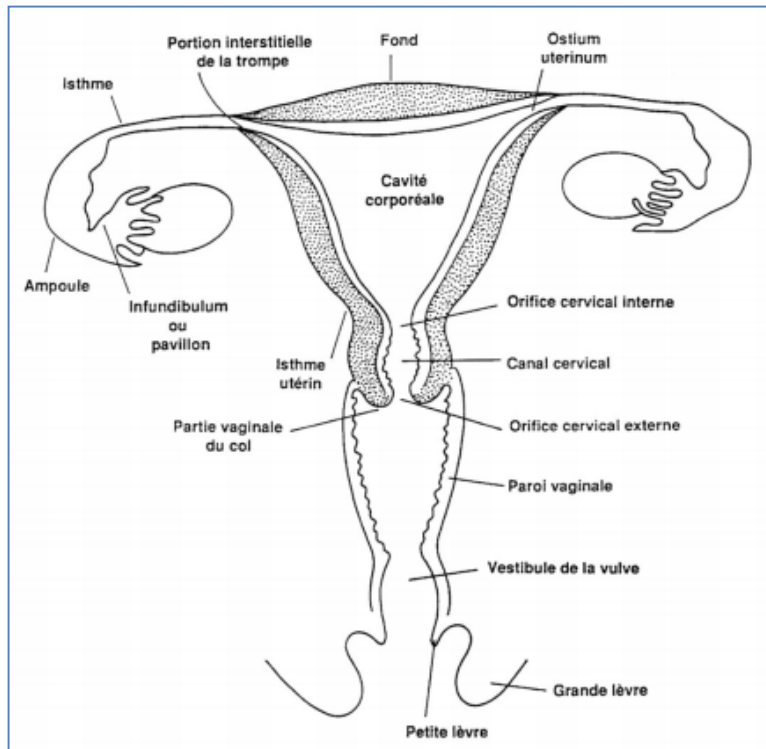


Figure 1. **L'appareil reproductif féminin**

Source : *Histologie de l'appareil génital féminin - Cours de PCEM2 2009 - université de Montpellier, France*

Le cycle menstruel

Le cycle menstruel est la période au cours de laquelle se succèdent un ensemble de phénomènes physiologiques et hormonaux rendant possibles l'ovulation, la rencontre des gamètes, la fécondation et la nidation de l'embryon au sein de la muqueuse utérine. Cette période est comprise entre le premier jour des règles jusqu'à la fin du cycle, qui est marqué par le début des règles du cycle suivant. Par convention, le cycle féminin débute le 1^{er} jour des règles et dure en moyenne 28 jours.

A partir de la puberté, sous l'effet de la sécrétion pulsatile de la GnRH par l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure va sécréter des gonadotrophines : la FSH et la LH, qui vont agir sur les ovaires, permettant la synthèse des stéroïdes. Ces stéroïdes vont agir sur l'endomètre pour rendre possible la nidation de l'embryon au sein de la muqueuse utérine, ou induire les prochaines menstruations s'il n'y a pas de fécondation ni de nidation.

La première partie du cycle menstruel correspond à la phase folliculaire (les 14 premiers jours), quand les follicules antraux grossissent jusqu'au stade pré-ovulatoire.

Au cours de cette phase, les cellules de la thèque interne ayant des récepteurs à la LH peuvent, grâce à de nombreuses enzymes, transformer le cholestérol en androgène et en androsténédione. Au niveau de la granulosa, grâce à l'aromatase, l'androsténédione donne l'oestradiol. On parle de phase oestrogénique.

A la fin de la phase folliculaire, des récepteurs à la LH apparaissent sur les cellules de la granulosa et reprennent en partie l'action qu'avait la FSH sur granulosa : la FSH baisse en fin de phase folliculaire. L'hypophyse décharge de la LH, c'est le pic ovulatoire : l'ovocyte reprend sa première division de méiose, dans le follicule mûr. La décharge ovulante de LH provoque la rupture du follicule, permettant l'expulsion de l'ovocyte : c'est l'ovulation qui a lieu aux alentours du 14^{ème} jour du cycle, 36 à 40h après le pic de LH.

Après l'ovulation, débute la seconde partie du cycle menstruel : c'est la phase lutéale, pour les 14 derniers jours du cycle. Le follicule qui a expulsé l'ovocyte devient le corps jaune. Sous l'action de la LH, au niveau des grandes cellules lutéales, le cholestérol est transformé en

œstradiol, et les grandes cellules lutéales issues de la granulosa ont la capacité de synthétiser de la progestérone. On parle de phase oestroprogestative.

La progestérone agit sur l'endomètre durant la période correspondant à la possible nidation d'un embryon. S'il n'y a pas de nidation, le corps jaune régresse, la progestérone ainsi que l'œstradiol chutent : c'est cette chute qui marque la fin du cycle ovarien et qui induit les menstruations. C'est le début du nouveau cycle menstruel.[4]

Le cycle menstruel est détaillé dans le schéma ci-après (**Figure 2**).

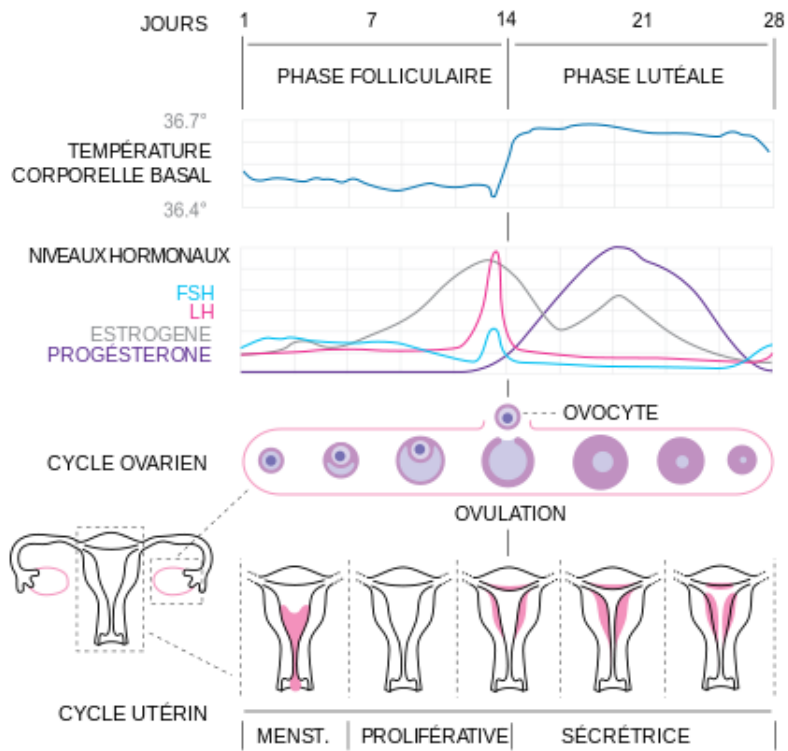


Figure 2. Les phases du cycle menstruel

Source : Wikipédia, le cycle menstruel - Isometric - CC By SA

1.2 Le développement des gamètes

L'ovogénèse et le développement ovocytaire

L'ovogénèse est la formation, la croissance et la différenciation des gamètes femelles.

Elle commence au cours de la vie fœtale : les premières ovogonies sont individualisées dans l'ovaire fœtal vers la 10^e semaine du développement. Les ovogonies prolifèrent par mitose et donnent des ovocytes I. Vers le 5^e mois de vie intra utérine, il n'y a plus d'ovogonies mais uniquement des ovocytes I (environ 7 millions d'ovocytes I contenus dans les deux ovaires). Les ovocytes I démarrent leur première division mais restent bloqués au stade diplotène.

Pendant que les ovogonies se différencient en ovocytes primaires, elles subissent une restructuration. Au moment de leur blocage en prophase I, les ovocytes I sont isolés et entourés chacun d'une couche de cellules épithéliales folliculaires aplaties formant le follicule primordial (ovocyte I + épithélium folliculaire = follicule primordial)

Juste avant la naissance, tous les ovocytes I sont contenus dans les follicules primordiaux. A la naissance, il ne reste qu'un million d'ovocytes I pour les deux ovaires : une dégénérescence importante a lieu dès la période fœtale.

La phase de repos de la méiose persiste jusqu'à la puberté, date à partir de laquelle quelques ovocytes primaires (5 à 15) achèvent à chaque cycle leur première division méiotique. A la puberté, plus de la moitié des ovocytes ont dégénéré : il reste environ 400 000 ovocytes primaires et follicules primordiaux.

Vers 20 ans, il reste environ 70 000 ovocytes et follicules et à l'arrivée de la ménopause, seulement 3000.

Sur la période fertile d'une femme (de 12-13 ans à 45-48 ans), une femme a environ 13 cycles de 28 jours par an : parmi tous les follicules primordiaux, seulement 400 à 500 peuvent devenir matures et donner un follicule pré-ovulatoire. Cependant, seuls quelques rares ovocytes (le plus souvent un seul) atteindront la deuxième division méiotique avec l'ovulation (ovocytes secondaires et 1er globule polaire). Les autres ovocytes ayant commencé leur maturation cyclique dégénèrent.

Cette dégénérescence est due à des phénomènes d'apoptose qui sont plus ou moins importants selon les femmes. On observe ainsi des disparités chez les femmes, et certaines d'entre elles vont avoir besoin de consulter dans des services de fertilité en raison d'une insuffisance ovarienne prématurée.[5]

La folliculogénèse

La folliculogénèse est la formation, la croissance et la maturation des follicules ovariens (du stade de follicule primordial au stade de follicule pré-ovulatoire puis ovulatoire) sous contrôle des hormones sexuelles.

De la naissance à la puberté, l'initiation de la folliculogénèse est possible mais elle ne dépassera pas la période de 12 ans environ. Les follicules primordiaux peuvent devenir des follicules primaires, puis certains follicules primaires subissent une maturation supplémentaire pour donner des follicules secondaires. Tous les jours, dès la naissance, une vingtaine de follicules primordiaux entrent en croissance. A la puberté, plus de la moitié des ovocytes ont dégénéré.

Seulement après la puberté, certains follicules secondaires vont maturer en follicules pré-antraux. A ce stade, apparaissent sur certaines cellules folliculaires qui forment la granulosa, des récepteurs à la FSH. Au niveau de la thèque interne, certaines cellules prennent un aspect épithélioïde, sur lesquelles vont apparaître des récepteurs à la LH : on parle de follicule pré-antral.

A partir du stade de follicule pré-antral, la maturation jusqu'aux follicules antraux correspond à la croissance folliculaire basale et dure 65 jours. Dans la granulosa se forme une cavité liquidienne appelée l'antrum. A partir d'un certain stade de développement des follicules antraux, les cellules de la granulosa peuvent synthétiser des œstrogènes sous l'action de la FSH. De la même manière, à partir d'un certain degré de maturation et sous l'action de la LH, les cellules de la thèque interne peuvent synthétiser des androgènes. Le stade ultime des follicules antraux est le stade du follicule mûr, appelé aussi le follicule de De Graaf : c'est le stade juste avant l'ovulation.

Au premier jour des règles, durant la vie fertile, il y a en général 3 à 11 follicules antraux par ovaire. La phase de sélection et de maturation finale dure 14 jours : ces 14 premiers jours du cycle menstruel, il y a un phénomène de sélection : parmi ces follicules, seulement un arrivera au stade de follicule pré-ovulatoire. Le follicule antral qui est plus sensible à la FSH devient dominant tandis que les autres régressent et disparaissent.

La croissance folliculaire est détaillée dans un schéma ci-après (**Figure 3**).

A la fin de cette phase folliculaire de 14 jours, l'hypophyse décharge de la LH, c'est le pic ovulatoire ayant une répercussion sur les cellules folliculaires : l'ovocyte reprend sa première division de méiose dans le follicule mûr. La reprise de la méiose s'achève et l'ovocyte I se divise alors en un ovocyte II et un 1^{er} globule polaire, contenant chacun 23 chromosomes à deux chromatides. L'ovocyte II enchaîne immédiatement sa 2^e division de la méiose. L'ovocyte II ovulé va rester bloqué en métaphase II jusqu'à la fécondation.

La décharge ovulante de LH déclenche des mécanismes enzymatiques provoquant la rupture du follicule et permettant l'expulsion de l'ovocyte II entouré de la zone pellucide, de la corona radiata et du cumulus oophorus. Cet ovocyte pourra alors être fécondé.[5]

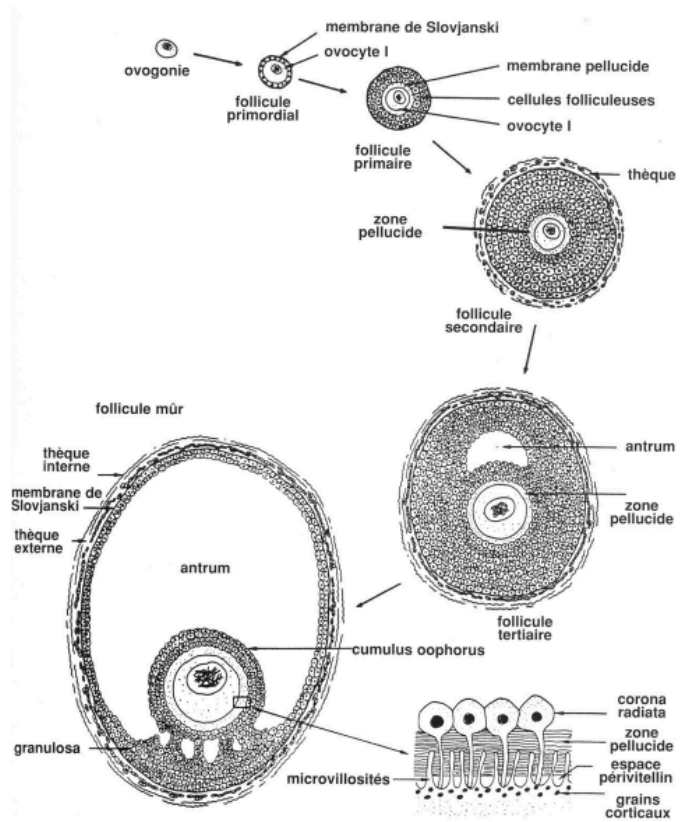


Figure 3. **Le développement folliculaire**

Source : *Histologie de l'appareil génital féminin - cours de PCEM2, université de Montpellier, France*

La spermatogénèse et la spermiogénèse

L'appareil reproducteur masculin, et notamment la fonction testiculaire, est régulé en grande partie par l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire.

La **spermatogénèse** est le processus qui permet d'aboutir à la formation de spermatozoïdes matures. Elle est régulée par la FSH et la testostérone qui agissent sur les cellules de Sertoli (composant les tubules séminifères) pour stimuler les cellules germinales en développement (spermatogonies). La LH agit sur les cellules de Leydig (cellules intersticielles) pour stimuler la biosynthèse de la testostérone.

La **spermiogénèse** est le processus de maturation et de modification de morphologie des spermatides en spermatozoïdes matures. Les spermatozoïdes matures sont relâchés dans la lumière des tubules séminifères puis ils sont stockés dans l'épididyme avant l'éjaculation.

Lors de l'éjaculation, les spermatozoïdes acquièrent des éléments importants pour la mobilité ainsi que des protéines membranaires supplémentaires pour la reconnaissance des différentes enveloppes de l'ovocyte. En parallèle, il y a fixation d'autres glycoprotéines et de stérols qui enrobent le spermatozoïde et le protègent : on dit que les spermatozoïdes éjaculés sont décapacités. Cette maturation dans le canal épидидymaire est une étape importante et des anomalies comme une chirurgie au niveau de l'épididyme ou un stress oxydatif peuvent affecter le pouvoir fécondant des gamètes mâles.[5]

1.3 La fécondation

La fécondation correspond à la formation, à partir d'un spermatozoïde haploïde et d'un ovocyte haploïde, d'une première cellule : la cellule souche diploïde, appelée zygote.

Chez la femme, l'ovocyte II est ovulé aux alentours du 14^{ème} jour du cycle menstruel.

L'ovule se retrouve dans le pelvis en regard du pavillon de la trompe. Il est capté par le pavillon et migre jusqu'à l'ampoule tubaire. Lors de l'ovulation, les battements des cellules ciliées de l'ampoule favorisent la migration de l'ovocyte depuis le pavillon vers l'ampoule. Ce

complexe reste bloqué au niveau de l'ampoule jusqu'à une éventuelle fécondation. Il est fécondable dans les 20 heures environ.

Les spermatozoïdes éjaculés sont déposés dans le vagin (il y a environ 200 millions de spermatozoïdes dans un éjaculat) et remontent jusqu'au niveau de l'ampoule tubaire. Au fur et à mesure de cette remontée dans les voies génitales féminines, ils sont progressivement arrêtés par différents barrages (pH vaginal acide, mucus cervical, étroitesse de l'isthme tubaire etc.): pour plusieurs millions de spermatozoïdes initialement dans le vagin, seuls quelques centaines de milliers de spermatozoïdes arrivent au niveau du col de l'utérus, puis 10 000 au niveau de la portion interstitielle et de l'isthme, et enfin, seuls quelques centaines parviennent à l'approche du complexe cumulo-ovocytaire.

Les spermatozoïdes peuvent rester féconds durant environ 4 jours. Seuls quelques centaines de spermatozoïdes parviennent à l'approche du complexe cumulo-ovocytaire. Les spermatozoïdes doivent d'abord franchir le cumulus oophorus, puis un mécanisme de reconnaissance et de fusion a lieu. Le spermatozoïde fécondant se retrouve absorbé dans le cytoplasme ovocytaire. Les conséquences de cette fusion sont la dégranulation corticale empêchant la polyspermie (aucun autre spermatozoïde ne peut pénétrer le cytoplasme ovocytaire), la mise en commun des génomes paternel et maternel (il y a alors 46 chromosomes à 2 chromatides) et le début du développement embryonnaire (expliqué à la section suivante).[6]

1.4 La migration de l'ovocyte fécondé

L'ovocyte fécondé va cheminer dans la lumière de la trompe, c'est la migration. La progression du zygote est assurée par les mouvements péristaltiques de la trompe qui atteignent leur amplitude maximale après l'ovulation. La durée de la migration tubaire est de trois à quatre jours. En cas de mauvaise migration, le développement embryonnaire peut se faire hors de la cavité utérine, soit dans une des trompes (grossesse tubaire) ou dans la cavité péritonéale (grossesse abdominale). La prévalence globale des grossesses ectopiques est estimée à 1.5 -2%.[7]

1.5 Le développement embryonnaire pré-implantatoire

La première semaine du développement du produit de conception (zygote) est marquée par différents évènements :

La première étape est la segmentation. Les premières divisions se déroulent en général à l'intérieur de la trompe. La membrane pellucide constitue une sphère de 100 à 150µm dans laquelle se développe le zygote. Les cellules issues des divisions du zygote sont appelées blastomères. Le nombre de cellules augmente progressivement avec en moyenne 1 division par jour de J1 à J3.

A partir du stade de 16 cellules, le volume délimité par la membrane pellucide devient insuffisant. Les cellules se compactent et adhèrent les unes aux autres : c'est l'étape de compaction. Le zygote est alors appelé morula compactée.

A J4, suite à des modifications enzymatiques, la membrane pellucide se rompt et le zygote éclot. Il se forme une cavité liquidienne appelée blastocèle. Le zygote est alors appelé blastocyste.

Seul un blastocyste est capable de s'implanter, car il possède un blastocèle et un trophoctoderme (tissu dédié à l'implantation). L'affinité du blastocyste pour la surface de l'endomètre ne dure que quelques heures et c'est au cours de cette fenêtre temporelle que le blastocyste est susceptible d'adhérer à la surface de l'endomètre par son pôle embryonnaire.[8]

1.6 L'implantation

L'implantation a lieu vers J6 – J7 après la fécondation. Sous l'effet de la progestérone sécrétée par le corps jaune, les cellules de l'épithélium utérin laissent le zygote s'implanter.

Le blastocyste entre en contact par son pôle embryonnaire avec l'épithélium de l'endomètre. Le trophoblaste (couche superficielle) prolifère activement au point de fixation. Les divisions nucléaires successives interviennent sans division cytoplasmique. Il en résulte un syncytium dérivé du trophoblaste, le syncytiotrophoblaste.

Le syncytiotrophoblaste continue à proliférer rapidement en périphérie et secrète des enzymes protéolytiques qui détruisent les tissus endométriaux et permettent sa pénétration dans l'endomètre en entraînant avec lui l'ensemble de l'œuf.

En même temps qu'intervient la nidation du fait de l'évolution du trophoblaste, le reste du blastocyste, va progressivement se modifier : l'embryon poursuit son développement.

D'une façon générale, il est estimé que seuls 25% des cycles féconds aboutissent à une implantation embryonnaire.

1.7 La Procréation Médicalement Assistée

Généralités, étiologies de l'infertilité

Comme introduit précédemment, l'infertilité est définie par une incapacité de concevoir après 12 mois de relations sexuelles non protégées. Elle touche de plus en plus de couples et ceux-ci sont amenés à consulter dans des centres spécialisés. Au Canada, la prévalence est de 14%, soit 445 500 couples [2]. La hausse de cette prévalence peut être expliquée par le fait qu'un nombre croissant de couples au Canada reportent le moment d'avoir des enfants, mais par différents facteurs environnementaux, notamment l'obésité, le tabagisme ou les infections sexuellement transmissibles.[3]

L'infertilité est classée en infertilité primaire (aucun antécédent de grossesse) ou secondaire (antécédent de grossesse incluant toutes les grossesses, qu'elles soient spontanées ou issues de traitement de procréation médicale, fausse couche spontanée, interruption volontaire de grossesse). Parmi les couples infertiles, on peut classer les étiologies de l'infertilité de la façon suivante : 50% des étiologies sont féminines, 35% des étiologies sont masculines, 20% de causes mixtes, 15% de causes inexplicables et 5% de causes rares. [9]

Infertilité d'origine féminine :

Les causes d'infertilité d'origine féminine sont réparties de la façon suivante :

Les principales causes d'infertilité sont les dysfonctions ovulatoires (représentant environ 40% des causes d'infertilité d'origine féminine), les pathologies tubaires et pelviennes (40%). Les pathologies utérines sont relativement rares (10%), et 10% des causes demeurent inexplicables.[9]

Les causes anovulatoires concernent préférentiellement les patientes plus jeunes. Les anovulations peuvent être liées à des troubles thyroïdiens, une hyperprolactinémie, des pathologies surrénaliennes, des anomalies de l'axe gonadotrope telles que les tumeurs hypophysaires ou ovariennes, des troubles psycho-nutritionnel (maigreur extrême ou activité physique trop intense), une obésité ou encore un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK).

Le SOPK concerne plus de 5% des femmes, qui peuvent être infertiles en raison d'une dysovulation liée à un dérèglement hormonal et notamment un hyperinsulinisme. Le SOPK représente environ 70% des causes d'infertilité par anovulation.

Certaines patientes ont une anovulation par insuffisance ovarienne prématurée, c'est-à-dire une atrésie plus ou moins accélérée du stock folliculaire. Celle-ci peut être liée à différents facteurs (antécédents de chirurgie ovarienne, de traitements toxiques pour les gonades (chimiothérapie, radiothérapie), syndromes génétiques ou pathologies auto-immunes...).

Les causes d'infertilité peuvent aussi être mécaniques. C'est le cas des pathologies tubaires : antécédents de salpingite responsable d'obstruction, d'inflammation et d'adhérences tubaires; ligature tubaire; salpingostomie ou salpingectomie suite à une grossesse ectopique.

L'endométriose est une cause importante d'infertilité. Elle concerne 2 à 10 % des femmes en âge de procréer (mais sa prévalence est sous-estimée en raison du manque de techniques diagnostiques non invasives) et jusqu'à 50% des femmes qui souffrent d'infertilité. Du tissu endométrial réceptif aux sécrétions hormonales se développe en dehors de la cavité utérine. Différentes localisations sont possibles : péritonéale (avec adhérences et obstruction

tubaire), ovarienne (endométriomes responsables d'une mauvaise réponse à la stimulation), myomètre (adénomyose responsable de troubles de l'implantation).[10]

Des malformations utérines, une obstruction cervicale, des fibromes qui ont un impact sur la cavité utérine sont des causes plus rares responsables d'infertilité.[9]

Enfin, l'âge a un impact sur la fertilité. Il existe un pic maximal de fertilité vers 20-24 ans, puis on observe une décroissance mineure vers 30-32 ans puis de façon progressive chez les femmes plus âgées.[11]

Infertilité d'origine masculine :

Chez les hommes, on peut catégoriser les causes d'infertilité en quatre groupes :

- Les troubles d'origine hypothalamo-hypophysaire, qui peuvent être d'origine congénitale (syndrome de Kallman, mutations génétiques diverses) ; acquise (tumeurs hypothalamiques ou hypophysaires, méningite) ou d'origine systémique (sarcoïdose, histiocytose, hémochromatose, obésité, maladies chroniques).
- Les dysfonctions gonadiques : syndrome de Klinefelter, délétions du chromosome Y, mutations génétiques, cryptorchidie, varicocèles, infections (orchépididymite, tuberculose), prise de toxiques (agents alkylants, alcool, toxiques professionnels), antécédents de radiothérapie ou d'orchidectomie pour cancer, maladies chroniques (insuffisance rénale, cirrhose, cancer..), antécédent de traumatisme, de torsion testiculaire nécessitant une chirurgie.
- Les troubles du transport spermatique, responsables d'altération qualitatives et quantitatives du sperme : dysfonction ou obstruction épидидymaire, mucoviscidose avec agénésie bilatérales des canaux déférents, infections responsables d'obstruction des canaux déférents, vasectomie, dysfonction éjaculatoire.
- Les causes idiopathiques.[9]

Infertilité d'origine mixte :

Il existe également des causes d'infertilité liées à la fois à un facteur masculin et à un facteur féminin, on parle de facteur mixte.

Infertilité idiopathique :

Beaucoup de causes demeurent encore inconnues, on parle alors d'étiologie idiopathique.

Bilan d'infertilité

Le bilan d'infertilité est réalisé chez la femme, chez l'homme et au sein du couple infertile.[9]

Chez la femme :

Un interrogatoire détaillé des antécédents personnels et familiaux, incluant l'âge des premières règles, la fertilité antérieure, les caractéristiques des cycles, les traitements, la profession, les habitudes de vie (consommation de tabac, d'alcool et de drogues), les antécédents de maladie sexuellement transmissible, sera effectué.

La femme réalisera une courbe de température afin de déterminer s'il y a une ovulation.

Un examen clinique gynécologique et un bilan biologique seront faits. Le bilan initial comprend une évaluation de la réserve ovarienne entre J2 et J5 du cycle menstruel (dosages hormonaux : AMH = reflet de la réserve ovarienne, FSH, et oestradiol) et

échographie endovaginale permettant un compte du nombre de follicules antraux (CFA)). Les autres dosages biologiques sont la prolactine et la TSH. Un bilan androgénique sera réalisé en cas de suspicion de syndrome des ovaires polykystiques.

Une hystérosonographie ou hystérosalpingographie sera systématiquement réalisée et permettra d'objectiver la perméabilité tubaire et d'identifier la présence éventuelle d'un hydrosalpinx. Une hystéroscopie ou coelioscopie complémentaire pourra être prescrite.

Chez l'homme :

Un interrogatoire détaillé des antécédents personnels et familiaux, incluant la recherche d'une cryptorchidie à la naissance, les traumatismes testiculaires dans l'enfance, la fertilité antérieure, les traitements, la profession, les habitudes de vie (consommation de tabac, d'alcool et de drogues) sera effectué.

Un examen clinique à la recherche d'une varicocèle sera fait. En cas de varicocèle détectée cliniquement, une échographie testiculaire sera réalisée.

Un spermogramme avec spermoculture sera réalisé systématiquement, avec contrôle à 3 mois en cas d'anomalies. La recherche d'altérations de la qualité de l'ADN des spermatozoïdes peut être proposée : c'est le test de fragmentation d'ADN.

Bilan du couple :

L'interrogatoire du couple renseigne sur la durée de l'infertilité, la fréquence des rapports, les éventuelles conceptions d'une union antérieure, les troubles de la sexualité.

Un bilan biologique pour le couple est réalisé, comprenant les sérologies virales (VIH, hépatites, syphilis) est systématique.

Chez la femme, un bilan pré-conceptionnel plus poussé est réalisé, incluant une formule sanguine complète, une détermination du groupe sanguin avec recherche d'anticorps, des sérologies infectieuses telles que hépatites B, C, VIH, syphilis et des prélèvements à la recherche d'infection à gonocoque et chlamydia.

Traitements

La prise en charge initiale de tout couple infertile commence par la correction des facteurs modifiables : perte de poids en cas d'obésité, arrêt du tabac si tabagisme actif, éviction des toxiques environnementaux et professionnels identifiés, correction d'une carence en fer chez la femme, chirurgie dans certains cas de pathologies diagnostiquées lors du bilan initial. La prise de multivitamines et d'acide folique diminue le risque d'infertilité d'origine anovulatoire chez la femme.[12, 13]

Les différentes techniques de procréation médicalement assistée (PMA) seront détaillées ci-après.

Stimulation ovarienne simple et induction de l'ovulation :

Pour les patientes présentant une dysfonction ovulatoire, le but est de stimuler les ovaires pour induire l'ovulation (d'un seul ovocyte afin d'éviter le risque de grossesse multiple) puis que la fécondation se déroule physiologiquement *in vivo* (après un rapport sexuel ou après insémination intra utérine, c'est le cas des patientes avec SOPK par exemple). Les patientes avec infertilité inexplicite bénéficieront d'une stimulation ovarienne simple associée en général avec une insémination intra utérine.

Les traitements sont le Citrate de Clomifène ou le Letrozole (par comprimés) +/- avec déclenchement de l'ovulation par injection d'HCG.

La surveillance (monitorage du cycle) se fait par échographies (évaluation de la croissance folliculaire). Un rapport sexuel ou une insémination intra utérine sont programmés au moment de l'ovulation (test de LH, déclenchement par injection HCG).[9]

« Superovulation » :

Pour les patientes avec des troubles ovulatoires de type hypogonadisme hypogonadotrope ou en cas d'échec de traitement par Citrate de Clomifène ou Letrozole, la superovulation est effectuée par injections de gonadotrophines et l'ovulation est déclenchée par injection

d'HCG, et couplée à une insémination intra-utérine. Le monitoring de l'ovulation comprend une surveillance échographique pour diminuer le risque de grossesse multiples et le risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne.[9]

Insémination intra-utérine (IUI) :

Le but est de déposer les spermatozoïdes dans l'utérus pour permettre une fécondation *in vivo*.

L'insémination peut se dérouler lors d'un cycle naturel, ou lors d'un cycle stimulé par Citrate de Clomifène / Létrozole ou par des injections quotidiennes de gonadotrophines (FSH) +/- avec déclenchement de l'ovulation par une injection d'HCG.

36h post déclenchement de l'ovulation, un recueil d'éjaculat frais est effectué ou un éjaculat congelé est utilisé (notamment pour les inséminations avec donneur) pour réaliser l'insémination intra-utérine.

Fécondation in vitro naturelle (FIV nat) et la fécondation in vitro naturelle modifiée :

Le but de la FIV nat est de recueillir l'ovocyte issu d'un cycle naturel (sans ajout de traitement médicamenteux). La FIV naturelle modifiée consiste en l'ajout concomitant de gonadotropines et d'agonistes de la GnRH afin d'augmenter les chances d'obtenir l'ovule lors de la ponction en évitant le pic de LH endogène et l'atrésie du follicule.

Le traitement pour la FIV naturelle modifiée consiste en la réalisation d'injections quotidiennes de gonadotrophines (FSH) à faible dose et d'agoniste de la GnRH, avec un monitoring régulier par échographies et prise de sang tous les 2-3 jours pour évaluer la croissance des follicules et les taux d'oestradiol et de progestérone. Grâce à cette surveillance, on pourra déclencher l'ovulation par injection d'HCG au moment opportun.

La ponction de l'ovocyte a lieu 36h plus tard, sous sédation et anesthésie locale, puis se déroule la FIV au laboratoire d'embryologie.

Le transfert frais d'embryon a lieu 2 jours plus tard. L'embryon peut être congelé et transféré ultérieurement, si les conditions d'implantation ne sont pas optimales.[9]

Fécondation in vitro stimulée (FIV stim) :

Le but est de stimuler les ovaires pour induire l'ovulation de TOUS les ovocytes, puis de ponctionner les ovaires pour TOUS les recueillir.

Les traitements consistent en des injections quotidiennes de gonadotrophines à fortes doses, couplés à d'autres thérapeutiques qui permettent de différencier plusieurs types de protocoles. Ces différents protocoles sont détaillés ci-dessous :

Les protocoles dits « protocoles longs » consistent en l'introduction d'agoniste de la GnRH avant la stimulation par gonadotrophine. Le traitement par agoniste de la GnRH débute environ une semaine après confirmation d'une ovulation et le début de la stimulation par GnRH a lieu lors de la confirmation de la désensibilisation (suppression la sécrétion endogène de GnRH). Ceci permet d'éviter un pic prématuré de LH endogène. La stimulation par gonadotrophine est poursuivie jusqu'à maturité des follicules. Ces protocoles ont été les standards de stimulation pour les cycles de FIV à partir des années 1980.

Les protocole dits « courts » sont une alternative aux protocoles longs, et associent des injections d'agoniste de la GnRH à partir de J2 du cycle et des gonadotrophines à partir de J4 du cycle. L'effet flare-up est utilisé (correspondant à une élévation endogène de FSH en réponse aux agonistes administrés) avant de débiter les injections de gonadotrophines qui augmenteront de façon exogène le taux de FSH.

Le protocole Flare est une alternative au protocole court, qui permet la programmation du cycle de stimulation : une prise d'une pilule oestroprogestative en phase lutéale du cycle précédent et permet de débiter le traitement par agoniste au début des menstruations et les gonadotrophines à J4.

Le protocole antagoniste est une autre option de traitement, qui offre des avantages par rapports aux traitements par agonistes. Les injections de gonadotrophines sont débutées au début du cycle, et des injections d'antagonistes de la GnRH sont ajoutées pour bloquer les récepteurs à la GnRH. Ils permettent d'éviter un pic de LH endogène, l'effet flare-up ou une

longue période de rétrocontrôle négatif comme lors de l'utilisation des agonistes et également sans que surviennent les effets secondaires hypo-œstrogéniques.

Les antagonistes inhibent directement et rapidement la libération de gonadotrophines en quelques heures grâce à une liaison compétitive aux récepteurs hypophysaires de la GnRH. Cette propriété permet leur utilisation à tout moment au cours de la phase folliculaire.

Il a été également démontré que l'incidence de syndrome d'hyperstimulation ovarienne (OHSS) est plus faible chez les femmes recevant des antagonistes.[9]

Quel que soit le protocole utilisé, un monitoring échographique (mesure de la taille des follicules et de l'épaisseur endométriale) et biologique (oestradiolémie, progestéronémie +/- taux de LH) est réalisé tous les 3 jours environ, et des ajustements de doses de traitements sont effectués. L'ovulation est déclenchée par une injection d'hCG lorsque le ou les follicules sont à maturité (diamètre folliculaire d'environ 17 ou 18mm, et oestradiolémie reflétant la cohorte de follicules matures). En général, sept à douze jours de stimulation sont nécessaires.

La ponction ovocytaire a lieu 36h après l'injection d'hCG, sous sédation et anesthésie locale et tous les ovocytes matures (métaphase II) sont fécondés au laboratoire d'embryologie.

Un transfert frais d'embryon peut avoir lieu 3 à 5 jours plus tard si les conditions d'implantation sont optimales. Les embryons surnuméraires sont congelés pour être transférés ultérieurement.

Voir **Figure 4** ci- après.

Techniques masculines de recueil de spermatozoïdes :

Un éjaculat standard est recueilli après 3 jours d'abstinence. Cet éjaculat va être technique (processus de lavage) et peut ensuite être immédiatement utilisé ou alors congelé pour une utilisation ultérieure. Les éjaculats standards peuvent convenir pour les inséminations ou les FIV.

Il existe des techniques de recueil endoscopique des spermatozoïdes dans les canaux déférents par voie transurétrale, et également des techniques microchirurgicales de ponction/extraction spermatique : *Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration (PESA)* et *Testicular Epididymal Sperm Aspiration (TESA)* qui permettent l'extraction des spermatozoïdes à l'aide de ponction testiculaire/épididymaire à l'aiguille ou encore *Testicular Epididymal Sperm Extraction (TESE)* qui permet l'extraction des spermatozoïdes par une petite incision au niveau du testicule. À l'issue de ces trois techniques, seule l'ICSI pourra être envisagée.[9]

Don de gamètes

Le don de sperme peut être nécessaire pour procéder à une insémination intra utérine ou une FIV. On parle de d'insémination avec donneur (IAD) ou de FIV avec donneur (FIVAD). Les banques de donneurs de sperme sont réglementées par les guidelines de l'American Society for Reproductive Medicine, afin d'éviter les risques de transmissions de maladies infectieuses et génétiques.

Les indications de recours à l'usage de sperme de donneur sont les échecs de recueil de spermatozoïdes, les troubles sévères du spermogramme, certaines anomalies génétiques d'origine ou de transmission masculine qui ne peuvent être diagnostiquées par un diagnostic préimplantatoire, les infections sexuellement transmissibles non curables d'origine masculine, les couples femme-femme ou pour les femmes seules en parcours de procréation médicalement assistée.

Il peut s'agir de don dirigé ou de sélection de paillettes congelées dans une banque de sperme.

Le don d'ovocyte est également une option dans certains cas. Les indications sont un âge maternel avancé (> 42 ans), une réserve ovarienne très faible, une mauvaise qualité ovocytaire lors de plusieurs tentatives de FIV, des échecs de stimulation ou encore une ponction ovocytaire impossible, les femmes qui sont atteintes d'une anomalie génétique transmissible ou qui ne peut être déterminée par un diagnostic préimplantatoire.

Les options sont le don dirigé ou la banque de don d'ovocytes (qui n'existe pas au Canada, mais qui est possible aux USA, au Mexique et dans certains pays d'Europe). Les banques d'ovocytes suivent également les guidelines de l'American Society for Reproductive Medicine.[14]

FIV/ICSI

La FIV classique consiste au dépôt des spermatozoïdes (issus d'un éjaculat frais ou décongelé), autour de chaque ovocyte recueilli. La boîte de culture contenant ces ovocytes et les spermatozoïdes vont dans un incubateur à 37°C, dans un milieu contenant un liquide nutritif afin d'optimiser les chances de fécondation. La FIV par ICSI est une technique qui consiste à injecter un spermatozoïde unique directement dans le cytoplasme de l'ovule sous contrôle microscopique. Voir **Figure 5** ci-après.

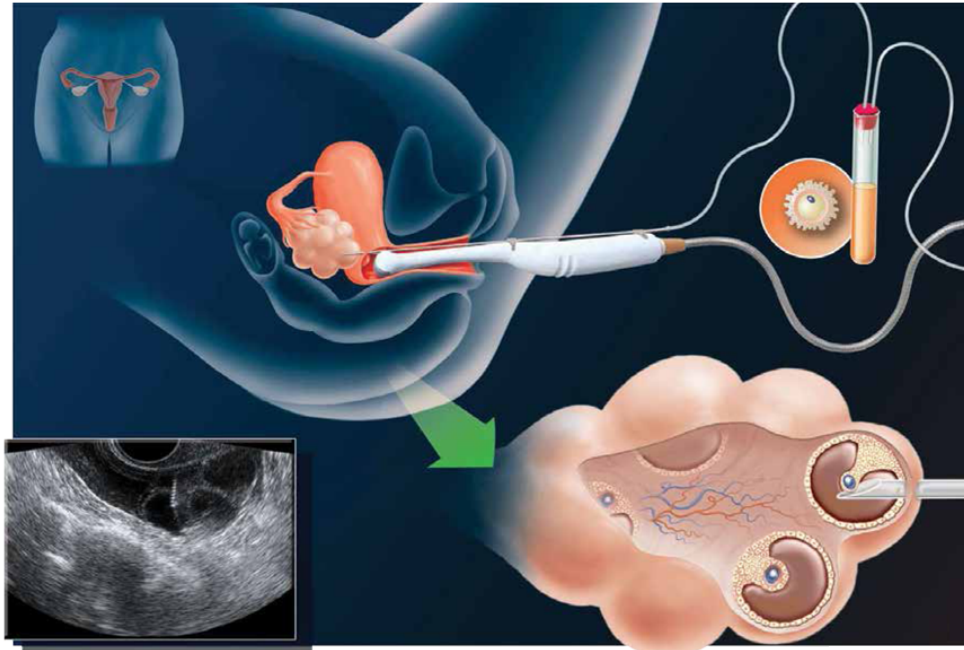


Figure 4. La récupération des ovocytes

Image © Dr. J. Herrero Garcia, provided by EMD Serono, Canada
<http://www.cliniqueovo.com/fertilite/traitements-et-services/techniques-de-procreation-assistee/>

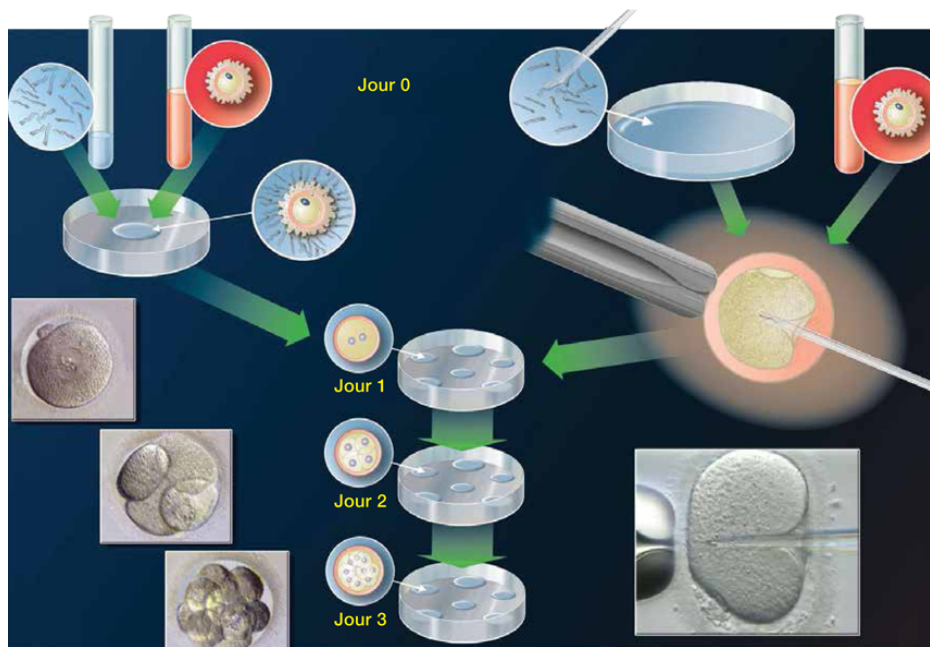


Figure 5. Les techniques de FIV et d'ICSI

Image © Dr. J. Herrero Garcia, provided by EMD Serono, Canada
<http://www.cliniqueovo.com/fertilite/traitements-et-services/techniques-de-procreation-assistee/>

Croissance embryonnaire en milieu de culture

Jour 0 : C'est le jour du prélèvement des gamètes. Le prélèvement d'ovules et de spermatozoïdes est suivi de la fécondation. La fécondation nécessite un ovule mature. L'ovule mature se trouve au stade de la métaphase II et le globule polaire est présent. L'ovule va être inséminé par un spermatozoïde, soit par une technique de fécondation in vitro (FIV) classique, soit par injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI).

Jour 1: Observation de la fécondation (16 à 18 heures après la fertilisation). L'ovule fécondé présente 2 pronucléi (2PN) : le 1er pronucléus contient le matériel génétique de la mère et le 2ème pronucléus contient le matériel génétique du père.

Jour 2: Observation du développement embryonnaire (36 à 48 heures après la fertilisation). Les embryons sont évalués en fonction du nombre de blastomères présents, du degré de division, de la granulation et de la vacuolisation. A 36h, un embryon peut être au stade de 2 blastomères puis au stade de 4 blastomères à 48h.

Jour 3 : Observation du développement embryonnaire (72 heures après la fertilisation). L'embryon qui se développe normalement présente au jour 3 de 6 à 8 blastomères. A partir du 3^{ème} jour, il est possible de procéder au transfert d'embryon.

Jour 4: Observation de la qualité des embryons (96 heures après la fertilisation). Les blastomères deviennent plus petits, leur nombre croît, les frontières entre les blastomères s'effacent. A ce stade l'embryon est appelé morula compactée (CM).

Jour 5: Appréciation de la qualité des embryons (120 heures après la fertilisation). Du liquide s'accumule au centre de l'embryon et la morula prend le nom de blastocyste. On peut observer de jeunes blastocystes, qui sont alors appelés early blastocyst (EB). Le 5^{ème} jour de développement, il est également possible de procéder au transfert embryonnaire.

Jour 6: Appréciation de la qualité des embryons (144 heures après la fertilisation). Les embryons surnuméraires de bonne qualité sont congelés. Ils devraient se trouver au stade de blastocystes expansés (XB) ou de blastocystes éclos (HB).

Transfert d'embryon frais et transfert d'embryon congelé

Après 3 ou 5 jours de culture au laboratoire d'embryologie, un (voire deux) embryon(s) peuvent-être transféré(s) dans la cavité utérine, sous contrôle échographique. En cas d'excès d'embryons ou d'endomètre non propice à la nidation après la FIV, les embryologistes procèdent à la congélation et au stockage des embryons dans des cuves d'azote liquide.

Les embryons qui sont mis en culture jusqu'au jour 6 sont systématiquement congelés car l'endomètre n'est plus propice à l'implantation à J6.

En général à la **clinique ovo**, on continue la culture d'embryon jusqu'au jour 5 pour les patientes de 40 ans et moins, si elles ont au moins 4 embryons de bonne qualité au jour 3. Il existe des centres où la culture est poursuivie jusqu'au jour 7.

Si les blastocystes ne sont pas prêts au jour 5, on continue la culture et on vitrifie le jour 6.

La décongélation d'un embryon peut avoir lieu, après monitoring d'un cycle naturel ou substitué (par supplémentation hormonale), pour procéder au transfert lorsque l'endomètre est prêt pour l'implantation.

Une supplémentation en progestérone est débutée en général le jour de la ponction ou le jour du transfert, afin de soutenir la phase lutéale et améliorer les chances d'implantation. Après le transfert, la supplémentation sera faite jusqu'à 10 semaines (si la grossesse évolue correctement) pour améliorer les taux d'implantation et de grossesse clinique évolutive. Il peut s'agir d'injection intramusculaire quotidienne de progestérone, d'ovule de progestérone intra-vaginale, ou encore de patch transdermique. Aucune étude n'a prouvé la supériorité d'une voie d'administration par rapport à une autre et aucune durée optimale de traitement n'a été démontrée.

Voir **Figure 7** ci-après.

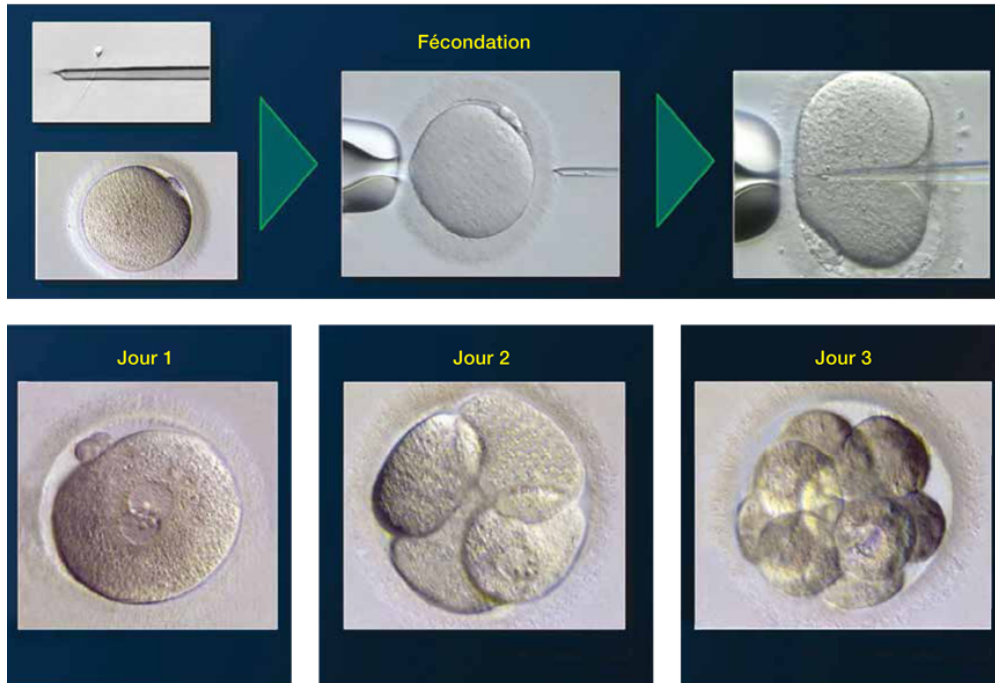


Figure 6. **Évolution de la croissance embryonnaire *in vitro***

Image © Dr. J. Herrero Garcia, provided by EMD Serono, Canada
<http://www.cliniqueovo.com/fertilite/traitements-et-services/techniques-de-procreation-assistee/>

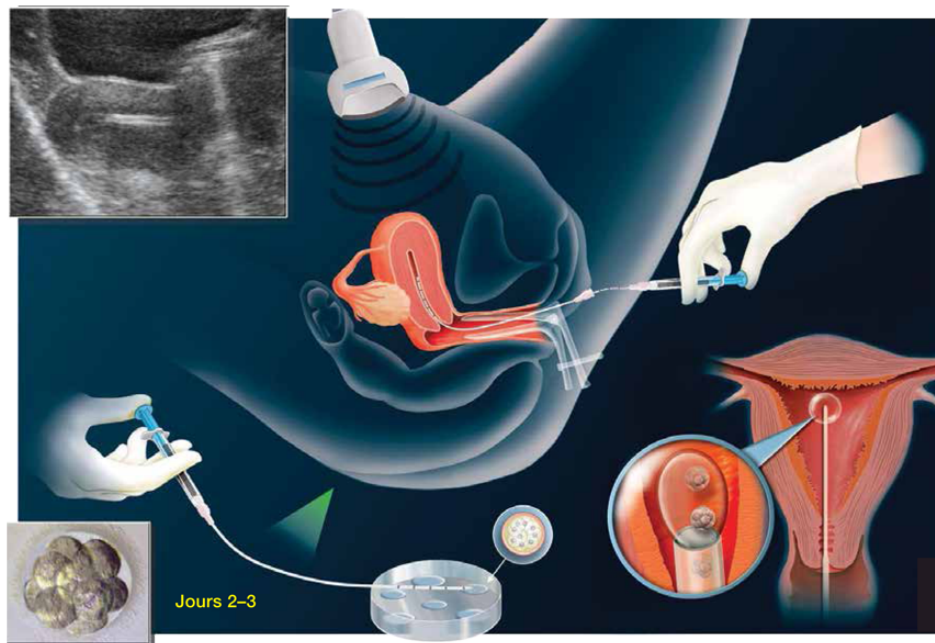


Figure 7. **Le transfert d'embryon**

Image © Dr. J. Herrero Garcia, provided by EMD Serono, Canada
<http://www.cliniqueovo.com/fertilite/traitements-et-services/techniques-de-procreation-assistee/>

Suivi de grossesse jusqu'à l'accouchement

Un test de grossesse est réalisé 2 semaines après le transfert d'embryon. Il s'agit de la détection de β hCG par dosage sanguin. Une prise de sang est réalisée et, en cas de résultat positif (>2 UI/L), un contrôle est fait à 48h afin d'évaluer la cinétique d'évolution. Une cinétique est dite satisfaisante si le taux β hCG sanguin double à 48h. Un résultat négatif signifie qu'il n'y a pas de grossesse. En cas de stagnation du taux de β hCG sanguin, une troisième prise de sang est réalisée pour voir l'évolution. Un suivi rapproché par échographie et prise de sang est réalisé pour vérifier la localisation et l'évolution de la grossesse car il ne faut pas méconnaître une grossesse ectopique.

Si la cinétique est satisfaisante (le taux β hCG sanguin doit doubler à 48h), une échographie endo-vaginale est réalisée 7 semaines après le transfert afin d'objectiver la grossesse.

Cette échographie permet de détailler le nombre de fœtus, la localisation de la grossesse (vérifier que le sac gestationnel est intra-utérin), la viabilité du fœtus (cœur fœtal positif). Une mesure de la taille de fœtus est réalisée pour estimer l'âge gestationnel et le comparer à la date du transfert.

Par la suite, le suivi clinique de la grossesse est effectué lors de consultations mensuelles. Différents paramètres cliniques et biologiques maternels sont à surveiller et il existe différents programmes de dépistage de pathologies obstétricale et fœtale.

Par exemple, le dépistage pré-natal de la trisomie 21 est notamment recommandé : il s'agit d'un test combinant des marqueurs biologiques et échographique (mesure de la clarté nucale au premier trimestre de grossesse), ainsi que l'âge de la mère.

Le suivi échographique permet la surveillance de la croissance fœtale et le dépistage d'anomalies morphologiques.

Une grossesse normale se poursuit jusqu'à 39 semaines de grossesse (41 semaines d'aménorrhées). Le travail peut être physiologique ou déclenché, et l'accouchement par voie vaginale ou par césarienne.

1.8 La législation au Québec

Le projet de **loi 20** a été adopté le 10 novembre 2015 par le gouvernement du Québec. Le texte de loi met fin à la gratuité du programme de procréation assistée et remplace celui-ci par un système de crédits d'impôt pour les familles à faible revenu.

La gratuité est maintenue uniquement lorsque la fertilité est compromise, par exemple lorsqu'une personne subit des traitements de chimiothérapie, mais aussi pour les inséminations artificielles prescrites par un médecin. Il retire la couverture des cycles de FIV par le Régime d'assurance maladie du Québec (RAMQ).

Les femmes de 42 ans et plus sont admises dans le programme mais ne peuvent toucher les crédits d'impôt.

Il est interdit de transférer plus d'un embryon pour les femmes âgées de 36 ans et moins. Un maximum de deux embryons peut être transféré chez les femmes âgées de 37 ans et plus, avec des critères d'exception. Pour les patients éligibles (pas d'enfants, vasectomie ou ligature de trompes), la couverture RAMQ pour les traitements de fertilité est remplacée par un crédit d'impôt (jusqu'à un maximum de \$ 20,000) basé sur le revenu familial.

Les patientes dont les traitements ont été débutés avant le 11 novembre 2015 demeurent couverts par la RAMQ jusqu'à la complétion du cycle.

En raison de cette loi, le nombre de patientes ayant accès aux traitements de FIV (à cause des considérations financières) a considérablement diminué.[15]

2) Contexte de l'étude

La PMA a considérablement évolué ces dernières années, et notamment les protocoles de stimulation ovarienne. Il existe différents types de médications, adaptés au profil des patientes. Tous ces protocoles sont constamment révisés afin de réduire les besoins de gonadotrophines lors de la stimulation ovarienne, d'améliorer le recrutement folliculaire, et d'augmenter les taux de naissances vivantes.

Les techniques de FIV ont également beaucoup évolué, avec l'apparition de l'ICSI (injection intracytoplasmique de spermatozoïde) et du PISCI (ICSI avec une sélection minutieuse du spermatozoïde), ce qui permet d'améliorer le taux de fécondation des gamètes.

Les techniques de culture des embryons ont elles aussi été améliorées, le tout pour permettre d'optimiser les chances de pouvoir transférer un embryon, pour maximiser les chances de naissances vivantes.

La **clinique ovo** de Montréal est une clinique spécialisée dans le domaine de la santé de la femme, et plus particulièrement dans les domaines de la fertilité, du dépistage prénatal, de la conservation du sang de cordon ombilical. Son objectif est l'amélioration continue des soins dans le but d'obtenir de meilleurs taux de naissances d'enfants en santé.

Le département de recherche et développement permet la mise en œuvre de nombreuses études et coordonne toutes les activités de recherche afin de traduire des résultats scientifiques en avancées médicales. **ovo r&d** se consacre à l'amélioration des connaissances dans les domaines de la gynécologie, du prénatal, de la fertilité et de la génétique de la reproduction.

Au vu du contexte imposé par la Loi 20 au Québec (en raison du coût des techniques de FIV), il est important d'obtenir rapidement des réponses à des questions étudiées dans différents projets. Il est nécessaire de pouvoir informer les patients à l'aide de chiffres concrets et de leur donner les meilleures chances de grossesse.

Le Dr Kadoch, directeur du département d'**ovo r&d** et directeur de recherche dans le cadre de mon programme de maîtrise en sciences biomédicales, m'a permis d'être initiée à la recherche (formation aux Bonnes Pratiques Cliniques) en m'incluant dans différents projets de recherche actuellement en cours ou qui viennent de se terminer.

Projet 1 : LH urinaire

Divers facteurs affectent le résultat dans le cadre de cycles d'insémination intra-utérine (IIU) incluant le moment précis de l'insémination. Dans un cycle d'IIU optimal, l'insémination coïncidera avec la libération de l'ovule mature (ovulation). Différentes techniques peuvent être utilisées pour prédire l'ovulation, dont le suivi échographique (actuellement utilisé à **ovo fertilité**).

Le projet LH urinaire est une étude randomisée contrôlée prospective, unicentrique, nécessitant un recrutement de 500 patientes.

Le but de cette étude est de déterminer si l'ajout d'un test urinaire pour mesurer le taux de LH en même temps que le suivi échographique de routine aidera à augmenter les chances de grossesse dans le cadre d'IIU comparativement à un suivi échographique sans ce test urinaire.

En collaboration avec les assistants de recherche et les médecins fertologues, j'ai participé au recrutement de patientes pour cette étude. Entre janvier 2011 et mars 2016, 294 cycles ont été randomisés (144 patientes dans le groupe étude et 150 patientes dans le groupe contrôle). Un abstract a été rédigé pour présenter les résultats de cette étude à l'ASRM en octobre 2016.[16] La conclusion est que l'ajout d'un test de LH urinaire au suivi échographique standard n'augmente pas les taux de grossesse en comparaison au monitoring échographique seul. Cependant, un pic de LH endogène se produit dans 11,8% des cycles d'IIU avant l'administration d'hCG lorsque la surveillance est basée sur l'échographie seulement. Dans ce cas, l'insémination survient trop tard et le taux de grossesse est plus faible.

Projet 2 : ESSURE

En plus de contribuer à l'infertilité, l'hydrosalpinx est associé à une réduction de 50% du taux de grossesse en fécondation *in vitro* (FIV). Lorsqu'il existe une communication entre l'hydrosalpinx et la cavité utérine, il peut se produire un reflux du liquide de l'hydrosalpinx dans la cavité utérine et un effet cytotoxique sur l'embryon. Il est donc important de traiter tout hydrosalpinx communiquant avant de faire un transfert d'embryon (TE). Différents traitements d'hydrosalpinx sont disponibles, y compris l'ablation des trompes affectées (salpingectomie) ou la ligature proximale des trompes. Certaines études ont examiné l'efficacité de l'occlusion proximale des trompes par hystéroscopie avec la mise en place d'un Essure, qui est une bobine faite d'un alliage de nickel-titane, dans la ou les trompes de Fallope affectées.

Le projet ESSURE est une étude de type « case-serie » rétrospective permettant l'évaluation des issues de grossesse chez les patientes ayant recours à la FIV et au transfert d'embryon après pose de dispositif ESSURE en raison d'un diagnostic d'hydrosalpinx. L'objectif primaire de l'étude est le taux de grossesse clinique.

Après avoir effectué une révision des dossiers médicaux pour définir l'éligibilité des sujets, j'ai procédé au recrutement des participantes (premier contact par appels téléphoniques et recueil du consentement éclairé), puis à la création d'une base de données complète après analyse des dossiers de ces patientes.

Au total, sur 76 patientes répertoriées comme possiblement éligibles à l'étude, 29 participantes ont été recrutées. L'analyse des données est en cours par la fellow responsable du projet et une publication est prévue pour l'année 2017.

Projet 3 : Cumulative Pregnancy Rate

Le taux de grossesse cumulé représente la chance globale d'une grossesse après la FIV. Il est calculé après utilisation de tous les embryons frais ou congelés du même cycle de FIV / ICSI.

Le critère d'évaluation principal est le taux de grossesse clinique évolutive, défini comme la présence d'un cœur fœtal positif objectivé lors de l'échographie réalisée à 7 semaines de grossesse.

L'étude CPR est une étude rétrospective, réalisée dans le but d'évaluer les taux cumulés de grossesse chez les patientes de bon pronostic ayant bénéficié d'une FIV avant ou après le 5 août 2010. Avant cette date, plusieurs embryons étaient transférés simultanément alors que depuis cette date, le gouvernement Québécois a établi une loi qui implique de procéder au transfert d'un seul embryon par cycle dans la majorité des cas (le nombre d'embryon à transférer est déterminé par l'âge de la patiente).

J'ai participé à la mise à jour d'une base de données déjà existante, correspondant à 297 cycles de FIV réalisés entre janvier 2008 et décembre 2009 et 610 cycles effectués entre janvier 2012 et décembre 2013. Une première présentation orale a été faite en avril 2016 aux journées de la recherche de l'université de Montréal. Il a été montré une différence non significative entre les taux cumulatifs de naissance vivante (44.8% pour la période de 2008-2009 et 40.3% pour la période de 2012-2013, $p = 0.134$).

Une seconde analyse des données est en cours par la fellow responsable du projet, et une publication est prévue pour l'année 2017.[17]

Projet 4 : Placental Growth Factor (PIGF)

Cette étude prospective, de recrutement uni centrique à la **clinique ovo**, a été réalisée par **ovo prénatal** et s'est déroulée en collaboration avec Perkin Elmer et le Dr Howard Cuckle de l'Université de Leeds.

La pré-éclampsie est une condition clinique caractérisée par une élévation de la pression artérielle et la présence de protéines dans l'urine chez la femme enceinte au cours de la période de gestation. Cette condition est généralement diagnostiquée et traitée lors de la deuxième moitié de la grossesse, toutefois une détection au premier trimestre permet de réduire les risques de complications. Afin de mieux prédire l'apparition précoce de la pré-éclampsie chez les femmes enceintes, la **clinique ovo** évalue deux marqueurs biochimiques présents dans le sang maternel au premier trimestre, le PIGF et le PIBF, lesquels seraient associés à cette condition clinique. De plus, cette étude évalue si ces molécules permettent d'augmenter les taux de détection de la Trisomie 21 et d'autres aneuploïdies lors du dépistage prénatal. Ce projet a été clôturé avant la fin du recrutement car PerkinElmer a permis la commercialisation du dosage du PIGF suite à la réalisation d'une étude parallèle concluante. Ce nouveau dosage du facteur de croissance placentaire est conçu pour aider les médecins à dépister les femmes enceintes pour la pré-éclampsie précoce durant le premier trimestre de grossesse.

Entre 2013 et 2015, 367 patientes ont été incluses dans cette étude et j'ai participé au recueil de données pour les issues post-natales (appels téléphoniques) et à l'analyse de dossiers médicaux pour établir une base de données. La collecte de toutes ces données est actuellement terminée et une analyse va pouvoir débuter afin de pouvoir publier les résultats en 2017.

Projet 5 : Thérapie avec hormone de croissance en FIV, un essai randomisé contrôlé

Il s'agit du projet de recherche principal pour cette année de maîtrise en sciences biomédicales.

Ce projet, initié en 2014 par le Dr Kadoch (investigateur principal), est un essai randomisé contrôlé de phase III, réalisé par **ovo fertilité** en collaboration avec EMD Serono Canada.

Le but de cette étude est de déterminer l'efficacité de la thérapie avec hormone de croissance comme un supplément à l'utilisation des gonadotrophines dans un protocole de FIV antagoniste.

J'ai participé au recrutement de patientes en collaboration avec les infirmiers de recherche, mais aussi à la collecte de données, et aux analyses statistiques dans le but de pouvoir procéder à la rédaction de ce mémoire et à la publication d'un article.

3) Le projet de recherche sur l'hormone de croissance

1. Rationnel de l'étude

L'hormone de croissance (GH) est une hormone peptidique, synthétisée, stockée et sécrétée par les cellules somatotropes situées dans l'hypophyse antérieure. La GH peut être produite synthétiquement en utilisant la technologie de l'ADN recombinant et est autorisée à être utilisée chez l'Homme.[18]

La justification de l'ajout de GH pour améliorer les taux de grossesse en FIV est basée sur des données à la fois animales et humaines, qui suggèrent que la GH joue un rôle important dans la stéroïdogenèse ovarienne et le développement folliculaire. Chez les souris dépourvues de récepteur à la GH, le développement folliculaire est significativement réduit après injection de gonadotrophines[19]. En outre, des études chez le lapin ont montré que la GH peut augmenter la production intra-ovarienne d'insuline-like growth factor 1 (IGF-1)[20], qui semble jouer un rôle important dans la fonction ovarienne en stimulant le développement folliculaire, la production d'oestrogène et la maturation des ovocytes[20]. Chez la femme, l'action accrue des gonadotrophines modulée par l'IGF-1 a été expliquée par plusieurs mécanismes, comprenant une augmentation de l'activité de l'aromatase, de la production de 17-bêta-oestradiol et de progestérone et la formation de récepteurs à hormone lutéinisante[21].

L'amélioration des résultats en FIV par l'utilisation d'un traitement avec GH est particulièrement importante chez les femmes qui sont à risque d'une mauvaise réponse à la stimulation ovarienne. Les taux de grossesse dans les traitements de FIV diminuent significativement avec l'âge, en particulier chez les femmes âgées de plus de 35 ans[22]. La mauvaise réponse à la stimulation ovarienne représente un défi thérapeutique important dans les technologies de reproduction assistée[23]. L'incidence de la mauvaise réponse ovarienne a été estimée entre 9 et 24%. Plusieurs facteurs ont été associés à une mauvaise réponse ovarienne comprenant l'âge des femmes[24], un antécédent de chirurgie ovarienne

[25] et un indice de masse corporelle élevé[26]. Néanmoins, une mauvaise réponse ovarienne peut se produire de façon inattendue[27].

Des études cliniques ont montré que la GH peut être utile pour certaines patientes, mais pas pour toutes les femmes infertiles. La plupart des études précédentes ajoutant de la GH à des protocoles de FIV ont été menées avec des populations hétérogènes non testées pour un état de carence en GH, ce qui peut expliquer les différences dans les résultats du traitement. Parce que la GH, à la fois directement et indirectement par l'intermédiaire de l'IGF-1, régule les fonctions de reproduction, l'IGF-1 devrait être testé chez les femmes comme une cause possible de l'infertilité, afin d'identifier un sous-groupe de patients présentant un déficit en GH occulte[28].

À ce jour, un nombre limité d'études a été réalisé afin d'évaluer si l'ajout de GH permet d'améliorer la probabilité de grossesse chez les femmes subissant une stimulation ovarienne. De plus, les études existantes manquent de puissance et, par conséquent, sont peu concluantes. Dans deux études (39 participantes au total) évaluant l'effet de l'utilisation systématique de GH dans les protocoles de FIV, aucun effet bénéfique n'a été constaté en termes de taux de naissances vivantes[29, 30], où les taux de grossesse ont été documentés[30]. Chez les femmes considérées comme mauvaises répondeuses, Tesarik et al, en 2005, [31] ont montré une augmentation du taux de grossesse et de naissances vivantes chez les femmes recevant la GH, mais ces résultats n'ont pas été reproduits par d'autres[32-37]. 10 essais randomisés contrôlés (440 couples au total) ont été analysés dans une récente revue systématique[18]. Cette revue montre que, même si un effet bénéfique avec l'ajout de GH était présent chez des femmes mauvaises répondeuses, son utilisation de routine en clinique n'a pas démontré de bénéfices. Toutefois, étant donné que le nombre total de patientes analysées est faible (seulement deux études pour l'utilisation de routine en clinique), d'autres essais contrôlés randomisés sont nécessaires.

Une étude sur l'ajout de GH dans les traitements de FIV et portant sur l'évaluation du cycle de stimulation et les taux de grossesse chez les patientes non catégorisées comme mauvaises répondeuse, chez lesquelles on dosera les taux d'IGF-1, semble donc pertinente.

2. Objectifs de l'étude

Le but de l'étude GH est de déterminer l'efficacité, et en particulier les taux de grossesse, de la thérapie avec hormone de croissance comme un supplément à l'utilisation des gonadotrophines dans un protocole antagoniste, chez les femmes en cycle de stimulation ovarienne pour une FIV en comparaison au groupe contrôle.

L'objectif primaire est de déterminer si les taux de grossesses cliniques évolutives sont meilleurs chez les patientes recevant un traitement par hormone de croissance en supplément du traitement par gonadotrophines dans un protocole de FIV antagoniste, lors d'un cycle avec transfert frais d'embryon.

L'objectif secondaire de l'étude est de déterminer l'efficacité, en analysant de nombreuses variables, de la thérapie avec hormone de croissance en supplément aux gonadotrophines lors d'un protocole antagoniste, en incluant tous les transferts d'embryons (frais et congelés).

3. Matériel et Méthodes

Sélection des participantes

Le projet GH est une étude monocentrique, qui s'est déroulée à la **clinique ovo**, à Montréal (Canada) à partir de juin 2014.

Les patientes âgées de 35 à 42 ans, diagnostiquées avec infertilité primaire ou secondaire et ayant une prescription de cycle de fécondation in vitro avec protocole antagoniste (incluant les protocoles SMART) ont été approchées par l'équipe de recherche du département **r&d** de la **clinique ovo**. Elles devaient avoir une réserve ovarienne incluant un dosage d'AMH supérieur à 0,5ng/mL et de FSH inférieur à 12 UI/L réalisé dans les 24 derniers mois.

Les critères d'exclusions étaient : la contre-indication au traitement par Saizen[®], la participation simultanée à un autre essai clinique ou l'administration d'une médication liée à

un essai clinique dans les 3 mois précédant la randomisation, un IMC > 35 kg/m², les patientes qui ont eu 4 échecs de transferts d'embryons ou plus, les patientes diabétiques ou à risque de diabète gestationnel, les patientes à risque infectieux (sérologie positive de la patiente ou de son conjoint pour le VIH, le VHB ou le VHC), les patientes incapables de communiquer en français ou en anglais.

Les patientes ayant déjà participé à un cycle de traitement avec le même protocole n'étaient pas éligibles à l'étude.

Cette étude a été approuvée par Santé Canada et par **ovo ethix**, le comité d'Éthique de la **clinique ovo**. Le Comité d'éthique de la recherche en santé (CERES) de l'université de Montréal a également étudié le projet et délivré un certificat d'éthique. (Voir le synopsis en **Annexe 1**)

Déroulement de l'étude

Les patientes répondant aux critères d'inclusion sont approchées par l'équipe de recherche pour recevoir les informations sur le projet. Celles qui sont intéressées sont invitées à signer le formulaire de consentement éclairé. Après la signature, les participantes recrutées sont randomisées à l'aide d'enveloppe scellées qui renferment le groupe d'assignation : groupe étude ou groupe contrôle. La visite 1 correspond au jour de la randomisation et est effectuée par une infirmière de recherche.

Les participantes assignées au groupe étude bénéficieront d'une stimulation ovarienne par doses adaptées de gonatrophines dans un protocole de FIV antagoniste et d'un traitement adjuvant par hormone de croissance (Saizen[®] 2,5mg). Les participantes assignées au groupe contrôle bénéficieront uniquement d'un traitement par doses adaptées de gonadotrophines et d'antagoniste.

Le protocole antagoniste comporte des injections de gonadotrophines qui sont débutées au début du cycle, et des injections d'antagonistes de la GnRH sont ajoutées pour bloquer les récepteurs à la GnRH.

Les antagonistes de la GnRH peuvent être utilisés pour prévenir un pic de LH lors de l'hyperstimulation ovarienne contrôlée (COH), sans les effets secondaires hypooestrogéniques, l'effet flare-up ou une longue période de rétrocontrôle négatif associée à l'utilisation des agonistes. Les antagonistes inhibent directement et rapidement la libération de gonadotrophines en quelques heures grâce à une liaison compétitive aux récepteurs hypophysaires de la GnRH. Cette propriété permet leur utilisation à tout moment au cours de la phase folliculaire. Plusieurs schémas différents ont été décrits, à savoir : des protocoles avec injection d'antagonistes à doses multiple fixe (0,25 mg par jour à partir du sixième ou septième jour de stimulation), à doses multiple flexible (0,25 mg par jour quand la taille d'un follicule est à 14 ou 15 mm), et à dose unique (une seule administration de 3 mg au jour 7 ou 8 de stimulation). En outre, il a été démontré que l'incidence de syndrome d'hyperstimulation ovarienne (OHSS) est plus faible chez les femmes recevant des antagonistes. [38]

La présente étude utilisera la dose multiple flexible (0,25 mg par jour). L'antagoniste est débuté quand un follicule est à 14 ou 15 mm. On se fie également à l'épaisseur endométriale et au taux d'oestradiol pour débiter l'antagoniste. À noter, le protocole SMART (Stimulation with Minimal Adverse effects, Retrieval and Transfer) est un protocole qui a été conçu à la **clinique ovo** dans le but d'éviter les effets indésirables des protocoles de FIV classique tels que les syndromes d'hyperstimulation ovarienne. La logique de ce protocole est de privilégier la qualité plutôt que la quantité embryonnaire. Un traitement par antiaromatase est initié et puis couplé à un traitement par gonadotrophines et un antagoniste est ajouté pour bloquer l'ovulation quand un follicule est à 14 ou 15mm de diamètre.

Les protocoles de traitement (antagoniste et SMART) utilisés dans cette étude sont détaillés en **Annexe 2** (*Protocole de stimulation*).

Lors de la visite 1, les données médicales (antécédents généraux, traitement et histoire d'infertilité) sont recueillies pour toutes les participantes. Une prise de sang est effectuée pour réaliser un dosage de l'IGF-1. Les signes vitaux (tension artérielle, fréquence cardiaque) et la glycémie capillaire sont également relevés. C'est à la fin de cette visite qu'a lieu la randomisation.

Par la suite, les participantes doivent appeler les infirmières de coordination dès l'apparition des menstruations. Celles-ci indiquent à la participante quand elle doit commencer l'Estrace et la participante doit de nouveau appeler pour indiquer le jour 1 de ses menstruations sous Estrace®. Les coordinatrices confirment aux patientes quel jour elles doivent débiter la stimulation par gonadotrophines et un rendez-vous est fixé au sixième jour de stimulation. Lors de ce premier rendez-vous de suivi, le monitoring est effectué par les médecins fertologues selon les standards de la clinique, à savoir par échographies (mesure de l'épaisseur de l'endomètre, du nombre et de la taille des follicules) et prises de sang (œstradiol, progestérone).

Plusieurs rendez-vous peuvent être nécessaires avant de procéder au déclenchement de l'ovulation et ce sont les infirmières coordinatrices qui transmettent les consignes de modifications de traitement ou de convocation à un nouveau rendez-vous par téléphone en après-midi.

Lorsque la maturité folliculaire est constatée en échographie lors du suivi, il est décidé de déclencher l'ovulation. Celle-ci est déclenchée par injection de 5000 UI d'hCG. L'heure d'injection est précisée à la patiente par téléphone par les infirmières coordinatrices. Le prélèvement ovocytaire doit avoir lieu 36h après, la participante est convoquée à la clinique pour la ponction. Le sperme du conjoint est recueilli le même jour. Tout le calendrier est détaillé en **Annexe 2** (*Protocole de stimulation*).

Les visites 2, 3 et 4 effectuées par une infirmière de recherche, ont lieu à la **clinique ovo** durant la période de stimulation ovarienne, à la suite des rendez-vous de suivi de stimulation. Les infirmières de recherche vérifient quotidiennement les convocations des

participantes pour le monitoring de croissance folliculaire. Elles vont à la rencontre des patientes qui sortent de leur rendez-vous d'échographie. Lors ces rencontres, les participantes bénéficient au minimum une fois d'une prise des constantes vitales et d'une prise de glycémie capillaire (uniquement si groupe étude). L'infirmière doit évaluer l'observance au traitement, questionner les participantes sur la survenue d'effets indésirables ou encore la prise de médication concomitante. C'est également lors de ces visites que la remise et le retour des médicaments a lieu pour les participantes du groupe étude. La 5ème visite de l'infirmière est celle qui a lieu après la dernière échographie, précédant le jour de la ponction ovarienne. Un dosage d'IGF-1 est effectué pour toutes les patientes (groupe étude et groupe contrôle).

Toutes ces informations recueillies sont consignées dans les documents de recherche puis incluses dans la base de données. Le *détail des visites* est précisé dans le document situé en **Annexe 3**.

La durée de l'étude comprend un cycle complet de FIV, débutant avec le traitement par Estrace au jour 20 du cycle menstruel, suivi par la stimulation ovarienne par gonadotrophines et antagoniste (+/- Saizen[®] pour les patientes randomisées dans le groupe étude). Ensuite a lieu la ponction ovarienne, puis la fécondation *in vitro* proprement dite et le transfert d'embryon. Au maximum 2 embryons peuvent être transférés. Les embryons sont transférés à J3 ou J5, selon la qualité embryonnaire observée par l'embryologiste. Le cycle de FIV peut comprendre également les transferts d'embryon congelé (TEC), jusqu'à épuisement du nombre d'embryons surnuméraires conservés.

Après le transfert d'embryon, chaque patiente réalise un test de grossesse (par dosage sanguin de β hCG) 15 jours après le transfert. En cas de dosage positif, la patiente bénéficie d'une échographie endo-vaginale réalisée 7 semaines après le transfert, afin d'objectiver la grossesse (nombre de sac gestationnel et présence d'un embryon avec activité cardiaque). En cas de grossesse clinique évolutive, les participantes sont contactées par téléphone après la naissance de l'enfant pour obtenir des informations sur le déroulement de la grossesse, de l'accouchement et de son issue.

Une supplémentation par progestérone sera faite, pour soutenir la phase lutéale, dès le jour de la ponction et jusqu'au test de grossesse.

À la **clinique ovo**, le protocole est le suivant : la supplémentation hormonale est identique pour toutes les patientes, quel que soit le jour du transfert frais.

Un patch de CLIMARA[®] est posé 3 jours après la ponction et une injection quotidienne de 50 mg PROGESTERONE intra-musculaire est faite le soir, 2 jours après la ponction. Une injection supplémentaire est faite le matin de la ponction. Le patch sera changé une fois par semaine jusqu'au test de grossesse, puis une fois par semaine jusqu'à la 8^{ème} semaine si le test est positif.

Par la suite, la progestérone intra musculaire peut être remplacée par des ovules de progestérone intra-vaginale jusqu'à 12 semaines (1 perle vaginale d'ENDOMETRIN[®] 3 fois par jour) en cas d'échographie confirmant l'évolutivité de la grossesse.

S'il y a eu congélation d'embryons surnuméraires, la patiente pourra par la suite bénéficier de transferts d'embryons congelés jusqu'à épuisement du nombre d'embryons surnuméraires conservés. Différents protocoles de traitement (TEC naturel ou TEC substitué) pour préparer l'endomètre à une grossesse sont possibles et sont détaillés en **Annexe 4** (*Protocoles de transfert d'embryon*). Pour les TEC naturel, les participantes doivent contacter les infirmières coordinatrices de la clinique le jour de leurs menstruations et une échographie est prévue au douzième jour du cycle. Un traitement par Asaphen est débuté. La croissance folliculaire est étudiée et l'ovulation est déclenchée lorsqu'un follicule est à maturité. Une supplémentation en progestérone est débutée au quatrième jour après le déclenchement de l'ovulation. Pour les TEC substitué, les menstruations ont lieu suite à l'injection de Dépôt Lupron. Une supplémentation en progestérone est effectuée par patch de CLIMARA[®] pour préparer l'endomètre à la nidation. Un rendez-vous est prévu au quatorzième jour. Le transfert a lieu en fonction de l'aspect de la muqueuse utérine. Les injections de progestérone intramusculaire sont débutées en fonction de l'épaisseur endométriale.

Après un TEC, une supplémentation en progestérone est également poursuivie jusqu'au test de grossesse pour toutes les patientes.

Groupe étude

Les participantes assignées au groupe traitement reçoivent toute la médication nécessaire pour la durée du traitement lors de la visite 1. La médication est fournie par la firme pharmaceutique EMD Serono.

Une information sur le Saizen[®] est délivrée par l'infirmière de recherche.

Le traitement consiste en une injection quotidienne durant toute la période de stimulation ovarienne de 2,5mg de Saizen[®], en injection sous-cutanée, le soir, de façon concomitante aux injections de gonadotrophines et d'antagoniste, jusqu'au jour de l'injection d'hCG 5000 UI, 36h avant la ponction ovarienne.

L'infirmière de recherche est chargée de vérifier à chaque visite (visites 2-3-4-5) la prise correcte de la médication, notamment grâce au recueil des flacons vides. Elle est aussi en charge de contrôler les constantes vitales, la glycémie capillaire et de recueillir les éventuels effets indésirables rapportés par les patientes.

Les effets indésirables les plus communs associés au Saizen[®] sont[39] : rougeurs et démangeaisons au site de l'injection, lipoatrophie (perte localisée du tissu adipeux), maux de tête, légers symptômes de grippe, infection des voies respiratoires, légère enflure (par exemple, des mains ou des pieds), douleurs musculaires ou articulaires, fourmillements, engourdissements, nez bouché ou qui coule et étourdissements. D'autres effets indésirables documentés chez jusqu'à 10% des patients adultes recevant un traitement avec l'hormone de croissance incluent : troubles du sommeil, nausées, hypothyroïdie (insuffisance de la production de l'hormone thyroïdienne), douleurs osseuses, dépression, douleurs thoraciques, accumulation généralisée de fluide sous la peau (œdème), accumulation de liquide sous la peau sur les parties inférieures du corps (œdème déclive) et sensation de

brûlure, fourmillements, démangeaisons ou engourdissements dans la paume de la main (syndrome du canal carpien). Les effets sur le développement fœtal sont inconnus.

Bien que les doses du médicament prescrit dans ce projet de recherche aient déjà été utilisées cliniquement, la possibilité de risques inconnus existe comme pour tout projet de recherche.

Critères d'évaluation

L'objectif primaire de l'étude est de déterminer si les taux de grossesses cliniques évolutives sont meilleurs chez les patientes qui reçoivent un traitement par GH en supplément du traitement par gonadotrophines dans un protocole de FIV antagoniste, lors d'un cycle avec transfert frais d'embryon.

Le critère d'évaluation principale est donc le taux de grossesse clinique évolutive, après transfert frais d'embryon. Ce taux de grossesse clinique évolutive est déterminé par la présence d'une activité cardiaque, objectivée par échographie endo-vaginale, 7 semaines après le transfert d'embryon.

L'objectif secondaire de l'étude est de déterminer l'efficacité de la thérapie avec hormone de croissance en supplément aux gonadotrophines lors d'un protocole antagoniste, en incluant tous les transferts d'embryons (frais et congelés).

Les critères d'évaluation secondaires sont :

- la dose totale de gonadotrophines administrée
- le nombre de jours de stimulation
- le taux d'IGF-1 (à la date de randomisation et à la date de la dernière échographie)
- le taux d'E2 en fin de période de stimulation
- le taux de progestérone en fin de période de stimulation
- l'épaisseur endométriale en fin de période de stimulation

- le nombre de follicules < 15mm et > 15mm à la dernière échographie
- le nombre d'ovocytes ponctionnés
- le taux E2/nombre d'ovocytes ponctionnés
- le nombre d'ovocytes matures (métaphase II) recueillis
- le taux E2/ nombre d'ovocyte MII recueillis
- le type de fécondation (FIV classique, ICSI ou PCSI)
- le taux de fertilisation
- le nombre d'embryons observés au jour 1, jour 2, et jour 5
- le taux de clivage embryonnaire
- le taux de maturation embryonnaire
- le nombre d'embryons utilisables
- le taux d'embryons utilisables
- le nombre d'embryons surnuméraires congelés
- le nombre total de freeze all
- le nombre d'échecs de fertilisation
- le nombre d'embryons jetés ou dégénérés
- le nombre de transferts frais
- le nombre de transferts congelés
- le jour du transfert (J3, J5 ou J6)
- le nombre d'embryons transférés
- le taux de grossesses biologiques
- le taux d'implantation
- le nombre de fausses couches
- le nombre d'interruptions thérapeutiques de grossesse

- le nombre de naissances vivantes
- les effets indésirables

Recueil des données

Une fois le cycle complété, les données concernant la période de stimulation ovarienne (traitement, doses, durée), la ponction des ovocytes, l'embryologie et le transfert, les issues de la grossesse sont recueillies à l'aide du logiciel médical *BabySentry*.

Les fausses couches précoces correspondent aux fausses couches survenant avant 12 semaines d'aménorrhée, et celles survenant après 12 semaines sont catégorisées comme tardives.

En cas de grossesse clinique évolutive, les participantes sont contactées par téléphone après la naissance de l'enfant pour obtenir des informations sur le déroulement de la grossesse, de l'accouchement et de son issue.

Analyse des échantillons d'IGF-1

Des échantillons sanguins ont été prélevés le jour de la randomisation et le jour de la dernière échographie, pour pouvoir effectuer un dosage d'IGF1.

Ces échantillons sont initialement centrifugés et décantés puis des aliquots de sérum sont congelés en double exemplaires à -80°C jusqu'au jour de l'analyse qui est effectuée au laboratoire d'analyse biologique **ovo labo**. Toutes les températures sont relevées de façon quotidienne et sept jours sur sept au laboratoire par le personnel.

Principe de la technique :

Quantikine® ELISA utilise la technique de dosage immuno-enzymatique quantitatif.

Un anticorps monoclonal spécifique de l'IGF-1 a été pré-revêtu sur une microplaque de 96 puits. Les calibrateurs, contrôles et 36 échantillons prétraités sont pipetés dans les puits et

toute IGF-1 présente est lié par l'anticorps immobilisé. Chaque échantillon est analysé en duplicata. Après élimination par lavage de toute substance non liée, un anticorps polyclonal lié à une enzyme spécifique d'IGF-1 est ajouté aux puits. Après un lavage pour éliminer tout réactif enzymatique d'anticorps non lié, une solution de substrat est ajoutée dans les puits et une couleur se développe proportionnellement à la quantité d'IGF-1 liée à l'étape initiale. Le développement de la couleur est ensuite arrêté par ajout d'une solution stop.

L'intensité de la couleur est mesurée par absorbance à l'aide du lecteur DTX programmé à 450nm, en utilisant un protocole spécifique au dosage de l'IGF1. Les résultats (concentrations) sont calculés en ng/ml par le Multimode Software.

Toute la procédure de laboratoire est détaillée dans l'**Annexe 5**.

Les dosages d'IGF1 sont actuellement en cours au laboratoire, ne permettant pas encore l'analyse complète de ces variables pour le projet.

Statistiques

Calcul du nombre de sujets nécessaire

Basé sur un taux de grossesse clinique de 33% lors des FIV avec traitements par protocole antagoniste et sur une augmentation de 10% grâce au traitement par GH[38], il a été calculé que 528 participantes sont nécessaires pour démontrer une différence de 40% entre le taux de grossesse dans les deux groupes avec une puissance de 80% (risque $\alpha=0.05$).

Analyse statistique

L'analyse statistique initiale comprend la description des caractéristiques des patientes dans chaque groupe (contrôle et étude), afin d'assurer que les deux groupes sont comparables, à l'aide d'un test ANOVA à un facteur (ANOVA one-way).

L'objectif primaire est évalué en calculant la différence entre les taux de grossesses cliniques évolutives de chaque groupe, à l'aide d'un test du khi carré (χ^2) (Chi-Square).

L'objectif secondaire est évalué en comparant les moyennes et les proportions des différentes variables analysées dans les deux groupes, à l'aide de différents tests statistiques (ANOVA one-way et χ^2).

La normalité de la distribution des variables a été vérifiée grâce au test de Shapiro-Wilk. Cette distribution permet l'utilisation du test ANOVA one-way. L'effectif est par ailleurs suffisant pour l'utilisation du test χ^2 .

Une analyse multivariée a également été effectuée. Pour déterminer les indicateurs de grossesse et de naissance vivante, une régression logistique a été faite, avec ajustement pour les co-variables suivantes : l'âge, l'AMH, l'IMC, le type d'infertilité, le rang de FIV, la dose de gonadotrophines et le nombre de jours de stimulation.

Les risques relatifs de grossesse biologique, clinique évolutive et de naissance vivante ont été calculés. D'autres calculs ont été faits : l'IDRR (Incidence Density Rate Ratio) a été calculé pour les taux de grossesse biologique, clinique évolutive et de naissance vivante. Il s'agit des ratios de taux de grossesse biologique, clinique évolutive et de naissance pour chaque groupe. Ces calculs permettent de déterminer le nombre de transferts à effectuer pour obtenir une grossesse biologique ou clinique évolutive et de naissance vivante, pour chaque groupe de l'étude.

Le ratio des taux grossesses biologiques (IDRR) correspond au taux de grossesses biologiques pour 100 transferts dans le groupe étude divisé par le taux de grossesses biologiques pour 100 transferts dans le groupe contrôle.

Enfin, des analyses de corrélation entre le taux d'IGF-1 et différents paramètres ont été faites.

Une analyse intérimaire a été réalisée en septembre 2016, afin de pouvoir apporter des résultats pour ce sujet de mémoire et éventuellement de déterminer l'intérêt de la poursuite du projet, au vu du contexte de la loi 20. En effet, le recrutement est de plus en plus difficile

en raison du faible nombre de patientes ayant recours à la FIV compte tenu du coût des traitements. (Voir **Annexe 6**).

La réalisation d'une analyse intérimaire implique une inflation du risque alpha, et la valeur de p doit être recalculée en fonction du nombre de participants inclus au moment de la réalisation de l'analyse

L'analyse incluant 212 participantes, il a donc été calculé que la valeur de signification statistique p pour cette population est alors $p <= 0.04825$. Tous les calculs ont été faits à l'aide des logiciels SPSS et Prism.

Cette analyse statistique est réalisée en intention de traiter.

4. Résultats

Nombre de patientes analysées

De juin 2014 à fin août 2016, 212 patientes ont été randomisées (105 pour le groupe étude et 107 pour le groupe contrôle).

Parmi les 105 patientes du groupe étude, 7 patientes ont été exclues des analyses (3 patientes avec annulation du cycle en raison d'une réponse insuffisante à la stimulation, 3 cycles convertis en IIU, et 1 cycle annulé en raison d'une ovulation prématurée).

98 patientes dans ce groupe ont eu une ponction ovarienne. Cependant, 2 de ces patientes ont eu une ponction blanche, ne permettant pas le recueil de données exploitables pour la suite de l'analyse.

Parmi les 107 patientes du groupe contrôle, 9 patientes ont été exclues des analyses (5 patientes avec annulation du cycle en raison d'une réponse insuffisante à la stimulation, et 4 annulations pour diverses raisons : un couple en séparation, une patiente souhaitant une préservation ovocytaire dite 'sociale', une patiente ayant eu une grossesse spontanée, une patiente qui s'est retirée du projet car elle était déçue de ne pas être dans le groupe étude). Dans ce groupe, 98 patientes ont accompli leur cycle, c'est-à-dire qu'elles ont eu une ponction ovarienne avec un recueil d'ovocytes permettant une analyse des données.

Toutes ces informations sont récapitulées dans le diagramme de flux ci-après (**Figure 8**).

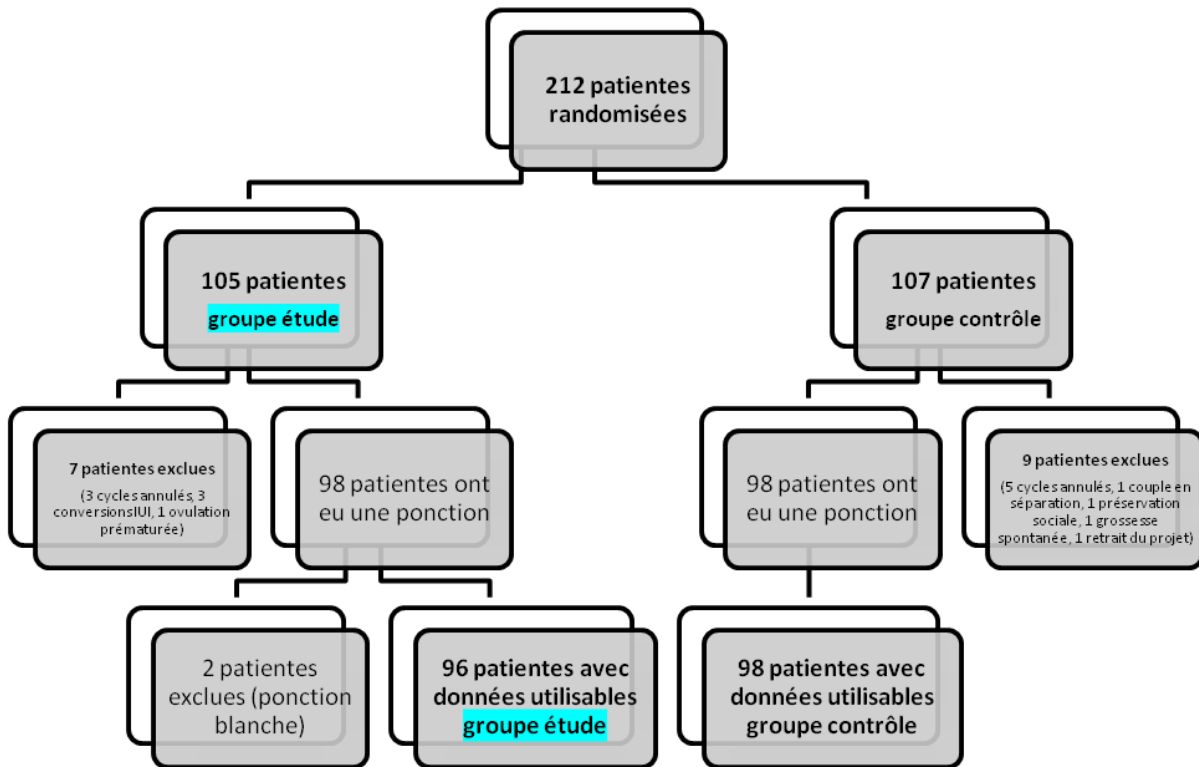


Figure 8 : Diagramme de flux

Caractéristiques de la population

L'analyse statistique initiale des caractéristiques de la population porte sur le total de 212 patientes (107 patientes pour le groupe contrôle et 105 patientes pour le groupe étude).

Les groupes étaient comparables à l'inclusion.

La moyenne d'âge à la randomisation était de 38.70 +/- 2.13 ans pour le groupe contrôle et de 39.03 +/- 2.16 ans pour le groupe étude (p=0.254).

L'IMC moyen était de 25.80 +/- 4.12 pour le groupe contrôle et de 24.92 +/- 4.03 pour le groupe étude (p=0.118).

L'AMH moyen était de 2.50 +/- 2.62 ng/mL dans le groupe contrôle et de 2.60 +/- 2.97 ng/mL dans le groupe étude (p=0.804).

Les taux d'IGF-1 étaient similaires dans les deux groupes à l'inclusion : 115.2 +/- 26.09 ng/mL dans le groupe contrôle versus 122.2 +/- 34.04 ng/mL dans le groupe étude (p=0.155). (Les analyses sont en cours au laboratoire et les données analysées portent sur 89 échantillons pour les participantes du groupe contrôle et 89 participantes du groupe étude).

Il s'agissait d'une infertilité primaire pour 40,2% et 48.6% respectivement dans les groupes contrôle et étude, tandis qu'il s'agissait d'une infertilité secondaire pour 59.8% et 51.4% des patientes (groupe contrôle et groupe étude, p=0.219).

Un protocole antagoniste était prescrit pour 98.1% et 94.3% des patientes (respectivement dans le groupe contrôle et dans le groupe étude), tandis qu'un protocole SMART était prescrit pour 1.9% et 5.7% des patientes (respectivement dans le groupe étude et dans le groupe contrôle, p=0.142).

Toutes les données sont présentées dans le **Tableau 1** ci-après.

	Groupe Contrôle (n=107)	Groupe Étude (n=105)	p	Test
Age à la randomisation*	38.70 +/- 2.13	39.03 +/- 2.16	.254	One-way ANOVA
Poids (kg)*	68.86 +/- 12.03	66.39 +/- 11.82	.133	One-way ANOVA
Taille (m)*	1.63 +/- .06	1.63 +/- .07	.901	One-way ANOVA
BMI (kg/m²)*	25.80 +/- 4.12	24.92 +/- 4.03	.118	One-way ANOVA
Durée infertilité (année)*	3.17 +/- 2.07	3.56 +/- 2.95	.276	One-way ANOVA
AMH (ng/ml)*	2.50 +/- 2.62	2.60 +/- 2.97	.804	One-way ANOVA
FSH (IU/L)*	6.38 +/- 2.08	9.28 +/- 31.65	.345	One-way ANOVA
E2 (pmol/L)*	151.28 +/- 68.01	167.74 +/- 133.47	.267	One-way ANOVA
Compte Follicules Antraux*	14.35 +/- 8.94	14.30 +/- 10.62	.971	One-way ANOVA
IGF-1 (ng/mL) à la randomisation	115.2 +/- 26.09	122.2 +/- 34.04	.155	One-way ANOVA
Infertilité primaire VS secondaire				
Inf. primaire (n/n), (%)	43/107 (40,2)	51/105 (48,6)	.219	Pearson Chi-Square
Inf. secondaire (n/n), (%)	64/107 (59,8)	54/105 (51,4)		
Cause d'infertilité				
Inf. d'origine féminine (n/n), (%)	42/107 (39,3)	57/105 (54,3)	.100	Pearson Chi-Square
Inf. d'origine masculine (n/n), (%)	33/107 (30,8)	26/105 (24,8)		
Inf. d'origine mixte (n/n), (%)	7/107 (6,5)	8/105 (7,6)		
Inf. idiopathique (n/n), (%)	25/107 (23,4)	14/105 (13,3)		
Traitements de FIV antérieurs				
oui (n/n), (%)	57/107 (53,3)	51/105 (48,6)	.494	Pearson Chi-Square
non (n/n), (%)	50/107 (46,7)	54/105 (51,4)		
Traitements de FIV prescrits				
Antagoniste (n/n), (%)	105/107 (98,1)	99/105 (94,3)	.142	Pearson Chi-Square
SMART (n/n), (%)	2/107 (1,9)	6/105 (5,7)		
Une valeur de p <.04825 est considérée comme statistiquement significative				
<i>*valeurs présentées en moyenne +/- écart-type</i>				

Tableau I. Caractéristiques initiales des patientes

Formules utilisées

Selon les analyses réalisées, différentes formules ont été utilisées pour les critères d'évaluation secondaires. Voici les formules utilisées (**Tableau 2**) :

Analyses par cycle ou par transfert effectué :

Taux de fertilisation =	$\frac{\# \text{ embryons 2PN}}{\# \text{ ovocytes MII}}$
Taux de clivage =	$\frac{\# \text{ embryons J2}}{\# \text{ embryons 2PN}}$
Taux d'embryons utilisables =	$\frac{\# \text{ ET} + \# \text{ EC}}{\# \text{ embryons 2PN}}$
Taux de maturation =	$\frac{\# \text{ ovocytes MII}}{\# \text{ ovocytes ponctionnés}}$
Taux de blastulation =	$\frac{\# \text{ blastocystes}}{\# \text{ embryons J2 ou J3}}$
Taux de grossesses biologiques =	$\frac{\# \text{ patientes avec } \beta\text{hCG} +}{\# \text{ cycles ou } \# \text{ transferts}}$
Taux d'implantation =	$\frac{\# \text{ échographie avec sac} +}{\# \text{ cycles ou } \# \text{ transferts}}$
Taux de grossesses cliniques évolutives =	$\frac{\# \text{ échographie avec cœur} +}{\# \text{ cycles ou } \# \text{ transferts}}$
Taux de naissances vivantes =	$\frac{\# \text{ naissances vivantes}}{\# \text{ cycles ou } \# \text{ transferts}}$

Analyses par nombre total d'embryons transférés :

Taux de grossesses biologiques =	$\frac{\# \text{ patientes avec } \beta\text{hCG} +}{\# \text{ embryons transférés}}$
Taux d'implantation =	$\frac{\# \text{ de sacs visibles en échographie}}{\# \text{ embryons transférés}}$
Taux de grossesses cliniques évolutives =	$\frac{\text{cœurs viables visibles en échographie}}{\# \text{ embryons transférés}}$
Taux de naissances vivantes =	$\frac{\# \text{ naissances vivantes}}{\# \text{ embryons transférés}}$

Tableau II. Formules utilisées

Résultats du cycle de stimulation

Les analyses ont été faites par cycle accompli, c'est-à-dire pour les patientes qui ont eu une ponction ovarienne permettant le recueil d'ovocytes. 2 patientes dans le groupe étude ont eu une ponction blanche et ont été retirées de l'analyse.

Le nombre moyen de jours de stimulation était de 11.75 +/- 1.63, avec une dose de gonadotrophines de 4606 +/- 1417 UI dans le groupe contrôle. Dans le groupe étude, le nombre moyen de jours de stimulation était de 11.62 +/- 2.05, avec une dose moyenne de gonadotrophines de 4603 +/- 1472 UI (respectivement $p=0.626$ et $p=0.986$).

L'épaisseur endométriale moyenne était de 10.99 +/- 2.26 mm dans le groupe contrôle et de 10.75 +/- 2.22 mm dans le groupe étude ($p=0.457$). Aucune différence significative n'est retrouvée entre les deux groupes.

Les taux moyen d'œstradiol (E2) et de progestérone (Pg) lors de la dernière échographie ne différaient pas entre les deux groupes (E2=7471 +/- 4425 pmol/L et Pg=2.57 +/- 0.90 nmol/L pour le groupe contrôle et E2= 7915 +/- 5969 pmol/L et Pg=2.79 +/- 1.38 nmol/L pour le groupe étude, respectivement $p=0.555$ et $p=0.184$).

Le nombre de d'ovocytes prélevés était supérieur dans le groupe étude (11.57 +/- 5.63 ovocytes prélevés en moyenne, avec un minimum de 2 et un maximum de 30 ovocytes) en comparaison au groupe contrôle (9.65 +/- 8.47 ovocytes prélevés en moyenne avec un minimum de 0 et un maximum de 49 ovocytes) mais cette différence n'était pas significative ($p=0.064$).

Le taux moyen d'IGF-1 à la fin de la période de stimulation dans le groupe contrôle était de 110.1 +/- 24.27 ng/mL alors qu'il était de 205.7 +/- 59.52 ng/mL) dans le groupe étude (différence significative, $p<.0001$).

Le nombre de patientes ayant accompli leur cycle de stimulation est de 98 sur 107 (soit 91.6%) pour le groupe contrôle, et de 96 patientes sur 105 (soit 91.4%) pour le groupe étude avec une valeur de $p=0.967$.

Seulement 2.8% des patientes du groupe contrôle ont rapporté des effets indésirables tandis que 10.5% des patientes en rapportaient dans le groupe étude. Cette différence est la seule qui est significative ($p=0.025$). Toutes ces données figurent dans le **Tableau 3** ci-après.

	Groupe Contrôle (n=98)	Groupe Étude (n=96)	p	Test
Nombre de jours de stimulation*	11.75 +/- 1.63	11.62 +/- 2.05	.626	One-way ANOVA
Dose totale de gonadotrophines (UI)*	4606 +/- 1417	4603 +/- 1472	.986	One-way ANOVA
Nombre de follicules de diamètre inférieur à 15mm*	6.19 +/- 4.55	6.28 +/- 5.3	.905	One-way ANOVA
Nombre de follicules de diamètre supérieur à 15mm*	6.70 +/- 3.63	7.92 +/- 5.46	.059	One-way ANOVA
Épaisseur endométriale (mm)*	10.99 +/- 2.26	10.75 +/- 2.22	.457	One-way ANOVA
Taux d'oestradiol E2 (pmol/L) avant la ponction*	7471 +/- 4425	7915 +/- 5969	.555	One-way ANOVA
Taux de progestérone Pg (nmol/L) avant la ponction*	2.57 +/- .90	2.79 +/- 1.38	.184	One-way ANOVA
Nombre d'ovocytes prélevés (PO)*	9.65 +/- 5.63	11.57 +/- 8.47	.064	One-way ANOVA
Nombre d'ovocytes en métaphase II recueillis*	7.50 +/- 4.56	8.29 +/- 6.29	.317	One-way ANOVA
Taux E2/PO	864.57 +/- 382.9	862.09 +/- 885.6	.980	One-way ANOVA
Taux E2/MII	1138.74 +/- 557.4	1145.49 +/- 1020.8	.954	One-way ANOVA
Taux IGF-1 (ng/mL)	110.1 +/- 24.27	205.7 +/- 59.52	<.0001	One-way ANOVA
Nombre de patientes ayant accompli leur cycle de stimulation	98/107 (91,6)	96/105 (91,4)	.967	Chi-Square
Nombre de patientes cycle annulé ou autre n/n (%)**	9/107 (8,4)	9/105 (8,6)		
Effets indésirables				
oui n/n (%)	3/107 (2,8)	11/105 (10,5)	.025	Chi-Square
non n/n (%)	104/107 (97,2)	94/105 (89,5)		
Une valeur de p <.04825 est considérée comme statistiquement significative				
*valeurs présentées en moyenne +/- écart-type				
** c'est-à-dire qui ont eu une ponction (les patientes ayant eu une ponction blanche sont exclues)				

Tableau III. Résultats du cycle de stimulation

Résultats d'embryologie

Pour les résultats d'embryologie, les analyses ont été faites par cycle accompli.

Le nombre moyen d'embryons utilisables (c'est-à-dire le nombre total de blastocytes à transférer ou à congeler) était supérieur dans le groupe étude (2.00 +/- 1.85) comparativement au groupe contrôle (1.87 +/- 1.66) mais cette différence n'était pas significative (p=0.609).

Le taux de maturation (correspondant au nombre d'ovocytes en métaphase II divisé par le nombre d'ovocytes ponctionnés) était supérieur dans le groupe contrôle (79.01% +/- 18.02) comparativement au groupe étude (73.76% +/- 23.33) mais cette différence n'était pas significative (p=0.080).

Les données complètes d'embryologie sont présentées dans le **Tableau 4** ci-après.

À l'issue des techniques d'embryologie, on note que 3 patientes sur 98 (3.06%) dans le groupe étude et que 2 patientes sur 96 (2.08%) dans le groupe contrôle ont eu un échec de fécondation (mais ce résultat n'est pas significatif, p= 0.667). Les embryons ont été jetés avant la possibilité de faire un transfert ou une congélation pour 18 patientes sur 98 (18.4%) et 16 patientes sur 96 (16.67%) respectivement dans les groupes contrôle et étude, et cette différence n'était pas significative, p =0.775.

Par ailleurs, on remarque qu'un freeze all (c'est-à-dire une congélation de tous les embryons utilisables avec pour objectif un transfert ultérieur d'un ou plusieurs embryons congelés) a été effectué pour 5 patientes dans le groupe contrôle (5.10%) et pour 15 (15.63%) dans le groupe étude. Cette différence est significative, avec une valeur de p=0.016.

Ces résultats sont présentés dans le **Tableau 5** ci-après.

	Groupe Contrôle** (n=98)	Groupe Étude** (n=96)	p	Test
Nombre d'embryons 2PN (Jour 1)*	4.85 +/- 3.68	5.65 +/- 5.71	.245	One-way ANOVA
Nombre d'embryons divisés (Jour 2)*	4.61 +/- 3.60	5.433 +/- 5.53	.221	One-way ANOVA
Nombre de blastocystes (Jour 5)*	1.26 +/- 2.00	1.404 +/- 2.22	.646	One-way ANOVA
Nombre d'embryons utilisables*	1.87 +/- 1.66	2.00 +/- 1.85	.609	One-way ANOVA
Nombre d'embryons congelés*	1.06 +/- 1.64	1.22 +/- 1.74	.516	One-way ANOVA
Taux de fertilisation*	64.52% +/- 26.69%	61.07% +/- 29.72%	.397	One-way ANOVA
Taux de blastulation (J5/J2)*	21.22% +/- 29.79%	18.38% +/- 23.64%	.483	One-way ANOVA
Taux de maturation (MII/PO)*	79.01% +/- 18.02%	73.76% +/- 23.33%	.080	One-way ANOVA
Taux de clivage*	93.32% +/- 19.40%	95.39% +/- 18.11%	.459	One-way ANOVA

Une valeur de **p <.04825** est considérée comme statistiquement significative

**valeurs présentées en moyenne +/- écart-type*

***nombre de patientes qui ont eu une ponction (les patientes ayant eu une ponction blanche sont exclues)*

Tableau IV. Résultats d'embryologie

	Groupe Contrôle (n=98)	Groupe Étude (n=96)	p	Test
Nombre de patientes ayant eu un freeze all, n/n (%)	5/98 (5.10)	15/96 (15.63)	.016	Chi-Square
Nombre de patientes ayant eu un échec de fécondation, n/n (%)	3/98 (3.06)	2/96 (2.08)	.667	Chi-Square
Nombre de patientes ayant eu tous les embryons dégénérés et jetés avant transfert, n/n (%)	18/98 (18.4)	16/96 (16.67)	.775	Chi-Square

Une valeur de **p <.04825** est considérée comme statistiquement significative

Tableau V. Freeze all, échec de fécondation et embryons jetés

Résultats des transferts frais

Pour les transferts frais, les analyses ont été faites par transfert effectué, par cycle accompli et par nombre total d'embryons transférés.

Parmi les patientes ayant accompli leur cycle, dans le groupe contrôle, 72 patientes sur 98 (73.47%) ont eu un transfert frais, tandis que seulement 63 patientes sur 96 (65.63%) en ont eu un dans le groupe étude. Cependant cette différence n'est pas significative ($p=0.235$).

Aucune différence n'était retrouvée entre les deux groupes concernant le type de fertilisation qui avait été effectué. L'âge moyen de l'embryon au moment du transfert était de 3.64 jours et 3.70 jours respectivement pour les groupes contrôle et étude (différence non significative, $p= 0.717$), et le nombre moyen d'embryons transférés était lui aussi similaire.

Pour les calculs effectués par transfert effectué, on observe de meilleurs taux de grossesses biologiques (48.61% vs 42.86%, $p=0.503$), taux d'implantation (43.06% vs 41.27%, $p=0.834$), taux de grossesses cliniques évolutives (40.28 % vs 33.33%, $p= 0.405$) et taux de naissances vivantes (23.61% vs 22.22%, $p=0.848$) respectivement dans le groupe contrôle comparativement au groupe étude, mais aucune différence n'est significative.

Ces résultats sont présentés dans le **Tableau 6** ci-après.

Lorsqu'on effectue les calculs par cycle accompli, on observe de meilleurs taux de grossesses biologiques (35.70% vs 28.1%, $p=0.257$), taux d'implantation (31.63% vs 27.10%, $p=0.487$), taux de grossesses cliniques évolutives (29.60 % vs 21.90%, $p= 0.219$) et taux de naissances vivantes (17.30% vs 14.60%, $p=0.599$) respectivement dans le groupe contrôle comparativement au groupe étude, mais aucune différence n'est significative.

Au total, 95 embryons ont été transférés pour le groupe contrôle pour 83 embryons transférés chez les patientes du groupe étude.

Lorsqu'on effectue les mêmes calculs par nombre total d'embryons transférés, ces résultats sont similaires. On observe de meilleurs taux de grossesses biologiques (36.84% vs 32.53%, $p=0.547$), taux d'implantation (35.78% vs 31.33%, $p=0.530$), taux de grossesses cliniques évolutives (30.53 % vs 25.30%, $p= 0.439$) et taux de naissances vivantes (17.89% vs 16.87%, $p=0.857$) respectivement dans le groupe contrôle comparativement au groupe étude, mais aucune différence n'est significative.

Les tableaux correspondants sont présentés en **Annexe 6 (#1 et #2)**.

À noter, dans le groupe contrôle, lors de l'échographie de viabilité réalisée à 7 semaines : une patiente avait eu une grossesse ectopique qui a été traitée par Méthotrexate[®] et 3 patientes avaient un sac double visible en échographie, mais une seule activité cardiaque identifiable (ces patientes avaient bénéficié d'un transfert double).

Toujours dans le groupe contrôle, une patiente a subi une interruption thérapeutique de grossesse en raison d'une malformation cérébrale détectée en échographie obstétricale.

	Groupe Contrôle** (n=72)	Groupe Étude** (n=63)	p	Test
Type de fertilisation				
FIV	24/72 (33.33)	16/63 (25.4)	.374	Pearson Chi-Square
ICSI	46/72 (63.89)	43/63 (68.25)		
PICSI	2/72 (36)	2/63 (3.17)		
MIXTE	0/72	2/63		
Age moyen de l'embryon au moment du transfert*	3.64 +/- .939	3.70 +/- .961	.717	One-way ANOVA
Nombre moyen d'embryons transférés	1,317 +/- 0.56	1,319 +/- 0.53	.846	One-way ANOVA
Taux de grossesses biologiques, n/n (%)	35/72 (48.61)	27/63 (42.86)	.503	Pearson Chi-Square
Taux de grossesses cliniques évolutives, n/n (%)	29/72 (40.28)	21/63 (33.33)	.405	Pearson Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	31/72 (43.06)	26/63 (41.27)	.834	Pearson Chi-Square
Nombre de fausses couches précoces (avant 12 semaines)	7/72 (9.72)	6/63 (9.52)	.969	Pearson Chi-Square
Nombre de fausses couches tardives (après 12 semaines)	1/72 (1.38)	0/63 (0.0)	.351	Pearson Chi-Square
Nombre de naissances vivantes n/n (%)	17/72 (23.61)	14/63 (22.22)	.848	Pearson Chi-Square
Nombre de grossesses en cours	5/72	4/63	.890	Pearson Chi-Square
Une valeur de p <.04825 est considérée comme statistiquement significative				
<i>*valeurs présentées en moyenne +/- écart-type</i>				
<i>**nombre de patientes ayant eu un transfert frais</i>				

Tableau VI. Caractéristiques des embryons issus de transferts frais

Résultats des transferts d'embryons congelés

Pour les transferts d'embryons congelés (TEC), les analyses ont été faites par transferts effectués et par nombre total d'embryons transférés.

Dans le groupe contrôle, seulement 29 TEC ont été effectués (23 patientes ont eu 1 TEC et 6 patientes ont eu 2 TEC) tandis qu'il y a eu 38 TEC dans le groupe étude (33 patientes ont eu 1 TEC et 5 patientes ont eu 2 TEC), mais cette différence n'est pas significative ($p=0.410$).

Aucune différence n'était retrouvée entre les deux groupes concernant le type de fertilisation (FIV/ICSI/PICSI) qui avait été effectué ($p=0.861$). L'âge moyen de l'embryon au moment du transfert était de 4.03 ± 1.12 jours et 4.26 ± 1.13 jours respectivement pour les groupes contrôle et étude (différence non significative, $p=0.413$), et le nombre moyen d'embryons transférés était lui aussi similaire (1.14 ± 0.35 groupe contrôle vs 1.11 ± 0.31 groupe étude, $p=0.688$).

On observe des meilleurs taux de grossesses biologiques (42.11% vs 27.59%, $p=0.219$), taux de grossesses cliniques évolutives (26.32% vs 20.69%, $p=0.593$) et taux d'implantation (31.58% vs 24.14%, $p=0.503$) respectivement dans le groupe étude comparativement au groupe contrôle, mais aucune différence n'est significative.

Cependant, le taux de naissances vivantes est plus élevé dans le groupe contrôle (10.34%) que dans le groupe étude (7.89%), mais cette différence n'est pas significative ($p=0.434$).

Ces résultats sont présentés dans le **Tableau 7** ci-après.

	Groupe Contrôle* (n=29)	Groupe Étude* (n=38)	p	Test
Nombre total de TEC	29	38		
Nombre de patientes ayant eu 1 TEC, n/n (%)	23/29 (79.31)	33/38 (86.84)	.410	Chi-Square
Nombre de patientes ayant eu 2 TEC, n/n (%)	6/29 (20.69)	5/38 (13.16)		
Nombre total d'embryons congelés transférés	33	42		
Nombre moyen d'embryons congelés transférés**	1.14 +/- .35	1.11 +/- .31	.688	One-way ANOVA
Age moyen des embryons congelés transférés**	4.03 +/- 1.12	4.26 +/- 1.13	.413	One-way ANOVA
Type de fertilisation				
FIV	10/29 (34.48%)	11/38 (28.95%)	.861	Chi-Square
ICSI	18/29 (62.07%)	26/38 (68.42%)		
PICSI	1/29 (3.45%)	1/38 (2.63%)		
Taux de grossesses biologiques, n/n (%)	8/29 (27.59)	16/38 (42.11)	.219	Chi-Square
Taux de grossesses cliniques évolutives, n/n (%)	6/29 (20.69)	10/38 (26.32)	.593	Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	7/29 (24.14)	12/38 (31.58)	.503	Chi-Square
Nombre de fausses couches précoces (avant 7 semaines) n/n (%)	1/29 (3.45)	2/38 (5.26)	.722	Chi-Square
Nombre de fausses couches tardives (après 7 semaines) n/n (%)	0/29 (0)	1/38 (2.63)	.379	Chi-Square
Nombre de naissances vivantes n/n (%)	4/29 (13.79)	3/38 (7.89)	.434	Chi-Square
Nombre de grossesses en cours	3/29 (10.34)	6/38 (15.79)	.517	Chi-Square

Une valeur de p <.04825 est considérée comme statistiquement significative

*nombre total de TEC

**valeurs présentées en moyenne +/- écart-type

Tableau VII. Transferts d'embryons congelés, résultats par transfert effectué

Au total, 33 embryons ont été transférés chez les patientes du groupe contrôle pour 42 embryons transférés chez les patientes du groupe étude.

Lorsqu'on effectue les mêmes calculs par nombre total d'embryons transférés, ces résultats sont similaires.

Le tableau correspondant est présenté en **Annexe 6 (#3)**.

À noter, dans le groupe contrôle, 6 patientes avaient une grossesse clinique évolutive et une d'entre elle poursuivait une grossesse bi chorale bi amniotique (grossesse issue d'un transfert unique au jour 3). Cette patiente a accouché de 2 enfants vivants et en bonne santé.

Dans le groupe étude, une patiente a eu une grossesse ectopique traitée par Méthotrexate lors de son 2^{ème} TEC.

Résultats globaux : tous transferts confondus

Ces résultats prennent en compte les TF et les TEC confondus.

Les analyses ont été faites par transferts effectués et par nombre total d'embryons transférés.

Dans les deux groupes il y a eu exactement 101 transferts au total.

Les taux de grossesses biologiques (42.57% dans les deux groupes, $p=1$) et d'implantation (37.62%) étaient identiques ($p=1$).

On observe des meilleurs taux de grossesses cliniques évolutives (34.65% vs 30.69%, $p=0.549$) et taux de naissances vivantes (20.79% vs 16.83%, $p=0.471$) respectivement dans le groupe contrôle comparativement au groupe étude, mais aucune différence n'est significative.

Ces données sont disponibles dans le **Tableau 8** ci-après.

Au total, 128 embryons ont été transférés chez les patientes du groupe contrôle pour 125 embryons transférés chez les patientes du groupe étude.

Lorsqu'on effectue les mêmes calculs par nombre total d'embryons transférés, ces résultats sont similaires.

Le tableau correspondant est présenté en **Annexe 6 (#4)**.

À noter, 25 patientes et 27 patientes respectivement dans les groupes contrôle et étude ont encore des embryons congelés (ce qui correspond à 54 embryons et 61 embryons respectivement). Une analyse devra être répétée afin d'analyser tous les cycles jusqu'à épuisement des embryons congelés.

Analyse multivariée, risques relatifs et corrélations

Afin de déterminer les indicateurs de grossesse biologique, grossesse clinique évolutive et de naissances vivantes, une régression logistique a été réalisée, avec ajustement pour les co-variables suivantes : l'âge, l'AMH, l'IMC, le type d'infertilité, le rang de FIV, la dose de gonadotrophines et le nombre de jours de stimulation.

Cette analyse multivariée montre que l'ajout de GH n'est pas un facteur prédictif de grossesse ou de naissance vivante ($B=-0.139$, $p=0.710$, $OR=1.149$ IC95% [.553 -2.390]). Chez les patientes traitées par GH, le nombre de naissances vivantes varie en fonction de l'âge de la patiente : l'âge maternel avancé est un facteur prédictif négatif du nombre de naissances vivantes ($B=-0.239$, $p=0.010$, $OR=0.788$ [.657 -.944]).

De même, les patientes ayant un rang de FIV élevé, un plus grand nombre de jours de stimulation et un âge avancé sont moins susceptibles d'obtenir une grossesse biologique ou une grossesse clinique évolutive. Voir **Tableau 9** ci-après.

En revanche, le taux d'AMH, l'IMC, le type d'infertilité et la dose de gonadotrophines ne sont pas des facteurs prédictifs de grossesse ou de naissance vivante chez les patientes traitées par GH.

Tous transferts confondus (101 transferts dans chaque groupe), le risque relatif de grossesse biologique est de 1.017 ($p=0.906$).

Le ratio des taux grossesses biologiques (IDRR) correspond au taux de grossesses biologiques pour 100 transferts dans le groupe étude divisé par le taux de grossesses biologiques pour 100 transferts dans le groupe contrôle. L'IDRR des taux de grossesses biologiques est de 1. Ainsi, il faut 2.35 transferts pour obtenir 1 grossesse biologique ($p=0.532$), quel que soit le groupe (étude ou contrôle).

Tous transferts confondus (101 transferts dans chaque groupe), le risque relatif de grossesse clinique évolutive est de 0.949 ($p=0.628$)

L'IDRR des taux de grossesses cliniques évolutives est de 0.886. Ainsi, il faut 2.89 transferts pour obtenir une grossesse clinique évolutive dans le groupe contrôle et 3.26 transferts dans le groupe étude pour obtenir une grossesse clinique évolutive ($p=0.532$).

Tous transferts confondus (101 transferts dans chaque groupe), le risque relatif de naissance vivante est de 0.955 ($p=0.525$).

L'IDRR des taux de naissances vivantes 0.810. Ainsi, il faut 4.81 transferts pour obtenir une naissance vivante dans le groupe contrôle et 5.94 transferts pour obtenir une naissance vivante dans le groupe étude ($p=0.532$). Voir **Tableau 10** ci-après.

Le nombre requis d'embryons à transférer pour obtenir une naissance vivante est de 6.10 dans le groupe contrôle et de 7.35 dans le groupe étude ($p=0.532$). Le nombre requis d'embryons à transférer pour obtenir une grossesse clinique évolutive est de 3.56 dans le groupe contrôle et de 4.03 dans le groupe étude ($p=0.532$). Le nombre requis d'embryons à transférer pour obtenir une grossesse biologique est de 2.98 dans le groupe contrôle et de 2.91 dans le groupe étude ($p=0.532$).

	Groupe Contrôle* (n=101)	Groupe Étude* (n=101)	p	Test
Nombre total de transferts	101	101		
Nombre total d'embryons transférés	128	125		
Taux de grossesses biologiques, n/n (%)	43/101 (42.57)	43/101 (42.57)	1	Pearson Chi-Square
Taux de grossesses cliniques évolutives, n/n (%)	35/101 (34.65)	31/101 (30.69)	.549	Pearson Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	38/101 (37.62)	38/101 (37.62)	1	Pearson Chi-Square
Nombre de fausses couches précoces (avant 12 semaines) n/n (%)	8/101 (7.92)	9/101 (8.91)	.799	Pearson Chi-Square
Nombre de fausses couches tardives (après 12 semaines) n/n (%)	1/101 (0.9)	1/101 (0.9)	1	Pearson Chi-Square
Nombre de naissances vivantes	21/101 (20.79)	17/101 (16.83)	.471	Pearson Chi-Square
Nombre de grossesses en cours	8/101 (7.92)	10/101 (9.90)	.621	Pearson Chi-Square

Une valeur de $p < .04825$ est considérée comme statistiquement significative

*nombre total de transferts analysés

Tableau VIII. Résultats tous transferts confondus, par nombre de transfert

Analyse multivariée					
	B	Déviati on standard	p	Exp (B)	IC95% pour Exp (B)
Naissance vivante					
Traitement avec GH	.139	.374	.710	1.149	[.553 -2.390]
Age	-.239	.092	.010	.788	[.657 -.944]
Grossesse clinique évolutive					
Traitement avec GH	.203	.322	.530	1.224	[.651 -2.302]
Age	-.244	.079	.002	.784	[.671 -.0915]
Rang de FIV	-.297	.145	.041	.743	[.559 -.988]
Nombre de jours de stimulation	-.250	.104	.017	.779	[.635 -.956]
Grossesse biologique					
Traitement avec GH	.003	.309	.992	1.003	[.547 -1.838]
Age	-.207	.075	.006	.813	[.702 -.943]
Rang de FIV	-.366	.142	.010	.693	[.525 -.916]
Nombre de jours de stimulation	-.262	.101	.009	.769	[.631 -.938]

Une valeur de $p < .04825$ est considérée comme statistiquement significative

Tableau IX. Régression logistique

RR (tous transferts confondus)		Groupe		RR	p
		Contrôle	Etude		
Nombre de patientes		98	96		
Nombre total de transferts		101	101		
Patientes avec NV (Oui/Non)	oui	20	17	.967	.645
		20.4%	17.7%		
	non	78	79		
		79.6%	82.3%		
Patientes avec grossesse CE (Oui/Non)	oui	35	31	.949	.628
		35.7%	32.3%		
	non	63	65		
		64.3%	67.7%		
Patientes avec grossesse bio (Oui/Non)	oui	43	43	1.017	.906
		43.9%	44.8%		
	non	55	53		
		56.1%	55.2%		
IDRR (tous transferts confondus)		Groupe		IDRR	p
		Contrôle	Etude		
Naissance vivante		21	17		
	NV/100 transferts	20.79%	16.83%	.810	.471
	Nombre de transferts requis pour 1 NV	4.81	5.94		.471
Grossesse clinique évolutive		36	31		
	grossesse CE /100 transferts	35.64%	30.69%	.861	.455
	Nombre de transferts requis pour 1 grossesse CE	2.81	3.26		.455
Grossesse biologique		43	43		
	grossesse bio/100 transferts	42.57%	42.57%	1	.532
	Nombre de transferts requis pour 1 grossesse bio	2.35	2.35		.532
IDRR (nombre total d'embryons transférés)		Groupe		IDRR	p
		Contrôle	Etude		
Nombre total d'embryons transférés		128	125		
Naissance vivante		21	17		
	NV/100 embryons transférés	16.41%	13.60%	.829	.532
	Nombre d'embryons à transférer requis pour 1 NV	6.10	7.35		.532
Grossesse clinique évolutive		36	31		
	grossesse CE /100 embryons transférés	28.13%	24.80%	.882	.532
	Nombre d'embryons à transférer requis pour 1 grossesse CE	3.56	4.03		.532
Grossesse biologique		43	43		
	grossesse bio/100 embryons transférés	33.59%	34.40%	1.024	.532
	Nombre d'embryons à transférer requis pour 1 grossesse bio	2.98	2.91		.532

Tableau X. Risques relatifs et ratio de taux

Des analyses de corrélations avec diagrammes ont été réalisées à partir des taux d'IGF-1 de base (dosage le jour de la randomisation) et le taux d'IGF-1 en fin de période de stimulation (dosage lors de la dernière échographie, la veille de la ponction).

Tous groupes confondus, aucune corrélation significative n'a été retrouvée entre le taux d'IGF-1 de base et l'âge, l'IMC, l'AMH, le taux d'E2 en fin de stimulation, le nombre d'ovocytes ponctionnés, le nombre d'ovocytes en métaphase II et le nombre d'embryons utilisables.

Dans le groupe étude, lorsqu'on calcule la différence entre le taux d'IGF-1 de base et le taux d'IGF-1 en fin de stimulation (appelée delta IGF-1), on note que le delta moyen est de 85.60 IC95% [73.31 – 97.88]. On observe une corrélation positive significative entre le delta IGF-1, et l'IMC ($r=0.2951$ et $p=0.0013$). On observe des corrélations négatives significatives entre le delta IGF-1 et l'AMH ($r=-0.4381$ et $p=0.0001$) ainsi qu'entre le delta IGF-1 et le taux d'E2 en fin de stimulation ($r=-0.5202$ et $p<0.0001$), le nombre d'ovocytes ponctionnés ($r=-0.444$ et $p<0.0001$), le nombre d'ovocytes en métaphase II ($r=-0.379$ et $p=0.0009$). Aucune corrélation n'est retrouvée entre le delta IGF-1 et l'âge et le nombre d'embryons utilisables. Voir le **Tableau 11** ci-après et les diagrammes dans l'**Annexe 6**.

Corrélations taux d'IGF-1			
	<i>Spearman r</i>	<i>p</i>	IC95%
IGF-1 basal - corrélations tous groupes confondus			
âge	-0,1291	.119	[-.290 -.038]
BMI	-0,1381	.0952	[-.2979 -.02916]
AMH	-0,06704	.4198	[-.11 -.007]
Taux d'E2 en fin de stimulation	-0,05861	.4807	[-.2231 -.1091]
Nombre d'ovocytes ponctionnés (PO)	0,007178	.9312	[-.1596 -.1736]
Nombre d'ovocytes MII	-0,0233	.7794	[-.1892 -.1439]
Nombre d'embryons utilisables	-0,003531	.9664	[-.1712 -.1643]
Delta IGF-1 - corrélations groupe étude			
âge	0,1005	.3975	[-.1395 -.3294]
BMI	0,2951	.0113	[.06285 -.4971]
AMH	-0,4381	.0001	[-.6114 --.2247]
Taux d'E2 en fin de stimulation	-0,5202	<.0001	[-.6729 --.3248]
Nombre d'ovocytes ponctionnés (PO)	-0,444	<.0001	[-.6160 --.2317]
Nombre d'ovocytes MII	-0,379	.0009	[-.5650 --.1563]
Nombre d'embryons utilisables	-0,2246	.0578	[-.4394 -.01445]

Tableau XI. Corrélations taux IGF-1

5. Discussion

La PMA a considérablement évolué ces dernières années, et notamment les protocoles de stimulation ovarienne. Tous ces protocoles sont constamment révisés afin de réduire les besoins de gonadotrophines lors de la stimulation ovarienne, d'améliorer le recrutement folliculaire et d'augmenter les taux de naissances vivantes.

Un effet bénéfique de l'ajout de GH a été démontré chez des femmes mauvaises répondeuses, mais son utilisation de routine en clinique n'a pas démontré d'avantages.

L'objectif primaire de notre étude était de déterminer si les taux de grossesses cliniques évolutives sont meilleurs chez les patientes qui reçoivent un traitement par GH en supplément du traitement par gonadotrophines dans un protocole de FIV antagoniste, lors d'un cycle avec transfert frais d'embryon.

A noter, notre étude a été réalisée en intention de traiter, mais certaines participantes ont été exclues en raison de données manquantes. Ces données manquantes ne pouvaient être remplacées pour les analyses. Ceci réalise un biais d'attrition.

La principale observation de notre étude est que le taux de grossesses cliniques évolutives (objectif primaire) n'est pas supérieur chez les patientes ayant reçu un traitement par GH, en comparaison avec le groupe contrôle. Par ailleurs, aucune différence significative n'est observée dans les données analysables en fin de cycle de stimulation (taux d'œstradiol et de progestérone, épaisseur endométriale, nombre d'ovocytes ponctionnés...), ce qui montre que la GH n'améliore pas la réponse à la stimulation ovarienne dans notre échantillon de patientes. De même pour les données d'embryologie, on ne retrouve pas de différence significative en termes de taux de fertilisation, taux de maturation, taux d'embryons utilisables. Enfin, aucune différence significative n'est retrouvée pour les taux de grossesses biologiques, taux d'implantation et le nombre de naissances vivantes entre les deux groupes. Toutefois, les résultats de notre étude (taux de grossesses et taux d'implantation) semblent concorder avec les résultats globaux de l'année 2015 à la **clinique ovo** (pour les patientes

âgées de 35 à 42 ans, les taux de grossesses évolutives étaient de 18 à 42% environ et les taux d'implantation de 19 à 45%).

On a également observé que les taux d'IGF-1 la veille de la ponction sont supérieurs dans le groupe étude comparativement au groupe contrôle, ce qui prouve que les injections de GH permettent une augmentation de l'IGF-1 dans le sang. D'après les analyses de corrélation présentées dans la partie résultats, on remarque qu'initialement, tous groupes confondus, on n'observe aucune corrélation significative entre le taux d'IGF-1 et les variables démographiques ni les variables de fin de stimulation. En revanche, on observe des corrélations négatives significatives entre le delta IGF-1 et le nombre d'ovocytes ponctionnés et d'ovocytes en métaphase II. En effet, dans le groupe étude, il semble exister un taux seuil d'IGF-1 sanguin à approximatif d'environ 215ng/mL (delta maximal d'environ 100ng/mL) au-delà duquel on n'observe plus de bénéfice. Ce qui ne concorde pas avec les conclusions *in vivo* et *in vitro* qu'on retrouve dans la littérature [20, 21] et sur lesquelles sont basées les méta-analyses à propos de l'usage de GH en FIV [18, 40]. Il était en effet attendu une stimulation du développement folliculaire, une augmentation de la production d'oestradiol et une augmentation de la maturation des ovocytes grâce aux injections d'IGF-1. Cependant, ces résultats sont soumis à des réserves puisque l'ensemble des échantillons sanguins n'a pas encore été analysé au laboratoire.

Dans notre étude, on observe un taux de freeze all supérieur dans le groupe étude, et ce de manière significative.

Une congélation de tous les embryons sans transfert frais (freeze all) est conseillée en cas d'oestradiolémie trop élevée (risque d'hyperstimulation ovarienne) ou en cas de progestéronémie supérieure à 4.7nm/L (signe de lutéinisation précoce). Mais également en cas de syndrome d'hyperstimulation ovarienne (OHSS) suspecté ou avéré (à partir d'un nombre de follicules supérieur à 20) ou encore pour une raison endométriale (qui présagerait un risque de défaut d'implantation empêchant un transfert dans des conditions optimales : endomètre trop mince (<7 mm), présence d'un polype ou de liquide dans la cavité utérine).

Le nombre de patientes ayant eu un freeze all pour des raisons liées à une hyperstimulation ou un taux hormonal d'E2 ou de progestérone élevé est supérieur dans le groupe avec traitement par GH, ce qui laisse penser que le traitement par GH permet une meilleure réponse ovarienne. Cependant, ceci est contradictoire avec les analyses initiales, qui montraient une absence de différence au niveau des dosages hormonaux (taux d'E2 et de progestérone lors de la dernière échographie) entre les deux groupes.

Après évaluation des dossiers médicaux des 15 patientes ayant eu un freeze all dans le groupe étude, il en ressort que 3 patientes avaient une progestéronémie élevée et que 5 participantes avaient un problème endométrial, 7 patientes avaient ou risquaient un OHSS. Sur les 7 patientes avec OHSS, 6 d'entre elles avaient une AMH supérieure à 3 ng/mL (ce qui correspond à une bonne réserve ovarienne et explique une réponse forte aux traitements de stimulation) et 2 d'entre elles avaient également une progestéronémie augmentée.

Pour le groupe contrôle, les 5 freeze all sont liés à une hyperstimulation, et une des patientes présentait également une progestéronémie augmentée.

On a donc des taux d'OHSS similaires dans les deux groupes (7 patientes sur 96 (7.3%) pour le groupe étude et 5 patientes sur 98 (5.1%) pour le groupe contrôle, $p=0.527$) et qui correspondent avec ceux de la littérature (6 à 9% en cas de traitement par protocole antagoniste)[38].

En raison du nombre plus important de freeze all dans le groupe étude, un nombre supérieur de patientes dans le groupe étude a bénéficié de TEC, ce qui peut expliquer les meilleurs résultats pour les taux de grossesses biologiques, cliniques évolutives et taux d'implantation dans ce sous-groupe. On ne retrouve pas cette amélioration en termes de naissances vivantes mais il y a actuellement 6 grossesses en cours chez les patientes ayant eu des TEC. Ceci est expliqué par la présence de deux fausses couches précoces et une fausse couche tardive dans le groupe étude, qui suffit à ne pas retrouver cette amélioration en termes de naissance vivante puisque le n de ce sous-groupe est faible ($n=38$).

Il a aussi été observé que le nombre d'effets indésirables rapportés était supérieur dans le groupe étude. Ceux-ci étaient tous bénins et correspondent aux effets secondaires connus

pour la GH (céphalées ou douleurs musculaires essentiellement). Mais les patientes du groupe étude étaient rencontrées par l'infirmière de recherche à chaque échographie contrairement aux patientes du groupe contrôle qui ne rencontraient l'infirmière qu'une seule fois. Cette différence systématique entre les deux groupes réalise donc un biais de détection. De plus, le fait de questionner à chaque rencontre sur la présence d'effets indésirables peut accentuer leur déclaration (biais dit de « tendance à l'acquiescement »). Ceci pourrait donc expliquer en partie cette différence. Enfin, la plupart des effets décrits peuvent également être attribuables aux gonadotrophines et antagonistes (maux de têtes et nausées) et non liés exclusivement à la GH, ce qui confirme donc la présence de ce biais de détection. D'autres effets décrits sont anecdotiques et ne relèvent pas spécifiquement du traitement (malaise vagal à la réalisation de prise de sang, rage de dent).

Voir le **Tableau additionnel #5** dans l'**Annexe 6**.

Par ailleurs, il n'a pas été utilisé de placebo pour la réalisation de notre étude, pour des raisons pratiques et probablement de coûts. De ce fait, il n'y a pas de double insu, ce qui peut également engendrer un biais de suivi ou d'évaluation (par l'observateur).

Outre le biais de détection impliqué par la recherche d'effets indésirables uniquement chez les participantes du groupe étude, on peut cependant supposer que l'absence de double insu dans notre étude n'implique pas de biais puisque le critère de jugement principal et les autres critères sont des critères objectifs.

Notre étude devait s'intéresser à une population dite « normo-répondeuse », cependant la population incluse est hétérogène par le fait de l'âge des patientes de 35 à 42 ans. Les données de la littérature sont claires sur le fait que l'âge a un impact sur la fertilité. On observe une décroissance de la fertilité vers 30-32 ans puis de façon progressive chez les femmes plus âgées.[11] Malheureusement, une analyse en sous-groupe n'était pas envisageable du fait d'un trop faible de nombre de participantes. Les résultats comparants des participantes de 35-38 ans versus 39-42 ans ne sauraient être interprétables, avec une inflation du risque alpha.

Depuis 2013 (date de la rédaction du protocole pour ce projet), plusieurs nouvelles publications concernant l'utilisation de GH en cycle de stimulation pour FIV ont été répertoriées. Une méta-analyse publiée en mai 2016 (répertoriant des publications antérieures à octobre 2015 et représentant 7 essais cliniques, $n=251$) suggère que l'ajout de GH chez les patientes mauvaises répondeuses serait associé à une augmentation des taux cumulés de grossesses avec un Odds Ratio de 2,13 (95%IC 1,06-4,28) et de naissances vivantes avec un Odds Ratio de 2,96 (95%IC 1,17-7,52)[40]. Cependant, il est souligné que toutes ces études incluent un faible nombre de participantes.

D'autres études ne sont pas incluses dans la dernière méta-analyse. Il s'agit essentiellement d'essais cliniques contrôlés incluant des patientes identifiées mauvaises répondeuses. Chez les femmes recevant de la GH, aucune de ces nouvelles études ne montre une augmentation du taux de grossesse[41-45]. Eftekhar et al (mai 2013, répertoriée dans la méta-analyse) montre une augmentation du nombre d'ovocytes ponctionnés et d'embryons obtenus[41]. L'étude randomisée et contrôlée de Bayoumi et al (décembre 2015) montre une différence significative du nombre d'ovocytes fécondés et du nombre d'embryon transférés[43]. L'essai randomisé et contrôlé de Bassiouny et al (publié en mars 2016 dans Fertil Steril) montre une diminution de la durée et des doses de traitement[44]. Ces résultats sont donc peu concluants car ils ne sont pas reproduits d'une étude à l'autre. De plus, ces données concernent encore les patientes mauvaises répondeuses selon les critères de Bologne (ESHRE 2011) mais pas de patientes dites normo-répondeuses.

Actuellement, aucun autre essai clinique (en cours ou terminé) similaire au projet GH de la **clinique ovo** n'est répertorié. À notre connaissance, seule notre étude effectue un dosage de l'IGF-1.

Une seule étude incluant des participantes normo-répondeuses, semble avoir été publiée à ce jour[46]. Cette étude montre une augmentation du taux de d'implantation (36,5% vs 20,4%) et des taux de grossesses cliniques (57,3% vs 30,1%) chez les patientes ayant bénéficié de 4,5 UI de GH lors d'un protocole agoniste de stimulation ovarienne (n=556). Cependant, il s'agit d'une étude rétrospective et aucune information n'est disponible sur la raison pour laquelle la GH a été prescrite à ces patientes (peut-être étaient-elles à moins bon pronostic de chance de grossesse, même si non qualifiées comme réellement mauvaises répondeuses.)

D'autres études seront nécessaires pour conforter les effets bénéfiques de la GH, et pour permettre de définir les dose et durée optimales de traitement. L'**Annexe 7** présente un tableau récapitulatif des différentes études récentes faisant usage de GH, chez les mauvaises et chez les normo-répondeuses. Le nombre de patientes incluses, les types de protocoles incluant les doses de GH, et les résultats principaux sont présentés. Les études antérieures à 2007 ne sont pas présentées car en raison de l'évolution des techniques de FIV, il ne semble pas possible d'effectuer une bonne comparaison.

Les résultats de toutes ces études ne sont pas reproduits d'une étude à l'autre, mais les types de protocoles utilisés ne sont pas identiques (certains essais utilisent des agonistes, d'autres des antagonistes).

Les études récentes semblables à la nôtre sont effectuées chez les mauvaises répondeuses : Eftekhar et Bassiouny utilisent des protocoles antagonistes, mais les doses de GH ne sont pas similaires entre les deux essais. Eftekhar utilise des doses plus faibles que les nôtres mais pour une durée plus longue, alors que Bassiouny utilise des doses similaires aux nôtres mais pour une durée plus courte. L'étude de Du est la seule présentant un résultat significatif pour le taux de grossesses cliniques, mais il s'agit d'une étude rétrospective.

Dans la plupart des essais, les doses de GH sont plus faibles ou la durée de traitement plus courte. Dans notre étude, la dose totale de GH administrée est-elle trop importante ? (dose totale moyenne = 88.13 UI ce qui est supérieur aux autres essais lorsqu'on effectue les calculs des doses reçues pour les différents essais).

Ceci pourrait expliquer en partie l'absence de résultats dans notre étude, puisque d'après les courbes de corrélation, si le taux d'IGF1 est trop élevé, il y a moins d'ovocytes ponctionnés et moins d'embryons utilisables. Cependant, ces résultats sont soumis à des réserves puisque l'ensemble des échantillons sanguins n'a pas encore été analysé au laboratoire.

D'autres analyses statistiques seront nécessaires lorsque tous les échantillons seront interprétables. D'autres études pourraient permettre de définir le seuil d'IGF-1 favorable ainsi que les dose et durée optimales de traitements par hormone de croissance.

Les résultats de notre analyse multivariée montrent que chez les patientes traitées par GH, l'âge maternel est avancé et le rang de FIV sont des facteurs prédictifs négatifs de grossesse. Les patientes âgées et ayant dû bénéficier de plusieurs FIV sans succès sont plutôt à catégoriser comme mauvaises répondeuses, et donc ces résultats sont eux aussi en contradiction avec la littérature.

Les résultats intérimaires de notre étude ne permettent pas de proposer la prescription de GH en routine en supplément des traitements par gonadotrophines et antagonistes chez les patientes devant bénéficier d'une FIV.

La taille d'une étude de l'échantillon étant basée sur le nombre de patientes nécessaires pour voir une différence cliniquement significative avec un alpha et bêta prédéterminés, le nombre de patientes recruté n'est actuellement pas suffisant pour détecter cette différence.

Dans le contexte actuel lié à la Loi 20, le nombre de patientes recrutées étant largement en baisse, cette étude va devoir être poursuivie encore plusieurs années pour aboutir à un total de 528 patientes (correspondant à 528 transferts puisque le calcul de n'a été fait pour l'objectif primaire qui est le taux de grossesses cliniques évolutives en transferts frais. (Voir **Annexe 8**)

Dans la partie résultats, nous avons calculé qu'il faut 2.81 transferts pour obtenir une grossesse clinique évolutive dans le groupe contrôle et 3.26 transferts pour obtenir une grossesse clinique évolutive dans le groupe étude. Si on fait ces calculs en fonction du nombre d'embryons transférés, il faut transférer 3.56 embryons pour obtenir une grossesse

clinique évolutive dans le groupe contrôle et 4.03 embryons pour obtenir une grossesse clinique évolutive dans le groupe étude. Éventuellement pour obtenir des résultats plus rapidement, faudrait-il effectuer des transferts doubles chez les femmes de 37 ans et plus si elles ont déjà eu un échec ? (Pour rappel la loi interdit de transférer plus d'un embryon par transfert pour les femmes âgées de 36 ans et moins.) Dans la mesure où la loi a été faite de sorte à diminuer le taux de grossesses multiples, il semble discutable de proposer un transfert double aux patientes de 37 ans et plus qui bénéficient d'une première FIV.

Le département de recherche de la **clinique ovo** évaluera prochainement la faisabilité de poursuivre ce projet tout en sachant que la validité des résultats serait compromise si le recrutement était arrêté maintenant. Une analyse supplémentaire qui pourrait déterminer les résultats qu'on obtiendrait avec un échantillon plus grand nous permettrait de répondre à cette question.

Une nouvelle analyse devra être effectuée afin de pouvoir évaluer les taux cumulatifs de grossesse, incluant les patientes qui ont eu un transfert de tous leurs embryons congelés. L'inconvénient de ce type d'analyse est la durée de suivi des patientes (délai entre les différents transferts à respecter, délai entre un accouchement et une seconde grossesse, délai de gestation de 9 mois) engendrant un risque élevé de perte au suivi. De plus, l'inconvénient d'une étude trop longue est que les techniques et les prises en charges évoluent, impliquant que les patientes incluses au début de l'étude ne sont plus comparables aux patientes randomisées quelques années plus tard.

L'objectif primaire de cette étude portait sur l'analyse des taux de grossesses cliniques évolutives des transferts frais. Il pourrait être pertinent de modifier cet objectif en l'appliquant aux TF et TEC.

Actuellement, 202 transferts ont eu lieu, il manque donc 326 transferts pour obtenir 528 transferts (TF et TEC confondus). Sachant que 25 patientes et 27 patientes respectivement

dans les groupes contrôle et étude ont encore des embryons congelés (totalisant 54 embryons et 61 embryons respectivement pour ces deux groupes), au maximum 115 transferts supplémentaires peuvent avoir lieu. Il faut donc continuer en parallèle la poursuite du recrutement, et comptabiliser les futurs TEC des patientes déjà incluses pour pouvoir faire une nouvelle analyse.

Les principales limites de notre étude sont donc la population qui devait initialement être une population de participantes dites « normo-répondeuses », mais qui est hétérogène principalement du fait de l'âge des patientes de 35 à 42 ans. L'absence d'usage de placebo et l'absence de double insu réalisent un biais de détection, mais essentiellement dans la recherche des effets indésirables puisque les autres critères de jugements sont des critères subjectifs. L'usage du protocole SMART pour certaines participantes réalise un biais de sélection, cependant les groupes étaient comparables et ce type de traitement ne concerne qu'un faible nombre de patientes. L'exclusion de patientes en raison de données manquantes réalise un biais d'attrition et notre analyse peut s'apparenter à une analyse en per protocole, donc la validité interne est affectée.

Il est également difficile d'interpréter les résultats qui sont différents selon le type de calcul effectué (par cycle débuté ou accompli) ou encore par type de transfert. En effet, même si les deux groupes restent comparables, les « protocoles » transferts ne sont pas standardisés : les embryons peuvent être issus d'une culture de trois ou cinq jours, d'un transfert frais ou congelé, et les protocoles de transfert congelés peuvent être TEC substitué ou TEC naturel, le nombre d'embryon transféré variable (unique ou double).

Les résultats pourront être bonifiées par la réalisation de calculs par cycle débuté et en trouvant une solution de remplacement de données pour les données manquantes. Il serait également intéressant d'analyser les résultats en sous-groupe d'âge quand le nombre de participantes sera suffisant. D'autres analyses pourront être également effectuées en différenciant parmi les TEC les différents protocoles (TEC naturel VS TEC substitué).

6. Conclusion

En conclusion, au vu des résultats de cette étude, il ne semble actuellement pas indiqué de prescrire de la GH en routine en supplément des traitements par gonadotrophines et antagonistes chez les patientes devant bénéficier d'une FIV. La poursuite du suivi de cet échantillon de patientes est nécessaire afin d'obtenir des résultats plus robustes. Les résultats pourront être bonifiés notamment par la réalisation d'analyse en sous-groupe, dès obtention d'un plus grand nombre de participantes. D'autres études semblent nécessaires notamment pour définir les dose et durée optimales de traitement.

4. Conclusion générale

En conclusion, cette analyse réalisée dans le cadre de ce mémoire de maîtrise apporte des résultats non probants, qui ne permettent pas conclure à recommander l'utilisation de GH en routine en supplément des traitements par gonadotrophines et antagonistes chez les patientes devant bénéficier d'une FIV. Il existe plusieurs limites à notre étude et en particulier l'hétérogénéité des patientes en termes de pronostic de réponse à la stimulation, particulièrement du fait de la tranche d'âge sélectionnée. Les protocoles de traitement de l'étude sont variés et l'interprétation des résultats complexe du fait de la réalisation concomitante de transfert frais et congelés, et de la possibilité de répéter les calculs de différente façon (par cycle débuté, par cycle accompli, par nombre d'embryon transférés). L'absence de placebo et de double insu semble par ailleurs peu impacter les résultats.

Le contexte de la loi 20 a considérablement modifié le déroulement du projet GH (mais aussi d'autres projets de recherche dans le département d'**ovo r&d**), par la chute du nombre de participantes recrutées et par le besoin d'avoir des réponses rapides aux questions d'efficacité du traitement par GH. Les couples ayant recours aux soins de PMA sont également demandeurs de résultats concrets pour savoir quelles sont leurs chances d'avoir une grossesse et un enfant en santé, puisque les soins représentent un coût relativement conséquent.

Malheureusement, la recherche demande du temps et implique des résultats parfois négatifs ou discordants avec ceux de la littérature. Même s'il ne semble actuellement pas indiqué de prescrire de la GH en routine, la poursuite de cette étude est nécessaire afin d'obtenir des résultats plus robustes, pour pouvoir actualiser les recommandations pour les patientes normo-répondeuses.

Toutefois, pour terminer sur un point positif, il est important de noter que dans notre étude, les nombres de transferts à effectuer ou d'embryons à transférer pour obtenir une naissance vivante sont très satisfaisants. Ce qui montre que pour cette catégorie de patientes, les techniques actuelles permettent d'obtenir d'excellents taux de succès.

Bibliographie

1. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med.* 2012;9(12):e1001356. doi: 10.1371/journal.pmed.1001356. PubMed PMID: 23271957; PubMed Central PMCID: PMC3525527.
2. Bushnik T, Cook JL, Yuzpe AA, Tough S, Collins J. Estimating the prevalence of infertility in Canada. *Hum Reprod.* 2012;27(3):738-46. doi: 10.1093/humrep/der465. PubMed PMID: 22258658; PubMed Central PMCID: PMC3279129.
3. Anderson K, Nisenblat V, Norman R. Lifestyle factors in people seeking infertility treatment - A review. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2010;50(1):8-20. doi: 10.1111/j.1479-828X.2009.01119.x. PubMed PMID: 20218991.
4. B. Letombe S, Catteau-Jonard, G. Robin. *Endocrinologie en gynécologie obstétrique.* Elsevier Masson 2012.
5. Marchetti C. *Biologie cellulaire - Gamétogénèse - Cours PCEM1 2008.* Faculté de Médecine Henri Warembourg Lille 2, France.
6. Marchetti C. *Biologie cellulaire - La fécondation - Cours PCEM1 2008.* Faculté de Médecine Henri Warembourg Lille 2, France.
7. Barnhart KT. Clinical practice. Ectopic pregnancy. *N Engl J Med.* 2009;361(4):379-87. doi: 10.1056/NEJMcp0810384. PubMed PMID: 19625718.
8. Marchetti C. *Biologie cellulaire - Embryogénèse - Cours PCEM1 2008.* In: PCEM1 C, editor. *Faculté de Médecine Henri Warembourg Lille 2, France.*
9. Fritz MA, Speroff L. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility.* 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2011. x, 1439 p. p.
10. Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, et al. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2014;29(3):400-12. doi: 10.1093/humrep/det457. PubMed PMID: 24435778.
11. Reproductive E, Infertility C, Family Physicians Advisory C, Maternal-Fetal Medicine C, Executive, Council of the Society of O, et al. Advanced reproductive age and fertility. *J Obstet Gynaecol Can.* 2011;33(11):1165-75. PubMed PMID: 22082792.
12. Agrawal R, Burt E, Gallagher AM, Butler L, Venkatakrishnan R, Peitsidis P. Prospective randomized trial of multiple micronutrients in subfertile women undergoing ovulation induction: a pilot study. *Reprod Biomed Online.* 2012;24(1):54-60. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.10.004. PubMed PMID: 22138521.
13. Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Use of multivitamins, intake of B vitamins, and risk of ovulatory infertility. *Fertil Steril.* 2008;89(3):668-76. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.089. PubMed PMID: 17624345; PubMed Central PMCID: PMC32366795.
14. Practice Committee of American Society for Reproductive M, Practice Committee of Society for Assisted Reproductive T. Recommendations for gamete and embryo donation: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2013;99(1):47-62. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.037. PubMed PMID: 23095142.
15. Barrette G. *Projet de loi 20 - Loi édictant la Loi favorisant l'accès aux services de médecine de famille et de médecine spécialisée et modifiant diverses dispositions législatives en matière de procréation assistée.*

16. El Hachem H. Combining LH testing with ultrasound monitoring for timing intrauterine insemination cycles : a randomized controlled trial. Poster for ASRM2016.
17. Khudari A. Is the cumulative live birth rate following IVF lower with provincial government coverage than prior the coverage ? [Abstract for ESHRE 2017]. In press.
18. Duffy JM, Ahmad G, Mohiyiddeen L, Nardo LG, Watson A. Growth hormone for in vitro fertilization. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD000099. doi: 10.1002/14651858.CD000099.pub3. PubMed PMID: 20091500.
19. Bachelot A, Monget P, Imbert-Bollere P, Coshigano K, Kopchick JJ, Kelly PA, et al. Growth hormone is required for ovarian follicular growth. *Endocrinology.* 2002;143(10):4104-12. doi: 10.1210/en.2002-220087. PubMed PMID: 12239122.
20. Yoshimura Y, Ando M, Nagamatsu S, Iwashita M, Adachi T, Sueoka K, et al. Effects of insulin-like growth factor-I on follicle growth, oocyte maturation, and ovarian steroidogenesis and plasminogen activator activity in the rabbit. *Biol Reprod.* 1996;55(1):152-60. PubMed PMID: 8793070.
21. Erickson GF, Garzo VG, Magoffin DA. Insulin-like growth factor-I regulates aromatase activity in human granulosa and granulosa luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;69(4):716-24. doi: 10.1210/jcem-69-4-716. PubMed PMID: 2506212.
22. Gunby J, Bissonnette F, Librach C, Cowan L, Fertility IVFDGotC, Andrology S. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2007 results from the Canadian ART Register. *Fertil Steril.* 2011;95(2):542-7 e1-10. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.05.057. PubMed PMID: 20656287.
23. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril.* 2000;73(4):667-76. PubMed PMID: 10731523.
24. Akande VA, Fleming CF, Hunt LP, Keay SD, Jenkins JM. Biological versus chronological ageing of oocytes, distinguishable by raised FSH levels in relation to the success of IVF treatment. *Hum Reprod.* 2002;17(8):2003-8. PubMed PMID: 12151428.
25. Nargund G, Bromhan D. Comparison of endocrinological and clinical profiles and outcome of IVF cycles in patients with one ovary and two ovaries. *J Assist Reprod Genet.* 1995;12(7):458-60. PubMed PMID: 8574076.
26. Loh S, Wang JX, Matthews CD. The influence of body mass index, basal FSH and age on the response to gonadotrophin stimulation in non-polycystic ovarian syndrome patients. *Hum Reprod.* 2002;17(5):1207-11. PubMed PMID: 11980739.
27. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, Jenkins JM. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104(5):521-7. PubMed PMID: 9166190.
28. Giampietro A, Milardi D, Bianchi A, Fusco A, Cimino V, Valle D, et al. The effect of treatment with growth hormone on fertility outcome in eugonadal women with growth hormone deficiency: report of four cases and review of the literature. *Fertil Steril.* 2009;91(3):930 e7-11. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.09.065. PubMed PMID: 19046578.
29. Tapanainen J, Martikainen H, Voutilainen R, Orava M, Ruokonen A, Ronnberg L. Effect of growth hormone administration on human ovarian function and steroidogenic gene expression in granulosa-luteal cells. *Fertil Steril.* 1992;58(4):726-32. PubMed PMID: 1426317.
30. Younis JS, Simon A, Koren R, Dorembus D, Schenker JG, Laufer N. The effect of growth hormone supplementation on in vitro fertilization outcome: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Fertil Steril.* 1992;58(3):575-80. PubMed PMID: 1387849.
31. Tesarik J, Hazout A, Mendoza C. Improvement of delivery and live birth rates after ICSI in women aged >40 years by ovarian co-stimulation with growth hormone. *Hum Reprod.* 2005;20(9):2536-41. doi: 10.1093/humrep/dei066. PubMed PMID: 15860489.

32. Zhuang GL, Wong SX, Zhou CQ. [The effect of co-administration of low dosage growth hormone and gonadotropin for ovarian hyperstimulation in vitro fertilization and embryo transfer]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 1994;29(8):471-4, 510. PubMed PMID: 7835118.
33. Owen EJ, West C, Mason BA, Jacobs HS. Co-treatment with growth hormone of sub-optimal responders in IVF-ET. *Hum Reprod*. 1991;6(4):524-8. PubMed PMID: 1918302.
34. Suikkari A, MacLachlan V, Koistinen R, Seppala M, Healy D. Double-blind placebo controlled study: human biosynthetic growth hormone for assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 1996;65(4):800-5. PubMed PMID: 8654642.
35. Bergh C, Hillensjo T, Wikland M, Nilsson L, Borg G, Hamberger L. Adjuvant growth hormone treatment during in vitro fertilization: a randomized, placebo-controlled study. *Fertil Steril*. 1994;62(1):113-20. PubMed PMID: 7516295.
36. Kucuk T, Kozinoglu H, Kaba A. Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol in patients with poor ovarian response: a prospective, randomized, clinical trial. *J Assist Reprod Genet*. 2008;25(4):123-7. doi: 10.1007/s10815-008-9212-7. PubMed PMID: 18392675; PubMed Central PMCID: PMC2582075.
37. Hazout A, Junca AM. A pilot, prospective, randomised double blind, placebo-controlled study to compare protocols for ovarian stimulation with r-hRSH (Gonal-F) combined with two different doses of r-hCG or placebo in patients with oocyte dysmorphism undergoing ICSI. 19th Annual Meeting of the ESHRE, Madrid, Spain 2003: Human Reproduction; 2003. p. xviii101-xviii40.
38. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(5):CD001750. doi: 10.1002/14651858.CD001750.pub3. PubMed PMID: 21563131.
39. Liu H, Bravata DM, Olkin I, Nayak S, Roberts B, Garber AM, et al. Systematic review: the safety and efficacy of growth hormone in the healthy elderly. *Ann Intern Med*. 2007;146(2):104-15. PubMed PMID: 17227934.
40. Jevc YB, Bhandari HM. Effective treatment protocol for poor ovarian response: A systematic review and meta-analysis. *J Hum Reprod Sci*. 2016;9(2):70-81. doi: 10.4103/0974-1208.183515. PubMed PMID: 27382230; PubMed Central PMCID: PMC4915289.
41. Eftekhari M, Aflatoonian A, Mohammadian F, Eftekhari T. Adjuvant growth hormone therapy in antagonist protocol in poor responders undergoing assisted reproductive technology. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;287(5):1017-21. doi: 10.1007/s00404-012-2655-1. PubMed PMID: 23208461.
42. Lattes K, Brassesco M, Gomez M, Checa MA. Low-dose growth hormone supplementation increases clinical pregnancy rate in poor responders undergoing in vitro fertilisation. *Gynecol Endocrinol*. 2015;31(7):565-8. doi: 10.3109/09513590.2015.1025378. PubMed PMID: 26193891.
43. Bayoumi YA, Dakhly DM, Bassiouny YA, Hashish NM. Addition of growth hormone to the microflare stimulation protocol among women with poor ovarian response. *Int J Gynaecol Obstet*. 2015;131(3):305-8. doi: 10.1016/j.ijgo.2015.05.034. PubMed PMID: 26381201.
44. Bassiouny YA, Dakhly DM, Bayoumi YA, Hashish NM. Does the addition of growth hormone to the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection antagonist protocol improve outcomes in poor responders? A randomized, controlled trial. *Fertil Steril*. 2016;105(3):697-702. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.11.026. PubMed PMID: 26690008.
45. Dunne C, Seetharam K, Roberts J. Growth Hormone Supplementation in the Luteal Phase Before Microdose GnRH Agonist Flare Protocol for In Vitro Fertilization. *J Obstet Gynaecol Can*. 2015;37(9):810-5. PubMed PMID: 26605451.

46. Du XF, Yang XH, Li J, Hao M, Guo YH. Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol improves implantation and pregnancy rates in patients undergoing IVF-ET. Arch Gynecol Obstet. 2016. doi: 10.1007/s00404-016-4163-1. PubMed PMID: 27488698.

Annexe 1 : Synopsis de l'étude

TEST/ PRODUCT	ADJUVANT GROWTH HORMONE (Saizen®)	PI	Jacques Kadoch, MD
TITLE	ADJUVANT GROWTH HORMONE THERAPY IN IN-VITRO FERTILIZATION: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL	RESEARCH NURSE	Nelly Delouya 514-798-2000 ext 759
NUMBER OF PATIENTS	GH group n=264 Control group n=264		
Primary objective	To determine if the clinical pregnancy rate during the course of one treatment cycle in women receiving GH (2.5 mg Saizen) daily in addition to gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol is significantly higher than those receiving only gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol, during fresh embryo transfer.		
Secondary objective	<ul style="list-style-type: none"> To evaluate the effectiveness of GH adjuvant therapy in gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol when compared to the control group. Assess pregnancy rate for all frozen embryo stemming from the study cycle. 		
SUMMARY OF THE STUDY	IVF protocols are constantly under review in order to decrease gonadotropins requirement during ovarian stimulation, improve follicular recruitment, and increase live birth rates. Adjuvant GH has been considered in some IVF protocols. GH is a biological peptide hormone, synthesised, stored and secreted by somatotroph cells located in the anterior pituitary gland. GH can be synthetically produced using recombinant DNA technology and is licensed to be used in the human population. The rationale for adding GH for the improvement of pregnancy rates in IVF protocols has been based on both animal and human data, which suggest that GH plays an important role in ovarian steroid genesis and follicular development.		
INCLUSION CRITERIA	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Using antagonist or smart protocol only ⇒ Age ≥ 35 and ≤ 42 years at the time of enrollment ⇒ Primary or secondary infertility ⇒ Not previous treatment cycle using the same proposed protocol with Saizen 		
EXCLUSION CRITERIA	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Contraindication to Saizen® ⇒ Simultaneous participation in another clinical trial ⇒ FSH > 12 UI/L and/or AMH < 0.5 ng/mL ⇒ Body mass index (BMI) ≥ 35 Kg/m² ⇒ Women having had 2 or more embryo implantation failures in the past ⇒ Known risk of gestational diabetes ⇒ Administration of any investigational medication with three months prior to study enrollment ⇒ Positive results of screening of either partner for HIV antibodies, Hepatitis B (other than surface antigen present after vaccination) or Hepatitis C ⇒ Not able to communicate in English or French 		
STUDY DESIGN	<p>Randomized, controlled, open label trial. Two groups of participants, treatment and control, will receive a GnRH antagonist protocol using a stimulation treatment (dose according to age and ovarian reserve). The treatment group will additionally receive 2.5 mg Saizen® daily via subcutaneous injections, from the beginning of the ovarian stimulation until the day of the ovulation triggering.</p> <p>Subjects will be selected from women/couples attending the OVO Clinic requesting IVF services. After initial consultation, subjects will be screened for eligibility. For the female patient, her body mass index (BMI) will be calculated and recorded and rubella status established. The baseline work up for the evaluation of the ovarian reserve will include FSH, estradiol, AMH and Antral Follicular Count (AFC) by ultrasound. To evaluate the IGF-1 status, serum IGF-1 levels will be measured at baseline (day of randomization) and at the day of the ovulation triggering. (can be done at the last ultrasound)</p>		
POSSIBLE	Visit 1 – Informed consent process. Randomization will be done after the consent form signature to		

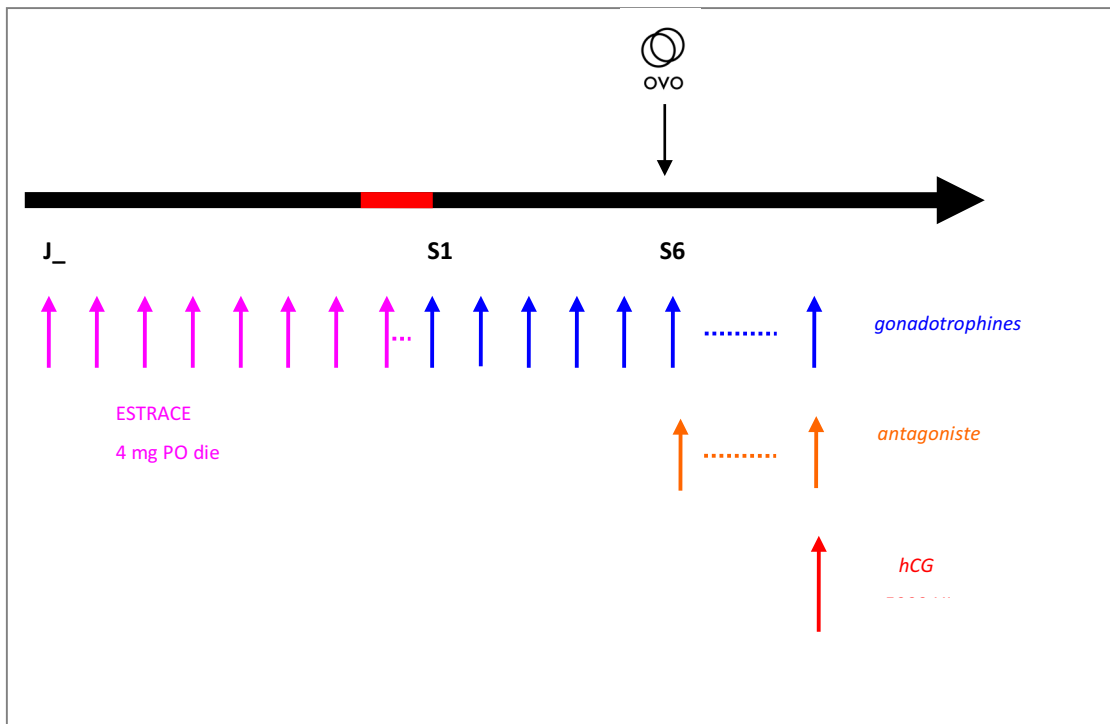
ADDITIONAL VISITS FOR STUDY PATIENTS	<p>determine in which group the patient will be assigned. If you are assigned to the treatment group (Group Saizen) the research nurse will show you how to prepare and administer the study medication. A Blood test is required for all study patients (serum dosage of IGF-1)</p> <p>During visit 5 – Blood test for research purposes will be required. The fee of the blood test will be paid by the clinique ovo</p>
INTERIM ANALYSIS	<p>An interim analysis is scheduled after recruiting half of the study population (264 patients)</p>
SIDE EFFECTS EXPECTED	<p><u>These rare effects can be observed:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Injection site reactions: Some patients may experience redness and itching at the site of injection, particularly when the subcutaneous route is used. Localized lipoatrophy, which can be avoided by varying the site of injection • General Disorders Uncommon (in children): Fluid retention: peripheral oedema, stiffness, arthralgia, myalgia, and paresthesia • CNS Uncommon Idiopathic intracranial hypertension • Endocrine Disorders Hypothyroidism (frequency not determined) • Musculo-skeletal disorders Slipped capital femoral epiphysis (frequency not determined) • Metabolism disorders Hyperglycemia (frequency not determined) • Edema, muscle pain, joint pain, and joint disorders were reported to occur in up to 10% of adult patients receiving growth hormone replacement therapy. These side effects occurred primarily early in therapy and tended to be transient. • Adult patients with growth hormone deficiency, following diagnosis of growth hormone deficiency in childhood, reported side effects less frequently than those with adult onset growth hormone deficiency.

Annexe 2 : Protocoles de stimulation

CALENDRIER

- Suite à votre rencontre nous vous inscrivons sur la liste d'attente de FIV. La coordination ouvrira alors un dossier pour faire le suivi.
- La priorisation des patients sur la liste d'attente répond à des règles d'équité et de justice. Veuillez attendre que le département de coordination communique avec vous pour vous indiquer la suite du déroulement de votre cycle, donc ca sera important de savoir la date approximative du premier jour de vos prochaines menstruations. Veuillez aussi noter que toutes les analyses du bilan devront être complétées et dater de un an et moins pour débiter le cycle de FIV.
- Dès l'apparition des menstruations, veuillez rappeler les infirmières coordonnatrices qui vous confirmeront quel jour de votre cycle vous devez débiter l'**ESTRACE**. Un rendez-vous sera cédulé selon vos besoins pour l'enseignement des injections.
- Vos menstruations surviendront sous **ESTRACE**. L'**ESTRACE** doit être poursuivi sans interruption jusqu'à la veille du début de la stimulation ovarienne. Dès l'apparition des menstruations sous **ESTRACE**, veuillez recontacter les infirmières coordonnatrices qui vous rappelleront dans les deux jours.
- Une infirmière vous contactera afin de confirmer le début de la stimulation, ainsi que la date de votre premier rendez-vous à la CLINIQUE OVO. Cette visite aura lieu au 6^{ème} jour de stimulation par les **gonadotrophines**, soit le _____. Un dosage hormonal et une échographie permettront de vérifier l'efficacité de la stimulation ovarienne. Une infirmière vous contactera en après-midi seulement s'il y a un changement de conduite suite aux résultats.
- Les injections d'**antagoniste** devront être débutées le 6^{ème} jour de la stimulation. Elles permettent d'éviter une ovulation spontanée prématurée. Elles devront donc être réalisées tous les jours, sans interruption, et ce jusqu'au jour du déclenchement de l'ovulation inclus.
- Lorsque les follicules auront atteint leur maturité, nous déciderons de déclencher l'ovulation par une injection de 5000 UI d' **hCG**. Cette injection devra être réalisée à une heure précise qui vous sera confirmée par l'infirmière.
- Le prélèvement ovocytaire aura lieu 36 heures plus tard, soit le _____. Au coucher, la veille du prélèvement, vous prenez un comprimé d'**ATIVAN**. Vous resterez à jeun à partir de minuit, mais vous pourrez consommer des liquides clairs jusqu'à 2 heures avant l'intervention. Le matin du prélèvement vous reprendrez un autre comprimé d'**ATIVAN** ainsi que le comprimé de **NAPROSYN**. **VOUS DEVEZ OBLIGATOIREMENT ÊTRE ACCOMPAGNÉE LE JOUR DU PRÉLÈVEMENT.**
- Le recueil de sperme aura lieu le jour du prélèvement d'ovules. Un délai d'abstinence sexuelle de 2-3 jours est impératif.
- Une ordonnance spécifique à la préparation du transfert embryonnaire vous sera remise le jour du prélèvement ovocytaire.
- Vous serez contacté par téléphone le lendemain du prélèvement ovocytaire par l'embryologiste. Le transfert de l'embryon s'effectue deux ou trois jours après le prélèvement des ovules. Le test de grossesse est effectué 15 jours après la ponction.
- Veuillez prendre note que durant tout le processus de FIV, il est permis de prendre du Tylénol (acétaminophène) régulier ou extra fort, pour soulager toute forme de douleur (ex : maux de tête, douleur abdominale).

ANTAGONISTE



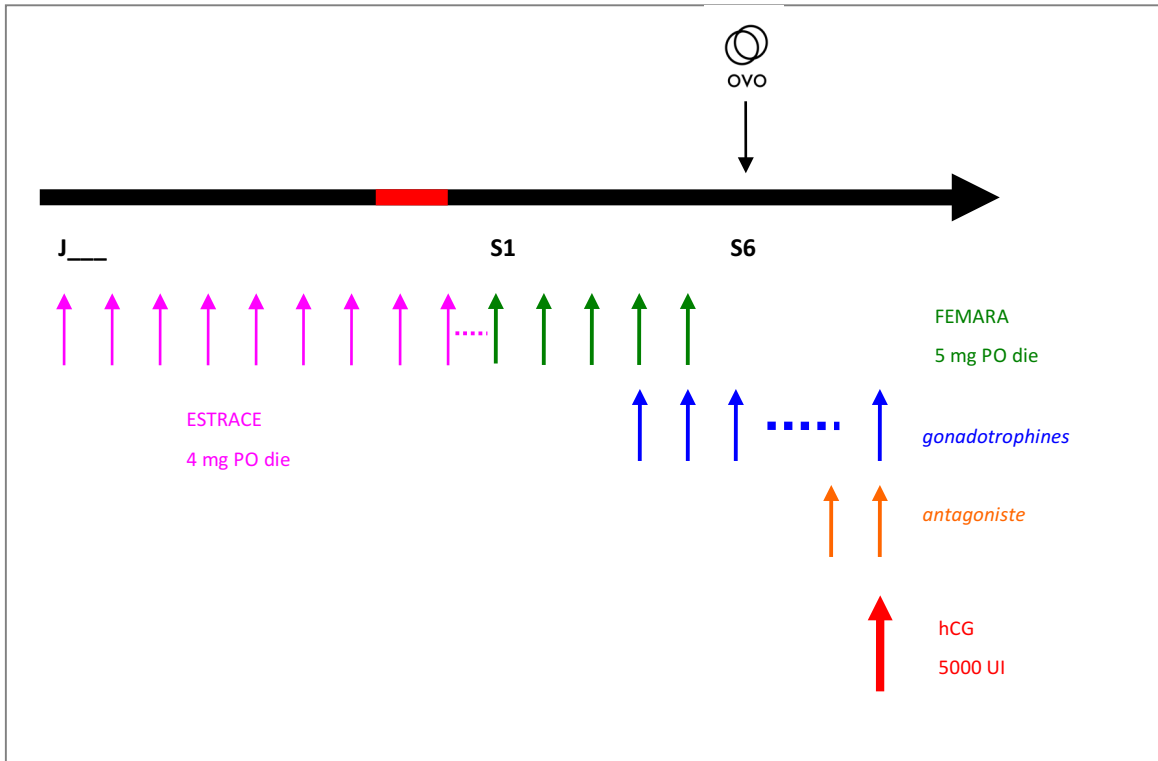
Les comprimés d'**ESTRACE** devront être pris **le soir**.

Sauf exception, les injections seront réparties dans la journée de la manière suivante :

- **gonadotrophines** (MENOPUR, REPRONEX, BRAVELLE, GONAL F ou PUREGON) : **le soir**
- **antagoniste** (CETROTIDE ou ORGALUTRAN) : **le matin**
- **hCG** (GONADOTROPINE CHORIONIQUE HUMAINE) : à l'heure précise indiquée par l'infirmière

S.M.A.R.T.

(Stimulation with Minimal Adverse effects, Retrieval and Transfer)



Les comprimés d'**ESTRACE** devront être pris **le soir**.

Sauf exception, les injections seront réparties dans la journée de la manière suivante :

- **gonadotrophines** (MENOPUR, REPRONEX) : **le soir**
- **antagoniste** (CETROTIDE ou ORGALUTRAN) : **le matin S.V.P. apporter avec vous le médicament le jour de votre échographie.**
- **hCG** (GONADOTROPINE CHORIONIQUE HUMAINE) : à l'heure précise indiquée par l'infirmière

Annexe 3 : Détails des visites

Procédures	Screening / Pré-randomisation	Visite 1 Randomisation	Visites 2-3-4 Échographies	Visite 5 Dernière échographie avant la ponction	Visite 6 14-16 jours après le transfert embryonnaire – Test de grossesse	Suivi post-natal
Visite à la clinique ovo		X	X	X	X	
Suivi téléphonique	X					X
Présentation du protocole	X	X				
Consentement		X				
Randomisation		X				
Histoire de fertilité	X	X				
Histoire médicale	X	X				
Histoire de diabète	X					
Glycémie capillaire (groupe étude)			X^B			
Dosage IGF-1 (Prise de sang)		X		X		
Signes vitaux (TA et FC)		X^A	X^A	X^A		
Remise de la médication		X	X			
Retour de la médication					X	
Adhérence au traitement			X	X		
Médication concomitante	X	X	X	X		
Effets indésirables			X	X		

^A Les signes vitaux seront contrôlés seulement une fois au cours des visites pour échographie

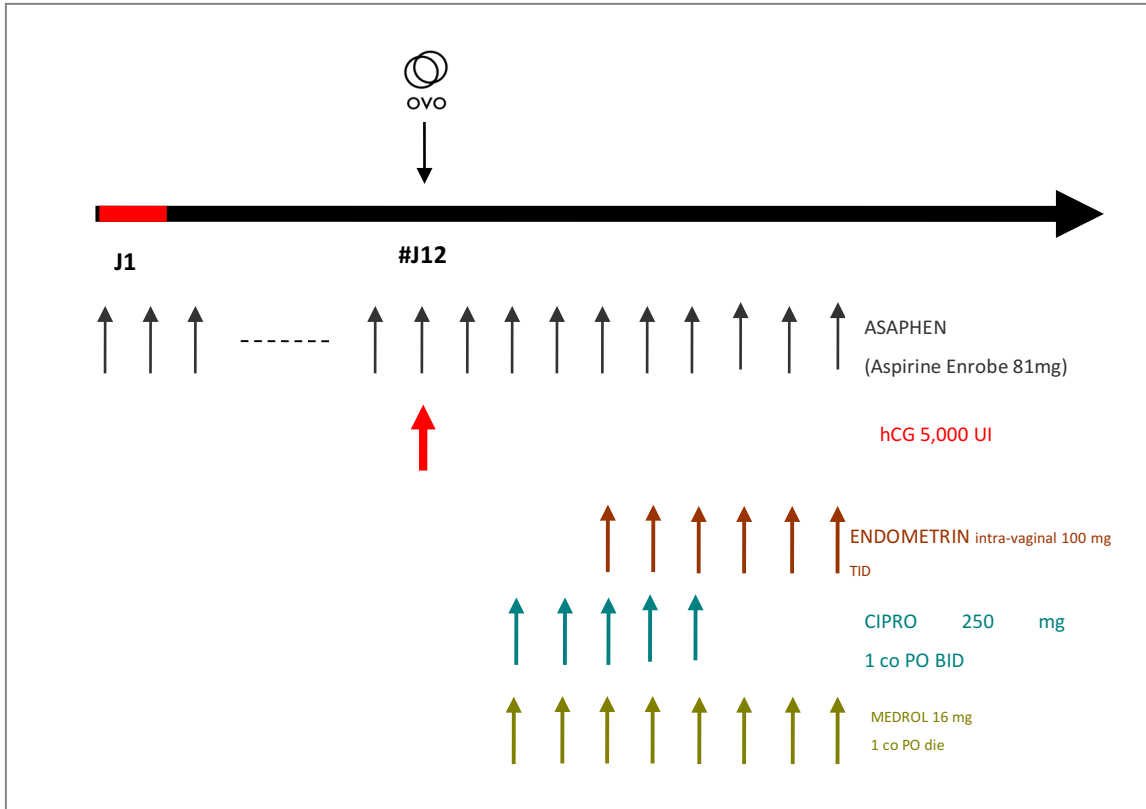
^B La glycémie capillaire sera contrôlée seulement une fois au cours des visites pour échographie si vous êtes dans le groupe traitement.

Annexe 4 : Protocoles de transfert d'embryon congelé

CALENDRIER TEC - CYCLE NATUREL

- Suite à votre rencontre nous vous inscrirons sur la liste d'attente de FIV. La coordination ouvrira alors un dossier pour faire le suivi.
- La priorisation des patients sur la liste d'attente répond à des règles d'équité et de justice. Veuillez attendre que le département de coordination communique avec vous pour vous indiquer la suite du déroulement de votre cycle. Il sera important de connaître la date approximative du premier jour de vos prochaines menstruations pour la planification du cycle. Veuillez aussi noter que toutes les analyses du bilan devront être complétées et dater de un an et moins pour débiter le cycle de FIV.
- Dès l'apparition des menstruations, veuillez recontacter les infirmières coordonnatrices qui vous contacteront dans les deux jours, afin que l'on puisse programmer votre premier rendez-vous à OVO FERTILITÉ.
- Vous débuterez l'**ASAPHEN** (Aspirine Enrobe 81mg) dès le premier jour de vos menstruations.
- Votre premier rendez-vous à OVO FERTILITÉ aura lieu vers le 12^{ème} jour du cycle, soit le _____ . Une échographie permettra de vérifier la présence d'un follicule dominant et de prévoir votre prochain rendez-vous.
- Lorsque le follicule aura atteint sa maturité, nous déciderons de déclencher l'ovulation par une injection de **GONADOTROPINE CHORIONIQUE HUMAINE 5 000 UI**, soit le _____ .
- Le **CIPRO** et le **MEDROL** seront débutés le deuxième jour après l'injection de **GONADOTROPINE CHORIONIQUE HUMAINE**, soit le _____ et l'**ENDOMETRIN** sera débuté le quatrième jour après l'injection, soit le _____ .
- L'**ENDOMETRIN** et l'**ASAPHEN** (Aspirine Enrobe 81mg) devront être poursuivis jusqu'au test de grossesse. Aucun médicament ne devra être interrompu sans avis médical.
- Toute erreur éventuelle dans le traitement doit impérativement être signalée au médecin. En effet, certaines erreurs peuvent hypothéquer les chances de votre transfert.
- Si l'aspect de la muqueuse de l'utérus n'est pas favorable pour le transfert avec ce traitement, le transfert n'aura pas lieu. Un autre protocole de traitement vous sera prescrit par votre médecin, pour un transfert ultérieur de vos embryons.
- Le test de grossesse quantitatif devra être effectué à OVO FERTILITÉ. En cas de résultat positif, il faut impérativement continuer le traitement aux doses prescrites par votre médecin.
- Veuillez prendre note que durant tout le processus de FIV, il est permis de prendre du Tyléno (acétaminophène) régulier ou extra fort, pour soulager toute forme de douleur (ex : maux de tête, douleur abdominale). La constipation fait partie des symptômes pouvant être ressentis durant le processus de FIV. Nous vous conseillons de bien vous hydrater et d'augmenter votre apport en fibres (fruits, légumes, céréales riches en fibre). Par contre, si les symptômes persistent, veuillez communiquer avec les infirmières de la clinique.

TEC - CYCLE NATUREL



En cas de grossesse, poursuivre **ASAPHEN** (Aspirine Enrobe 81mg) jusqu'au début de la 12^{ème} semaine de grossesse, ainsi que **L'ENDOMETRIN** jusqu'au début de la 10^{ème} semaine de grossesse.

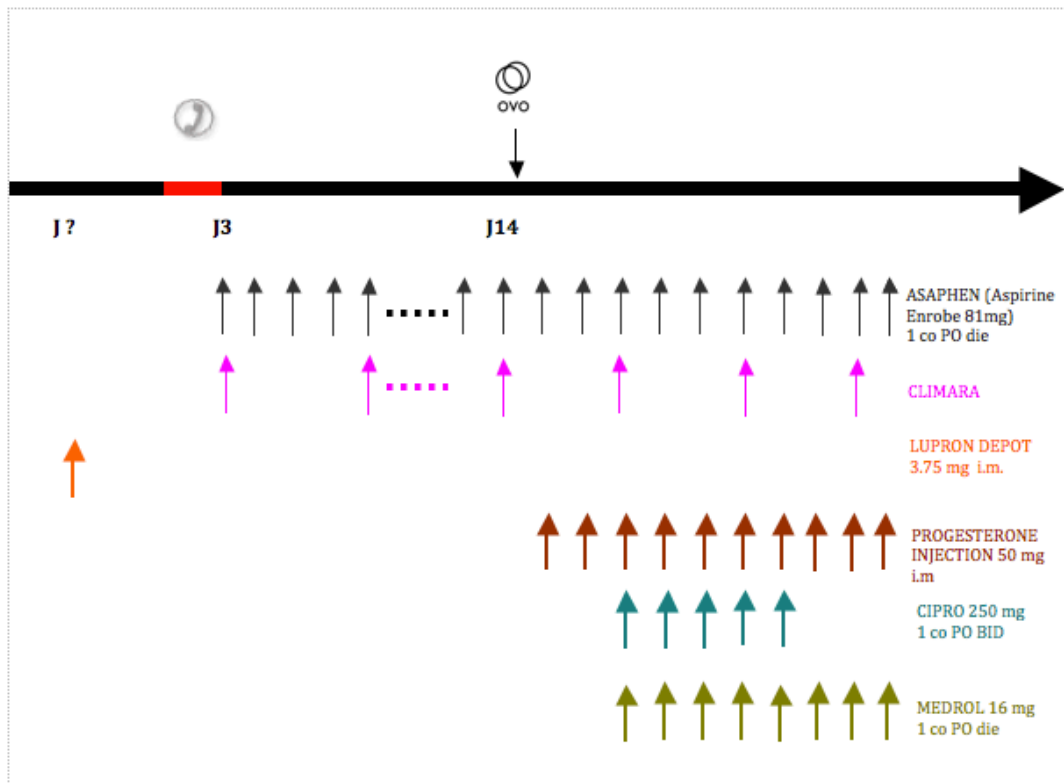
Le **CIPRO** ne doit pas être pris en même temps que des produits laitiers et de vitamines. Deux heures d'intervalle sont requises.

Le jour du transfert embryonnaire, **L'ENDOMETRIN** devra être inséré au moins 3 heures avant la procédure, on vous demande d'avoir la vessie pleine pour faciliter la procédure.

CALENDRIER TEC - CYCLE SUBSTITUÉ

- Suite à votre rencontre nous vous inscrirons sur la liste d'attente de FIV. La coordination ouvrira alors un dossier pour faire le suivi.
- La priorisation des patients sur la liste d'attente répond à des règles d'équité et de justice. Veuillez attendre que le département de coordination communique avec vous pour vous indiquer la suite du déroulement de votre cycle. Il sera important de connaître la date approximative du premier jour de vos prochaines menstruations pour la planification du cycle. Veuillez aussi noter que toutes les analyses du bilan devront être complétées et dater de un an et moins pour débiter le cycle de FIV.
- Dès l'apparition des menstruations, veuillez recontacter l'infirmière coordonnatrice qui vous confirmera la date que vous devez débiter le **DEPOT LUPRON**.
- Vos menstruations surviendront suite à l'injection du **DEPOT LUPRON**. Dès l'apparition des menstruations, veuillez recontacter l'infirmière coordonnatrice pour que l'on puisse programmer votre calendrier. Si vous laissez un message le vendredi soir ou la fin de semaine, l'infirmière vous rappellera le lundi. Vous débuterez tout de même l'**ASAPHEN (Aspirine Enrobe 81mg)**, le **CLIMARA** dès le 3^e jour de vos menstruations.
- Votre premier rendez-vous à OVO FERTILITÉ aura lieu vers le 14^{ème} jour du cycle soit le _____ Une échographie permettra de vérifier l'efficacité du traitement. Selon les données échographiques, la **PROGESTÉRONNE** sera débutée selon les recommandations du médecin. Le **MEDROL** et le **CIPRO** sera débutés deux jours plus tard.
- Toute erreur éventuelle dans le traitement doit impérativement être signalée au médecin. En effet, certaines erreurs peuvent hypothéquer les chances de votre transfert.
- L'association **ASAPHEN (Aspirine Enrobe 81mg) - CLIMARA - PROGESTÉRONNE** devra être poursuivie jusqu'au test de grossesse. Aucun médicament ne devra être interrompu sans avis médical.
- Si l'aspect de la muqueuse de l'utérus n'est pas favorable pour le transfert avec ce traitement, le transfert n'aura pas lieu. Il faudra associer le **CLIMARA** à de la **PROGESTÉRONNE** pendant 8 jours, puis les arrêter. Les règles surviendront dans les jours suivants. Un autre protocole de traitement vous sera prescrit par votre médecin, pour un transfert ultérieur de vos embryons.
- Le test de grossesse quantitatif devra être effectué à OVO FERTILITÉ. En cas de résultat positif, il faut impérativement continuer le traitement aux doses prescrites par votre médecin.
- Veuillez prendre note que durant tout le processus de FIV, il est permis de prendre du Tyléno (acétaminophène) régulier ou extra fort, pour soulager toute forme de douleur (ex : maux de tête, douleur abdominale). La constipation fait partie des symptômes pouvant être ressentis durant le processus de FIV. Nous vous conseillons de bien vous hydrater et d'augmenter votre apport en fibres (fruits, légumes, céréales riches en fibre). Par contre, si les symptômes persistent, veuillez communiquer avec les infirmières de la clinique.

. TEC - CYCLE SUBSTITUÉ



En cas de grossesse, poursuivre :

- **CLIMARA** jusqu'au début de la 8^{ème} semaine ;
- **ASAPHEN (Aspirine Enrobe 81mg)** jusqu'au début de la 12^{ème} semaine ;
- **INJECTION PROGESTERONE** jusqu'au test de grossesse positif.
Suite à un résultat de test positif, poursuivre les injections de **PROGESTERONE** ou changer pour de l'**ENDOMETRIN** intra-vaginal jusqu'à la 10^{ème} semaine.

Le **CIPRO** ne doit pas être pris en même temps que des produits laitiers et de vitamines. Deux heures d'intervalle sont requises.

Le jour du transfert embryonnaire, on vous demande d'avoir la vessie pleine pour faciliter la procédure.

Annexe 5 : Dosage d'IGF-1, procédure de laboratoire

BATCH no. _____

Procédure étape par étape

- 1. Sortir les contrôles BioRad et laisser venir à température pièce. Une fois décongelés ils sont stables 30 jours. Sortir un aliquot du Standard WHO et laisser venir à température ambiante.
- 2. Sortir une boîte de réactifs et laisser venir à température pièce à l'**exception du IGF-1 Conjugate** qui doit demeurer au **réfrigérateur** jusqu'à son utilisation.
- 3. Sortir les échantillons et les placer dans un portoir dans le même ordre que la feuille de travail préalablement remplie. Les laisser venir à température ambiante et les centrifuger 5 à 10 minutes à 1300rcf.
- 4. Reconstituer le **Standard IGF-1** avec 1100µL d'eau déionisée à l'aide d'une pipette volumétrique et laisser reposer pour un minimum de 15 minutes.
- 5. Reconstituer le **réactif de prétraitement B** avec 10mL d'eau déionisée à l'aide d'une pipette volumétrique. Laisser reposer 10 minutes et mélanger par inversion.
- 6. Identifier un tube 12X75mm **en polypropylène** pour chaque calibrateur (6ng/mL, 3ng/mL, 1.5ng/mL, 0.75ng/mL, 0.375ng/mL, 0.188ng/mL et 0.094ng/mL) et contrôle (niveaux 1, 2, 3). Dans un portoir identifié *Prétraitement-A* identifier un tube 12X75mm **en polypropylène** pour chaque patient.
- 7. Pour préparer les calibrateurs, pipetter à l'aide d'une micropipette 360µL du **Calibrator Diluent RD5-22** dans le tube identifié 6ng/mL et 200µL dans les 6 tubes restants. Mélanger doucement par inversion le **Standard IGF-1** et en transférer 40µL dans le tube identifié 6ng/mL. Mélanger le tube à basse vitesse au vortex. Procéder ensuite à une dilution en série en pipettant 200µL du calibrateur de 6ng/mL dans le tube de 3ng/mL et ainsi de suite, toujours en mélangeant bien le tube au vortex entre chaque transfert. Il n'est pas nécessaire de rejeter le 200µL en trop dans le dernier calibrateur(0.094ng/mL).
- 8. Préparer les **contrôles de qualité** en effectuant la dilution appropriée pour chaque niveau dans le tube correspondant. Pour le **niveaux 1** faire une dilution 1 :20 en utilisant 380µL de **Calibrator Diluent RD5-22** et 20µL de contrôle. Pour le **niveau 2** faire une dilution 1 :40 en utilisant 780µL de **Calibrator Diluent RD5-22** et 20µL de contrôle. Pour le **niveau 3** faire une dilution 1 :80 en utilisant 1580µL de **Calibrator Diluent RD5-22** et 20µL de contrôle. Mélanger les tubes à basse vitesse au vortex.
- 9. Pipetter 380µL du **réactif de prétraitement A** dans les tubes 12X75 vides et pré-identifiés des patients à l'aide d'une micropipette.
- 10. Ajouter 20µL d'échantillon au tube 12X75mm pré-identifié correspondant à l'aide d'une micropipette (dilution 1 :20).
- 11. Vortexer et incuber 10 minutes à température pièce.
- 12. Dans un portoir identifié *Prétraitement-B*, identifier une autre série de tubes 12X75mm **en polypropylène** pour chaque patient et y pipetter 200µL de **réactif de prétraitement B** à l'aide d'une pipette Eppendorf Repeater.
- 13. Ajouter 50µL du **mélange échantillon/réactif de prétraitement A** (portoir *Prétraitement-A*) correspondant au **réactif de prétraitement B** et vortexer (dilution 1 :5) (en résulte les échantillons prétraités à utiliser pour le reste de la procédure avec une dilution 1 :100).
- 14. Vérifier à l'aide de la FT s'il y a des échantillons qui nécessitent une dilution. Dans un tube 12x75mm en polypropylène correctement identifié, diluer l'échantillon prétraité à l'aide du **Calibrator Diluent** en respectant le ratio indiqué.
- 15. Sortir la plaque de son emballage et pipetter 150µL de **Assay Diluent RD1-53** à chaque puit à l'aide d'une pipette multi-canaux.

- 16 . À l'aide du guide 'Plate Layout', ajouter 50µL de standard, de contrôle et d'échantillon pré-traité dans chaque puit correspondant à l'aide d'une micropipette. Noter que le **Calibrator Diluent RD5-22** est utilisé pour le Blanc (standard 0.0ng/mL).
- 17 . Couvrir la plaque avec la bande adhésive fournie et incubé 2 heures entre 2-8°C.
- 18 . Préparer la solution de lavage en ajoutant 20mL de **Wash Buffer Concentrate** à 480mL d'eau déionisée pour une concentration de 1 :25. Bien mélanger et s'assurer qu'il ne reste pas de cristaux.
- 19 . Laver la plaque post-incubation.

Lavage manuel: 1. Inverser la plaque d'un mouvement rapide au-dessus le lavabo souillé ou un grand bac à déchets liquides et transférer (sans retourner) sur un papier absorbant anti-pelucheux. 2. Ajouter 400µL de la solution de lavage de travail dans chaque puit à l'aide d'une pipette multi-channel. 3. Inverser la plaque d'un mouvement rapide par-dessus le lavabo souillé ou un grand bac à déchets liquides et transférer (sans retourner) sur un papier absorbant anti-pelucheux propre. 4. Répéter les étapes 2 et 3 du lavage manuel pour un total de 4 lavages. 5. Bien assécher la plaque avant de procéder à la prochaine étape.
- 20 . Ajouter 200µL de **IGF-1 Conjugate froid** à chaque puit à l'aide d'une pipette multi-canaux.
- 21 . Couvrir la plaque avec une nouvelle bande adhésive fournie et incubé pour 1 heure entre 2-8°C.
- 22 . Laver la plaque post-incubation. (voir étape 18).
- 23 . Préparer le **Substrat** en mélangeant à part égale, dans un contenant opaque, le **Color Reagents A et B. Doit être utilisé à l'intérieur de 15 minutes suite au mélange des deux réactifs. Protéger de la lumière.**
- 24 . Ajouter 200µL de **Substrat** à chaque puit à l'aide d'une pipette multi-canaux. **Éviter l'exposition directe à la lumière.**
- 25 . Couvrir la plaque d'un couvercle **opaque** et incubé à la température de la pièce (~25°C) pendant 30 minutes.
- 26 . Ajouter 50µL de **Stop Solution** à chaque puit à l'aide d'une pipette multi-canaux dans le même ordre et à la même vitesse que le substrat. La couleur dans les puits devrait passer du bleu au jaune. Si la couleur dans un puit est verte ou si le changement de couleur ne semble pas uniforme, tapoter doucement la plaque pour assurer un mélange adéquat.
- 27 . Lire l'absorbance de la plaque à l'intérieur de 30 minutes à l'aide du lecteur DTX programmé à 450nm en utilisant le protocole DTX880_ELISA_IGF-1. Les résultats (concentration) sont calculés en ng/mL par le Multimode Software.

Analysé le _____ par _____

Annexe 6 : Analyse statistique, tableaux additionnels

TABLEAU additionnel #1				
Résultats des transferts frais				
par cycle de stimulation accompli**	Groupe Contrôle** (n=98)	Groupe Étude** (n=96)	p	Test
Nombre de patientes ayant eu un transfert frais, n/n (%)	72/98 (73.47)	63/96 (65.63)	.235	Pearson Chi-Square
Taux de grossesses biologiques, n/n (%)	35/98 (35.7)	27/96 (28.1)	.257	Pearson Chi-Square
Taux de grossesses cliniques évolutives, n/n (%)	29/98 (29.6)	21/96 (21.9)	.219	Pearson Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	31/98 (31.63)	26/96 (27.1)	.487	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche précoce (avant 12 semaines) n/n (%)	2/98 (2.0)	5/96(5.2)	.237	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche tardive (après 12 semaines) n/n (%)	6/98(6.1)	1/96 (1.0)	.058	Pearson Chi-Square
Nombre de naissances vivantes n/n (%)	17/98 (17.3)	14/96 (14.6)	.599	Pearson Chi-Square
Nombre de grossesse en cours	5/98 (5.1)	4/96 (4.2)	.737	Pearson Chi-Square

Une valeur de $p < .04825$ est considérée comme statistiquement significative

*valeurs présentées en moyenne +/- écart-type

**cycle accompli = patientes qui ont eu une ponction (les patientes ayant eu une ponction blanche sont exclues)

TABLEAU additionnel #2				
Résultats des transferts frais - par nombre total d'embryons transférés				
	Groupe Contrôle* (n=95)	Groupe Étude* (n=83)	p	Test
Taux de grossesse biologique, n/n (%)	35/95 (36.84)	27/83 (32.53)	.547	Pearson Chi-Square
Taux de grossesses cliniques évolutives, n/n (%)	29/95 (30.53)	21/83 (25.30)	.439	Pearson Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	34/95 (35.78)	26/83 (31.33)	.530	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche précoce (avant 12 semaines)	7/95 (7.37)	6/83 (7.23)	.972	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche tardive (après 12 semaines)	1/95 (1.05)	0/83 (0.0)	.349	Pearson Chi-Square
Nombre de naissances vivantes n/n (%)	17/95 (17.89)	14/83 (16.87)	.857	Pearson Chi-Square
Nombre de grossesses en cours	5/95 (5.26)	4/83 (4.82)	.893	Pearson Chi-Square

Une valeur de $p < .04825$ est considérée comme statistiquement significative

* nombre total d'embryons transférés chez les patientes ayant eu un transfert frais

TABLEAU additionnel #3				
Résultats TEC				
par nombre total d'embryons transférés				
	Groupe Contrôle* (n=29)	Groupe Étude* (n=38)	p	Test
Nombre total de TEC	29	38		
Nombre total d'embryons transférés	33	42		
Taux de grossesse biologique, n/n (%)	8/33 (24.24)	16/42 (38.10)	.202	Pearson Chi-Square
Taux de grossesse clinique évolutive, n/n (%)	7/33 (21.21)	10/42 (23.81)	.790	Pearson Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	8/33 (24.24)	12/42 (28.57)	.674	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche précoce (avant 12 semaines) n/n (%)	1/33 (3.03)	2/42 (4.76)	.704	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche tardive (après 12 semaines) n/n (%)	0/33 (0)	1/42 (2.38)	.372	Pearson Chi-Square
Nombre de naissance vivante	4/33 (12.12)	3/42 (7.14)	.462	Pearson Chi-Square
Nombre de grossesse en cours	3/33 (9.09)	6/42 (14.29)	.492	Pearson Chi-Square

Une valeur de $p < .04825$ est considérée comme statistiquement significative

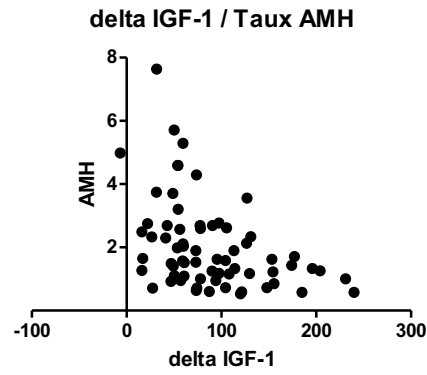
*nombre total de TEC - nb : certaines données sont manquantes car le cycle était trop récent pour avoir les résultats d'évolutivité de la grossesse

TABLEAU additionnel #4				
Résultats tous transferts confondus -				
par nombre total d'embryons transférés				
	Groupe Contrôle* (n=98)	Groupe Étude* (n=96)	p	Test
Nombre total de transferts	101	101		
Nombre total d'embryons transférés	128	125		
Taux de grossesses biologiques, n/n (%)	43/128 (33.59)	43/125 (34.40)	.892	Pearson Chi-Square
Taux de grossesses cliniques évolutives, n/n (%)	36/128 (28.13)	31/125 (24.80)	.549	Pearson Chi-Square
Taux d'implantation, n/n (%)	38/128 (29.68)	38/125 (30.40)	.902	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche précoce (avant 12 semaines) n/n (%)	8/128 (6.25)	9/125 (7.2)	.763	Pearson Chi-Square
Nombre de fausse couche tardive (après 12 semaines) n/n (%)	1/128 (0.78)	1/125 (0.8)	.987	Pearson Chi-Square
Nombre de naissances vivantes	21/128 (16.41)	17/125 (13.60)	.532	Pearson Chi-Square
Nombre de grossesses en cours	8/128 (6.25)	10/125 (8.0)	.588	Pearson Chi-Square

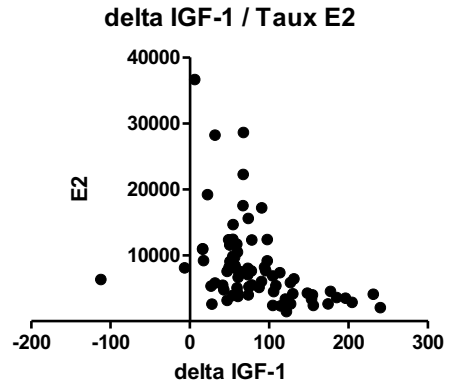
Une valeur de $p < .04825$ est considérée comme statistiquement significative

*nombre total de patientes analysées

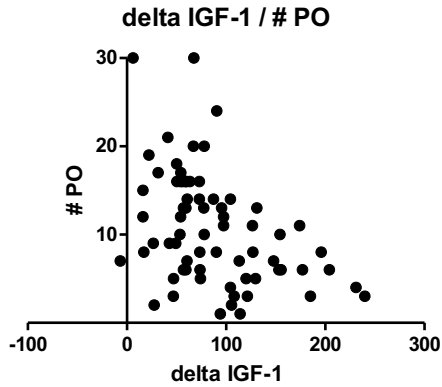
TABLEAU additionnel #5				
Détail des effets indésirables				
	Groupe Contrôle (n=107)		Groupe Étude (n=105)	
Effets indésirables				
oui n/n (%)	3/107 (2,8)	11/105 (10,5)	.025	Chi-Square
non n/n (%)	104/107 (97,2)	94/105 (89,5)		
Une valeur de p <.04825 est considérée comme statistiquement significative				
Maux de tête		1 (0.93%)	7 (6.66%)	
Nausées		0	1 (0.95%)	
Hyperglycémie		1 (0.93%)	0	
Malaise vagal lors de la prise de sang		1 (0.93%)	0	
Nausées et maux de tête		0	1 (0.95%)	
Syndrome grippal et rage de dent		0	1 (0.95%)	
Métrorragies et maux de tête		0	1 (0.95%)	



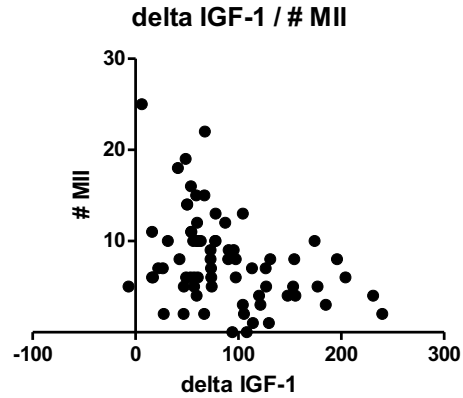
Spearman r	-0.4381
95% confidence interval	-0.6114 to -0.2247
P value (two-tailed)	0.0001



Spearman r	-0.5202
95% confidence interval	-0.6729 to -0.3248
P value (two-tailed)	< 0.0001



Spearman r	-0.4440
95% confidence interval	-0.6160 to -0.2317
P value (two-tailed)	< 0.0001



Spearman r	-0.3790
95% confidence interval	-0.5650 to -0.1563
P value (two-tailed)	0.0009

Annexe 7 : Revue de littérature

Usage de GH chez les mauvaises répondeuses		
Kucuk (2007)	n= 61 (31 étude, 30 contrôle)	GnRHa + GH 6UI/j SC de J21 cycle précédent jusqu'à la ponction
Eftekhar (2013)	n=82 (40 étude, 42 contrôle)	Protocole antagoniste - GH 4UI de J21 cycle précédent jusqu'à la ponction
Bayoumi (2015)	n=145 (72 étude, 73 contrôle)	GH 7,5UI/j SC de J6 de la stimulation par HMG jusqu'à l'injection d'hCG (protocole microflare)
Bassiouny (2016)	n=141 (68 étude, 73 contrôle)	Protocole antagoniste GH 7,5UI/j SC de J6 de la stimulation par HMG jusqu'à l'injection d'hCG
Usage de GH en routine		
Tapanainen (1992)	n=54 (27 étude 27 placebo)	HMG + GH 24 UI/j IM (1 jour sur 2)
Younis (1992)	n = 42 (20 étude, 22 placebo)	HMG + GH 12 UI/j IM (1 jour sur 2)
Du (2016)	n = 1114 (556 étude, 558 contrôle)	Protocole agoniste GH 4,5 IU pendant 5 jours
OVO (2016)	n= 194 (96 étude, 98 contrôle)	Protocole antagoniste - GH 7,5UI pendant toute la durée de stimulation jusqu'à l'injection d'hCG

	Mauvaises répondeuses				Normo-répondeuses	
	Kucuk (2007)	Eftekhar (2013)	Bayoumi (2015)	Bassiouny (2016)	Younis (1992)	Tapanainen (1992)
Dose gonado ↘	S	NS	S	S	NS	NS
Durée stimulation ↘	NS	NS	S	S	N/A	NS
Taux E2 ↗	S	NS	S	S	NS	S* ↘
EFI ↗	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Nombre de follicules ↗	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	NS
Nombre de PO ↗	N/A	S	S	S	NS	NS
Nombre de MII ↗	S	N/A	S	S	N/A	N/A
# ovocytes fertilisés ↗	N/A	N/A	S	S	N/A	N/A
Qualité embryonnaire ↗	N/A	N/A	N/A	N/A	NS	N/A
Nombre 2PN ↗	S	S	N/A	N/A	N/A	N/A
Nombre d'embryons obtenus ↗	N/A	S	N/A	N/A	NS	N/A
Nombre d'embryons transférés ↗	S	NS	S	S	N/A	N/A
Taux d'implantation ↗	S	NS	NS	NS	NS	N/A
CPR ↗	NS	NS	NS	NS	NS	N/A
LBR ↗	N/A	NS	N/A	NS	N/A	N/A

Annexe 8 : Recrutement mensuel et général

